

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ ФАРМАКОЛОГІЧНИЙ ЦЕНТР МОЗ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

 **К**ЛІНІЧНА
ФАРМАЦІЯ

CLINICAL
PHARMACY

Том 16, №2. — 2012

Редакційна колегія:

К.М.Амосова, О.Г.Башура, Н.В.Бездітко, Н.П.Безугла (*відповідальний секретар*), В.В.Болотов, В.С.Бондар, М.Я.Головенко, І.С.Гриценко, Ю.І.Губський, Г.В.Дзяк, С.М.Дроговоз, А.Б.Зборовский (Россия), А.Б.Зіменковський, І.А.Зупанець (**головний редактор**), В.М.Коваленко, О.М.Корж, А.А.Котвіцька, О.М.Котенко (*директор видавництва*), В.Й.Кресюн, Л.М.Малоштан, В.Ф.Москаленко, Е.Л.Насонов (Россия), С.Б.Попов, І.М.Риженко, Т.С.Сахарова, А.М.Сердюк, О.І.Тихонов, Ю.І.Фещенко, М.Hartmann (Germany), І.С.Чекман, В.П.Черних (**головний науковий консультант**), Л.В.Яковлева (**заступник головного редактора**)

Редакційна рада:

О.Я.Бабак, Н.В.Бездітко, О.М.Біловол, Г.М.Войтенко, Ю.В.Вороненко, Н.О.Горчакова, О.І.Гриздуб, Л.О.Громов, І.Б.Демченко, Н.В.Дєдх, З.Д.Димитрова (Болгарія), Т.Г.Калинюк, В.С.Комар, О.О.Корж, М.О.Ляпунов, В.І.Мамчур, В.С.Мерцалов, Б.В.Михайлов, J.Mircheva (Belgium), М.А.Мохорт, С.В.Нальотов, Ю.С.Рудик, А.С.Свінцицький, В.О.Усенко, М.Б.Шегедин, М.І.Яблчанський, О.О.Яковлева

В черговому номері журналу представлений огляд літератури стосовно нового напрямку у сфері *in silico* технологій, показана їх ключова роль у створенні нових лікарських засобів та оптимізації деяких властивостей існуючих медикаментів та сполук-лідерів; досліджений дозозалежний вплив аторвастатину на вміст маркерів біомеханічного стресу в пацієнтів з інфарктом міокарда. Надана оригінальна стаття з розробки методики оцінки переносимості лікарських засобів при дослідженні оцінки біоеквівалентності. Висвітлені результати фармакокінетичних досліджень. Наведені матеріали з доклінічних досліджень нових лікарських препаратів та біологічно активних речовин.

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

Рекомендовано Вченою радою Національного фармацевтичного університету
(протокол №11 від 25.05.2012 р.)

Журнал "Клінічна фармація" включений до затвердженого ВАК України переліку видань з фармацевтичних та медичних наук для опублікування результатів дисертаційних робіт (Бюлетень ВАК України, №11, 2009)

IN SILICO: НОВИЙ НАПРЯМ У РОЗРОБЦІ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

I.C.Чекман, Т.Ю.Небесна, П.В.Симонов

Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця

Ключові слова: *in silico*; молекулярний докінг; віртуальний скринінг; фармакофор; QSAR

Стаття присвячена аналізу літератури та результатів досліджень авторів у сфері *in silico* технологій. В узагальненому вигляді представлена інформація щодо основних методів *in silico*. Розглянуті основні принципи молекулярного докінгу, методу побудови гомологічних моделей, віртуального скринінгу, моделювання фармакофорів та QSAR. Приділено увагу застосуванню підходів *in silico* у токсикології. Показано, що методи *in silico* відіграють ключову роль у створенні нових лікарських засобів та оптимізації існуючих медикаментів і сполук-лідерів.

Прогрес у сфері розвитку обчислювальної техніки триває. Потужність та складність комп'ютерних технологій безупинно зростає, поступово проникаючи у всі сфери нашого життя. Фармакологія та фармація не є виключенням. На теперішній час вже неможливо уявити розробку нових лікарських препаратів без застосування комп'ютерних технологій, які знайшли широке використання на всіх етапах створення і дослідження нових медикаментів, допомагають виявити фармакологічні властивості досліджуваних препаратів [9, 20].

У минулому для позначення різних етапів наукового дослідження у фармакології та фармації існувало три основні поняття: «*in cerebro*», «*in vitro*» та «*in vivo*». Перше характеризувало наукові ідеї щодо розробки препарату, друге – хімічні випробування поза організмом, третє – експеримент на живих тваринах. З розвитком комп'ютерних технологій з'явився четвертий термін – «*in silico*». Цей термін використовується для позначення експерименту, що проводиться за допомогою комп'ютера.

Наразі точно невідомо, хто перший застосував термін «*in*

silico». Декілька дослідників стверджують, що саме їм належить ідея створення цього поняття. Тим не менше, однією з найбільш ранніх робіт, в якій зустрічається цей термін, є «Фізіологічні дослідження *in silico*» [64].

Основні методи *in silico*. Методи *in silico* досліджень використовують підхід застосування комп'ютерних програм для виявлення, аналізу та узагальнення отриманої з різних джерел біологічної та медичної інформації. Отримана інформація використовується у створенні комп'ютерних моделей, що є підґрунтям для прогнозування, створення гіпотез та здійснення відкриттів у фармакології [21]. *In silico* дослідження широко застосовуються для відкриття та оптимізації молекул з високою афінністю до конкретних мішеней, виявлення параметрів їх абсорбції, розподілу, метаболізму, екскреції та токсичності (ADME-Tox), а також фізико-хімічних характеристик [20].

Комп'ютерні системи моделювання, задачею яких є пошук фармакофорів, сполук-лідерів та їх біологічних мішеней, об'єднуються під назвою «*in silico* фармакологія» [45].

Загалом існує два компоненти взаємодії біологічно активних речовин та систем організму (рис. 1), які можуть бути спрощено охарактеризовані «дією сполуки на біосистему» та «дією біосистеми на сполуку». Ліганд, що діє на мішень, може викликати фармакологічну чи токсичну відповідь. Це фармакодинамічний компонент взаємодії. У свою чергу, біосистема впливає на ксенобіотик, абсорбуючи, розподіляючи, метаболізуючи та екскретуючи його (ADME-параметри). Це фармакокінетичний компонент. Дуже важливо враховувати, що ці два компоненти взаємопов'язані. ADME-параметри впливають на тривалість і вираженість фармакодинамічних ефектів ксенобіотиків. І, навпаки, медикамент може впливати на гемодинаміку чи активність ферментів організму, змінюючи таким чином фармакокінетичні показники. Тільки системний підхід до врахування обох взаємопов'язаних компонентів взаємодії дає можливість виявити найбільш оптимальні сполуки для синтезу нових медикаментів. Методи *in silico* покликані враховувати як фармакодинамічні, так і фармакокінетичні аспекти взаємодії лігандів з мішенями [21].

Створення нового лікарського препарату – складний, тривалий у часі процес. На тепе-

I.C.Чекман – доктор мед. наук, професор, член-кореспондент НАН та НАМН України, завідувач кафедри фармакології та клінічної фармакології Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця (м. Київ)

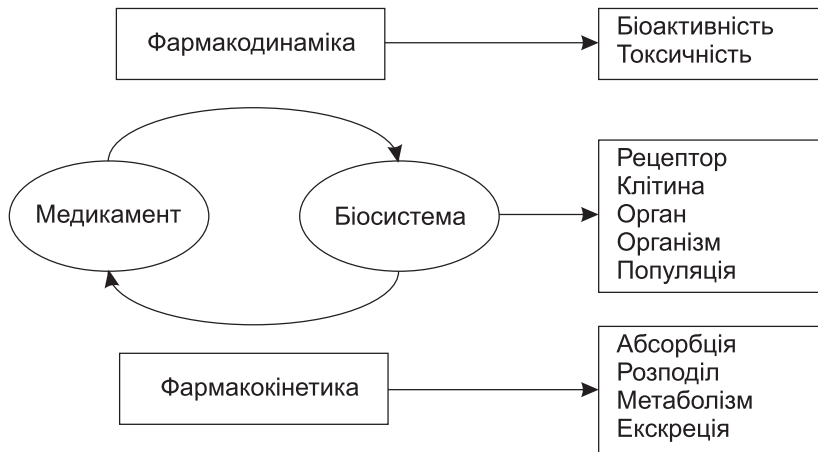


Рис. 1. Модель взаємодії «медикамент/біологічна система» [21], з доповненнями]

рішній час розробка лікарського засобу об'єднує експериментальні методи визначення структури речовин з теоретичними методиками CAMD (computer-aided molecular design – автоматизоване молекулярне проектування). Цей термін включає велику кількість розрахункових методів хімії. Вони поділяються на 2 групи в залежності від предмету досліджень. В основі досліджень першої лежить ліганд, другої – білкова структура клітини-мішені.

Взаємодія ліганду з мішенню досліджується за допомогою двох різних груп методів:

ліганд-орієнтованої та мішень-орієнтованої. Мішень-орієнтовані методи полягають у безпосередній побудові тривимірної структури білка-мішені. Ліганд-орієнтовані методи – це аналіз властивостей набору лігандів та розробка моделей взаємодії ліганду з мішенню без попередніх знань про структуру білка-мішені [9, 22, 75].

Вибір конкретного методу *in silico* досліджень залежить від обсягу вже відомої інформації про мішень чи ліганд. Процес вибору може бути зображений у вигляді алгоритму (рис. 2).

Мішень-орієнтовані методи в *in silico* дослідженнях. Мішень-орієнтовані методи CAMD засновані на використанні попередньо отриманої інформації щодо молекулярної структури білків. Ці методи, з одного боку, надають вичерпну інформацію щодо очікуваної конформації та орієнтації ліганду в активному центрі білка (докінг) та, з іншого боку, раціональну оцінку його афінності (оціночна функція) [21].

Основним мішень-орієнтованим методом є молекулярний докінг (рис. 3). В його основі лежить підхід співставлення малих молекул із активним центром рецептора з метою виявлення уявного ліганду з найбільшою афінністю – кандидата для створення нового лікарського засобу [12].

З цією метою використовуються багато програм, серед яких AutoDock, FlexX, GOLD, DOCK [10], Surflex-Dock, FRED [38], DynaDock [5]. За допомогою молекулярного докінгу були відкриті нові інгібітори циклін-залежних кіназ, кіназ рецепторів епідермального та судинного ендотеліального факторів росту [48], інгібітори ВІЛ протеаз (рис. 4)

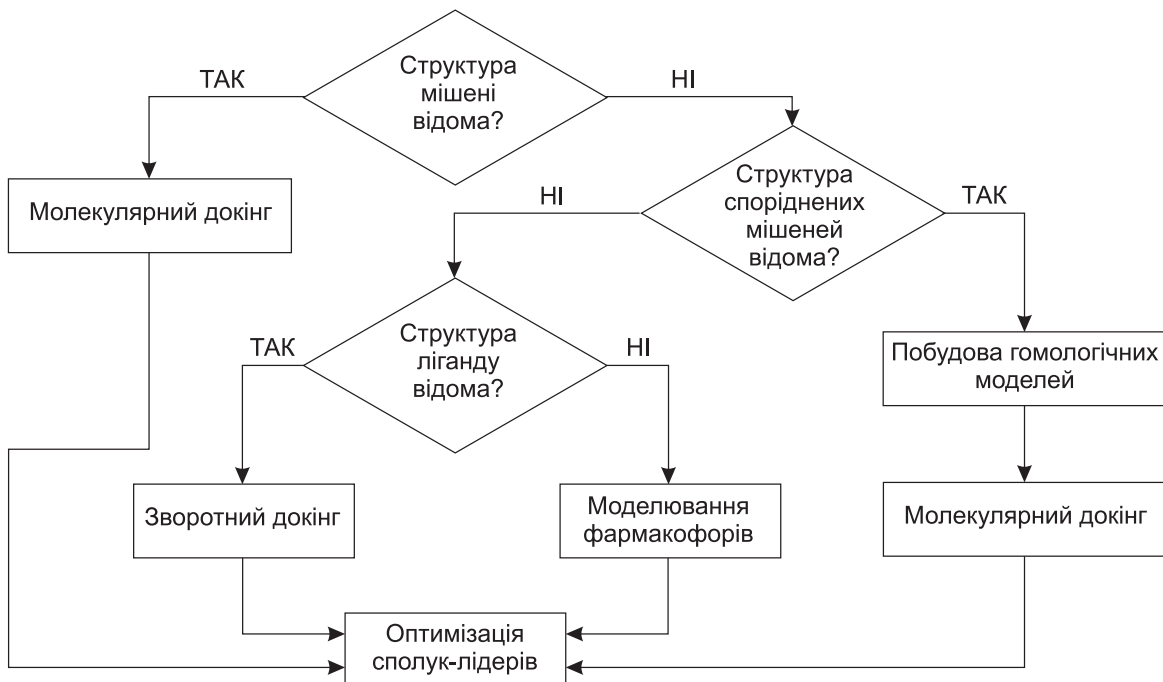


Рис. 2. Загальний алгоритм *in silico* досліджень

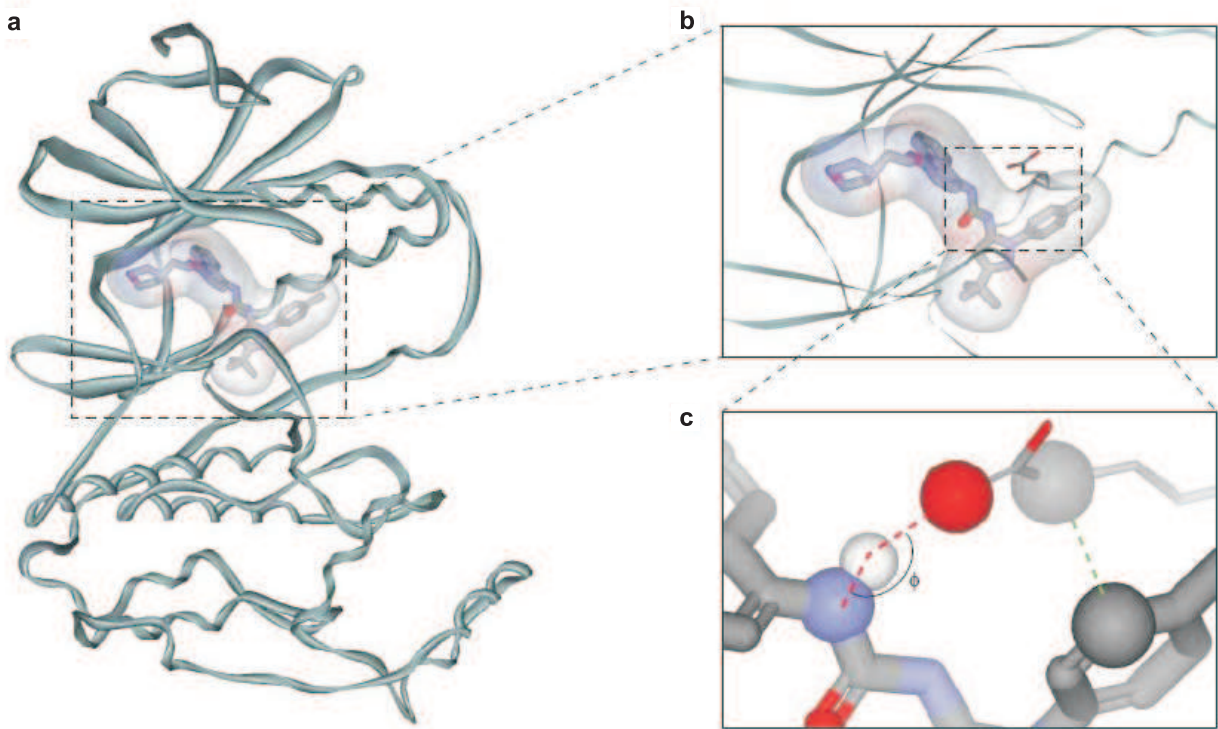


Рис. 3. Модель молекулярного докінгу: а – структура протеїнкінази р38 у сполученні з інгібітором BIRB796; б – збільшене зображення активного центру; с – взаємодія групи Glu71 з BIRB796 [33]

[33], моноацилгліцерол ліпази [74], стероїдної ароматази [16].

У залежності від принципів, за якими відбувається підстановка ліганду в активний центр білка, розрізняють систематичні, стохастичні та симуляційні методи молекулярного докінгу. В основі систематичного методу лежить пошук лігандів у електронних базах даних з врахуванням всіх їх можливих конформацій, що вимагає значних витрат часу. У якості альтернативи використовується стратегія *de novo* дизайну, яка полягає у докінгу окремих фрагментів з подальшим їх об'єднанням у молекулу-ліганд. Такий підхід використовують програми Groupbuild, GenStar, Grow та Growmol. Також використовується метод визначення стійких (основний фрагмент) та гнучких (бокові ланцюги) частин молекули. Стійкі частини під час докінгу залишаються незмінними, а гнучкі компоненти змінюють кут обертання. Варіанти лігандів з найменшою афінністю поступово відкида-

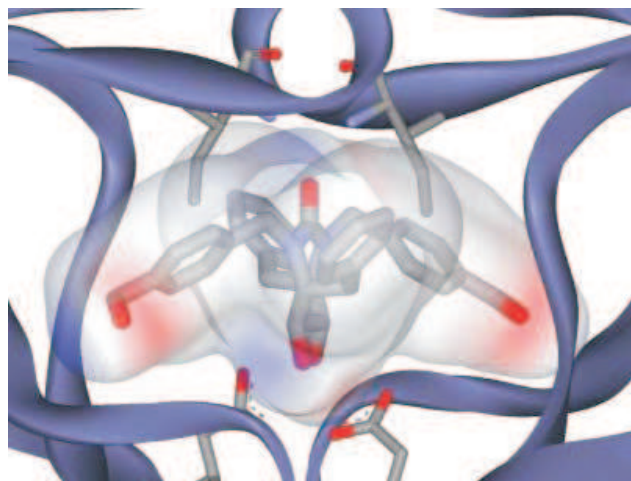


Рис. 4. Модель зв'язування інгібітора Dmp323 з ВІА протеазою: зображений електростатичний потенціал інгібітора; групи Ile50 та Asp25 стабілізують зв'язок [33]

ються у процесі зміни бокових ланцюгів, що зменшує загальну складність обчислень.

Стохастичні методи молекулярного докінгу засновані на створенні випадкових змін у структурі ліганду та оцінці їх впливу на афінність. Один з найбільш популярних методів даної групи – Monte Carlo. Даний підхід реалізується через декілька етапів. Спочатку створю-

ється початкова конфігурація ліганду в активному центрі та проводиться його оцінка. Потім створюється новий ліганд, який також оцінюється. Для визначення того, чи підходить даний ліганд, використовується Метрополіс-критерій. Сутність критерію: якщо наступний ліганд має кращу оцінку, він одразу приймається, а якщо гіршу – застосовується функція імо-

вірності Больцмана. Етапи пошуку повторюються до отримання необхідної конфігурації [33].

До стохастичних належить також метод генетичних алгоритмів. Параметри моделі ліганду кодуються у «хромосомі». Випадковим чином створюється «популяція», тобто сукупність різних «хромосом», які оцінюються. «Хромосоми» лігандів, що отримали найкращу оцінку, піддаються «генетичним операціям» для формування нових «хромосом». Головними операціями є «кросингвер» – з'єднання частин «хромосом» попередньої генерації для створення нових «хромосом» та «мутація» – додавання у «хромосому» випадкової інформації. Процес триває до отримання необхідного набору параметрів ліганду [33, 72].

Великої популярності також набув стохастичний метод табу-пошуку. Процедура починається з побудови випадкового початкового рішення (структури ліганду) та його оцінки. Після цього створюються та оцінюються можливі «сусіди» – рішення, що можуть бути отримані з початкового шляхом впровадження елементарних змін. Нове рішення обирається з «сусідів» попереднього. Таким чином, завершується один крок алгоритму. Для запобігання повторів метод записує останні кроки у табу-список. Максимальна кількість кроків у табу-списку задається користувачем. Коли список повністю заповнений, кроки виключаються з нього за принципом «first-in, first-out» [69]. Табу-список зберігає крок з попереднім рішенням та забороняє пошуковій системі повторювати кроки, що приводили до цього рішення. Якщо кращий з «сусідів» відсутній у табу-списку, він обирається як нове рішення. Нове рішення буде прийнято навіть у тому випадку, коли краще рішення «сусід» гірше, ніж початкове рішення. Таким чином, метод запобігає зупинці алгоритму на рішенні, що

є локальним мінімумом. Як тільки «сусід» був обраний як нове рішення, він додається у табу-список. Якщо крок, що знаходиться у табу-списку, веде до нового оптимального рішення, застосовується критерій прагнення (aspiration criterion), який дозволяє знову виконати даний крок. Якщо отримане на певному етапі рішення задовольняє бажаним вимогам або кількість кроків досягає визначеного користувачем ліміту, процедура зупиняється [8, 62].

В основі симуляційних методів лежать закони молекулярної динаміки – комп'ютерних методик дослідження взаємодії атомів та молекул за певний період часу та створення картини руху частинок. Молекулярна динаміка є своєрідним «віртуальним мікроскопом» з надвисокою роздільною здатністю. Цей мультидисциплінарний метод дослідження взаємодії сполук поєднує закони математики, фізики і хімії з алгоритмами інформатики. Симуляція взаємодії атомів є надтривалим у часі процесом та вимагає великої потужності комп'ютерного обладнання. Для постановки експерименту необхідно вибрати кількість частинок, крок та час взаємодії таким чином, щоб процес створення симуляції закінчився якомога скоріше. Разом з тим симуляція повинна бути достатньо тривалою, щоб відповідати кінетиці досліджуваного процесу. Частковим вирішенням даної проблеми є створення паралельних алгоритмів, що дозволяють розподілити навантаження між комп'ютерами. Головною задачею процесора під час побудови симуляції є оцінка потенціалу (силового поля) як функції координат частинок. Інший фактор, що збільшує загальний час, необхідний для створення симуляції, – це розмір кроку, а саме проміжок часу між двома оцінками потенціалу. Крок повинен бути до-

статньо малим, щоб запобігти виникненню помилок дискретності, тобто меншим, ніж найбільш швидка частота вібрації у системі. Величина кроку зазвичай становить близько однієї фемтосекунди ($1 \cdot 10^{-15}$ с). Ця величина може бути збільшена завдяки алгоритму обмеження SHAKE, який стабілізує вібрацію атомів водню, та його модифікаціям. Найбільш популярними пакетами програмного забезпечення для моделювання динаміки біомолекул є AMBER, CHARMM та GROMOS [3, 31, 50].

Для оцінки афінності ліганду використовують 3 класи оціночних функцій: засновані на силовому полі, емпіричні та засновані на знаннях. Силове поле – функція, що виражає енергію системи як суму різних показників молекулярної механіки. Найчастіше це енергія взаємодії «протеїн-ліганд» та внутрішня енергія ліганду. Різні оціночні функції базуються на різних наборах параметрів силового поля. Наприклад, у програмі AutoDock використовується набір параметрів AMBER force field [33].

Емпіричні оціночні функції (empirical scoring functions) та засновані на знаннях оціночні функції (knowledge-based scoring functions) використовують експериментальні дані. Емпіричні оціночні функції базуються на моделі, де афінність виражена у якості суми усіх можливих складових взаємодії, таких як сили Ван-дер-Ваальса, водневі зв'язки, гідрофобний ефект тощо. Для побудови нової емпіричної оціночної функції необхідно використання тренувального набору кристалографічних структур бінарних комплексів «протеїн-ліганд», для яких експериментально обчислене значення афінності. Наступний крок – застосування регресійного аналізу для пошуку найкращого збігу між передбаченою та отриманою в експерименті афінністю та окрема оцінка кожної

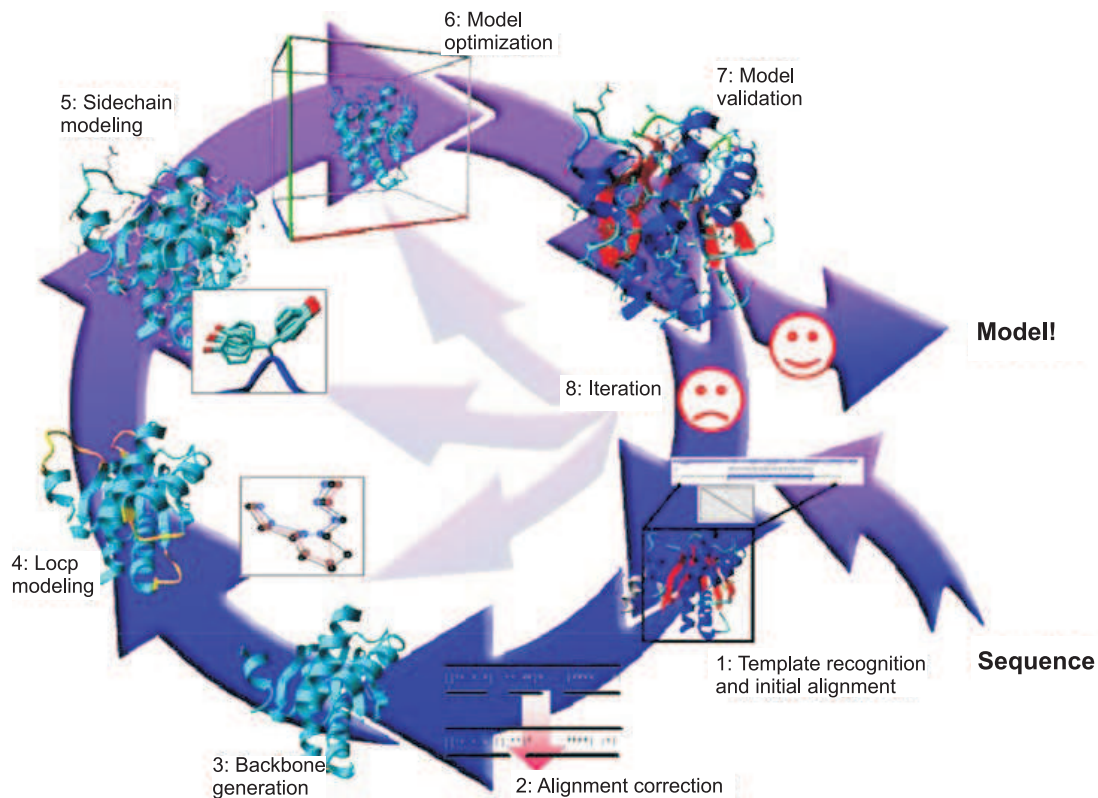


Рис. 5. Стадії побудови гомологічної моделі [71]

складової взаємодії [23, 66]. Емпіричні оціночні функції представлені у програмах SFCscore, ChemScore, Lig-Score, Validate [66] та X-SCORE [69].

Засновані на знаннях оціночні функції використовують статистичну обробку експериментально отриманих комплексів «протеїн-ліганд» для створення правил щодо геометрії взаємодії. Ці правила є «псевдопотенціалами», які використовуються для оцінки афінності лігандів у генерованих комп'ютером моделях. Такий статистичний підхід дає можливість врахувати фізичні ефекти, що на теперішній час ще не є цілком зрозумілими з теоретичної точки зору (сольватація, поляризація), а тому не можуть бути враховані при створенні оціночної функції силового поля. Відомою оціночною функцією є PMFScore, що базується на енергії Гельмгольца, отриманої з 697 кристалографічних комплексів «протеїн-ліганд» [26]. У 2000 р. німецькими вченими була розроблена оціночна функція DrugScore,

яка використовувала інформацію щодо взаємодії 1376 комплексів «протеїн-ліганд» з бази даних Relibase [25].

На теперішній час існують також «консенсус» оціночні функції, які об'єднують підходи всіх трьох перелічених вище класів [33, 63].

На початку досліджень у сфері докінгу молекулярна структура мішеней визначалася експериментально за допомогою методів рентгеноструктурного аналізу або ЯМР. Молекулярний докінг залишався досить складним процесом, незважаючи на більш ніж 25 років досліджень у даній сфері. Це пояснювалося складністю отримання максимально точної інформації щодо будови білка-мішені експериментальним шляхом [33, 39]. На жаль, через ці технічні складності навіть тепер відомі далеко не всі 3D структури терапевтично значущих родин протеїнів [21].

В останні роки велику увагу привернув докінг-метод визначення структури мішеней,

експериментальне отримання яких не є можливим – метод побудови гомологічних моделей (homology modelling techniques). Його сутність полягає у генеруванні структури мішені за допомогою комп'ютерного моделювання на основі шаблонної структури подібних мішеней із використанням інформації щодо лігандів як обмеження. Серед популярних засобів побудови гомологічних моделей – програма MODBASE [54], веб-сервери Robetta [14], CHOYCE [56] та SWISS-MODEL [6]. Прикладом застосування цього методу є відкриття структури декількох спряжених з G-білком рецепторів (GPCR) [7, 21].

Процес побудови гомологічної моделі включає 8 стадій (рис. 5):

1. Створення шаблону та початкове вирівнювання між шаблоном та модельною послідовністю (пошук у базі даних протеїнів Protein Data Bank за допомогою програми PSI-BLAST) [4].

2. Оцінка вирівнювання, заснована на використанні моле-

кулярних класових інформаційних систем – Molecular class-specific information systems (MCSISs), які містять багато додаткової інформації щодо конкретного класу білків; прикладом такої системи є GPCRDDB, що містить дані щодо послідовностей, структури, мутацій та взаємодії з лігандами родини спряжених з G-білком рецепторів [29].

3. Створення основи моделі.

4. Заповнення проміжків та створення петель; обирається петля з мінімальною вільною енергією [73].

5. Додавання бокових ланцюгів із використанням електронних бібліотек ротамерів, отриманих за допомогою методів рентгеноструктурного аналізу [13, 18, 44].

6. Молекулярно-динамічна симуляція моделі для виявлення помилок (ця стадія може бути вибірково включена до алгоритму).

7. Валідація моделі за допомогою спеціального програмного забезпечення WHAT_CHECK [28].

8. Отримання готової моделі чи повтор процесу моделювання із заміною шаблону, початкового вирівнювання чи повторним проходженням окремих стадій [71].

В останні роки увагу вчених привернули дослідження із зворотного докінгу, в якому здійснюється пошук у Protein Data Bank мішеней для вже відомих лігандів. Докінг заснований на процедурі, що включає множинно-конформаційне співставлення молекул з активними центрами білків. Оцінка збігу засновується на врахуванні енергії міжмолекулярного зв'язку та, якщо можливо, на визначенні інших лігандів, що зв'язуються з цим рецептором. За допомогою зворотного докінгу були визначені мішені 4Н-тамоксифену та токоферолу. Застосування цього методу дозволить визначити невідомі білки-мішені, зв'язок з якими є причиною виникнення фарма-

кологічних ефектів медикаментів [12].

Відома програма INVDOCK застосовує зворотній докінг для пошуку білків-мішеней та передбачення токсичності речовин. INVDOCK використовує базу даних з 147 протеїнів, які беруть участь у виникненні побічних ефектів (DART). За допомогою цієї програми були визначені 11 антиретровірусних лікарських засобів з високою активністю проти β -ДНК-полімерази та ДНК-топоізомерази I [30].

У 2006 р. створений веб-сервер зворотного докінгу TarFisDock, що дозволяє проводити скринінг бази даних Potential Drug Target Database, який містить 698 протеїнів [41]. Процедура пошуку білків-мішеней: введення інформації щодо біологічно активної сполуки чи існуючого медикаменту, зворотній докінг із використанням баз даних протеїнів, аналіз гомологів отриманих білків, подальша оцінка біологічної активності.

Ліганд-орієнтовані методи в *in silico* дослідженнях. На теперішній час далеко не всі 3D структури терапевтично значущих родин протеїнів відомі, тому широко використовуються ліганд-орієнтовані методи – аналіз властивостей набору лігандів та розробка моделей взаємодії ліганду з мішенню без попередніх знань про структуру білка-мішені.

До ліганд-орієнтованих методів належить віртуальний скринінг, побудова фармакофорів та метод кількісного співвідношення структура-активність (QSAR). Останній знайшов широке використання також у оптимізації сполук-лідерів [2]. Віртуальний скринінг полягає у пошуку необхідного ліганду серед великої кількості відомих сполук у молекулярних базах даних [22, 49, 75]. Інструментом скринінгу баз даних є параметри, що описують власти-

вості необхідного ліганду – фармакофорні дескриптори. Мета пошуку – відбір молекул з потенційно високою афінністю до мішені. Сполуки, що підходять найбільше (сполуки-лідери), замовляються у підприємства, яке надає базу даних, та проходять подальші випробування та оптимізацію *in vitro*. Таким чином, дорогого та тривалого процесу хімічного синтезу можна уникнути, обравши декілька комерційно доступних сполук. Як результат, віртуальний скринінг порівняно з методом хімічного синтезу є більш ефективним та знайшов широке використання [9, 21].

Серед найбільш відомих баз даних віртуального скринінгу – WOMBAT (Sunset Molecular Discovery LLC), що містить 120 400 молекул, про які згадувалося у журналах з медичної хімії протягом останніх 30 років. База даних MDL Drug Data Report чи MDDR (MDL Information Systems) містить інформацію, зібрану з наукової літератури, журналів та конгресів, про терапевтичну дію та біологічну активність більш ніж 132 000 сполук. База даних AurSCOPE (Aureus Pharma) надає колекцію хімічних бібліотек з 320 000 молекул. І нарешті, бази даних MedChem та Target Inhibitor (GVK Biosciences) зібрали більше 2 000 000 молекул та інформацію з 20 000 наукових публікацій щодо їх активності та токсичності по відношенню до відповідних родин протеїнів [21].

На велику увагу заслуговує метод моделювання фармакофорів. Згідно з визначенням ІЮПАК (1997) фармакофор – це сукупність просторових та електронних властивостей, необхідних для забезпечення оптимальних молекулярних взаємодій зі структурою специфічної біологічної мішені, що викликають її біологічний відгук. Фармакофор не є реальною молекулою або реальною сукупністю функціональних груп, а вказує на загальні

молекулярні властивості груп сполук стосовно структури мішені. Фармакофор також може розглядатися як велика сукупність наборів активних молекул [27].

