

## ПОРІВНЯЛЬНЕ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ РОСЛИННИХ АНТИОКСИДАНТІВ НА ОСНОВІ БІОФЛАВОНОЇДІВ ТА ДУБИЛЬНИХ РЕЧОВИН

*Т.С.Сахарова*

Національна фармацевтична академія України

*Ключові слова: міокардит; біофлавоноїди; дубильні речовини; вільнорадикальне окислення; антиоксидантна система; антиоксидантна, антирадикальна дія*

*Проведене порівняльне експериментальне вивчення кардіопротекторної активності нових рослинних антиоксидантів на основі біофлавоноїдів (піфламіну) та дубильних речовин (альтану) на моделі гострого токсичного міокардиту у щурів, викликаного ізадрином. Встановлені принципи розбіжності у вираженості та механізмі дії досліджуваних препаратів. Показана більш виразна кардіопротекторна ефективність альтану в порівнянні з піфламіном, зумовлена переважно його антирадикальною активністю. Висловлене припущення, що у більш високій з вивчених дозі біофлавоноїдний препарат "Піфламін" мобілізує окремі компоненти антиоксидантного захисту, утворюючи при цьому продукти з прооксидантною дією.*

Важливою особливістю раціональної фармакотерапії різноманітних захворювань є включення до традиційних схем лікування препаратів з антиоксидантним механізмом дії [3, 5, 7, 8, 12-15].

Більшість природних антиоксидантів (токофероли, убіхінони, флавоноїди) в основі хімічної будови містять одне або декілька фенольних кілець, що визначає їх участь в окислювально-відновних реакціях клітини. Висловлене припущення, що фенольні сполуки, які надходять до організму людини з їжею, використовуються не лише для побудови структурних компонентів мембран, але й ряду інших біологічно активних речовин (медіаторів, гормонів та ін.) [2].

Найбільш вивчену групу природних фенолів складають рослинні біофлавоноїди (БФ), антиоксидантна дія яких зумовлюється здатністю "захоплювати" гідроксильні та супероксидні радикали, а також "виключати" центри радикалоутворення за рахунок фіксації іонів змінної валентності, головним чином заліза, у

складі хелатних комплексів [1, 2]. Ефективність препаратів біофлавоноїдної природи доведена при лікуванні захворювань гепатобіліарної, серцево-судинної систем, шлунково-кишкового тракту [5, 7, 8, 13, 14]. Поряд з цим, у літературі, присвяченій вивченню антиоксидантних властивостей рослинних фенольних сполук, накопичені дані про модулювання процесів вільнорадикального окислення (ВРО) у системах *in vitro* та *in vivo* дубильними речовинами (ДР). Було встановлено, що зі збільшенням кількості гідроксильних груп антирадикальна активність фенольних сполук підвищується [2, 21]. Порівняльне вивчення антиоксидантних властивостей ДР і БФ, як представників одного класу поліфенольних сполук, показало, що більш виразною антиокислювальною активністю характеризуються саме ДР [20, 21]. Проте в доступній нам літературі з проблеми ПОЛ та його фармакокорекції ми не зустріли даних про

вживання лікарських препаратів на основі ДР, незважаючи на безсумнівну теоретичну обґрунтованість пошуку нових природних антиоксидантів саме у цьому напрямку. Наші наукові інтереси лежать у площині визначення принципів відмінностей у фармакологічній дії БФ, вивчення яких на сьогоднішній день здійснюється багатьма фармакологічними школами, і ДР як перспективної групи антиоксидантів. У зв'язку з цим метою даного дослідження стало порівняльне експериментальне дослідження кардіопротекторної активності нових природних препаратів-антиоксидантів на основі БФ (піфламіну) та ДР (альтану), розроблених у НФАУ, при модельній вільнорадикальній патології міокарда. Альтан, одержаний з суплідь вільхи клейкої та сіпої (*Alnus glutinosa* L. і *Alnus cinerea* L. (Betulaceae)), містить похідні елаготанінів з групи гідролізуємих ДР і впроваджується як препарат для лікування виразкових ушкоджень органів шлунково-кишкового тракту. Сировинним джерелом піфламіну є надземна частина гороху посівного (*Pisum sativum* L. (Fa-

