

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**УКРАЇНСЬКИЙ  
БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
ЖУРНАЛ**

**УКРАИНСКИЙ  
БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ**

**UKRAINIAN  
BIOPHARMACEUTICAL  
JOURNAL**

Науковий журнал

№6(17) 2011

Виходить 6 разів на рік

Заснований у лютому 2008 р.

УДК 615.015:615.3:615.31

Реєстрація у ВАК України  
(протокол № 1-05/01 від 10.02.2010)

## УКРАЇНСЬКИЙ БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

### НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ

**ЗАСНОВНИКИ:**  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ПП «ФАРМІТЕК»

**ВИДАВЕЦЬ:**  
ПП «ФАРМІТЕК»

Схвалено вченою радою НФаУ  
(протокол від 30.11.2011 р, № 3)

**Головний редактор**  
Малоштан Л.М., д.б.н., професор

#### **Редакційна колегія:**

Бондар В.С., Березнякова А.І., Безуглий П.О., Вороніна Л.М., Галузінська Л.В. (*відповідальний секретар*), Гладченко О.М., Ковальов В.М., Гризодуб О.І., Гриценко І.С. (*науковий консультант*), Дєдх Н.В., Деримедвідь Л.В., Дроговоз С.М., Загайко А.Л. (*заступник головного редактора*), Залюбовська О.І., Зупанець І.А., Кисличенко В.С., Кравченко В.М., Маслова Н.Ф., Риженко І.М., Таран Т.Г., Самура Б.А., Сахарова Т.С., Стрельніков Л.С., Філімонова Н.І., Черних В.П. (*головний науковий консультант*), Хворост О.П., Тихонов О.І., Тихонова С.О., Ярних Т.Г., Рубан О.А., Гладух Є.В., Яковлева Л.В.

#### **Редакційна рада:**

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

Свідоцтво про державну реєстрацію  
КВ №13904-2877Р від 14.04.2008 р.  
Тираж 1500 пр. Зам. № 57

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ ТА ВИДАВЦЯ:  
61166, м. Харків, пр. Леніна, 40, а/с 4163  
Тел./факс. (057)717-89-00

Віддруковано ТОВ «НТМТ»  
АДРЕСА:  
61072, м. Харків, пр. Леніна, 58  
Свідоцтво суб'єкта друкарської справи  
ДК № 1748 від 15.04.04р.

© НФаУ, ПП «Фармітек», 2011  
© «Український біофармацевтичний журнал», 2011  
© «НТМТ», 2011

## *Оглядіві статті*

**Рецензенти рубрики:**

**Сербін А.Г.**

*д. фарм. н., професор*



УДК 615.33:615.32

Н.В. ПОПОВА, С.И. ДИХТЯРЕВ, Н.Ф. МАСЛОВА, В.И. ЛИТВИНЕНКО

*Национальный фармацевтический университет**ГП «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции»***АНТИБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЮТЕОЛИНА**

*Сделан обзор литературы по изучению антибиотического и противопаразитарного действия фенольных соединений растений *Melissa officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Prunella vulgaris*, *Thymus vulgaris*, *Satureja parvifolia*, *Origanum vulgare*, *Esholtzia rugulosa*, *Mentha piperita* и др. Показано, что перспективным биофлавоноидом для лечения ряда заболеваний вирусной и паразитарной природы может стать лютеолин, широко распространенный в растительном мире Украины.*

**Ключевые слова:** противовирусные средства; противопаразитарные средства; биофлавоноиды; лютеолин

**ВСТУПЛЕНИЕ**

Флавоноиды (биофлавоноиды) представляют собой продукты вторичного метаболизма растений полифенольного состава, структуру которых определяют два фенильных остатка (кольца А и В), соединенные пропановым фрагментом с общей формулой  $C_6 - C_3 - C_6$  [6]. Благодаря обширному спектру биологического действия, биофлавоноиды занимают одно из первых мест среди природных соединений в лекарственных препаратах для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы, ЖКТ, печени и др. Многочисленные доклинические и клинические исследования выявили их антиоксидантные, цитопротекторные, гепатозащитные, антигипоксические и многие другие эффекты [4, 7, 9, 10, 14].

Биофлавоноиды, а также представители других подгрупп и классов являются эссенциальными для организма, т.е. требующими постоянного поступления в организм с пищей, в виде лекарственных средств и специальных пищевых добавок (БАД) [11, 51]. Поиск путей расширения круга доступных БАД, способных предупредить и защитить организм человека от заболеваний, считается приоритетной задачей развития практического применения биофлавоноидов в медицине. В связи с этим может представлять интерес анализ информации, имеющейся в специальной научной литературе, о характере и механизме биологического действия флавоноидов, не изменяемых пока в медицине.

© Н.В. Попова, С.И. Дихтярев, Н.Ф. Маслова, В.И. Литвиненко, 2011

**АНАЛИЗ ПОСЛЕДНИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУБЛИКАЦИЙ****Антимикробная активность**

Одна из несомненных функций флавоноидов в растениях — их защитная роль в отношении микробного воздействия [4]. Определяющие антимикробные компоненты флавоноидов были использованы в течение многих лет в традиционной медицине для лечения инфекционных заболеваний [22]. В этом ряду практически неизвестным стоит флавоноид лютеолин (Л.) 3',4',5,7 тетрагидроксифлавоон, который, как известно, улучшает симбиотическое взаимодействие между бактериями *Rhizobium meliloti* и бобовыми растениями с целью формирования азотфиксирующих клубеньков на корнях [2, 4, 6, 9]. Л. и его гликозиды были выделены из растений и применяются в народной медицине в качестве антимикробных средств [12, 13]. В многочисленных статьях сообщалось, что Л., его гликозиды или растения, содержащие Л., имеют антибактериальную [17, 36, 37, 47, 57], противовирусную [18, 33, 34, 59, 62] и противогрибковую активность [22, 24, 46].

**Антивирусная активность**

Антивирусные лекарственные средства, применяемые в настоящее время для лечения инфекций вируса герпеса, включают ацикловир и его производные — ганцикловир, фоскарнет и цидофовир, которые ингибируют полимеразу ДНК вируса герпеса [31, 32, 60, 61]. Эти препараты являются аналогами нуклеозида, которые функционируют как терминаторы цепи ДНК, в итоге предотвращая удлинение вирус-

ной ДНК. Ацикловир широко используется для лечения инфекции вируса герпеса и благодаря избирательному фосфорилированию тимидина HSV-закодированной киназой делает его эффективным антивирусным препаратом [23]. В то же время вышеуказанные препараты имеют ряд побочных эффектов, и налицо проблема появления вирусных штаммов, стойких к обычно используемым антигерпесвирусным лекарственным средствам, особенно у пациентов с иммунодефицитом [12, 15, 44, 56]. В связи с этим имеет место постоянный спрос на создание новых, более эффективных, избирательных антигерпесных средств [7, 10, 30]. Это приводит исследователей к обширному поиску альтернативы антигерпесным препаратам, которые имели бы широкий диапазон действия без серьезных побочных эффектов и в то же самое время эффективных против вирусных штаммов, стойких к текущим антивирусным агентам. Установлены антивирусные эффекты извлечений из *Vitex polygama* и тимьяна с эфирными маслами против ацикловирстойкого вируса HSV-1 [40]. Данный вирус герпеса простого распространен среди детей и взрослых и представляет собой болезнетворный микроорганизм, который вызывает первичные инфекции типа герпеса labialis или первичного герпетического гингивостоматита, при этом около 12% первичных инфекций HSV-1 связаны с признаками повреждений на слизистых рта или кератоконъюнктивитом пациентов при трансплантации органов и реципиентов трансплантата костного мозга [16, 40].

Экстракты из листьев Melissa лимонной *Melissa officinalis* были исследованы в роли действующего комплекса для лечения герпеса простого. Стандартизованное водное извлечение (70:1) или плацебо наносили на пораженную область у 66 пациентов четыре раза ежедневно в течение пяти дней, при этом наблюдалась тенденция в пользу активного лечения (13,3 против 14,9;  $p=0,16$ ) [62].

В другой группе из 116 пациентов с острой вспышкой герпеса простого применяли то же самое извлечение или плацебо, но лечение было начато в течение 72 часов после появления первых признаков и применялось 2–4 раза ежедневно в течение 5–10 дней. Излечение было оценено как «очень хорошее» у 41% пациентов в группе, применяющей Melissa лимонную, и у 19% — в группе плацебо ( $p=0,022$ ) [26, 62]. Известна также высокая антивирусная активность извлечений из Melissa лимонной [19, 41].

Обнаружены антибактериальные эффекты эфирного масла розмарина и спирто-водных извлечений розмарина в отношении инфекции

акне *Propionibacterium*, что обусловлено наличием фенольных соединений растения [39]. Кислота розмариновая, также как и апигенин и лютеолиновые гликозиды, является типичными фенольными соединениями видов Lamiaceae [25, 39].

Растения семейства Lamiaceae широко используются в традиционной и нетрадиционной медицине, особенно в фитотерапии [45,62]. Известно, что эфирное масло розмарина могло быть использовано в стойких к препарату инфекциях [35, 42]. Jassim и Naji опубликовали обзор о новых антивирусных субстанциях, полученных из лекарственных растений [27]. Водные экстракты разнообразных растений Lamiaceae, например, Melissa лекарственной, шалфея и тимьяна обладают антигерпетическими свойствами [41]; подобные эффекты недавно наблюдали с эфирным маслом манука и тимьяна [31, 43]. Терапевтические эффекты экстракта из травы Melissa лимонной [31], розмарина [21] и черноголовки в отношении герпесных инфекций исследованы in vitro и in vivo [17, 58]. В то же время практически отсутствует информация об антивирусном эффекте этанольных извлечений из растений семейства Lamiaceae. Экстракты из лекарственных растений представляют все больший интерес как новые субстанции для антибактериальных и антивирусных препаратов. Этанольные извлечения из растений Lamiaceae, черноголовки, мяты, розмарина и тимьяна были охарактеризованы по качественному и количественному составу. Ингибирующая активность четырех 20% этанольных извлечений из растений и четырех 80% этанольных извлечений в отношении штамма вируса герпеса простого (HSV) была установлена в культуре клеток.

Кислота розмариновая — типичное природное соединение в видах Lamiaceae была идентифицирована в 20% этанольных экстрактов. За исключением тимьяна, 80% экстракт прунеллы показал наибольшее количество розмариновой кислоты (приблизительно 1186 мг/мл). Кроме того, некоторые другие фенольные соединения типа апигениновых и лютеолиновых производных были идентифицированы в различных количествах. Все экстракты показали высокие и зависимые от концентраций уровни антивирусной активности в отношении свободных ацикловир-чувствительных и ацикловир-стойких штаммов HSV-1. Воздействие 80% этанольных экстрактов прунеллы и мяты при максимальных нецитостатических концентрациях, назначенных профилактически до инфекции, уменьшало формирование классической картины заболевания. Таким образом, оба экстракта показали двойной способ действия, по-

добный водным экстрактам Melissa limonifolia. Химический анализ 20% и 80% этанольных экстрактов прунеллы, мяты, розмарина и тимьяна показал множество различных по качественному и количественному составу фенольных соединений. Изученные этанольные экстракты также значительно отличались по содержанию индивидуальных соединений. В связи с тем, что инфективность ацикловир-восприимчивых и ацикловир-стойких штаммов HSV была значительно уменьшена, полученные результаты указывают на то, что этанольные экстракты растений, воздействовавшие на вирус герпеса до и в течение адсорбции, при непосредственном лечении более эффективны, чем ацикловир. Апигенин вместе с лютеолиновыми производными были охарактеризованы как основные соединения в этанольных экстрактах Lamiales. Интересно, что 20% и 80% экстракты мяты показали наибольшее количество апигенина и лютеолиновых гликозидов. При этом важно, что эфирное масло было удалено из 80% этанольных экстрактов. Большинство изученных экстрактов показали высокие уровни антивирусной активности в отношении ацикловир-чувствительных и ацикловир-стойких штаммов HSV-1. Низкий цитостатический эффект и высокий ингибирующий эффект этанольных экстрактов привели к чрезвычайно высоким индексам селективности, например, 7040 для 20% этанольного экстракта мяты. В последние годы были опубликованы несколько статей относительно эффекта водных экстрактов и эфирных масел из различных растений в отношении вирусных инфекций. В этом плане показано, что кислота розмариновая и эфирное масло могли бы быть частично ответственными за антивирусную деятельность изученных экстрактов, что основано на прямом антивирусном воздействии в отношении свободного вириона и блокирования вирусного прилипания [42, 43, 44].

Таким образом, дополнительный механизм антивирусного действия может быть показан для этанольных экстрактов, что приводит к выводу об отрицании ключевой роли эфирного масла в изученных образцах. Подобные результаты достигнуты и в отношении экстракта *Acanthospermum hispidum* [52]. Следовательно, полученное из растения антивирусное средство представляет определенный интерес для развития новых, более эффективных и специфичных антигерпетических средств, при этом активность экстрактов, как предполагают, зависит от состава и количества фенольных соединений в соответствующих растениях [28].

О применении эфирного масла чайного дерева *Melaleuca alternifolia* для лечения текущего герпеса labialis также появились публикации [15].

Liu и др. [34] изучали химический состав и противовирусную активность китайской травы *Elsholtzia rugulosa*, которую использовали для лечения простуды и лихорадки. Было выделено и идентифицировано несколько флавоноидов, в том числе Л. и метиловый эфир лютеолина 3'-глюкуроновой кислоты, и показано, что лютеолин имеет антивирусную активность в отношении гриппа в низкой концентрации ( $IC_{50} = 2.06$  мкг/мл).

#### Противохламидийная активность

*Chlamydia pneumoniae* является общим патогеном человека во всем мире, что приводит к инфекциям верхних и нижних дыхательных путей. Tormakangas и др. [55] проверили эффекты лютеолина на примере острой инфекции *Chlamydia pneumoniae* in vivo в течение 3 дней до и через 10 дней после прививания культуры. Анализ ткани легкого выявил, что Л. подавляет присутствие бактерий в ткани, уменьшает воспаление и препятствует развитию специфических антител *Chlamydia pneumoniae*.

#### Антигрибковая активность

Известно, что наиболее выраженной противогрибковой активностью обладают такие фенольные соединения как: кумарины, флавоноиды, феноловые кислоты, фуранохромы [2, 8]. Высокое содержание различных фенольных соединений наблюдается в зверобое продырявленном, ромашке аптечной, тысячелистнике обыкновенном, хвоще полевом, черноголовке, доннике лекарственном и во многих других растениях [9].

Следует отметить, что сведения об антигрибковой активности фенольных соединений встречаются в литературе уже на протяжении многих лет. Так Георгиевским В. П. и др. в опытах in vitro была изучена противогрибковая активность некоторых индивидуальных флавоноидов, среди которых рутин, гиперозид, кверцетин, кверцетрин, мирисетин, лютеолин и др. Установлено, что все эти вещества задерживают рост *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton mentagrophytes*, а более устойчивыми оказались *Aspergillus niger* и *Candida albicans* [2].

Обнаружена противогрибковая активность метанольного экстракта, некоторых фракций и их смесей из *Piper solmsianum* в отношении 12 болезнетворных грибов. Некоторые из смесей, в частности лютеолин С-гликозид ориентин, показывал явную активность, подобную стан-



дартному противогрибковому лікарському препарату «Кетоконазол» [22].

#### Антилейшманиозна активність

Лейшманиоз представляє собою спектр захворювань, починаючи від доброкачественних шкірних уражень і закінчуючи фатальною внутрішньою (visceralizing) формою. Деякі з флавоноїдів взаємодіють з ДНК топоізомераз, виконуючи роль Ко-фактора. Таким чином, флавоноїди можуть стати потенційними субстанціями для лікарських засобів. Відомо, що флавоноїди Л. і кверцетин є потужними антилейшманиозними агентами, причому перший з них має більші перспективи, діючи як ключовий компонент в хіміотерапії лейшманиозу, інгібуючи ріст промастигот і амастигот *Leishmania donovani* *in vitro*, інгібуючи синтез ДНК в промастиготах, а також содействує активності топоізомераз-II [38]. Л. також показав активність в відношенні декількох видів паразитів, в тому числі *Leishmania donovani* [20, 29, 38, 48, 49, 50, 53] і *Plasmodium jalciparum* [29, 54, 57]. Антилейшманиозна активність Л. спостерігалася в низьких концентраціях ( $IC_{50} = 0,8$  мкг/мл) і сприяла інгібуванню топоізомераз-II [38, 53].

#### Антиенцефалітна активність

До цього часу лікування кліщового енцефаліту (КЕ), як і інших вірусних інфекцій, представляє складну і до кінця нерешену проблему. Низька ефективність і висока токсичність протівірусних препаратів, застосовуваних для лікування кліщового КЕ, не залишають сумніви в актуальності пошуку нових більш ефективних і малотоксичних сполучень, які мають протівірусну активність. Спроби використовувати імуномодулятори для запобігання і лікування вірусних захворювань мають довгу історію, так як постійним супутником цих інфекцій є вторинні імунодефіцити, які потребують адекватної корекції [1,3].

В Тихоокеанському інституті біоорганічної хімії ДВО РАН (Росія) постійно ведеться пошук і розробка технологій препаратів з морських гідробіонтів з широким спектром біологічного дії. В останні роки був виділений комплекс поліфенольних сполучень з морської трави *Zostera asiatica* — «люромарин». Препарат містить розмаринову кислоту і флавоноїди — лютеолін, апігенін і др. [5]. Проведено аналіз протівірусної активності комплекс-

ного препарату з трави зостери в порівнянні з препаратами розмаринової кислоти і Л. в відношенні вірусу КЕ на експериментальних моделях *in vitro* і *in vivo*. З досліджених трьох видів препаратів люромарин містив 90–95% розмаринової кислоти і 5–10% флавоноїдів, комерційні препарати — розмаринову кислоту (РКк) і Л. виробництва фірми «Sigma» (США). В результаті було встановлено, що препарат зостери (РКз) при пероральному застосуванні (найбільш ефективним способом введення препарату) збільшує виживаність тварин і середню тривалість життя (СПЖ). Крім того, препарат зостери в порівнянні з РКк має більш виражені протективні і вірусінгібіруючі дії і не викликає цитодеструкцію культури, що дозволяє передбачити його можливе застосування як ефективного засобу в терапії КЕ.

#### ВИВОДИ

Представлений аналіз показує, що фенольні сполучення рослин, які проявляють антимікробну, протівірусну, антипаразитарну і протівірусну активність, представлені флавоноїдом лютеоліном, супутуючими йому флавоноїдами і гідроксикоричними кислотами, в тому числі, розмариновою кислотою. Ці сполучення широко поширені в висхідних рослинах і особливо серед родів і видів родини губоцвітних *Lamiaceae*, що виростають в Україні. Меліса і розмарин входять в фармакопею багатьох країн світу, крім України. Для включення в фармакопею України ці рослини пропонуються вперше на основі досліджень авторів. Таким чином, лютеолін може стати потенційною природною субстанцією для створення лікарських засобів з широкими антибіотичними властивостями.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ІСТОЧНИКІВ ІНФОРМАЦІЇ

1. Бєсєднова Н. Н. Імунокоректори в комплексному лікуванні вірусних інфекцій / Н. Н. Бєсєднова, Г. Н. Лєонова, Т. С. Запорожець // ЖМЭИ. — 2006. — №3, (прилож.). — С. 111–117.
2. Георгієвський В. П., Коміссаренко Н. Ф., Дмитрук С. Е. Біологічно активні речовини лікарських рослин. — Новосибірськ: Наука, 1990. — 336 с.
3. Ершов Ф. И. Використання імуномодуляторів при вірусних інфекціях / Ф. И. Ершов // Антибіотики і хіміотерапія. — 2003. — №6. — С. 27–33.

4. Запрометов М. Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. — М., 1993. — 119 с.
5. Крылова Н. В. Противовирусная активность комплексного препарата розмариновой кислоты, полученной из *Zostera asiatica*, в отношении возбудителя клещевого энцефалита / [Н. В. Крылова, Г. Н. Леонова, А. М. Потапов и др.] // Тихоокеанский мед. журн. — 2009. — № 3. — С. 86–88.
6. Литвиненко В. И. Природные флавоноиды. — Х., 1995. — 56 с.
7. Литвиненко В. И., Попова Н. В. Сравнительный анализ Melissa лекарственной и котовника кошачьего / Изыскание и создание природных лекарственных средств: [междуз. сб. науч. тр. с международным участием, посвященный 25-летию кафедры фармакогнозии и ботаники]. — Ярославль, 2009. — С. 190–197.
8. Морозова Е. В. Современное состояние исследований противогрибковых парафармацевтических средств на основе фитокомпозиций и возможности использования их в виде спрея / Е. В. Морозова // Актуальные проблемы фармации: [сб. науч. конф.]. — Владикавказ, 2007. — С. 50–53.
9. Попова Н. В., Литвиненко В. И. Лекарственные растения мировой флоры. — Х., — 2008, — 510 с.
10. Попова Н. В., Литвиненко В. И. Поиск растительных источников розмариновой кислоты // 7-й Междунар. симп. по фенольным соедин.: [Фундаментальные и прикладные аспекты]. Матер. симпоз. — М., 2009. — С. 218–220.
11. Тутельян В. А. Флавоноиды: содержание в пищевых продуктах, уровень потребления, биодоступность / В. А. Тутельян, А. К. Батурич, Э. А. Мартинчик // Вопр. питания. — 2004. — Т. 73, № 6. — С. 43–48.
12. Bacon T. H. Herpes simplex virus resistance to acyclovir and pencyclovir after two decades of antiviral therapy / [T. H. Bacon, M. J. Levin, J. J. Leary, R. T. Sarisky et al.] // Clin. Microbiol. Rev. — 2003. — Vol. 16. — P. 114–128.
13. Baidez A. G. Dysfunctionality of the xylem in *Olea europea* L. Plants associated with the infection process by *Verticillium dahliae* Kleb. Role of phenolic compounds in plant defense mechanism / A. G. Baidez, P. Gomez, Del Rio J. A., A. Ortuno // J. Agric. Food Chem. 2007. — Vol. 55. — P. 3373–3377.
14. Bozin B. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils / [B. Bozin, N. Mimica-Dukic, I. Samojlik, E. Jovin] // J. Agric. Food Chem. — 2007. — Vol. 55. — P. 7879–7885.
15. Carson C. F. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil gel (6%) for the treatment of recurrent herpes labialis / [C. F. Carson, L. Ashton, L. Dry, D. W. Smith et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. — 2001. — Vol. 48. — P. 450–451.
16. Chakrabarti S. Resistance to antiviral drugs in herpes simplex virus infections among allogenic stem cell transplant recipients: risk factors and prognostic significance / [S. Chakrabarti, D. Pillay, D. Ratcliffe, P. A. Cane et al.] // J. Infect. Dis. — 2000. — Vol. 181. — P. — 2055–2058.
17. Chiu L. C. A polysaccharide fraction from medicinal herb *Prunella vulgaris* downregulates the expression of herpes simplex virus antigen in Vero cells / L. C. Chiu, W. Zhu, V. E. Ooi // J. Ethnopharmacol. — 2004. — Vol. 93. — P. 63–68.
18. Cushnie T. P. Antimicrobial activity of flavonoids / T. P. Cushnie, A. J. Lamb // Int. J. Antimicrob. Agents. — 2005. — Vol. 26. — P. 343–356.
19. Darouche R. O. Antifungal activity of antimicrobial-impregnated devices / R. O. Darouche, M. D. Mansouri, E. M. Kojic // Clin. Microbiol. Infect. — 2006. — Vol. 12. — P. 397–399.
20. Das B. B. Differential induction of *Leishmania donovani* bi-subunit topoisomerase I-DNA cleavage complex by selected flavones and camptothecin: activity of flavones against camptothecin-resistant topoisomerase I / [B. B. Das, N. Sen, A. Roy, S. B. Dasgupta et al.] // Nucleic Acids Res. — 2006. — Vol. 14. — P. 1121–1132.
21. Debersac P. Effect of a water-soluble extract of rosemary and its purified compound rosmarinic acid on xenobiotic — metabolizing enzymes in rat liver / [P. Debersac, M. F. Verneval, M. J. Amiot et al.] // Food Chem. Toxicol. — 2001. — Vol. 39, № 2. — P. 109–117.
22. De Campos M. P. Evaluation of antifungal activity of *Piper solmsianum* C. DC. var. *solmsianum* (Piperaceae) / [M. P. De Campos, F. V. Cechinel, R. Z. De Silva, R. A. Yunes et al.] // Biol. Pharm. Bull. — 2005. — Vol. 28. — P. 1527–1530.
23. De Clercq E. Antiviral drugs in current clinical use / E. De Clercq // J. Clin. Virol. — 2004. — Vol. 30. — P. 115–133.
24. Fang X. Immune modulatory effects of *Prunella vulgaris* / X. Fang, R. C. Chang, W. H. Yuen, S. Y. Zee // Int. J. Mol. Med. — 2005. — Vol. 15. — P. 491–496.



