

## ВИВЧЕННЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НОВОГО ЗАСОБУ “ПОЛЕНТАР” ТА ЙОГО СКЛАДОВИХ СУБСТАНЦІЙ

Л.В.Яковлева, О.Я.Мищенко, Ю.В.Нікітченко\*

Національний фармацевтичний університет

Науково-дослідний інститут біології Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна\*

*Ключові слова: антирадикальна активність; ксантиноксидаза; екстракт елеутерокока; полентар; квітковий пилок; бурштинова кислота*

*Проведено дослідження механізмів антиоксидантної дії нового комбінованого адаптогенного засобу “Полентар” та його складових субстанцій: квіткового пилку (КП) і бурштинової кислоти (БК) в порівнянні з класичним адаптогеном — екстрактом елеутерокока. Встановлена здатність полентару та КП в концентрації 1,4 мкл/мл середовища гальмувати утворення супероксидного радикалу в системі “адреналін-адренохром” відповідно на рівні 27,7%; 17,7% та в системі “ксантин-ксантиноксидаза-нітротетразолієвий синій” відповідно на рівні 30,7%, 36,1%, а також виразно пригнічувати активність ксантиноксидази на 49,9%; 24,9% в концентрації 4,2 мкл/мл середовища. Бурштинова кислота практично не проявляє антирадикальних властивостей та антиксантиноксидантної активності. Показано, що в забезпеченні антирадикальної дії полентару суттєва роль належить біологічно активним сполукам квіткового пилку. Класичний адаптоген — екстракт елеутерокока в досліджуваному інтервалі концентрацій 0,8-1,4 мкл/мл середовища виразно гальмував утворення супероксид-аніона на рівні 45-33% тільки в системі з ксантиноксидазою та пригнічував активність ферменту відповідно на рівні 34,5-47,6%.*

Згідно з сучасними уявленнями фундаментальним молекулярним механізмом розладу неспецифічної резистентності організму людини та розвитку багатьох патологічних станів є посилення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у біологічних мембранах [1, 4, 7, 9]. Цей процес обумовлений підвищенням концентрації активних форм кисню, в результаті реакції яких з ненасиченими жирними кислотами фосфоліпідів мембран утворюються первинні молекулярні продукти ПОЛ — гідроперекиси ліпідів. Останні окиснюють сульфгідрильні групи тіолових сполук до дисульфідних та змінюють структуру білкових молекул. Це супроводжується пригніченням актив-

ності чи зміною властивостей ферментів, що, перш за все, і є причиною порушення енергоутворення і на тлі цього зниження резистентності та формування патологічного стану організму. Тому використання природних фенольних сполук, які мають прямі антиоксидантні властивості та забезпечують антиоксидантний захист клітинних мембран, є одним з ефективних шляхів підвищення неспецифічної резистентності організму людини.

Останнім часом все більшого розвитку при створенні засобів адаптогенної дії набуває тенденція комбінування фенольних природних сполук та регуляторів енергетичного обміну, зокрема бурштинової кислоти. Саме поєднання

енергізувальних та мембраностабілізувальних властивостей дає змогу всебічно корегувати порушений гомеостаз організму та підвищувати його адаптивні резерви [3, 10].

З огляду на це в ЦНДЛ НФаУ проводиться дослідження механізмів адаптогенної дії комбінованих засобів, розроблених на кафедрі аптечної технології ліків з продуктів бджільництва, що містять фенольні сполуки, та бурштинової кислоти — феполену, фелентару та полентару.

За результатами раніше проведених досліджень встановлено, що одним з важливих механізмів підвищення працездатності як інтегрального показника адаптивності організму є гальмування полентаром активізованих процесів ПОЛ та підвищення антиоксидантного захисту [2].

Враховуючи вищевказане, доцільним було визначення механізмів антирадикальної активності полентару та його складових субстанцій: квіткового пилку (КВ)

**Л.В.Яковлева** — доктор фарм. наук, професор, завідувачка Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

**Ю.В.Нікітченко** — канд. біол. наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії біофізики мембран Науково-дослідного інституту біології Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна

Таблиця 1

**Антирадикальна активність (%) досліджуваних засобів у системі “адреналін-адренохром”**

Концентрація засобів, мкл/мл	Досліджувані засоби			
	полентар	квітковий пилок	бурштинова кислота	екстракт елеутерокока
0,8	7,5±1,7	6,6±2,4	1,6±0,9	5,6±0,8
1,4	27,0±8,0	17,7±5,5	1,7±0,8	2,6±0,2
2,1	+11,0±5,5	+6,1±2,3	12,6±11,5	+19,4±1,8
4,2	+14,7±0,7	+25,2±11,6	5,2±1,9	+39,1±10,5

Примітка. “+” вказує на підвищення утворення адренохрому

та бурштинової кислоти (БК) в порівнянні з класичним адаптогеном — екстрактом елеутерокока.