Фармакофор містить інформацію щодо структури, фізико-хімічних та квантово-фармакологічних властивостей, які, в свою чергу, визначають фармакологічну активність речовини, особливості впливу на органи і системи організму, обмін речовин тощо. Одного разу знайдений фармакофор може виступати потужною моделлю у різноманітних методах раціонального дизайну ліків, таких як віртуальний скринінг та *de novo* дизайн [59, 60]. Розроблені фармакофори перспективних лікарських засобів для лікування лейшманіозів [55], хвороби Альцгеймера [11], малярії [24, 51], діабету другого типу [42, 67], онкозахворювань [43] та багатьох інших патологій.

У 2002 р. американськими вченими розроблена модель фармакофору для лігандів, що зв'язуються з прегнан-Х-рецептором (PXR) – протеїном множинної лікарської стійкості (MDR), який регулює метаболізм та виведення солей жовчних кислот, стероїдів та ксенобіотиків [35, 47, 57, 65]. Ця модель може використовуватися як фільтр для ідентифікації сполук, що зв'язуються з PXR, до їх випробування *in vitro*. Це допоможе у виявленні молекул з меншою афінністю до PXR, а отже – у запобіганні індукції великої кількості метаболізуючих ліки ферментів [19].

Модель фармакофору може бути отримана за допомогою різних програм, найбільш відомими серед яких є ALADDIN, DISCO, GERM, COMPASS, GASP, Catalyst HIPHOP, SCAMPI, Catalyst Hypogen, CLEW GAMMA, PARM та DANTE [9]. Багато вчених світу використовує веб-сервер для створення фармакофорів PharmaGist. Розглянемо алгоритм по-

шуку фармакофорів, представлений у цій системі. Вихідними даними є тривимірні моделі лігандів, факт взаємодії яких з мішенню науково підтверджений, та фізико-хімічні властивості цих лігандів. Процес пошуку складається з декількох етапів.

1. Кожен з лігандів розглядається системою окремо. Визначаються зв'язки ліганду, що обертаються. За цими зв'язками ліганди об'єднуються у групи. Один з лігандів набуває статусу «штифт» (pivot). Це може бути попередньо задана користувачем чи випадково обрана системою сполука. Якщо «штифт» обраний алгоритмом випадково, то цей статус послідовно надається кожному ліганду. У якості попередньо заданого користувачем «штифту» може виступати сполука з найвищою афінністю до рецептора або ліганд з найменшою кількістю зв'язків, що обертаються у досліджуваній структурі.

2. «Штифт» (стала величина) попарно порівнюється з кожним лігандом (перемінна величина). Кожній парі сполук надається оцінка, яка є сумою властивостей, що співпали. Результат етапу – велика кількість пар сполук, що мають високий ступінь збігу.

3. Парні групи об'єднуються у множинні групи. Завдання етапу – знайти значимі властивості «штифту», що співпадають з властивостями більшості парних груп різних лігандів.

4. Фармакофори-кандидати, отримані з різних «штифтів», об'єднуються. Ті, що отримали найвищу оцінку, виводяться програмою як результат. Отримані фармакофори можуть бути використані у процесі дизайну ліків для подальшого створення нових сполук-лідерів [59, 60].

Оптимізація сполук-лідерів. Сполуки-лідери підлягають подальшій оптимізації, що має на меті максимізацію бажаних та мінімізацію небажаних по-

бічних ефектів. Найбільш відомим методом оптимізації є QSAR.

Виходячи з монументального правила хемогеноміки, згідно з яким сполуки, що проявляють подібну специфічну дію на рецептор, мають бути подібні за структурою [17, 39], можна дійти висновку, що існує залежність між структурою речовин та їх активністю. Ця залежність може бути виражена рівнянням. Пошук кількісних співвідношень структура-активність та процес побудови відповідних моделей-рівнянь отримав назву QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship).

QSAR використовується у якості інструменту передбачення та оцінки фармакокінетичних та фармакодинамічних властивостей хімічних речовин та заснований на моделі тренувального набору сполук з відомою активністю та визначеною структурою. Традиційно QSAR може бути представлений і без комп'ютера. Проблема відношення структура-активність була висвітлена ще у 1899 р. німецьким ученим Гансом Мейєром, який запропонував «ліпідну теорію інгібування клітин», у якій встановлювався зв'язок між величиною коефіцієнту розподілу розчинності речовин та їх дією. Більш стрімкий розвиток QSAR відбувся у 60-ті роки ХХ ст., коли почали впроваджуватися комп'ютерні технології для побудови математичних моделей структура-активність [45].

Концепція QSAR побудована на переведенні хімічної структури у числову форму за допомогою молекулярних дескрипторів. На теперішній час існує безліч дескрипторів, що описують різні властивості речовин: електронні, стеричні, квантово-механічні, конформаційні та термодинамічні. Необхідність дослідження нових властивостей сполук приводить до створення нових молекулярних дескрипторів, які об'єднуються у бази да-

них. Прикладом такої бази даних є MOLE db, що містить інформацію стосовно 234 773 молекул та 1124 дескрипторів.

Задача QSAR полягає у порівнянні великої кількості дескрипторів та визначенні, які з них корелюють з досліджуваними параметрами фармакодинаміки чи фармакокінетики. Встановлення такого зв'язку здійснюється за допомогою побудови регресійного рівняння. Чим більша кореляція, тим більше дескриптор впливає на параметр. Для QSAR розрахунків використовують спеціальні програми, наприклад, E-DRAGON. Ця програма містить інформацію стосовно 1600 дескрипторів, які застосовуються для оцінки відношень структура-активність.

Моделі, побудовані на основі одночасно лінійних та топографічних дескрипторів, називаються 2D-QSAR та широко використовуються для передбачення фізико-хімічних властивостей речовин та надання кількісних оцінок біологічних ефектів хімічних сполук [17].

На перевагу попереднім, 3D-QSAR моделі враховують просторову тривимірну структуру молекул. Характерною рисою 3D дескрипторів є їх залежність від молекулярної конформації. Тому багато 3D-QSAR методів вимагає «вирівнювати» молекули перед побудовою моделей. Існує декілька способів «вирівнювання» молекул, серед яких найбільш широко застосовується метод проекції атомів на уявну площину (одна зі складових методу CoMFA) [15, 40] та докінг сполук у активний центр мішені, що застосовується у випадках, коли відома структура цього центру [52].

Конформаційні обмеження розглянутих методів мотивували появу альтернативного 3D-QSAR підходу, що базується на статистичному аналізі просторового розташування молекул GRIND без проекції дескрипто-

рів на площину-сітку (GRid-INdependent descriptors). Цей метод представлений у програмі ALMOND [53].

Існує декілька процедур підрахунку оптимальних результатів QSAR. Найбільш часто використовуються методи внутрішньої перехресної оцінки *leave-one-out* (q2 LOO) та *leave-10%-out* (q2_10). У методі q2_10 застосовується процедура 10% x 10%, згідно з якою сполуки, що входять до масиву даних, у випадковому порядку розділяються на 10 рівних за кількістю частин (кожна по 10%). При кожному повторі процесу оцінки одна з цих частин видаляється з масиву даних, а нова модель будується з інших 90%. Видалені 10% є масивом порівняння для цієї нової моделі. Потім видаляються інші 10%, і процес пошуку повторюється 10 разів, поки кожні 10 сполук не будуть використані у якості масиву порівняння. Метод q2 LOO подібний до q2_10 за процедурою порівняння, але відрізняється тим, що за один цикл замість десяти сполук з масиву даних видаляється тільки одна. Цей метод дає більш точні результати, але є більш тривалим та вимагає застосування комп'ютерного обладнання більшої потужності.

Існує декілька проблем, пов'язаних із застосуванням QSAR моделей. Першою є обов'язковість забезпечення її достовірними вихідними даними та вибір доцільного набору дескрипторів. Якщо модель буде містити невірні дані, то результати також будуть носити помилковий характер. Передбачення QSAR є більш точними, якщо для побудови моделей використовуються більш широкий обсяг інформації стосовно біологічних та хімічних властивостей досліджуваних сполук. Другою проблемою є складність застосування методів QSAR для органометалічних комплексів, рослинних екстрактів та високомолекулярних сполук-полімерів через від-

сутність достатньо повного уявлення щодо структури та властивостей цих речовин. Інша проблема полягає у поліфармакології. Медикаменти можуть одночасно діяти за різними механізмами та впливати на різні мішені. Враховуючи дані обмеження, можна зробити висновок, що QSAR дослідження повинні проводитися не ізольовано, а у поєднанні з іншими джерелами інформації та методами дослідження [45].

Методи QSAR зазвичай не враховують шляхи подальшого метаболізму сполук в організмі та їх метаболічну активацію. Тому перед побудовою моделі необхідно дослідити накопичені наукові дані щодо метаболізму сполук чи спрогнозувати можливу структуру метаболітів, а потім досліджувати ці метаболіти за допомогою QSAR [45]. Однак існують програми, що використовують бази даних *in vitro* та *in vivo* досліджень для передбачення метаболізму речовин в організмі людини: MetabolExpert, META та METEOR [34, 37, 68].

До відомих та вдалих програм оптимізації сполук-лідерів слід віднести програму PASS, яка прогнозує 2468 видів біологічної активності, включаючи фармакологічні ефекти, мутагенність, канцерогенність, тератогенність та ембріотоксичність. Точність прогнозу в 85% достатня для практичного використання системи PASS з метою прогнозу спектра біологічної активності нових речовин. Результати прогнозу виводяться програмою у вигляді списку назв можливих видів активності з розрахованими оцінками вірогідності наявності (Pa) та відсутності (Pi) кожного виду активності, які мають значення від 0 до 1. Чим більше для конкретної активності величина Pa і чим менше величина Pi, тим більше шанс підтвердити дану активність в експерименті [1, 36].

Важливим методом у виборі найкращих сполук-лідерів, зокрема при розробці медикаментів, що приймаються *per os*, є фільтрація отриманих у результаті *in silico* досліджень сполук за молекулярними та фізико-хімічними властивостями, що забезпечують належне ADME (абсорбція, розподілення, метаболізм та екскреція) [22]. Цей метод реалізований через «правило п'яти» американського хіміка Ліпінського – набір критеріїв для передбачення оральної біодоступності сполуки на основі простих молекулярних ознак. Згідно з цим правилом ліки, що приймаються орально, мають відповідати щонайменше трьом з наведених нижче критеріїв:

- не більше 5 донорів водневих зв'язків;
- не більше 10 акцепторів водневих зв'язків;
- молекулярна маса менше 500 дальтон;
- логарифм константи розподілу октанол/вода $\log P$ менше 5 ($\log P$ є мірою розчинності ліків у воді та гідрофобних середовищах, прикладом яких є клітинні мембрани) [9].

Використання методів *in silico* у токсикології. Останнім часом великий інтерес викликає використання технологій *in silico* для доклінічного передбачення токсикологічних ефектів медикаментів. Науковий світ зацікавлений у використанні таких технологій як інструмента, що визначає безпечність препаратів та інших ксенобіотиків. Активні хімічні речовини можуть бути досліджені за допомогою спеціальних програм та баз даних. *In silico* токсикологія використовує скринінг токсикологічних баз даних, QSAR моделювання, ліганд- та мішень-орієнтовані методи.

Головна концепція створення токсикологічних баз даних – використання отриманої з токсикологічних досліджень науко-

вої інформації для побудови електронного ресурсу, за допомогою якого можна передбачувати та порівнювати токсичні ефекти сполук [45].

Зараз створені бази даних для вивчення канцерогенних властивостей сполук (CCRIS – Chemical carcinogenesis research information system), гепатотоксичності (Acutoxbase [32]), кардіотоксичності (AERS – Adverse Event Reporting System [46]) та алергічних реакцій на ксенобіотики [58]. Розробки спеціалізованих баз даних ведуться у напрямку створення електронних ресурсів для дослідження токсичного впливу медикаментів на дихальну, імунну та центральну нервову системи.

Кроком уперед у квантовій фармакології є впровадження заснованих на людських знаннях методів *in silico* (knowledge-based methods), які часто є більш достовірними та точними, ніж машинні алгоритми, засновані лише на статистичних даних. У таких методах створюються експертні правила, засновані на даних літератури та на власному досвіді вчених. Це варіант симбіозу та поєднання методів *in cerebro* з комп'ютерними QSAR методами. Найбільш відомі програми, що застосовують даний підхід – EPA OncoLogic™ та Lhasa Ltd.'s Derek for Windows (DFW).

У *in silico* ADME-Tox-підходах застосовуються правило Ліпінського та багато інших важливих загальних положень відносно властивостей, які треба враховувати протягом доклінічної розробки ліків, наприклад, проникність гематоенцефалічного бар'єру для нейротропних лікарських засобів. Таким чином, використання ADME-Tox програм для аналізу індивідуальних сполук та класів сполук, знайдених за допомогою віртуального скринінгу токсикологічних баз даних, може бути надзвичайно інформативним. ADME-Tox підходи вирішують

фармакокінетичні та токсикологічні питання стосовно участі ліків у організмі [45].

Практичний приклад застосування *in silico* у токсикології представлений англійським вченим M. Segall та колегами. Вони провели скринінг 3000 сполук з віртуальної бібліотеки, що нараховувала більше 13000 речовин. Ці сполуки перевірялися на водорозчинність, всмоктуваність у кишечнику, $\log P$, зв'язування з білками плазми крові, афінність до цитохрому P₄₅₀2D6 та 2C9, IC₅₀ для калієвих hERG каналів кардіоміоцитів, проникність гематоенцефалічного бар'єру. В результаті молекули, відповідно до ADME показників, були класифіковані на 13 серій хемотипів. Надалі було синтезовано 185 сполук із передбаченими ADME властивостями. Результати випробувань *in vitro* підтвердили вірність передбачень *in silico* [61].

ВИСНОВКИ

Створення та удосконалення технологій *in silico* – новий крок у розробці та оптимізації лікарських засобів, дослідженні фармакокінетичних і фармакодинамічних параметрів сполук-лідерів та медикаментів. Методи *in silico* включають молекулярний докінг, метод побудови гомологічних моделей, зворотній докінг, віртуальний скринінг, моделювання фармакофоров, QSAR та використання електронних баз даних хімічних сполук. Ці методи знайшли широке застосування у відкритті та оптимізації нових сполук з високою афінністю щодо біологічних мішеней, визначенні параметрів їх абсорбції, розподілу, метаболізму та екскреції, а також інших фізико-хімічних характеристик.

Дослідження *in silico*, на відміну від експериментальних досліджень, потребують менше часу та коштів, мають високий рівень відтворюваності, не потребують хімічного синтезу великої кількості сполук, змен-

шують необхідність проведення дослідів на тваринах та можуть проходити постійну оптимізацію.

In silico фармакологія безупинно продовжує свій розвиток та створює багато інструментів, які допомагають

ученим у відкритті нових мішеней та сполук-лідерів з передбаченою біологічною дією на них.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бобкова Л.С., Чекман І.С., Яворовський О.П. та ін. // *Сучасні проблеми токсикол.* – 2008. – №2. – С. 78-86.
2. Чекман І.С., Небесна Т.Ю., Барабаш О.В. // *Вісник фармакол. та фармацевції.* – 2009. – №11-12. – С. 7-14.
3. Alonso H., Bliznyuk A.A., Gready J.E. // *Med. Res. Rev.* – 2006. – Vol. 26, №5. – P. 531-568.
4. Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A. et al. // *Nucl. Acids Res.* – 1997. – Vol. 25, №17. – P. 3389-3402.
5. Antes I. // *Proteins.* – 2010. – Vol. 78, №5. – P. 1084-1104.
6. Arnold K., Bordoli L., Kopp J., Schwede T. // *Bioinformatics.* – 2006. – Vol. 22, №2. – P. 195-201.
7. Bissantz C., Bernard P., Hibert M., Rognan D. // *Proteins.* – 2003. – Vol. 50, №1. – P. 5-25.
8. Blazewicz J., Lukasiak P., Milostan M. // *Artif. Intell. Med.* – 2005. – Vol. 35, №1-2. – P. 135-145.
9. Chang C., Ekins S., Bahadduri P., Swaan P.W. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2006. – Vol. 58, №12-13. – P. 1431-1450.
10. Chang M.W., Ayeni C., Breuer S., Torbett B.E. // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5, №8. – P. e11955.
11. Chen D., Martin Z.S., Soto C., Schein C.H. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 17, №14. – P. 5189-5197.
12. Chen Y.Z., Zhi D.G. // *Proteins.* – 2001. – Vol. 43, №2. – P. 217-226.
13. Chinea G., Padron G., Hooft R.W. et al. // *Proteins.* – 1995. – Vol. 23, №3. – P. 415-421.
14. Chivian D., Kim D.E., Malmstrom L. et al. // *Proteins.* – 2003. – Vol. 53, suppl. 6. – P. 524-533.
15. Cramer R.D., Patterson D.E., Bunce J.D. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1988. – Vol. 110, №18. – P. 5959-5967.
16. Dai Y., Wang Q., Zhang X. et al. // *Eur. J. Med. Chem.* – 2010. – Vol. 45, №12. – P. 5612-5620.
17. Dudek A.Z., Arodz T., Galvez J. // *Comb. Chem. High Throughput Screen.* – 2006. – Vol. 9, №3. – P. 213-228.
18. Dunbrack R.L. Jr., Karplus M. // *J. Mol. Biol.* – 1993. – Vol. 230, №2. – P. 543-574.
19. Ekins S., Erickson J.A. // *Drug Metab. Dispos.* – 2002. – Vol. 30, №1. – P. 96-99.
20. Ekins S., Mestres J., Testa B. // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 152, №1. – P. 21-37.
21. Ekins S., Mestres J., Testa B. // *Br. J. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 152, №1. – P. 9-20.
22. Ekins S., Shimada J., Chang C. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2006. – Vol. 58, №12-13. – P. 1409-1430.
23. Filgueira de Azevedo W., Dias R. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 16, №20. – P. 9378-9382.
24. Gemma S., Campiani G., Butini S. et al. // *J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 52, №2. – P. 502-513.
25. Gohlke H., Hendlich M., Klebe G. // *J. Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 295, №2. – P. 337-356.
26. Gohlke H., Klebe G. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* – 2001. – Vol. 11, №2. – P. 231-235.
27. Guerin G.A., Pratuangdejkul J., Alemany M. et al. // *Drug Discov. Today.* – 2006. – Vol. 11, №21-22. – P. 991-998.
28. Hooft R.W., Vriend G., Sander C., Abola E.E. // *Nature.* – 1996. – Vol. 381, №6580. – P. 272.
29. Horn F., Bettler E., Oliveira L. et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2003. – Vol. 31, №1. – P. 294-297.
30. Ji Z.L., Wang Y., Yu L. et al. // *Toxicol. Lett.* – 2006. – Vol. 164, №2. – P. 104-112.
31. Karplus M., McCammon J.A. // *Nat. Struct. Biol.* – 2002. – Vol. 9, №9. – P. 646-652.
32. Kinsner-Ovaskainen A., Rzepka R., Rudowski R. et al. // *Toxicol. In Vitro.* – 2009. – Vol. 23, №3. – P. 476-485.
33. Kitchen D.B., Decornez H., Furr J.R., Bajorath J. // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2004. – Vol. 3, №11. – P. 935-949.
34. Klopman G., Dimayuga M., Talafous J. // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* – 1994. – Vol. 34, №6. – P. 1320-1325.
35. Krasowski M.D., Yasuda K., Hagey L.R., Schuetz E.G. // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 19, №7. – P. 1720-1739.
36. Lagunin A., Stepanchikova A., Filimonov D. et al. // *Bioinformatics.* – 2000. – Vol. 16, №8. – P. 747-748.
37. Langowski J., Long A. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2002. – Vol. 54, №3. – P. 407-415.
38. Lape M., Elam C., Paula S. // *Biophys. Chem.* – 2010. – Vol. 150, №1-3. – P. 88-97.
39. Leach A.R., Shoichet B.K., Peishoff C.E. // *J. Med. Chem.* – 2006. – Vol. 49, №20. – P. 5851-5855.

40. Lemmen C., Lengauer T. // *J. Comput. Aided Mol. Des.* – 2000. – Vol. 14, №3. – P. 215-232.
41. Li H., Gao Z., Kang L. et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2006. – Vol. 34. – P. W219-W224.
42. Lin C.H., Peng Y.H., Coumar M.S. et al. // *J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 52, №8. – P. 2618-2622.
43. Ling Q., Huang Y., Zhou Y. et al. // *Bioorg. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 16, №15. – P. 7399-7409.
44. Lovell S.C., Word J.M., Richardson J.S., Richardson D.C. // *Proteins.* – 2000. – Vol. 40, №3. – P. 389-408.
45. Luis G., Valerio J. // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2009. – Vol. 241, №3. – P. 356-370.
46. Matthews E.J., Frid A.A. // *Regul. Toxicol. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 56, №3. – P. 247-275.
47. Moore L.B., Maglich J.M., McKee D.D. et al. // *Mol. Endocrinol.* – 2002. – Vol. 16, №5. – P. 977-986.
48. Muegge I., Enyedy I.J. // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 11, №6. – P. 693-707.
49. Nicolle E., Boumendjel A., Macalou S. et al. // *Adv. Drug Deliv. Rev.* – 2009. – Vol. 61, №1. – P. 34-46.
50. Okimoto N., Futatsugi N., Fuji H. et al. // *PLoS Comput. Biol.* – 2009. – Vol. 5, №10. – P. e1000528.
51. Opsenica I., Opsenica D., Lanteri C.A. et al. // *J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 51, №19. – P. 6216-6219.
52. Ortiz A.R., Pisabarro M.T., Gago F., Wade R.C. // *J. Med. Chem.* – 1995. – Vol. 38, №14. – P. 2681-2691.
53. Pastor M., Cruciani G., McLay I. et al. // *J. Med. Chem.* – 2000. – Vol. 43, №17. – P. 3233-3243.
54. Pieper U., Eswar N., Webb B.M. et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2009. – Vol. 37. – P. D347-D354.
55. Ponte-Sucre A., Gulder T., Wegehaupt A. et al. // *J. Med. Chem.* – 2009. – Vol. 52, №3. – P. 626-636.
56. Rawi R., Whitmore L., Topf M. // *Bioinformatics.* – 2010. – Vol. 26, №13. – P. 1673-1674.
57. Reschly E.J., Krasowski M.D. // *Curr. Drug Metab.* – 2006. – Vol. 7, №4. – P. 349-365.
58. Roberts D.W., Patlewicz G., Kern P.S. et al. // *Chem. Res. Toxicol.* – 2007. – Vol. 20, №7. – P. 1019-1030.
59. Schneidman-Dukhovny D., Dror O., Inbar Y. et al. // *J. Comput. Biol.* – 2008. – Vol. 15, №7. – P. 737-754.
60. Schneidman-Dukhovny D., Dror O., Inbar Y. et al. // *Nucleic Acids Res.* – 2008. – Vol. 36. – P. W223-W228.
61. Segall M.D., Beresford A.P., Gola J.M. et al. // *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* – 2006. – Vol. 2, №2. – P. 325-337.
62. Shen Q., Shi W.M., Kong W. // *Artif. Intell. Med.* – 2010. – Vol. 49, №1. – P. 61-66.
63. Shoichet B.K., McGovern S.L., Wei B., Irwin J.J. // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2002. – Vol. 6, №4. – P. 439-446.
64. Sieburg H. // *Stud. Sci. Compl.* – 1990. – №12. – P. 321-342.
65. Song X., Li Y., Liu J. et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2005. – Vol. 312, №2. – P. 571-582.
66. Sotriffer C.A., Sanschagrín P., Matter H., Klebe G. // *Proteins.* – 2008. – Vol. 73, №2. – P. 395-419.
67. Taha M.O., Dahabiyeh L.A., Bustanji Y. et al. // *J. Med. Chem.* – 2008. – Vol. 51, №20. – P. 6478-6494.
68. Testa B., Balmat A., Long A. // *Pure Appl. Chem.* – 2004. – №76. – P. 907-914.
69. Timmers L.F., Caceres R.A., Vivian A.L. et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2008. – Vol. 479, №1. – P. 28-38.
70. Tingjun H., Junmei W., Lirong C., Xu X. // *Protein Eng.* – 1999. – Vol. 12, №8. – P. 639-648.
71. Venselaar H., Joosten R.P., Vroliing B. et al. // *Eur. Biophys. J.* – 2010. – Vol. 39, №4. – P. 551-563.
72. Willett P. // *Trends Biotechnol.* – 1995. – Vol. 13, №12. – P. 516-521.
73. Xiang Z., Soto C.S., Honig B. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99, №11. – P. 7432-7437.
74. Yuriev E., Agostino M., Ramsland P.A. // *J. Mol. Recognit.* – 2011. – Vol. 24, №2. – P. 149-164.
75. Zou J., Xie H.Z., Yang S.Y. et al. // *J. Mol. Graph. Model.* – 2008. – Vol. 27, №4. – P. 430-438.

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ОЦІНКИ ПЕРЕНОСИМОСТІ ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ БІОЕКВІВАЛЕНТНОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

В.Є.Доброва

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: клінічне випробування; біоеквівалентність; коефіцієнт; оцінка; переносимість

Запропонована методика оцінки переносимості при дослідженні біоеквівалентності лікарських засобів, при розробці якої обґрунтована узагальнена структурна схема проведення дослідження згідно з вимогами ICH GCP і алгоритм статистичного планування та проведення оцінки переносимості/безпеки. Показані особливості та можливості реалізації цього алгоритму. Для змішаної моделі визначення показників при дослідженні БЕ розроблена методика оцінки переносимості та обґрунтована кількісна шкала оцінки еквівалентності переносимостей. Запропонована схема формування об'єднаних масивів даних для кожного з показників при перехресній моделі дослідження БЕ та методика статистичного порівняння безпеки однократного прийому генерика та референтного лікарського засобу.

Використання генеричних лікарських засобів (генериків) у повсякденній лікувальній практиці є буденною та економічно виправданою справою. Тим не менше, для споживача, а як наслідок і для фармацевтичного виробника важливим є забезпечення ідентичності генериків їх оригінальним «прототипам» та доказове підтвердження цього факту. У відповідності до настанови «Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності» для генериків залежно від особливостей лікарської форми та діючих речовин необхідно проводити ряд досліджень з метою доказу еквівалентної ефективності та безпеки [2-9, 12-14].

При розробці та впровадженні генерика вивчається його еквівалентність референтному інноваційному препарату (далі референтний ЛЗ), для чого, якщо можливо, вивчають біоеквівалентність (БЕ) [4, 6, 7] шляхом проведення клінічних випробувань (КВ). Необхідно акцентувати увагу на тому, що при оцінці БЕ так само як і на I фазі КВ до досліджень залучаються здо-

рові добровольці, тому вони мають свою специфіку і методологію планування, організації та проведення. Враховуючи це, у співавторстві зі Старченко М.Г. автором була запропонована модель розробки та дослідження генериків [2, 4]. Відповідно до цієї моделі одним із варіантів оцінки БЕ генеричного та оригінального лікарських засобів (ЛЗ) є дослідження фармацевтичної еквівалентності – порівняльне вивчення кінетики вивільнення діючої речовини та визначення подібності профілів розчинення. Крім цього передбачений аналіз ідентичності показників переносимості/безпеки цих ЛЗ.

Мета роботи полягала в обґрунтуванні та розробці методики оцінки переносимості лікарських засобів при дослідженні їх біоеквівалентності.

Матеріали та методи

Дослідження БЕ є порівняльним вивченням біодоступності для встановлення еквівалентності генеричного та оригінального препаратів. Важливу функцію в отриманні якіс-

них достовірних даних дослідження БЕ згідно з вимогами ICH GCP відіграє планування клінічного, біоаналітичного та статистичного етапів клінічного випробування.

Для науково обґрунтованого забезпечення процесів планування, організації дослідження БЕ та обробки результатів було розроблено узагальнену структурну схему, яка показана на рис. 1. За допомогою цієї схеми виділені основні етапи дослідження та визначені місця їх проведення.

Обробка даних, отриманих у результаті такого КВ, буде складатися з двох частин: перша – це визначення еквівалентності фармакокінетики двох ЛЗ за допомогою біостатистичних розрахунків та оцінок, друга – статистичний аналіз еквівалентності переносимості тестового та референтного ЛЗ при їх однократному прийомі.

Слід відмітити, що статистичне визначення еквівалентності фармакокінетики тестового та референтного ЛЗ має достатньо обґрунтовану науково-методичну базу [6, 7, 11]. При цьому методичному забезпеченню біостатистичного аналізу еквівалентності переносимості тесто-



Рис. 1. Узагальнена структурна схема проведення дослідження БЕ згідно з вимогами ICH GCP

вого та референтного ЛЗ при їх однократному прийомі майже не приділялася увага. З огляду на це було вирішено розробити науково-обґрунтований алгоритм планування та проведення оцінки переносимості/безпеки при дослідженні БЕ, блок-схема якого показана на рис. 2. В процесі реалізації цього алгоритму на першому етапі визначаються показники, які будуть вимірюватися, та обґрунтовуються методи та інструментарій дослідження. Крім того, оцінюється можливість і доцільність проведення такого КВ за схемою перехресного дизайну.

Найчастіше дослідження БЕ проводяться за дизайном перехресного випробування з двома періодами та двома послі-

довностями, але можливі й інші обґрунтовані дизайни, наприклад, паралельне дослідження для речовин з дуже тривалим періодом напіввиведення та повторні дослідження для речовин з дуже варіабельним розподілом [6, 11].

При виборі паралельного або повторного дизайну дослідження БЕ за основу статистичної моделі оцінки переносимості двох ЛЗ на першому та другому етапах вибирається модель порівняльної оцінки лікувального впливу двох факторів – референтного ЛЗ і тестового, теоретичні рівняння для якої надані у попередніх публікаціях.

При плануванні дослідження БЕ за перехресним дизайном важливо визначити можливість

вимірювання усіх показників, що характеризують стан добровольця на початку та в кінці кожного з етапів дослідження.

У випадку, коли це здійснити важко в силу тих чи інших обставин (наприклад, безпека добровольців, клінічні та лабораторні можливості МПД, фінансові аспекти та особливості забезпечення КВ тощо), частина показників визначається на початку та при завершенні дослідження БЕ, а частина – на початку та в кінці кожного з етапів. Для такої змішаної моделі визначення показників при дослідженні БЕ була розроблена методика оцінки переносимості, яка включає дві складові: розрахунок «сукупної» переносимості однократного прийому двох ЛЗ та порівняльну оцінку переносимості однократного прийому двох ЛЗ на I та II етапах (рис. 2). При здійсненні цих оцінок використовується запропонована нами методика і розраховуються коефіцієнт сукупної переносимості ($K_{СП}$) та коефіцієнт порівняльної переносимості ($K_{ПП}$) [1, 10]. Відповідно до цього пропонуємо визначити загальну оцінку еквівалентності переносимості/безпеки при прийомі тестового генерика та референтного ЛЗ за такою формулою:

$$K_{БЕ} = K_{СП} + K_{ПП} \quad (1)$$

Кількісна оцінка «сукупної» переносимості однократного прийому двох ЛЗ та порівняльна оцінка переносимості на I та II етапах проводиться за шкалою, наданою у табл. 1, тому показники $K_{СП}$ та $K_{ПП}$ можуть набувати значення від «0» – незадовільна переносимість до «5» – відмінна переносимість [1, 10].

Для розробки шкали оцінки еквівалентності переносимості/безпеки проаналізовано результати статистичної оцінки дослідження БЕ 10 генеричних ЛЗ, яка виконувалась автором за останні три роки. За резуль-

Таблиця 1

Кількісна шкала оцінки переносимості лікарського засобу [10]

Коефіцієнт переносимості ($K_{пр}$)	Переносимість
5 – 4 бали*	Відмінна
4 – 3 бали*	Добра
3 – 1 бал*	Задовільна
1 – 0 балів*	Незадовільна

* Верхня межа – включно.