Таблиця 1

## Вплив альтану і піфламіну на показники ПОЛ при гострому токсичному міокардиті у щурів

Умови досліджу	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Лікування піфламіном 100 мг/кг	Лікування піфламіном 150 мг/кг	Лікування альтаном 0,5 мг/кг	Лікування альтаном 1 мг/кг
<b>СИРОВАТКА</b>						
Фосфоліпіди (ммоль/л)	1,63±0,14	0,99±0,06*	1,04±0,08*	0,91±0,08*	1,39±0,12**	1,42±0,07**
Гідроперекиси (умов.од.)	0,78±0,07	1,62±0,10*	0,74±0,08**	1,12±0,14*	0,71±0,12**	0,51±0,05* **
ДК (мкмоль/мл)	0,03±0,01	0,04±0,01	0,03±0,01	0,04±0,01	0,03±0,01	0,02±0,00
МДА (мкмоль/мл)	0,33±0,02	0,40±0,03	0,29±0,02**	0,31±0,04	0,28±0,02**	0,26±0,02**
<b>ГОМОГЕНАТ МІОКАРДА</b>						
ДК (мкмоль/г)	4,54±0,28	7,27±0,41*	8,41±0,65*	9,99±0,58*	6,36±0,18*	5,68±0,25**
МДА (мкмоль/г)	21,79±2,15	49,99±3,76*	43,59±2,46*	48,72±1,98*	38,46±2,32*	34,49±1,96* **

\*Зміни достовірні у порівнянні з інтактним контролем ( $p \leq 0,05$ ).

\*\*Зміни достовірні у порівнянні з контрольною патологією ( $p \leq 0,05$ ).

басае). Це природний комплекс біофлавоноїдів (кверцетин, лютеолін, кемпферол та їх глікозиди), оксикоричних кислот, амінокислот та гетерополісахаридів. Препарат "Піфламін" проходить клінічні дослідження як гепатопротектор.

### Матеріали та методи

Для відтворення стану патологічної гіперактивності перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) у наших експериментах була вибрана модель гострого токсичного ізадринного міокардиту у щурів [17]. Тварини були розподілені на 6 груп: 1 — інтактний контроль; 2 — контрольна патологія (тварини з міокардитом, які не отримували лікування); 3-4 — тварини, ліковані піфламіном у дозах 100 мг/кг та 150 мг/кг відповідно; 5-6 — тварини, ліковані альтаном у дозах 0,5 мг/кг та 1 мг/кг відповідно. Щурам контрольної патології та дослідних груп ізадрин вводили щоденно внутрішньом'язово у дозі 60 мг/кг протягом 4 днів. У ці ж терміни тварини дослідних груп отримували відповідне лікування однократно перорально.

Оцінку стану ПОЛ при експериментальному ушкодженні міокарда здійснювали за результатами визначення вмісту у сироватці крові фосфоліпідів (ФЛ) [23], гід-

роперекисів (ГП) ненасичених жирних кислот (НЖК) [18], дієнових кон'югатів (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) [16], рівня відновленого глутатіону (GSH) [19], супероксиддисмутази (СОД) [4]. Вміст ДК, МДА, GSH, активність СОД визначали також у гомогенаті міокарда.

Статистичну обробку даних здійснювали варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента ( $t$ ).