25. Fu Y. Investigation of antibacterial activity of rosemary essential oil against *Propionibacterium acnes* with atomic force microscopy / [Y. Fu, Y. Zu, L. Chen et al.] // *Planta Med.* — 2007. — Vol. 73. — P. 1275–1280.
26. Gaby A.R. Natural Remedies for *Herpes simplex* / A.R. Gaby // *Alternative Med. Rev.* — 2006. — Vol. 11, № 2. — P. 93–101.
27. Jassim S.A. Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective / S.A. Jassim, M.A. Naji // *J. Appl. Microbiol.* — 2003. — Vol. 95. — P. 412–427.
28. Khan M.T.H. Extracts and molecules from medicinal plants against herpes simplex viruses / M.T.H. Khan, A. Ather, K.D. Thompson, R. Gambari // *Antiviral. Res.* — 2005. — Vol. 67. — P. 107–119.
29. Kirmizibekmez H. Inhibiting activities of the secondary metabolites of *Phlomis brunneogalatea* against parasitic protozoa and plasmoidal enoyl-ACP reductase, a crucial enzyme in fatty acid biosynthesis / [H. Kirmizibekmez, I. Calis, R. Perrozo, R. Brun et al.] // *Planta med.* — 2004. — Vol. 70. — P. 711–717.
30. Kleymann G. New helicaseprimase inhibitors as drug candidates for the treatment of herpes simplex disease / G. Kleymann, R. Fischer, U.A.K. Betz et al. // *Nature Med.* — 2002. — Vol. 8. — P. 392–398.
31. Koch C. Inhibitory effect of essential oils against herpes simplex virus type 2 / C. Koch, J. Reichling, J. Schneelee, P. Schnitzler // *Phytomedicine* 2008. — Vol. 15. — P. 71–78.
32. Leung D.T. Current recommendations for the treatment of genital herpes / D.T. Leung, S. Sacks // *Drugs* 2000 — Vol. 60. — P. 1329–1352.
33. Li Y.L. Antiviral activities of flavonoids and organic acid from *Trollius chinensis* Bunge / [Y.L. Li, S.C. Ma, Y.T. Yang, S.M. Ye et al.] // *J. Ethnopharmacol.* — 2002. — Vol. 79. — P. 365–368.
34. Liu A.L. Anti-influenza virus activities of flavonoids from the medicinal plant *Elsholtzia rugulosab* / [A.L. Liu, B. Liu, H.L. Qin et al.] // *Planta med.* — 2008. — Vol. 74. — P. 847–851.
35. Luqman S. Potential of rosemary oil to be used in drug-resistant infections / [S. Luqman, G.R. Dwivedi, M.P. Darokar, A. Kalra et al.] // *Altern. Ther. Health. Med.* — 2007. — Vol. 13. — P. 54–59.
36. Lu P.C. Synthesis and biological evaluation of novel luteolin derivatives as antibacterial agents / [P.C. Lu, H.Q. Li, J.Y. Xue., L. Shi et al.] // *Eur. J. Med Chem.* — 2009. — Vol. 44, № 2. — P. 908–914.
37. McNally D.J. Complex C-glycosyl flavonoid phytoalexins from *Cucumis sativus* / [D.J. McNally, K.W. Wurms, C. Labbe, S. Quideau et al.] // *J. Nat. Prod.* — 2003. — Vol. 66. — P. 1280–1283.
38. Mittra B. Luteolin, an abundant dietary component is a potent anti-leishmanial agent that acts by inducing topoisomerase II-mediated kinetoplast DNA cleavage leading to apoptosis / B. Mittra, A. Saha, A.R. Chowdhury et al. // *Mol. Med.* — 2000. — Vol. 6. — P. 527–541.
39. Moreno S. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition / S. Moreno, T. Scheyer, C.S. Romano, A.A. Vojnov // *Free Radic. Res.* — 2006. — Vol. 40. — P. 223–231.
40. Morfin F. Genetic characterization of thymidine kinase from acyclovir-resistant and acyclovir-susceptible herpes simplex virus type 1 isolated from bone marrow transplant recipients / F. Morfin, G. Souillet, K. Bilger et al. // *J. Infect. Dis.* — 2000. — Vol. 182. — P. 290–293.
41. Nolkemper S. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro / S. Nolkemper, J. Reichling, F. Stintzing et al. // *Planta Med.* — 2006. — Vol. 72. — P. 1378–1382.
42. Petersen M. Rosmarinic acid / M. Petersen, M.S.J. Simmonds // *Phytochemistry.* — 2003. — Vol. 62. — P. 121–125.
43. Reichling J. Virucidal activity of a -triketone-rich essential oil of *Leptospermum scoparium* (manuka oil) against HSV-1 and HSV-2 in cell culture / [J. Reichling, C. Koch, E. Stahl-Biskup, C. Sojka et al.] // *Planta Med.* — 2005. — Vol. 71. — P. 1123–1127.
44. Reichling J. Impact of Ethanolic Lamiaceae Extracts on Herpes virus Infectivity in Cell Culture / J. Reichling, S. Nolkemper, F.C. Stintzing, P. Schnitzler // *Forsch. Komplementmed.* — 2008. — Vol. 15. — P. 313–320.
45. Saller R. Combined herbal preparation for topical treatment of herpes labialis / R. Saller, S. Buechi, R. Meyrat, C. Schmidhauser // *Forsch. Komplementmed. Klass Naturheilkd.* — 2001. — Vol. 8. — P. 373–382.
46. Sartori M.R. Antifungal activity of fractions and two pure compounds of flowers from *Wedelia paludosa* (*Acmela brasiliensis*) (Asteraceae) / M.R. Sartori, J.B. Pretto, A.B. Cruz et al. // *Pharmazie.* — 2003. — Vol. 58. — P. 567–569.
47. Sato Y. Phytochemical flavones isolated from *Scutellaria barbata* and antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococ-*

- cus aureus / Y. Sato, S. Suzaki, T. Nishikawa et al. // *J. Ethnopharmacol.* — 2000. — Vol. 72. — P. 483–488.
48. Sen N. Leishmania donovani: intracellular ATP level regulates apoptosis-like death in luteolin induced dyskynoplastid cells / [N. Sen, B. B. Das, A. Ganguly, B. Banerjee et al.] // *Exp. Parasitol.* — 2006. — Vol. 114. — P. 204–214.
49. Sen N. Leishmania donovani: dyskynoplastid cells survive and proliferate in the presence of pyruvate and uridine but do not undergo apoptosis after treatment with camptothecin / [N. Sen, B. Banerjee, S. S. Gupta, B. B. Das et al.] // *Exp. Parasitol.* — 2007. — Vol. 115. — P. 215–219.
50. Sengupta T. Characterization of the ATPase activity of topoisomerase II from Leishmania donovani and identification of residues conferring resistance to etoposide / T. Sengupta, M. Mukherjee, A. Das et al. // *Biochem. J.* — 2005. — Vol. 390. — P. 419–426.
51. Schnitzler P. Susceptibility of drug-resistant clinical HSV-1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop and sandalwood / P. Schnitzler, C. Koch, J. Reichling // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2007. — Vol. 51. — P. 1859–1862.
52. Summerfield A. Antiviral activity of an extract from leaves of the tropical plant *Acanthospermum hispidum* / A. Summerfield, G. M. Keil, T. C. Mettenleiter et al. // *Antiviral Res.* — 1997. — Vol. 36. — P. 55–62.
53. Tasdemir D. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues in vitro, in vivo, structure activity relationship, and quantitative structure — activity relationship studies / D. Tasdemir, M. Kaiser, R. Brun et al. // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2006. — Vol. 50. — P. 1352–1364.
54. Tasdemir D. Inhibition of Plasmodium falciparum fatty acid biosynthesis evaluation of FabG, FabZ, and FabI as drug targets for flavonoids / D. Tasdemir, G. M. Lack, R. Brun et al. // *J. Med. Chem.* — 2006. — Vol. 49. — P. 3345–3353.
55. Tormakangas L. In vivo treatment of acute Chlamydia pneumoniae infection with the flavonoids quercetin and luteolin and an alkyl gallate, octyl gallate, in a mouse model / L. Tormakangas, P. Vuorela, E. Saario et al. // *Biochem. Pharmacol.* — 2005. — Vol. 70. — P. 1222–1230.
56. Tshikalange T. E. Antimicrobial activity, toxicity and treat sexually transmitted diseases / T. E. Tshikalange, J. J. Meyer, A. A. Hussein // *J. Ethnopharmacol.* — 2005. — Vol. 96. — P. 515–519.
57. Van Baren C. Triterpenic acids and flavonoids from Satureja parvifolia. Evaluation of their antiprotozoal activity / [C. Van Baren, I. Anao, D. L. Lee, S. Debenedetti et al.] // *Z. Naturforsch. [C].* — 2006. — Vol. 61. — P. 189–192.
58. Xu H. X. Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria / H. X. Xu, S. F. Lee // *Phytother. Res.* — 2001. — Vol. 15. — P. 39–43.
59. Yi L. Small molecules blocking the entry of severe acute respiratory syndrome coronavirus into host cells / [L. Yi, Z. Li, K. Yuan, X. Qu et al.] // *J. Virol.* — 2004. — Vol. 78. — P. 11334–11339.
60. Zhu X. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (Cynara scolymus L.) and their antimicrobial activities / X. Zhu, H. Zhang, R. Lo // *J. Agric. Food Chem.* — 2004. — Vol. 52. — P. 7272–7278.
61. Whitley R. J., Roizman B. Herpes simplex virus infections / R. J. Whitley, B. Roizman // *Lancet.* — 2001. — Vol. 357. — P. 1513–1518.
62. Wolbling R. H. Local therapy of Herpes simplex with dried extract from Melissa officinalis / R. H. Wolbling, K. Leonhardt // *Phyto-medicine.* — 1994. — Vol. 1. — P. 25–31.

## УДК 615.33:615.32

Н. В. Попова, С. І. Діхтярьов, Н. Ф. Маслова, В. І. Литвиненко

### АНТИБІОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛЮТЕОЛІНУ

Зроблений огляд літератури з вивчення антибіотичної та протипаразитарної дії фенольних сполук рослин *Melissa officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Prunella vulgaris*, *Satureja parvifolia*, *Elsholtzia rugulosa*, *Mentha piperita* та ін. Доведено, що перспективним біофлавоноїдом для лікування ряду захворювань вірусного та паразитарного походження може стати лютеолін, широко розповсюджений у рослинному світі України.

**Ключові слова:** противірусні лікарські засоби; протипаразитарні лікарські засоби; біофлавоноїди; лютеолін

## UDC 615.33:615.32

N. V. Popova, S. I. Dikhtyaryov, N. F. Maslova, V. I. Litvinenko

### ANTIBIOTIC PROPERTIES OF LYUTEOLIN

The analysis of literature is resulted on the study of antibiotic and antiparasitics action of phenolic compound of plants of *Melissa officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Origanum vulgar*, *Mentha piperita*, *Prunella vulgaris*, *Thymus vulgaris*, *Satureja parvifolia*, *Elsholtzia rugulosa* etc: it has been shown that for treatment of row of diseases of viral and parasitogenic nature can be perspective bioflavonoid used lyuteolin, widely widespread in the vegetable world of Ukraine.

**Key words:** antiviral drugs; antiparasitics drugs; bioflavonoids; lyuteolin

Адреса для листування:  
61013, м. Харків, вул. Шевченка 22.  
Кафедра промислової фармації  
та економіки ІПКСФ НФаУ  
Тел. (057) 757-55-49

Надійшла до редакції:  
16.11.2011 р.



# *Біохімія*

**Рецензенти рубрики:**

**Набока О.І.**

*д. біол. н., професор*



УДК 577.126:57.042

А.Л. ЗАГАЙКО, О.А. КРАСИЛЬНИКОВА, Г.Б. КРАВЧЕНКО,  
Л.В. ГАЛУЗІНСЬКА, Ю.І. КОЧУБЕЙ*Національний фармацевтичний університет*

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОДУКТІВ З ПОЛІФЕНОЛАМИ ВИНОГРАДУ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОГО СТРЕСУ

*Стрес є причиною виникнення низки внутрішніх захворювань, тому важливою задачею є вивчення стрес-протекторної активності біогенних речовин з антиоксидантними властивостями. Вивчали спектр ліпідів, вміст і оксидантний статус ліпопротеїнів і вміст антиоксидантів у крові і печінці при емоційно-больовому стресі у щурів, а також вплив попереднього введення слабоалкогольних напоїв з винограду червоних і білих сортів на ці показники, мали виражену стрес-протекторну, гепатопротекторну, антиатерогенну, а також виражену антиоксидантну активність. Найбільшу активність виявив продукт з винограду червоних сортів, який запобігав гіперліпідемії і ліполізу.*

*Ключові слова:* антиоксиданти; поліфеноли; емоційно-больовий стрес; ліпопротеїни

### ВСТУП

Результати численних досліджень свідчать про те, що стрес за деяких умов є причиною виникнення низки внутрішніх захворювань [1, 5, 11]. Важливе значення в їх лікуванні та профілактиці відводиться антистресовій терапії, перспективним напрямком якої є використання антиоксидантів [7, 15]. У відповідь на окисний стрес формується ряд захисних реакцій, спрямованих на гальмування вільнорадикального окиснення та підтримку функціональної активності клітини. Атеросклероз — поширене захворювання: близько половини всіх людей, які живуть у цивілізованих країнах, помирає від ускладнень атеросклеротичного процесу в судинах різних органів. Оксидативні модифікації ліпопротеїнів (ЛП), зокрема, ліпопротеїнів низької густини (ЛПНГ) є важливими елементами атерогенезу. Чутливість ЛП до оксидативного стресу визначається балансом між вмістом у них поліненасичених жирних кислот (ЖК) і антиоксидантів [1,15]. Гіперліпідемія знижує терапевтичний ефект антиоксидантів. Окиснені ЛПНГ мають виражені аутоімунні властивості, завдяки чому можуть відкладатися в стінках судин у вигляді великих комплексів з імуноглобулінами. Виявлено, що ЛПНГ, виділені з крові хворих на атеросклероз, збільшують індуковану кола-

геном агрегацію тромбоцитів більшою мірою, ніж ЛПНГ із плазми крові здорових донорів [5]. У зв'язку з викладеним вище зрозуміло, що дуже важливою проблемою є вивчення впливу різних субстанцій, які можуть мати антиоксидантні і імуномодулюючі властивості, на розвиток стрес-реакції. На жаль, більшість синтезованих речовин є ксенобіотиками, тому самі вони можуть активувати процеси утворення вільних радикалів. Тому привертають увагу, перш за все, субстанції природного, зокрема, рослинного походження.

Багатим джерелом природних біологічно активних речовин, у тому числі антиоксидантів є кримський виноград і продукти його переробки. Тому їх вивчення і цілеспрямоване використання може бути перспективним. Враховуючи вищевикладене, ми вивчили спектр ліпідів, вміст і оксидантний статус ліпопротеїнів і вміст антиоксидантів у крові і печінці при емоційно-больовому стресі у щурів, а також вплив попереднього введення слабоалкогольних напоїв з винограду червоних і білих сортів на ці показники.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У роботі використовували безпородних щурів-самців масою 180–220 г. Тварин утримували на збалансованому раціоні віварію. Тваринам протягом 21 доби щоденно перорально вводили слабоалкогольні напої з винограду червоних і бі-

© А.Л. Загайко, О.А. Красильнікова, Г.Б. Кравченко,  
Л.В. Галузінська, Ю.І. Кочубей, 2011



лих сортів в активно діючих дозах (9 мг поліфенолов/100 г маси тіла). Враховуючи той факт, що досліджувані напої мають досить низький вміст поліфенолів, введення активної дози проводилося 3 рази на день по 2 мл рідини на 100 г маси тіла тварини. Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм фізіологічного розчину. Іншій контрольній групі тварин вводили розчин етилового спирту у відповідній дозі.

Стрес викликали іммобілізацією на череві протягом 3 годин [11]. Тварин декапітували через 3 години після іммобілізації. Кров збирали для отримання сироватки. Печінку перфузували холодним розчином 0,25 М сахарози в 0,025 М трис-НСІ (рН 7,5), гомогенізували в цьому ж розчині з розрахунку 1 г печінки в 2 мл. Всі маніпуляції з тваринами проводили під хлоралозоуретановим наркозом [10]. Вміст загальних ЛП і Апо-В-ЛП у сироватці крові та цитозолі печінки визначали турбидиметричним методом [4]. Вміст триацилгліцеролів (ТГ) визначали за реакцією з хлоридним фенолгідразинном [2]. Вміст вільних жирних кислот (ВЖК) визначали за реакцією їх купрумних солей з діетилдитіокарбаматом [2]. Вміст холестеролу (ЗХС) визначали за реакцією з феруму хлоридом [2]. У деяких випадках концентрацію загального холестеролу визначали за допомогою стандартних ферментативних холестеролоксидазних наборів фірми «Boehringer Mannheim Gmb diagnostica» (Німеччина). Концентрацію загальних ліпідів (ЗЛ) визначали за допомогою стандартного набору Eagle Diagnostics (США) — реакція з ваніліновим реактивом. Визначення кількості продуктів переокиснення ліпідів проводили в гептан-ізопропанольних екстрактах. Вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 220 нм (для сполук з ізольованими подвійними зв'язками — ІПЗ),

232 нм (для дієнових кон'югатів — ДК) і 278 нм — для кетодієнів і сполучених триєнів (КД + СТ) [3, 9]. Вміст ТБК-реактантних продуктів (МДА) визначали спектрофотометрично за допомогою реакції з тіобарбітуровою кислотою [12]. Визначення кількості  $\alpha$ -токоферолу ( $\alpha$ -Т) проводилося по кольоровій реакції з солями двовалентного Феруму [6]. Визначення кількості аскорбінової кислоти (АК) проводили титриметричним методом по реакції з реактивом Тільманса [8]. Активність каталази визначали за інтенсивністю розкладання гідрогену пероксиду [1], вміст відновленого глутатіону (GSH) — в реакції з алоксаном [16]. Активність параоксонази (PON) визначали по поглинанню світла утвореним 2,4-динітрофенолом. Вміст білка в пробах визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [8]. Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію Манна-Уїтні та варіаційної статистики (ANOVA).

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як видно з отриманих нами даних, у гомогенаті печінки стресованих тварин знижується вміст ЗЛ (табл. 1). При цьому відбувається активація ліполізу (підвищується активність лізосомальних ліпаз (ЛЛ), що підтверджується зниженням вмісту ТГ і підвищенням ВЖК у гомогенаті печінки (табл. 1). Підвищення рівня вільних жирних кислот як у клітинах печінки, так і в крові експериментальних тварин (табл. 1, 2) в умовах стресу може стимулювати синтез фібриногену в печінці, збільшення в'язкості крові, інтенсивності агрегації еритроцитів і, як наслідок, призводить до порушення мікроциркуляції крові — важливого чинника розвитку атеросклерозу та до інших патологічних станів [16]. Значне підвищення рівня ВЖК у крові тварин може при-

Таблиця 1

#### ВПЛИВ СЛАБОАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ З ВИНОГРАДУ ЧЕРВОНИХ І БІЛИХ СОРТІВ НА МЕТАБОЛІЗМ ЛІПІДІВ У ГОМОГЕНАТІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОМУ СТРЕСІ, $M \pm m$ , $n = 6$

Група	ЗЛ, мг/г	ТГ, мг/г	ВЖК, ммоль/г	АпоВ-ЛП, мг/г	ЛЛ, нмоль/хв×мг, б
Інтакт	171,71±2,88	6,13±0,17	3,65±0,19	5,62±0,18	0,55±0,05
Стрес	135,83±3,40*	3,51±0,13*	5,86±0,12*	3,18±0,1*	0,85±0,04*
Стрес+Спирт	220,69±4,91**	5,80±0,17**	4,42±0,15**	3,86±0,09**	0,56±0,03**
Стрес+ Нап.сл. Черв.	145,88±1,35**	5,04±0,16**	4,84±0,04**	4,12±0,07**	0,66±0,03**
Стрес+ Нап.сл. Білий	139,52±3,51**	4,46±0,04**	5,30±0,08**	3,69±0,04**	0,77±0,02*
Нап.сл. Черв.	164,36±1,86	5,97±0,17	2,95±0,09*	4,93±0,18*	0,55±0,02*
Нап.сл. Білий	162,18±2,83*	6,79±0,1	3,60±0,06	5,98±0,08	0,57±0,02*
Спирт	229,76±3,39*	7,40±0,13*	4,57±0,13*	6,11±0,07*	0,38±0,02*

\* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до інтакту);

\*\* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до стресу).

**ВПЛИВ СЛАБОАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ З ВИНОГРАДУ ЧЕРВОНИХ І БІЛИХ СОРТІВ НА МЕТАБОЛІЗМ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОМУ СТРЕСІ,  $M \pm m, n = 6$**

Група	ЗЛ, мг/мл	ТГ, мг/мл	ВЖК, ммоль/л	ЛПВГ, мг/мл	АпоВ-ЛП, мг/мл	ЗХС, мг/мл
Інтакт	3,82±0,11	0,51±0,02	1,30±0,04	0,89±0,03	1,19±0,04	65,67±3,33
Стрес	5,41±0,16*	0,76±0,02*	1,70±0,04*	0,90±0,02	3,06±0,07*	81,83±1,00*
Стрес+Спирт	5,06±0,25*	0,89±0,02**	1,98±0,03**	0,96±0,06	2,47±0,07**	68,73±1,88**
Стрес+ Нап.сл. Черв.	3,42±0,09*	0,62±0,038**	1,55±0,04**	0,89±0,02	2,08±0,03**	74,69±1,70**
Стрес+ Нап.сл. Білий	6,02±0,09*	0,75±0,02*	1,60±0,02**	0,82±0,02**	2,57±0,01**	77,86±0,44**
Нап.сл. Черв.	3,72±0,09	0,58±0,01*	1,34±0,02*	1,14±0,02*	1,11±0,02	60,78±1,64
Нап.сл. Білий	3,76±0,03	0,56±0,01*	1,38±0,02*	1,11±0,02*	1,14±0,01	67,21±0,818
Спирт	4,05±0,09	0,74±0,03*	1,65±0,02*	1,24±0,06*	1,32±0,02*	55,80±1,46*

\* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до інтакту);  
 \* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до стресу).

Таблиця 3

**ВПЛИВ СЛАБОАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ З ВИНОГРАДУ ЧЕРВОНИХ І БІЛИХ СОРТІВ НА ОКСИДАНТНИЙ СТАТУС У ГОМОГЕНАТІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОМУ СТРЕСІ,  $M \pm m, n = 6$**

Група	GSH, мкмоль/г	$\alpha$ -Т, нмоль/г	АК, мкмоль/г	Каталаза, мкмоль/хв×мг.б	ТБК-АП, нмоль/мг.б	ДК, нмоль/г	ПЗ, $\Delta E/g$
Інтакт	4,22±0,16	30,65±1,23	1,70±0,06	52,93±2,91	0,47±0,07	12,24±0,60	38,74±1,82
Стрес	2,91±0,07*	12,90±0,69*	0,70±0,03*	81,68±2,49*	0,59±0,03	18,15±0,25*	14,78±2,22*
Стрес+Спирт	4,28±0,13**	7,97±0,42**	0,98±0,07**	62,51±4,62**	0,54±0,06	12,99±0,40**	16,98±0,66
Стрес+ Нап.сл. Черв.	3,57±0,08**	18,46±0,75**	0,91±0,03**	69,86±1,01**	0,50±0,01**	15,36±0,40**	18,40±1,34**
Стрес+ Нап.сл. Білий	3,70±0,04**	15,16±0,64*	0,83±0,02**	73,72±0,88**	0,54±0,02	17,14±0,42**	16,63±1,88**
Нап.сл. Черв.	4,56±0,24	25,48±0,78*	1,57±0,03	52,11±1,65	0,43±0,01*	9,27±0,24*	24,40±2,92**
Нап.сл. Білий	5,02±0,10*	27,19±0,95	1,34±0,11*	42,39±0,56*	0,40±0,02	12,17±0,61	26,67±1,62**
Спирт	5,31±0,35*	24,16±1,40*	2,06±0,03*	41,28±1,05*	0,46±0,02	12,62±0,60	18,82±1,90**

\* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до інтакту);  
 \* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до стресу).

зводити до зниження чутливості клітин до інсуліну та розвитку інсулінорезистентності [14]. Накопичення ВЖК в клітинах печінки може бути причиною їх загибелі шляхом ліпоаптозу [13]. Перемикання метаболізму з вуглеводного типу на жировий при стресі забезпечується викидом печінкою ЛП дуже низької густини, що підтверджується зниженням в гомогенаті печінки рівня Апо-В-ЛП (табл. 1) і збільшенням їх вмісту в сироватці крові (табл. 2). Відсутність змін у вмісті ліпопротеїнів високої густини (ЛПВГ) на тлі зростання рівня Апо-В-ЛП (табл. 2) можна розглядати як показник атерогенезу.

В гомогенаті печінки відзначено зниження вмісту ізольованих подвійних зв'язків та  $\alpha$ -ТК, збільшення вмісту продуктів ПОЛ — ДК і ТБК-активних продуктів (табл. 3). Активність ката-

лази при цьому також збільшується, що свідчить про напругу ферментативної ланки антиоксидантної системи в умовах емоційно-больового стресу. У сироватці крові вміст антиоксидантів  $\alpha$ -Т і АК також знижується (табл. 4). Емоційно-больовий стрес супроводжується окисненням Апо-В-ЛП: у них знижується вміст ізольованих подвійних зв'язків і зростає продуктів ПОЛ (табл. 4). При цьому активність найважливішого антиоксидантного ферменту плазми крові параоксонази знижується. Оскільки параоксоназа асоційована з ЛПВГ, відмічені нами зміни її активності підтверджують більшу схильність стресованих тварин до перекисно-індукованих розладів у роботі серцево-судинної системи.

У групі тварин, які отримували етиловий спирт, розвиток емоційно-больового стресу від-

**ВПЛИВ СЛАБОАЛКОГОЛЬНИХ НАПОЇВ З ВИНОГРАДУ ЧЕРВОНИХ І БІЛИХ СОРТІВ НА ОКСИДАНТНИЙ СТАТУС СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОМУ СТРЕСІ,  $M \pm m$ ,  $n = 6$**

Група	ПОН, нмоль/ мл×хв	АК, мкмоль/л	$\alpha$ -Т, нмоль/мл	В апоВ-ЛП		
				ПЗ	ДК	КД+СТ, ΔЕ/мл
Інтакт	231±4	65,81±2,00	9,37±0,31	4,89±0,13	17,45±0,28	1,93±0,23
Стрес	153±4*	32,94±1,60*	7,19±0,11*	1,91±0,10*	31,86±0,68*	2,77±0,33*
Стрес+Спирт	180±5**	30,77±1,26*	6,23±0,24**	2,07±0,07*	23,56±0,83**	3,01±0,50
Стрес+ Нап.сл. Черв.	169±2**	44,30±0,97**	8,42±0,16**	3,67±0,03**	26,50±0,35**	2,31±0,14
Стрес+ Нап.сл. Білий	160±2*	38,09±0,81**	7,89±0,17**	3,23±0,03**	29,33±0,59*	2,20±0,11**
Нап.сл. Черв.	223±6	75,95±0,74*	9,03±1,72	5,43±0,12*	25,67±0,15*	2,29±0,16
Нап.сл. Білий	215±3*	74,79±0,34*	9,52±0,24*	5,55±0,15*	25,81±0,15*	2,22±0,11
Спирт	236±3	79,49±2,18*	10,22±0,36	5,75±0,17*	17,82±0,24	2,48±0,85

\* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до інтакту);

\*\* — зміни вірогідні ( $p \leq 0,05$  по відношенню до стресу).

різнявся деякими особливостями. Зниження вмісту  $\alpha$ -Т і відновленого глутатіону в печінці при стресі у тварин, які отримували спирт, було менш істотним, ніж у контрольних, а накопичення продуктів ПОЛ у них відбувалося в меншій мірі (табл. 3). Разом з тим у гомогенаті печінки тварин цієї групи вміст ЗЛ, ТГ і ВЖК був вищим, ніж у контрольних і стресованих тварин (табл. 1). Стресорна гіперліпідемія у тварин, які отримували спирт, також була більш виражена, ніж у контрольних (табл. 1). Таким чином, введення тваринам етилового спирту збільшує їх толерантність до стресу, проте є несприятливим чинником, який може призвести до розвитку стеатогенних патологій.

Профілактичне введення тваринам слабоалкогольних напоїв з винограду червоних і білих сортів в цілому запобігало активації процесів ПОЛ у крові та печінці щурів при стресі (табл. 3, 4). Блокування вільнорадикальних процесів при введенні поліфенольних комплексів може бути пов'язане з їх здатністю збільшувати рівень антиоксидантів  $\alpha$ -Т, АК та відновленого глутатіону в печінці щурів у порівнянні з групою стресованих тварин (табл. 3). Рівень відновленого глутатіону і АК в органі при стресі на тлі введення поліфенольних концентратів змінювався в меншій мірі, ніж  $\alpha$ -Т, що свідчить про більшу активність цих поліфенольних комплексів саме в гідрофільній фазі. При цьому найбільшу активність проявив слабоалкогольний напій з червоних сортів винограду, стрес-протекторна активність якого майже в 2,4 рази перевищувала стрес-протекторну активність етилового спирту в досліджуваній дозі. Цей продукт запобігав

активації вільнорадикального окиснення як у крові (підвищував рівень сполук з ізольованими подвійними зв'язками в атерогенних Апо-В-ЛП, знижував вміст продуктів переокиснення ДК у порівнянні зі стресованими та інтактними тваринами), так і в печінці (запобігав падінню вмісту антиоксидантів, зокрема, повертав практично до рівня інтакту вміст  $\alpha$ -Т і АК, знижував рівень ДК). Даний продукт також попереджував гіперліпідемію і зрушення метаболізму в бік ліполізу. Вміст ТГ у печінці при цьому був на рівні інтакту, що також є проявом захисної дії цього виноматеріалу. Суттєвим є також і послаблення під дією цього продукту ліпогенезу в печінці, що знижує вірогідність розвитку стеатозу. Продукт також нормалізував вміст ХС в сироватці крові, знижував вміст атерогенних Апо-В-ЛП як в порівнянні зі стресованими, так і у порівнянні з інтактними тваринами. При введенні слабоалкогольного напою з винограду червоних сортів відбувалося підвищення вмісту відновленого глутатіону в печінці щурів (табл. 3).