### Матеріали та методи

Антирадикальну активність (здатність перехоплювати  $O_2^{\cdot-}$ ) досліджуваних засобів визначали за їх здатністю гальмувати реакцію перетворення адреналіну на адренохром (рН=10,2), що відбувається за участю супероксидного радикалу та гальмується супероксиддисмутазою [8]. Реакційне середовище містило 50 мМ натрію карбонату, 0,1 мМ етилендіамінтетрахлорметану (Sigma, США), 0,3 мМ адреналіну (Reanal, Угорщина). Накопичення адренохрому реєстрували при температурі 37°C за допомогою двопробного спектрофотометра Spexord UV VIS (Німеччина). Антирадикальну активність (АРА) досліджуваних засобів визначали у % за формулою:

$$ARA = (E_k - E_d) / E_k \cdot 100,$$

де:  $E_k$  — екстинція контрольної проби;

$E_d$  — екстинція дослідної проби.

Визначення здатності досліджуваних засобів перехвачувати супероксиданіон у ксантиноксидазній системі проводили в середовищі, яке містило 50 мМ калій-, натрійфосфатного буфера (рН=7,8), 50 мМ карбонату натрію (ч.д.а.), 0,1 мМ етилендіамінтетрахлорметану (Sigma, США), 2 мкМ нітротетразолієвого синього (Cetparol, Чехія), 0,1 мМ ксантину (Sigma, США) та 0,002 од/мл ксантинооксидази молока (Serva, Німеччина) [5]. Антирадикальну

активність (АРА) досліджуваних засобів оцінювали за здатністю гальмувати утворення формаза-ну. Екстинцію цього продукту реєстрували при температурі 37°C за допомогою двопробного спектрофотометра Spexord UV VIS (Німеччина). АРА визначали за вищенаведеною формулою.

Здатність досліджуваних засобів гальмувати активність ксантинооксидази визначали за швидкістю накопичення сечової кислоти в середовищі, яке містило 50 мМ калій-, натрійфосфатного буфера (рН=7,4), 1 мМ етилендіамінтетрахлорметану (Sigma, США), 0,1 мМ ксантину (Sigma, США) та 0,002 од/мл ксантинооксидази молока (Serva, Німеччина), з температурою 37°C [3]. Гальмування ксантинооксидази досліджуваними засобами визначали у %.

В дослідах використовували екстракти квіткового пилку та полентару, які екстрагували диметилформамідом у співвідношенні 20 мг:1 мл протягом 7 діб при температурі 22-24°C, розчин бурштинової кислоти (20 мг:1 мл ДМФА), а також аптечний препарат “Екстракт елеутерокока” (розведений у співвідношенні 1:2).

### Результати та їх обговорення

Проведені дослідження здатності досліджуваних засобів перехоплювати супероксидрадикал у модельній системі окиснення адреналіну в адренохром показали, що сукцинат у всіх досліджуваних концентраціях практично не гальмував накопичення адре-

нохрому (табл. 1). Полентар у концентрації 0,8 мкл на 1 мл реакційного середовища гальмував накопичення адренохрому на 7,5%. У концентрації 1,4 мкл/мл досліджуваний засіб пригнічував накопичення адренохрому на 27% (табл. 1). Подальше підвищення концентрації полентару в реакційному середовищі приводило до підвищення швидкості утворення адренохрому. Так, у концентрації препарату 4,2 мкл/мл утворення адренохрому зросло на 14,7% у порівнянні з контролем (табл. 1).

Складовий компонент полентару — квітковий пилок також гальмував накопичення адренохрому в концентраціях 0,8-1,4 мкл/мл, проте дещо менш ефективно, ніж полентар. Збільшення ж утворення адренохрому на тлі квіткового пилку в найвищій концентрації відбувалось інтенсивніше, ніж під впливом полентару.