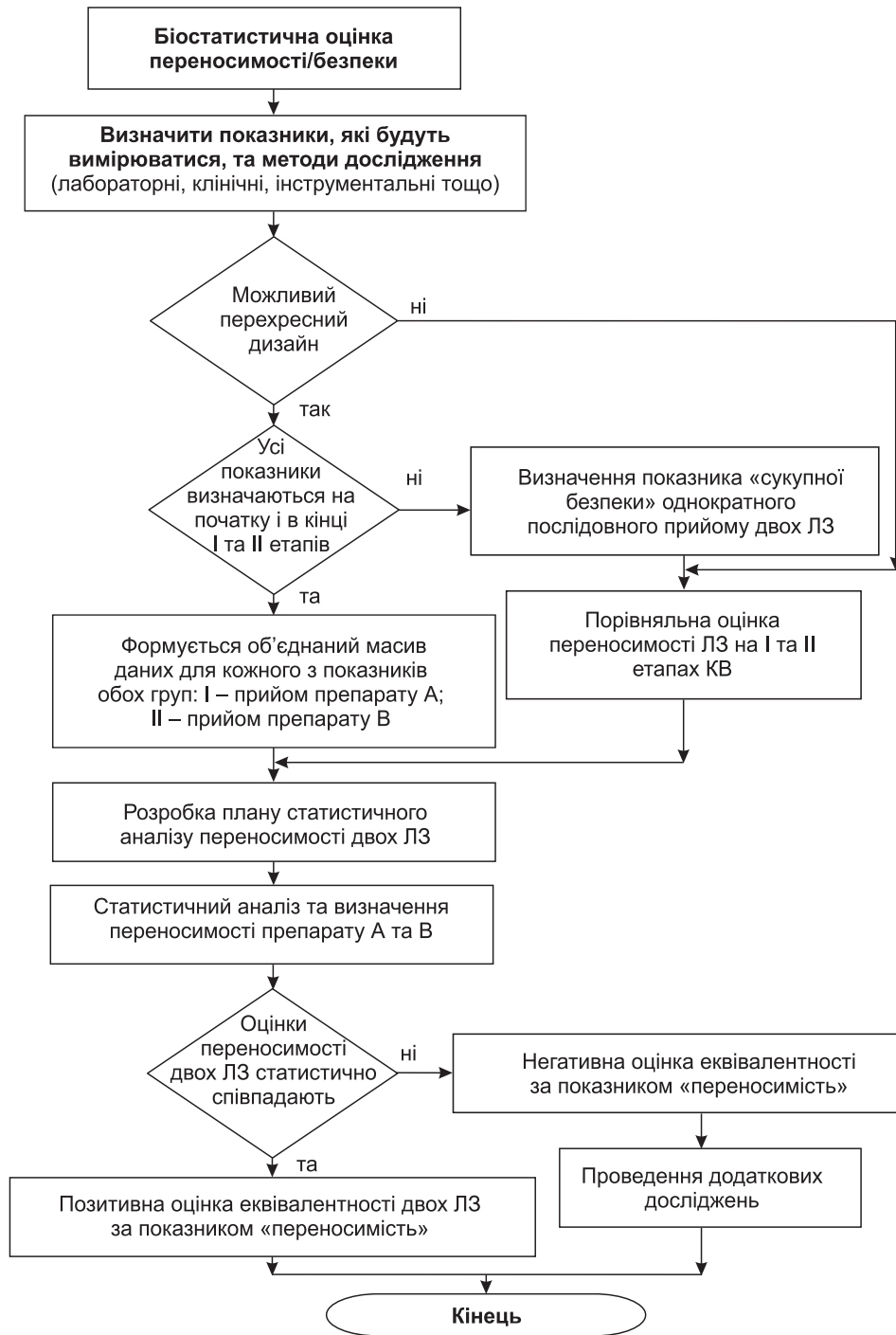


Рис. 2. Блок-схема алгоритму біостатистичної оцінки переносимості/безпеки при дослідженні БЕ

татами цього аналізу визначено, що середнє значення коефіцієнта $K_{сп}$ дорівнює $\mu_{сп}=3,38$, а середньоквадратичне відхилення (СКВ) – $\sigma_{сп}=0,81$. Для коефіцієнта $K_{пп}$: $\mu_{пп}=3,51$ та $\sigma_{пп}=0,68$. Вважатимемо, що ці коефіцієнти є випадковими величинами, розподіленими за нормальними законами, тому коефіцієнт оцінки еквівалентності переносимості двох препаратів так

Таблиця 2

Розрахунок шкали оцінки еквівалентності переносимості в залежності від коефіцієнта кореляції між $K_{сп}$ і $K_{пп}$

p	r	$K_{БЕ}$			Переносимість (верхня межа)
		0	0,5	1	
0,025		4,82	4,36	3,97	незадовільна
0,25		6,18	6,02	5,88	задовільна
0,75		7,60	7,76	7,89	добра
0,975		8,96	9,42	9,81	відмінна

Таблиця 3

Кількісна шкала оцінки еквівалентності переносимостей

Коефіцієнт переносимості (K_{BE})	Переносимість
10 – 7,90 бала	Відмінна
7,89 – 5,89 бала	Добра
5,88 – 3,98 бала	Задовільна
3,97 – 0 балів	Незадовільна

само має нормальний розподіл з параметрами:

$$\mu_{BE} = \mu_{СП} + \mu_{ПП}, \quad (2)$$

$$\sigma_{BE} = \sqrt{\sigma_{СП}^2 + r(K_{СП}, K_{ПП}) \cdot \sigma_{СП} \cdot \sigma_{ПП} + \sigma_{ПП}^2}, \quad (3)$$

де $r(K_{СП}, K_{ПП})$ – коефіцієнт кореляції між коефіцієнтами $K_{СП}$ і $K_{ПП}$.

Відповідно до цього середнє значення коефіцієнта еквівалентності переносимості (K_{BE}) $\mu_{BE} = 6,89$, а СКВ залежатиме від

коефіцієнта кореляції між коефіцієнтами $K_{СП}$ і $K_{ПП}$, тому змінюватиметься в межах від 1,06 до 1,49. Пропонуємо пов'язати значення шкали оцінки коефіцієнта K_{BE} зі значеннями імовірності ($p=0,025; 0,25; 0,75; 0,975$), які відповідають якісним оцінкам «незадовільно», «задовільно», «добре», «відмінно». Розрахунок цієї шкали в залежності від коефіцієнта кореляції між $K_{СП}$ і $K_{ПП}$ показано у табл. 2.

Враховуючи те, що для оцінки коефіцієнтів сукупної та порівняльної переносимостей використовуються кількісні параметри, суб'єктивні якісні оцінки стану добровольців фахівцем і самооцінки свого стану ними самими, які тісно пов'язані між собою, можна вважати, що кореляція між коефіцієнтами $K_{СП}$ і $K_{ПП}$ дорівнює 1. Таким чином, для дослідження БЕ за моделлю змішаного типу визначення показників пропонуємо наступну кількісну шкалу оцінки еквівалентності переносимостей (табл. 3).

Якщо існує можливість вимірювання усіх показників, що характеризують стан добровольця на початку та в кінці кожного з етапів дослідження БЕ, тоді оцінку переносимості тестового та референтного ЛЗ пропонуємо проводити таким чином: перш за все, необхідно сформулювати об'єднаний масив даних для кожного з показників для двох вибірок: I – прийом препарату А; II – прийом препарату В. При проведенні КВ за перекресною схемою на I етапі дослідження перша половина добровольців прийматиме препарат А, друга – препарат В. Після завершення I етапу проводиться «відмив» добровольців, коли припиняється прийом ЛЗ. Вважається, що при цьому відбувається повне виведення ЛЗ із організму та повернення всіх показників, які характеризують зміну стану пацієнта під впливом ЛЗ, до початкових значень. На другому етапі перша поло-

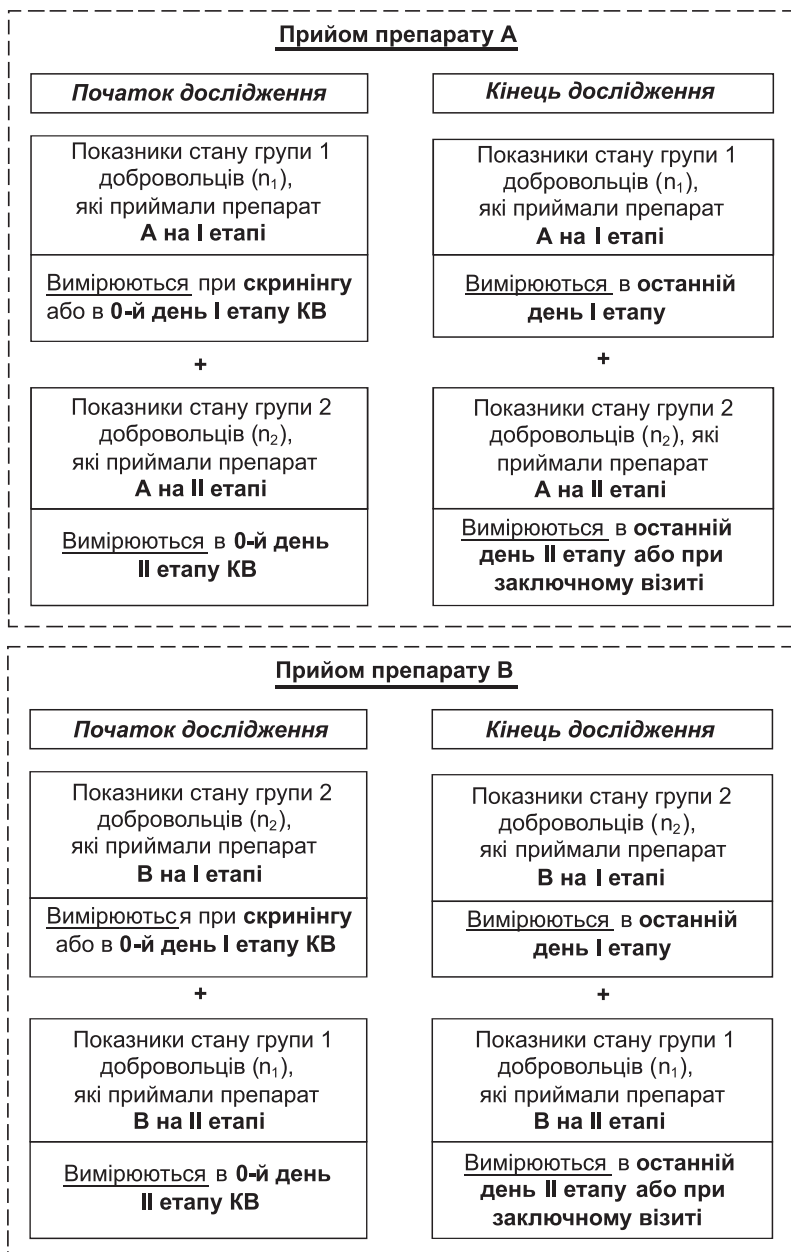


Рис. 3. Схема формування об'єднаних масивів даних для кожного з показників для групи прийому препарату А та прийому препарату В

вина добровольців приймати препарат В, друга – препарат А. Для формування об'єднаного масиву даних для кожного з показників для двох вибірок добровольців (I – прийом препарату А; II – прийом препарату В) була розроблена схема (рис. 3), в якій визначено точки початку та завершення дослідження для кожного з досліджуваних ЛЗ і для кожного з етапів, а також показано систему об'єднання показників.

Далі за сформованими вибірками показників проводиться визначення коефіцієнтів переносимості для кожної об'єднаної групи окремо: I група (прийом препарату А) – K_A ; II група (препарат В) – K_B . Для цього ви-

користуються розроблені раніше методики [1, 10].

Якщо у результаті оцінки переносимості в кожній групі за шкалою (табл. 1) відповідно з розрахованими коефіцієнтами переносимості K_A і K_B визначено «відмінну», «добру» або «задовільну» переносимості, тоді можна зробити висновки, що безпека однократного прийому генерика статистично еквівалентна безпеці однократного прийому референтного препарату.

ВИСНОВКИ

Запропонована методика оцінки переносимості при дослідженні БЕ ЛЗ, при розробці якої обґрунтована узагальнена структурна схема проведення дослідження згідно з вимогами ICH GCP і алгоритм стати-

стичного планування та проведення оцінки переносимості/безпеки. Показано особливості та можливості реалізації цього алгоритму. Для змішаної моделі визначення показників при дослідженні БЕ розроблена методика оцінки переносимості та обґрунтована кількісна шкала оцінки еквівалентності переносимостей. Запропонована схема формування об'єднаних масивів даних для кожного з показників при перехресній моделі дослідження БЕ та методика статистичного порівняння безпеки однократного прийому генерика та референтного ЛЗ. Клінічна апробація цих моделей була проведена при дослідженні БЕ ряду ЛЗ, які виробляються фармацевтичними компаніями України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Добрава В.Є., Зупанець І.А. // *Управління, економіка та забезпечення якості в фармацевтиці*. – 2010. – Вип. 6 (14). – С. 12-20.
2. Зупанець І.А., Старченко М.Г., Добрава В.Є. // *Запорожский мед. журн.* – 2011. – Т. 13, №4. – С. 23-27.
3. Зупанець І.А., Подпружников Ю.В. *Актуальные вопросы организации и проведения фармакокинетических исследований в Украине // Клинические исследования лекарственных средств в Украине: Матер. III научно-практ. конф. с междунар. участием, г. Киев, 4-5 ноября 2010 г.* – К.: МОРИОН, 2010. – 88 с.
4. Зупанець І.А., Безугла Н.П., Старченко М.Г., Добрава В.Є. *Роль і місце досліджень з оцінки біоеквівалентності лікарських засобів у доказовій медицині та фармацевтиці // Клинические исследования лекарственных средств в Украине: Матер. III научно-практ. конф. с междунар. участием, г. Киев, 4-5 ноября 2010 г.* – К.: МОРИОН, 2010. – 88 с.
5. Зупанець І.А. *Наукове обґрунтування моделі організації та проведення клінічних випробувань за участі здорових добровольців: Метод. рекомендації (59.11/256.11)*. – К., 2011. – 32 с.
6. *Клинические испытания лекарств / Под ред. В.И.Мальцева, Т.К.Ефимцевой, Ю.Б.Белюсова и др.* – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: МОРИОН, 2006. – 456 с.
7. *Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності: Настанова 42-7.1:2005 / Міністерство охорони здоров'я України.* – Офіц. вид. – К.: Вид-во ТОВ «Моріон», 2005. – 27 с.
8. *Лікарські засоби. Належна клінічна практика: Настанова 42-7.0:2005 / Міністерство охорони здоров'я України.* – Офіц. вид. – К.: Вид-во ТОВ «Моріон», 2009. – 38 с.
9. *Наказ Міністерства охорони здоров'я України №690 від 23.09.2009 р. «Порядок проведення клінічних випробувань лікарських засобів та експертизи матеріалів клінічних випробувань» [Електронний ресурс].* – Режим доступу до законодавчо-нормативного документа: <http://zakon.rada.gov.ua/cgi-bin/laws/main.cgi?nreg=z1010-09>.
10. Пат. №54725 Україна *Спосіб визначення переносимості лікарських засобів при проведенні першої фази клінічних досліджень та при дослідженні біоеквівалентності / В.Є.Добрава, І.А.Зупанець, А.С.Шаламай, М.Г.Старченко.* – Заявка № 201004542. – Заявл.: 19.04.2010. Опубл.: 25.11.2010. – 2010. – Бюл. №22. – С. 4.
11. Чубенко А.В. *Принципы применения статистических методов при проведении клинических испытаний лекарственных средств: Метод. рекомендації.* – К.: ИД «Авиценна», 2003. – 60 с.
12. Kevin J. Carroll, Florence Le Maulf // *Drug Information J.* – 2011. – Vol. 45. – P. 657-667.

13. *Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence, CPMP/EWP/QWP/1401/98, 2001.* – Режим доступу: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC50003519.pdf
14. *Sjugren N. // Drug Information J. – 2011. – Vol. 45. – P. 759-765.*

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 53. Тел. (57) 706-30-71.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 14.05.2012 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП «Державний фармакологічний центр» МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, який містить **фузафунгін** (Препарати, які застосовуються при захворюваннях горла. Антибіотики. Код АТС R02A B03)

Хворій К. (19 років) з діагнозом ларингофарингіт було призначено препарат, який містить фузафунгін (інгаляційно, 1 доза 4 рази на добу). Через 5 днів після початку прийому препарату, який містить фузафунгін, у хворої виникли нападopodobний кашель, задуха, запаморочення, відчуття нестачі повітря, слабкість. Після відміни препарату, який містить фузафунгін, зазначені явища минули без наслідків.

Інформація надійшла від регіонального відділення по АР Крим ДП «Державний фармакологічний центр» МОЗ України.

Про підозрювану побічну дію препарату, який містить **комплекс екстрактів лікарських рослин (корінь алтею, кору дуба, траву кульбаби)** (Комплексний гомеопатичний препарат. Код АТС R05X)

Дитині (1 рік) з діагнозом: ГРВІ було призначено препарат, який містить комплекс екстрактів лікарських рослин (перорально по 5 крапель 3 рази на добу). Через 6 годин від початку лікування препаратом, який містить комплекс екстрактів лікарських рослин, у дитини з'явилися висипання по всьому тілу, відчуття свербіжу, неспокій. Препарат, який містить комплекс екстрактів лікарських рослин, було відмінено, для корекції стану призначено супрастин. Після вжитих заходів зазначені явища минули без наслідків. В анамнезі у дитини прояви харчової алергії.

Інформація надійшла від регіонального відділення м. Києва ДП «Державний фармакологічний центр» МОЗ України.

Просимо про виникнення будь-якої підозрюваної побічної дії при застосуванні ліків обов'язково повідомляти у відділ фармакологічного нагляду ДП "Державний фармакологічний центр" МОЗ України за адресою: 01042, м. Київ, вул. Чигоріна, 18, тел./факс 286-7505, email: vigilance@pharma-center.kiev.ua.

ДОЗОЗАЛЕЖНИЙ ВПЛИВ АТОРВАСТАТИНУ В РАНЖИРОВАНИХ ДОЗАХ ВІДНОСНО ЦИРКУЛЮЮЧОГО ВМІСТУ МАРКЕРІВ БІОМЕХАНІЧНОГО СТРЕСУ В ПАЦІЄНТІВ З ІНФАРКТОМ МІОКАРДА. РЕЗУЛЬТАТИ ОДНОРІЧНОГО КОГОРТНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ

О.Є.Березін, Т.О.Самура

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: Q-інфаркт міокарда; аторвастатин; металопротеїназа; плейотропний ефект; лікування

Обстежено 54 пацієнти (з яких 42 чоловіки, 77,8%) з документованим Q-інфарктом міокарда. У перші 72 години після верифікації діагнозу всі пацієнти були розподілені на дві групи по 27 осіб у кожній в залежності від призначеної добової дози аторвастатину. Хворі першої групи отримували умовно високу дозу препарату (> 40 мг / добу), пацієнти другої групи – умовно низьку дозу (≤ 40 мг / добу). Трансторакальну ехокардіографію і визначення рівнів ММП-3 і ММП-9 виконували за допомогою техніки ELISA до призначення аторвастатину та кожні 3 місяці протягом 1 року спостереження. Аналіз отриманих даних показав, що аторвастатин виявляє виражений дозозалежний ефект щодо редукції вмісту переважно циркулюючого пулу ММП-3, тоді як його вплив стосовно редукції вмісту ММП-9 носить характер стійкої тенденції. При цьому сприятливий вплив аторвастатину на вміст циркулюючих маркерів біомеханічного стресу в пацієнтів, які перенесли Q-ІМ, не залежить від вихідної величини ризику несприятливих клінічних результатів, локалізації некрозу міокарда, тяжкості атеросклеротичного ураження коронарних артерій і частоти виконання інтervenційних втручань.

Незважаючи на те, що вчинних рекомендацій для пацієнтів високого ризику статини, рекомендовані для первинної та вторинної профілактики фатальних і нефатальних кардіоваскулярних подій, для хворих з меншою величиною ризику цей ефект може бути не таким значним [3, 9]. Так, мета-аналіз, проведений Ray K.K. [16], показав, що терапія статинами протягом короткострокового періоду (медіана = 3,7 року) в популяції осіб з високим кардіоваскулярним ризиком не призводить до зниження смертності, незважаючи на всі причини, і зберігає свій потенціал для превенції кардіоваскулярних клінічних результатів. Водночас серед пацієнтів високого кардіоваскулярного ризику високі дози статинів вірогідно більш ефективні в запобіганні настання повторних несприятливих

клінічних результатів як при короткостроковому спостереженні, так і у віддаленій перспективі [2, 5]. У когорті післяінфарктних пацієнтів здатність статинів позитивно впливати на виживання встановлена в численних клінічних дослідженнях [11, 20, 23]. Однак переваги високих доз статинів у ранньому післяінфарктному періоді встановлені переважно для атеротромботичних подій [15]. Передбачається, що позитивний вплив аторвастатину може бути зумовлений не лише потужним гіполіпідемічним ефектом [12], ранньою стабілізацією атероми і реверсією дисфункції ендотелію коронарних артерій [10], але й, імовірно, пов'язаний з плейотропними якостями цього препарату, що призводить, зокрема, до обмеження післяінфарктної репозиції позаклітинного матриксу [8, 19].

Остання розглядається як один з найважливіших механізмів, що лежить в основі виникнення ранніх ускладнень після інфаркту міокарда (ІМ), таких як раптова серцева смерть, зовнішні і внутрішні розриви міокарда, маніфестна серцева недостатність, яка виникла вперше [8, 26]. Встановлено, що матриксні металопротеїнази (ММП) типів 3 і 9, які деградують, широкий спектр компонентів позаклітинного матриксу і є основними детермінантами післяінфарктного біомеханічного стресу [24, 25]. Передбачається, що аторвастатин здатний супресувати циркулюючий рівень ММП незалежно від свого гіполіпідемічного потенціалу та надавати таким чином клінічно значущий плейотропний ефект.

Метою дослідження було вивчення впливу аторвастатину в ранжированих дозах на вміст циркулюючих біологічних маркерів біомеханічного стресу – металопротеїнази-3 (ММП-3) і

металопротеїнази-9 (ММП-9) у пацієнтів з Q-ІМ протягом одного року спостереження.

Матеріали та методи

У дослідженні брали участь 54 пацієнти (з яких 42 чоловіки, 77,8%) з документованим Q-ІМ відносно діагностичних критеріїв, ESC / ACCF / AHA / WHF [22] зі стабільною гемодинамікою віком 54-62 років (середній вік 57, $2 \pm 3,2$ роки).

Критеріями обраної групи були: документований Q-інфаркт міокарда в перші 72 години після виникнення, синусовий ритм, індекс GRACE менше 140 од., відкриття інфаркт-залежної коронарної артерії не менше, ніж до рівня ТІМІ-2, підписана інформована згода щодо участі в дослідженні.

Критерії, які враховувалися при виключенні пацієнтів з досліджуваної групи, були: неконтрольована артеріальна гіпертензія (АГ), серцева недостатність (СН) III-IV ФК, фракція викиду (ФВ) лівого шлуночка (ЛШ) менше 39%, декомпенсований цукровий діабет, важкі захворювання печінки і нирок, здатні впливати на клінічні результати, онкологічні захворювання, симптоматична АГ, ІМТ більше 30 кг/м^2 і менше 15 кг/м^2 , інфекційні захворювання протягом 3 тижнів до моменту скринінгу пацієнта, перенесений інфаркт міокарда протягом 30 днів до включення в дослідження, перенесений геморагічний мозковий інсульт, черепно-мозкова травма протягом 3 місяців до включення в дослідження, рівень креатиніну плазми крові більше 440 мкмоль/л , швидкість клубочкової фільтрації менше 35 мл/хв/м^2 , рівень С-реактивного протеїну понад 10 мг/л , наявність традиційних протипоказань до застосування нефракціонованого або низькомолекулярного гепарину, тромболітичної терапії (ТЛТ), кардіогенний шок та / або потреба в проведенні аортальної ба-

лонної контрпульсації протягом 72 години до підписання інформованої згоди.

Для всіх пацієнтів з документованим ІМ були розраховані прогностичні індекси GRACE і ТІМІ Risk Score відповідно до чинних угод [6, 14].

У перші 72 години після верифікації діагнозу всі пацієнти були розподілені на дві групи по 27 осіб у кожній в залежності від призначеної добової дози аторвастатину (торвакард, Zentiva, група компанії Sanofi-Aventis, Франція). Хворі першої групи отримували умовно високу дозу препарату ($> 40 \text{ мг/добу}$), пацієнти другої групи – умовно низьку добову дозу ($\leq 40 \text{ мг/добу}$). Середні добові дози аторвастатину в обох групах пацієнтів склали $32,5 \text{ мг}$ і $68,3 \text{ мг}$ відповідно.

Трансторакальна ехокардіографія здійснювалася відповідно до вимог American Society of Echocardiography [4] на апараті в В-режимі ехолокації з парастернальної і апікальної позиції датчиком 2,5-5,0 MHz на апараті Vivid 3 expert (General Electric, США) до призначення аторвастатину та кожні 3 місяці протягом 1 року спостереження. Кінцево-діастолічний (КДО) і кінцево-систолічний (КСО) об'єми ЛШ вимірювали методом циліндрів [4]. ФВ ЛШ і індекс регіонарної скоротливої здатності лівого шлуночка (WMI – wall motion index) оцінювалися відповідно до вимог American Society of Echocardiography [4]. Коронароангіографія виконувалася протягом перших 72 годин після верифікації діагнозу гострий ІМ при наявності традиційних показань для її проведення та за відсутності ознак відкриття інфаркт-залежної коронарної артерії після тромболітичної терапії [13]. Тяжкість порушень кровообігу в інфаркт-залежній артерії була оцінена відповідно до класифікації ТІМІ Study Group [21].

Зразки крові для подальшого визначення рівнів ММП-3 і

ММП-9 відбирали безпосередньо після верифікації діагнозу до призначення аторвастатину і кожні 3 місяці протягом 1 року спостереження зранку (7^{00} - 8^{00}) в охолоджені силіконові пробірки з додаванням 2 мл 5% розчину трилону Б і центрифугували при постійному охолодженні зі швидкістю 6 тис. об/хв протягом 3 хвилин. Після цього плазму крові негайно заморожували, а потім зберігали при температурі не нижче -35°C . Вміст ММП-3 і ММП-9 було виміряно за допомогою техніки ELISA з використанням наборів фірми «R&D Systems». Найменші детектовані концентрації для останніх визначалися як 2σ вище нульової позначки і становили $0,02 \text{ нг/мл}$ і $0,14 \text{ нг/мл}$ відповідно. Перехресних реакцій між ізоформами ММП не було. Концентрації загального холестерину (ХС) і ХС ЛПВЩ були виміряні прямим методом за традиційною методикою. ХС ЛПНЩ був розрахований за формулою [7].

Дизайн дослідження: однорічне відкрите проспективне когортне дослідження в паралельних групах хворих.

Етичні принципи: впродовж клінічних випробувань дослідники суворо дотримувалися всіх вимог відповідно до Гельсінської декларації прав людини (1964), Конференції з гармонізації належної клінічної практики (GCP-ICH), Конвенції Ради Європи про захист прав і гідності людини у зв'язку з використанням досягнень біології та медицини, Конвенції про права людини та біомедицину, включаючи Додатковий протокол до Конвенції про біомедичні дослідження і законодавство України. Структура, дизайн і мета дослідження схвалені Комісією з біоетики Запорізького державного медичного університету.

Статистичний аналіз.

Аналіз результатів проводили, виходячи з припущення, що всі пацієнти отримали за-

Таблиця 1

Загальна характеристика пацієнтів, які взяли участь у дослідженні

Характеристика	Хворі з Q-ІМ (n = 54)	Групи пацієнтів	
		1-а (n = 27)	2-а (n = 27)
Вік, роки	57,2±3,20	57,5±3,60	57,1±3,52
Чоловіча стать	42 (77,8%)	22 (81,5%)	20 (74,1%)
ІМ в анамнезі	14 (25,9%)	7 (25,9%)	7 (25,9%)
Стенокардія напруги в анамнезі	15 (27,7)	8 (29,6%)	7 (25,9%)
Хронічна СН I-II ФК NYHA в анамнезі	14 (25,9%)	8 (29,6%)	6 (22,2%)
Цукровий діабет 2 типу в анамнезі	8 (14,8%)	5 (18,5%)	3 (11,1%)
АГ в анамнезі	42 (77,8%)	23 (85,2%)	19 (70,4%)
Гіперліпідемія в анамнезі	28 (51,6%)	18 (66,7%)	20 (74,1%)
Схильність до паління	14 (25,9%)	6 (22,2%)	8 (29,6%)
Індекс GRACE	144±9,70	143±8,10	144±8,50
Індекс TIMI score	5,3±0,62	5,51±0,51	5,27±0,46
Кількість уражених коронарних артерій (за даними КАГ)			
1	14 (25,9%)	6 (22,2%)	8 (29,6%)
2	17 (31,5%)	9 (33,3%)	8 (29,6%)
3 і більше	23 (42,6%)	11 (40,7%)	12 (44,4%)
Перкутантна ангіопластика / стентування	16 (29,6%)	8 (29,6%)	8 (29,6%)
Рівень глюкози натщесерце, ммоль / л	4,58±0,88	4,67±0,62	4,55±0,48
Рівень загального ХС, ммоль / л	5,86±1,95	5,9±0,48	5,80±0,53
Рівень ХС ЛПНЩ, ммоль / л	4,30±1,37	4,32±0,65	4,28±0,59
ММП-3, нг/мл	7,6±1,90	7,63±1,45	7,52±1,58
ММП-9, нг/мл	16,7±4,30	16,78±3,50	16,32±3,70

Примітка: КАГ – коронароангіографія, АГ – артеріальна гіпертензія, СН – серцева недостатність, ІМ – інфаркт міокарда, ХС – холестерин, ЛПНЩ – ліпопротеїди низької щільності.

значену терапію. У результаті попереднього розрахунку для величини α -помилки 0,05 і статистичної потужності дослідження 80% достатньою величиною вибірки є 54 пацієнти. Отримані дані оброблялися статистично за допомогою пакету програм «Statistica» v.6.0 (№AXXR12D833214FAN5). Результати представлені у вигляді середнього значення (M), 95% довірчого інтервалу (ДІ), середньої помилки (m). Достовірність відмінностей обчислювалася з використанням методів параметричної статистики: між незалежними вибірками – по Mann-Whitney і Student для оцінки динаміки показників у парних рядах – по Wilcoxon. Частоти кількісних і якісних ознак порівнювали за допомогою критерію χ^2 : для незалежних вибірок – за Pearson, для оцінки динаміки частотних показни-

ків застосовували Cochran Q-test. Відмінності вважалися достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Аналіз отриманих результатів показав, що серед пацієнтів досліджуваної групи переважали чоловіки середнього віку з супутньою АГ (61,2%) і гіперліпідемією (32,9%) без ІМ або стабільної стенокардії напруги в анамнезі (табл. 1). Хронічна СН I-II ФК NYHA з ФВ ЛШ більше 40% і цукровий діабет 2 типу були зареєстровані в 25,9% і 14,8% випадків відповідно. Схильність до паління відзначалася в 25,9% випадків. Прогностичні індекси несприятливого результату GRACE і TIMI score при госпіталізації становили 144±9,70 од. і 5,3±0,62 од. відповідно. При проведенні КАГ у

42,6% хворих був виявлений стеноз 3-х і більше коронарних артерій, що перевищує 50% діаметра, в 25,9% і 31,5% випадків, у стенотичний процес були залучені 1 і 2 коронарні артерії відповідно. У всіх випадках негайно після госпіталізації була виконана ТЛТ з успішним відкриттям інфаркт-залежної артерії. У 16 (29,6%) пацієнтів зроблена перкутантна ангіопластика / стентування з імплантацією металевих стенту. Ацетилсаліцилова кислота (150 мг на добу) та клопідогрель (300 мг в першу добу захворювання, а потім 75 мг на добу), інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (ІАПФ) / антагоністи рецепторів до ангіотензину (АРА) і β -адреноблокатори були призначені всім пацієнтам. Хворі у двох групах спостереження, які не відрізнялися одна від од-

Таблиця 2

Динаміка плазмового вмісту металопротеїнази-3 і металопротеїнази-9 в обстежених осіб у процесі лікування ($M \pm m$), $n=54$

Показники	Групи хворих	До лікування	Після лікування	$\Delta\%$
ММП-3, нг/мл	1-я	7,63 \pm 1,45	5,30 \pm 1,16*	-30,5
	2-я	7,52 \pm 1,58	6,17 \pm 1,24	-18,0
ММП-9, нг/мл	1-я	16,78 \pm 3,50	12,10 \pm 1,20*	-27,9
	2-я	16,32 \pm 3,70	13,90 \pm 1,30	-14,8
Загальний ХС, ммоль/л	1-я	5,90 \pm 0,48	4,12 \pm 0,30*	-30,2
	2-я	5,80 \pm 0,53	4,70 \pm 0,46*	-19,0
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	1-я	4,32 \pm 0,65	2,90 \pm 0,25*	-32,3
	2-я	4,28 \pm 0,59	3,55 \pm 0,30*	17,1

Примітка: * – критерій достовірності відмінностей всередині групи ($P < 0,05$).

нієї за демографічними та анамнестичними даними, величиною ризику несприятливих клінічних результатів, тяжкістю стенозного ураження коронарних артерій, частотою виконання інтервенційних втручань, а також плазмовим вмістом глюкози натщесерце, загального ХС, ХС ЛПНЩ, ММП-3 і ММП-9, отримували високі і низькі дози аторвастатину.

Переносимість медикаментозного лікування була задовільною, кровотечі, асоційовані з ангіопластиком та / або тривалим прийомом клопідогрелю відсутні. Відмов від лікування внаслідок виникнення несприятливих ефектів не було зареєстровано.

Динаміка плазмового вмісту ММП-3, ММП-9, загального ХС і ХС ЛПНЩ в обстежених осіб у

процесі лікування представлена в табл. 2. Як видно з наведених даних, у всіх групах пацієнтів використання аторвастатину супроводжувалося зниженням циркулюючих концентрацій біологічних маркерів біомеханічного стресу. Разом з тим найбільш виражена і достовірна редукція останніх відзначалася в пацієнтів першої групи, які отримували аторвастатин у високій дозі. Крім того, у групі пацієнтів, які отримували високу дозу аторвастатину, через 1 рік спостереження відзначалися достовірно нижчі концентрації ХС ЛПНЩ ($P < 0,05$).

Аналіз зміни циркулюючих рівнів ММП-3 і ММП-9 показав, що розбіжність трендів останніх починає з'являтися через 3 місяці постійного прийому аторвастатину (рис.). Однак достовірність відмінностей між групами була досягнута тільки щодо ММП-3, для ММП-9 відзначалася лише тенденція. З іншого боку, використання аторвастатину перешкоджало наростанню вмісту ММП-3 і ММП-9 в перші 3 місяці лікування, що також можна розглядати як сприятливий ефект раннього призначення цього лікарського засобу.