**ВИСНОВКИ**

1. Емоційно-больовий стрес призводить до активації вільнорадикального окиснення, оксидативного модифікування ліпопротеїнів крові, гіперліпідемії, атерогенних змін у ліпідному і ліпопротеїдному спектрі.
2. Введення тваринам етилового спирту збільшує їх толерантність до стресу, але має негативні наслідки.
3. Досліджені слабоалкогольні напої з винограду червоних і білих сортів мали виражену стреспротекторну, гепатопротекторну, анти-

атерогенну, а також виражену антиоксидантну активність.

4. Найбільшу активність виявив продукт з винограду червоних сортів, який запобігав гіперліпідемії, попереджував ліполіз, нормалізував вміст ХС у сироватці.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Барабой В. А., Сутковой Д. А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии / Под ред. акад. Ю. А. Зозули. В 2-х ч. — К.: «Чернобыльинтеринформ», 1997. — 420 с.
2. Биологические мембраны: [методы] / У. Г. Эванз, Д. Д. Морре. — М.: Мир, 1990. — 424 с.
3. Волчегорский И. Ф. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И. Ф. Волчегорский, А. Г. Налимов, Б. Г. Яровинский, Р. И. Лифшиц // Вопр. мед. химии. — 1989. — № 1. — С. 127–131.
4. Калиман П. А. Содержание и состав липопротеинов крови и печени крыс и некоторые показатели окислительного стресса при введении хлорида кобальта / П. А. Калиман, Р. В. Шаламов, А. Л. Загайко и др. // Укр. биохим. журн. — 1997. — Т. 69, № 5–6. — С. 138–148.
5. Климов А. М., Никульчева Н. Г. Липиды, липопротеины, атеросклероз. — С.Пб.: Питер Пресс, 1995. — 304 с.
6. Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.
7. Орлова Е. Г. Модуляция функциональной экспрессии адренорецепторов фагоцитирующих клеток при остром стрессе и введении гидрокортизона / Е. Г. Орлова, Д. В. Ланин, Ю. И. Шилов // Мед. иммунол. — 2003. — Т. 5, № 3–4. — С. 209–210.
8. Практикум по биохимии / А. В. Чечоткин, В. И. Воронянский. — М.: Высш. шк., 1980. — 303 с.
9. Романова Л. А., Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича — М.: Медицина, 1977. — С. 64–66
10. Сидоряк Н. Г. Изменения транспорта кислорода в организме при гемической гипоксии: автореф. дис. ... канд. биол. наук. — К., 1985. — 20 с.
11. Соколова Е. Д., Березин Ф. Б., Барлас Т. В. Эмоциональный стресс: психологические механизмы, проявление, терапия // *Materia Medica*. — 1996. — Т. 9, № 1. — С. 5–56.
12. Строев Е. А., Макарова В. Г. Практикум по биологической химии. — М.: Высш. шк., 1986. — 231 с.
13. Cazanave S. C. Mechanisms and clinical implications of hepatocyte lipoapoptosis / S. C. Cazanave, G. J. Gores // *Clin. Lipidol.* — 2010. — Vol. 5, № 1. — P. 71–85.
14. Nakamura S. Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria / S. Nakamura, T. Takamura, N. Matsuzawa-Nagata [et al.] // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284, № 22. — P. 14809–14818.
15. Neuzil J. Radical-induced lipoprotein and plasma lipid oxidation in normal and apolipoprotein E gene knockout (apoE<sup>-/-</sup>) mice: apoE<sup>-/-</sup> mouse as a model for testing the role of tocopherol-mediated peroxidation in atherogenesis / J. Neuzil, J. K. Christison, E. Iheanacho [et al.] // *J. of Lipid Res.* — 1998. — Vol. 3. — P. 354–368.
16. Pickart L. R. Fatty acids, fibrinogen and blood flow: a general mechanism for hyperfibrinogenemia and its pathologic consequences / L. R. Pickart, M. M. Thaler / *Med. Hypotheses*. — 1980. — Vol. 6, № 5. — P. 545–557.

**УДК 577.126:57.042**

**А. Л. Загайко, О. А. Красильникова, А. Б. Кравченко, Л. В. Галузинская, Ю. И. Кочубей**

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОДУКТОВ С ПОЛИФЕНОЛАМИ  
ВИНОГРАДА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭМОЦИОНАЛЬНО-БОЛЕВОГО СТРЕССА**

Стресс является причиной возникновения ряда внутренних заболеваний, поэтому важной задачей является изучение стресс-протекторной активности веществ с антиоксидантными свойствами. Изучали спектр липидов, содержание и оксидантный статус липопротеинов и содержание антиоксидантов в крови и печени при эмоционально-болевым стрессе у крыс, а также влияние предварительного введения слабоалкогольных напитков из винограда красных и белых сортов на эти показатели. Исследованные слабоалкогольные напитки из винограда красных и белых сортов имели выраженную стресс-протекторную, гепатопротекторную, антиатерогенную, а также выраженную антиоксидантную активность. Наибольшую активность проявил продукт из винограда красных сортов, который предотвращал гиперлипидемию и предупреждал липолиз.  
**Ключевые слова:** антиоксиданты; полифенолы; эмоционально-болевого стресс; липопротеины

**UDC 577.126:57.042**

**A. L. Zagayko, O. A. Krasilnikova, A. B. Kravchenko, L. V. Galuzinskaya, Yu. I. Kochubei**

**INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF PRODUCTS WITH GRAPE  
POLYPHENOLS UNDER EMOTIONAL-PAIN STRESS MODELING**

Stress is the cause of a number of internal diseases, and therefore an important task is to study the stress-protector activity of substances with antioxidant properties. We studied the spectrum of lipid, oxidative status of lipoproteins and antioxidants in the blood and liver in the emotional-pain stress in rats and the effect of prior administration of low-alcohol beverages from the grapes of red and white varieties of these figures. Studied alcoholic beverages from the grapes of red and white varieties have expressed stress protective, hepatoprotective, antiatherogenic and antioxidant activity. The product of red grapes was most active, it prevented hyperlipidemia and warned lipolysis.

**Key words:** antioxidants; polyphenols; emotional-painful stress; lipoproteins

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Кафедра біохімії НФаУ  
Тел. (057) 706-30-99

Надійшла до редакції:  
16.11.2011 р.





# Фармакологія

## Рецензенти рубрики:

**Кравченко В.М.**

*д. біол. н., професор*

**Кононенко Н.М.**

*д. мед. н., професор*

**Загайко А.Л.**

*д. біол. н., професор*

**Риженко І.М.**

*д. мед. н., професор*



УДК 615.076.9:57.017.73:633.31

Р. Ф. ЄРЬОМЕНКО

*Національний фармацевтичний університет*

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ НА СТАН МЕМБРАННИХ БІЛКІВ ТА МЕМБРАН В УМОВАХ ГЕМОЛІЗУ ЕРИТРОЦИТІВ

*Наведені результати дослідження впливу екстракту з трави люцерни посівної (ЕТЛП) та препарату порівняння калію оротату на стан мембранних білків та мембран в умовах спонтанного гемолізу еритроцитів щурів за Jager F.C. та за активністю ферментів цитолізу. Встановлено, що превентивне введення ЕТЛП у дозах 25,50 і 100 мг/кг та калію оротату в дозі 180 мг/кг привело до покращення стану мембранних білків внаслідок нормалізації білкового обміну, стабілізації мембран еритроцитів, до достовірного зниження інтенсивності гемолізу та активності ферментів цитолізу АЛАТ та АсАТ у сироватці крові в порівнянні з тваринами ІК, що свідчить про їх значущу мембраностабілізуючу та цитопротекторну дію. ЕТЛП у дозі 25 мг/кг є потенційним коректором білкового обміну і краще в 1,4 рази за калію оротат здатен перешкоджати руйнуванню мембранних білків під час пошкодження мембран еритроцитів в умовах їх гемолізу та проявляє виражену мембраностабілізуючу і цитопротекторну дію.*

*Ключові слова:* мембранні білки; еритроцити; екстракт люцерни; калію оротат; щури

### ВСТУП

Відомо, що всі білки знаходяться в стані безперервного активного метаболізму — розпаду (катаболізму) та синтезу (анаболізму). Обміном білка забезпечується весь пластичний бік життєдіяльності організму, так як білки є безпосередньою складовою біологічних мембран, які представляють собою текучий фосfolіпідний бішар, в який занурені білки.

Складна динамічна структура біомембран, для якої характерні викривлення, фазові переходи, варіації товщини, утворення небезшарових структур, визначається специфічною взаємодією мембранних білків з ліпідами [1]. Така взаємодія забезпечує ефективне виконання біомембранами різноманітних функцій під час метаболізму.

Біомембрани надзвичайно різноманітні та здатні не тільки відділяти вміст клітини від зовнішнього середовища та забезпечувати розділ внутрішнього об'єму клітини, але й брати участь у регуляції множини процесів. Наприклад, плазматичні мембрани забезпечують дифузійний бар'єр, активний транспорт, електричну збудливість, міжклітинну комунікацію, гормональну та імунну відповідь тощо [1].

Унікальність функції кожної мембрани визначається властивостями різноманітних мембранних білків, що входять до її складу: інте-

гральних, що пронизують мембрану наскрізь, напівінтегральних, занурених одним кінцем у зовнішній або внутрішній ліпідний шар, поверхневих, що розташовані на зовнішній або прилеглий до внутрішнього боку мембрані. Деякі з інтегральних білків виконують функцію іонних каналів, різноманітних транспортерів та рецепторів. Так, заключений в еритроцити білок гемоглобін переносить кисень від легень до органів і тканин, де гемоглобін поглинає утворений вуглекислий газ та переносить його з кров'ю до легень, де він виводиться під час дихання.

Середній вміст білків у мембрані складає приблизно 60% (за масою сухої речовини), зокрема в мієліні міститься 20%, у мітохондріях — 80%, в еритроцитах — 60% білка. Зміна здатності білків до зв'язування з мембраною, наприклад, при злущуванні мембранних білків з плазматичної мембрани або при порушенні цілісності мембрани під впливом тих чи інших чинників, або при гіпопротеїнемії внаслідок порушення синтезу чи стимуляції розпаду білка, може призвести до втрати функціональної активності білків, мембрани, клітини, тканини, органу та організму в цілому, тобто до розвитку патологічного стану. Зокрема, під час гемолізу еритроцитів відбувається розрив біомембрани еритроциту та вихід білка гемоглобіну до плазми, що викликає анемію, гемоглобінурію та гіпопротеїнемію.

© Р. Ф. Єрьоменко, 2011

Отже, в комплексному лікуванні таких станів необхідно використовувати лікарські засоби-коректори білкового обміну, які б шляхом активації синтезу білка відновлювали білковий баланс в організмі, в тому числі і вміст мембранних білків та їх пластичну функцію. Таким лікарським засобом може бути екстракт з трави люцерни посівної (ЕТЛП) (*Medicago sativa*) з роду бобових (Fabaceae), який містить білки, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, що розщеплюють білки та сприяють їх засвоєнню, а також бетаїн дубильні речовини, сапоніни, кумарини, фітоестрогени, вітаміни А, Д, В<sub>1</sub>, В<sub>12</sub>, С, Е, К; мікро- та макроелементи Са, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, K, Si, Na, F; хлорофіл; ізофлавоноїди: геністеїн, дайдзеїн, куместрол; флавоноїди: апігенін, лютеолін, кверцетин, рутин та інші; органічні кислоти: кофейну, галову, ферулову, метоксикумарову, уронову; алкалоїди; аспарагін; антоціани; карбогідрати; моноцукри та полісахариди; пігменти; крохмаль [6].

Наявність у складі ЕТЛП великої кількості білка, амінокислот, у тому числі незамінних, флавоноїдів, органічних кислот, дубильних речовин, для яких характерною є антиоксидантна, протизапальна, мембраностабілізуювальна, цитопротекторна та органопротекторна дія, зможе забезпечити відновлення вмісту мембранних білків і їх пластичної функції та за рахунок антиоксидантної дії — щільність біомембрани, що сприятиме стабілізації білкового обміну.

Зважаючи на вищевикладене, метою даної роботи стало дослідження впливу екстракту з трави люцерни посівної в порівнянні з калію оротатом на функціональний стан мембранних білків і мембран клітин в умовах гемолізу еритроцитів у щурів, на активність ферментів цитолізу АлАТ та АсАТ та здатність проявляти мембраностабілізуювальну і цитопротекторну активність.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення впливу ЕТЛП в порівнянні з референс-препаратом калію оротатом на стан мембранних білків та мембран клітин проводили в умовах спонтанного гемолізу еритроцитів щурів за Jager F. C. [3] та за активністю ферментів цитолізу АлАТ та АсАТ у сироватці крові [3]. Метод за Jager F. C. [3] заснований на фотоелектроколориметричному визначенні позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить у середовище внаслідок спонтанного лізису мембран еритроцитів, викликаного пероксидним окисненням ліпідів киснем повітря. Активність ферментів цитолізу АлАТ та АсАТ визначали в сироватці крові щурів загальноприйнятими методами

за допомогою стандартних наборів реактивів фірми «Філісіт» [3].

Вивчення впливу ЕТЛП проводили з використанням 40 білих статевозрілих щурів, з яких було сформовано 5 груп по 8 тварин у кожній: перша група — інтактний контроль (ІК), друга група — тварини, які отримували калію оротат (КО) у дозі 180 мг/кг, третя група — тварини, які отримували ЕТЛП у дозі 25 мг/кг, четверта група — тварини, які отримували ЕТЛП у дозі 50 мг/кг, та п'ята група — тварини, які отримували ЕТЛП у дозі 100 мг/кг.

Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію ЦНДЛ НФаУ відповідно до встановлених норм [2,4]. Дослідження проведені з дотриманням гуманного поводження з тваринами у відповідності до правил «Європейської конвенції з захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментах та інших наукових цілях» (м. Страсбург, 1986) [2].

Як референс-препарат обрано калію оротат виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (м. Київ), який є єдиним, дозволеним в Україні нестероїдним лікарським засобом, що застосовується у клініці при порушеннях білкового обміну та як загальний стимулятор обмінних процесів. Доза калію оротату 180 мг/кг визначена в процесі перерахунку з добової дози для людини (згідно з інструкцією максимальна добова доза, що може застосовуватись у дорослих, становить 3000 мг) на добову дозу для щура за методом Риболовлева Ю. П. [8].

Після рандомізації тваринам внутрішньошлунково вводили ЕТЛП у дозах 25, 50 та 100 мг/кг і препарат порівняння калію оротат у дозі 180 мг/кг протягом двох тижнів. Групі інтактного контролю в цей період внутрішньошлунково вводили еквівалентну кількість розчинника. Далі проводили визначення ступеня гемолізу еритроцитів за методом [3] та активності цитолітичних ферментів у сироватці крові за методом [3]. Результати обробляли статистично за допомогою програми Statistica 6. Здатність перешкоджати пошкодженню мембранних білків еритроцитів оцінювали за зміною кількості гемолізованих еритроцитів у тварин дослідних груп у порівнянні зі щурами групи ІК і виражали у %.

Результати наведені в табл. 1 та 2.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати дослідження, наведені в табл. 1 та 2, дозволили встановити, що превентивне введення ЕТЛП у дозах 25,50 і 100 мг/кг та калію оротату в дозі 180 мг/кг привело до покращення стану мембранних білків, стабілізації

Таблиця 1

**РІВЕНЬ ВПЛИВУ ДОСЛІДЖУВАНИХ ОБ'ЄКТІВ НА СТАН МЕМБРАННИХ БІЛКІВ В УМОВАХ МОДЕЛІ СПОНТАННОГО ГЕМОЛІЗУ ЕРИТРОЦИТІВ ЗА JAGER F. C.**

Умови досліджу	Ступінь гемолізу еритроцитів, %	Мембраностабілізуюча активність, %
Інтактний контроль (ІК)	9,47±0,91	–
Калію оротат (КО), 180 мг/кг	5,94±0,73*	37,28
ЕТЛП, 25 мг/кг	4,73±0,66*	50,06
ЕТЛП, 50 мг/кг	5,12±0,49*	45,93
ЕТЛП, 100 мг/кг	4,44±0,60*	53,11

\* — відхилення показника достовірне відносно групи ІК, P ≤ 0,05.

Показники активності цитолітичних ферментів у сироватці крові щурів в умовах субхронічного гепатиту, викликаного тетрахлорметаном та етанолом.

Таблиця 2

**ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ ОБ'ЄКТІВ НА АКТИВНІСТЬ ЦИТОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ**

Умови досліджу	АЛАТ, ммоль/г×л	АсАТ, ммоль/г×л
Інтактний контроль (ІК)	0,37±0,02	0,39±0,02
Калію оротат (КО), 180 мг/кг	0,31±0,01*	0,32±0,01*
ЕТЛП, 25 мг/кг	0,26±0,01*	0,30±0,01*
ЕТЛП, 50 мг/кг	0,30±0,01*	0,35±0,01
ЕТЛП, 100 мг/кг	0,31±0,01*	0,37±0,02

\* — відхилення показника достовірне відносно групи ІК, P ≤ 0,05.

мембран еритроцитів та достовірного зниження інтенсивності гемолізу в порівнянні з тваринами ІК і до достовірного в порівнянні з групою ІК зниження активності цитолітичних ферментів АЛАТ та АсАТ у сироватці крові, що свідчить про їх значущу мембраностабілізуючу та цитопротекторну дію (табл. 1, 2). Так, достовірно в порівнянні з ІК знижують ступінь гемолізу еритроцитів ЕТЛП в дозі 25 мг/кг — у 2 рази, 50 мг/кг — у 1,8 рази, 100 мг/кг — у 2,1 рази, калію оротат у дозі 180 мг/кг — у 1,6 рази. Екстракт з трави люцерни посівної проявляє значущу мембраностабілізуючу та цитопротекторну дію в дозах 25, 50 і 100 мг/кг, що складає 50,06%, 45,93% та 53,11% відповідно, а також калію оротату в дозі 180 мг/кг, що становить 37,28% і її можна оцінити як помірну (табл. 1).

Установлено, що ЕТЛП та калію оротат здатні достовірно в порівнянні з групою ІК знижувати активність АЛАТ — маркерного ферменту цитолізу переважно гепатоцитів та АсАТ — маркерного ферменту цитолізу переважно кардіоміоцитів, що свідчить про їх значущу цитопротекторну дію (табл. 2). Так, спостерігаємо достовірне відносно ІК зниження активності АЛАТ та АсАТ під впливом калію оротату в дозі 180 мг/кг на 16% та 18% відповідно, ЕТЛП у дозі 25 мг/кг — на 30% та 23% відповідно, ЕТЛП у дозі 50 мг/кг — на 19% та 10% відповідно та ЕТЛП у дозі 100 мг/кг —

на 16% та 5% відповідно. Отже, з наведеного видно, що ЕТЛП у дозі 25 мг/кг найефективніша за всі інші дози та майже у 2 рази ефективніша за препарат порівняння калію оротат, що знижує активність цитолітичних ферментів АЛАТ та АсАТ і проявляє цитопротекторну дію, яка сприятиме підвищенню щільності мембран та підвищенню мембраностабілізуючого ефекту.

Отже, за результатами цього експерименту визначено, що для подальших досліджень раціонально використовувати ЕТЛП у дозі 25 мг/кг, в якій він найефективніше впливає на білковий обмін, зокрема на функцію мембранних білків, мембран еритроцитів та мембран гепато- та кардіоміоцитів тварин.

Порівняльний аналіз здатності ЕТЛП та калію оротату стимулювати мембранні білки та стабілізувати мембрани свідчить на його користь. Отже калію оротат у дозі 180 мг/кг поступається ЕТЛП у дозі 25 мг/кг за зниженням ступеня гемолізу еритроцитів та рівнем активності АЛАТ у 1,3 та 1,9 рази відповідно (табл. 1 та 2), за зниженням ступеня гемолізу еритроцитів ЕТЛП у дозі 50 мг/кг — у 1,2 рази та ЕТЛП у дозі 100 мг/кг — у 1,3 рази (табл. 1), а рівень активності АЛАТ та АсАТ калію оротату знаходиться на рівні ЕТЛП у дозі 50 мг/кг та 100 мг/кг. За вираженістю мембраностабілізуючої та цитопротекторної дії ЕТЛП у дозах 25 та 100 мг/кг має

перевагу над калію оротатом у дозі 180 мг/кг у 1,4 рази (табл. 1).

На нашу думку, екстракт з трави люцерни посівної за рахунок наявності в складі БАР великої кількості білка та амінокислот, у тому числі і незамінних, здатен корегувати білковий обмін та покращувати пластичну функцію мембранних білків, а за наявності флавоноїдів, органічних кислот та дубильних речовин — знижувати активність цитолітичних ферментів і стабілізувати ліпідний шар мембран і чинити виражену мембраностабілізуювальну та цитопротекторну дію.

Таким чином, вищенаведене свідчить про те, що ЕТЛП у дозі 25 мг/кг є потенційним коректором білкового обміну і краще в 1,4–1,9 рази за калію оротат здатен перешкоджати руйнуванню мембранних білків під час пошкодження мембран еритроцитів в умовах їх гемолізу і знижувати активність цитолітичних ферментів та проявляти виражену мембраностабілізуювальну і цитопротекторну дію.

#### ВИСНОВКИ

1. Установлено, що ЕТЛП у дозах 25, 50 і 100 мг/кг та калію оротат у дозі 180 мг/кг при превентивному введенні приводять до покращення стану мембранних білків внаслідок нормалізації білкового обміну, стабілізації мембран еритроцитів і до достовірного зниження інтенсивності гемолізу та зниження активності цитолітичних ферментів у порівнянні з тваринами ІК, що свідчить про їх значущу мембраностабілізуювальну та цитопротекторну дію.
2. Порівняльний аналіз здатності ЕТЛП і калію оротату стимулювати мембранні білки та стабілізувати мембрани свідчить на користь ЕТЛП. Калію оротат у дозі 180 мг/кг поступається ЕТЛП у дозі 25 мг/кг за зниженням ступеня гемолізу еритроцитів у 1,3 рази, за вираженістю мембраностабілізуювальної дії — у 1,4 рази, а цитопротекторної дії — у 1,9 рази.
3. Установлено, що ЕТЛП за рахунок наявності в складі БАР великої кількості білка та амінокислот, у тому числі і незамінних, здатен корегувати білковий обмін та покращувати пластичну функцію мембранних білків,

а за наявності флавоноїдів, органічних кислот і дубильних речовин — знижувати активність цитолітичних ферментів, стабілізувати ліпідний шар мембран і чинити виражену мембраностабілізуювальну та цитопротекторну дію.

4. Доведено, що ЕТЛП у дозі 25 мг/кг є потенційним коректором білкового обміну і краще в 1,4–1,9 рази за калію оротат здатен перешкоджати руйнуванню мембранних білків під час пошкодження мембран еритроцитів в умовах їх гемолізу, знижувати активність цитолітичних ферментів та проявляти виражену мембраностабілізуювальну та цитопротекторну дію.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
2. Гринштейн С. В. Структурно-функциональные особенности мембранных белков / С. В. Гринштейн, О. А. Кост // Успехи биол. химии. — 2001. — Т. 41. — С. 77–104.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
4. Западнюк М. П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / М. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария. — К.: Выш. шк., 1983. — 382 с.
5. Карп'юк У. В. Стандартизація густого екстракту з трави сої щетинистої та вивчення його анаболічної активності / [У. В. Карп'юк, Р. Ф. Єрьоменко, Л. М. Малоштан, В. С. Кисличенко та ін.] // Фармакол. та лікарська токсикол. — 2009. — № 3 (10). — С. 38–43.
6. Ковальов С. В. Дослідження фенольного комплексу з трави люцерни посівної / [С. В. Ковальов, А. М. Ковальова, Р. Ф. Єрьоменко, Л. М. Малоштан та ін.] // Фармац. часопис. — 2008. — № 2 (6). — С. 27–30.
7. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Докл. АН СССР. — 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513–1516.



**УДК 615.076.9:57.017.73:633.31**

Р. Ф. Еременко

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ НА СОСТОЯНИЕ  
МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ И МЕМБРАН В УСЛОВИЯХ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ**

Приведены результаты исследования влияния экстракта травы люцерны посевной (ЭТЛП) и препарата сравнения калия оротата на состояние мембранных белков и мембран в условиях спонтанного гемолиза эритроцитов крыс по Jager F.C. и по активности ферментов цитолиза. Установлено, что превентивное введение ЭТЛП в дозах 25,50 и 100 мг/кг и калия оротата в дозе 180 мг/кг привело к улучшению состояния мембранных белков в результате нормализации белкового обмена, стабилизации мембран эритроцитов, к достоверному снижению интенсивности гемолиза и активности ферментов цитолиза АлАТ и АсАТ в сыворотке крови по сравнению с животными ИК, что свидетельствует об их значимом мембраностабилизирующем и цитопротекторном действии. ЭТЛП в дозе 25 мг/кг является потенциальным корректором белкового обмена и лучше в 1,4 раза по сравнению с калием оротатом способен препятствовать разрушению мембранных белков во время повреждения мембран эритроцитов в условиях их гемолиза и проявляет выраженное мембраностабилизирующее и цитопротекторное действие.

**Ключевые слова:** белки мембран; эритроциты; экстракт люцерны; калия оротат; крысы

**UDC 615.076.9:57.017.73:633.31**

R. F. Yeremenko

**RESEARCH OF INFLUENCE OF EXTRACT OF MEDICAGO SATIVA  
SOWING GRASS ON A MEMBRANES PROTEINS AND MEMBRANES IN  
THE CONDITIONS OF HEMOLYSIS OF BLOOD ERYTHROCYTES**

Results of medicago sativa grass extract (EGMS) influence on membrane proteins and lipids under experimental spontaneous hemolysis of rats erythrocytes by Jager method was described in present article. It has shown that preventive administration of EGMS in doses 25,50 and 100 mg per kg and potassium orotate, in a dose 180 mg per kg leads to protein metabolism normalization erythrocytes membranes stabilization hemolysis decreasing and AlAT, AsAT activity in blood serum. It is an evidence that EGMS is membranoprotective and cytoprotective substance.

**Key words:** membranes proteins; red blood cells; extract of medicago sativa; potassium orotate; rats

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Кафедра біології, фізіології  
та анатомії людини НФаУ  
Тел. (057) 706-30-73, (057) 788-53-19  
e-mail: fuatovna@rambler.ru

Надійшла до редакції:  
11.11.2011 р.



УДК 616–005.4: 615.217.34:547.756

Н. А. ЦУБАНОВА

*Національний фармацевтичний університет***ДОСЛІДЖЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ  
СПІРОЦИКЛІЧНОГО ПОХІДНОГО ОКСІНДОЛУ**

*Встановлено, що спіроциклічне похідне оксіндолу у дозі 5 мг/кг на моделі гострого ізадринового міокардиту у щурів виявляє потужну кардіопротекторну дію на рівні препарату порівняння мексидолу в дозі 100 мг/кг, що верифіковано за зниженням вагового коефіцієнту серця та зменшенням вмісту специфічного ензиму цитолізу кардіоміоцитів АсАТ у 1,5 рази.*

*Виявлено що досліджувана сполука чинить виражену антиоксидантну дію: зменшує рівень МДА, ДК, каталази, нормалізує пул відновленого глутатіону.*

**Ключові слова:** спіроциклічне похідне оксіндолу; експериментальний міокардит; кардіопротекторна дія

**ВСТУП**

За прогнозами ВООЗ захворювання серцево-судинної системи у XXI столітті залишатимуться основною причиною смертності населення. Саме тому рання діагностика та раціональна терапія патогенетичного спрямування дозволять не тільки подовжити тривалість життя, але й в окремих випадках досягти стабільної нормалізації та сприяти усуненню патології [1,9].