### Результати та їх обговорення

Ізадринове ушкодження міокарда (табл. 1) супроводжувалось вірогідним зниженням у сироватці крові рівня фосфоліпідів, зокрема фосфатидилхолінів, оскільки використаний нами у дослідженнях ензиматичний колориметричний метод ґрунтується саме на кількісному визначенні вилученого з фосфоліпідів холіну [23]. Поряд з цим спостерігалось різке (на 48%) підвищення вмісту первинних продуктів ПОЛ — ГП і тенденція до накопичення у сироватці крові вторинних продуктів ліпопероксидації (ДК і МДА), що свідчить про інтенсивне використання фосфоліпідів, які локалізуються у зовнішньому моношарі плазматичних мембран, як вихідних продуктів переокислення. Більш виразні прояви перекисної дегра-

дації мембранних фосфоліпідів мали місце при дослідженні вмісту продуктів ПОЛ у гомогенаті міокарда, де концентрація ДК і МДА достовірно підвищувалась на 60% і 129% відповідно.

Аналогічна закономірність спостерігалась при аналізі показників антиоксидантної системи організму (АОС) — СОД і GSH (табл. 2). Якщо у сироватці їх зміни носили недостовірний характер, то у гомогенаті тканини серця вміст GSH достовірно зменшувався на 61%, а активність СОД підвищувалася у 2 рази у порівнянні з інтактним контролем. Це підкреслює, очевидно, не генералізований, а локальний характер зриву адаптаційних можливостей організму дослідних тварин при моделюванні гострого ізадринного міокардиту.

Описана картина цілком відповідає даним літератури щодо впливу високих доз адреноміметичних речовин на міокард [3, 11]. Провідним патогенетичним механізмом даного ураження є посилення процесів ПОЛ внаслідок ішемічної гіпоксії. При дефіциті молекулярного кисню створюються умови для накопичення його нередукованих активних форм, які вважаються головними ініціаторами ліпопереокислення, а також перекисного окислення інших макромолекулярних сполук

Таблиця 2

## Вплив альтану і піфламіну на показники АОС при гострому токсичному міокардиті у щурів

Умови досліджу	Інтактний контроль	Контрольна патологія	Лікування піфламіном, 100 мг/кг	Лікування піфламіном, 150 мг/кг	Лікування альтаном, 0,5 мг/кг	Лікування альтаном, 1 мг/кг
СИРОВАТКА						
Активність СОД (умов.од.)	1,87±0,30	1,52±0,00	1,76±0,03	1,78±0,05	1,62±0,04	1,83±0,28
GSH (мг%)	128,56±18,32	106,84±11,23	135,97±10,85**	165,25±12,64**	175,73±14,32***	180,55±12,60***
ГОМОГЕНАТ МІОКАРДА						
Активність СОД (умов.од.)	2,14±0,07	4,34±0,40*	3,45±0,09* **	4,21±0,53*	4,1±0,32*	0,74±0,06* **
GSH (мг/%)	41,57±3,68	16,41±1,58	24,07±2,18*	30,63±5,12**	33,91±2,04**	33,80±4,00**

\*Зміни достовірні у порівнянні з інтактним контролем ( $p \leq 0,05$ ).

\*\*Зміни достовірні у порівнянні з контрольною патологією ( $p \leq 0,05$ ).

клітини. Підвищення проникності клітинних та субклітинних мембран внаслідок руйнування фосфоліпідного бішару спричиняє порушення електролітного обміну, зокрема обміну кальцію, якому належить вирішальна роль у забезпеченні скорочувальної функції міокарда. Патологічна зміна функціонування електронотранспортних систем в умовах активації ПОЛ вимикає енергоутворення у мітохондріях міокардіоцитів, посилює ацидоз, який провокує вихід протеолітичних ферментів і руйнування клітинних структур. Все це призводить до утворення у міокарді численних дифузних мікронекрозів і супроводжується запальною реакцією.