Покроковий регресійний аналіз дозволив виявити ряд кореляційних співвідношень між добовою дозою аторвастатину та збільшенням ФВ ЛШ за період спостереження ($r = 0,44$; $P < 0,05$), індексом локальної скорочувальної здатності WMI ($r = -0,36$; $P = 0,016$) через 1 рік спостереження, а також тенденцією до зменшення вираженості ранньої післяінфарктної дилатації порожнини ЛШ ($r = -0,42$; $P = 0,042$) та індексом міокардіального стресу ($r = -0,39$; $P = 0,26$), плазмовою концентрацією ММП-3 ($r = -0,50$; $P < 0,01$) і ММП-9 ($r = -0,45$; $P < 0,05$) в загальній когорті хворих, які взяли участь у дослідженні. Стійкий кореляційний зв'язок між добовою дозою аторвастатину, з одного боку, та плаз-

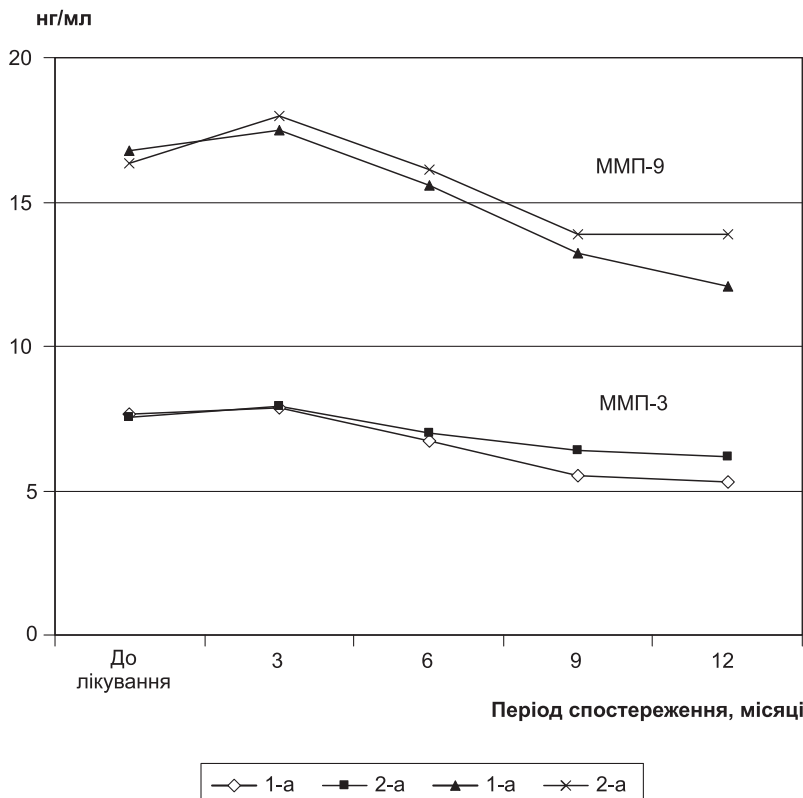


Рис. Динаміка циркулюючих концентрацій ММП-3 і ММП-9 у пацієнтів обох груп у процесі лікування

мовою концентрацією ММП-3 ($r = -0,52$; $P < 0,05$) і ММП-9 ($r = -0,40$; $P < 0,05$), з іншого, зберігався у пацієнтів першої групи, тоді як у другій групі хворих подібна асоціація була відсутня ($r = -0,18$; $P = 0,34$ і $r = -0,14$; $P = 0,26$ відповідно). Не було зареєстровано якогось суттєвого взаємозв'язку між вмістом ММП-3 і ММП-9, з одного боку, і віком, гендерною приналежністю, плазмовою концентрацією креатиніну, вихідною величиною ФВ ЛШ і КДО ЛШ, індексами GRACE і TIMI score, локалізацією зони некрозу, тяжкістю стенотичного ураження коронарних артерій, вмістом тропоніну Т при госпіталізації в стаціонар, з іншого боку.

У результаті цього дослідження нами отримані дані, що свідчать про існування дозозалежного впливу аторвастатину на рівень циркулюючих маркерів біомеханічного стресу – ММП-3 та ММП-9 в когорті хворих, які перенесли Q-ІМ при проведенні однорічного спостереження. При цьому найбільш істотна динаміка була продемонстрована саме для циркулюючої ММП-3, тоді як вплив аторвастатину як у високих, так і у відносно низьких дозах у відношенні редукції вмісту ММП-9 носив характер стійкої тенденції. У ранніх дослідженнях було встановлено, що агресивна терапія аторвастатином супроводжується не тільки досягненням більш низьких значень загального ХС, ХС ЛПНЩ, але й поліпшенням ймовірності виживання [12]. При цьому спри-

ятливий вплив статинів щодо обмеження післяінфарктного ремоделювання міокарда та реверсії дисфункції ендотелію може бути асоційований з їх здатністю супресувати активність ММП-3 і ММП-9 [1, 18]. Останні зумовлюють репозицію позаклітинного матриксу, що відіграє важливу роль у післяінфарктній зміні архітекtonіки серця, формуванні феномена «втоми» поверхні атероми, інтенсивності епітелізації в місці пошкодження після виконання ангіопластики [19, 26]. Крім того, для пацієнтів з гострим коронарним синдромом і документованим ІМ циркулюючий рівень ММП-3 і ММП-9 розглядаються як предиктори несприятливого прогнозу, що включає ризик розриву міокарда, раптової серцевої смерті, СН, яка виникла вперше, і повторного ІМ [17, 25]. У цьому контексті здатність аторвастатину сприяти дозозалежній реверсії циркулюючого вмісту ММП-3 і ММП-9 може розглядатися як один з механізмів позитивного впливу препарату щодо найближчого прогнозу. Необхідно відзначити, що сприятливий вплив аторвастатину щодо пулу циркулюючих ММП при короткостроковому спостереженні у хворих з ІМ було встановлено й іншими дослідниками [24]. Разом з тим отримані нами результати підтверджують можливість збереження дозозалежної супресії плазмового пулу ММП-3 і ММП-9 при однорічному спостереженні, що, ймовірно, є підтвердженням плейо-

тропних якостей препарату. Однак повну незалежність останнього від потужності гіполіпідемічного потенціалу аторвастатину встановити не вдалося. Вищезазначене дає можливість припустити, що в основі кардіопротективних якостей аторвастатину можуть лежати його плейотропні якості і, зокрема, дозозалежний вплив на продукцію і кліренс компонентів ММП, переважно ММП-3.

ВИСНОВКИ

1. Як у високих, так і у відносно низьких дозах аторвастатин запобігає наростанню плазмового вмісту маркерів біомеханічного стресу в перші 3 місяці терапії у пацієнтів, які перенесли Q-інфаркт міокарда.

2. Аторвастатин проявляє виражений дозозалежний ефект щодо редукції вмісту переважно циркулюючого пулу ММП-3, тоді як його вплив на редукцію вмісту ММП-9 носить характер стійкої тенденції.

3. Сприятливий вплив аторвастатину на вміст циркулюючих маркерів біомеханічного стресу в пацієнтів, які перенесли Q-інфаркт міокарда, не залежить від вихідної величини ризику настання несприятливих клінічних результатів, тяжкості стенотичного ураження коронарних артерій і частоти виконання інтервенційних втручань.

4. В основі кардіопротективних якостей аторвастатину лежать його плейотропні якості і, зокрема, дозозалежний вплив на продукцію і кліренс компонентів ММП-3.

ЛІТЕРАТУРА

1. Aronow H.D., Lincoff A.M., Quinn M.J. et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2008. – Vol. 102. – P. 1119-1124.
2. Auer J., Weber T., Eber B. // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351, №7. – P. 714-717.
3. Brugts J.J., Deckers J.W. // *Arch. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 170, №22. – P. 2041.

Конфлікт інтересів: не декларується.

Обмеження дослідження: когорта пацієнтів цього дослідження суттєво лімітована, що не дозволяє виявити достовірність відмінностей між групами щодо плазмових концентрацій ММП-9 протягом першого року спостереження, ймовірно, збільшення статистичної потужності дослідження могло б дозволити зареєструвати очікуваний ефект аторвастатину і для ММП-9.

4. Cheitlin M.D., Armstrong W.F., Aurigemma G.P. et al. // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2003. – Vol. 42. – P. 954-970.
5. Clearfield M. // *Curr. Atheroscler. Rep.* – 2007. – Vol. 9, №1. – P. 5-6.
6. Eagle K.A., Lim M.J., Dabbous O.H. et al. // *JAMA.* – 2004. – Vol. 291. – P. 2727-2733.
7. Friedewald W.T., Levy R.I., Fredrickson D.S. // *Clin. Chem.* – 1972. – Vol. 18. – P. 499-502.
8. George J., Patal S., Wexler D. et al. // *Am. Heart J.* – 2005. – Vol. 150. – P. 484-487.
9. Graham I., Atar D., Borch-Johnsen K. et al. // *Eur. Heart J.* – 2007. – Vol. 28, №19. – P. 2375-2414.
10. Hosokawa S., Hiasa Y., Tomokane T. et al. // *Clin. Cardiol.* – 2006. – Vol. 29, №8. – P. 357-362.
11. Kinlay S., Schwartz G.G., Olsson A.G. et al. // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110, №4. – P. 386-391.
12. Koren M.J. // *Am. J. Med.* – 2005. – Vol. 118, suppl. 12 A. – P. 16-21.
13. Morrow D.A., Antman E.M., Charlesworth A. et al. // *Circulation.* – 2000. – Vol. 102, №17. – P. 2031-2037.
14. Morrow D.A., Antman E.M., Parsons L. et al. // *JAMA.* – 2001. – Vol. 86, №11. – P. 1356-1359.
15. Pasceri V., Patti G., Nusca A. et al. // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110, №6. – P. 674-678.
16. Ray K.K., Seshasai S.R., Erqou S. et al. // *Arch. Intern. Med.* – 2010. – Vol. 170, №12. – P. 1024-1031.
17. Squire I.B., Evans J., Ng L.L. et al. // *J. Card. Fail.* – 2004. – Vol. 10. – P. 328-333.
18. Stefanadi E., Tousoulis D., Antoniadou C. et al. // *J. Cardiol.* – 2009. – Vol. 133. – P. 266-268.
19. Sun Y. // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – Vol. 81. – P. 482-490.
20. Tang X.L., Sanganalmath S.K., Sato H. et al. // *PLoS One.* – 2011. – Vol. 6, №9. – P. e25320.
21. The TIMI Study Group: The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial // *N. Engl. J. Med.* – 1985. – Vol. 312. – P. 932-936.
22. Thygesen K., Alpert J.S., White H.D. // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2007. – Vol. 50. – P. 2173-2195.
23. Truong Q.A., Murphy S.A., McCabe C.H. et al. // *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes.* – 2011. – Vol. 4, №3. – P. 328-336.
24. Tziakas D.N., Chalikias G.K., Parissis J.T. et al. // *Int. J. Cardiol.* – 2004. – Vol. 94, №2-3. – P. 269-277.
25. Van den Borne S.W., Cleutjens J.P., Hanemaaijer R. et al. // *Cardiovasc. Pathol.* – 2009. – Vol. 18. – P. 37-43.
26. Webb C.S., Bonnema D.D., Ahmed S.H. et al. // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114, №10. – P. 1020-1027.

Адреса для листування: 69000, м. Запоріжжя,
пр. Маяковського, 26. Тел. (61) 224-64-69.
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції 20.02.2012 р.

ФАРМАКОКІНЕТИКА

ДІАГНОСТИКА СМЕРТЕЛЬНИХ ОТРУЄНЬ СУЛЬПІРИДОМ
ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ*С.В.Баюрка, В.В.Болотов, С.А.Карпушина, В.І.Степаненко, Г.І.Северіна*

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: нейролептики; антидепресанти; сульпірид; біологічний матеріал; тонкошарова хроматографія; кольорові реакції; УФ-спектрофотометрія

Встановлено ефективність відносно сульпіриду методу ізолювання лікарських речовин елююванням їх хлороформом з біологічної тканини, гомогенізованої розтиранням з натрію сульфатом безводним, який дозволив виділити 14,1±1,9 % зазначеного препарату. Виявляли сульпірид у біологічних екстрактах за допомогою кольорових реакцій, тонкошарової хроматографії та УФ-спектроскопії. Кількісний вміст препарату встановлювали УФ-спектрофотометричним методом. Світлопоглинання розчинів підлягало закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 20 до 200 мкг сульпіриду, відносна помилка кількісного визначення не перевищувала 1,9%. Показана необхідність попередньої додаткової очистки отриманих витяжок від супутніх домішок, для чого використовували методи екстракції та ТШХ.

Отруєння препаратами психотропної дії посідають одне з перших місць серед отруєнь лікарськими речовинами [6, 12, 15, 21]. Більшість з них є комбінованими та згадуються у зв'язку з сумісним прийомом антидепресантів, транквілізаторів, нейролептиків та алкоголю [9, 10, 11, 14, 17]. Клінічна та патоморфологічна картини зазначених отруєнь здебільшого є нехарактерними [6, 11, 18, 19]. Тому результати токсикологічних досліджень мають вирішальне значення для підтвердження клінічного діагнозу отруєння.

Сульпірид (N-[(етил-2-піролідиніл)метил]-2-метокси-5-сульфамойлбензамід) є одним з сучасних психотропних лікарських засобів. Препарат поєднує помірну антипсихотичну та антидепресивну активність, а також проявляє стимулюючі властивості [4, 5]. Сульпірид неодноразово був причиною гострих та смертельних отруєнь [11, 19, 20]. Таким чином, розробка

методів аналізу сульпіриду в біологічних об'єктах є актуальною задачею.

Для виявлення сульпіриду в біологічних рідинах запропоновано скринінгові системи з використанням методу тонкошарової хроматографії [11]. Опрацьовано методики аналізу сульпіриду в плазмі та сечі за допомогою газо-рідинної хроматографії [11], високоефективної рідинної хроматографії [7, 8, 11, 13, 20, 22], капілярного електрофорезу [16]. Вищеперелічені методики характеризуються високою чутливістю та специфічністю, але потребують ретельної пробопідготовки (твердофазної екстракції [22], рідиннофазної мікроекстракції [16]) та спеціального коштовного обладнання, що робить їх малодоступними.

Дані з методів дослідження біологічного матеріалу на сульпірид у літературі відсутні.

Метою нашого дослідження стало встановлення розрізняльної спроможності по від-

ношенню до сульпіриду методу ізолювання лікарських речовин з використанням хлороформу як екстрагенту. Цей метод впроваджено в практику хіміко-токсикологічного аналізу лікарських речовин різних фармакологічних груп [1, 2].

Виявлення та кількісне визначення сульпіриду в отриманих біологічних екстрактах проводили за допомогою методів [3, 11] (хімічного, тонкошарової хроматографії (ТШХ), УФ-спектрофотометрії), широко впроваджених у практику хіміко-токсикологічного аналізу.

Матеріали та методи

До модельних проб печінки (5 г) додавали водні розчини сульпіриду, що містили 500 мкг препарату. Об'єкти залишали на добу при кімнатній температурі, а потім виділяли сульпірид за наступною методикою.

Наважку печінки переносили в ступку, додавали потрібну кількість натрію сульфату безводного і розтирали до утворення однорідної сипкої маси. Отриманий об'єкт переносили

до скляної колонки діаметром 20 мм, в нижню частину якої заздалегідь перед заповненням вміщували невеликий ватний тампон. Через відкритий кран колонку заповнювали хлороформом за допомогою гумової груші до утворення «дзеркала» над поверхнею об'єкта завтовшки до 2 см. Кран закривали і над колонкою встановлювали ділильну лійку з хлороформом (100 мл). Через колонку пропускали хлороформ із швидкістю 60-80 крапель за хвилину. Елюати збирали у порцелянові чашки і випарювали на водяній бані при температурі не вище, ніж 40°C до видалення органічного розчинника.

Елюати, отримані таким чином, містили певну кількість супутніх домішок, які видаляли за допомогою додаткової екстракційної очистки.

За даними, отриманими нами при вивченні екстракції сульпіриду з водних розчинів органічними розчинниками, було встановлено, що з кислого середовища (рН 1-2) вказана речовина у найменшій мірі екстрагувалась діетиловим етером (ступінь одноразової екстракції складала близько 8-10%). З лужного середовища сульпірид у найбільшій кількості екстрагувався етилацетатом при рН 10-11, ступінь екстракції при цьому складав 60-92%. Таким чином, для видалення співекстрактивних речовин з біологічного матеріалу найбільш придатними умовами є використання діетилового етеру як екстрагенту домішок при рН 1-2. Екстрагували сульпірид з очищених водних витяжок етилацетатом при рН 10-11.

Для видалення домішок екстракційним методом хлороформні екстракти переносили до фарфорової чашки, випаровували їх на водяній бані при температурі не вище, ніж 40°C до видалення органічного розчинника. Потім до сухого залишку у фарфоровій чашці додавали 20 мл

0,1 М розчину кислоти хлоридної, вміст чашки ретельно перемішували, переносили до ділильної лійки і кислий розчин двічі збовтували з діетиловим етером по 10 мл кожного разу. Фазу органічного розчинника відкидали і у подальшому не досліджували. Після цього кислий водний залишок підлогували 20% розчином натрію гідроксиду до рН 10-11 і тричі екстрагували сульпіриду етилацетатом по 10 мл кожного разу. Органічні витяжки фільтрували через паперовий фільтр з 0,5 г безводного натрію сульфату у мірну колбу об'ємом 50 мл і доводили до позначки етилацетатом. Паралельно проводили «холості» досліді з біологічним матеріалом для отримання розчинів порівняння.

Після цього проводили ідентифікацію та кількісне визначення сульпіриду в отриманих екстрактах.

Виявлення сульпіриду в екстрактах за методом ТШХ проводили з використанням скляних хроматографічних пластинок для високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) виробництва Естонії (сорбент КСКТ, фракція – 5÷20 мкм, товщина шару – 130±25 мкм, розмір пластинок – 20x20 см), Sorbfil (силікагель СТХ-1 ВЕ, тип підложки – ПЕТФ, зв'язуюча речовина – силіказоль, фракція – 8÷12 мкм, товщина шару – 100 мкм, розмір пластинок – 10x10 см). Від 5 до 30 мл хлороформної витяжки випаровували до мінімального об'єму (0,05 мл) і наносили в одну точку на лінію старту хроматографічної пластинки. На відстані 2 см від вказаної точки наносили розчин «свідка» сульпіриду (5 мкг у пробі). У третю точку наносили 5 мл випареної витяжки, одержаної у «холостому» досліді. Хроматограми розвивали послідовно з використанням двох рухомих фаз: хлороформу і метанол-амонію гідроксиду 25% розчин (100:1,5), а також хлороформу і бензин-

метанол-діетиламіну (90:10:10). Після цього пластинки висушували на повітрі і проявляли за допомогою реактиву Драгендорфа у модифікації за Мунье (жовтогарячий колір плям сульпіриду на жовтому фоні; чутливість виявлення складала 1,0-2,0 мкг препарату у пробі). Плями сульпіриду, виділеного з печінки, та сульпіриду-стандарту за величинами Rf співпадали та складали у системі рухомих розчинників метанол – амонію гідроксиду 25% розчин (100:1,5) 0,53±0,02 (для пластинок ВЕТШХ), 0,55±0,02 (для пластинок Sorbfil); у системі рухомих розчинників бензин-метанол-діетиламін (90:10:10) – 0,60±0,02 (для пластинок ВЕТШХ), 0,52±0,02 (для пластинок Sorbfil). Витяжки з «холостих» дослідів не давали плям з вказаними значеннями Rf.

Підтвердження присутності сульпіриду в екстрактах проводили також УФ-спектроскопічним методом. Для цього елюювали сульпірид з непроявленої смуги хроматограми на рівні, що відповідав місцю знаходження плями «свідка» сульпіриду, метанолом, елюат фільтрували через паперовий фільтр та випаровували. Попередньо нами було встановлено, що ступінь елюювання сульпіриду з шару сорбенту метанолом складав 99,2%. Отриманий залишок розчиняли в 4 мл 0,1 М розчині кислоти хлоридної. Оптичну густину визначали на спектрофотометрі СФ-46 при $\lambda_{\max}=293$ нм, використовуючи кювету з товщиною шару рідини 10 мм. УФ-спектр одержаного розчину був аналогічним спектру розчину сульпіриду-стандарту в 0,1 М розчині кислоти хлоридної та мав смугу поглинання при $\lambda_{\max}=293\pm 2$ нм.

При виявленні сульпіриду у витяжках використовували кольорові реакції з реактивами Маркі (зеленувате забарвлення, чутливість – 20 мкг у пробі) та Фреде (зеленувато-бла-

Таблиця

Результати УФ-спектрофотометричного визначення сульпіриду, виділеного з печінки, за допомогою хлороформу (середнє з п'яти визначень)

Додано сульпіриду до 5 г печінки, мкг	Виділено сульпіриду		Метрологічні характеристики
	мкг	%	
500	64,0	12,8	$\bar{X} = 14,1$ $S = 1,5$ $S_{\bar{x}} = 0,7$ $\Delta\bar{X} = 1,9$ $\epsilon = 13,2$ $\bar{X} \pm \Delta\bar{X} = 14,1 \pm 1,9$
500	73,0	14,6	
500	65,5	13,1	
500	82,5	16,5	
500	68,0	13,6	

китне забарвлення, що переходило у зелене, чутливість – 15,0 мкг у пробі). Паралельно проводили контрольні дослідження зі стандартним розчином сульпіриду в хлороформі (30 мкг/мл) та витяжкою з «холостого» досліджуваного.

Кількісний вміст сульпіриду в очищених методом ТШХ витяжках визначали УФ-спектрофотометричним методом з використанням попередньо встановленого нами рівняння залежності оптичної густини від концентрації: $A = 0,00629C - 0,027$ ($r = 0,9998$; $S^2 = 7 \cdot 10^{-5}$). Світлопоглинання розчинів підлягало закону Бугера-Ламберта-Бера в межах концентрацій від 20 до 200 мкг/мл, відносна невизначеність середнього результату становила $\pm 1,9\%$. Як розчин порівняння застосовували розчин, отриманий у «холостому» дослідженні.

Результати та їх обговорення

При ізолюванні сульпіриду з біологічного матеріалу хлороформом було встановлено, що

отримані біологічні екстракти містили значну кількість домішок, які заважали подальшому виявленню та кількісному визначенню сульпіриду. Так, результати вимірювань показників оптичної густини, отримані УФ-спектрофотометричним методом для екстрактів з «холостого» досліджуваного, становили 0,687-0,693.

Для видалення супутніх домішок проводили додаткову екстракційну очистку витяжок за методикою, наведеною вище. Після такої очистки відповідні значення оптичної густини становили 0,047-0,052. Для проведення УФ-спектрофотометричного визначення навіть незначна кількість співекстрактивних речовин заважала дослідженню. У зв'язку з цим ми проводили додаткову хроматографічну очистку отриманих витяжок. Для цього хроматографічну пластинку з нанесеними екстрактами з біологічного матеріалу двічі вміщували в хроматографічну камеру з хлороформом (фронт розчинника – 8 см). Попередніми дослідженнями

з витяжками з «холостих» проб біологічного матеріалу, а також зі стандартним розчином сульпіриду, нанесеними на хроматографічну пластинку, було встановлено, що співекстрактивні речовини при цьому мігрували до фінішу, а плями сульпіриду залишались на лінії старту. Хроматограми з очищеними таким чином пробами сульпіриду з біологічного матеріалу далі розвивали у рухомих фазах, що наведено вище. Після елюювання сульпіриду з хроматографічних пластинок препарат ідентифікували за УФ-спектрами.

Результати кількісного визначення сульпіриду УФ-спектрофотометричним методом, виділеного з печінки за допомогою хлороформу, наведені в таблиці. Як видно, за допомогою запропонованої методики з печінки можна виділити $14,1 \pm 1,9\%$ препарату.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено розрізняльну спроможність відносно сульпіриду методу ізолювання з біологічного матеріалу хлороформом, яка становила $14,1 \pm 1,9\%$ препарату.

2. Показана можливість використання методу тонкошарової хроматографії, кольорових реакцій, УФ-спектроскопії для виявлення сульпіриду, виділеного з біологічного матеріалу, після попередньої додаткової очистки витяжок від супутніх домішок за допомогою методів екстракції та ТШХ. Отримані результати можуть бути використані для судово-токсикологічних досліджень біологічного матеріалу при смертельних отруєннях сульпіридом.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баюрка С.В. // Вісник фармації. – 2011. – №4 (68). – С. 53-56.
2. Баюрка С.В., Карпушина С.А., Бондар В.С. // УБФЖ. – 2010. – №2 (7). – С. 66-70.
3. Вергейчик Т.Х. Токсикологическая химия. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с.
4. Машковский М.Д. Лекарственные средства: 15-е изд. – М.: ООО «Изд-во Новая Волна», 2006. – С. 69.
5. Порошина Е.Г. // ФАРМиндекс-Практик. – 2004. – Вып. 6. – С. 12-23.

6. Элленхорн М.Дж. *Медицинская токсикология: Диагностика и лечение отравлений у человека: В 2-х т. / Пер. с англ.* – М.: Медицина, 2003. – Т. 1. – С. 647-697.
7. Bressolle F., Brès J. // *J. Chromatogr.* – 1985. – Vol. 341 (2). – P. 391-399.
8. Bressolle F., Fauré-Jeantis A. // *J. Pharm. Sci.* – 1992. – Vol. 81 (1). – P. 26-32.
9. Carson H.J. // *J. Leg. Med.* – 2007. – Vol. XXX. – P. 1-4.
10. Cheeta S., Schifano F., Oyefeso A. et al. // *Brit. J. Psychiatry.* – 2004. – №184. – P. 41-47.
11. *Clark's analysis of Drugs and Poisons: 3-rd ed. [Електронний ресурс] / Laurent Y. Galichet.* – 80 Min / 700 MB. – Pharmaceutical Press, 2005. – 1 електрон. опт. диск (CD-ROM); 12 см. – Систем. вимоги: Pentium; 128 Mb RAM; CD-ROM Windows XP / Vista. – Назва з титул. екрану.
12. *Global Burden of Disease: A comprehensive assessment of mortality and disability from diseases, injuries, and risk factors in 1990 and projected to 2020 / C.J.L.Murray, A.D.Lopez.* – Harvard: Harvard University Press, 1996. – P. 5.
13. Huang M.C., Ho H.O., Yeh G.C. et al. // *J. Chromatogr. B.* – 2001. – Vol. 763. – P. 157-163.
14. Isbister G.K., Bowe S.J., Dawson A. et al. // *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* – 2004. – №42. – P. 277-285.
15. Jönsson A., Holmgren P., Ahlner J. // *Forens. Sci. Int.* – 2004. – Vol. 143. – P. 53-59.
16. Liu J., Cao W., Qiu H. et al. // *Clin. Chem.* – 2002. – Vol. 48 (7). – P. 1049-1058.
17. Okulicz-Kozaryn K., Borucka A., Koson K. // *Alk. i narkomania.* – 2006. – Vol. 19, №1. – С. 35-52.
18. *Poisoning & Drug Overdose. 4-th ed. / Ed. K.R.Olson.* – Zange Medical Books, Mc Graw-Hill, 2004. – P. 1053-1054.
19. *Randall C.B. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man.* – California, Foster City: Chemical Toxicological Institute, 2000. – 718 p.
20. Rop P.P., Sournac M.H., Elie I. et al. // *J. Anal. Toxicol.* – 1999. – Vol. 23. – P. 294-296.
21. Sampson S.M. // *Mayo Clin. Proc.* – 2001. – №76. – P. 739.
22. Shinozuka T., Terada M., Tanaka E. // *Forens. Sci. Int.* – 2006. – Vol. 162. – P. 108-112.

Адреса для листування: 61168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-91-92.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 14.12.2011 р.

ДОСЛІДЖЕННЯ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО ВАГІНАЛЬНОГО КРЕМУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНИХ ВАГІНІТІВ

С.М.Дроговоз, Г.В.Зайченко*, О.В.Грищенко, О.С.Бусигін***, К.В.Дроговоз**

Національний фармацевтичний університет
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного університету*
Харківська медична академія післядипломної освіти**
ДП «Державний науковий центр лікарських засобів»***

Ключові слова: неспецифічний вагініт; вагінальна лікарська форма; кліндаміцин; міконазол

Серед інфекційно-запальних захворювань статевого тракту, які є актуальною проблемою у сучасній гінекології, найбільш розповсюдженими є кандидозний вульвовагініт, неспецифічний вагініт та бактеріальний вагіноз. Аналіз фармацевтичного ринку України показав недостатній асортимент вітчизняних препаратів з одночасною протигрибковою та антибактеріальною дією. Клівазол – вітчизняний комбінований крем для лікування вагінітів та вагінозів, який містить кліндаміцин та міконазол. У проведеному дослідженні вивчено дію нового комбінованого крему на моделі травматичного вагініту у щурів, ускладненого інфікуванням музейними штамами мікроорганізмів. Оцінку ефективності досліджуваного крему проводили за показниками периферійної крові, місцевої температури, інтенсивністю виділень з піхви. Було встановлено, що у порівнянні з референтними препаратами досліджуваний крем починав діяти швидше. Результати даного дослідження свідчать про ефективність комбінованого крему клівазолу.

Інфекційно-запальні захворювання урогенітальної системи є актуальною проблемою сучасної гінекології у зв'язку з несприятливим впливом на здоров'я жінок, репродуктивну функцію та широке розповсюдження [5, 7, 9]. Зокрема, вони призводять до порушень менструального циклу (60%), репродуктивної функції жінок та невиношування вагітності (32-68%) [7].

Найбільш поширеними інфекційно-запальними патологіями статевого тракту (12-80%) є кандидозний вульвовагініт, неспецифічний вагініт та бактеріальний вагіноз. Дані захворювання не є серйозною загрозою для життя жінок, але вони можуть бути стартом у розвитку

гестозів (23-72%), причиною передчасних пологів, народження дітей з малою вагою та перинатального інфікування [3, 4, 6].

З врахуванням високої частоти випадків захворюваності на неспецифічний вагініт та бактеріальний вагіноз великого значення набуває питання оптимізації існуючих схем ефективної та безпечної терапії, при якій, враховуючи етіологічну роль облігатноанаеробних бактерій при бактеріальних вагінозах та вагінітах, засобом вибору є препарати з антианаеробною активністю: антибіотики (кліндаміцин, хлорамфенікол) та антимицотики (міконазол, кетоконазол).

Досвід застосування зазначених препаратів підтвердив їх

ефективність при терапії даних захворювань [1, 7, 4]. Однак аналіз фармацевтичного ринку України показав недостатній асортимент вітчизняних препаратів, які поєднують протигрибкову та антибактеріальну дію. Останнє є вельми актуальним у зв'язку з головним етіологічним фактором розвитку цих захворювань – мікст-інфекціями [1, 6].

На теперішній час з 52 монопрепаратів для лікування бактеріальних вагінітів та вагінозів на фармацевтичному ринку України присутні 12 вітчизняних та 40 закордонних препаратів; з 14 комбінованих препаратів немає жодного препарату вітчизняного виробництва [2, 3].

Метою даного дослідження було створення та вивчення вітчизняного комбінованого крему, що містить кліндаміцин та міконазол для лікування вагінітів та вагінозів. Під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора Ляпунова М.О. (ДНЦЛЗ, м. Харків) було розроблено вагінальний крем, що отримав умовну назву «Клівазол».

С.М.Дроговоз – доктор мед. наук, професор кафедри фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Г.В.Зайченко – доктор мед. наук, професор, завідувачка кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

О.В.Грищенко – доктор мед. наук, професор, завідувачка кафедри перинатології, акушерства та гінекології Харківської медичної академії післядипломної освіти

О.С.Бусигін – молодший науковий співробітник лабораторії рідких та м'яких лікарських засобів та аерозолів ДП «Державний науковий центр лікарських засобів» (м. Харків)

Таблиця 1

Вплив крему клівазолу та референтних препаратів на показники периферійної крові на моделі травматично-бактеріального вагініту у щурів, n=8 ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$)

Групи тварин	Загальна кількість лейкоцитів, $\times 10^9$	ШОЕ, мм/г
Інтактні тварини	11,28 \pm 0,75	3,75 \pm 0,16
Контрольна патологія	31,50 \pm 1,70 ¹	16,50 \pm 0,27 ¹
Клівазол	15,44 \pm 0,93 ²	5,12 \pm 0,23 ^{2/3}
Референтні препарати	16,13 \pm 0,49 ²	6,12 \pm 0,23 ²

Примітки:

- 1) n – кількість тварин у групі;
- 2) ¹ – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин групи інтактного контролю ($p \leq 0,05$);
- 3) ² – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин групи контрольної патології ($p \leq 0,05$);
- 4) ³ – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин, які отримували референтні препарати ($p \leq 0,05$).

Вибір зазначених антибактеріальних та протигрибкових інгредієнтів пов'язаний з даними літератури, які вказують на їх високу ефективність по відношенню до основних збудників вагінітів [1, 7].

Матеріали та методи

На кафедрі фармакології Національного фармацевтичного університету була вивчена специфічна дія комбінованого крему клівазолу у порівнянні з монокомпонентними вагінальними препаратами, які містять кліндаміцин (Далацин) та міконазол (Гінезол 7) на моделі травматичного вагініту, ускладненого інфікуванням музейними штамми мікроорганізмів (*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*). Дана модель добре відтворюється та є інформативною [1, 4].

У проведеному експерименті було використано 4 групи по 8 тварин у кожній білих нелінійних самок щурів масою 170-200 г: 1 група – інтактний контроль (здорові самки), 2 група – контрольна патологія (щурі з інфекційно-запальним вагінітом, неліковані), 3 група – тварини, яких на тлі патології лікували клівазолом, 4 група – тварини з вагінітом, яких лікували референтними препаратами

(кліндаміцином та міконазолом). Усі препарати вводили інтравагінально у лікувальному режимі: один раз на день протягом 6 днів. Референтні препарати вводили однократно по чергово з інтервалом у 15 хв.

Оцінку ефективності досліджуваного крему та референтних препаратів проводили за показниками периферійної крові (рівнем лейкоцитозу, швидкістю осідання еритроцитів (ШОЕ)), локальної температури та макроскопії виділень з вагіни. Динаміка цих показників є інформативною при оцінюванні ефективності лікування вагініту, яку ми проводили на 12-й день досліджуваного крему та референтних препаратів.

Результати та їх обговорення

Під час оцінки отриманих результатів у групі тварин контрольної патології (нелікованих) відмічено підвищення кількості лейкоцитів у 2,8 рази порівняно з тваринами інтактної групи, також спостерігали підвищення ШОЕ у 4,4 рази (табл. 1).

На 6-й день лікування (12-й день досліджуваного крему та референтних препаратів) показник лейкоцитозу зменшився у 2 рази порівняно з тваринами групи контрольної патології, а показник ШОЕ знизився у 3,2 рази.

Застосування референтних препаратів кліндаміцину та міконазолу також покращило клінічні показники периферійної крові: лейкоцитоз знизився майже у 2 рази, рівень ШОЕ – більше, ніж у 2,7 рази.

На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що клівазол ефективно гальмує розвиток системної запальної реакції, що підтверджується нормалізацією кількості лейкоцитів та показника ШОЕ. За впливом на ці клінічні показники клівазол не поступається препаратам порівняння.