За сучасними уявленнями провідною ланкою патогенезу багатьох захворювань внутрішніх органів виступає некерована активація процесу вільнорадикального окиснення (ВРО), що виникає як наслідок гіпоксії кардіоміоцитів. Формується неспецифічна реакція, яка носить назву «окисний стрес», вільнорадикальна патологія або синдром пероксидації [1,6]. Наслідком цієї реакції є зростання рівня радикальних інтермедіатів кисню, а також продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), під впливом яких відбувається деградація макромолекулярних компонентів клітини і втрата функціональної дієспроможності органу у цілому. Зазначені молекулярні механізми лежать в основі розвитку більшості відомих патологій серцево-судинної системи [6,8,10,11,12].

До числа антиоксидантів синтетичного походження, які найчастіше застосовуються у кардіології, належить похідне емоксипіну — мексидол [2], кардіопротекторна дія якого реалізується завдяки його антирадикальним властивостям, що зумовлює гальмування ВРО і збереження пулу природних компонентів антиоксидантної системи (АОС) [2, 5].

Пошук та створення нових кардіопротекторів з антигіпоксичною та антиоксидантною дією є актуальним питанням сучасної медицини та фармації. Перспективно у цьому аспекті можна вважати нову сполуку 4,3'-спіро [(2-аміно-3-ціано-4,5-дигідропірано [3,2-с]хромен-5-он)-5-метил-2'-оксіндол], (у подальшому сполука 77, синтезована у НФаУ канд. фарм. наук Редькіним Р.Г. та проф. Шемчуком Л.А.), яка виявила значну антигіпоксичну активність у попередніх дослідженнях [7].

**Мета дослідження** — вивчення антиоксидантної та антицитолітичної активності спіроциклічного похідного оксіндолу на тлі гострого ізадринового міокардиту у щурів.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Ізадриновий міокардит викликали у білих безпородних щурів-самців масою 190–240 г внутрішньом'язовим введенням розчину ізадрину в дозі 60 мг/кг протягом 4-х діб [3]. Ізадрин викликає підвищення інтенсивності роботи серця і потреби міокарда у кисні, що призводить до гіпоксії та ішемії серцевого м'язу. Розвивається активація лізосомальних ферментів та аутоліз кардіоміоцитів, спостерігається типова запальна реакція з перевагою проліферативних процесів.

Сполуку 77 у дозі 5 мг/кг, що чинить найбільший антигіпоксичний ефект [7], вводили щодня у шлунок у лікувально-профілактичному режимі протягом 6 діб (4 доби на тлі введення ізадрину та 2 доби після моделювання міокардиту). Препарат порівняння мексидол виробництва ВАТ «Мирфарм», Росія, вводили щурам-самцям у дозі 100 мг/кг за аналогічною схемою. Контрольні тварини одержували еквівалентну кількість води.

Таблиця 1

**ВПЛИВ СПРОЦИКЛІЧНОГО ПОХІДНОГО ОКСІДОЛУ ТА МЕКСИДОЛУ НА МАСОВИЙ КОЕФІЦІЄНТ СЕРЦЯ ТА ЇХ АНТИЦИТОЛІТИЧНА ДІЯ ПРИ ГОСТРОМУ ІЗАДРИНОВОМУ МІОКАРДИТІ У ЩУРІВ, (n=8)**

Показник	Умови експерименту			
	інтактний контроль	контрольна патологія	сполука 77, 5 мг/кг	мексидол, 100 мг/кг
Масовий коефіцієнт серця, %	0,23±0,01	0,48±0,01*	0,35±0,01*#	0,33±0,01*#
<b>Сироватка крові</b>				
АсАТ, ммоль/ч. л	0,53±0,02	0,97±0,03*	0,66±0,02***	0,60±0,02***#
<b>Гомогенат міокарда</b>				
АсАТ, ммоль/ч. г	1,31±0,05	2,50±0,06*	1,63±0,03*#	1,60±0,04*#

Примітки:

достовірні відмінності з показниками групи інтактного контролю \* — p<0,001; \*\* — p<0,01; \*\*\* — p<0,05;  
достовірні відмінності з показниками контрольної патології # — p<0,001.

Таблиця 2

**ВПЛИВ СПРОЦИКЛІЧНОГО ПОХІДНОГО ОКСІДОЛУ ТА МЕКСИДОЛУ НА ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ПОЛ - АОС ПРИ ГОСТРОМУ ІЗАДРИНОВОМУ МІОКАРДИТІ У ЩУРІВ, (n=8)**

Показник	Умови експерименту			
	інтактний контроль	контрольна патологія	сполука 77, 5 мг/кг	мексидол, 100 мг/кг
<b>Гомогенат міокарда</b>				
МДА, мкмоль/г	78,5±2,48	170±3,73*	120±2,81**§	138±2,33*#
ДК, мкмоль/г	6,69±0,34	12,6±0,56*	8,68±0,31***	9,72±0,35**#
ВГ, умов. од.	58,0±2,77	28,0±1,81*	45,0±1,75***§	36,4±2,52***#
Каталаза, мккат/г	0,26±0,02	0,55±0,03*	0,39±0,02***#	0,45±0,02***#
<b>Сироватка крові</b>				
МДА, мкмоль/л	1,20±0,04	4,99±0,23*	2,45±0,14**§	3,47±0,19**#
ДК, мкмоль/л	0,051±0,003	0,133±0,005*	0,066±0,003***§	0,087±0,003*#
ВГ, умов. од.	31,4±1,36	14,9±0,90*	26,9±0,84***§	21,9±0,86*#

Примітки:

достовірні відмінності з показниками групи інтактного контролю \* — p<0,001; \*\* — p<0,01; \*\*\* — p<0,05;  
достовірні відмінності з показниками контрольної патології # — p<0,001; \*\* — p<0,01; \*\*\* — p<0,05;  
достовірні відмінності з мексидолом § — p<0,01.

Кардіотоксичну дію ізадрину оцінювали за інтенсифікацією цитолітичних процесів, маркером яких є рівень ензиму аспаратаміно-трансферази (АсАТ), та за масовим коефіцієнтом серця (МКС). Зрушення рівноваги у системі ПОЛ-АОС вивчали за вмістом малонового діальдегіду (МДА) [4] та дієнових кон'югатів (ДК) [4], активністю каталази [4] і рівнем відновленого глутатіону (ВГ) [4] у гомогенаті міокарда та сироватці крові.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica 6.0. з використанням критерію Стьюдента.

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Патологія міокарда, змодельована внутрішньом'язовим введенням ізадрину, характеризується масивною активацією ексудативних та проліферативних процесів у серцевому м'язі (табл. 1). Показник МКС у групі контрольної

патології у 2,1 рази більше, ніж у групі тварин інтактного контролю, що свідчить про значну гіпертрофію міокарда. Деструкція кардіоміоцитів верифікована за збільшенням специфічного маркера цитолізу АсАТ у сироватці крові у 1,8 рази, у гомогенаті міокарда — в 1,9 рази (табл. 1). Також на тлі модельної патології зареєстрована значна активація процесів ПОЛ: рівень МДА підвищений у сироватці крові в 4,2 рази, у гомогенаті міокарда — в 2,2 рази, рівень ДК зріс у 2,6 та 1,9 рази відповідно, каталаза збільшилась у 2,1 рази у сироватці крові.

У той же час відбувається пригнічення антиоксидантної системи організму, про що свідчить зниження рівня ВГ у 2,1 рази (табл. 2). Зсув рівноваги у системі ПОЛ-АОС у бік активації процесів окиснення та значне виснаження запасів ВГ свідчать про наявність потужного оксидативного стресу.

Сполука 77 достовірно зменшує процеси цитолізу та проліферації в міокарді (МКС ста-

новить  $0,35 \pm 0,01\%$  проти  $0,48 \pm 0,01\%$  у групі контрольної патології, рівень АсАТ знижується у 1,5 рази). Антицитолітична активність досліджуваної сполуки на рівні препарату порівняння мексидолу, ймовірно, зумовлена її мембранопротекторною активністю (табл. 1) та встановленою раніше антигіпоксантаю дією.

Сполука 77 виявляє потужний антиоксидантний ефект за двома напрямками:

— пригнічення активності процесів ПОЛ, про що свідчить зменшення рівня МДА, ДК та каталази в середньому в 1,4-2 рази;

— відновлення функції антиоксидантної системи, що характеризується зростанням рівня ВГ (табл. 2).

Необхідно відзначити, що якщо за антицитолітичною дією та здатністю зменшувати проліферативні процеси сполука 77 знаходиться на рівні мексидолу (табл. 1), то за антиоксидантною дією вона достовірно перевищує ефективність останнього (табл. 2).

Таким чином, на моделі гострого ізадринного міокардиту сполука 77 значно знижує активність процесів цитолізу та гіпертрофію міокарда, виявляє виражений антиоксидантний ефект: знижує інтенсифікацію процесів ПОЛ, нормалізує активність системи АОС.

### ВИСНОВКИ

Встановлено виражений кардіопротекторний ефект оригінального спіроциклічного похідного оксидолу. У механізмі захисної дії нової сполуки на клітини міокарда спостерігається значна антицитолітична активність та потужна антиоксидантна дія, причому остання перевищує дію препарату порівняння мексидолу.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Березин А.Е. Клиническое и прогностическое значение биологических маркеров в стратификации пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями / А.Е. Березин // Укр. мед. часопис. — 2010. — №6 (80) — С. 79–85.
2. Воронина Т.М. Мексидол. Основные нейрорепродуктивные эффекты и механизм действия / Т.М. Воронина // Мед. вестник. — 2009. — №6 (475). — С. 2–3.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. В 2-х т. — Мн: Беларусь, 2002. — 463 с.
4. Компендиум 2009 – лекарственные препараты / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2009. — С. Л1575–1576.
5. Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин — Новосибирск: АРТА, 2008. — 284 с.
6. Цубанова Н.А. Скринінгові дослідження антигіпоксичної дії спіроциклічних 2-оксіндольних похідних 2-аміно-3-ціано-4-пірану / Н.А. Цубанова // Клінічна фармація. — 2009. — Т.13, №2. — С.62–64.
7. Backstrom T. Cardiac outflow of amino acids and purines during myocardial ischemia and reperfusion / T. Backstrom, M. Gojny, U. Lockowandt // J. Appl. Physiol. — 2003. — Vol. 94, №3. — P. 1122–1128.
8. Carlucci F. Cardiac surgery: myocardial energy balance, antioxidant status and endothelial function after ischemia-reperfusion / F. Carlucci, A. Tabucchi, B. Biagioli // Biomed. Pharmacother. — 2002. — Vol. 56, №10. — 4883–4891.
9. Ricchi A. Bimolecular and biochemical response of myocardial cell to ischemia and reperfusion in the course of heart surgery / A. Ricchi, G. Cardu, B. Lettieri // J. Cardiovasc. Surg. (Torino). — 2001. — Vol. 42, №5. — P. 605–610.
10. Vasan R.S. Biomarkers of cardiovascular disease molecular basis and practical consideration // Circulation. — 2006. — 113 (19). — P. 2335–2362.
11. Zhu H.F. ATP-dependent potassium channels involved in the cardiac protection induced by intermittent hypoxia against ischemia/reperfusion injury / H.F. Zhu, J.W. Dong, W.Z. Zhu // Life Sci. — 2003. — Vol. 73, №10. — P. 1275–1287.

**УДК 616-005.4: 615.217.34:547.756**

**Н.А. Цубанова**

**ИЗУЧЕНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ  
СПИРОЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО ОКСИНДОЛА**

Установлено, что спироциклическое производное оксиндола в дозе 5 мг/кг на модели острого изадринового миокардита у крыс проявляет выраженный кардиопротекторный эффект на уровне препарата сравнения мексидола в дозе 100 мг/кг, это установлено по снижению весового коэффициента сердца и уменьшению активности специфического энзима цитолиза кардиомиоцитов АсАТ.

Установлено, что изучаемое соединение имеет выраженный антиоксидантный эффект: уменьшает уровень МДА, ДК, каталазы и нормализует пул восстановленного глутатиона.

**Ключевые слова:** спироциклическое производное оксиндола; экспериментальный миокардит; кардиопротекторное действие

**UDC 616-005.4: 615.217.34:547.756**

**N.A. Tsubanova**

**STUDY OF CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF SPIROCYCLIC OXINDOLIC DERIVATIVE**

It has been established that the spirocyclic oxindolic derivative in dose 5 mg/kg on the model of acute izadrinic myocarditis in rats has expressed cardioprotective effect on the level preparation mexidolum in dose 100 mg/kg, what has been established on decrease of weight coefficient of heart and reduction of activity of the specific enzyme of cytolysis of cardiomyocytes AsAT.

It has been discovered that the tested substance has expressed antioxidant activity: reduces level of MDA, DC, catalase and normalizes level of RG.

**Key words:** spirocyclic oxindolic derivative; experimental myocarditis; cardioprotective action

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, пл. Повстання, 17.  
ІПКСФ НФаУ  
Тел. (050) 538-14-45  
e-mail: tsubanova@rambler.ru

Надійшла до редакції:  
01.10.2011 р.

УДК 615.21:599.323.4:591.413:547.46

О. І. НАБОКА, Р. П. ЖЕЛЯСКОВ, В. М. КРАВЧЕНКО, Т. С. САХАРОВА

*Національний фармацевтичний університет*

## ВИВЧЕННЯ МІОТРОПНОЇ СПАЗМОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ КАРБОРЕНУ НА ІЗОЛЬОВАНИХ КІЛЬЦЯХ ГРУДНОГО СЕГМЕНТУ АОРТИ ТА НИРКОВІЙ АРТЕРІЇ ЩУРІВ

*У досліджах in vitro на кільцях ізольованої аорти і ниркової артерії щурів вивчені міотропні спазмолітичні властивості карборену — похідного анілідів хінолін-карбонової кислоти. Встановлено, що карборен знімає спазм судин, ініційований фенілефрином. Показник  $EC_{50}$  нової сполуки при дослідженні спазмолітичної активності на ізольованій аорті щурів складає  $29,9 \pm 4,4$  мкмоль/л, на нирковій артерії —  $67,5 \pm 21,5$  мкмоль/л.*

**Ключові слова:** похідні анілідів хінолін-карбонової кислоти; карборен; судини; спазмолітики; аорта щурів; ниркова артерія

### ВСТУП

Незважаючи на те, що в Україні виконуються Національні та Державні програми боротьби із серцево-судинними захворюваннями, на межі 100-річчя описання інфаркту міокарда на теперішній час ця проблема залишається актуальною [6]. Тому увага вчених постійно спрямована на пошук, фармакологічне вивчення та використання в медичній практиці нових, менш токсичних і більш ефективних лікарських засобів [10, 11].

Відомо, що хімічні речовини — похідні хінолін-карбонової кислоти є фармакологічно багатогранними [7, 13]. Багато представників цього класу проявляють діуретичну, аналгетичну, протизапальну та інші види активності [5, 8] та застосовуються як потенційні антигіпертензивні засоби [2, 3]. На кафедрі фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету під керівництвом доктора хім. наук, професора Українця І.В. синтезовано новий ряд хімічних сполук — анілідів хінолін-карбонової кислоти, представником якого є 4-метоксибензамід-1-гідрокси-3-оксо-5,6-дигідро-3H-піроло-[3,2,1-ij]-хінолін-2-карбонової кислоти (умовна назва «карборен»). Експериментальним шляхом була доведена антигіпертензивна дія цієї сполуки, з'ясовані механізми реалізації антигіпертензивного ефекту [1, 4]. В досліджах встановлено, що карборен нормалізує порушення кислотно-лужної рівноваги та водно-електролітного обміну в умовах артеріальної гіпертензії [2]. У зв'язку з вищенаведеним метою нашого дослідження стало вивчення спаз-

молітичної активності нової сполуки. Дослідження проведені на базі відділу фармакології серцево-судинних засобів ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України».

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на щурах обох статей лінії Вістар масою 160,0–190,0 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України». Евтаназію тварин проводили шляхом цервікальної дислокації. В дослідженнях використовували ізольовані кільця грудного сегменту аорти та правої ниркової артерії експериментальних щурів. Аорту і ниркову артерію видаляли негайно після розтину і зберігали в охолодженому розчині Кребса-Рінгера. Ізольовані судини очищували від жирової та сполучної тканини на зовнішній поверхні, розрізали на кільця шириною 1–2 мм. Механографічне дослідження м'язових скорочень ізольованих судин проводили на експериментальній установці [9]. Дані реєструвались за допомогою аналогово-цифрового перетворювача (WPI LabTrax 4/16, США) на персональному комп'ютері з використанням програми DataTrax 2. Кільця судин розміщували в проточній горизонтальній камері (0,5 мл), яку перфузували розчином Кребса (1–1,5 мл/хв) при  $37 \pm 0,5$  °C, та розтягували на двох сталевих гачках з попереднім навантаженням 15 mN. Силу скорочувальних реакцій судин реєстрували в ізометричному режимі за допомогою емнісних тензометричних датчиків (ГТК-0.1). Вимірювання амплітуди скорочень кілець аорти та ниркової артерії проводили піс-



ля стабілізації їх реакції на періодичну стимуляцію гіперкалієвим розчином Кребса протягом 40–60 хвилин. Рівень спазмолітичного ефекту обчислювали у відсотках відносно рівня максимального тонічного напруження, викликаного фенілефрином (1 мкмоль/л) [12]. Для розрахунку середньоєфективної концентрації ( $\log EC_{50}$ ) застосовували графічний метод побудови кривих «доза–ефект» за допомогою програми Origin 7.5 (OriginLab Co., США). Дослідну сполуку розчиняли у диметилацетаміді та подавали в експериментальну камеру в наростаючій концентрації від 100 нмоль/л до 100 мкмоль/л. До щурів ставилися згідно з правилами «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та наукових цілях».

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження спазмолітичної активності карборену на ізольованих кільцях грудного сегменту аорти щурів продемонстрували, що нова сполука при низьких концентраціях ( $10^{-7}$ – $10^{-6}$  моль/л) здатна посилювати констрикцію, викликану фенілефрином (1 мкмоль/л). Максимальне підвищення рівня тонічного напруження спостерігається при  $10^{-6}$  моль/л та складає  $48,4 \pm 11,8\%$  (рис. 1). При збільшенні концентрації карборену в питомому розчині спостерігається поступове розслаблення ізольованих фрагментів аорти до  $100,4 \pm 3,8\%$  при концентрації  $10^{-4}$  моль/л.

Показник  $EC_{50}$  карборену при дослідженні спазмолітичної активності на ізольованій аорті щурів складає  $29,9 \pm 4,4$  мкмоль/л (рис. 2).

При оцінці спазмолітичної активності карборену на нирковій артерії щурів динаміка розвитку дилататорної реакції залишалася схожою з такою, що відмічалася в експериментах на кільцях аорти, однак виявлені ефекти носили більш виражений характер (рис. 3). Збільшення концентрації дослідної сполуки в робочій камері до  $10^{-6}$  моль/л підсилювало констрикцію, викликану фенілефрином, на  $106,95 \pm 31,5\%$ , а рівень розслаблення у відповідь на максимальну використану концентрацію досягав  $273,3 \pm 65,6\%$ . Середньоєфективна концентрація складає  $67,5 \pm 21,5$  мкмоль/л (рис. 4).

### ВИСНОВКИ

1. У дослідях *in vitro* на ізольованій аорті та нирковій артерії щурів ( $EC_{50}$ ,  $29,9 \pm 4,4$  та  $67,5 \pm 21,5$  мкмоль/л, відповідно) встановлена спазмолітична активність карборену.
2. Спазм судин, ініційований фенілефрином, нівелюється карбореном здебільшого в концентрації  $10^{-4}$  моль/л.

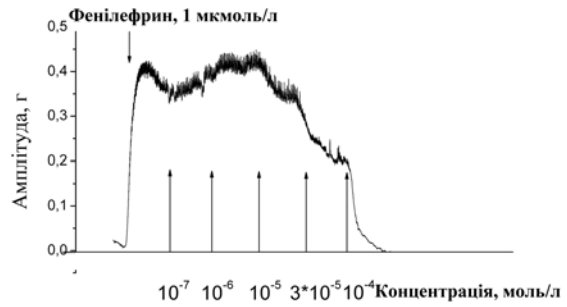


Рис. 1. Оригінальна крива скоротливої реакції аорти щурів у відповідь на фенілефрин (1 мкмоль/л) та карборен у концентраціях від  $10^{-7}$  до  $10^{-4}$  моль/л.

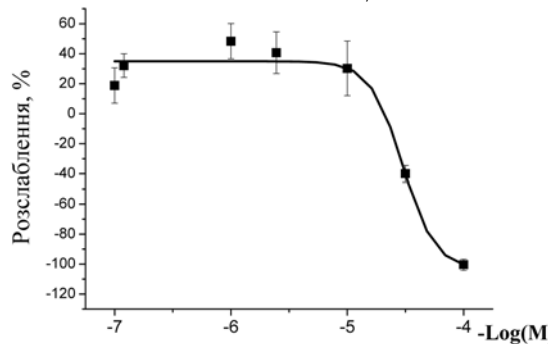


Рис. 2. Крива «доза–ефект» карборену на тлі констрикції кілець аорти фенілефрином 1 мкмоль/л,  $n = 6$ .



Рис. 3. Оригінальний запис скорочення ниркової артерії у відповідь на фенілефрин (1 мкмоль/л) та карборен у концентраціях від  $10^{-7}$  до  $10^{-4}$  моль/л.

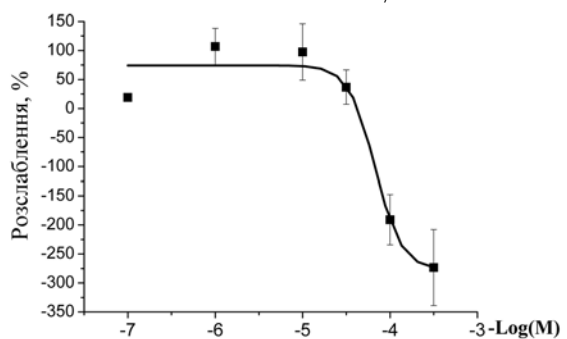


Рис. 4. Спазмолітична активність карборену на тлі констрикції кілець ниркової артерії фенілефрином 1 мкмоль/л,  $n = 6$ .



**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Набока О.І. Гіпотензивна дія карборену в умовах індометацинової і вазоренальної гіпертензії / О.І. Набока // Медична хімія. — 2007. — Т.9, № 2. — С. 112–114.
2. Набока О.І. Механізми біохімічних порушень водно-електролітного обміну у спонтанно гіпертензивних щурів та перспектива їх корекції похідними хінолін-карбонових кислот / О.І. Набока // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. — 2008. — № 814, вип. 7. — С. 18–25.
3. Набока О.І. Нові похідні хінолін-карбонових кислот — перспективний клас діуретиків з гіпотензивною активністю / О.І. Набока // Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук та фармацевтичних препаратів: тез. доп. Нац. наук.-техн. конф. за міжнар. участю, 15–18 жовт. 2008 р. — Львів, 2008. — С. 203.
4. Набока О.І. Похідні хінолон-карбонових кислот як потенційні антигіпертензивні засоби / О.І. Набока // Человек и лекарство. — Украина: тез. доп. I Нац. конгр., 26–28 бер. 2008 р. — К., 2008. — С. 53–54.
5. Пат. 86286 Україна, МПК С 07 D 215/22 (2006.01), А 61 К 31.47. N-R-аміди-1-гідрокси-3-оксо-5,6-дигідро-3H-піроло-[3,2,1-sJ]-хінолін-2-карбонової кислоти, які виявляють діуретичну активність / І.В. Українець, Н.Л. Березнякова, О.В. Моспанова, О.І. Набока ; заявник Національний фармацевтичний університет. — Заявл.: 19.07.07. Опубл.: 25.09.07. — Бюл. №15.
6. Притула Т.П. Синтез та спазмолітична активність (дигідрохлоридів та четвертинних солей деяких адамантиловмісних похідних 1-алкокси-3-діалкіламіно-2-пропанолу / [Притула Т.П., Пупишева О.В., Короткий Ю.В., Мохорт М.А. та ін.] // ЖОФХ. — 2010. — Т. 8, вип. 1(29). — С. 25–29.
7. Українець І.В. Синтез и изучение закономерностей взаимосвязи «структура – биологическая активность» в ряду анилидов 1-гидрокси-3-оксо-5,6-дигидро-3H-пирроло-[3,2,1-ij]-хинолин-2-карбоновой кислоты / [И.В. Украинец, Е.В. Моспанова, Н.Л. Березнякова, О.И. Набока и др.] // Химия гетероцикл. соед. — 2007. — № 13(486). — С. 1761–1920.
8. Українець І.В. Анилиды 4-метил-2-оксо-1,2-дигидрохинолин-3-карбоновой кислоты как потенциальные диуретики / [И.В. Украинец, Н.Л. Березнякова, В.И. Паршиков, О.И. Набока и др.] // Химия гетероцикл. соед. — 2008. — № 2(488). — С. 239–245.
9. Guedes D.N. Calcium antagonism and the vasorelaxation of the rat aorta induced by rotundifolone / [D.N. Guedes, D.F. Silva, J.M. Barbosa-Filho et al.] // Braz. J. Med. Biol. Res. — 2004. — Vol. 37(12). — P. 1881–1887.
10. Julius S. VALUE trial group. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomised trial / [Julius S., Kjeldsen S.E., Weber M. et al.] // Lancet. — 2004. — Vol. 363. — P. 2022–2031.
11. Kaiser T. Influence of nebivolol and enalapril on metabolic parameters and arterial stiffness in hypertensive type 2 diabetic patients / [T. Kaiser, T. Heise, L. Nosek et al.] // J. Hypertens. — 2006. — Vol. 24. — P. 1397–1403.
12. Tirapelli C.R. Chronic ethanol consumption enhances phenylephrine-induced contraction in the isolated rat aorta / [C.R. Tirapelli, J. Al-Khoury, G. Bkaily et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2006. — Jan;316(1). — P. 233–241.
13. Ukrainets I.V. 4-Hydroxy-2-quinolones synthesis and study of structure-biologycal activity relationships in a series of 1-hydroxy-3-oxo-5,6-dihydro-3H-pyrrolo [3,2,1-ij] quinoline-2-carboxylic acid anilides / [I.V. Ukrainets, E.V. Mospanova, N.L. Bereznyakova, O.I. Naboka et al.] // Chemistry of Heterocyclic Compounds. — 2007. — Vol. 43, №12. — P. 1532–1539.

**УДК 615.21:599.323.4:591.413:547.46**

**О.И. Набока, Р.П. Желясков, В.Н. Кравченко, Т.С. Сахарова**

**ИЗУЧЕНИЕ МИОТРОПНОЙ СПАЗМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КАРБОРЕНА НА ИЗОЛИРОВАННЫХ КОЛЬЦАХ ГРУДНОГО СЕГМЕНТА АОРТЫ И ПОЧЕЧНОЙ АРТЕРИИ КРЫС**

В исследованиях *in vitro* на кольцах изолированной аорты и почечной артерии крыс изучены миотропные спазмолитические свойства карборена — производного анилидов хинолин-карбоновой кислоты. Установлено, что карборен снимает спазм сосудов, инициированный фенилэфрином. Показатель  $EC_{50}$  новой субстанции при исследовании спазмолитической активности на изолированной аорте крыс составляет  $29,9 \pm 4,4$  мкмоль/л, на почечной артерии —  $67,5 \pm 21,5$  мкмоль/л.