Менш виразний гальмівний вплив та найбільш виразну активуючу дію в найвищій концентрації спостерігали на тлі препарату порівняння — екстракту елеутерокока. У концентрації 1,4 мкл/л цей засіб зменшував утворення адренохрому тільки на 2,6%, а в концентрації 4,2 мкл/мл збільшував на 39,1% у порівнянні з контролем.

Отже, отримані результати свідчать про те, що полентар, квітковий пилок та екстракт елеутерокока в концентрації 0,8 та 1,4 мкл/мл на відміну від бурштинової кислоти проявили здатність перехоплювати супероксидний радикал. Разом з тим підвищення утворення адренохрому, яке спостерігали, на тлі досить високих концентрацій досліджуваних засобів може свідчити про те, що окремі компоненти полентару, квіткового пилку та елеутерокока самі здатні генерувати супероксидний радикал або підвищувати швидкість окиснення адреналіну завдяки іншим механізмам.

У зв'язку з цим в іншій серії дослідів проведена оцінка ефективності досліджуваних засобів перехоплювати супероксидний радикал у модельній системі “ксантин-ксантинооксидаза”, в якій швид-

Таблиця 2

**Антирадикальна активність (%) досліджуваних засобів у системі “ксантин-ксантиноксидаза-нітротетразолієвий синій”**

Концентрація засобів, мкл/мл	Досліджувані засоби			
	полентар	квітковий пилок	бурштинова кислота	екстракт елеутерокока
0,8	12,6±0,7	16,9±2,5	2,6±0,8	45,0±3,5
1,4	30,7±2,1	36,1±3,5	3,6±1,0	33,1±2,9
2,1	18,2±1,7	20,7±3,0	8,9±2,5	15,3±3,8
4,2	10,9±4,9	9,5±3,6	10,1±2,6	+7,4±0,7

Примітка. “+” вказує на підвищення утворення формазану

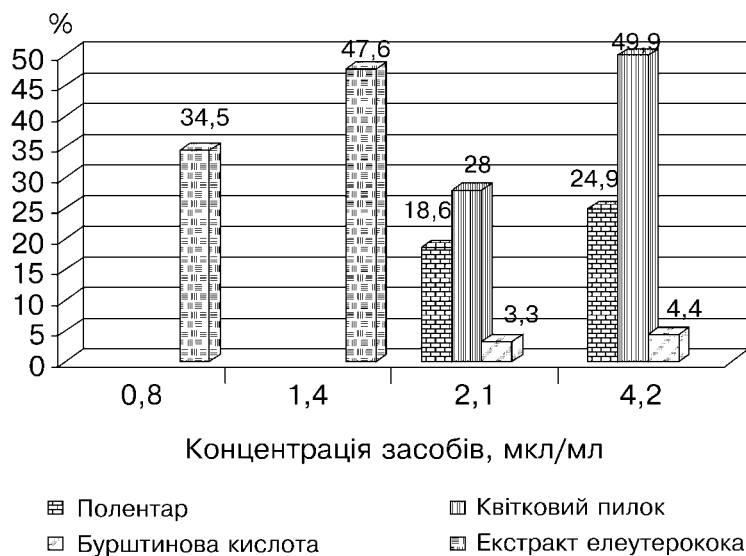


Рис. Антиксантиноксидазна активність (%) досліджуваних засобів

кість генерації супероксидного радикалу реєструвалась за швидкістю відновлення нітротетразолієвого синього до формазану.

Наведені у табл. 2 дані свідчать, що бурштинова кислота у всіх досліджуваних концентраціях практично не проявляла здатності гальмувати утворення супероксидрадикалу. Антирадикальна активність квіткового пилку та полентару підвищувалась з підвищенням концентрації досліджуваних засобів до 1,4 мкл/мл реакційного середовища, а потім значно знижувалась. При цьому слід відмітити, що антирадикальна активність квіткового пилку та полентару у більш низьких досліджуваних концентраціях у реакційному середовищі “ксантин-ксан-

тиноксидаза” була суттєво вищою, ніж у середовищі “адреналін-адренохром” (табл. 1, 2). Екстракт елеутерокока знижував накопичення формазану на 45%, а при концентрації 4,2 мкл/мл вірогідно збільшував його утворення (табл. 2).

Таким чином, отримані результати дозволяють констатувати, що залежність антирадикальної активності квіткового пилку, полентару та екстракту елеутерокока від концентрації в реакційному середовищі “ксантин-ксантиноксидаза” була якісно аналогічна раніше наведеним результатам у модельній системі з адреналіном, проте за абсолютними значеннями вона була суттєво вищою в системі з ксантиноксидазою.