Оскільки одним з проявів запального процесу слизової оболонки піхви є локальне підвищення температури у *locus morbi*, доцільно було простежити зміни цього показника під час проведення експерименту (табл. 2).

Аналізуючи динаміку показника вагінальної температури, ми виявили її підвищення у групі нелікованих тварин на 1,2°C на 3-й день досліджуваного крему та референтних препаратів порівняно з аналогічним показником у групі інтактних тварин. У подальшому простежувалось достовірне збільшення показника температури у піхві щурів. Так, на 6-й день температура була вищою на 2,2°C, на 9-й день – на 2,9°C, на 12-й день – на 3,4°C у порівнянні з аналогічним показником у ті ж дні у групі тварин інтактного контролю.

Тенденція до зниження вагінальної температури у тварин, лікованих клівазолом, спостерігалась на 9-й день досліджуваного крему та референтних препаратів, хоча підвищення температури також мало місце, проте температура була достовірно меншою на 2,6°C по відношенню до нелікованих тварин. На 12-й день досліджуваного крему та референтних препаратів значення температури у тварин, лікованих клівазолом, та інтактних щурів були однакові – 38,4°C. У тварин, лікованих референтними препаратами, теж спостерігалась локальна гіпертермія, але на відміну від тварин, лікованих клівазолом,

Таблиця 2

Вплив крему клівазолу та референтних препаратів на показник вагінальної температури на моделі травматично-бактеріального вагініту у щурів, t°C, n=8

Дні досліджу	Групи тварин (n=8)			
	інтактний контроль	контрольна патологія	клівазол	кліндаміцин/міконазол
1-й	38,4±0,03	38,4±0,04	38,4±0,03	38,4±0,03
3-й	38,4±0,02	39,6±0,03 ¹	39,7±0,04	39,7±0,03
6-й	38,5±0,04	40,7±0,06 ¹	40,6±0,07	40,4±0,05 ²
9-й	38,5±0,04	41,4±0,05 ¹	38,8±0,03 ^{2/3}	39,9±0,03 ²
12-й	38,4±0,04	41,8±0,02 ¹	38,4±0,03 ²	38,7±0,02 ²

Примітки:

- 1) n – кількість тварин у групі;
 2) ¹ – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин групи інтактного контролю (p≤0,05);
 3) ² – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин групи контрольної патології (p≤0,05);
 4) ³ – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин, які отримували референтні препарати (p≤0,05).

лом, була достовірно меншою, ніж у групі нелікованих тварин на 0,3°C на 6-й день досліджу; на 9-ий день досліджу вона була достовірно меншою порівняно з самками групи нелікованих тва-

рин на 1,5°C, а на 12-й день досліджу температура була як у інтактних щурів.

При порівнянні показника місцевої температури у щурів, які отримували клівазол, та у

Таблиця 3

Вплив крему клівазолу та референтних препаратів на інтенсивність виділень на моделі травматично-бактеріального вагініту у щурів, n=8

Дні досліджу	Група тварин / Сума балів Me (LQ;UQ)			
	інтактний контроль	контрольна патологія	клівазол	кліндаміцин/міконазол
1-й – 5-й	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)	0 (0;0)
6-й	0 (0;0)	3,0 (2,5;3,0) ¹	3,0 (3,0;3,0) ¹	3,0 (3,0;3,0) ¹
7-й	0 (0;0)	3,0 (3,0;3,0) ¹	3,0 (3,0;3,0) ¹	3,0 (3,0;3,0) ¹
8-й	0 (0;0)	3,0 (2,0;3,0) ¹	2,0 (2,0;2,5) ¹	2,0 (2,0;2,0) ^{1,2}
9-й	0 (0;0)	2,0 (2,0;2,0) ¹	1,5 (1,0;2,0) ^{1,2}	2,0 (1,0;2,0) ¹
10-й	0 (0;0)	2,0 (2,0;2,0) ¹	1,0 (1,0;1,0) ^{1,2}	1,0 (1,0;1,0) ^{1,2}
11-й	0 (0;0)	1,0 (1,0;1,0) ¹	0,0 (0,0;0,0) ²	0,0 (0,0;0,0) ²
12-й	0 (0;0)	1,0 (1,0;1,0) ¹	0,0 (0,0;0,0) ²	0,0 (0,0;0,0) ²

Примітки:

- 1) n – кількість тварин у групі;
 2) ¹ – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин групи інтактного контролю (p≤0,05);
 3) ² – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин групи контрольної патології (p≤0,05);
 4) ³ – статистично значуще відхилення по відношенню до тварин, які отримували референтні препарати (p≤0,05).

щурів, яких лікували референтними препаратами, достовірної різниці не спостерігалось до 6-го дня досліджу. Проте на 9-й день досліджу достовірно вищим на 1,1°C цей показник був у групі тварин, лікованих кліндаміцином та міконазолом.

На підставі вищезазначеного можна зробити висновок про те, що досліджувані препарати покращували показник місцевої температури з тенденцією до нормалізації останнього.

Для порівняння дії крему «Клівазол» та референтних препаратів (кліндаміцин та міконазол) ми також проаналізували їх вплив на показник виділень з вагіни у лікованих та нелікованих щурів (табл. 3).

Макроскопічний аналіз показав, що у щурів з вагінітом спостерігались виділення з піхви. Протягом перших п'яти діб виділень з вагіни у жодної самки з трьох досліджуваних груп (контрольної патології, клівазолу та референтних препаратів) не було. Тільки на 6-й день спостереження з'явилися виділення як у лікованих, так і у нелікованих щурів. На 7 день досліджу (2-й день лікування) показник виділень залишався у трьох груп самок (контрольної патології, клівазолу та кліндаміцину + міконазолу), які на 6-й день 38-го дня досліджу (3-й день лікування) в групі щурів, лікованих клівазолом та референтними препаратами, показник виділень з піхви почав зменшуватись (з 3 балів до 2 балів). На 10-й день спостереження кількість виділень під дією досліджуваних препаратів зменшилась на 50% по відношенню до нелікованих щурів. Лікувальний ефект (оцінюваний за зниженням інтенсивності виділень) досліджуваних препаратів на 100% спостерігався тільки на 11-й день досліджу. Як видно з даного аналізу, крем клівазол та референтні препарати чинили ідентичну лікувальну дію на показник виділень з піхви (табл. 3).

ВИСНОВКИ

Таким чином, всі досліджувані препарати проявляли виразний лікувальний ефект, однак крем клівазол починав діяти швидше. Відновлення нормального стану слизової оболонки вагіни, показників периферійної крові, місцевої температури під дією досліджуваного крему також відбувалося на

день скоріше, ніж під дією референтних препаратів. Даний ефект від дії крему клівазол обумовлений рядом певних переваг, а саме широким спектром дії цього препарату за рахунок комбінації складових, безпосередньою дією на збудник у піхві, майже відсутністю резистентності мікрофлори до складових крему. Враховуючи вищезазна-

чене, можна зробити висновок, що клівазол зручний у використанні (два компоненти в одній лікарській формі) завдяки можливості потенціювання компонентами мазі один одного. Результати даного фармакологічного дослідження свідчать про перспективність комбінованого крему клівазолу для лікування неспецифічних вагінітів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абашова Е.И., Боровик Н.В., Мартикайнен З.М и др. // *Акушерство и гинекол.* – 2006. – №6. – С. 46-49.
2. Анкирская А.С. // *Гінеколог.* – 2005. – №4. – С. 15-18.
3. Аристов М.А., Прудкий Є.П., Савич С.А., Цховребашвілі М.А. *Класифікатор лікарських препаратів Rx-index.* – К., 2011. – 928 с.
4. Байрамова Г.Р., Прилепская В.Н., Цаллагова Е.В. // *Гинекол.* – 2006. – Т. 8, №5-6. – С. 35-42.
5. Буданов П.В. // *Вопросы гинекол., акушерства и перинатол.* – 2005. – №4. – С. 13-16.
6. Воропаева Е.А., Афанасьев С.С., Кудрявцева М.В. и др. // *Журн. микробиол.* – 2005. – №3. – С. 65-69.
7. Серов В.Н. // *Рус. мед. журн.* – 2006. – №14 (1). – С. 2-5.
8. Сидорова И.С., Боровкова Е.И. *Микрофлора половых путей у женщин репродуктивного возраста.* – М.: *Практическая медицина*, 2007. – 80 с.
9. Beghin B., Bernaille J., Bruhat M. et al. // *Репродуктивное здоровье женщины.* – 2008. – №3 (37). – С. 70-74.
10. Petersen E.E. *Infections in Obstetrics and Gynecology: Textbook and Atlas.* – New York: Thieme, 2006. – 260 p.
11. Reid G., Hammond J.A. // *Can. Fam. Physician.* – 2005. – Vol. 51. – P. 1487-1493.
12. Robert I.J. // *Br. J. Obstet. Gynaecol.* – 1995. – Vol. 102, №2. – P. 92-94.
13. Stein G.T., Christensen S.L., Mummaw N.L. et al. // *Ann. Pharmacother.* – 1993. – Vol. 28, №2. – P. 483-487.
14. Stoll P., Dallenbach G. *Cytology in Gynecological Practice: an Atlas of Phase – Contrast Microscopy.* – Berlin: Heidelberg, 1997. – P. 432-435.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-69.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 29.05.2012 р.

ВПЛИВ НОВОГО МЕТАБОЛІТОТРОПНОГО КАРДІОПРОТЕКТОРА «ЛІЗИНІЙ» НА СТАН ЛІМІТУЮЧИХ ЛАНОК ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ І КОМПЕНСАТОРНИХ МЕТАБОЛІЧНИХ ШУНТІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА

*І.Ф.Бєленічев, Л.І.Кучеренко, І.А.Мазур, Н.В.Бухтіярова, В.С.Стеблюк, І.В.Павлюк, Г.В.Георгієвський**

Запорізький державний медичний університет
Український науково-експертний центр якості лікарських засобів*

Ключові слова: метаболітотропні кардіопротектори; «Лізиній»; інфаркт міокарда; енергетичний метаболізм

Призначення «Лізинію» (2,5% розчин для ін'єкцій, розробка НВО «Фарматрон») у дозі 50 мг/кг паралельно формуванню експериментального гострого інфаркту міокарда приводить до нормалізації енергетичного метаболізму серця за рахунок інтенсифікації аеробних реакцій і компенсаторної активації малат-аспартатного шунта, зниження анаеробного гліколізу і покращення функцій мітохондрій і таким чином формує стійкість міокарда до гіпоксії за рахунок перебудови енергетичних шляхів, яка передбачає мобілізацію механізмів постачання протонів для окиснювального фосфорилування та економного використання кисню, якого не вистачає. Застосування «Лізинію» за силою терапевтичного впливу достовірно перевищує ефективність референс-препарату мілдронату.

Початок нинішнього століття ознаменувався значним розповсюдженням серцево-судинних захворювань, які посіли 2-3 місце в структурі смертності промислово розвинених країн. Лідируюче місце серед серцево-судинної патології займає ІХС і один з її грізних проявів – інфаркт міокарда [1, 12, 14, 15], тому розробка засобів лікування патологій серцево-судинної системи є актуальною задачею сучасної медицини. В основі патологічних процесів, що розвиваються в міокарді при ішемії, лежать метаболічні порушення [1, 2, 4-6, 10]. Ці зміни характеризуються прогресуючим зниженням рівня високоенергетичних фосфатів, накопиченням потенційно токсичних продуктів метаболізму, таких як лактат, іони H^+ , вільні кисневі радикали, а також накопиченням іонів (натрію і каль-

цію), що призводить до морфологічного ураження і, зрештою, до загибелі клітини. Лікарські засоби, здатні переривати або зменшувати каскад несприятливих метаболічних реакцій, що викликаються ішемією, та об'єднані назвою «метаболітотропні кардіопротектори», чинять захисну дію на міокард і мають безсумнівні перспективи в клінічній практиці [2, 10, 12, 13, 16]. Проведений співробітниками НПО «Фарматрон» (президент – професор І.А.Мазур) цілеспрямований пошук засобів кардіопротекції в ряду похідних 1,2,4-триазоліл-5-тіокарбонікислот завершився створенням потенційного препарату «Лізиній» (L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат), який проявляє кардіопротективні, протиішемічні, антиоксидантні і ендотеліопротективні властивості [6, 7].

Метою цієї роботи було вивчення впливу курсового призначення «Лізинію» (2,5% розчин для ін'єкцій) на стан деяких ланок енергетичного метаболізму міокарда в умовах його експериментальної ішемії.

Матеріали та методи

Досліди виконані на 40 щурах лінії Вістар масою 190-210 г, отриманих з розплідника Інституту фармакології і токсикології АМН України. Всі маніпуляції було проведено згідно з положенням про використання тварин у біомедичних дослідженнях (Страсбург, 1986 р., зі змінами, внесеними в 1998 р.). Інфаркт міокарда (ІМ) моделювали поетапним введенням ізадрину і пітуїтрину за схемою: пітуїтрин – 0,5 Од/кг внутрішньоочеревинно, через 20 хвилин ізадрин – 100 мг/кг підшкірно, через 6 годин ін'єкція ізадрину повторювалась і через 24 години вводились обидва агенти в тих же дозах [3, 9]. У роботі використовувався пітуїтрин для ін'єкцій виробництва

І.А.Мазур – доктор фармац. наук, професор, завідувач кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету, президент НВО «Фарматрон»

Г.В.Георгієвський – канд. фармац. наук, старший науковий співробітник Українського науково-експертного центру якості лікарських засобів (м. Харків)

AB «Endokrininiai» (Литва) та ізадрин виробництва «Sigma» (USA). Досліджувані препарати вводили внутрішньоочеревинно триразово протягом доби паралельно з формуванням інфаркту за 30 хвилин до ін'єкції пітуїтрину та ізадрину: «Лізиній» в дозі 50 мг/кг, референс-препарат мілдронат – у дозі 100 мг/кг [5]. Всього було чотири групи тварин: 1) інтактні (10 щурів); 2) контрольні – неліковані з ІМ (10 щурів); 3) тварини з ІМ, які отримували «Лізиній» (10 щурів); 4) тварини з ІМ, які отримували референс-препарат мілдронат – стандарт метаболіотропної кардіопротекції (10 щурів).

Тварин виводили з експерименту через 60 хвилин після останньої ін'єкції ізадрину під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг).

Серце швидко виділяли і фіксували в рідкому азоті. Методом диференційного центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли цитозольну і мітохондріальні фракції. Стан енергетичного обміну (продукція і транспорт енергії) визначали за рівнем найбільш значущих інтермедіатів – АТФ, АДФ, АМФ, лактату, пірувату, малату, ізоцитрату, глікогену, глюкозо-6-фосфату, а також за активністю цитозольної і мітохондріальної креатинфосфокінази (КФК-цт; КФК-мх) [2, 3, 8-10].

Про активність компенсаторного шунта енергопродукції – малат-аспартатного човника робили висновки за активністю малатдегідрогенази (МДГ) і вмістом малату, аспартату і глутамату [8, 10, 11].

Статистичну обробку даних проводили з використанням стандартного пакету аналізу програми статистичної обробки результатів версії Microsoft Office Excel 2003. Дані наведені у вигляді вибіркового середнього значення \pm стандартна похибка середнього значення.

Перевірку на нормальність розподілення здійснювали за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Достовірність відмінностей між експериментальними групами оцінювали за допомогою U-критерію Уїтні-Манна комп'ютерної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5).

Результати та їх обговорення

Моделювання ІМ призводило до ішемічного порушення енергетичного метаболізму – дефіциту макроергічних фосфатів, виснаження вуглеводних резервів на фоні активації гліколізу, гальмування реакцій циклу Кребса і гальмування компенсаторних шунтів енергії (табл.). Так, у гомогенаті серця тварин з інфарктом міокарда спостерігалось зниження вмісту АТФ на 37,2%, АДФ – на 47%, глікогену – на 81,6%, глюкозо-6-фосфату – на 48,0%. Паралельно реєструвалось збільшення лактату на 152,0% на фоні зниження рівня малату на 65,2%, пірувату – на 35,3% та ізоцитрату – на 37,3%.

Зниження активності мітохондріальної КФК на 46% і цитозольної КФК на 30% свідчило про порушення транспорту енергії.

Призначення 2,5% розчину «Лізинію» тваринам з ІМ приводило до підсилення продукції АТФ на 53,6% за рахунок інтенсифікації аеробних процесів. «Лізиній» чинив помірну дію відносно вмісту субстратів окиснення – глікогену (47%) і глюкозо-6-фосфату (+41%) в ішемізованому міокарді. «Лізиній» обмежував активність малопродуктивного анаеробного гліколізу в умовах ішемії, про що свідчило зниження рівня лактату на 57%. При цьому «Лізиній» нормалізував окиснення в циклі Кребса на дикарбоновій ділянці (підвищення рівня малату на 120%). «Лізиній» також позитивно впливав на окис-

нювальні процеси на трикарбоновій ділянці циклу Кребса (підвищення рівня ізоцитрату на 60%) і в дихальному ланцюгу (підвищення активності цитохром С-оксидази на 46,7%). Суттєвим моментом у механізмі енерготропної дії «Лізинію» в умовах ішемії міокарда був його активуючий вплив на компенсаторний малат-аспартатний шунт. Малат-аспартатний човник здійснює перенос відновлених еквівалентів, які утворюються в цитоплазмі в процесі гліколізу, в мітохондрії в умовах ішемії. Утворений в цитоплазмі в умовах зниженого вмісту кисню НАДН⁺ використовується для перетворення щавлевооцтової кислоти на малат, який проникає в мітохондрію і бере участь в експорті α -кетоглутарату. Цей малат у мітохондріях перетворюється на щавлевооцтову кислоту з утворенням НАДН, доступного для електронотранспортного ланцюга (з 2 протонів утворюються 3 молекули АТФ). Утворена з малату щавлевооцтова кислота перетворюється на α -кетоглутарат і аспартат. α -Кетоглутарат йде з мітохондрій в обмін на малат, а аспартат обмінюється на глутамат. Перенос відбувається за рахунок градієнта глутамату і високого внутрішньомітохондріального відношення глутамат/аспартат [4, 5, 6]. Співвідношення НАДН/НАД⁺ і малат/щавлевооцтова кислота регулюється МДГ. При моделюванні ІМ спостерігалось гальмування малат-аспартатного шунта, що виражалось у зниженні активності МДГ на 55%, зменшенні рівня малату на 65,3%, аспартату на 18,6% і глутамату на 30,3%. «Лізиній» інтенсифікував активність малат-аспартатного шунта, про що свідчило підвищення активності МДГ на 153%, збільшення вмісту малату на 120%, аспартату – на 18% і глутамату – на 35%. «Лізиній» збільшував не тільки продукцію енергії, але

Таблиця

Вплив «Лізинію» і референс-препарату на показники енергетичного обміну і малат-аспартатного шунта при експериментальному інфаркті міокарда (ІМ) ($M \pm m$), $n=40$

Досліджувані показники	Інтакт	ІМ (контроль)	ІМ + «Лізиній», 50 мг/кг	ІМ + мілдронат, 100 мг/кг
АТФ, мкМ/г тканини	2,82±0,10	1,77±0,11	2,72±0,10* (+53,6%)	2,32±0,12* (+31,0%)
АДФ, мкМ/г тканини	0,610±0,03	0,322±0,02	0,573±0,02* (+78,0%)	0,511±0,03 (+58,7%)
АМФ, мкМ/г тканини	0,12±0,01	0,22±0,01	0,11±0,01* (-50,0%)	0,14±0,01* (-36,4%)
Глікоген, мкМ/г тканини	10,2±0,8	1,87±0,10	2,75±0,5*** (+47%)	1,65±0,8 (-11,7%)
Глюкозо-6-фосфат, мкМ/г тканини	0,734±0,04	0,381±0,01	0,537±0,02*** (+41,0%)	0,431±0,02 (+13,1%)
Лактат, мкМ/г тканини	2,56±0,20	6,45±0,11	2,77±0,11*** (-57,0%)	7,12±0,20 (+10,4%)
Піруват, мкМ/г тканини	0,17±0,03	0,11±0,01	0,15±0,01 (+36,4%)	0,14±0,02 (+27,3%)
Ізоцитрат, мкМ/г тканини	0,686±0,03	0,430±0,01	0,611±0,01* (+42%)	0,511±0,03 (+18,8%)
Малат, мкМ/г тканини	0,72±0,02	0,25±0,01	0,55±0,01*** (+120%)	0,28±0,02 (+12%)
МДГ, мкМ/мг/хв	6,88±0,11	3,10±0,1	7,87±0,1*** (+153,8%)	3,87±0,02 (+25%)
Глутамат, мкМ/г тканини	24,4±0,3	17,0±0,2	23,0±0,20*** (+35,3%)	17,4±0,3 (0%)
Аспартат, мкМ/г тканини	15,0±0,1	12,2±0,1	14,4±0,1 (+18,0%)	11,7±0,1 (0%)
КФК-цт, мкМ/мг/хв	1,147±0,02	0,811±0,01	1,097±0,03* (+35,3%)	0,941±0,02 (+16,0%)
КФК-мх, мкМ/мг/хв	0,771±0,03	0,411±0,02	0,719±0,01* (+75,0%)	0,582±0,07* (+41,6%)
Цитохром-С-оксидаза, мкМ/мг/хв	5,4±0,1	3,2±0,2	4,7±0,1*** (+46,8%)	3,8±0,1 (+18,7%)
МВ-КФК, мМол/л/год	0,05±0,001	0,19±0,008	0,061±0,001*** (-68,0%)	0,12±0,003* (-36,8%)

Примітки:

1) * – $P < 0,05$ по відношенню до контрольної групи;

2) ** – $P < 0,05$ по відношенню до групи мілдронату.

і її транспорт, про що свідчило підвищення активності мітохондріальної креатинфосфокінази на 75% (КФК-мх) і цитозольної креатинфосфокінази на 35% (КФК-цт). Призначення мілдронату приводило до збільшення синтезу АТФ за рахунок активації анаеробного гліколізу і більш інтенсивного втягнення субстратів – глікогену і глюкозо-6-фосфату в продукцію макроергів.

Введення мілдронату приводило до збільшення транспорту енергії, про що свідчило під-

вищення активності мітохондріальної і цитозольної КФК.

При цьому призначення мілдронату, на відміну від застосування «Лізинію», не чинило позитивного впливу на окиснювальну продукцію енергії в циклі Кребса і активацію малат-аспартатного компенсаторного шунта.

Сумарний внесок мілдронату в енергозабезпечення серця в умовах ішемії був нижчим, ніж подібна енерготропна дія «Лізинію». Біохімічними дослідженнями сироватки крові бу-

ло виявлено зменшення гіперферментемії серцевого ізоензиму креатинфосфокінази (МВ-КФК) на 68% в групі тварин, які отримували «Лізиній», що підтверджувало протиішемічну дію препарату. Мілдронат чинив менш виражену протиішемічну дію зі зниження показників біохімічного маркера МВ-КФК.

ВИСНОВКИ

1. Призначення «Лізинію» (2,5% розчин для ін'єкцій в ампулах) в дозі 50 мг/кг тваринам з експериментальним ін-

фарктом міокарда приводило до підвищення продукції АТФ і АДФ на тлі зниження АМФ в тканинах серця.

2. «Лізиній» обмежує активність малопродуктивного анаеробного гліколізу в умовах ішемії міокарда і паралельно

інтенсифікує окиснення в циклі Кребса на дикарбоновій та трикарбоновій ділянці, а також у дихальному ланцюгу.

3. Механізм енерготропної дії «Лізинію» реалізується за рахунок інтенсифікації аеробних реакцій і компенсаторної

активації малат-аспартатного шунта, що формує стійкість міокарда до гіпоксії.

4. Застосування «Лізинію» за силою терапевтичного впливу достовірно перевищує ефективність референс-препарату – мілдронату.

ЛІТЕРАТУРА

1. Амосова Е.Н. // Укр. кардиол. журн. – 2000. – №4. – С. 86-92.
2. Визир В.А., Волошин Н.А., Мазур И.А., Беленичев И.Ф. Метаболические кардиопротекторы. – Запорожье, 2006. – 34 с.
3. Воронина Т.А., Серединин С.Б. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – МЗ РФ ЗАО ИИА Ремедиум, 2002. – 320 с.
4. Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И.С. Тиотриазолин. – Запорожье, Львов: Наутилус, 2005. – 156 с.
5. Мазур И.А., Чекман И.С., Беленичев И.Ф. Метаболитотропные препараты. – Запорожье, 2007. – 309 с.
6. Мазур И.А., Волошин Н.А., Визир В.А., Беленичев И.Ф. Тиотриазолин, тиодарон в лечении сердечно-сосудистой патологии. – Запорожье: Печатный мир, 2011. – 303 с.
7. Пат. Российской Федерации № 21370492 С 07 D, А 61 К 31/41 и пат. Украины №86668 МПК 200901 А 61 К 31/4196 № а 200705865 Лизиний 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоацетат, проявляющий нейропротективное, ноотропное, кардиопротективное, эндотелиопротективное, противоишемическое, антиоксидантное, противовоспалительное, противогипоксическое действие и обладающий низкой токсичностью / И.А.Мазур, И.Ф.Беленичев, Ю.М.Колесник, Л.И.Кучеренко. – Заявл.: 04.06.2007. Опубл.: 20.10.2009.
8. Прохорова М.А. Современные методы в биохимии. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. – 368 с.
9. Стефанов А.В. Доклинические исследования лекарственных средств. – К.: Авиценна, 2002. – 568 с.
10. Тишкин В.С. Клинико-экспериментальное исследование эффективности средств метаболической коррекции в комбинированной терапии инфаркта миокарда: Дис. ... докт. мед. наук. – М., 1989. – 402 с.
11. Чекман И.С., Губский Ю.И., Громов Л.А., Беленичев И.Ф. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных нейропротективных препаратов: Метод. рекоменд. Государственного фармакологического центра МОЗ Украины. – К., 2010. – 81 с.
12. Andersson B., Stromblad S.O., Lomsky M., Waangstein F. // Eur. Heart J. – 2009. – Vol. 20. – P. 575-580.
13. Anversa P., Zang X., Olivetti G., Capasso J.M. // Cardiovasc. Res. – 2003. – Vol. 27. – P. 145-157.
14. Cardoni A., Pasini E. // Eur. Heart J. – 1999. – Vol. 1. – P. 40-48.
15. Guidelines on management of stable angina pectoralis – The Task Force on the European Society of Cardiology // Eur. Heart J. – 2006. – Vol. 27. – P. 1341-1381.
16. Nemoz C., Leizorovicz A., Gillet J. // Arch. Mai. Coeur. Vaiss. – 2005. – Vol. 88, №9. – P. 1261-1266.

Адреса для листування: 69035, м. Запоріжжя,
пр. Маяковського, 26. Тел. (61) 224-69-25.
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції 06.04.2012 р.

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ З НАСІННЯ ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО НА ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТКАНИНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ГОСТРОМУ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОВОМУ ГЕПАТИТІ

А.Л.Загайко, С.В.Заїка, О.А.Красильнікова, Ю.Б.Лар'яновська

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: екстракт з насіння винограду культурного; гістоморфологічні показники; печінка

Під дією різноманітних патологічних чинників відбувається активація вільнорадикальних процесів. В умовах недостатньої потужності антиоксидантної системи або її ушкодження реалізуються альтеруючі ефекти вільних радикалів, що є передумовою розвитку багатьох патологічних станів. Вивчали вплив екстракту з насіння Винограду культурного на стан печінкової паренхіми тварин. Через добу після одноразового внутрішньошлункового введення тетрахлорометану у щурів з групи контрольної патології виявлені грубі порушення структури печінкової паренхіми. Лікувально-профілактичне введення екстракту з насіння Винограду культурного поліпшувало стан печінкової паренхіми тварин. У першу чергу, це стосувалося деструктивних проявів, збереження гістоархітектоніки тканини. На відміну від тварин з групи контрольної патології практично у всіх тварин даної групи некроз охоплював лише окремі групи гепатоцитів. Значні ділянки паренхіми зберігали характерний рисунок. За виразністю гепатопротекторної дії в умовах гострого тетрахлорометанового ураження печінки екстракт з насіння Винограду культурного дещо перевищує гепатопротекторний ефект силібору.

Печінка – головний орган метаболізму в організмі людини, що виконує більше 70 функцій. Згідно з сучасними уявленнями найбільш значущими метаболічними захворюваннями печінки є неалкогольний стеатоз і стеатогепатит, у патогенезі яких провідна роль належить накопиченню ліпідів у гепатоциті і посиленню процесів вільнорадикального окиснення з накопиченням продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) і розвитком некрозів печінкових клітин [7, 9]. Широкий спектр фармакологічних ефектів демонструють рослинні поліфеноли. Багатим джерелом рослинних поліфенолів є насіння винограду культурного. Для поліфенолів винограду характерна антиоксидантна, мембраностабілізуюча, імуномодулююча, протизапальна активність [10].

Враховуючи провідну роль, яку відіграє стан гіперліпопер-

оксидації у патогенезі захворювань печінки, а також значний вміст поліфенольних сполук у складі субстанції екстракту з насіння Винограду культурного, антиоксидантна дія яких широко відома, метою наших досліджень стало вивчення впливу екстракту з насіння Винограду культурного на стан печінкової паренхіми тварин в умовах гострого тетрахлорометанового ураження.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на безпородних самцях щурів, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Екстракт з насіння винограду вводили внутрішньошлунково в дозі 100 мг/кг (в перерахунку на 9 мг поліфенолів / 100 г маси тіла) протягом 2 тижнів 1 раз на добу [8], в якості референс-препарату використовували силібор у дозі 25 мг/кг за такою ж схемою. Гострий тетрахлорометановий

гепатит викликали одноразовим внутрішньошлунковим введенням 50% олійного розчину тетрахлорометану у дозі 10 мл/кг маси тіла тварин [4].

Зразки печінки фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, укладали в целоїдин. Мікротомовані зрізи товщиною 3-4 мкм фарбували кислим гемалауном Майєра та еозином [5]. На зрізах печінки (окуляр 10, об'єктив 50) у 5-ти поверхнях з осягненням перивазальних, перипортальних та проміжних відділів часточки на стандартній площі окулярмікрометричної сітки підраховували (на 1000 гепатоцитів) кількість двоядерних клітин, клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК, та клітин, що знаходяться у стадії мітозу, кількість дегенерованих клітин. Проводили напівкількісну оцінку інтенсивності патологічного процесу (стеатозу, деструктивних проявів, збереження гістоархітектоніки паренхіми) за 5-ти бальною системою, відпо-

Таблиця 1

Вплив екстракту з насіння Винограду культурного на гістоморфологічні показники печінки щурів в умовах гострого тетрахлорометанового гепатиту у порівнянні з силібором, n=6

Показники (на 1000 клітин)	Експериментальна група			
	інтактний контроль	контрольна патологія	екстракт з насіння винограду, 100 мг/кг	силібор, 25 мг/кг
Кількість двоядерних клітин	33,74±1,09	12,96±1,07*	31,46±4,78**	25,86±1,33 **
Кількість клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК	9,37±1,86	12,98±0,92	18,93±2,88**	16,42± 0,68**
Кількість деструктивних клітин	8,67±1,44	59,23±4,55*	34,00±4,69*/**	32,85±2,94*/**
Кількість клітин у стадії мітозу	не виявлено	1,24±0,46*	1,41±0,68*	0,83±0,45*

Примітки:

- 1) * – достовірно відносно інтактного контролю;
- 2) ** – достовірно відносно контрольної патології;
- 3) n – кількість тварин у кожній групі.

відно до якої: 1 бал – слабкі зміни; 2 бали – середні зміни; 3 бали – виражені зміни та 4 бали – зміни дуже виражені [6]. Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400. Мікрофотографування зображень здійснювали за допомогою цифрового фотоапарату NikonCoIPix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 4GH за допомогою програми NikonView 5.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою методів непараметричної статистики з використанням *t*-критерію Стьюдента [2], критерію Вілкоксона-Манна-Уїтні [3].

Результати та їх обговорення

Оглядова мікроскопія печінки щурів з групи інтактного контролю показала, що часточковий рисунок тканини носив притаманний щурам нечіткий характер. Межі часточок виявляли за тріадами (портальними трактами). Зони тріад вузькі. Ендотелій термінальних гілок воротної вени та печінкової артерії, інших кровоносних судин, а також епітелій жовчних протоків незмінні. Радіаль-

на спрямованість тяжів гепатоцитів не порушена. Гепатоцити за формою та розміром відповідають нормі. Спостерігалася виразна ізоморфність клітин. Ядра клітин овальні, розташовані у центрі клітини, загалом нормохромні, помірно варіабельні за розмірами і містять по одному ядерцю. Виявлена невелика кількість клітин, ядра яких знаходяться у фазі синтезу ДНК. Ядро значно збільшене, конденсований хроматин розподілений дифузно по всьому ядру, ядерце не виявлялося, що свідчить про нормальний стан органу [1]. Цитоплазма не місти-

ла включень, які виявляються на світлооптичному рівні, і була рівномірно забарвлена. Перинуклеарно виявляється певне посилення базофілії. Наявність двоядерних клітин була у межах норми, клітин із регресивними змінами ядра та цитоплазми небагато, клітин, що знаходяться у стадії мітозу, не виявлено. Внутрішньочасточкові синусоїдальні капіляри помірно розширені, практично вільні від еритроцитів; ендотеліальна вистилка синусоїдів, зірчасті ретикулоендотеліоцити знаходяться у стані спокою (рис. 1, табл. 1).