**Ключевые слова:** производные анилидов хинолин-карбоновой кислоты; карборен; сосуды; спазмолитики; арта крыс; почечная артерия крыс

**UDC 615.21:599.323.4:591.413:547.46**

**O.I. Naboka, R.P. Zelyaskov, V.N. Kravchenko, T.S. Sakharova**

**STUDY OF MYOTROPIC SPASMOLYTIC ACTIVITY OF KARBORAN ON ISOLATED RINGS OF THORACIC FRAGMENT OF RATS AORTA AND ARTERIA RENALIS**

In the given research *in vitro* on rings of isolated rat aorta and arteria renalis the myotropic spasmolytic features of karboran, which is derivative of analids of quinoline-carboxylic acids, have been discovered. The results of study have shown that karboran takes off the vessels' spasm which is initiated by phenylephrine. According to study of spasmolytic activity the  $EC_{50}$  index of the new connection equals  $29,9 \pm 4,4$  mcM/l on the isolated rat aorta and  $67,5 \pm 21,5$  mcM/l on the arteria renalis.

**Key words:** derivatives of analids of quinoline-carboxylic acids; karboran; vessels; spasmolytics; rat's aorta; rat's arteria renalis

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Кафедра біологічної хімії  
Тел. (057) 706-30-99  
e-mail: biochem@ukrfa.kharkov.ua

Надійшла до редакції:  
01.11.2011 р.

УДК 615.322:615.454.2:618.15–002

А. В. Малоштан, А. Л. Загайко, Ю. Б. Лар'яновська  
 Національний фармацевтичний університет

## ГІСТОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ СТІНКИ ПІХВИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ВАГІНІТІ ТА ЛІКУВАННЯ ПЕСАРІЯМИ «ФІТОВАГІН»

*Досліджено стан слизової оболонки, підслизової оболонки та інших шарів стінки піхви щурів при експериментальному вагініті, викликаному введенням у піхву дослідних тварин нітрату срібла, що супроводжується некротичними змінами в піхві. Лікувальне застосування песаріїв «Фітовагін», до складу яких входять рослинні ефірні олії та екстракти, покращує стан стінки піхви та перевершує свічки з олією обліпихи за репаративною активністю.*

*Ключові слова:* песарії; ефірні олії; вагініт

### ВСТУП

Останніми роками у всіх країнах світу відзначається ріст запальних захворювань жіночих статевих органів. На теперішній час запальні захворювання не тільки займають провідне положення в структурі гінекологічної захворюваності, але є найбільш частою причиною госпіталізації жінок репродуктивного віку і створюють основні медичні, соціальні та економічні проблеми в усьому світі.

Питанням терапії ЗЗЖСО присвячена велика кількість наукових досліджень, але запропоновані методи не завжди дають позитивний результат. За даними різних авторів дедалі частіше спостерігаються рецидиви захворювань [1, 6].

Метою даної роботи стало вивчення фармакологічної активності нових комбінованих песаріїв для лікування вагінітів, умовно названих «Фітовагін», розроблених на кафедрі технології лікарських препаратів НФаУ під керівництвом професора Т. Г. Ярних.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення фармакологічної активності песаріїв проводили на моделі експериментального вагініту, який викликали шляхом введення у піхву дослідних тварин тампону із 10% розчином нітрату срібла та його експозицією впродовж 5 хвилин [2]. Експериментальні дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях вагою 180–200 г, яких відбирали до експерименту в одній фазі естрального циклу.

Тварин попередньо поділяли на п'ять експериментальних груп по 7 тварин у кожній: 1 гру-

па — інтактний контроль; 2 група — контрольна патологія, тварини яким вводили нітрат срібла; 3 група — тварини, яким на тлі введення нітрату срібла проводили лікування песаріями «Фітовагін»; 4 група — тварини, яким на тлі введення нітрату срібла вводили препарат порівняння «Супозиторії з обліпиховою олією»; 5 група — плацебо, тварини, яким на тлі введення нітрату срібла проводили лікування основою [3].

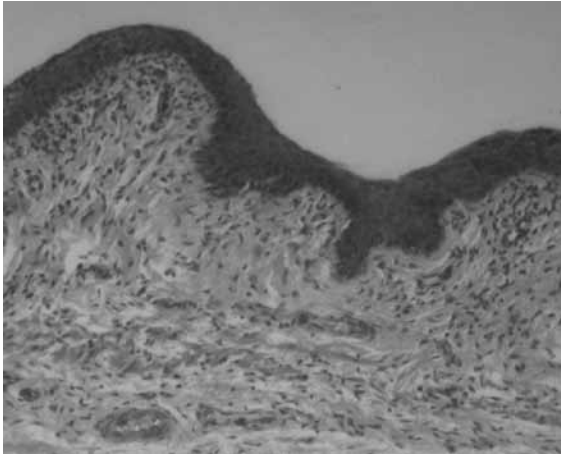
Дози досліджуваних песаріїв та препаратів порівняння вводили в перерахунку за загальноживим в експериментальній фармакології коефіцієнтом видової стійкості Ю. Р. Риболовлева [5].

Лікування досліджуваним препаратом та препаратами порівняння тривало протягом 5 днів. Після закінчення лікування тварин виводили з експерименту в умовах евтаназії згідно з вимогами біоетики та оцінювали вплив супозиторіїв у порівнянні з препаратами порівняння.

Підготовку зразків піхви для гістологічного дослідження проводили загальноприйнятими методами. Всі зразки фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи для оглядової мікроскопії фарбували гематоксиліном та еозином (1). Огляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Micros 400. Мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснено цифровим фотоапаратом Nikon Col Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nikon View 5 [4].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як показала оглядова мікроскопія, в інтактних щурів структурна організація слизової

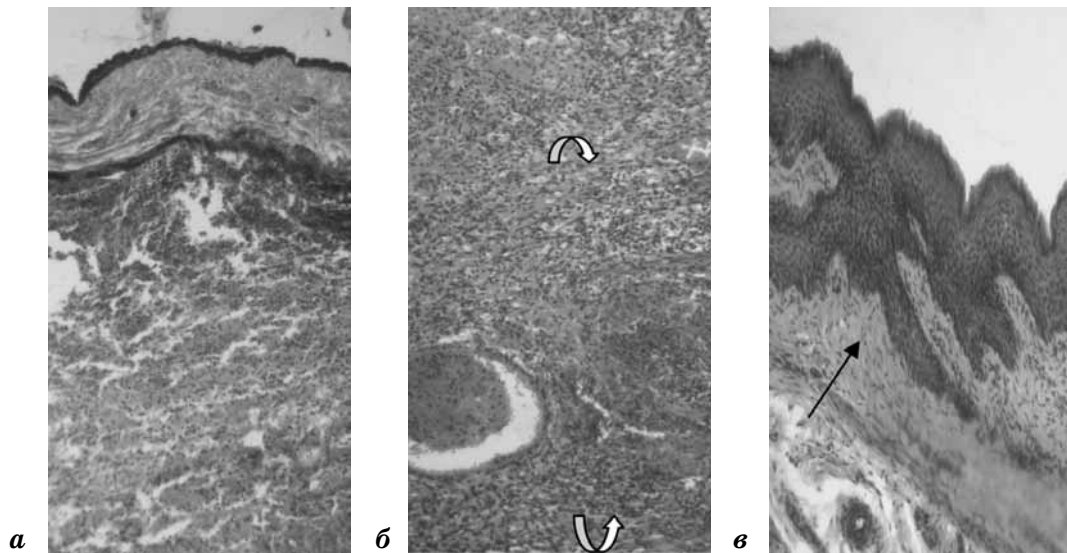


**Рис. 1.** Піхва інтактного щура. Нормальний стан слизової. Гематоксилін-еозин.  $\times 250$

піхви відповідала нормі. Епітелій, що вистеляє її, був багат шаровим, плоским. У ньому розрізняли базальний, проміжний та роговий шари. Клітини базального та проміжного шару щільно прилягали одна до однієї. Зроговілий шар на поверхні епітеліального шару місцями помірно відшаровувався. Власна пластинка слизової (строма) мала ознаки доволі щільної сполучної тканини. Межа її з епітелієм нерівна, у вигляді сосочків вона вдавалася в епітелій. Ближче до м'язового шару вона переходила у підслизову оболонку, яка мала вигляд пухкої волокнистої тканини, містила лімфоцити, фібробласти, нечисленні кровоносні судини. Підслизова оболонка безпосередньо переходила у м'язову оболонку.

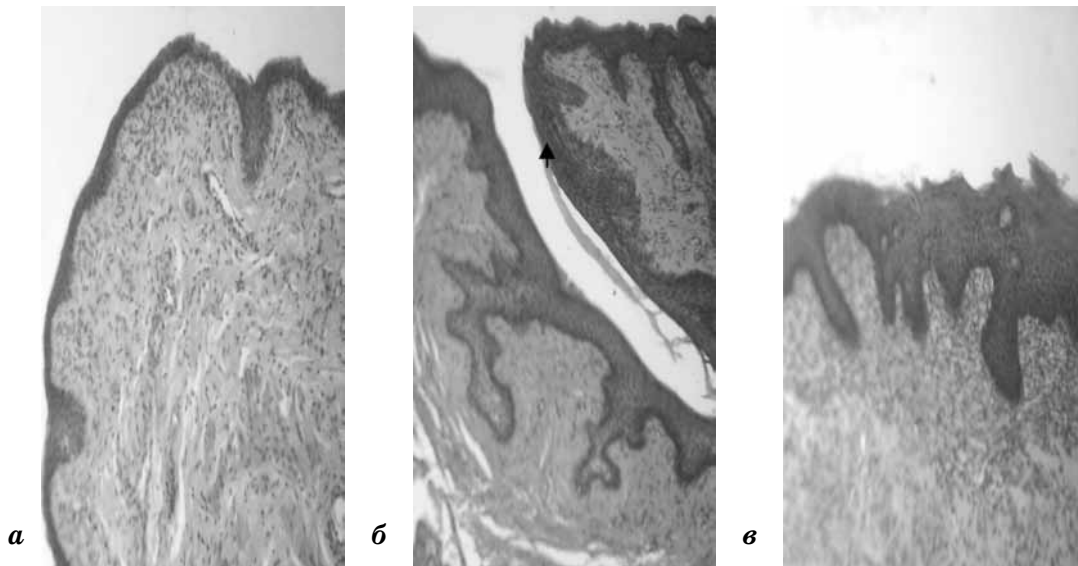
**Контрольна патологія.** На 6 день після інтравагінального введення 10% розчину азотнокислого срібла у піхві всіх щурів цієї групи виявлена груба патологія. Стінка піхви значно потовщена, некротизована, на поверхні видно плівку, яка містить пігмент. У більшості випадків некроз зачіпав слизову, підслизову і м'язову оболонки, у деяких нечисельних випадках обмежувався слизовою. При цьому підслизова оболонка значно розширена з виразною гострою запальною реакцією, паралітичним розширенням кровоносних судин, тромбозом, припиненням току крові у них. По краях полів некрозу, а доволі часто і на відстані від нього епітелій розростався, потовщувався, в ньому у проміжному шарі видно збільшення кількості рядів шипуватих клітин, епідермальні вирости подовжені і глибоко проникають у строму (акантоз). Клітини базального та проміжного шару часто втрачали тісний зв'язок між собою, внаслідок чого між ними з'являлися щілини (акантоліз), у поверхневих відділах епітелію видні ознаки порушення процесу зроговіння (дискератоз) — частина клітин набувала шароподібної форми, втрачаючи зв'язок між собою, перетворюючись на так звані «круглі тіла». Колагенова строма набрякла, часто з ознаками запалення (рис. 2).

Вагінальні свічки «Фітовагін» чинили виразний лікувальний ефект на слизову піхви у всіх дослідних самок. У 4 з 6 щурів слизова зовсім не пошкоджена. У 3 з них епітелій місцями помірно потовщений, явища акантозу, елементи акантолізу та дискератозу носили дрібний вогнищевий характер. У однієї з цих чотирьох самок акантоз



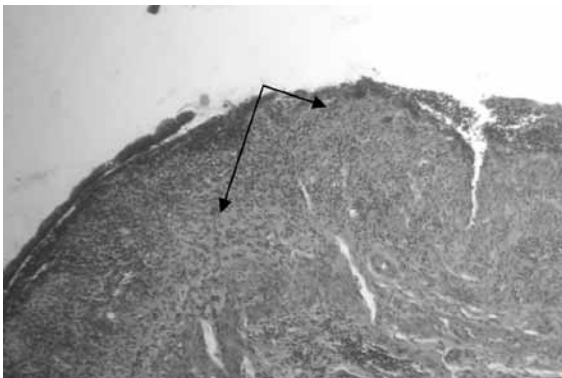
**Рис. 2.** Піхва щура після введення азотнокислого срібла: а — некроз всіх шарів стінки, на поверхні плівка з пігментом; б — підслизова (між скобками) з запальною реакцією, тромбозом кровоносних судин; в — акантоз епітелію (стрілка). Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .





**Рис. 3.** Піхва щура після лікувального введення вагінальних свічок «Фітовагин»: а — нормальний стан слизової; б — виразний акантоз епітелію; в — розширення епітелію, акантоз, запалення в стромі. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

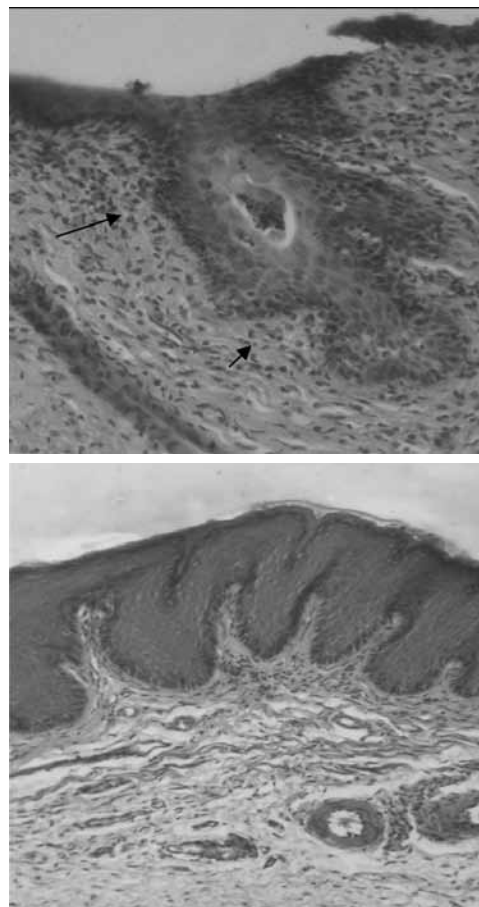
епітелію значно більш виразний, в стромі видні залишки запалення (рис. 3). У решти 2 щурів виявлені помірні за розміром ерозії, які успішно загоювалися (видно регенований епітелій, що з країв наповзає на поверхню ерозії), та типова грануляційна тканина на межі з дефектом (рис. 4).



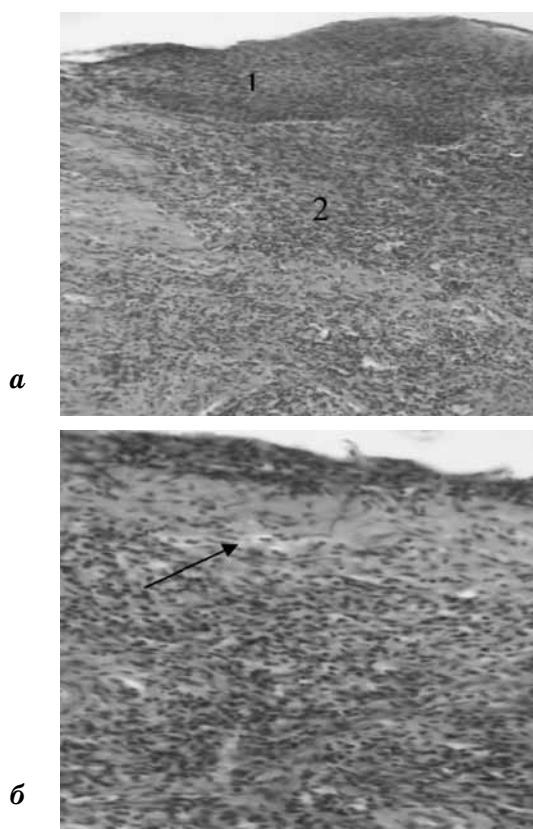
**Рис. 4.** Піхва щура після лікувального введення вагінальних свічок «Фітовагин». Ерозія, що загоюється. Видно новоутворений епітелій, який наповзає на поверхню (стрілки).

Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Лікування опіку слизової піхви препаратом «Супозиторіїми з обліпиховою олією» (препарат порівняння) сприяло запобіганню її некрозу у 4 з 6 самиць (66,6%). Стан епітеліального покриву та стромі слизової оболонки піхви однієї з них відповідав фізіологічній нормі. У трьох інших спостерігалися різні за виразністю акантозні розростання покривного епітелію, ознаки акантолізу та дискератозу, запальна реакція у слизовій, набухання колагенової стромі (рис. 5, 6).



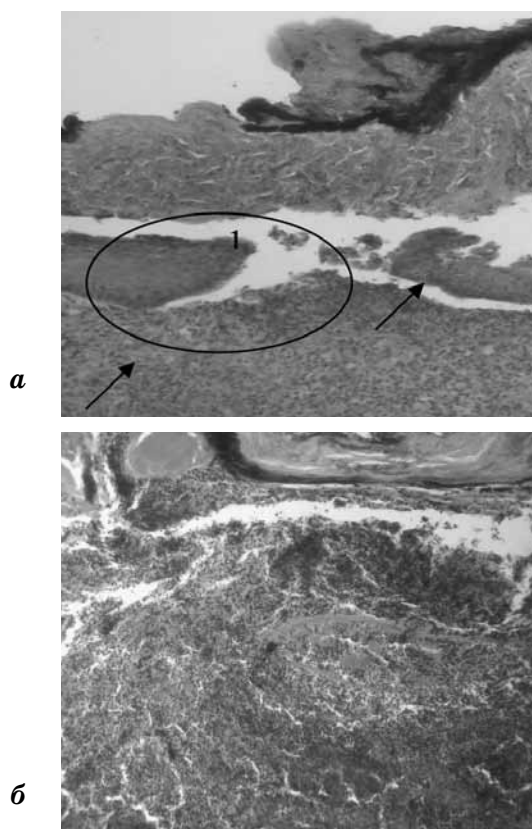
**Рис. 5.** Піхва щура після лікування «Супозиторіїв з обліпиховою олією». Зміни у епітеліальному покриві слизової: дискератоз, акантоліз (а, стрілки), виразний акантоз (б). Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .



**Рис. 6.** Піхва щура після лікування «Супозиторіями з обліпиховою олією». Розростання епітелію (1), вогнищева запальна реакція (2) у слизовій (а), набряк колагенової стромы підепітеліально (стрілка), дифузна запальна реакція слизової та підслизової оболонки (б). Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Ще у 2 щурів на досліджених зразках видні були різні за розміром ділянки некрозу слизової, які розповсюджувалися на різну глибину. Зверху ці ділянки були прикриті аналогічно контрольній патології плівкою, що містила пігмент. При мікротравмі спостерігали зростання шару епітелію під некротизованим та відшарованим шаром. Поза місцями пошкодження слизова мала залишкові ознаки запалення, епітелій потовщений, іноді з явищами акантозу, дискератозу (рис. 7).

**Плацебо** вагінальних свічок практично не чинило ніякого лікувального ефекту на стан слизової піхви після її опіку. У 85,7% тварин (у 6 з 7) виявлено поширений як за глибиною, так і по довжині некроз, виразна пігментована щільна плівка на поверхні. В одному випадку простежено навіть спайку стінки піхви зі стінкою кишки. Епітелій як по краях некрозу, так і на відстані від нього часто розростався, був з виразними ознаками акантозу, акантолізу,



**Рис. 7.** Піхва щура після лікування вагінальними свічками з олією обліпихи. Різні за розміром ділянки пошкодження слизової: а — мікротравма (овал), зріст епітелію (стрілки) під некротизованим шаром (1); б — поширене пошкодження під виразною плівкою. Пігмент у плівці. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

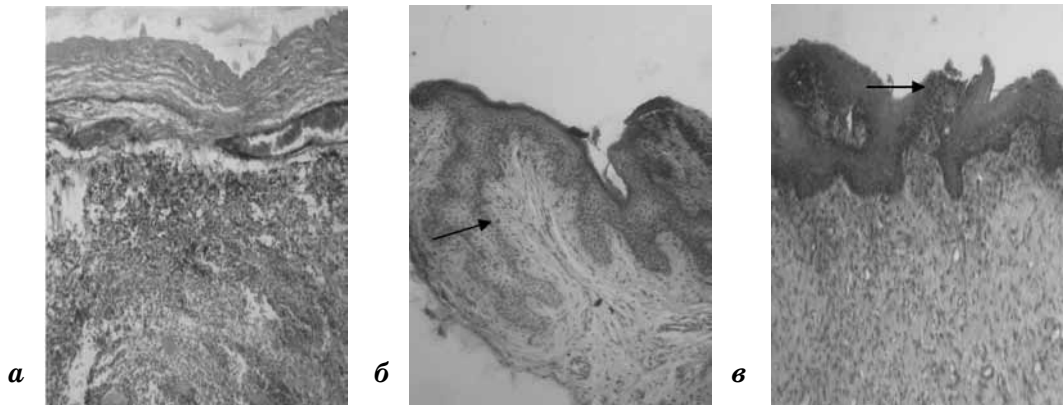
дискератозу. Строма поза зон ураження набрякла, часто з запальними процесами (рис. 8).

## ВИСНОВКИ

Таким чином, підсумовуючи отримані мікроскопічні дані, можна зробити наступні узагальнення.

1. Інтактний контроль. Структурна організація слизової піхви відповідала нормі.
2. Контрольна патологія (КП). Інтравагінальне введення 10% розчину азотнокислого срібла викликало у піхві щурів на 6-й день досліді масивне некротичне ураження, яке розповсюджувалося не тільки на слизову, а й на підслизову та м'язову оболонки. Поза поля некрозу виявлено набряк та запалення стромы слизової. У піхвовому епітелії виявлені патологічні зміни у вигляді його розростання, акантозу, акантолізу та дискератозу.
3. Свічки «Фітовагін» чинять виразний лікувальний ефект на слизову піхви самиць.

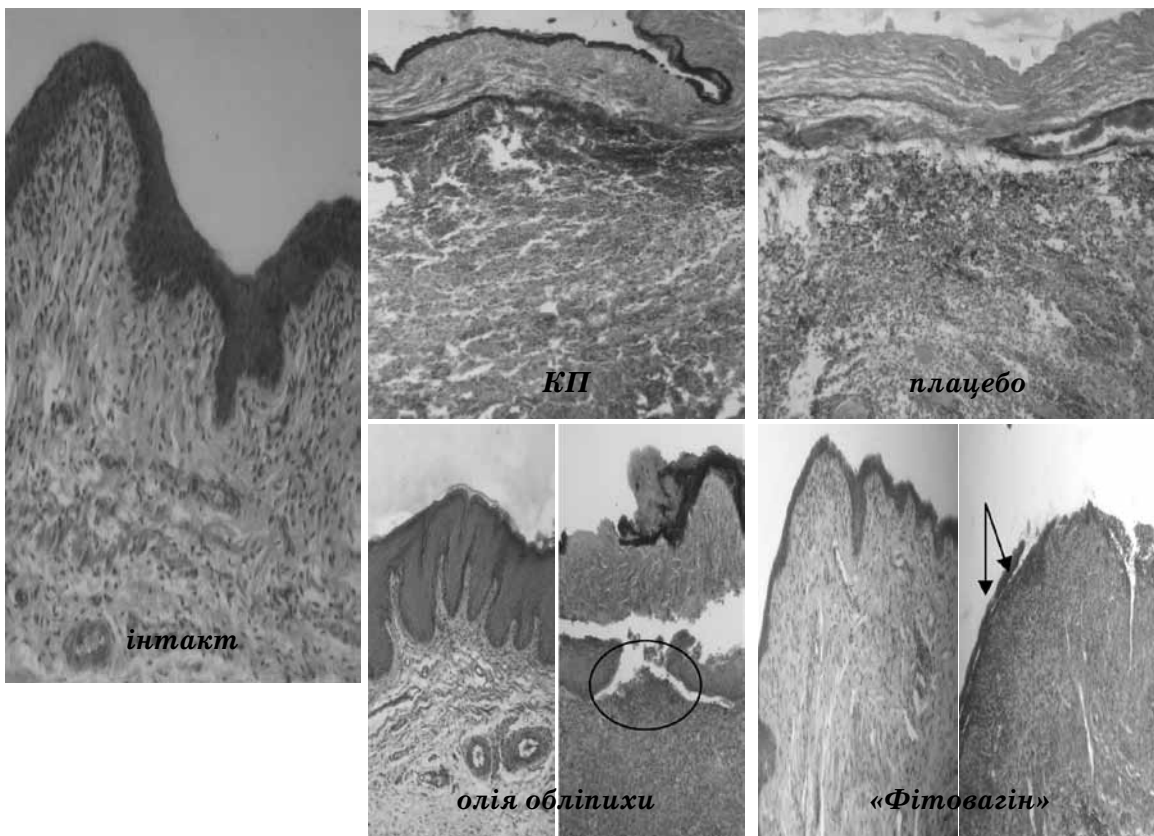




**Рис. 8.** Піхва щура після введення плацебо вагінальних свічок: а — поширений некроз стінки; б — акантозне розростання епітелію; в — дискератоз. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Майже у 66,7% щурів препарат повністю запобігає структурним та запальним змінам у ній, значно знижує патологічні прояви у стані покривного епітелію. У решти тварин свічки «Фітовагін» сприяють загоєнню дефектів, значно зменшуючи розмір останніх, активуючи репаративні процеси як у покривному епітелії, так і у стромі слизової та відновлюючи фізіологічний стан слизової на ділянках поза місцями пошкодження.

4. Препарат порівняння «Свічки з олією обліпихи» поступається досліджуваному препарату вагінальним свічки «Фітовагін» за позитивним впливом на виразність некротично-запальних процесів у слизовій піхви та виразність патологічних проявів у епітелії.
5. Основа свічок (плацебо) не чинила практично ніякого лікувального ефекту на стан піхви щурів.



**Рис. 9.** Піхва щура після інтравагінального введення розчину азотнокислого срібла. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Антоненко І. В. Оптимізація комплексного лікування хворих із запальними захворюваннями жіночих статевих органів змішаної етіології: дис. ... канд. мед. наук. — Одеса, 2006. — 144 с.
2. Чайка В. К., Заноцин О. Д. Комплаентность и эффективность в лечении хронических воспалительных заболеваний органов малого таза у женщин / В. К. Чайка, О. Д. Заноцин, О. Н. Долгошапка // Здоровье женщины. — 2006. — № 3 (27). — С. 56–60.
3. Заявка на корисну модель Україна, МПК (2010) А 61 К 33/38 Спосіб моделювання асептичного запалення слизової оболонки піхви / К. О. Степанова, О. В. Должикова, Л. М. Малоштан, А. В. Малоштан; заявник і патентовласник Національний фармацевтичний університет. — №и 2010 13756. Заявл.: 07.02.2011.
3. Компендиум 2007 — лекарственные препараты: В 2-х т./[В. Н. Коваленко, А. П. Виктор, В. И. Мальцев, С. В. Сур и др.] / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. — К.: Морион, 2007. — 2270 с.
4. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники. — М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. — 424 с.
5. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Докл. АН СССР, 1979. — Т. 247, № 6. — С. 1513–1516.