Результати лікування тварин піфламіном і альтаном характеризувались рядом особливостей. За більшістю вивчених показників антиоксидантний ефект альтану значно перевищував такий у піфламіну. Застосування альтану в обох дозах практично відновлювало до рівня інтактного контролю вміст фосфоліпідів, виразно знижуючи при цьому вміст ГП та МДА у сироватці крові (табл. 1). У гомогенаті міокарда показники МДА і ДК достовірно змінювались у порівнянні з контрольною патологією лише при застосуванні альтану у дозі 1 мг/кг; у дозі 0,5 мг/кг ці зміни мали характер виразної тенденції, але були недостовірними. Значним був вплив альтану у досліджуваних дозах на рівень GSH у сироватці крові

(табл. 2), який навіть у порівнянні з інтактним контролем достовірно зростав у середньому на 40%, а у гомогенаті показник GSH у лікованих альтаном щурів становив  $33,91 \pm 2,04$  (доза 0,5 мг/кг) та  $33,80 \pm 4,00$  мг% (доза 1 мг/кг) проти  $41,57 \pm 3,68$  мг% у інтактного контролю та  $16,41 \pm 1,58$  мг% у контрольної патології. На тлі загальної картини нормалізації показників ПОЛ та АОС при лікуванні дослідних тварин альтаном слід відзначити вплив даного препарату у дозі 1 мг/кг на активність СОД у гомогенаті міокарда і вміст ГП у сироватці. Спостерігається пряма сімбатна залежність між цими показниками в умовах наших експериментів: вірогідне зниження активності СОД у порівнянні з інтактним контролем має місце поряд з вірогідним зниженням (на 35%) вмісту ГП, також у порівнянні з інтактним значенням. У сучасній літературі, присвяченій ПОЛ, наводяться відомості про неодноточні зміни активності СОД при генерації активних форм кисню та активації ПОЛ. Згідно з принципами фермент-субстратної взаємодії реакція дисмутації можлива лише при досягненні певного рівня супероксиданіонів; подальше їх накопичення, а також утворення продуктів ПОЛ спричиняє гальмування активності ферменту [3]. Проте, поряд із зазначеним зниженням ферментативної активності ми спостерігали різке зменшення вмісту гідроперексидів,

які є первинним продуктом деградуючого впливу активних форм кисню на НЖК. В такому випадку різке зниження процесу утворення ліпоперексидів можливе лише за рахунок самих ДР альтану, які здатні дезактивувати супероксиданіони і перекиси, завдяки наяві в його поліфенольній структурі рухливих атомів водню [21].

Піфламін на даній моделі мав менш виразну антиоксидантну дію, а в дозі 150 мг/кг не впливав на ряд показників (ГП, ДК, МДА). Можна припустити, що досліджуваний біофлавоноїдний препарат, який виявився у високих дозах ефективним гепатопротектором-антиоксидантом [6, 9], у цих же дозах не може бути використаний для корекції вільнорадикальної патології міокарда, який відрізняється від печінки високим рівнем енергообміну та відсутністю спеціалізованих механізмів метаболізму. Не виключається й те, що в даній ситуації фенольні компоненти піфламіну модулюють окислювально-відновні процеси, виявляючи подвійність: внаслідок активного відновлення глутатіонової системи та підтримки активності СОД (що доведено результатами нашого експерименту, табл. 2) окислені продукти БФ, які при цьому утворюються, включаються у ВРО як прооксиданти. Їх прооксидантний ефект на даній моделі може опосередковуватися також шляхом посилення дії адреналіну, оскільки дані літератури свідчать

про гальмуючий вплив природних флавоноїдів на фермент КОМТ, який каталізує реакцію інактивації катехоламінів [2]. Отже, помірну протиокислювальну активність відносно високих доз піфламіну при гострому токсичному міокардиті можна пояснити лише його мобілізуючим впливом на фонд GSH та активність СОД.

#### ВИСНОВКИ

1. Встановлені принципи розбіжності в механізмі та вира-

ності антиоксидантної дії біофлавоноїдного препарату "Піфламіну" і препарату дубильних речовин альтану на моделі експериментального ізадринового міокардиту у щурів.