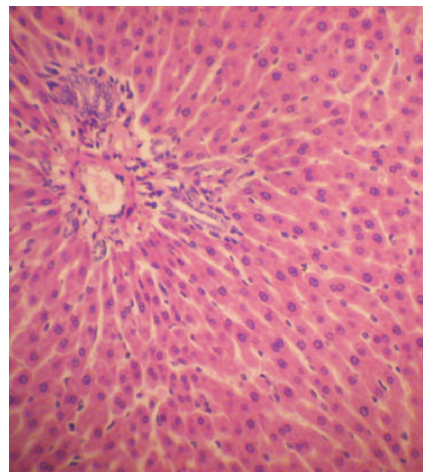


Рис. 1. Печінка інтактного щура. Перипортальна зона часточки. Гематоксилін та еозин. x 250

**Напівкількісна оцінка структурних порушень у печінці щурів
різних експериментальних груп, n=6**

Група тварин	Показники, бали		
	виразність жирової дистрофії	інтенсивність деструкції в перипортальних та центролобулярних зонах часточок	збереження гістоархітекtonіки паренхіми
Інтактний контроль	0	0	4
Контрольна патологія	3,4* (2-4)	2,8* (1-4)	1,6* (1-2)
Екстракт з насіння винограду, 100 мг/кг	2,5* (2-3)	1,5*/** (1-2)	2,75*/** (2-3)
Силібор, 25 мг/кг	2,6*/** (2-3)	1,2*/** (1-2)	2,4*/** (2-3)

Примітки:

- 1) * – достовірно відносно інтактного контролю;
- 2) ** – достовірно відносно контрольної патології;
- 3) n – кількість тварин у кожній групі.

Через добу після одноразового внутрішньошлункового введення тетрахлорометану у щурів з групи контрольної патології виявлені грубі порушення структури печінкової паренхіми. Переважно уражені перипортальні структури з наявністю ядерно-цитоплазматичного детриту. Виявлений великокрапельний стеатоз, який переходить у жирову дегенерацію клітин. Деструктивні ділянки паренхіми помірно інфільтровані полінуклеарними лейкоцитами та круглоклітинними елементами (рис. 2). Сумарна кількість балів, що характери-

зують рівень деструктивних процесів у печінці щурів цієї групи, становила 6,2. Зони часточок, що зберегли оригінальну гістоархітекtonіку паренхіми, зменшилися на 60% (табл. 2). Дифузно по часточках зросла кількість клітин з регресивними змінами ядра та цитоплазми – у 6,83 рази відносно інтактного контролю. Компенсаторні регенераційні процеси у тканині виражені слабо. На тлі виразного (достовірного) зниження кількості двоядерних клітин виявлено тенденцію до збільшення кількості клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК, та

появи гепатоцитів, які знаходяться у стадії мітозу (табл. 1).

В зонах деструкції нерідкі діapedезні крововиливи, плазмодіapedез. На відносно збережених ділянках печінкових часточок гепатоцити набухлі, межі клітин розмиті, радіальна спрямованість тяжів гепатоцитів не завжди чітка. У цитоплазмі виявляються дрібні та середні вакуолі, зникає ізоморфність клітин. Частина клітин містить лізовані або пікноморфні ядра. Виявлено деяке збільшення кількості гепатоцитів, що знаходяться у фазі синтезу ДНК, та помітне зниження кількості двоядерних клітин. З'явилися поодинокі гепатоцити, які знаходяться у стадії мітозу. Зірчасті ретикулоендотеліоцити гіпертрофовані. Бальна оцінка виявлених структурних порушень та кількісні гістоморфологічні характеристики печінки щурів різних експериментальних груп наведені у табл. 1 та 2.

Лікувально-профілактичне введення екстракту з насіння Винограду культурного поліпшувало стан печінкової паренхіми тварин. У першу чергу, це стосувалося деструктивних проявів, збереження гістоархітекtonіки тканини. На відміну від

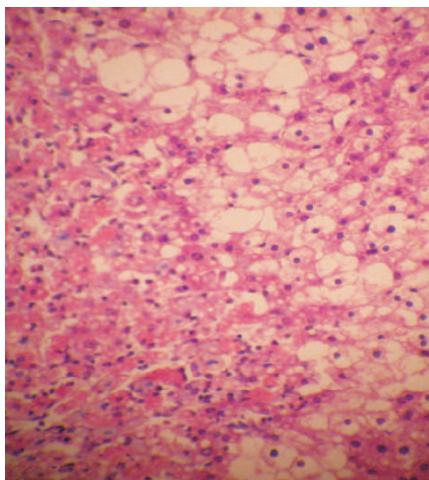


Рис. 2. Печінка щура після введення тетрахлорометану. Виразна деструкція паренхіми перипортальної зони часточки, великокрапельний стеатоз. Гематоксилін та еозин. x 250

тварин з групи контрольної патології практично у всіх тварин даної групи некроз охоплював лише окремі групи гепатоцитів. Значні ділянки паренхіми зберігали характерний рисунок.

Введення екстракту з насіння Винограду культурного в дозі 100 мг/кг призводило до виразного зниження деструктивних проявів у тканині печінки щурів. Кількісний рівень клітин з регресивними змінами був достовірно меншим за такий у тварин з групи контрольної патології у 1,74 рази, хоча й перевищував цей показник у інтактних тварин у 3,9 рази (табл. 1). В меншому ступені впливав екстракт з насіння Винограду культурного на інтенсивність жирової дистрофії гепатоцитів, зменшуючи її рівень на 26,47%. Сумарна кількість балів, що характеризують рівень деструкції печінкової паренхіми, у тварин, які на тлі гострого тетрахлорометанового гепатиту отримували екстракт з насіння Винограду культурного, складала 4 бали, що у 1,55 рази нижче за такий у тварин з групи контрольної патології.

Ділянки часточок зі збереженою паренхімою збільшилися на 71,87% порівняно із контрольною патологією (табл. 2). Під впливом екстракту з насіння Винограду культурного інтенсифікувалися процеси внутрішньоклітинної регенерації – достовірно збільшилася кількість двоядерних клітин (у 2,42 рази) і клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК порівняно з контрольною патологією – на 45,83% (табл. 1).

У меншому ступені екстракт з насіння Винограду культурного впливав на виразність жирової дистрофії. Характерні зони її локалізації були зменшені порівняно з контрольною патологією або жирова дистрофія носила дифузний характер. Самі клітини, хоча й були дещо набухлими, але мали чіткі межі і були достатньо ізоморфними,

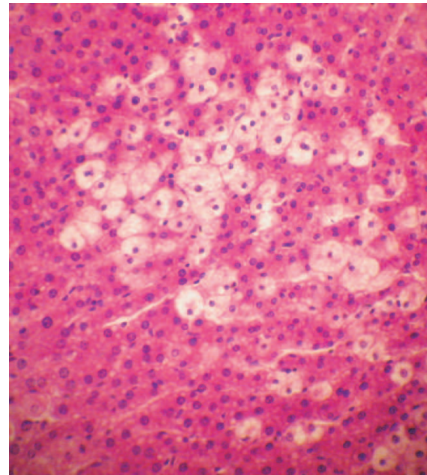


Рис. 3. Печінка щура, якому на тлі гострого тетрахлорометанового гепатиту вводили екстракт з насіння Винограду культурного в дозі 100 мг/кг. Значне відновлення гістоархітекtonіки паренхіми перипортальної зони часточки. Великокрапельна вогнищева дистрофія гепатоцитів. Гематоксилін та еозин, x 250

а вакуолі здебільшого були дрібними та середніми за розмірами і не порушували цілісності клітин (рис. 3).

Помітним було зниження кількості клітин із регресивними змінами ядра та цитоплазми, більше виявлено клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК. Дещо більше було двоядерних гепатоцитів, з'явилися дрібні клітини з базофільною цитоплазмою. Кількість клітин, що знаходяться у стадії мітозу, значно не збільшилась (табл. 1, 2).

Аналогічне за схемою введення силібору також чинило позитивний вплив на морфо-

логічні показники стану печінки щурів. У більшості тварин помітно зменшені зони деструкції перипортально та центрлобулярно, збільшені ділянки часточок, які зберегли оригінальну гістоархітекtonіку тканини, багато гепатоцитів були морфологічно повноцінними. Однак жирова дистрофія була ще достатньо виразною. Зберігалися мікрокісти (рис. 4). Референс-препарат силібор у дозі 25 мг/кг чинив співставлюваний з ефектом екстракту з насіння Винограду культурного вплив на морфоструктуру печінки тварин з експериментальним тетрахло-

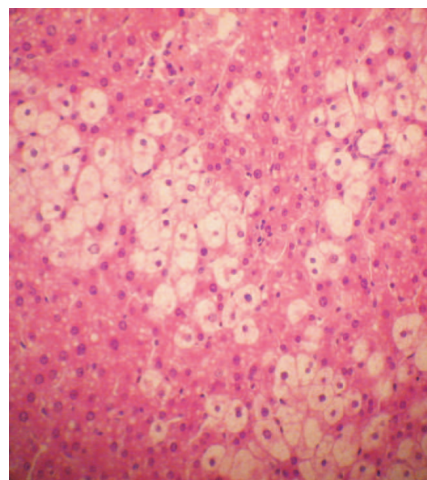


Рис. 4. Печінка щура, якому на тлі гострого тетрахлорометанового гепатиту вводили силібор у дозі 25 мг/кг. Деструкція паренхіми перипортальної зони часточки менш виразна, в значній мірі збережений великокрапельний стеатоз. Гематоксилін та еозин, x 250

рометановим гепатитом. Сумарна кількість балів, що відображають інтенсивність деструктивно-дистрофічних порушень у печінці щурів цієї групи, зменшилася в 1,63 рази, зони часточок зі збереженою гістоархітектонікою збільшилися на 50,0% порівняно з контрольною патологією (табл. 2). Кількість клітин з регресивними змінами ядра та цитоплазми була зменшена практично до рівня тварин, яким вводили екстракт з насіння Винограду культурного, у 1,8 рази. Зросли показники

регенераторних процесів, зокрема в 1,99 рази збільшилася кількість двоядерних клітин, на 26,5% стало більше клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК (табл. 1). Виявлено певне збільшення кількості двоядерних клітин як дистанційно, так і в безпосередній близькості від уражених ділянок, а також клітин, що знаходяться у фазі синтезу ДНК (табл. 1, 2).

Таким чином, на підставі даних гістоморфологічного дослідження зразків печінки можна зробити висновок, що ек-

тракт з насіння Винограду культурного в дозі 100 мг/кг на моделі гострого токсичного ураження печінки у щурів, спричиненого тетрахлорометаном, чинив гепатопротекторну дію, виявляючи антинекротичний, антидистрофічний та репаративний ефекти. За виразністю гепатопротекторної дії в умовах гострого тетрахлорометанового ураження печінки екстракт з насіння Винограду культурного в дозі 100 мг/кг де-що перевищує гепатопротекторний ефект силібору.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Гепатоцит, функціонально-метаболические свойства / Под ред. Л.Д.Лукьяновой. – М.: Наука, 1985. – 296 с.*
2. *Глянц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. – М.: Практика, 1998. – 459 с.*
3. *Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1973. – С. 21-33.*
4. *Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В.Стефанова – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.*
5. *Меркулов Г.А. Курс патологогистологической техники. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.*
6. *Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии. – Л.: Медицина, 1971. – 176 с.*
7. *Яковенко Э.П., Григорьев П.Я. // Рос. мед. журн. – 2003. – №5 (11). – С. 291-296.*
8. *Middleton E.Jr. // Adv. Exp. Med. Biol. – 1998. – Vol. 439. – P. 175-182.*
9. *Moseley R.H., Moseley R.H. // Curr. Opin. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 19. – P. 181-184.*
10. *Wu C.D. // J. Nutr. – 2009. – Vol. 139, №9. – P. 1818S-1823S.*

Адреса для листування: 61020, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-99.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.03.2012 р.

СТАН МЕТАБОЛІЗМУ ГЕМУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПОРУШЕННІ ПОРФІРИНОВОГО ОБМІНУ

С.І.Крижна

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: гем; амінолевулінатсинтаза; гемсинтетаза; гемоксидаза; порфірини

Наведені результати зміни активності ферментів синтезу (амінолевулінатсинтази, дегідратази амінолевулінової кислоти і гемсинтетази) і розпаду (гемоксидази) гему печінки щурів внаслідок експериментально порушеного порфіринового обміну. Встановлено підвищення активності ферментів АЛК-синтази і АЛК-дегідратази, що приводило до накопичення вільних порфіринів у печінці. Поряд з цим виявлено підвищення активності гемоксигенази. Зменшення синтезу гему корелювало зі зниженням вмісту цитохрому P₄₅₀ і b5 в мікросомальній фракції печінки експериментальних тварин. Перебіг зазначених змін повністю відображає стан метаболізму гему в умовах експериментально порушеного порфіринового обміну, що характеризується початковою активацією ферментів синтезу та поступовим зниженням їх активності на тлі посилення метаболізму гему.

Підвищення інтересу клініцистів до вивчення порфіринів пов'язано з порушенням функціонування гемвмісних ферментних комплексів при різних видах інтоксикації організму (лікарськими засобами, солями важких металів, пестицидами) і ураженні печінки. Зниження вмісту мітохондріальних і мікросомальних гемопротейнів при цьому зменшує енергетичний потенціал клітин, змінює процеси біотрансформації продуктів метаболізму, обумовлюючи зниження пластичних процесів в організмі і розвиток ендотоксемії [1, 3, 11]. Відомо, що синтезований протопорфірин у печінці витрачається на синтез гему. Швидкість утворення гему, з одного боку, залежить від активності ключового ферменту синтезу гему – 5-амінолевулінатсинтази, а з іншого – накопичення вільного гему в тканині визначається також швидкістю його руйнування гемоксигеназою [2]. Рівень активності ключових ферментів метаболізму гему визначає його вміст у печінці і подальшу утилізацію його для синтезу гемопротейнів [4]. На підставі даних ряду робіт [7, 9] сформувалося уяв-

лення, що активність ферментів найбільш тісно пов'язана з рівнем активності гемопротейнів, таких як мікросомальні цитохроми P₄₅₀ і b5, мітохондріальні цитохроми, ферменти каталаза та ін. Незважаючи на важливість вивчення порушень обміну порфіринів при захворюваннях печінки, в літературі ці питання висвітлені недостатньо [4, 12]. У зв'язку з викладеним метою цієї роботи було вивчення активності ферментів синтезу і розпаду гему при порушенні порфіринового обміну, викликаного бензолною інтоксикацією.

Робота виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх застосування у медичній практиці» (№ держ. реєстр. 010300909418).

Матеріали та методи

Дослідження проведені на 48 нелінійних білих щурах-самцях з масою тіла 140-150 г. Порушення порфіринового обміну викликали підшкірними ін'єк-

ціями бензолу [6] дозами з розрахунку 0,5 мл на 1 кг маси тварин 2 рази на тиждень протягом 3 місяців. До кінця експерименту летальність склала 17%. Дослідження проводили через 1, 7, 10 і 30 діб від початку дослідження. Субклітинні структури виділяли диференційним центрифугуванням гомогенату печінки. В мітохондріальній фракції визначали активність 5-амінолевулінат-синтази [5] і гемсинтетази [8], а в мікросомально-цитозольній фракції – активність дегідратази амінолевулінової кислоти (Д-АЛК) [5] і гемоксигенази [7]. Вміст цитохромів P₄₅₀ і b5 в мікросомальній фракції визначали диференціальною спектрофотометрією на спектрофотометрі «Spectord M-40» [5]. Вміст білка в пробах визначали мікробіуретовим методом. Статистичну обробку проводили з використанням статистичного аналізу електронних таблиць Excel. Розраховували середні значення показників і стандартну помилку (Sx). Достовірність між середніми величинами визначали за t-критерієм Стьюдента (p < 0,05) [6].

Результати та їх обговорення

Результати експериментів представлені в табл. 1 і 2. Ак-

Таблиця 1

**Динаміка показників синтезу і розпаду гему в печінці
при порушенні порфіринового обміну, n=40**

Групи	Активність ферментів			
	АЛК-синтаза, нмоль АЛК / г на мг білка	Д-АЛК, мкмоль / с на мг білка	гемсинтетаза, мкмоль протопорфірину / хв на мг білка	гемоксигеназа, нмоль білірубіну / хв на мг білка
Інтактні тварини	0,252±0,005	0,111±0,006	0,015±0,002	1,442±0,051
1 доба інтоксикації бензолом	0,494±0,041*	0,145±0,014	0,053±0,034*	1,594±0,064
7 діб інтоксикації бензолом	0,334±0,013*	0,106±0,029	0,029±0,004*	1,905±0,031
10 діб інтоксикації бензолом	0,312±0,004*	0,409±0,017*	0,017±0,003	1,977±0,091
30 діб інтоксикації бензолом	0,257±0,027	0,439±0,058*	0,014±0,0022*	1,952±0,033*

Примітка: * — $p < 0,05$ по відношенню до показників інтактної групи шурів.

тивність АЛК-синтази в печінці максимальна через 1-добу після введення бензолу і поступово знижується, наближаючись до значення інтактної групи шурів на 10-добу і особливо на 30-у. На відміну від АЛК-синтази, Д-АЛК істотно не змінювалася на 1-7 добу, а в подальшому зростала, перевищуючи статистично значимі значення норми в 3,63 і 3,87 рази через 10 і 30 діб досліджу, відповідно. Активність ферменту гемсинтетази зростала через добу в 3,13 рази ($p < 0,05$), потім поступово знижувалася в порівнянні з попереднім терміном. Активність гемоксигенази у всі терміни дослідження мала тенденцію до збільшення. Згідно з даними літератури [4, 10] синтез гему в печінці здійснюється в мітохондріях (АЛК-синтаза і гемсинтетаза) і в мікосомально-цитозольній фракції (Д-АЛК). Спостережуване нами істотне збільшення активності АЛК-синтази в мітохондріях через добу після введення бензолу може бути пов'язане з інтенсивним витрачанням сукцинату для синтезу гему, що зменшує його використання дихальним ланцюгом мітохондрій печінки тварин. Дослідження [2, 3] показали пригнічення ендогенного дихання в результаті

зменшення фонду ендогенних субстратів у мітохондріях і, як наслідок, розвиток низькоенергетичного стану. Однак через 7 діб спостерігалася активація окиснювальних процесів у мітохондріях і розвиток високоенергетичного стану внаслідок монополізації дихального ланцюга бурштиною кислотою, що, на наш погляд, пов'язано з її значним утворенням з інших сполук [12] і зменшенням відтоку сукцинату для синтезу гему, що збігається зі зниженням активності АЛК-синтази в наших експериментах. Надалі через розвиток некрозів у печінці функціонування мітохондрій послаблюється. Незважаючи на активацію АЛК-синтази і Д-АЛК, підвищений на 1-7 добу досліджу синтез гему поступово знижується, що свідчить про використання та утворення вільних попередників порфіринів [9] і уповільнення синтезу гему в печінці експериментальних тварин. Поряд з цим посилюється і розпад гему внаслідок активації гемоксигенази і зниження вмісту гемопротейнів у клітині. При дослідженні вмісту мікосомальних гемопротейнів встановлено їх зниження (табл. 2). Причому, якщо вміст цитохрому b5 знижується через 1, 7 і 10 діб від початку експе-

рименту в 1,37; 1,95 і 2,50 рази по відношенню до значень норми, то цитохрому P₄₅₀ – в 3,18; 4,94 і 8,08 рази, відповідно.

Згідно з даними літератури [4, 7] кореляція між підвищенням активності АЛК-синтази – ферменту, що лімітує швидкість синтезу гему, і вмістом мікосомального цитохрому P₄₅₀ спостерігається тільки в тому випадку, якщо гем, що утворився, не руйнується гемоксигеназою, і якщо одночасно індукується синтез відповідного апоцитохрому. При високій активності гемоксигенази АЛК-синтаза не може забезпечити накопичення вільного гему в тканині, і вміст цитохромів, що мають порівняно короткий період напіврозпаду, знижується або залишається на такому рівні, як і у контрольних тварин [3]. Мабуть, цим можна пояснити різке зниження рівня цитохрому P₄₅₀ в наших експериментах. Так, цитохром P₄₅₀ – це фермент, який порівняно недовго живе з періодом напіввиведення 1-2 дні, який використовує велику частину фонду гему в клітині [2]. Інші цитохроми – довгоіснуючі і вони використовують менше вільного гему при оновленні, але створений в конкретних експериментальних умовах коротко-

часний дефіцит гемму істотно не впливає на їх рівень. Коли в клітині знижується рівень вільного гемму, включаються механізми стимуляції його синтезу шляхом підвищення активності АЛК-синтази. І навпаки, при введенні тваринам речовин, які підвищують рівень вільного гемму, збільшується активність геммоксигенази, що супроводжується руйнуванням надлишку гемму. В цих умовах включаються механізми тривалої регуляції активності ключових ферментів метаболізму гемму, що ведуть до синтезу їх *de novo*. Зазначені механізми перешкоджають створенню на тривалий період апопротеїнів дефіциту гемму в клітині, а уповільнення деградації відповідних апопротеїнів сприяє під-

Таблиця 2
Вміст мікросомальних гемопротеїнів у печінці експериментальних тварин, n=32

Групи	Рівень цитохромів, нмоль/мг білка	
	P ₄₅₀	b5
Інтактна	0,889±0,063	0,287±0,012
Експериментальна група з бен-зольною інтоксикацією через 1 добу	0,279±0,030*	0,209±0,017
через 4 доби	0,180±0,015*	0,147±0,010*
через 7 діб	0,110±0,024*	0,115±0,026*

Примітка: * — $p < 0,05$ по відношенню до показників інтактної групи щурів.

тримці постійного рівня мітохондріальних цитохромів.

ВИСНОВКИ

1. При порушенні порфіринового обміну в печінці розвиваються виражені зміни в активності ферментів синтезу і розпаду гемму.

2. Початкова активація ферментів синтезу гемму поступово знижується на тлі посилення метаболізму гемму, що збігається зі зменшенням вмісту мікросомальних гемопротеїнів у печінці експериментальних тварин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Идельсон Л.И. / В кн.: *Нарушения порфиринового обмена в клинике внутренних болезней*. – М., 1969. – С. 52-55.
2. Калиман П.А., Нікітченко І.В. // *Медична хімія*. – 2001. – Т. 3, №1. – С. 5-11.
3. Калиман П.А., Стрельченко К.В., Баранник Т.В., Нікітченко І.В. // *Фізіол. журн.* – 2003. – Т. 49, №2. – С. 66-71.
4. Калиман П.А., Баранник Т.В. // *Укр. біохим. журн.* – 2001. – Т. 73, №1. – С. 5-15.
5. Камышиников В.С. *Справочник по клинико-биохимической и лабораторной диагностике*. – М., 2004. – 834 с.
6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel*. – К.: Морион, 2000. – 320 с.
7. Петренко А.Ю., Ковалев Г.А., Грищенко В.И. // *Проблемы криобиол.* – 2005. – Т. 5, №1. – С. 71-78.
8. *Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 3. Клиническая биохимия: Учеб. пособие* / М.А.Базарнова, З.П.Гетте, Л.И.Кальнова и др.; Под ред. проф. М.А.Базарновой, проф. В.Т.Морозовой. – 2-е изд., перераб. и доп. – К.: Вища шк., 2000. – 319 с.
9. Fujii, Dale G.L., Beutler E. // *Blood*. – 1998. – Vol. 34, №10. – P. 1632-1644.
10. Leusui S.F., Tomaro M.L. // *Ibid.* – 1994. – Vol. 1223, №1. – P. 9-14.
11. Maines M.D. *Heme Oxygenase: Clinical Applications and Functions*. – Fl: Inc. Boca Ration, Press CRC, 1992. – P. 266.
12. Peng J., Jonnes G.L., Watson K. // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28, №11. – P. 1598-1606.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-66.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 01.03.2012 р.

ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ МАЗЕЙ З ГУСТИМ ТА СУХИМ ЕКСТРАКТОМ ТОПОЛІ КИТАЙСЬКОЇ

В.В.Ковальов, Т.Г.Ярних, В.М.Ковальов

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: мазь; екстракт тополі; мазева основа; гнійно-запальний процес

*З метою розширення асортименту вітчизняних мазей, що містять у якості активних фармацевтичних інгредієнтів субстанції рослинного походження, проведено дослідження з встановлення антимікробної активності зразків мазей на гідрофільних та емульсійних основах. На основі методу дифузії в агар експериментально досліджена та обґрунтована перспективність, а також можливість розробки технології м'яких лікарських форм, що містять густий (гідрофобну фракцію) та сухий (гідрофільну фракцію) екстракти тополі китайської, призначених для лікування інфекційних ускладнень ран. Результати проведених досліджень показали, що дослідні зразки мазей виявили виражену антимікробну активність на штами *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulg.* Вивчено залежність антимікробної активності від компонентів мазевої основи та доведено переваги використання гідрофільної мазевої основи.*

Протягом останніх десятиліть традиційні методи лікування гнійних ран піддалися істотному перегляду. Необхідність цього кроку була обумовлена, в першу чергу, зростанням кількості гнійно-запальних захворювань і післяопераційних гнійних ускладнень, а також погіршенням загальних результатів лікування при гнійній хірургічній інфекції [1, 2, 5, 8]. Хірургічне лікування і медикаментозну терапію гнійної рани можна розглядати тільки як доповнюючі один одного компоненти її комплексного лікування.

У комплексному лікуванні гнійних ран на теперішній час застосовується величезна кількість засобів: активне хірургічне лікування гнійних ран, добре зарекомендувала себе методика лікування гнійних ран ультразвуком низької і середньої частоти, а також лікування гнійних ран в антибактеріальному середовищі. Але найбільшого поширення в практичній хірургії набула методика лікування гнійних ран під пов'язкою, яка на сьогодні залишається основною в клініч-

ній практиці, оскільки вона зручна практично і вигідна економічно [1, 5, 7].

Під місцевим медикаментозним лікуванням варто розуміти використання лікарських препаратів, що наносяться на ранову поверхню, зокрема, це стосується мазей [2, 5, 10, 11].

Більшість використовуваних на теперішній час м'яких лікарських форм чинить однакову дію, а для лікування в першій фазі потрібна дія як мінімум у трьох напрямках: посилення відтоку ексудату з рани, некролітична дія та пригнічення мікрофлори [2, 5, 11].

Нині на тлі переоцінки місця антибіотиків відродився інтерес до антисептиків. Останні представляють собою хімічні речовини (незалежно від джерела отримання та складу), які проявляють антимікробну дію, використовуються для нанесення на пошкоджену та неушкоджену шкіру, слизові оболонки, порожнини, рани з метою лікування чи попередження розвитку місцевих інфекційних уражень, сепсису [1, 2, 5]. Останнім часом йде активний пошук антимікробних речовин

рослинного походження, які можуть бути використані з зазначеною метою [4, 5, 6, 9]. Нашу увагу привернули густі та сухі екстракти тополі китайської, отримані на кафедрі фармакогнозії Національного фармацевтичного університету, хімічний склад яких представлений широким спектром біологічно активних речовин і насамперед фенольних сполук, які зумовлюють високу антимікробну, протизапальну, анальгетичну, діуретичну, репаративну активність сировини і субстанцій, отриманих на її основі [4].

Матеріали та методи

Метою нашої роботи стала розробка дослідних зразків мазей з густим (гідрофобною фракцією) та сухим (гідрофільною фракцією) екстрактами тополі китайської на гідрофільних та емульсійних мазевих основах.

Концентрації екстрактів тополі китайської, а також склад мазевих основ були обрані на основі аналізу літературних джерел і досліджень, проведених раніше [5, 7]. Мікробіологічні дослідження проводили в лабораторії біохімії мікроорганізмів і поживних середовищ ДУ «ІМІ ім. І.І.Мечникова НАМНУ».

Показником дифузії речовин, які виявляють антимік-

Таблиця 1

Склад досліджуваних зразків, г

Склад	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8
Екстракт тополі густий	0,1	-	0,5	-	-	0,5	-	0,5
Екстракт тополі сухий	-	0,1	-	0,5	0,5	-	0,5	-
ПЕО-400/ПЕО-1500 (6:4)	8,8	8,8	8,4	8,4	-	-	-	-
Твін-80	0,1	0,1	0,1	0,1	0,5	0,5	0,5	0,5
Гліцерин	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-	0,5	-
Вода очищена	0,5	0,5	0,5	0,5	-	-	-	-
Гель карбополу 1%	-	-	-	-	7,5	8,0	7,5	8,0
Олія рицинова	-	-	-	-	1,0	1,0	-	-
ПЕО-400	-	-	-	-	-	-	1,0	1,0
Разом	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0

робну дію, з досліджуваної основи був розмір зони затримки росту тест-штамів, що утворюється в агаровому середовищі на чашці Петрі. Як тестові штамми були використані рекомендовані ДФУ мікроорганізми: золотистий стафілокок (*S. aureus* ATCC 25923); палички: кишкова (*E. coli* ATCC 25922), сінна (*B. subtilis* ATCC 6633), синьо-зеленого гною (*P. aeruginosa* ATCC 27853), *P. vulg.* ATCC 4636 і *C. albicans* ATCC 885/653 [3].

Мікробне навантаження становило 1×10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і встановлювалось за стандартом McFarland за допомогою оптичного приладу Densi-La-Meter (виробництво Чехії). В роботу брали 18-24-годинну культуру мікроорганізмів. Для дослідження використовували агар Мюллера-Хінтона.

Результати та їх обговорення

Для встановлення антимікробної активності нами були виготовлені дослідні зразки мазей з сухим гідрофільним (зразки №2, 4, 5, 7) і густим гідрофобним (зразки №1, 3, 6, 8) екстрактами тополі китайської з концентрацією -1% – зразки №1-2, 5% – зразки №3-8 на гідрофільній мазевій ПЕО основі (6:4) з додаванням твіну-80 у концентрації -1%, гліцерину у концентрації 5% та води очищеної у концентрації 5% (зразки №1-4), а також на емульгелевій 1% карбополовій основі (зразки №5-8) з додаванням твіну-80 у концентрації -5% (зразки №5-8), гліцерину у концентрації 5% (зразки №5, 7), олії рицинової у концентрації 10% (зразки №5, 6) та ПЕО-400 у концентрації 10% (зраз-

ки №7, 8). Склади досліджуваних зразків мазей наведені у табл. 1.

Результати вивчення антимікробної активності досліджуваних зразків мазі (методом дифузії в агар) наведені у табл. 2.

Результати проведених досліджень показали, що дослідні зразки мазей виявили виражену антимікробну дію на *S. aureus*, *B. subtilis*; помірну – на *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulg.* та незначну антимікробну активність по відношенню до *C. albicans*.

А деякі зразки (№3, №4) проявляють досить значну антимікробну активність (табл. 2) по відношенню до *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*.

Проведені дослідження дозволяють стверджувати, що оптимальною концентрацією екстрактів тополі є концентрація

Таблиця 2

Зони затримки росту мікроорганізмів, мм

Зразок, №	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>P. vulg.</i> ATCC 4636	<i>C. albicans</i> ATCC 885/653
1	15,7±0,59	12,7±0,93	зростання	17,2±0,46	зростання	11,5±0,62
2	18±1,44	12,7±1,17	11,7±0,93	20,3±1,38	11,2±1,12	11,8±0,85
3	19,3±1,17	15,3±0,59	14,2±1,33	22,5±0,95	13,7±0,93	11,2±0,85
4	20,7±1,55	17,7±1,38	14,7±0,72	24±0,72	14,2±0,86	11,8±1,12
5	16±1,24	13±1,44	12,7±1,17	17,8±0,85	12,5±0,52	11,3±1,17
6	15±1,02	14,7±0,93	12,3±0,59	19,2±1,32	12,8±1,33	12,2±0,46
7	18,3±1,55	15,3±0,59	12,3±0,93	19±1,02	12,5±0,95	11,5±0,62
8	16,7±0,59	15±1,02	12±0,72	16,8±1,12	11,8±0,46	11,7±0,93

Примітка. n = 6, p = 95.

0,5 г на 10,0 г досліджуваної мазі, сухий (зразок №4) і густий (зразок №3) екстракти проявляють значну активність на вивказані тест-штами, але зразок №4 (сухий) – дещо вищу. Досліджувані зразки №3, 4 виготовлені на поліетиленоксидній основі (ПЕО-400/ПЕО-1500 (6:4)). Зразки №5-8, виготовлені на карбополовій мазевій основі, проявляють дещо нижчу антимікробну активність. Таким чином, найбільш ефективними є зразки №3 і №4, виготовлені на гідрофільній поліетиленоксидній мазевій основі з концентрацією екстракту тополі 0,5 г. У ході подальших

біофармацевтичних досліджень планується уточнити концентрацію діючих речовин, дослідити протизапальну та репаративну активність, а також визначити можливість раціонального поєднання з іншими активними фармацевтичними інгредієнтами.

ВИСНОВКИ

1. На експериментальному рівні мікробіологічно обґрунтована перспективність і можливість розробки технології м'яких лікарських форм на основі сухого та густого екстрактів тополі китайської, призначених для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри та ін-

фекційно обтяжених ранових процесів.

2. Проведеними дослідженнями доведено, що за вираженістю антимікробних властивостей оптимальною для використання у складі мазей є 5% концентрація сухих екстрактів бруньок і листя тополі китайської.

3. Експериментально доведено, що досліджувані м'які лікарські форми, виготовлені на гідрофільній основі (сплав ПЕО-400 та ПЕО-1500 (6:4)), проявляють виражену антимікробну активність і мікробіологічно придатні для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева И.В. // Фармація. – 2003. – №2. – С. 43-45.
2. Білоус С.Б., Калинин Т.Г., Гудзь Н.І. // Фармац. журн. – 2010. – №2. – С. 16-27.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: ПІРЕГ, 2001. – 556 с.
4. Рудник А.М., Ковальов В.М., Бородіна Н.В. // Фармац. часопис. – 2008 – №4. – С. 37-40.
5. Яковлева Л.В., Ткачова О.В., Ковальов В.В., Солейман А.І. // Здобутки клініч. і експеримент. медицини. – 2011. – №1 (14). – С. 18-27.
6. Jerkovic I., Mastelic J. // *Phytochemistry*. – 2003. – №63. – P. 109-113.
7. Khan N.R., Khan G.M., Wahab A. et al. // *Die Pharmazie*. – 2011. – Vol. 66, №11. – P. 849-852.
8. Lange-Asschenfeldt B., Alborova A., Krüger-Corcoran D. et al. // *J. Biomed.* – 2009. – Vol. 14 (5). – P. 54-41.
9. Panchagnula P., Thomas N. // *Int. J. Pharmac.* – 2000. – Vol. 17, №4. – P. 131-150.
10. Shegokar R., Al Shaal L., Mishra P.R. // *Die Pharmazie*. – 2011. – Vol. 66, №5. – P. 313-318.
11. Wagner H., Bladt S. *Plant drug analysis*. – Berlin: Springer, 2001. – 384 p.