**УДК 615.322: 615.454.2: 618.15–002**

**А. В. Малоштан, А. Л. Загайко, Ю. Б. Ларьяновская**

**ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ СТЕНКИ ВЛАГАЛИЩА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВАГИНИТЕ И ЛЕЧЕНИЕ ПЕССАРИЯМИ «ФИТОВАГИН».**

Исследованное состояние слизистой оболочки, подслизистой оболочки и других слоев стенки влагалища крыс при экспериментальном вагините, вызванном введением во влагалище исследуемых животных нитрата серебра, сопровождается некротическими изменениями во влагалище. Лечебное применение пессариев «Фитовагин», в состав которых входят растительные эфирные масла и экстракты, улучшает состояние стенки влагалища и превышает действие свечи с маслом облепихи по репаративной активности.

**Ключевые слова:** пессарии; эфирные масла; вагинит

**UDC 615.322: 615.454.2: 618.15–002**

**A. V. Maloshtan, A. L. Zagayko, Yu. B. Laryanovskaya**

**HISTOMORPHOLOGICAL RESEARCH OF RATS VAGINA'S WALL STATE BY EXPERIMENTAL VAGINITIS AND TREATMENT WITH PESSARIES «PHYTOVAGIN»**

The state of the mucosa, submucosa and other layers of the vaginal wall under experimental vaginitis caused by the administration into the vagina argenticum nitrate has been investigated. This process accompanied by necrotic changes in the vagina. Therapeutic use of pessaries «Phytovagin», consisting of plant extracts and essential oils, improves the state of the vaginal wall and renders better reparative activity than pessaries with the oil of sea buckthorn.

**Key words:** pessaries; essential oils; vaginitis

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Кафедра біологічної хімії  
Тел. (057) 706-30-99

Надійшла до редакції:  
07.11.2011 р.

# *Мікробіологія*

**Рецензенти рубрики:**

**Залюбовська О.І.**  
*д. мед. н., професор*



УДК 616.921.5-085.24

Н.І. Філімонова, О.М. Дика, В.О. Місюрьова, Мухамед Мофтах Єлааті

*Національний фармацевтичний університет*

## РІВЕНЬ АНТИМІКРОБНОЇ ЗДАТНОСТІ ПРОБІОТИКІВ ЗАЛЕЖНО ВІД КИСЛОТНО-ЛУЖНОЇ РІВНОВАГИ

*Пробіотикотерапія є одним з перспективних напрямків корекції дисбактеріозів ШКТ, основу якої складає колонізаційна резистентність та виявлення антагоністичної дії.*

*Вивчений вплив змін кислотно-лужного середовища на рівень активності пробіотичних препаратів. Встановлено, що зсув рН до 4,0-5,0 супроводжується спрямованим впливом на бактеріоциногенну здатність досліджуваних пробіотиків.*

*Результати вивчення ефективності комплексної схеми лікування експериментального дисбактеріозу кишечника обґрунтовує доцільність одночасного застосування пробіотика з екстрактом вільхи клейкої.*

**Ключові слова:** пробіотики; кислотно-лужна рівновага; пробіотикотерапія; дисбактеріоз; комплексна схема терапії

### ВСТУП

На теперішній час пробіотикотерапія розглядається як один з перспективних напрямків корекції дисбактеріозів, у т.ч. кишечника.

За ретроспективним аналізом обґрунтування перспективності застосування біопрепаратів зі складу автохтонних мікробіоценозів в якості засобів відновлюваної коригувальної терапії дисбактеріозів пов'язане з ім'ям І.І. Мечникова та зводиться до періоду встановлення антагоністичних взаємовідносин у світі мікробів [5, 13].

Пробіотики — це живі мікроорганізми та речовини мікробного походження, які позитивно впливають при природному способі введення на фізіологічні, біохімічні та імунні реакції організму господаря через стабілізацію та оптимізацію функції його нормальної мікрофлори. Живі мікроорганізми, що входять до складу пробіотичних препаратів, за рахунок своїх метаболітів здатні змінювати рН середовища, а антибіотикоподобні речовини (бактеріоцини) пригнічують ріст і розвиток патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів [1, 2, 7, 9].

Враховуючи доцільність використання пробіотичних препаратів, слід перш за все звернути увагу на те, що основу активності цих препаратів складає забезпечення колонізаційної резистентності та виявлення антагоністичної дії за рахунок продукції органічних кислот (молочної та оцтової), інгібіторних протеїнів, у т.ч. термостабільних та термостабільних високо- і низько-

молекулярних антибактеріальних субстанцій, антибіотиків та бактеріоцинів [2, 3, 6, 8]. Здатність колонізувати слизову складається з адгезії мікроорганізмів до епітеліальних клітин кишечника, конкуренції за рецептори зв'язування і блокади адгезії та колонізації слизових патогенними і умовно-патогенними мікробами за участю факторів як імуноглобулінової природи, так і неспецифічних факторів захисту організму господаря [7, 10, 11, 12]. Згідно з узагальненими мікробіологічними відмінностями доведено, що типові представники індигенної (автохтонної) мікрофлори у притаманних фізіологічних потенціях виявляють еволюційно сформовану схильність до кислотних показників рН вмісту у відповідних топонемах природної персистенції.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В якості маркерних представників пробіотиків відповідно використані біфідумбактерин, колибактерин, лактобактерин та біфікол. Одночасно в якості тестованої мікробіологічної моделі використаний колекційний набір референтних штамів, включаючи: *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 25853.

Вплив відповідних показників рН бульйону Мюллера-Хінтона (БМХ) на здатність пробіотиків до продукування бактеріоцинів оцінений за результатами визначення антимікробних властивостей зразків бульйонних фільтратів.

В якості бактеріоцинів використані стерильні фільтрати бульйону Мюллера-Хінтона, отримані в результаті 7-добового культивування відповідних пробіотиків. Концентраційне дозу-

© Н.І. Філімонова, О.М. Дика, В.О. Місюрьова, Мухамед Мофтах Єлааті, 2011



вання бактеріоцинів визначено на основі сухого залишку.

Статистичне узагальнення отриманих результатів здійснено за програмою Statistica 6.0 [4].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Враховуючи те, що клініко-патогенетичний перебіг гастритів супроводжується зсувами кислотно-лужної рівноваги, видається обґрунтованою імітацією умов, притаманних цим станам *in vitro*. З цієї метою для культивування пробіотиків використані зразки БМХ з відповідними параметрами рН від 4,0 до 9,0, а результати враховані шляхом оцінки антимікробної активності бульйонних фільтратів, що вміщують екстрацелярно продуковані досліджуваними пробіотиками бактеріоцини.

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить, що культивування обраних пробіотиків у середовищах з відповідними показниками рН супроводжується спрямованим впливом на бактеріоциногенну здатність досліджуваних пробіотичних препаратів.

Згідно з отриманими даними, які представлені у табл. 1, доведено, що при певних показниках рН БМХ досліджені пробіотики виявляють антимікробну активність по відношенню до піогенноутворюючих грампозитивних і грамнегативних тест-мікробів. Універсально до обраних пробіотиків встановлено, що оптимальними по відношенню до потенціювання бактеріоциногенної функції виявились зразки БМХ з рН 4,0–5,0. За цих умов спрямованого культивування усереднена антистафілококова активність бактеріоцинів складала 32,0 мкг/мл, а протисиньогнійна — відповідно 56,2 мкг/мл. При збільшенні рН у зразках БМХ до 6,0 простежене зменшення протистафілококової активності фільтратів у 2,2 рази, а протисиньогнійної — у 1,4 рази. У зразках БМХ з рН 7,0 простежується зниження антимікробної активності фільтратів становило 3,2 та 2,2 рази; при збільшенні рН до 8,0

мінусові зсуви у виявах антимікробних властивостей бульйонних фільтратів відповідно знижувались у 4,8 та 3,3 рази. У свою чергу, лужне збільшення рН у зразках БМХ до 9,0 практично нівелювало природну здатність відповідно культивованих пробіотиків до відтворення бактеріоциногенної функції (табл. 1.).

З метою оптимального наближення до клінічних форм дисбактеріозів ШКТ експеримент відтворений в умовах додаткового інфекційного обтяження піддослідних тварин шляхом застосування стандартизованої завісі добових агарових культур референтних штамів *S.aureus* і *P. aeruginosa*.

В експерименті було задіяно 10 піддослідних гвінейських свинків, що відповідно були поділені на 2 групи по 5 тварин у кожній. Посхемне лікування піддослідних тварин здійснено шляхом щодобового однократного перорального введення композиційної суміші біфідумбактерину з екстрактом вільхи клейкої та біфідумбактерину з соком подорожника в загальному об'ємі 1,0 мл.

В умовах здійсненого перорального суперінфікування нелікованих тварин, хворих на первинно підтверджений дисбактеріоз ШКТ, простежений 100% за летальністю септикопемічний перебіг з патоморфологічним домінуванням прободних виразкових колітів і перитонітів.

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить (див. табл. 2), що у групі тварин, лікованих композиційною сумішшю біфідумбактерину з екстрактом вільхи клейкої, зникли 43–57% клінічних ознак здійсненого суперінфікування, усереднені терміни видужування у терміни 4–5 добового лікування, попередження ознак рецидивного перебігу у патогенезі інфекційно обтяжених дисбактеріозів ШКТ у гвінейських свинків.

Таким чином, отримані результати показали, що прогнозовані лікувально-профілактичні ефекти від пробіотикотерапії дисбактеріозів кишечника принципово залежать від комбіновано-

Таблиця 1

### СПРЯМОВАНИЙ ВПЛИВ РН ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА НА ЗДАТНІСТЬ ПРОБІОТИКІВ ДО ПРОДУКЦІЇ БАКТЕРІОЦИНІВ

рН зразка БМХ	Антимікробна активність пробіотиків, мкг/мл							
	біфідумбактерин		біфікол		колібактерин		лактобактерин	
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
4,0	32,6±3,2	53,5±6,7	25,7±3,4	43,2±4,8	27,3±2,8	60,6±7,8	34,4±5,2	56,4±6,6
5,0	37,2±4,5	57,3±4,8	28,0±2,6	47,6±5,6	32,8±3,4	67,2±5,4	38,0±6,7	64,7±5,8
6,0	65,5±5,8	93,7±7,5	76,3±6,4	92,5±7,7	68,4±5,5	107,4±6,7	75,6±4,8	110,8±8,4
7,0	93,7±8,4	110,5±10,4	106,7±8,5	127,5±11,4	98,5±7,3	123,5±9,4	108,3±9,5	134,5±11,6
8,0	146,7±12,6	175,7±12,6	164,5±12,3	210,8±14,3	165,4±9,7	178,6±11,7	146,5±11,7	185,7±12,4
9,0	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500



**СПІВСТАВЛЕНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КОМПОЗИЦІЙНИХ СХЕМ  
ЛІКУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИСБАКТЕРІОЗУ ШКТ**

Показники	Композиційні схеми лікування			
	пробіотик+сік подорожника		пробіотик+альтан	
	до лікування	після лікування	до лікування	після лікування
Кількість гвінейських свинок	5		5	
Клінічні показники до/після лікування:				
- динамія	5	0	5	0
- анорексія	5	0	5	0
- здуття ШКТ	5	1	5	0
- розлади ШКТ	5	1	5	0
- терміни одужування (діб)	11-13		4-5	
- рецидивний перебіг	3 (60%)		1 (20%)	
Відновлення структури мікробіоценозів ШКТ	++++/++		++++/+	

Примітка:++++ — кількісне домінування КУО біогенних коків,  
 ++ — поодинокі сполучення КУО 2-3 видів транзиторних мікроорганізмів;  
 + — поодинокі КУО одного з видів транзиторних мікроорганізмів.

го суміщення пробіотиків з фармакологічними засобами, здатними до відновлення фізіологічно значущих параметрів кислотно-лужної рівноваги вмісту кишечника.

**ВИСНОВКИ**

1. Культивування пробіотиків у середовищах з показниками рН 4,0–5,0 супроводжується спрямованим впливом на бактеріоциногенну здатність досліджуваних пробіотичних препаратів.
2. Серед препаратів, здатних корегувати кислотно-лужну рівновагу, особливу увагу привертає екстракт вільхи клейкої (препарат «Альтан»), що поєднує противиразкову, протизапальну та антимікробну дію. Останнє дозволяє рекомендувати його у комплексному застосуванні для профілактики та лікування дисбактеріозу кишечника.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Бережной В.В. Пробиотики в комплексной терапии детей с атопическим дерматитом / В.В. Бережной, С.А. Крамарев, Д.С. Янковский, Г.С. Дыменг // Здоровье женщины. — 2003. — №1(13). — С. 95–97.
2. Бондаренко В.М. Пробиотики и механизмы их лечебного действия / В.М. Бондаренко, Р.П. Чупринина, Ж.И. Аладышева, Т.В. Мацулевич // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. — 2004. — №3. — С. 83–87.

3. Бондаренко В.М., Грачева Н.М. Пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактики кишечных дисбактериозов // Фарма-тека. — 2003. — №7 — С. 56–63.
4. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. — 2-е изд. — С.Пб.: Питер, 2003. — 688 с.
5. Запруднов А.М., Мазанкова Л.Н. Микробная флора кишечника и пробиотики: [метод. пособие]. — М., 2001. — 32 с.
6. Лыкова Е.А. Характеристика и алгоритм применения пробиотиков. — Медик-21 век, 2005.
7. Салливан А., Норд К. Место пробиотиков в терапии инфекций желудочно-кишечного тракта у человека // Клин. микробиол. и антимикробная химиотерапия. — 2003. — Т. 5, №3. — С. 275–284.
8. Collins M.D. // Am. J. Clin. Nutr. — 1999. — Vol. 69, (suppl.) — 1052S–7S.
9. Cunningham-Rundles S. // Am. J. Gastroenterol. — 2000. — Vol. 95, №1. — P. S22–25.
10. Lewis S.J., Burmeister S.O. // J. Clin. Nutr. — 2005. — № 9(6). — P. 776–780.
11. Lin M.Y., Chen T.W. // J. Food Drug Anal. — 2000. — №8. — P. 97–102.
12. Naidu A.S., Bidlack W.R., Clemens R.A. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. — 1999. — №39(1). — P. 13–126.
13. Senna V., Sawada K., Mitsuoka T. // Microbiol. Immunol. — 1984. — №28. — P. 975–86.

## УДК 616.921.5-085.24

**Н.И. Филимонова, Е.М. Дикая, В.А. Мисюрева, Мухаммед Мофтах Елаати**  
**УРОВЕНЬ АНТИМИКРОБНОЙ СПОСОБНОСТИ ПРОБИОТИКОВ В**  
**ЗАВИСИМОСТИ ОТ КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОГО БАЛАНСА**

Пробиотикотерапия является одним из перспективных направлений коррекции дисбактериозов ЖКТ, основу которой составляет колонизационная резистентность и изучение антагонистического действия.

Изучено влияние изменений кислотно-щелочной среды на уровень активности пробиотических препаратов. Установлено, что сдвиг pH до 4,0-5,0 сопровождается направленным воздействием на бактериоциногенную способность изучаемых пробиотиков.

Результаты изучения эффективности комплексной схемы лечения экспериментального дисбактериоза кишечника обосновывает целесообразность одновременного применения пробиотика с экстрактом ольхи клейкой.

**Ключевые слова:** пробиотики; кислотно-щелочное равновесие; пробиотикотерапия; дисбактериоз; комплексная схема терапии

## UDC 616.921.5-085.24

**N.I. Filimonova, H.M. Dikaya, V.A. Misyureva, Mohammed Moftah Elaati**  
**LEVEL OF ANTIMICROBIAL ABILITY OF PROBIOTICS**  
**DEPENDENT ON ACID-ALKALINE BALANCE**

Probioticotherapy is one of the promising directions of correction dysbacteriosis of gastrointestinal tract, which was based on colonization resistance and the study of the antagonistic action.

The effect of changes in the acid-alkaline environment on the level of activity of probiotic preparations. It is established that the shift to pH 4.0-5.0 is accompanied by a directional effect on the bacteriocynogenic ability of studied probiotics.

The results of studying the effectiveness of comprehensive regimen of experimental intestinal dysbiosis proves the feasibility of simultaneous application of probiotics with an extract of alder adhesive.

**Key words:** probiotics; acid-alkaline balance; probioticotherapy; dysbacteriosis; complex scheme of therapy

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Кафедра мікробіології  
Тел. (057) 706-30-67

Надійшла до редакції:  
25.10.2011 р.



# *Біофармацевтичні дослідження*

**Рецензенти рубрики:**

**Рубан О. А.**

*д. фарм. н., професор*



УДК 615.454.1.22:615.262.1

Є.В. Гладух, Є.А. Безрукавий, Ю.В. Шмиррова

*Національний фармацевтичний університет*

## РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАН У ДРУГІЙ ТА ТРЕТІЙ ФАЗАХ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ

*Розроблено технологію виробництва м'якої лікарської форми з цинковою сіллю кислоти гіалуронової та тіотриазоліном для застосування на стадіях репарації ран. Досліджені структурно-механічні властивості та термічна і колоїдна стабільність отриманого лікарського засобу.*

*Ключові слова:* технологія; мазь; емульсія; термічна стабільність; колоїдна стабільність; в'язкість

### ВСТУП

Технологія виробництва багато в чому визначає стабільність препарату, швидкість його вивільнення з лікарської форми, інтенсивність всмоктування — тобто, терапевтичну ефективність.

Головне завдання технології при виготовленні мазей полягає в тому, щоб лікарські речовини були максимально дисперговані і рівномірно розподілені по всій масі основи; консистенція мазі забезпечувала легкість нанесення і рівномірний розподіл по шкірі або слизовій оболонці; стабільність мазі гарантувала незмінність її складу при застосуванні та зберіганні.

Одним з найважливіших факторів, що впливають на якість та стабільність емульсійних систем, є технологія приготування. Процес отримання емульсії включає різні технологічні стадії: нагрівання, змішування, гомогенізацію, швидкість охолодження та інші. Всі ці стадії в цілому визначають такі характеристики емульсії як стабільність, ступінь дисперсності, консистентні властивості тощо. [2, 6].

При виробництві емульсійних лікарських засобів найбільш важливим є порядок змішування водної та олійної фаз. Відомо декілька найбільш поширених методів отримання емульсії: пряме емульгування (додавання внутрішньої фази до зовнішньої); поперединне додавання обох фаз до емульгатора; емульгування осадженням; зворотне емульгування або метод інверсії фаз (додавання зовнішньої фази до внутрішньої) [5, 7].

Найбільш широко розповсюдженим у фармацевтичній технології є метод інверсії фаз. Він дозволяє одержувати дрібнодисперсні емульсійні системи. В даному випадку для одержання емульсії першого роду нагріту водну фазу частинами додають до олійної фази [2, 5].

Таким чином, метою даної роботи була розробка технології та дослідження лікарського засобу з цинковою сіллю кислоти гіалуронової та тіотриазоліном на основі емульсійної системи першого роду.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження в даній роботі були компоненти основ м'яких лікарських форм, допоміжні речовини, мазь з цинковою сіллю кислоти гіалуронової та тіотриазоліном.

Емульсії готували методом інверсії фаз. Емульгатори з олією сплавляли при температурі  $75 \pm 5^\circ\text{C}$ . Окремо готували розчин діючих речовин та нагрівали до цієї ж температури, що і олійна фаза. Консерванти розчиняли у гідрофільному неводному розчиннику і додавали до води, далі цю суміш (приблизно 10%) додавали в олійну фазу. Емульгували за допомогою апарату типу ГАРТ при 5000 об/хв і охолоджували на водяній бані та отримували емульсію типу в/о. При температурі  $50 \pm 5^\circ\text{C}$  додавали решту суміші води і гідрофільного неводного розчинника, нагріту до тієї ж температури, відбувалася інверсія фаз, перемішування продовжували до охолодження емульсії до кімнатної температури [4].

Для визначення властивостей отриманих емульсійних систем використовували наступні методи: визначення термічної та колоїдної стабільності, структурно-механічні властивості (здатність до намазування, здатність до екструзії).

Для визначення термічної та колоїдної стабільності використовували відому методику відповідно до ГОСТ 29188.3-91. Зразок вважали стабільним, якщо після центрифугування в пробірках не спостерігали розшарування. Якщо хоча б в одній з пробірок спостерігали розшарування зразка або виділення осаду, аналіз проводили повторно з новими порціями. Якщо

© Є.В. Гладух, Є.А. Безрукавий, Ю.В. Шмиррова, 2011



при повторному тесті виявляли хоча б одну пробірку з розшаруванням, зразок вважали нестабільним.

Вивчення намазування мазі проводили відразу після приготування. Зразок мазі (25,0 г) поміщали до зовнішнього циліндра ротаційного віскозиметра «Реотест-2», який попередньо термостатували при температурі  $34 \pm 1^\circ\text{C}$  в інтервалі швидкості зсуву 145,8 та  $243,0 \text{ c}^{-1}$ , при яких моделюється намазування гідрофільних мазей на шкірний покрив. Для кожної швидкості зсуву брали окрему наважку зразка. Показання шкали вимірювального приладу віскозиметра реєстрували через 2 та 15 с його роботи [1].

Екструзійну здатність визначали за наступною методикою: наважку досліджуваного зразка (25,0 г) поміщали у вимірювальний циліндр віскозиметра «Реотест-2», який потім термостатували при температурі  $20^\circ\text{C}$ . Дослідження проводили в діапазоні дотичних напруг при швидкостях зсуву від  $3,0$  до  $1312,0 \text{ c}^{-1}$  [1].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті попередніх досліджень було встановлено склад лікарського засобу, обґрунтовано введення гідрофільних неводних розчинників, температурні режими виробництва.

Для виробництва сучасних мазей використовують мазеві основи складного типу, що включає як рідкі, так і тверді компоненти, за допомогою яких формуються не тільки лікувальна ефективність, але і споживчі характеристики з урахуванням їх призначення. З цією метою використовуються різні допоміжні речовини, які у виробництві лікарських препаратів можуть виконувати наступні функції: розчинників, змочувачів, диспергаторів, активаторів всмоктування, консервантів, осмотично-активних, консистентних речовин, емульгаторів, загусників, антиоксидантів і т.п. У таблиці наведено склад розроблюваного лікарського засобу з зазначенням функціонального призначення компонентів.

Для всебічного дослідження препарату, що розробляється, недостатньо провести аналіз по тих показниках, які закладені в основу МКЯ. Певні фізичні і фізико-хімічні властивості м'яких лікарських засобів для місцевого застосування рекомендується досліджувати ще на етапі їх підготовки до впровадження в промислове виробництво. Це дозволяє адекватно і всесторонньо оцінити споживчі характеристики препарату, що розробляється, і якщо потрібно, скорегувати склад і технологію його виробництва.

До таких властивостей, перш за все, відносяться реологічні параметри препарату, термічна і колоїдна стабільність.

Таблиця

#### СКЛАД ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Найменування компонента	Функціональне призначення компонента	Кількість, г
Цинкова сіль кислоти гіалурунової	Діюча речовина	0,1
Тіотриазолін	Діюча речовина	1,0
Олія кукурудзяна	Масляна фаза основи	до 100,0
Макрогол-400	Гідрофільний неводний розчинник	
Препарат ОС-20	Емульгатор першого роду	
Моностеарат гліцерину	Емульгатор другого роду	
Ніпагін	Консервант	
Ніпазол	Консервант	
Вода очищена	Компонент основи	

Найбільш об'єктивно стабільність емульсійних мазей типу олія/вода характеризують експериментальні дослідження їх стійкості щодо перепадів температури — термічна стабільність та центрифугування — колоїдна стабільність. При аналізі одержаних зразків мазі різних серій не спостерігалось розшарування фаз емульсійної системи. Одержані нами результати свідчать, що розроблювана мазь різних серій є колоїдною та термостабільною.

Державна фармакопея України вимагає, щоб мазі мали завжди постійні реологічні характеристики, оскільки останні відображають як лікувальні, так і споживчі властивості готових лікарських препаратів. Ця вимога пов'язана з отриманням лікарського складу з оптимальними структурно-механічними (реологічними) властивостями при його конструюванні, відтворенні і збереженні цих властивостей в процесі технологічної обробки складових компонентів і виробництва ліків, а також при зберіганні і вживанні готового продукту споживачем. При цьому необхідно враховувати взаємний вплив як складових компонентів, що обумовлюють консистенцію мазі, так і зовнішніх чинників (температури, способу і тривалості обробки, умов і часу зберігання, транспортування і т.п.), які впливають на консистенцію готового продукту [1, 3].

Оцінку намазування (зручність і легкість нанесення лікарського засобу на шкірні покриви) оцінювали по тих зусиллях, які докладаються для розподілу на поверхні шкіри певної кількості препарату. Цей процес аналогічний процесу, що відбувається під час зрушення випробовуваного зразка в ротаційному віскозиметрі, а зусилля, затрачене на намазування, є не чим іншим, як

напругою зрушення, яка характеризує опірність зразка деформаціям зсуву при певній швидкості.

Для визначення намазування будували реограму плинину мазі в координатах швидкість зсуву — напруга зсуву. Одержану реограму наносили на графічне зображення оптимуму реології намазування для гідрофільних систем типу о/в, границі якого обмежені точками А, Б, В, Г, Д, Е, К, Л, М [1]. На рис. 1 наведена обмежена реограма плинину мазі.

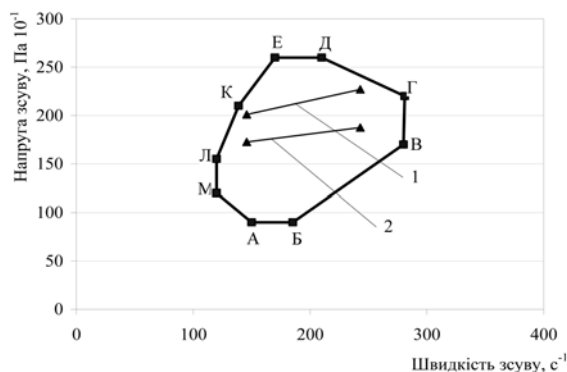


Рис. 1. Обмежена реограма плинину мазі:  
1 — через 2–3 с;  
2 — через 15 с.

З рис. 1 видно, що намазуваність дослідного зразка задовільна: криві плинності не виходять за межі реологічного оптимуму.

Про екструзійну здатність (зусилля, необхідне для видавлювання мазі з туби або дозатора при фасуванні) можна судити по величині напруги зсуву. Для визначення цього показника будували реограми течії (рис. 2) в координатах: швидкість зсуву — напруга зсуву. Одержані реограми наносили на графічне зображення оптимуму реології екструзійної здатності для гідрофільних систем типу о/в. Район оптимуму визначений в результаті кореляції даних інструментального і органолептичного методів екструзійної здатності більшого числа модельних систем. Екструзія випробовуваного зразка буде визнаватися задовільною в тому випадку, якщо реограми плинину зразка не виходять за межі площі

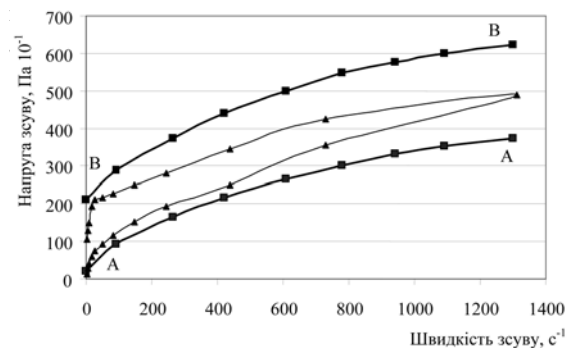


Рис. 2. Залежність напруги зсуву від швидкості зсуву дослідного зразка.