Враховуючи вищенаведене, ми вивчили вплив досліджуваних засобів на активність ксантиноксидази — ферменту, за участю якого утворюються кисневі радикали у тканинах [6].

Результати, проілюстровані на рисунку, свідчать, що бурштинова кислота в концентрації 2,1 та 4,2 мкл/мл не впливала на активність радикалутворючого ферменту. Екстракт елеутерокока вже в концентрації 0,8 мкл/мл пригнічував активність ксантиноксидази на 34,5% (рис.), а в концентрації 1,4 мкл/мл — практично на 50%. Квітковий пилок гальмував активність ферменту на 50% в концентрації 4,2 мкл/мл реакційного середовища. Полентар, що містить як бурштинову кислоту, так і квітковий пилок, проявляв менший гальмівний вплив на ксантиноксидазу. Так, у концентрації 4,2 мкл/мл реакційного середовища цей препарат пригнічував активність ксантиноксидази на 24,9% (рис.).

Враховуючи те, що ксантиноксидаза є одним з провідних розчинних ферментів, які генерують активні форми кисню в тканинах, а також той факт, що при ряді патологій активність цього ферменту підвищується, встановлена здатність досліджуваних засобів гальмувати активність ксантиноксидази може відігравати певну роль у реалізації їх фармакологічної дії.

Таким чином, отримані результати свідчать про здатність полентару гальмувати утворення супероксидного радикалу в модельних системах з адреналіном, з ксантиноксидазою та пригнічувати її активність.

Такі дані поряд з відомостями про антигіпоксичну, актопротекторну, антистресову, церебропротекторну та антиоксидатну активність полентару [2] дозволяють стверджувати, що одним з механізмів реалізації останньої є здатність гальмувати утворення супероксиданіона та активність ксантиноксидази.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Уколова М.А. *Адаптационные реакции и резистентность организма.* — Ростов н/Д., 1979. — 119 с.
2. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В. // *Вісник фармації.* — 2004. — №3. — С. 32-38.
3. *Регуляторы энергетического обмена. Клинико-фармакологические аспекты* / Под ред. В.А.Хазанова. — Томск: Изд-во Том. ун-та, 2003. — 110 с.
4. Федоров В.Н. *Фармакодинамика адаптогенов: экспериментальное и клиническое исследование: Автореф. дис. ... докт. мед. наук.* — М., 1999. — 47 с.
5. Beauchamp C., Fridovich I. // *Anal. Biochem.* — 1971. — Vol. 44, №1. — P. 276-287.
6. Halliwell B. // *Biochem. Pharmacol.* — 1995. — Vol. 49, №10. — P. 1341-1348.
7. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. *Free radicals in biology and medicine.* — 3-rd. ed. — Oxford, 1999. — P. 23.
8. Misra H.P., Fridovich I. // *Biol. Chem.* — 1972. — Vol. 247, №10. — P. 3170-3175.
9. Vladimirov Yu.A. *Free radicals. A practical approach* / Eds. N.A.Punchard, F.G.Kelly. — Oxford, 1996. — P. 65-82.
10. Vladimirov Yu.A. *Natural antioxidant* / Ed. L.Paker. — New York, 1996. — P. 125-241.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,  
вул. Мельникова, 12. Тел. (057) 714-27-15.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.10.2006 р.

### Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду Державного фармакологічного центру МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату “Флемоксин солютаб<sup>®</sup>” (табл. по 500 мг) виробництва “Jatapouchi”, Нідерланди

Хворій К. (60 років) на дисбактеріоз кишечника був призначений препарат “Флемоксин солютаб<sup>®</sup>” (три рази на добу по 500 мг перорально). Через 6 днів після початку прийому препарату у неї розвинувся токсико-алергічний дерматит. Одночасно приймала гастроцепін, гастро-норм, дуспаталін, флуконазол. Препарат був відмінений. Для корекції стану пацієнтки призначено преднізолон, дексаметазон, тавегіл, кальцію глюконат, реосорбілакт. Після проведеної терапії хвора була переведена в алергологічне відділення для продовження лікування.

Алергологічний анамнез не обтяжений.

Інформація надійшла від Львівського регіонального відділення ДФЦ МОЗ України.