2. В умовах даного експерименту альтан за більшістю досліджених показників, які висвітлюють збалансованість ПОЛ/АОС, виявив значно виразніший антиокислювальний ефект, ніж піфламін.

3. Антиоксидантні властивості альтану обумовлені, перш за все, його потужним антирадикальним ефектом у відношенні як продуктів ВРО ліпідів, так і, очевидно, активних форм кисню, зокрема супероксиданіонів.

4. Особливістю нормалізуючого впливу піфламіну на процеси ПОЛ при гострому ізадриновому міокардиті є його здатність до підтримки функціональної активності компонентів АОС, зокрема GSH і СОД.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И. *Человек и противокислительные вещества.* — Л.: Наука, 1985. — 230 с.
2. Бабак О.Я., Кушнір І.Е., Бунятян Н.Д. та ін. //Клінічна фармація. — 1999. — Т. 3, №1. — С. 51-53.
3. Барабой В.А. *Растительные фенолы и здоровье человека.* — М.: Наука, 1984. — 358 с.
4. Биленко М.В. *Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения).* — М.: Медицина, 1989. — 368 с.
5. Брусов О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. //Бюлл. эксперимент. биол. и мед. — 1976. — №1. — С. 33.
6. Гацура А.В., Смирнов Л.Д. //Хим.-фарм. журн. — 1992. — 26. — №11-12. — С. 10-15.
7. Гордиенко А.Д. //Фармація. — 1990. — №3. — С. 75-78.
8. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС.* — М.: Изд-во ин-та биомед. химии РАМН, 1995. — С. 3-12.
9. Загоруйко Ж.В., Харченко Н.В. //Фармакол. вісник. — 1997. — №4. — С. 38-40.
10. Колб В.Г., Камышников В.С. *Клиническая биохимия.* — Мн.: Беларусь, 1982. — 266 с.
11. Меерсон Ф.З. *Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца.* — М.: Медицина, 1984. — 272 с.
12. Мохорт М.А., Чайка Л.О. //Фармакол. вісник. — 1997. — №3. — С. 17-24.
13. Прохоренко С.А. //Фармаком. — 1995. — №11-12. — С. 51-57.
14. Скакун Н.П., Шманько В.В., Охримович Л.М. *Клиническая фармакология гепатопротекторов.* — Тернополь: Збруч, 1995. — С. 7-189.
15. Сейфулла Р.Д., Борисова И.Г. //Фармакол. и токсикол. — 1990. — Т. 53, №6. — С. 3-10.
16. *Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича.* — М.: Медицина, 1977. — С. 42-44, 66-68.
17. Тринус Ф.П., Клебанов Б.М., Мохорт Н.А. *Методы скрининга и фармакологическое изучение противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ (метод. рекомендации).* — К., 1974. — 27 с.
18. Чернавина Н.К., Шилина Г.В. //Лаб. дело. — 1979. — №7. — С. 402-404.
19. Beutler E.D., Duron Q., Kelly V.M. //J. Lab. Clin. Med. — 1963. — Vol. 61, 15. — P. 882.
20. *Inhibition of constitutive emotheloal nosynthase activity by tannin and quercetin / Cheisi Michele, Shweller Roland.* //Biochem. Pharmacol. — 1995. — 49, №4. — P. 495-501.
21. Jeng-De Su, Toshihiko Osawa, Shunro Kawakishi, Mitsuo Namiki. //Phytochemistry. — 1988. — Vol. 27, №5. — P. 1315-1319.
22. Spiegel H.J., Symington J.A. *Standard methods of clinical chemistry.* — New York: Academic Press, 1972. — Vol. 7. — P. 43.
23. Takayama M. //Clinica Chimica Acta. - 1977. — 79. — P. 93.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,  
вул. Пушкінська, 53. Тел. (0572) 45-00-86.  
Національна фармацевтична академія України

Надійшла до редакції 14.02.2000 р.