Як видно з рис. 2, реограма плинину мазі не виходить за межі площі, обмеженої районом оптимуму реології екструзії, що свідчить про добру консистенцію мазі.

Результати проведених досліджень були враховані при розробці технології одержання мазі в промислових умовах, яка у вигляді технологічної схеми наведена на рис. 3 і складається з таких стадій: приготування олійної фази, приготування розчину гіалуронату цинку та тіотриазоліну, приготування розчину консервантів у макроглі-400, отримання емульсії, гомогенізація, охолодження мазі, фасування мазі в туби, пакування туб у пачки, пакування пачок в ящики.

Таким чином, на основі одержаних результатів можна зробити висновок, що досліджувана мазь має достатню тиксотропність, спроможна розріджуватись на шкірі при нанесенні, добре намазуватись та здатна до екструзії з туб. Крім того, консистенція мазевої основи і мазі є задовільною. Визначення структурно-механічних властивостей мазі свідчать, що вона належить до структурованих систем, має тиксотропні властивості, що обумовлює добрі споживчі (легкість та зручність нанесення) та технологічні (фасування) властивості.

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено технологію одержання м'якої лікарської форми на емульсійній основі для місцевого лікування ран у другій та третій фазах ранового процесу.
2. Вивчені структурно-механічні властивості мазі. Встановлено, що мазь, яка досліджувалась, являє собою неньютонівську рідину та має задовільні показники намазування та екструзійної здатності.
3. Вивчено термічну і колоїдну стабільність розробленої лікарської форми.
4. Розроблена промислова технологія виробництва мазі.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

### ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аркуша А.А. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимума концентраций: дис. ... канд. фармацевт. наук: 15.00.01 / А.А. Аркуша. — Х., 1982. — 184 с.
2. Гладух Є.В. Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу і технології таблеток і мазі з поліфенольними сполуками рослин роду вільха: дис. ... докт. фармацевт. наук: 15.00.01 / Є.В. Гладух. — Х., 2004. — 259 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фарма-

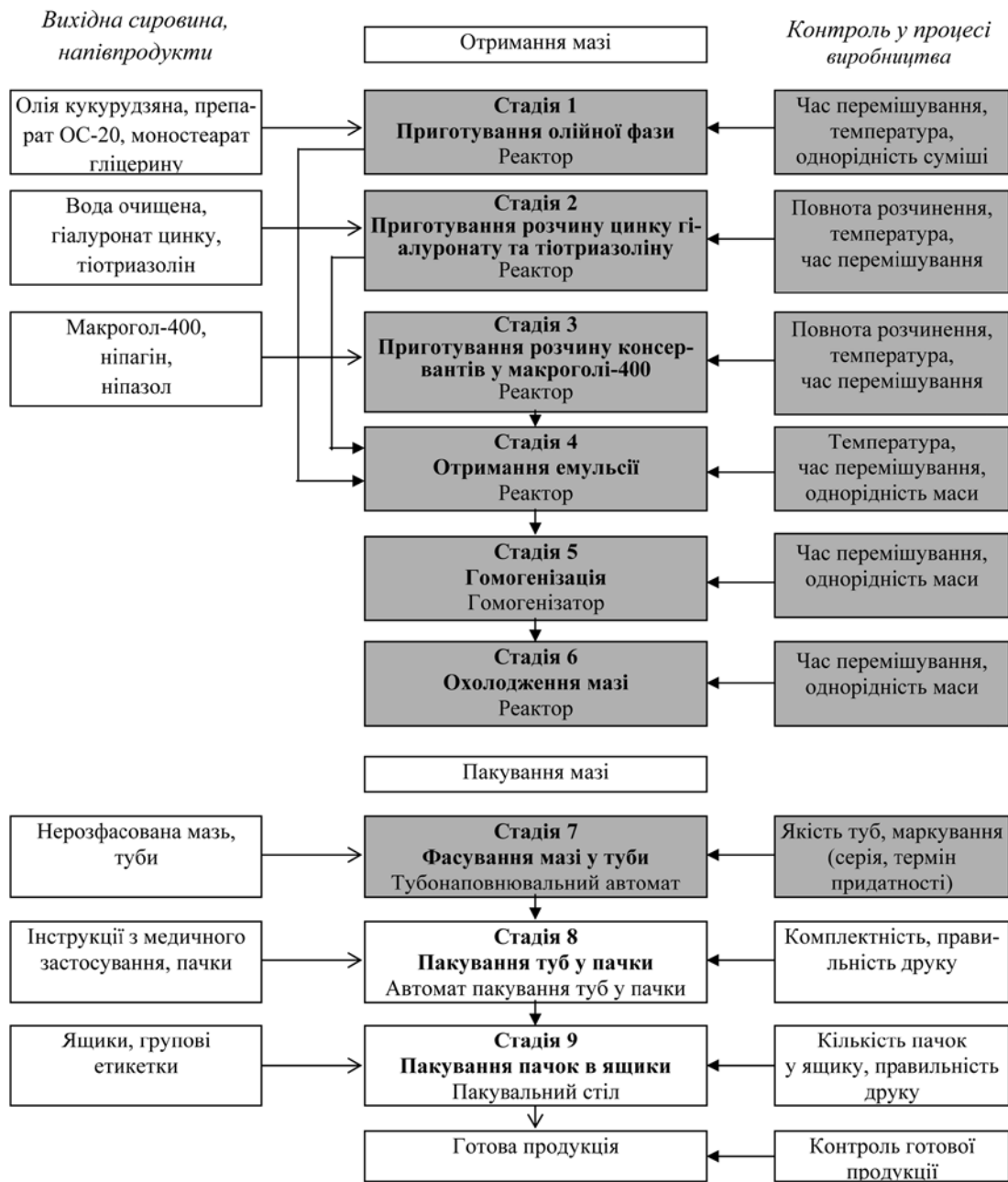


Рис. 3. Технологічна схема виробництва лікарського засобу.

- копейний центр». — 1-е вид., 1. — Х.: РІРЕГ, 2001. — Доп. 1. — 2004. — 520 с.
- Пат. 18435 Україна, МПК (2006) А 61 К 31/41, 9/06, А 61 Р 17/00. Лікарський засіб у формі мазі для застосування на другій та третій фазах ранового процесу / Є.А. Безрукавий, Є.В. Гладух — №u200604280 — Заявл.: 17.04.2006. Опубл.: 15.11.2006. — Бюл. №11 — 8 с.
  - Рубан О.А. Наукове обґрунтування складу та технології лікарських препаратів протиалергічної дії на основі полісахаридів

- смородини чорної: дис. ... докт. фармац. наук: 15.00.01 / О.А. Рубан. — Х., 2009. — 344 с.
- Jiao J. Rheology and stability of water-in-oil-in-water multiple emulsions containing Span 83 and Tween 80 / J. Jiao, D. Burgess // The American Association of Pharmac. Sci. J. — 2003. — Vol. 5, № 1. — P. 62–73.
  - Pašalić S. Modeling of the emulsion stability using fractal dimensions / S. Pašalić, P. Jovanić // Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly. — 2008. — Vol. 14, № 3. — P. 153–158.

**УДК 615.454.1.22:615.262.1**

**Е.В. Гладух, Е.А. Безрукавий, Ю.В. Шмырёва**

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН ВО ВТОРОЙ И ТРЕТЬЕЙ ФАЗАХ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА**

Разработана технология производства мягкой лекарственной формы с цинковой солью кислоты гиалуроновой и тиотриазолина для применения на стадиях репарации ран. Исследованы структурно-механические свойства и термическая и коллоидная стабильность полученного лекарственного средства.

**Ключевые слова:** технология; мазь; эмульсия; термическая стабильность; коллоидная стабильность; вязкость

**UDC 615.454.1.22:615.262.1**

**Ye.V. Gladukh, Ye.A. Bezrukaviy, Yu.V. Shmyryova**

**DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY OF SOFT MEDICINAL FORM FOR THE TREATMENT  
OF WOUNDS IN THE SECOND AND THIRD PHASES OF WOUND PROCESS**

The technology of soft medicinal form with the zinc salt of hyaluronic acid and thiotriazoline for use in stages of repair of wounds has been developed. The structural and mechanical properties and thermal and colloidal stability of the resulting product has been investigated.

**Key words:** technology; ointment; emulsion; thermal stability; colloidal stability; viscosity

*Адреса для листування:*  
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.  
Кафедра промислової фармації  
Тел. (0572) 67-91-51

Надійшла до редакції:  
28.10.2011 р.

# *Фармацевтична хімія*

## **Рецензенти рубрики:**

**Блажеевський М.Є.**

*д. фарм. н., професор*

**Мерзлікін С.І.**

*д. фарм. н., професор*





УДК 615.456.1:615.07:615.214.31:543.422.3

В.О.ГРУДЬКО, В.А.ХАНИН, Ю.В.ШМИРЬОВА

*Національний фармацевтичний університет***ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ЛУЖНОГО ГІДРОЛІЗУ ПІРАЦЕТАМУ ПРИ КІЛЬКІСНОМУ ВИЗНАЧЕННІ МЕТОДОМ ЗВОРотної АЛКАЛІМЕТРІЇ**

*Методами ВЕРХ, ІЧ- та ПМР- спектроскопії досліджено механізм лужного гідролізу пірацетаму при кількісному визначенні 20% розчину для ін'єкцій методом зворотної алкаліметрії. Встановлено, що реакція перебігає стехіометрично з утворенням (2-оксопіролідин-1-іл)оцтової кислоти; зроблено припущення, що основний вклад у похибку аналізу може вносити втрата луку або кислоти під час аналізу.*

**Ключові слова:** пірацетам; розчин для ін'єкцій; механізм реакції лужного гідролізу; ВЕРХ, ІЧ- та ПМР- спектроскопія

**ВСТУП**

На теперішній час засоби, що поліпшують пам'ять та розумову діяльність, за популярністю входять у першу десятку препаратів як на ринку України, так і у світі. За статистикою ВООЗ третина дорослого населення Європи і Японії вживає ноотропи, тому їх впевнено можна віднести до групи життєво важливих препаратів [7]. Одним з найпопулярніших залишається пірацетам. Лікувальні властивості цього препарату визначаються його здатністю поліпшувати інтегративну діяльність мозку, сприяти консолідації пам'яті, поліпшувати процеси навчання, відновлювати і стабілізувати порушені функції мозку [6,7,10].

Стандартизація препарату є ключовою позицією в процесах виготовлення, отримання дозволу на реалізацію, перевірці доброякісності препарату при зберіганні та доведенні до споживача. Для кількісного визначення пірацетаму в літературі описано ряд хімічних та фізико-хімічних методів: модифікований метод К'ельдаля [1], рідинної [2,8], газової хроматографії [4], зворотної алкаліметрії [9].

У фармацевтичній промисловості рекомендована Ph. Eur. [9] методика зворотної алкаліметрії використовується не лише для вхідного контролю субстанції, але й для тестування напівпродуктів виробництва розчину пірацетаму 20% для ін'єкцій.

З уведенням вимог належної виробничої практики (НВП) у виробництво лікарських засобів для контролю якості напівпродуктів мак-

симальний допуск вмісту діючої речовини у препараті не може перевищувати 5% [5]. У зв'язку з цією вимогою НВП різко зросли вимоги до максимально допустимої похибки аналітичних методів контролю. Тепер похибка методики аналізу не повинна перевищувати третину від допуску, тобто  $\Delta_{AS} < 1,6\%$  (на момент випуску).

Під час аналізу напівпродукту розчину пірацетаму 20% для ін'єкцій методом зворотної алкаліметрії було виявлено, що збіжність результатів кількісного визначення пірацетаму не витримує вимог ДФУ [3, с.96]:

$$D_z = S_z(\%)t(96\%, n-1) < D_{AS}$$

Вибірка отриманих значень кількісного визначення містила значення, які не входили в межі специфікації.

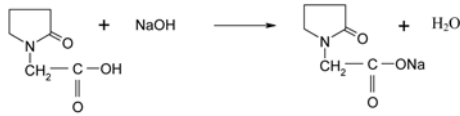
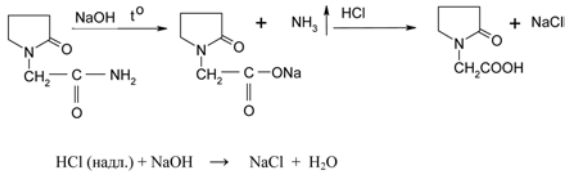
У сучасних умовах хімічні дослідження суттєво відстають від фармакологічних і технологічних. Розробники надають перевагу фізико-хімічним методам, не проводячи глибокого вивчення механізмів хімічних процесів. Можна припустити, що причиною невідповідної прецизійності відхилень цієї методики можуть бути недостатньо вивчені особливості механізму реакцій, які перебувають у процесі аналізу.

Метою нашого дослідження було з'ясування процесів, які лежать в основі рекомендованої Ph. Eur. методики кількісного визначення пірацетаму методом зворотної алкаліметрії.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

За методикою Європейської фармакопеї кількісне визначення субстанції пірацетаму здійснюють за такою схемою [9]:

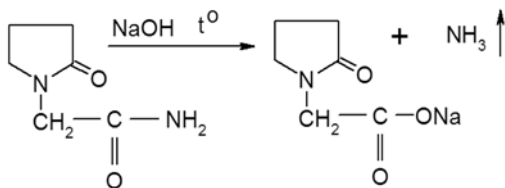
© В.О.Грудько, В.А.Ханін, Ю.В.Шмирьова, 2011



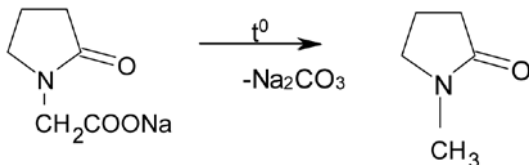
Титрант — 1 М розчин натрію гідроксиду.

Індикатор — розчин фенолфталеїну.

Першою стадією кількісного визначення є кип'ятіння водного розчину пірацетаму з додаванням 1 М розчину натрію гідроксиду. При цьому відбувається лужний гідроліз з виділенням амоніаку, який чітко ідентифікується за запахом та посинінням вологого червоного лакмусового папірця.



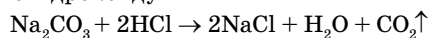
Перегрів реакційної маси може призвести до декарбоксілювання з утворенням 1-метилпіролідону:



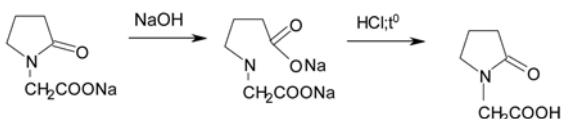
Після охолодження реакційної суміші додають надлишок 1М розчину кислоти хлоридної і знову кип'ятять впродовж 2 хв:



Можна припустити, що нагрівання необхідне для видалення  $\text{CO}_2$ , який міг бути поглинений розчином у процесі кип'ятіння з розчином натрію гідроксиду



або для замикання циклу, якщо в процесі лужного гідролізу відбулося розкривання піролідонного циклу:



Надлишок кислоти хлоридної та (2-оксопіролідин-1-іл)оцтової кислоти відтитрують 1М розчином натрію гідроксиду за фенолфталеїном.

$$\text{HCl (надл.)} + \text{NaOH} \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$$


Різницю між сумарним об'ємом натрію гідроксиду і об'ємом кислоти хлоридної перераховують на вміст пірацетаму.

Для з'ясування механізму і стехіометричності перебігу реакції ми здійснили хроматографічне дослідження модельного зразка розчину пірацетаму 20 % для ін'єкцій та реакційної маси, отриманої після його лужного гідролізу.

Хроматографування проводили за методикою ДФУ [3] на рідинному хроматографі зі спектрометричним детектором за таких умов:

- ♦ колонка Aquasil C18 (Thermo Electron Corp.) розміром 4,6x250 мм, заповнена сорбентом з розміром часток 5 мкм або аналогічна;
- ♦ рухома фаза: суміш розчинників 10 об'ємів ацетонітрилу Р і 90 об'ємів 1,0 г/л розчину дикалію гідрофосфату Р, рН якого доведено до 6,0 фосфорною кислотою Р;
- ♦ швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв;
- ♦ детектування за довжини хвилі 205 нм;
- ♦ об'єм проби, що вводиться, складає 10 мкл.

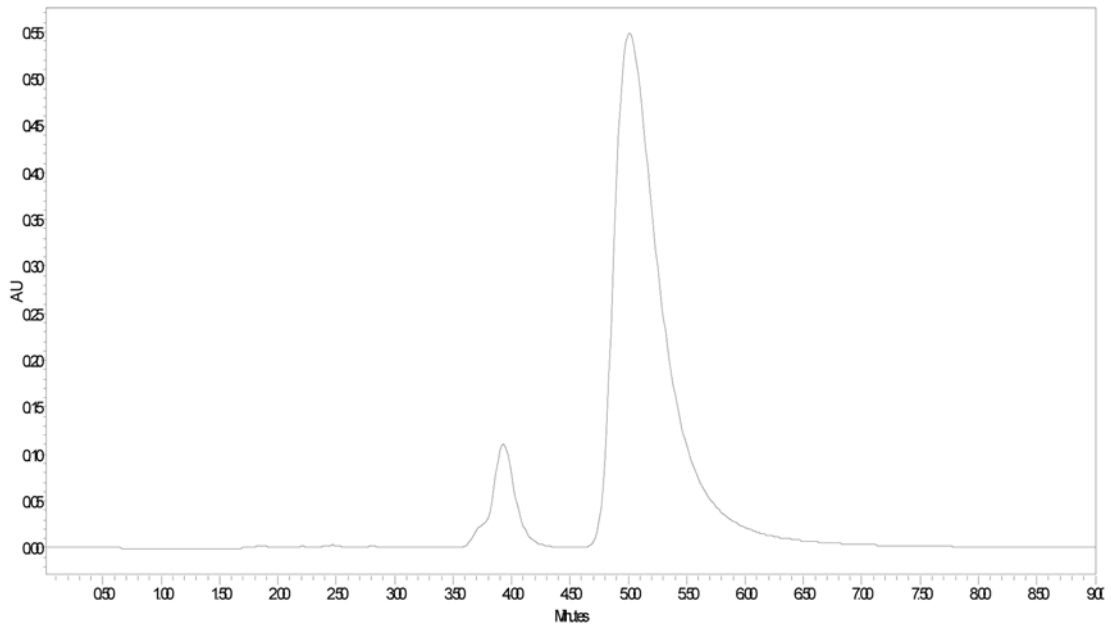
Згідно з ДФУ при хроматографуванні за зазначених умов відносний час утримання піків до піку пірацетаму, час утримання якого близько 4 хв, мають бути: домішки D ((2-оксопіролідин-1-іл)оцтової кислоти) – близько 0,8; домішки А (піролідин-2-ону (2-піролідону) – близько 1,15; домішки В (метил (2-оксопіролідин-1-іл)ацетату) – близько 2,8; домішки С (етил (2-оксопіролідин-1-іл) ацетату) – близько 6,3.

Як контрольний дослід хроматографують суміш розчинників 10 об'ємів ацетонітрилу Р і 90 об'ємів води Р. Піки, отримані на хроматограмі контрольного дослід, в розрахунок не включаються.

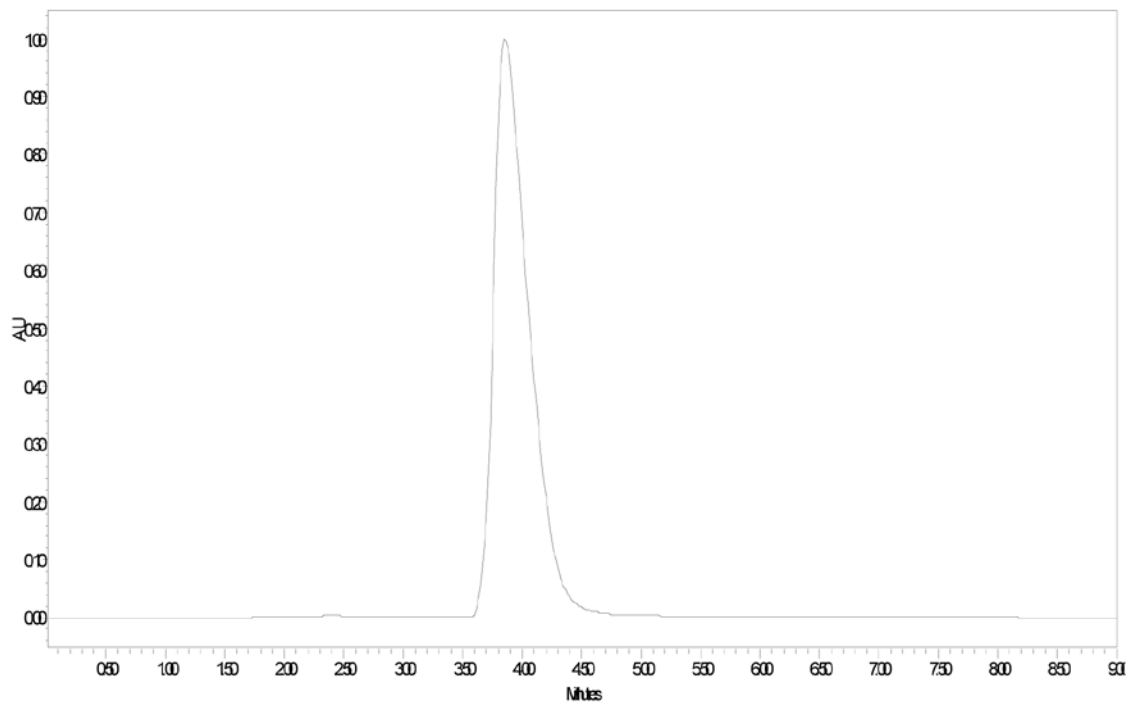
Час хроматографування випробовуваного розчину дорівнює 8-кратному часу утримання пірацетаму [6,7].

Отримані хроматограми розчинів наведені на рис. 1 та 2

На хроматограмі розчину модельного зразка розчину пірацетаму 20% для ін'єкцій спостерігається основний пік з часом виходу 5,10 хв, який відповідає пірацетаму, і додатковий пік з часом утримання 3,80 хв. Відносний час утримання цього піку 0,75 хв дозволяє припустити, що він належить домішці D субстанції піраце-



**Рис. 1.** Хроматограма розчину досліджуваного модельного зразка розчину пірацетаму 20% для ін'єкцій.



**Рис. 2.** Хроматограма випробовуваного розчину реакційної маси.

таму — (2-оксопіролідин-1-іл)оцтовій кислоті, яка згідно з ДФУ має відносний час утримання близько 0,8хв.

З метою вивчення механізму гідролізу ми змодельовали фармакопейну методику кількісного визначення субстанції пірацетаму та хроматографічно дослідили отримані продукти взаємодії.

1,5 мл модельного зразка розчину пірацетаму 20% для ін'єкцій вмістили у мірну колбу ємністю

100 мл, довели до позначки водою Р і перемішали. 50 мл отриманого розчину вмістили у конічну колбу ємністю 200 мл, додали 20,00 мл 1 М розчину натрію гідроксиду і кип'ятили на електричній плитці впродовж 15 хв з моменту закипання. Реакційну суміш охолодили, при інтенсивному перемішуванні нейтралізували фосфорною кислотою Р до рН 6,0 потенціометрично, кількісно перенесли у мірну колбу ємністю 100 мл, довели

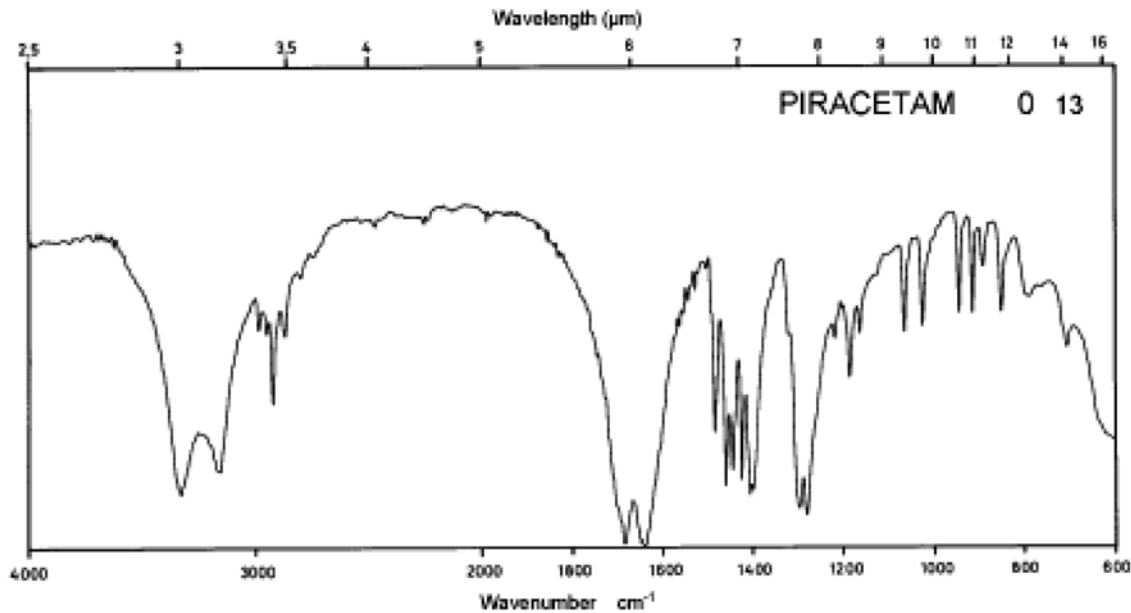


Рис. 3. ІЧ-спектр пірацетаму ( бібліотечний варіант).

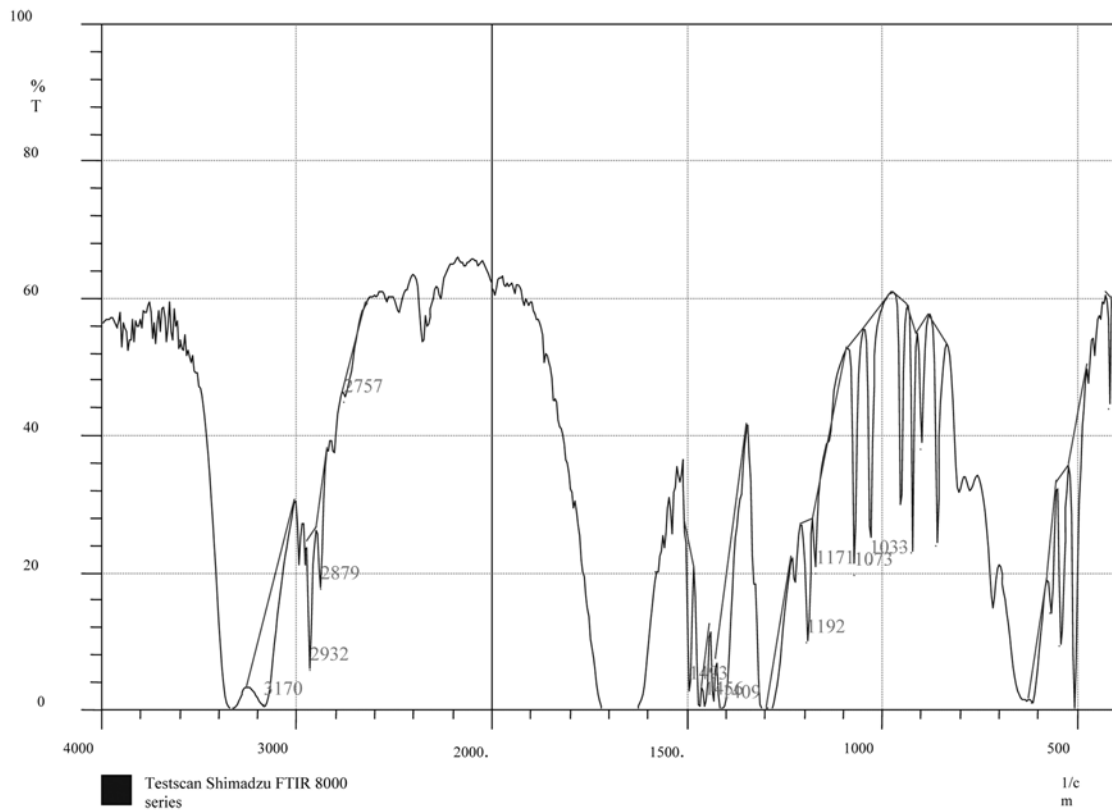


Рис. 4. ІЧ-спектр субстанції пірацетаму.