Адреса для листування: 61168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-91-84.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 14.03.2012 р.

ФІТОХІМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЛИСТЯ ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ

А.В.Кононенко, С.М.Дроговоз, О.В.Криворучко, Д.Б.Лобанова

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: БАР листя горобини звичайної; протизапальна активність; фенольні сполуки

Проаналізовано фармакологічну активність БАР горобини звичайної з метою визначення перспектив створення протизапальних ліків на її основі. Оскільки теперішній великий асортимент протизапальних засобів не вирішує проблеми успішного лікування запальних захворювань та їх рецидивів, а лише визначає потребу пошуку альтернативних ліків з протизапальною дією для ефективних та безпечних способів лікування. Дослідження нових протизапальних засобів проводяться з урахуванням етіології, патогенезу та клінічних проявів запальних захворювань. Так, БАР плодів та листя горобини звичайної можуть впливати на інфекційні, токсикологічні та радіаційні фактори; різні стадії запалення (основною групою, яка відповідає за патогенетичні механізми, є фенольні сполуки), а також зменшувати набряк, нормалізувати температуру та полегшувати больові відчуття.

Основною групою препаратів, які застосовуються в ревматології, є нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ). Їх арсенал нараховує понад 80 препаратів і приблизно 1000 дженериків, створених на їх основі: моно- і багатокомпонентних лікарських препаратів [1, 21]. Щорічно понад 300 млн осіб вживають НПЗЗ, але тільки третина пацієнтів купує протизапальні засоби за рецептом, інші вживають безрецептурні лікарські форми [1, 18]. Препарати цієї групи приймає кожен сьомий пацієнт, який страждає на ревматичні захворювання, і кожен п'ятий з іншими патологічними станами, асоційованими з болями різної етіології, запаленням та гіпертермією [21].

Однак, незважаючи на безсумнівну доведену клінічну ефективність, застосування НПЗЗ має свої обмеження. Це пов'язане з тим, що навіть короткочасний прийом цих препаратів в невеликих дозах може призводити до розвитку цілого ряду побічних ефектів, до яких належать: ураження ШКТ, порушення агрегації тромбоцитів, функції ни-

рок, негативний вплив на систему кровообігу. Крім того, враховуючи те, що лікування запальних захворювань суглобів потребує тривалого часу, коли можливості побічної дії більш виражені, актуальним є пошук протизапальних препаратів рослинного походження, так як вони є найбільш безпечними [1, 21].

Саме тому пошук та розробка нових препаратів на основі біологічно активних речовин (БАР) лікарських рослин, а саме горобини звичайної, може допомогти перевести фармакотерапію запального процесу на більш безпечний рівень [1, 15, 18].

Для гальмування процесу запалення за даними багатьох досліджень важливими є складові фармакодинаміки протизапальної дії: антиоксидантна, мембраностабілізуюча, антипроліферативна, аналгетична, противиразкова, ранозагоювальна, репаративна, білоксинтезуюча, детоксикаційна, кровозупинна дія [4, 18].

Аналіз джерел літератури показав, що хімічний склад листя та плодів горобини звичайної багатий на БАР: фенольні

сполуки (флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, антоціани, дубильні речовини), органічні кислоти, вуглеводи (цукри, пектинові речовини), вітаміни, макро- і мікроелементи та фітонциди [11, 16, 17, 23]. В даному огляді джерел літератури ми проаналізували фармакологічні активності БАР горобини звичайної з метою визначення перспектив створення протизапальних ліків на її основі (табл.).

Аналізуючи дані літератури, наведені в таблиці, слід зазначити, що при лікуванні запальних захворювань суглобів, печінки та шлунково-кишкового тракту терапевтичний ефект можуть забезпечувати фенольні сполуки, які входять до складу горобини звичайної [2, 15, 22]. Також фенольні сполуки, які є в наявності в горобині звичайній, сприяють зниженню запалення та рівня радіонуклідів і важких металів, впливають на регулювання окисно-відновних процесів, які займають провідне місце в патогенезі запалення [7-10, 19, 24, 29].

Фенольні сполуки в рослинах найчастіше представлені флавоноїдами, фенолкарбоновими кислотами, дубильними

Таблиця

Біологічно активні речовини, які можуть забезпечити протизапальний ефект горобини звичайної

БАР	Активність	Показання до застосування
Фенольні сполуки (1-4)	протизапальна	ревматизм, виразкова хвороба шлунка та 12-палої кишки
	антиоксидантна антитоксична радіопротекторна	променева хвороба, отруєння важкими металами
	гепатозахисна	гепатит
Вуглеводи (1, 2)	радіопротекторна	променева хвороба
	зв'язування важких металів	отруєння важкими металами
Вітаміни (1, 2)	регулювання окисно-відновних процесів	порушення обміну речовин
	антимікробна	інфекційні захворювання
	замісна	авітаміноз
Органічні кислоти (1-3)	антимікробна	пригнічення розвитку плісняви та інших мікроорганізмів; діє на синьогнійну паличку
Фітонциди (2)		
Мінеральні речовини (1-4)	синтез вуглеводів, білків, нуклеїнових та органічних кислот, вітамінів	порушення обміну речовин

Примітки: 1 – плоди; 2 – листя; 3 – квіти; 4 – кора.

речовинами [15]. В горобині звичайній найбільш широко представлені флавоноїди, які зумовлюють різні фармакологічні ефекти її сировини: протизапальний, противиразковий, антиоксидантний, радіопротекторний, мембраностабілізуючий, репаративний та антитоксичний [5, 7-10, 26, 28].

У плодах та листі горобини звичайної також містяться кверцетин, ізокверцетин, рутин, сорбінова та парасорбінова кислоти (6,86%), глюкозиди парасорбінової кислоти, гіперозид; фенолкарбонові кислоти та їх похідні – близько 285 мг% (кофейна, хлорогенова, псевдохлорогенова, неохлорогенова, ізохлорогенова, ферулова, кумарова, гідроксикорична); ефіри п-кумароїл-хінної і ферулоїлхінної кислот; антоціани – 795 мг% (3-галактозид ціанідину, 3-арабінозид ціанідину, 3,5-диглюкозид ціанідину); катехіни – до 412 мг% (галокатехін галат, епігалокатехін, галова кислота,

(-)-епікатехінгалат, (-)-епігалокатехін, (-)-епігалокатехінгалат). Комплекс полісахаридів плодів горобини підвищує розчинність та всмоктування поліфенольних сполук [6, 14, 17, 27].

Антоціани – водорозчинні рослинні пігменти горобини звичайної, які проявляють антиоксидантний, протизапальний та кардіопротекторний ефекти [13, 20, 25, 30]. Експериментально доведено, що антоціани плодів горобини звичайної гальмують процеси окиснення ліпідів. Комплекс антоціанів також знижує рівень холестерину в крові і таким чином підтримує нормальну проникність та еластичність стінок капілярів [28, 31].

Органічні кислоти, які входять до складу листя та плодів горобини, представлені яблучною, бурштиною, фумаровою, малоною, виноградною, лимонною та винною кислотами і створюють певний рН, завдяки чому пригнічується

розвиток плісняви та інших мікроорганізмів, які часто супроводжують процеси запалення [7-10, 13].

Вміст **аскорбінової кислоти** в плодах горобини звичайної становить від 60,0 до 160 мг%, в листі – до 220 мг% [7-10]. Аскорбінова кислота бере участь у регулюванні окисно-відновних процесів, впливає на холестериновий обмін; підвищує опірність організму застудним захворюванням. Особливо істотною її спільна дія з біофлавоноїдами [20]. Синтезується аскорбінова кислота у горобині звичайній в основному в листі, звідки надходить у плоди [14].

Вуглеводи є важливою групою органічних речовин, які входять до складу горобини звичайної, їх вміст у горобині звичайній складає 14,6%. Ці речовини є основним джерелом енергії і головним опорним матеріалом рослинних клітин [13].

Мають плоди горобини звичайної і **пектинові речовини**, які є стабілізаторами аскорбінової кислоти і є доброю протиотрутою у відношенні токсичних речовин, які є часто причиною запалення. Відомо, що пектинові речовини плодів та листя горобини звичайної мають властивості пробіотиків та знешкоджують токсини при запальних захворюваннях ШКТ [6, 7-10, 32].

Крім вітаміну С в плодах горобини ідентифіковано також **вітаміни** К, В₁, РР, Е, фолієву кислоту [6, 7-10, 13] та каротиноїди. Основними фармакологічними властивостями каротиноїдів є їх протизапальна і репаративна активність [28]. Встановлено, що сам β-каротин має імуномодуючі властивості [12]. Каротиноїди, які мають А-провітамінну активність, підвищують опірність організму та інших етіологічних чинників запалення до інфекцій [3, 7-10].

Дані наукової літератури вказують на виражену антимікробну дію БАР, виділених із пло-

дів горобини звичайної. Експериментальними дослідженнями встановлено, що аскорбінова, сорбінова та парасорбінова кислоти, виділені із плодів горобини звичайної, мають здатність гальмувати ріст деяких мікроорганізмів, грибків та плісняви [7-10, 17]. Так, **парасорбінова кислота** затримує ріст *Staphylococcus aureus*, проявляє дію відносно деяких вірусів [7-10, 14]. Володіючи селективною дією, **сорбінова кислота** має здатність одночасно пригнічувати певні мікроорганізми і не впливати на інші. Сорбінова кислота активно затримує ріст мікроорганізмів, які дають позитивну реакцію на каталазу [13].

Фітонциди з листя горобини звичайної також викликають тривалу антимікробну дію на резистентну до антибіотиків синьогнійну паличку [14].

Плоди горобини мають енергетичну та білоксинтетичну цінність завдяки вмісту у них **білкових речовин**. Зокрема загальний вміст білків у свіжих плодах горобини звичайної досягає 1,4%. У плодах горобини звичайної ідентифіковано до 18 амінокислот, зокрема такі як лізин, гістидин, аргінін, треонін, цисте-

їн, гліцин, тирозин, α -аланін, аспарагінова кислота та інші [6, 14]. Кількісний та якісний вміст азотовмісних сполук у плодах горобини звичайної коливається протягом формування і дозрівання плодів [7-10, 13, 28]. Завдяки азотовмісним сполукам горобина звичайна може обумовлювати противиразковий ефект при запальних захворюваннях [16].

Плоди і листя горобини звичайної є важливим джерелом **макро- та мікроелементів**; у плодах містяться: Mg, Cu, Ni, Mn, Cr, Ba, Si, Ti, Ca, P; у листі – K, Ca, Si, Mg, P, Na, Fe, Al, Mn, Zn, Sr, також у невеликій кількості присутні Cu, Pb, Ni, Mo, Co, Cd [6, 7-10, 14]. Мінеральні речовини безпосередньо пов'язані з ферментними системами організму, які беруть участь у низці окисно-відновних процесів і впливають на синтез вуглеводів, білків, нуклеїнових і органічних кислот, вітамінів, необхідних для стимулювання процесів саногенезу при запальних захворюваннях.

Крім того, присутність мікроелементів сприяє накопиченню антоціанів та полісахаридів у плодах горобини звичайної [14, 28].

Як видно з аналізу вищенаведених джерел літератури, протизапальна, противиразкова, ранозагоювальна та антиоксидантна активність плодів горобини визначається її хімічним складом.

ВИСНОВКИ

Зроблений аналіз джерел літератури свідчить про те, що перспективною лікарською рослиною сировиною з протизапальною дією може бути горобина звичайна, зокрема її плоди та листя, так як саме їх БАР впливають на етіологічні фактори запалення: інфекційне, токсикологічне, радіаційне пошкодження (сорбінова, парасорбінова, аскорбінова кислоти, вітамін А, органічні кислоти, вуглеводи); на патогенез запалення (процеси ексудації, альтерації, проліферації) – флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, антоціани, білкові речовини, макро- та мікроелементи; на клінічні прояви запалення (набряк, t° , біль) – флавоноїди, фенолкарбонові кислоти, вітаміни А та С, антоціани, білкові речовини, макро- та мікроелементи тощо. Даний аналіз послужив підґрунтям для створення протизапального препарату з листя горобини звичайної.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабак О.Я., Князькова И.И., Нестерцова И.А. // *Укр. терапевт. журн.* – 2007. – №2. – С. 4-11.
2. Ватутін М.Т., Гончаренко Т.С., Склянна О.В., Закхама С. // *Ліки.* – 2005. – №3-4. – С. 19-27.
3. Ветров П.П., Оболенцева Г.В., Носовская Т.Д. и др. // *Провізор.* – 2000. – №16. – С. 5-8.
4. Галузинська Л.В., Набока О.І., Вороніна Л.М., Тимошенко О.П. // *Клінічна фармація.* – 2005. – Т. 9, №2. – С. 39-43.
5. Дегтярева И.И., Скрыпник И.Н., Нейвот А.В. и др. // *Новые мед. технол.* – 2000. – №2. – С. 18-23.
6. Дендрофлора України. Дикорослі і культивовані дерева і кущі. Покритонасінні. Ч. II. Довідник / М.А.Кохно, Н.М.Трофименко, Л.І.Пархоменко та ін. – К.: Фітосоціоцентр, 2005. – 716 с.
7. Зузук Б.М., Куцик Р.В. // *Провізор.* – 2008. – №13-14. – С. 76-79.
8. Зузук Б.М., Куцик Р.В. // *Провізор.* – 2008. – №15. – С. 35-40.
9. Зузук Б.М., Куцик Р.В. // *Провізор.* – 2008. – №16. – С. 51-53.
10. Зузук Б.М., Куцик Р.В. // *Провізор.* – 2008. – №17. – С. 44-46.
11. Кобзар А.Я. *Фармакогнозія в медицині.* – К., 2004. – 482 с.
12. Кочегарова Н.Л., Антропов В.Н., Денисенко О.Н. // *Актуальные вопросы радиационной гигиены: Сб. тез. науч.-практ. конф., Санкт-Петербург, 21-25 июня 2004 г.* – С.-Пб., 2004. – С. 178-179.
13. Криворучко О.В. Горобина: В кн. *Фармацевтична енциклопедія / Гол. ред. ради та автор передмови В.П.Черних.* – 2-ге вид., перероб. і доп. – К.: Моріон, 2010. – С. 380.

14. Криворучко О.В., Кононенко А.В., Шатровська В.І. // *Фітотерапія. Часопис.* – 2010. – №1. – С. 104-106.
15. Крикова А.В., Ляхова Н.С., Давыдов В.С. и др. // *Фармація.* – 2006. – №2. – С. 36-37.
16. *Лекарственные растения и фитотерапия / В.Н.Савченко, Н.И.Яблучанский, В.Н.Хворостинка, К.М.Сокол.* – Х.: Гриф, 2004. – 272 с.
17. Носовская Т.Д. // *Провизор.* – 2000. – №6. – С. 37.
18. Романенко И.В. // *Здоров'я України.* – 2011. – №1 (4). – С. 24-25.
19. Савченкова Л.В., Белоусова И.П., Афонина Т.В. // *Укр. мед. альманах.* – 2006. – Т. 9, №1. – С. 227-232.
20. Чекман І.С., Завалько І.В. // *Фітотерапія. Часопис.* – 2008. – №1. – С. 3-11.
21. Щокіна К.Г. *Експериментальне обґрунтування раціонального вибору сучасних і перспективних препаратів з протизапальною дією: Автореф. дис. ... канд. фармац. наук.* – Х., 2006. – 19 с.
22. Ярош А., Шаламай А., Бобков В. и др. // *Вісник фармакол. та фармації.* – 2003. – №11. – С. 18-24.
23. Clemens Reimann, Arnoldussen Arnold, Boyd Rognvald et al. // *Sci. of the Total Environment.* – 2007. – Vol. 377. – P. 416-433.
24. Hukkanen A.T., Pölönen S.S., Kärenlampi S.O., Kokko H.I. // *J. of Agric. and Food Chem.* – 2006. – Vol. 54, №19. – P. 7193-7199.
25. Kahkonen M.P., Heinamaki J., Ollilainen Y., Heinonen M. // *Sci. Food Agric.* – 2003. – Vol. 83, №9. – P. 1403-1411.
26. Kahkonen M.P., Hopia A.I., Heinonen M. // *J. Agric. Food Chem.* – 2001. – Vol. 49, №8. – P. 4076-4082.
27. Olszewska M.A. // *Can. J. Microbiol.* – 2008. – Mar; Vol. 54 (3). – P. 173.
28. Olszewska M.A., Michel P. // *Nat. Prod. Res.* – 2009. – Vol. 23 (16). – P. 1507-1521.
29. Sukran Kultuur // *J. of Ethnopharmacol.* – 2007. – Vol. 111. – P. 341-364.
30. Wu X., Gu L., Prior R.L., McKay S. // *J. of Agric. and Food Chem.* – 2004. – Vol. 52, №26. – P. 7846-7856.
31. Wu X., Beecher G.R., Holden J.M. et al. // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – Vol. 54, №11. – P. 4069-4075.
32. Zdunczyk Z., Frejnagel S., Wroblewska M. et al. // *Food Res. Intern.* – 2002. – Vol. 35, №2/3. – P. 183-187.

Адреса для листування: 61020, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 706-30-69.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.03.2012 р.

ПРОТИГРИБКОВА АКТИВНІСТЬ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ РОСЛИН РОДУ *GALIUM*. ПОВІДОМЛЕННЯ 3

Н.В.Кашпур, О.В.Горяча*, Т.В.Ільїна*, А.М.Ковальова*, А.Ю.Волянський, Т.П.Осолодченко

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України»
Національний фармацевтичний університет*

Ключові слова: підмаренники; ліпофільні фракції; гриби; протигрибкова активність; фенольні сполуки; терпеноїди

Досліджено протигрибкову активність хлороформних та етилацетатно-спиртових (8:2) фракцій підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.) та підмаренника хрещатого (*Galium cruciata* (L.) Scop.) по відношенню до 7 тест-штамів грибів: *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9, *Zygosaccharo spp.* 40 b/2, *Cryptococcus neoformans* 32609, *Rhodoflora glutinis* F-129, *Picha anomala* 40, *Kluveromyces lactis* F 116, *Aspergillus niger* 704. Встановлено, що по відношенню до *Zygosaccharo spp.* та *A. niger* протигрибкову дію проявили всі досліджувані фракції. По відношенню до *G. candidum* активними були фракції підмаренника справжнього та підмаренника хрещатого. По відношенню до *C. neoformans* жодна з досліджуваних фракцій не була активною. По відношенню до *Rh. glutinis*, *K. lactis* та *P. anomala* незначну активність проявили етилацетатно-спиртові фракції підмаренника верболистого, підмаренника справжнього та хлороформна фракція підмаренника хрещатого відповідно. Виявлено залежність між вмістом суми основних груп БАР у досліджуваних фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності.

Останнім часом зростає актуальність проблеми мікозів у пацієнтів різного профілю у зв'язку зі збільшенням інтенсивності впливу на організм людини зовнішніх факторів, що викликають порушення в системі антимікотичного захисту [9-12].

Продовжуючи дослідження протигрибкової активності ліпофільних фракцій підмаренників [6, 7], приводимо результати дослідження протигрибкової активності ліпофільних комплексів біологічно активних речовин (БАР), отриманих з видів роду підмаренник (*Galium* L.) родини маренові (*Rubiaceae*) відносно тест-штамів грибів, які не відносяться до роду *Candida*.

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були хлороформні та етилацетатно-спиртові (8:2) фракції, отрима-

ні методом послідовної циркуляційної екстракції сировини в апараті Сокслета у порядку зростання полярності розчинників, з повітряно-сухих надземних частин підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.) та підмаренника хрещатого (*Galium cruciata* (L.) Scop.), заготовлених у фазу цвітіння влітку 2010 р.

Протигрибкову активність отриманих фракцій вивчали на 7 тест-штамах: *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9, *Zygosaccharo spp.* 40 b/2, *Cryptococcus neoformans* 32609, *Rhodoflora glutinis* F-129, *Picha anomala* 40, *Kluveromyces lactis* F 116, *Aspergillus niger* 704.

Дослідження протигрибкової активності проводилось методом дифузії в агар (метод «колодязів») [8]. Ступінь чутливості грибів стосовно досліджува-

них фракцій оцінювали за розміром зон затримки росту. Мікробне навантаження складало 10^7 мікробних клітин на 1 мл середовища і визначалось візуально за оптичним стандартом каламутності McFarland.

Для визначення протигрибкової активності субстанцій використовували середовище Сабуро. Кожну серію поживного середовища якісно та кількісно контролювали згідно з нормативними документами.

Як препарат порівняння використовували антимікотик групи триазолів – флуконазол (200 мг/мл), паралельно проводили дослідження протигрибкової дії хлорофіліпту (1% спиртовий розчин).

Результати досліджень статистично оброблялись за С.Гланц [1].

Результати та їх обговорення

Раніше нами було встановлено, що до складу хлороформних фракцій підмаренників входять хлорофіли, каротиноїди, жирні кислоти та терпеноїди

Н.В.Кашпур – молодший науковий співробітник лабораторії імунореабілітології ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМН України» (м. Харків)

О.В.Горяча – аспірант кафедри фармакогнозії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Таблиця 1

Антимікотична активність ліпофільних екстрактів видів роду *Galium* L., n = 6

№ п/п	Штам грибів	Затримка росту мікроорганізмів, мм (M±m)							
		хлороформні фракції			етилацетатно-спиртові фракції			флуконазол	хлорофіліпт
		Gv	Gs	Gc	Gv	Gs	Gc		
1	<i>Geotriichum candidum</i> (<i>Galactomyces geotrichum</i>) Скляр 9	21,2±0,6	*	19,2±0,6	21,2±0,2	*	17,1±0,5	21,1±0,6	*
2	<i>Zygosaccharo spp.</i> 40 b/2	19,1±0,5	17,1±0,5	16,1±0,5	19,0±0,1	18,1±0,4	20,1±0,5	*	16,1±0,5
3	<i>Cryptococcus neoformans</i> 32609	*	*	*	*	*	*	19,1±0,5	*
4	<i>Rhodoflora glutinis</i> F-129	*	*	*	*	10,0±0,1	*	*	*
5	<i>Picha anomala</i> 40	*	*	12,0±0,2	*	*	*	17,1±0,5	18,1±0,4
6	<i>Kluveromyces lactis</i> F 116	*	*	*	10,0±0,4	*	*	17,2±0,4	*
7	<i>Aspergillus niger</i> 704	28,3±0,1	20,0±0,4	16,0±0,1	21,3±0,1	17,0±0,3	17,0±0,1	*	*

Примітки:

1) * – затримка росту відсутня;

2) Gv – *Galium verum*, Gs – *Galium salicifolium*, Gc – *Galium cruciata*;

3) n = 6 – кількість повторень експерименту для кожного мікроорганізму;

4) M±m – середнє значення ± похибка середнього значення.

[2-4]. При вивченні компонентного складу етилацетатно-спиртових фракцій було встановлено, що вони містять фенолкарбонові кислоти та флавоноїди [5]. Спільними для всіх фракцій є хлорогенова кислота та рутин. Сполуки терпенової природи представлені ациклічними, моноциклічними та біциклічними монотерпеноїдами [3].

Отримані дані (табл. 1) свідчать про те, що препарат порівняння флуконазол виявився неактивним по відношенню до *Zygosaccharo spp.*, *Rhodoflora glutinis* та *Aspergillus niger*. Хлорофіліпт проявляє активність лише по відношенню до 2 штамів – *Zygosaccharo spp.* та *Picha anomala*.

Отримані нами ліпофільні фракції з підмаренників по-різному впливають на ріст використаних тест-культур грибів.

По відношенню до *Geotriichum candidum* на рівні флуконазолу діють обидві фракції під-

маренника справжнього і де-що менш активні фракції підмаренника хрещатого. На *Zygosaccharo spp.* усі досліджувані фракції діють на рівні хлорофіліпту і вище. По відношенню до *Cryptococcus neoformans* жодна з досліджуваних фракцій та хлорофіліпт не проявили інгібуючого впливу на зростання. До *Rhodoflora glutinis* слабку активність проявила етилацетатно-спиртова фракція *G. salicifolium*. До *Picha anomala* активною була хлороформна фракція *G. cruciata*. До *Kluveromyces lactis* активною виявилася лише етилацетатно-спиртова фракція *G. verum*. До *Aspergillus niger*, на відміну від препаратів порівняння, активність проявили всі досліджувані фракції, найактивнішою виявилася хлороформна фракція *G. verum*.

При порівняльному аналізі хімічного складу ліпофільних фракцій та їх протигрибкової активності виявлено як пряму,

так і зворотну залежність між вмістом основних груп біологічно активних речовин (БАР) та рівнем протигрибкової дії по відношенню до ряду тест-штамів (табл. 2, 3).

Спостерігається пряма залежність (табл. 2) між вмістом суми терпенів і терпеноїдів, суми спиртів у хлороформних фракціях досліджуваних видів та ступенем їх активності по відношенню до *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9; терпенових спиртів, суми терпенів і терпеноїдів, жирних кислот – до *Picha anomala* 40; аліфатичних спиртів – до *Aspergillus niger* 704 та *Zygosaccharo spp.* 40 b/2.

При аналізі активності етилацетатно-спиртових фракцій (табл. 3) виявлено, що існує пряма залежність між вмістом терпенів, суми терпенів і терпеноїдів, суми спиртів, аліфатичних спиртів, неофітадієнів, суми сполук з подвійним зв'яз-

Таблиця 2

Залежність між вмістом БАР у хлороформних фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності (у коефіцієнтах кореляції)

Сума БАР	<i>Picha anomala</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Geotriichum candidum</i>	<i>Zygosaccharo spp.</i>
Терпенові спирти	0,97	*		*
Терпени і терпеноїди	0,85	*	0,84	*
Спирти	*	*	0,95	*
Аліфатичні спирти	*	0,89	*	0,89
Жирні кислоти	0,91	*	*	*

Примітка. * – коефіцієнт кореляції нижче 0,80.

Таблиця 3

Залежність між вмістом БАР у етилацетатно-спиртових фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності (у коефіцієнтах кореляції)

Сума БАР	<i>Rhodoflora glutinis</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Geotriichum candidum</i>	<i>Zygosaccharo spp.</i>
Терпени	-0,98	1,00	*	*
Терпенові спирти	-0,98	*	1,00	*
Терпени і терпеноїди	-0,98	0,97	*	*
Спирти	-0,98	0,93	0,88	*
Аліфатичні спирти	-0,98	0,99		*
Стероїдні спирти	-0,98	x	0,97	0,87
Жирні кислоти	-0,98	x	0,96	*
Неофітадієни	-0,98	0,95	*	*
Сполуки з подвійними зв'язками	-0,98	0,97	*	*
Хлорогенова кислота	-0,90	*	0,97	*
Гідроксикоричні кислоти	-0,91	*	*	*
Рутин	*	*	*	0,92
Рутин і хлорогенова кислота	*	*	*	0,90
Флавоноїди	*	*	*	0,86
Всі фенольні сполуки	*	*	*	0,95

Примітка. * – коефіцієнт кореляції нижче 0,80.

ком та активністю по відношенню до *Aspergillus niger* 704; терпенових спиртів, суми спиртів, стероїдних спиртів, жирних кислот, хлорогенової кислоти – до *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9; стероїдних спиртів, суми фенольних сполук, у тому числі хлорогенової кислоти і рутину – до *Zygosaccharo spp.* 40 b/2.

Зворотну залежність встановлено між вмістом у етилацетатно-спиртових фракціях суми терпеноїдних сполук, спиртів (у тому числі і аліфатичних), жирних кислот, суми гідроксикоричних кислот (у тому числі хлорогенової) та їх активні-

стю по відношенню до *Rhodoflora glutinis* F-129.

ВИСНОВКИ

1. Вперше досліджено протигрибкову активність етилацетатно-спиртових (8:2) фракцій підмаренника справжнього (*Galium verum* L.), підмаренника верболистого (*Galium salicifolium* Klok.) та підмаренника хрещатого (*Galium cruciata* (L.) Scop.) по відношенню до *Geotriichum candidum*, *Zygosaccharo spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhodoflora glutinis*, *Picha anomala*, *Kluyveromyces lactis*, *Aspergillus niger*.

2. Встановлено, що по відношенню до *Zygosaccharo spp.* та *Aspergillus niger* протигриб-

кову дію проявили всі досліджувані фракції. По відношенню до *Geotriichum candidum* активними були фракції підмаренника справжнього та підмаренника хрещатого. По відношенню до *Rhodoflora glutinis*, *Picha anomala* та *Kluyveromyces lactis* незначну активність проявили етилацетатно-спиртова фракція підмаренника верболистого, хлороформна фракція підмаренника хрещатого та етилацетатно-спиртова фракція підмаренника справжнього відповідно. По відношенню до *Cryptococcus neoformans* жодна з досліджуваних фракцій не була активною.

3. Виявлено залежність між вмістом суми основних груп БАР у досліджуваних фракціях підмаренників та рівнем їх протигрибкової активності по від-

ношенню до ряду використаних тест-культур грибів.

4. Отримані результати свідчать про перспективність подальшого вивчення ліпофіль-

них фракцій трави підмаренників справжнього, хрещатого та верболистого з метою створення на їх основі протигрибкових засобів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. – М.: Практика, 2001. – 459 с.
2. Горяча О.В., Кашпур Н.В. // Актуальні питання сучасної медицини: Тези Міжнар. наук. конф. студ. і молодих учених (Харків, 24-26 березня 2011 р.). – Х., 2011. – С. 55-56.
3. Ільїна Т.В., Ковальова А.М., Горяча О.В. // Укр. біофармац. журн. – 2009. – №5 (5). – С. 31-36.
4. Ільїна Т.В., Гриценко О.М., Горяча О.В., Ковальова А.М. // Зб. праць КМАПО. – 2008. – Вип. 11, кн. 1. – С. 718-724.
5. Ильина Т.В., Ковалева А.М., Горячая О.В. // VII Междунар. симпозиум по фенольным соединениям: фундаментальные и прикладные аспекты: Матер. доклад., 19-23 октября 2009 г. – М.: Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН, 2009. – С. 105-107.
6. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, №4. – С. 50-53.
7. Кашпур Н.В., Горяча О.В., Ільїна Т.В. та ін. // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16, №1. – С. 48-51.
8. Решедько Г.К., Стецюк О.У. // Клин. микробиол. и антимикробная химиотерапия. – 2001. – Т. 3, №4. – С. 348-355.
9. Goldman D.L., Lee S.C., Mednick A.J. et al. // Infect. Immunol. – 2000. – Vol. 68. – P. 832-838.
10. Lin X., Heitman J. // Ann. Rev. Microbiol. – 2006. – Vol. 60. – P. 69-105.
11. Patterson T.F. // Med. Mycol. – 2009. – №51, Suppl. 1. – P. 255-260.
12. Vonberg R.P., Gastmeier P. // J. Hosp. Infect. – 2006. – Vol. 63, №3. – P. 246-254.

Адреса для листування: 61168, м. Харків,
вул. Блюхера, 4. Тел. (572) 67-92-08.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 18.04.2012 р.

UDC 615.2:615.011].001.57:004.382

IN SILICO: THE NEW FIELD IN DEVELOPMENT OF PHARMACOLOGICAL AND PHARMACEUTICAL PROPERTIES OF MEDICINES

I.S.Chekman, T.Yu.Nebesna, P.V.Simonov

This article deals with the analysis of literature and research results in the field of *in silico* technologies. The information of the main *in silico* methods is summarized. The main principles of molecular docking, homology modelling method, virtual screening, pharmacophore modelling and QSAR have been examined. The attention is paid to the use of *in silico* approaches in toxicology. It has been shown that *in silico* methods play the key role in creating new drugs and optimization of the leading compounds and already existing drugs.

UDC 661.12:658.562:615.07

DEVELOPMENT OF METHODS OF TOLERABILITY ASSESSMENT FOR STUDYING DRUG BIOEQUIVALENCE

V.Ye.Dobrova

This method for evaluation of tolerability when studying drug bioequivalence has been proposed. While its developing a generalized block diagram for carrying out the research in accordance with the requirements of ICH GCP and the algorithm of statistical planning and evaluation of tolerability/safety have been proven. The peculiarities and implementation possibilities of this algorithm have been shown. For the mixed model of the indicators determination in the study of BE the method of tolerability evaluation has been developed and the quantitative scale of equivalence assessment has been substituted. The scheme of the combined data sets formation for each of the indicators in the cross-model bioequivalence studies has been proposed and the method of statistical comparison of safety for a single dose of generic and the reference medicine have been proposed.

УДК 615.2:615.011].001.57:004.382

IN SILICO: НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В РАЗРАБОТКЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

И.С.Чекман, Т.Ю.Небесная, П.В.Симонов

Статья посвящена анализу литературы и результатов исследований в сфере *in silico* технологий. В обобщённом виде представлена информация касательно основных методов *in silico*. Рассмотрены основные принципы молекулярного докинга, метода построения гомологических моделей, виртуального скрининга, моделирования фармакофоров и QSAR. Уделено внимание применению подходов *in silico* в токсикологии. Показано, что методы *in silico* играют ключевую роль в создании новых лекарственных средств и оптимизации существующих медикаментов и соединений-лидеров.

УДК 661.12:658.562:615.07

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ ПЕРЕНОСИМОСТИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

В.Е.Доброва

Предложена методика оценки переносимости при исследовании биоэквивалентности лекарственных средств, при разработке которой обоснована обобщенная структурная схема проведения исследования в соответствии с требованиями ICH GCP и алгоритм статистического планирования и проведения оценки переносимости/безопасности. Показаны особенности и возможности реализации этого алгоритма. Для смешанной модели определения показателей при исследовании БЕ разработана методика оценки переносимости и обоснована количественная шкала оценки эквивалентности переносимости. Предложена схема формирования объединенных массивов данных для каждого из показателей при перекрестной модели исследования биоэквивалентности и методика статистического сравнения безопасности однократного приема генерика и референтного лекарственного средства.

UDC 616.127-005.8-008.61[65-07:577.112]-08:615.22.015.3
THE DOSE-DEPENDENT INFLUENCE OF ATORVASTATIN
TAKEN IN RANGED DOSES IN RELATION TO CIRCULATING
BIOMECHANICAL STRESS MARKERS IN PATIENTS
WITH Q-WAVE MYOCARDIAL INFARCTION. RESULTS OF
1-YEAR COHORT STUDY

O.Ye.Berezin, T.O.Samura

54 patients with Q-wave myocardial infarction (42 male, 77.8%) were enrolled to the study. During 72 hours after Q-wave myocardial infarction documentation all subjects were immediately dispensed into two groups, 27 persons in each depending on a daily dose of atorvastatin. The patients of the first group were taken a conventionally high dose and the second group were taken a low dose of the medicine (>40 mg or ≤ 40 mg daily, respectively). Transthoracic echocardiography and MMP-3 and -9 measurements by ELISA method were performed before the administration of atorvastatin and every 3 months during 1 year of the follow-up period. The analysis of the data obtained has shown that atorvastatin reveals a dose-dependent effect in reducing the MMP-3 plasma level; while its effect on the MMP-9 concentration has demonstrated a stable tendency. However, a favourable effect of atorvastatin on circulating markers of biomechanical stress does not depend on the initial cardiovascular risk, localization of myocardial necrosis, coronary artery atherosclerotic lesion severity, and frequency of performing coronary intervention.

УДК 616.127-005.8-008.61[65-07:577.112]-08:615.22.015.3
ДОЗАЗАВИСИМОЕ ВЛИЯНИЕ АТОРВАСТАТИНА В РАН-
ЖИРОВАННЫХ ДОЗАХ В ОТНОШЕНИИ ЦИРКУЛИРУ-
ЮЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ БИОМЕХАНИЧЕ-
СКОГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИО-
КАРДА. РЕЗУЛЬТАТЫ ОДНОГОДИЧНОГО КОГОРТНОГО
ИССЛЕДОВАНИЯ

А.Е.Березин, Т.А.Самура

Обследовано 54 пациента (из них 42 мужчины, 77,8%) с документированным Q-ИМ. В первые 72 часа после верификации диагноза все пациенты были распределены на две группы по 27 человек в каждой в зависимости от назначенной суточной дозы аторвастатина. Больные первой группы получали условно высокую дозу препарата (>40 мг/сут.), пациенты второй группы – условно низкую суточную дозу (≤ 40 мг/сут.). Трансторакальную эхокардиографию и определение уровней ММП-3 и ММП-9 с помощью техники ELISA выполнялись до назначения аторвастатина и каждые 3 месяца в течение 1 года наблюдения. Анализ полученных данных показал, что аторвастатин проявляет выраженный дозозависимый эффект в отношении редукции содержания преимущественно циркулирующего пула ММП-3, тогда как его влияние в отношении редукции содержания ММП-9 носит характер устойчивой тенденции. При этом благоприятное влияние аторвастатина на содержание циркулирующих маркеров биомеханического стресса у пациентов, перенесших Q-инфаркт миокарда, не зависит от исходной величины риска наступления неблагоприятных клинических исходов, локализации некроза миокарда, тяжести атеросклеротического поражения коронарных артерий и частоты выполнения интервенционных вмешательств.

UDC 615.065:547.728.54.061/062]001.8
DIAGNOSTICS OF MORTAL SULPIRIDE POISONINGS BY
THE RESULTS OF TOXICOLOGICAL EXAMINATIONS

S.V.Bayurka, V.V.Bolotov, S.A.Karpushina, V.I.Stepanenko,
G.I.Severina

Efficiency of the isolation method of medicinal substances in relation to sulphiride by its elution with chloroform from the biological tissue homogenized by grinding with anhydrous sodium sulphate has been determined. The method allowed to separate $14.1 \pm 1.9\%$ of the medicinal substance. Sulpiride was detected in the biological extracts with the help of the colour reactions, thin layer chromatography, UV spectroscopy. The drug's assay was performed by the UV spectrophotometry method. Light absorption of solutions was subjected to the Bouguer-Lambert-Beer law within the range of concentrations from 20 to 200 μg of sulphiride, the relative error of the quantitative determination did not exceed 1.9%. The necessity of the previous additional purification of the extracts obtained from concomitant admixtures has been shown. For this purpose back extraction and TLC were used.

УДК 615.065:547.728.54.061/062]001.8
ДИАГНОСТИКА СМЕРТЕЛЬНЫХ ОТРАВЛЕНИЙ СУЛЬ-
ПИРИДОМ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

С.В.Баюрка, В.В.Болотов, С.А.Карпушина, В.И.Степаненко,
А.И.Северина

Установлена эффективность по отношению к сульпириду метода изолирования лекарственных веществ элюированием их хлороформом из биологической ткани, гомогенизированной растиранием с натрия сульфатом безводным, который позволил выделить $14,1 \pm 1,9\%$ указанного препарата. Обнаруживали сульпирид в биологических экстрактах с помощью цветных реакций, тонкослойной хроматографии и УФ-спектроскопии. Количественное содержание препарата устанавливали УФ-спектрофотометрическим методом. Светопоглощение растворов подчинялось закону Бугера-Ламберта-Бера в пределах концентраций от 20 до 200 мкг сульпирида, относительная ошибка количественного определения не превышала 1,9%. Показана необходимость предварительной дополнительной очистки полученных вытяжек от сопутствующих примесей, для чего использовали методы экстракции и ТСХ.

UDC 615.454.1:618.15-002

RESEARCH OF A NEW COMBINED VAGINAL CREAM FOR TREATING NON-SPECIFIC VAGINITIS

S.M.Drogovoz, G.V.Zaychenko, O.V.Grishchenko, O.S.Busygin, K.V.Drogovoz

Among the infectious-inflammatory diseases of the genital tract, which are the actual problem in modern gynecology, the most common ones are vulvovaginal candidiasis, non-specific vaginitis and bacterial vaginosis. The analysis of the pharmaceutical market of Ukraine has shown the lack in the assortment of the domestic medicines with antifungal and antibacterial properties. Klivazol is the domestic combined cream for the treatment of vaginitis and vaginosis, which contains clindamycin and miconazole. The action of a new vaginal cream on the model of traumatic vaginitis in rats complicated by infection with museum strains of microorganisms has been studied. The evaluation of the effectiveness of the cream tested has been carried out by indicators of the peripheral blood, the local temperature, the intensity of vaginal discharge. It has been found that in comparison with the reference drugs the cream studied started to act more quickly. The results of this research indicate the effectiveness of a vaginal cream Klivazol.

UDC 615.31:547.03

THE INFLUENCE OF ФNEW METABOLITOTROPIC CARDIOPROTECTOR «LIZINIY» ON THE STATE OF LIMITING LINKS OF THE ENERGY METABOLISM AND COMPENSATORY METABOLIC SHUNTS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION

I.F.Belenichev, L.I.Kucherenko, I.A.Mazur, N.V.Bukhtiyarova, V.S.Steblyuk, I.V.Pavlyuk, G.V.Georgievsky

Indication of «Liziniy» (2.5% solution for injections, a product of «Pharmatron» RPC) in the dose of 50 mg/kg simultaneously with development of acute myocardial infarction in the experiment results in normalization of the energy metabolism of the heart due to intensification of aerobic reactions and compensatory activation of malate-aspartate shunt, decrease of anaerobic glycolysis and improvement of mitochondria functions and thereby forms resistance of the myocardium to hypoxia due to change of energy tracts expecting mobilization of the protons supply mechanism for oxidative phosphorylation and the saving use of deficient oxygen. The therapeutical efficiency of «Liziniy» exceeds significantly the efficiency of reference medicine – mildronate.

УДК 615.454.1:618.15-002

ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО КОМБИНИРОВАННОГО ВАГИНАЛЬНОГО КРЕМА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВАГИНИТОВ

С.М.Дроговоз, А.В.Зайченко, О.В.Грищенко, О.С.Бусигин, Е.В.Дроговоз

Среди инфекционно-воспалительных заболеваний генитального тракта, которые являются актуальной проблемой в современной гинекологии, наиболее распространенными являются кандидозный вульвовагинит, неспецифический вагинит и бактериальный вагиноз. Анализ фармацевтического рынка Украины показал недостаточный ассортимент отечественных препаратов с одновременным противогрибковым и антибактериальным действием. Кливазол – отечественный комбинированный крем для лечения вагинитов и вагинозов, который содержит клиндамицин и миконазол. В проведенном исследовании изучено действие нового вагинального крема на модели травматического вагинита у крыс, осложненного инфицированием музейными штаммами микроорганизмов. Оценку эффективности исследуемого крема проводили по показателям периферической крови, местной температуры, интенсивности выделений из влагалища. Было установлено, что в сравнении с референтными препаратами исследуемый крем начинал действовать быстрее. Результаты данного исследования свидетельствуют об эффективности вагинального крема кливазола.

УДК 615.31:547.03

ВЛИЯНИЕ НОВОГО МЕТАБОЛИТОТРОПНОГО КАРДИОПРОТЕКТОРА «ЛИЗИНИЙ» НА СОСТОЯНИЕ ЛИМИТИРУЮЩИХ ЗВЕНЬЕВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА И КОМПЕНСАТОРНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ШУНТОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

И.Ф.Беленичев, Л.И.Кучеренко, И.А.Мазур, Н.В.Бухтиярова, В.С.Стеблюк, И.В.Павлюк, Г.В.Георгиевский

Назначение «Лизиния» (2,5% раствор для инъекций, разработка НПО «Фарматрон») в дозе 50 мг/кг параллельно формированию экспериментального острого инфаркта миокарда приводит к нормализации энергетического метаболизма сердца за счет интенсификации аэробных реакций и компенсаторной активации малат-аспартатного шунта, снижению анаэробного гликолиза и улучшению функции митохондрий и таким образом формирует устойчивость миокарда к гипоксии за счет перестройки энергетических путей, предполагающей мобилизацию механизмов поставки протонов для окислительного фосфорилирования и экономного использования недостающего кислорода. Применение «Лизиния» по силе терапевтического действия достоверно превосходит эффективность референс-препарата милдроната.

UDC 615.244:615.322:616.36-002:663.252.1

THE EFFECT OF GRAPE SEED EXTRACT ON THE HEPATIC PARENCHYMA OF THE RAT LIVER IN ACUTE CCl₄-INDUCED HEPATITIS

A.L.Zagayko, S.V.Zaika, O.A.Krasilnikova, Yu.B.Laryanovska

Under the influence of various pathological factors the activation of free radical processes occurs. In case of insufficient capacity of the antioxidant system or its damage, the alternating effects of free radicals, which are a prerequisite for development of many pathological conditions realize. The effect of the grape seed extract on the state of the hepatic parenchyma of animals has been studied. A gross disorders of the structure of the hepatic parenchyma was revealed in rats with hepatitis in a day after a single intragastric administration of carbon tetrachloride. The therapeutic and prophylactic administration of the grape seed extract improved the state of the hepatic parenchyma of animals. First of all, it concerned destructive manifestations and preservation of tissue hystoarchitectonics. In contrast, necrosis covered only certain groups of hepatocytes in animals from the group with acute hepatitis induced by CCl₄ after the administration of the extract. Significant areas of the parenchyma retained characteristic pattern. The expressiveness of hepatoprotective action in acute CCl₄-induced hepatitis the grape seed extract is slightly higher than the hepatoprotective effect of silibor.

UDC 616.36-036.11-099:612.128:547.979-733

THE STATE OF THE HEME METABOLISM IN EXPERIMENTAL DISTURBANCE OF PORPHYRIN EXCHANGE
S.I.Kryzhna

The results of change of the activity of enzymes of synthesis (aminolevulinic acid synthase, aminolevulinic acid dehydratase and hemesynthase) and decomposition (hemeoxygenase) of heme in the liver of rats due to the experimentally disturbed porphyrin metabolism have been presented. The increase in the activity of enzymes of ALA-synthase and ALA-dehydratase has been found, and it led to accumulation of free porphyrins in the liver. At the same time the increase in activity of heme oxygenase has been also revealed. The reduced heme synthesis correlated with decreased levels of cytochrome P₄₅₀ and b5 in the microsomal fraction of the liver in experimental animals. The course of all these changes reflects the state of the heme metabolism in the conditions of the experimentally disturbed porphyrin metabolism, which is characterized by the initial activation of enzymes of synthesis and a gradual decrease in their activity on the background of intensification of the heme metabolism.

УДК 615.244:615.322:616.36-002:663.252.1

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО НА ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТКАНИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОВОМ ГЕПАТИТЕ

А.Л.Загайко, С.В.Заика, О.А. Красильникова, Ю.Б.Ларьяновская

При действии различных патологических факторов происходит активация свободнорадикальных процессов. В условиях недостаточной мощности антиоксидантной системы или ее повреждения реализуются альтернирующие эффекты свободных радикалов, которые являются предпосылкой развития многих патологических состояний. Изучали влияние экстракта из семян винограда культурного на состояние печеночной паренхимы животных. Через сутки после однократного внутрижелудочного введения тетрахлорометана у крыс из группы контрольной патологии выявлены грубые нарушения структуры печеночной паренхимы. Лечебно-профилактическое введение экстракта из семян винограда культурного улучшало состояние печеночной паренхимы животных. В первую очередь, это касалось деструктивных проявлений, сохранения гистоархитектоники ткани. В отличие от животных из группы с острым гепатитом, индуцированным CCl₄, практически у всех животных после введения экстракта некроз охватывал лишь отдельные группы гепатоцитов. Значительные участки паренхимы сохраняли характерный рисунок. По выразительности гепатопротекторного действия в условиях острого тетрахлорометанового поражения печени экстракт из семян винограда культурного несколько превышает гепатопротекторный эффект силибора.

УДК 616.36-036.11-099:612.128:547.979-733

СОСТОЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ГЕМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ НАРУШЕНИИ ПОРФИРИНОВОГО ОБМЕНА
С.И.Крыжная

Представлены результаты изменения активности ферментов синтеза (аминолевулинатсинтазы, дегидратазы аминокислоты и гемсинтазы) и распада (гемоксидазы) гема печени крыс в результате экспериментально нарушенного порфиринового обмена. Установлено повышение активности ферментов АЛК-синтазы и АЛК-дегидратазы, что приводило к накоплению свободных порфиринов в печени. Наряду с этим выявлено повышение активности гемоксигеназы. Уменьшение синтеза гема коррелировало со снижением уровня цитохрома P₄₅₀ и b5 в микросомальной фракции печени экспериментальных животных. Течение указанных изменений полностью отражает состояние метаболизма гема в условиях экспериментально нарушенного порфиринового обмена, характеризующееся начальной активацией ферментов синтеза и постепенным снижением их активности на фоне усиления метаболизма гема.

UDC 615.33; 615.28+541.521

THE STUDY OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OINTMENTS WITH DENSE AND DRY EXTRACTS OF POPLAR CHINESE

V.V.Kovalyov, T.G.Yarnykh, V.M.Kovalyov

In order to expand the assortment of national ointments containing substances of the plant origin as active pharmaceutical ingredients the study in determination of the antimicrobial activity of ointments on the hydrophilic and emulsion bases has been carried out. Based on the agar diffusion method the perspectiveness and possibility of developing the technology of soft medicinal forms containing dense (hydrophobic fraction) and dry (hydrophilic fraction) extracts of Chinese poplar for treating infectious complications of wounds have been experimentally studied and proven. Study of antimicrobial activity dependence of the ointment base components was carried out. The results of these studies have shown that the experimental samples of ointments revealed a pronounced antimicrobial action against strains of *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulg.* The dependence of the antimicrobial activity of the ointment base components have been studied. Advantages of using the hydrophilic ointment base have been proven.

UDC 615.276:582.734.3:581.45

PHYTOCHEMICAL SUBSTANTIATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF SORBUS AUCUPARIA LEAVES EXTRACT

A.V.Kononenko, S.M.Drogovoz, O.V.Krivoruchko, D.B.Lobanova

The pharmacological activity of biologically active substances of *Sorbus aucuparia* has been analysed with the purpose of determination of the prospects for creating anti-inflammatory drugs on its basis. The current wide range of anti-inflammatory drugs does not solve the problem of the successful treatment of inflammatory diseases and their recurrences, but only generates the need for searching alternative drugs with the anti-inflammatory effect for effective and safe treatment. The study of new anti-inflammatory agents is conducted taking into account the etiology, pathogenesis and clinical manifestations of inflammatory diseases. Thus, biologically active substances of *Sorbus aucuparia* fruits and leaves can influence on infectious, toxicological and radiological factors, different stages of inflammation – alteration, exudation and proliferation (phenolic compounds are the main group that is responsible for the pathogenic mechanisms), as well as reduce edema, decrease temperature and relieve the pain.

УДК 615.33; 615.28+541.521

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ МАЗЕЙ С СУХИМ И ГУСТЫМ ЭКСТРАКТОМ ТОПОЛЯ КИТАЙСКОГО

В.В.Ковалёв, Т.Г.Ярных, В.Н.Ковалёв

С целью расширения ассортимента отечественных мазей, содержащих в качестве активных фармацевтических ингредиентов субстанции растительного происхождения, проведены исследования по установлению антимикробной активности образцов мазей на гидрофильных и эмульсионных основах. На основе метода диффузии в агар экспериментально исследована и обоснована перспективность, а также возможность разработки технологии мягких лекарственных форм, содержащих густой (гидрофобную фракцию) и сухой (гидрофильную фракцию) экстракты тополя китайского, предназначенных для лечения инфекционных осложнений ран. Результаты проведенных исследований показали, что опытные образцы мазей проявили выраженное антимикробное действие на штаммы *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulg.* Изучена зависимость антимикробной активности от компонентов мазевой основы и доказаны преимущества использования гидрофильной мазевой основы.

УДК 615.276:582.734.3:581.45

ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИСТЬЕВ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

А.В.Кононенко, С.М.Дрогвоз, Е.В.Криворучко, Д.Б.Лобанова

Проанализирована фармакологическая активность БАВ рябины обыкновенной с целью определения перспектив создания противовоспалительных лекарств на ее основе. Поскольку нынешний большой ассортимент противовоспалительных средств не решает проблему успешного лечения воспалительных заболеваний и их рецидивов, а лишь порождает необходимость поиска альтернативных лекарств с противовоспалительным действием для эффективных и безопасных способов лечения, исследование новых противовоспалительных средств проводятся с учетом этиологии, патогенеза и клинических проявлений воспалительных заболеваний. Так, БАВ плодов и листьев рябины обыкновенной могут влиять на инфекционные, токсикологические и радиационные факторы, различные стадии воспаления (основной группой, которая отвечает за патогенетические механизмы, являются фенольные соединения), а также уменьшать отек, нормализовать температуру и облегчать болевые ощущения.

UDC 615.282:615.322:582.972.3

THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF LIPOPHILIC FRACTIONS OF *GALIUM* SPECIES. Message 3

N.V.Kashpur, O.V.Goryacha, T.V.Ilyina, A.M.Kovalyova, A.Yu.Volyansky, T.P.Osolodchenko

The antifungal activity of chloroform and ethylacetate ethanolic (8:2) fractions of Lady's Bedstraw (*Galium verum* L.), *Galium salicifolium* Klok. and Cruciform Bedstraw (*Galium cruciata* (L.) Scop.) in relation to 7 test strains of fungi: *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Sklyar 9, *Zygosaccharo spp.* 40 b/2, *Cryptococcus neoformans* 32609, *Rhodoflorula glutinis* F-129, *Picha anomala* 40, *Kluveromyces lactis* F 116, *Aspergillus niger* 704 has been studied. It has been found that all fractions showed the antifungal activity in relation to *Zygosaccharo spp.* and *A. niger*. In relation to *G. candidum* lipophilic fractions of *Galium verum* and *Galium cruciata* were active. In relation to *C. neoformans* none of the fractions revealed the activity. In relation to *Rh. glutinis*, *K. lactis* and *P. anomala* the ethylacetate ethanolic (8:2) fractions of *Galium salicifolium* and *Galium verum* and the chloroform fraction of *Galium cruciata* showed the insignificant activity, respectively. The dependence between the content of the main groups of biologically active substances in the fractions studied and the level of their antifungal activity has been revealed.

УДК 615.282:615.322:582.972.3

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ РАСТЕНИЙ РОДА *GALIUM*. Сообщение 3

Н.В.Кашпур, О.В.Горячая, Т.В.Ильина, А.М.Ковалева, А.Ю.Волянский, Т.П.Осолодченко

Исследована противогрибковая активность хлороформных и этилацетатно-спиртовых (8:2) фракций подмаренника настоящего (*Galium verum* L.), подмаренника иволистного (*Galium salicifolium* Клок.) и подмаренника крестоцветного (*Galium cruciata* (L.) Scop.) в отношении 7 тест-штаммов грибов: *Geotriichum candidum* (*Galactomyces geotrichum*) Скляр 9, *Zygosaccharo spp.* 40 b/2, *Cryptococcus neoformans* 32609, *Rhodoflorula glutinis* F-129, *Picha anomala* 40, *Kluveromyces lactis* F 116, *Aspergillus niger* 704. Установлено, что по отношению к *Zygosaccharo spp.* и *A. niger* противогрибковое действие проявили все исследованные фракции. По отношению к *G. candidum* активность проявили фракции подмаренника настоящего и подмаренника крестообразного. По отношению к *C. neoformans* ни одна из исследованных фракций не проявила активности. По отношению к *Rh. glutinis*, *K. lactis*, *P. anomala* незначительную активность проявили этилацетатно-спиртовые фракции подмаренника иволистного и подмаренника настоящего, хлороформная фракция подмаренника крестообразного соответственно. Выявлена зависимость между содержанием суммы основных БАВ в исследуемых фракциях подмаренников и уровнем их противогрибковой активности.

ГОЛОВНА ПОДІЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ ГАЛУЗІ**PHARM**
ComplEX**III Міжнародний форум
фармацевтичної індустрії****25-27 вересня 2012****КИЇВ ЕКСПО ПЛАЗА**
Київ, вул. Салютна, 2-Б (ст. метро «Нивки») 

**25-27 вересня 2012 року відбудеться
головна подія фармацевтичної галузі України –
III Міжнародний форум фармацевтичної індустрії PHARMComplEX
за адресою: м. Київ, ВЦ «КиївЕкспоПлаза» (вул. Салютна, 2-Б)**

PHARMComplEX – це щорічна міжнародна подія, яка відображає зокрема стан фармацевтичної галузі України та консолідує інтереси операторів фармацевтичного ринку, представників наукового, освітнього, інвестиційного секторів і держави. Форум проходить за підтримки Комітету Верховної Ради України з питань охорони здоров'я, Міністерства охорони здоров'я України, Державної служби України з лікарських засобів, Національної академії медичних наук України, Національної академії наук України при сприянні громадських та бізнесових організацій фармацевтичної галузі.

У рамках Форуму:

- 3-я Міжнародна спеціалізована виставка комплексного забезпечення фармацевтичної промисловості PHARMPROM-2012;
- 3-я Міжнародна спеціалізована виставка фармацевтичної продукції PHARMEX-2012.

Діловою програмою Форуму передбачено проведення **III Міжнародної конференції «Дні фармацевтичної промисловості»**, де будуть представлені інноваційні рішення та технології для фармацевтичних виробників на всіх етапах їх розробки, виробництва і реалізації. Також відбудуться **науково-практичні конференції «Побудова системи якості в аптечних установах», «Сучасні підходи до розробки ефективних фармакологічних препаратів для корекції ендокринної патології»**.

Детальна інформація:

Тел.: +380 (44) 361-07-21, 526-92-89, 526 90 25

E-mail: marketing@lmt.kiev.ua

www.pharmcomplex.com

www.lmt.kiev.ua

ЗМІСТ

КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ФАРМАКОТЕРАПІЯ

IN SILICO: НОВИЙ НАПРЯМ У РОЗРОБЦІ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ І.С.Чекман, Т.Ю.Небесна, П.В.Симонов.....	4-14
РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ОЦІНКИ ПЕРЕНОСИМОСТІ ПРИ ДОСЛІДЖЕННІ БІОЕКВІВАЛЕНТНОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ В.Є.Доброва.....	15-20
ДОЗОЗАЛЕЖНИЙ ВПЛИВ АТОРВАСТАТИНУ В РАНЖИРОВАНИХ ДОЗАХ ВІДНОСНО ЦИРКУЛЮЮЧОГО ВМІСТУ МАРКЕРІВ БІОМЕХАНІЧНОГО СТРЕСУ В ПАЦІЄНТІВ З ІНФАРКТОМ МІОКАРДА. РЕЗУЛЬТАТИ ОДНОРІЧНОГО КОГОРТНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ О.Є.Березін, Т.О.Самура.....	21-26

ФАРМАКОКІНЕТИКА

ДІАГНОСТИКА СМЕРТЕЛЬНИХ ОТРУЄНЬ СУЛЬПІРИДОМ ЗА РЕЗУЛЬТАТАМИ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ С.В.Баюрка, В.В.Болотов, С.А.Карпушина, В.І.Степаненко, Г.І.Северіна.....	27-30
---	-------

ДОКЛІНІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ДОСЛІДЖЕННЯ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО ВАГІНАЛЬНОГО КРЕМУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНИХ ВАГІНІТІВ С.М.Дроговоз, Г.В.Зайченко, О.В.Грищенко, О.С.Бусигін, К.В.Дроговоз.....	32-35
ВПЛИВ НОВОГО МЕТАБОЛІТОТРОПНОГО КАРДІОПРОТЕКТОРА «ЛІЗИНІЙ» НА СТАН ЛІМІТУЮЧИХ ЛАНОК ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ І КОМПЕНСАТОРНИХ МЕТАБОЛІЧНИХ ШУНТІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО ІНФАРКТУ МІОКАРДА І.Ф.Беленічев, Л.І.Кучеренко, І.А.Мазур, Н.В.Бухтіярова, В.С.Стеблюк, І.В.Павлюк, Г.В.Георгієвський.....	36-39
ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ З НАСІННЯ ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО НА ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТКАНИНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ГОСТРОМУ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОВОМУ ГЕПАТИТІ А.Л.Загайко, С.В.Заїка, О.А.Красильнікова, Ю.Б.Лар'яновська.....	40-44
СТАН МЕТАБОЛІЗМУ ГЕМУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПОРУШЕННІ ПОРФІРИНОВОГО ОБМІНУ С.І.Крижна.....	45-47
ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ МАЗЕЙ З ГУСТИМ ТА СУХИМ ЕКСТРАКТОМ ТОПОЛІ КИТАЙСЬКОЇ В.В.Ковальов, Т.Г.Ярних, В.М.Ковальов.....	48-50
ФІТОХІМІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ЛИСТЯ ГОРОБИНИ ЗВИЧАЙНОЇ А.В.Кононенко, С.М.Дроговоз, О.В.Криворучко, Д.Б.Лобанова.....	51-54
ПРОТИГРИБКОВА АКТИВНІСТЬ ЛІПОФІЛЬНИХ ФРАКЦІЙ РОСЛИН РОДУ GALIUM. Повідомлення 3 Н.В.Кашпур, О.В.Горяча, Т.В.Льїна, А.М.Ковальова, А.Ю.Волянський, Т.П.Осолодченко.....	55-58

РЕФЕРАТИ.....	60-65
---------------	-------

CONTENTS

IN SILICO: THE NEW FIELD IN DEVELOPMENT OF PHARMACOLOGICAL AND PHARMACEUTICAL PROPERTIES OF MEDICINES I.S.Chekman, T.Yu.Nebesna, P.V.Simonov.....	4-14
DEVELOPMENT OF METHODS OF TOLERABILITY ASSESSMENT FOR STUDYING DRUG BIOEQUIVALENCE V.Ye.Dobrova.....	15-20
THE DOSE-DEPENDENT INFLUENCE OF ATORVASTATIN TAKEN IN RANGED DOSES IN RELATION TO CIRCULATING BIOMECHANICAL STRESS MARKERS IN PATIENTS WITH Q-WAVE MYOCARDIAL INFARCTION. RESULTS OF 1-YEAR COHORT STUDY O.Ye.Berezin, T.O.Samura.....	21-26
DIAGNOSTICS OF MORTAL SULPIRIDE POISONINGS BY THE RESULTS OF TOXICOLOGICAL EXAMINATIONS S.V.Bayurka, V.V.Bolotov, S.A.Karpushina, V.I.Stepanenko, G.I.Severina.....	27-30
RESEARCH OF A NEW COMBINED VAGINAL CREAM FOR TREATING NON-SPECIFIC VAGINITIS S.M.Drogovoz, G.V.Zaychenko, O.V.Grishchenko, O.S.Busygin, K.V.Drogovoz.....	32-35
THE INFLUENCE OF NEW METABOLITOTROPIC CARDIOPROTECTOR «LIZINIY» ON THE STATE OF LIMITING LINKS OF THE ENERGY METABOLISM AND COMPENSATORY METABOLIC SHUNTS IN ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION I.F.Belenichev, L.I.Kucherenko, I.A.Mazur, N.V.Bukhtiyarova, V.S.Steblyuk, I.V.Pavlyuk, G.V.Georgievsky.....	36-39
THE EFFECT OF GRAPE SEED EXTRACT ON THE HEPATIC PARENCHYMA OF THE RAT LIVER IN ACUTE CCl ₄ -INDUCED HEPATITIS A.L.Zagayko, S.V.Zaika, O.A.Krasilnikova, Yu.B.Laryanovska.....	40-44
THE STATE OF THE GEME METABOLISM IN EXPERIMENTAL DISTURBANCE OF PORPHYRIN EXCHANGE S.I.Kryzhna.....	45-47
THE STUDY OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF OINTMENTS WITH DENSE AND DRY EXTRACTS OF POPLAR CHINESE V.V.Kovalyov, T.G.Yarnykh, V.M.Kovalyov.....	48-50
PHYTOCHEMICAL SUBSTANTIATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES OF SORBUS AUCUPARIA LEAVES EXTRACT A.V.Kononenko, S.M.Drogovoz, O.V.Krivoruchko, D.B.Lobanova.....	51-54
THE ANTIFUNGAL ACTIVITY OF LIPOPHILIC FRACTIONS OF <i>GALIUM</i> SPECIES. Message 3 N.V.Kashpur, O.V.Goryacha, T.V.Ilyina, A.M.Kovalyova, A.Yu.Volyansky, T.P.Osolodchenko.....	55-58

СОДЕРЖАНИЕ

IN SILICO: НОВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ В РАЗРАБОТКЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И.С.Чекман, Т.Ю.Небесная, П.В.Симонов.....	4-14
РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ ПЕРЕНОСИМОСТИ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В.Е.Доброва.....	15-20
ДОЗАЗАВИСИМОЕ ВЛИЯНИЕ АТОРВАСТАТИНА В РАНЖИРОВАННЫХ ДОЗАХ В ОТНОШЕНИИ ЦИРКУЛИРУЮЩЕГО СОДЕРЖАНИЯ МАРКЕРОВ БИОМЕХАНИЧЕСКОГО СТРЕССА У ПАЦИЕНТОВ С ИНФАРКТОМ МИОКАРДА. РЕЗУЛЬТАТЫ ОДНОГОДИЧНОГО КОГОРТНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ А.Е.Березин, Т.А.Самура.....	21-26
ДИАГНОСТИКА СМЕРТЕЛЬНЫХ ОТРАВЛЕНИЙ СУЛЬПИРИДОМ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ С.В.Баяурка, В.В.Болотов, С.А.Карпушина, В.И.Степаненко, А.И.Северина.....	27-30
ИССЛЕДОВАНИЕ НОВОГО КОМБИНИРОВАННОГО ВАГИНАЛЬНОГО КРЕМА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИХ ВАГИНИТОВ С.М.Дрогвоз, А.В.Зайченко, О.В.Грищенко, О.С.Бусигин, Е.В.Дрогвоз.....	32-35
ВЛИЯНИЕ НОВОГО МЕТАБОЛИТОТРОПНОГО КАРДИОПРОТЕКТОРА «ЛИЗИНИЙ» НА СОСТОЯНИЕ ЛИМИТИРУЮЩИХ ЗВЕНЬЕВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА И КОМПЕНСАТОРНЫХ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ШУНТОВ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА И.Ф.Беленичев, Л.И.Кучеренко, И.А.Мазур, Н.В.Бухтиярова, В.С.Стеблюк, И.В.Павлюк, Г.В.Георгиевский.....	36-39
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО НА ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТКАНИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТЕТРАХЛОРОМЕТАНОВОМ ГЕПАТИТЕ А.Л.Загайко, С.В.Заика, О.А. Красильникова, Ю.Б.Ларьяновская.....	40-44
СОСТОЯНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ГЕМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ НАРУШЕНИИ ПОРФИРИНОВОГО ОБМЕНА С.И.Крыжняя.....	45-47
ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ МАЗЕЙ С СУХИМ И ГУСТЫМ ЭКСТРАКТОМ ТОПОЛЯ КИТАЙСКОГО В.В.Ковалёв, Т.Г.Ярных, В.Н.Ковалёв.....	48-50
ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ ЛИСТЬЕВ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ А.В.Кононенко, С.М.Дрогвоз, Е.В.Криворучко, Д.Б.Лобанова.....	51-54
ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ ЛИПОФИЛЬНЫХ ФРАКЦИЙ РАСТЕНИЙ РОДА <i>GALIUM</i> . Сообщение 3 Н.В.Кашпур, О.В.Горячая, Т.В.Ильина, А.М.Ковалева, А.Ю.Волянский, Т.П.Осолодченко.....	55-58

Літературний редактор А.Л. Краснікова
Комп'ютерна верстка О.М.Білінська
Перекладач О.Ю.Гурко

Адреса для листування: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53, Національний фармацевтичний університет, редакція журналу "Клінічна фармація". Тел./факс (57) 706-30-63. E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua
Передплатні індекси: для індивідуальних передплатників — 40701; для підприємств — 40702

Свідоцтво про державну реєстрацію серія КВ №13192-2076ПР від 14.09.2007 р.

Підписано до друку 08.06.2012 р. Формат 60x84 1/8
Папір офсетний. Друк офсетний
Умовн. друк. арк. 7,91. Обліков.-вид. арк. 9,15
Тираж 150 прим.