до позначки водою Р і перемішали. 7 мл отриманого розчину вмістили у мірну колбу ємністю 100 мл, довели до позначки сумішшю розчинників 10 об'ємів ацетонітрилу Р і 90 об'ємів води Р, перемішали і піддали хроматографуванню за методикою ДФУ (випробований розчин а). Результати проведеного дослідження представлені на рис. 2.

Як видно з даних рис. 2, на хроматограмі присутній лише один пік з часом утримання 3,90 хв, який відповідає продукту лужного гідролізу пірацетаму. Час його виходу співпадає з часом виходу домішки D на хроматограмі розчину субстанції пірацетаму. Таким чином, можна припустити, що цей

під належить 2-оксопіролідин-1-іл-оцтової кислоти.

Для точного з'ясування хімічної структури цієї сполуки ми здійснили її синтез і виділення з реакційної маси. Для цього 15 мл модельного зразка розчину пірацетаму 20% для ін'єкцій вмістили в конічну колбу ємністю 250 мл, додали 80 мл 1 М розчину нагріту гідроксиду, нагріли до кипіння і кип'ятили впродовж 15 хв. Реакційну суміш охолодили і додали 80 мл 1 М розчину хлористоводневої кислоти. Отриманий розчин перенесли у випарювальну чашку і випарили досуха під струменем теплого повітря. Сухий залишок проекстрагували трьома порціями по 15 мл ацетону. Ацетонові екстракти профільтрували через паперовий фільтр у випарну чашку і розчинник видалили. Субстанцію пірацетаму і продукт лужного гідролізу піддали дослідженню методами ІЧ-та ПМР-спектроскопії.

Бібліотечний і отриманий нами ІЧ-спектри пірацетаму представлені на рис. 4 та 5 [30].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ІЧ-спектр субстанції пірацетаму характеризується наявністю широкого інтенсивного роздвоєного піку з максимумами при 3340 і 3171  $\text{cm}^{-1}$ , утвореного накладанням валентних коливань зв'язаної водневим зв'язком N-H групи на коливання OH-групи адсорбованої води. Група гострих піків в області 2933, 2880 відповідає валентним коливанням C-H в групах  $\text{CH}_2$

піролідонного циклу і заміщеної оцтової кислоти. Широка інтенсивна смуга вбирання з максимумами при 1690, 1640  $\text{cm}^{-1}$  відповідає валентним коливанням карбонільних груп. Можна припустити, що коливанням карбонілу амідної групи відповідає смуга з максимумом 1690  $\text{cm}^{-1}$ . Це так звана смуга «Амід I». Смуга з максимумом при 1640  $\text{cm}^{-1}$ , вочевидь, є накладанням коливань водневозв'язаного карбонілу лактамного циклу на смугу деформаційних коливань групи  $\text{NH}_2$ , так звану смугу «Амід II». Вузька смуга коливання з максимумом 1494  $\text{cm}^{-1}$  може бути віднесена до валентних коливань зв'язку C-N піролідонного циклу. Ряд смуг з максимумами при 1456, 1410  $\text{cm}^{-1}$  можуть бути віднесені до деформаційних коливань зв'язку C-N в групах  $\text{CH}_2$ . Уширений пік з максимумами близько 1300  $\text{cm}^{-1}$  може бути інтерпретований як смуга коливань зв'язку C-O карбонільних груп. Вузький пік при 1193  $\text{cm}^{-1}$  може бути віднесений до коливань в зв'язку C-N піролідонного циклу (можливо, це смуга «Амід III»). В області «відбитків пальців» спостерігається цілий ряд вузьких, добре виділених смуг коливання, які важко інтерпретувати. Можна припустити, що вони можуть належати коливанням вуглецевого скелету та C-H груп. Широка смуга при 617  $\text{cm}^{-1}$  може бути приписана коливанням амідної групи (так звані смуги «Амід IV, V, VI»).

ІЧ-спектр продукту лужного гідролізу пірацетаму (рис. 5.) відрізняється від ІЧ-спектра пі-

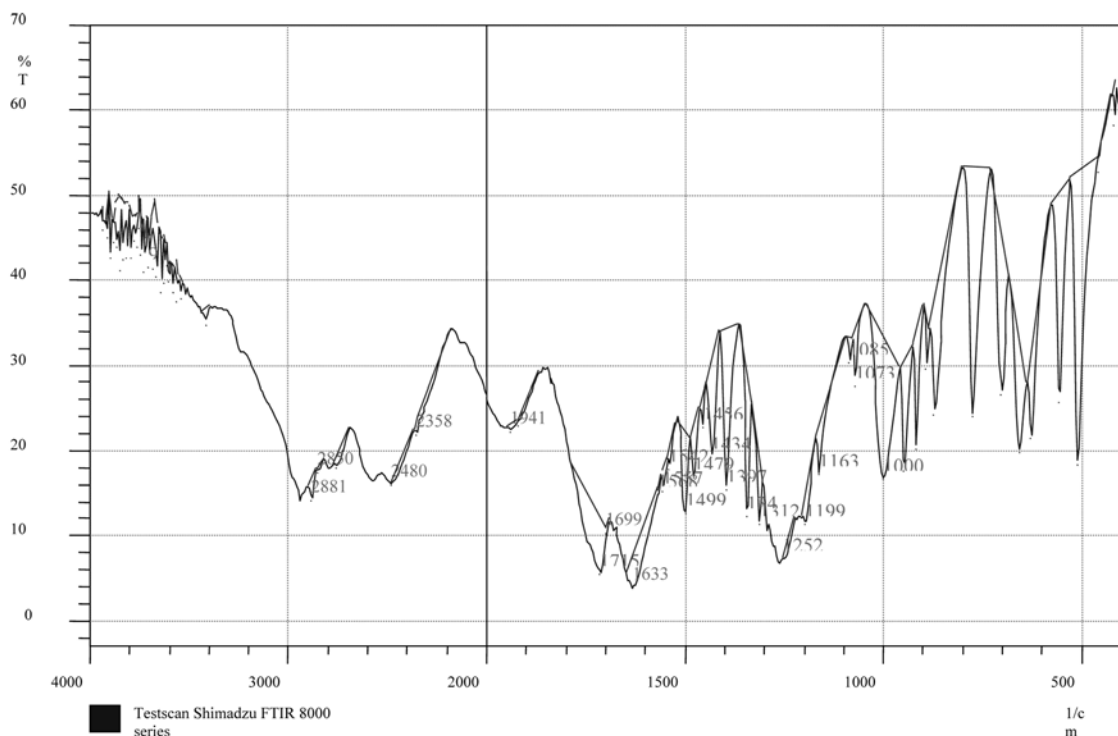


Рис. 5. ІЧ-спектр продукту лужного гідролізу пірацетаму.

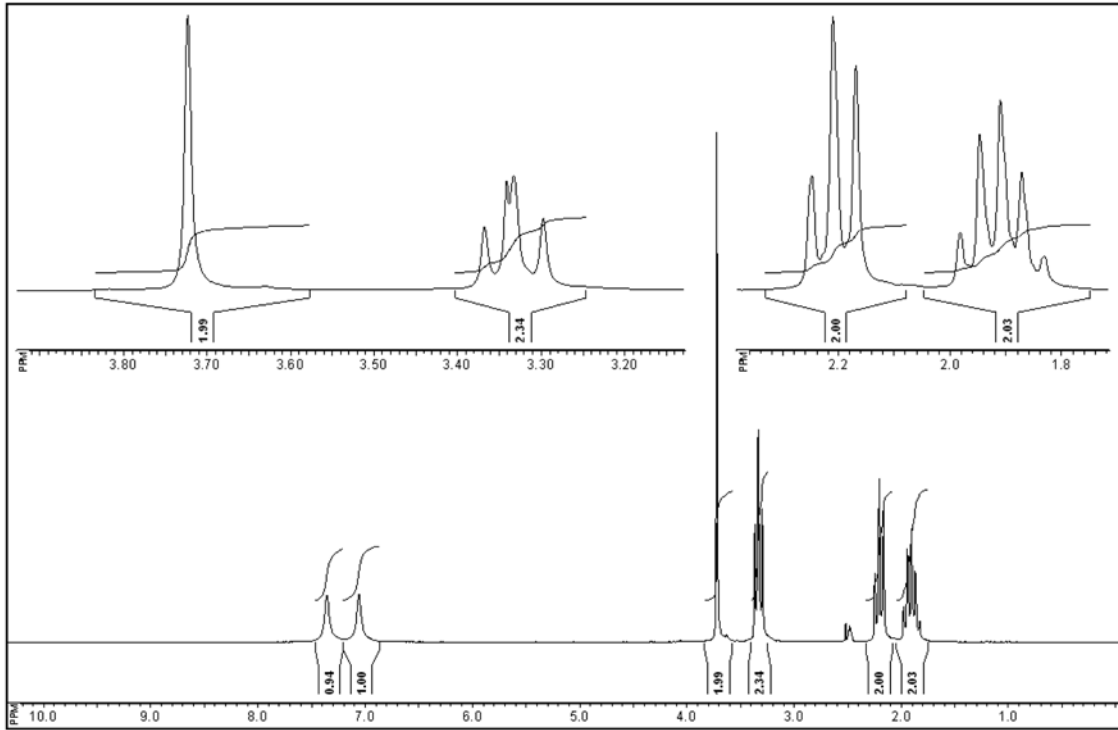


Рис. 6. ПМР-спектр субстанції пірацетаму.

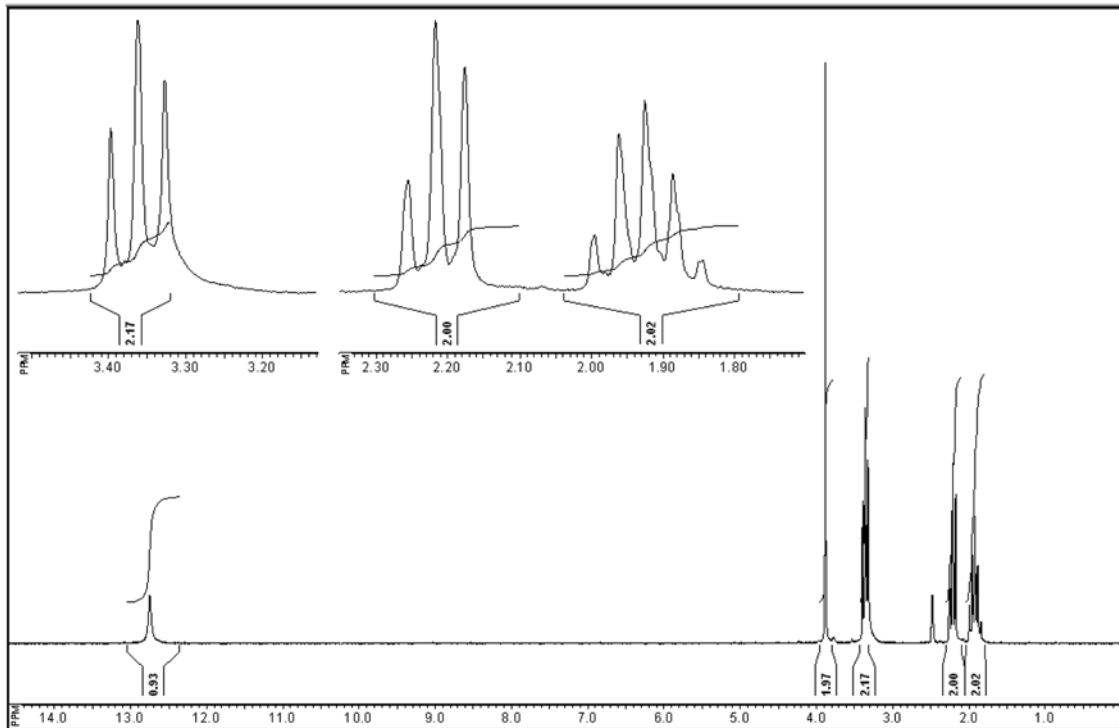


Рис. 7. ПМР-спектр продукту лужного гідролізу пірацетаму.

рацетаму тим, що в ньому відсутні інтенсивні смуги коливань в області  $3300 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ , які відповідають N–H групам. Натомість на поглинання OH-групи адсорбційної вологи накладаються піки з максимумами  $2882, 2851, 2761 \text{ cm}^{-1}$ ,

які відповідають валентним коливанням зв'язку C–N в  $\text{CH}_2$  піролідонного циклу і піролідонкарбоної кислоти. Широка роздвоєна смуга з максимумами при  $2575$  і  $2480 \text{ cm}^{-1}$  відповідає валентним коливанням димеризованої карбоксильної гру-



пи. Так само, як і в спектрі пірацетама в області 1700–1600  $\text{cm}^{-1}$  спостерігається широка роздвоєна смуга. Максимум при 1716  $\text{cm}^{-1}$ , можна віднести до коливань карбонілу карбоксильної групи, а максимум при 1633  $\text{cm}^{-1}$  — до коливань воднево зв'язаного карбонілу лактамного циклу. Так само, як і у спектрі пірацетама в області 1500  $\text{cm}^{-1}$ , спостерігається гострий пік, який можна віднести до валентних коливань зв'язку C–N піролідинового циклу.

Ряд вузьких гострих смуг, рисунок яких відрізняється від рисунка у спектрі пірацетама, але розташованих у тій самій області, може бути віднесений до деформаційних коливань зв'язку C–H в групі  $\text{CH}_2$  (смуги з максимумами 1479, 1434, 1397, 1342, 1312  $\text{cm}^{-1}$ ).

Поява уширеного піку з максимумом при 1252  $\text{cm}^{-1}$  може свідчити про наявність у структурі аналізованої сполуки зв'язку C–O карбоксильної групи. Так само, як і у пірацетама в області «відбитків пальців», спостерігаються піки, які можна віднести до коливань вуглецевого скелету та C–H груп.

ПМР-спектр субстанції пірацетама (рис. 6) характеризується наявністю квадруплету при 1,90 м. д., який відповідає розщепленій на двох суміжних  $\text{CH}_2$  групах метиленовій групі  $\text{C}_4$  піролідинового циклу. Метиленові групи при  $\text{C}_3$  і  $\text{C}_5$  дають триплети при 2,20 і 3,33 м.д. Синглет при 3,73 м.д. належить метиленовій групі залишку оцтової кислоти піролідонацетаміду. Протони амідної групи за рахунок утворення водневого зв'язку з карбонілом піролідинового циклу стають нееквівалентними і розщеплюються на два синглети при 7,05 і 7,35 м.д.

Так само, як і в спектрі субстанції пірацетама, в ПМР-спектрі продукту його лужного гідролізу (рис. 7) спостерігається квадруплет при 1,92 м.д., який відповідає розщепленій на двох суміжних  $\text{CH}_2$  групах метиленовій групі  $\text{C}_4$  піролідинового циклу. Два триплети метиленових груп розташовуються при 2,20 і 3,38 м.д. Нерозщеплений синглет ізольованих протонів заміщеної оцтової кислоти спостерігається при 3,88 м.д. В області сильного поля при 12,75 м.д. спостерігається синглет з одним протоном, який відповідає гідроксилу карбонової кислоти.

Таким чином, у результаті проведених хроматографічних і спектральних досліджень встановлено, що при лужному гідролізі пірацетама утворюється лише один продукт – 2-оксопіролідин-1-іл)оцтова кислота. Відтак збільшення невизначеності окремого визначення під час лабораторного аналізу ін'єкційного розчину пірацетама в цеховій лабораторії, швидше за все, пов'язане не з побічними реакці-

ями утворення продуктів деградації субстанції пірацетама, а з випадковими втратами проби в процесі аналізу. Оскільки при кип'ятінні з 1М титрованим розчином натрію гідроксиду має бути забезпечене вільне циркулювання повітря для видалення випаровування амоніаку, що утворюється в процесі гідролізу, в цей час може відбуватися втрата частини реакційної суміші у вигляді найдрібніших крапельок, що утворюються в процесі кипіння. Також може відбуватися втрата частини хлористоводневої кислоти при кип'ятінні реакційної маси впродовж 2 хв після її додавання.

## ВИСНОВКИ

Хроматографічне дослідження реакційної маси, отриманої після лужного гідролізу модельного зразка розчину пірацетама 20% для ін'єкцій, не виявило ніяких продуктів деградації пірацетама, які могли б впливати на кількісне визначення пірацетама. Процес проходить стехіометрично з утворенням однієї органічної речовини, яку методами ІЧ- та ПМР- спектроскопії ідентифіковано як 2-оксопіролідин-1-іл)оцтову кислоту.

Основний внесок у похибку кількісного визначення пірацетама методом зворотної алкаліметрії може вносити втрата луку або кислоти в процесі аналізу. Таким чином, випадкова похибка носить домінуючий характер по відношенню до систематичної, що робить цю методику непридатною для кількісного визначення із заданим допуском.

Методика кількісного визначення пірацетама методом зворотної алкаліметрії згідно з вимогами ПВП не може бути використана для аналізу проміжних продуктів виробництва розчину пірацетама 20% для ін'єкцій.

Для кількісного визначення необхідно використовувати метод ВЕРХ, що підтверджується включенням цієї методики до Ph. Eur. 6 та ДФУ.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

### ДЖЕРЕЛІ ІНФОРМАЦІЇ

1. Арзамасцев А.П. Фармацевтическая химия: [учеб. пособие]. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 640 с.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Доп. 2. — Х.: ДП «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. — 620 с.

4. Кученко Л.І. Кількісне визначення пірацетаму методом газової хроматографії / [Л.І. Кученко, Л.В. Вронська, Л.О. Лебединець, Г.В. Георгіївський та ін.] // Фармаком. — 2001. — №3. — С. 40–43.
5. Настанова 42-4.0:2010 Настанови з якості. Лікарські засоби. Належна виробнича практика / М.Ляпунов, В.Георгієвський, О.Безугла та ін. — К.: МОЗ України, 2004.
6. [www.egis.com.ua](http://www.egis.com.ua)
7. <http://www.health-ua.org/archives/health/592.html>
8. [www.pharmacopoeia.co.uk](http://www.pharmacopoeia.co.uk) / 2005
9. [www.pheur.org](http://www.pheur.org).
10. [www.rlsnet.ru/mnn\\_index\\_id\\_510.htm](http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_510.htm)

### УДК 615.456.1:615.07:615.214.31:543.422.3

В.А.Грудько, В.А.Ханин, Ю.В.Шмырєва

#### ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ЩЕЛОЧНОГО ГИДРОЛИЗА ПИРАЦЕТАМА ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ МЕТОДОМ ОБРАТНОЙ АЛКАЛИМЕТРИИ

Методами ВЭЖХ, ИК- и ПМР- спектроскопии исследовано механизм щелочного гидролиза пирацетама при количественном определении 20% раствора для инъекций методом обратной алкалиметрии. Установлено, что реакция протекает стехиометрично с образованием (2-оксипириролидин-1-ил)уксусной кислоты; таким образом, основной вклад в ошибку анализа может вносить потеря щелочи или кислоты в процессе анализа.

**Ключевые слова:** пирацетам; раствор для инъекций; механизм реакции щелочного гидролиза; ВЭЖХ, ИК- и ПМР- спектроскопия

### UDC 615.456.1:615.07:615.214.31:543.422.3

V.O.Grudko, V.A.Khanin, Yu.V.Shmyryova

#### THE INVESTIGATION OF THE ALKALINE HYDROLYSIS MECHANISM OF PIRACETAM BY THE QUANTITATIVE DETERMINATION WITH THE METHOD OF CONTACT ALKALIMETRY

The mechanism of alkaline hydrolysis of piracetam by the quantitative determination of 20% solution for injection has been investigated with the method of return alkalimetry. It has been established that the reaction is stochiometric along with the formation of (2-oxopirrolidin-1-yl) acetic acid. So, a loss of alkali or acid could lead to the main contribution to analysis error during the research.

**Key words:** piracetam; injection solution; the reaction mechanism of alkaline hydrolysis; HPLC, IR- and PMR- spectroscopy

*Адреса для листування:*  
61149, м. Харків, вул. Героїв Праці, 56, кв. 116  
Тел. (0572) 67-92-04

Надійшла до редакції:  
31.10.2011 р.

УДК 615.212:577.352.523

Е. Ю. АХМЕДОВ, В. В. БОЛОТОВ, О. А. БРИЗИЦЬКИЙ, В. П. МОРОЗ,  
О. О. БІЛОПОЛЬСЬКА*Національний фармацевтичний університет***АНАЛІТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ  
ТРАМАЛСЕЛЕКТИВНИХ ЕЛЕКТРОДІВ**

*Розроблено склад мембрани трамалселективного електроду, який за своїми електроаналітичними характеристиками перевищує описані раніше. В якості електродоактивної речовини використано іонний асоціат трамалу з фосфор-вольфрамом, а пластифікатор — діоктилфталат. Запропоновані методи іонометричного визначення трамалу гідрохлориду у водних та ін'єкційних розчинах і капсулах за допомогою розробленого трамалселективного електроду. Розроблені іонометричні методи визначення трамалу придатні для фармацевтичного та хіміко-токсикологічного аналізу.*

*Ключові слова:* трамал; отруєння; іонселективний електрод; трамалселективний електрод

**ВСТУП**

Трамалу гідрохлорид (Tramadol, Tramal, Tradol, Tramagit, Mabron, Protadon, Sintradon, Tramadol-Shtada, Tramundin, Ultram, Zydol, Contramal, Limadol, Tradonal Retard) ( $\pm$ )-транс-2-[(диметиламінометил]-1-(3-метоксифеніл) циклогексан-1-олу гідрохлорид застосовується як анагетик центральної дії середньої сили (у кардіології, онкології, хірургії) [4].

У літературі описані випадки отруєнь трамалу гідрохлоридом [10]. Механізм анагетичної дії трамалу гідрохлориду відрізняється стереоселективністю: оптичні ізомери мають різний механізм дії (опіоїдний і неопіоїдний).

Зустрічаються твердження про немедичне застосування трамалу гідрохлориду особами з героїновою залежністю в дозах, які значно перевищують терапевтичні [1]. При цьому відмічаються різні побічні ефекти, зокрема розвиток залежності. Крім того, в цих випадках часто бувають гострі та смертельні отруєння, ризик яких значно зростає при одночасному прийомі деяких речовин [8].

У літературних джерелах [7] описана експериментальна токсикологія трамалу гідрохлориду у щурів, мишей, морських свинок, кролів та собак  $LD_{50}$  складає 280–850 мг/кг при підшкірному введенні і 45–68 мг/кг (при внутрішньовенному введенні).

Аналітичні методи виявлення трамалу гідрохлориду досить обмежені. Використовуються наступні методи для його виявлення:

УФ-, ІЧ- спектроскопія, ГХ, ГРХ, електрофорез на папері, ТШХ та іонометрія [1,5,6,9]. У літературі [6] описані трамадолселективні електроди (ТСЕ), в яких у якості електродоактивної речовини використані іонні асоціати трамалу гідрохлориду з тетра- (4-хлорфеніл) борат- і тетрафенілборатаніонами. Проте електроаналітичні характеристики наведених електродів свідчать про те, що дані іонні асоціати не є оптимальними електродоактивними речовинами.

Останнім часом для отримання електродоактивних речовин широко використовують гетерополіаніони (ГПА) структури Кеггіна з загальною формулою:  $XMe_{12}O^{n-}_{40}$ , де X — центральний атом (P, Si); Me — іон металу (Mo (VI), W (VI)) [3].

ГПА утворюють з органічними катіонами важкорозчинні у воді, але розчинні в органічних розчинниках сполуки. Це дозволяє використовувати їх в пластифікованих мембранах іонселективних електродів (ІСЕ). В якості пластифікаторів при отриманні мембран ми використовували дибутилфталат (ДБФ) або діоктилфталат (ДОФ). Ми виявили, що найкращі електроаналітичні властивості має ТСЕ, що містить у пластифікованій мембрані в якості електродоактивної речовини іонний асоціат трамалу гідрохлориду з фосфорвольфрамом ( $PW_{12}O^{3-}_{40}$ ), а в якості пластифікатора — ДОФ.

У подальшому ми вивчали електроаналітичні характеристики тільки останнього електроду. Синтез електродоактивних речовин ТСЕ, технологія приготування мембранної композиції та електроаналітичні характеристики наведені в літературі [3].

© Е. Ю. Ахмедов, В. В. Болотов, О. А. Бризицький,  
В. П. Мороз, О. О. Білопольська, 2011

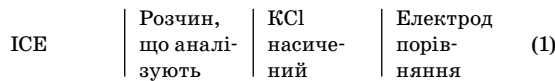
**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Ми поставили за мету розробити іонометричний метод визначення трамалу гідрохлориду в водних розчинах, а також у лікарських формах за допомогою запропонованого ІСЕ на препарат.

**Визначення концентрації іонів**

**трамалу гідрохлориду в водних розчинах**

Іонометричне визначення трамалу гідрохлориду в водних розчинах за величинами ЕРС ланцюга (1) проводилося методом двоточкового вузькоінтервального градувального графіка.



Метод заснований на використанні двох стандартних розчинів препарату, в інтервалі яких знаходиться концентрація розчину, який аналізують.

Спочатку вимірюють ЕРС першого стандартного розчину препарату  $E_1$ , при концентрації  $C_1$  меншій, ніж концентрація розчину, що аналізують, —  $C_A$ . Потім вимірюють ЕРС розчину, що аналізують,  $E_A$ . Нарешті вимірюють ЕРС у другому стандартному розчині з концентрацією  $C_2$ , яка більше, ніж  $C_A$  (вибирають  $C_1$  і  $C_2$  таким чином, щоб  $C_2/C_1=10$ ).

Обчислюють крутість електродної функції ІСЕ у прийнятому інтервалі концентрацій стандартних розчинів:  $S = E_2 - E_1$

Знаходять різницю ЕРС ( $\Delta E$ ) між ЕРС ( $E_A$ ) і ЕРС ( $E_2$ ):  $\Delta E = E_A - E_2$

Розраховують концентрацію іона, що визначали в розчині за формулою:

$$\lg C_A = \Delta E S + \lg C_2 \quad (1)$$

Електродна функція розробленого ІСЕ на трамалу гідрохлориді лінійна в інтервалі концентрацій препарату  $(8,9 \pm 0,5) \cdot 10^{-5}$  —  $(1,0 \pm 0,3) \cdot 10^{-1}$  М. Тому для вимірювань ЕРС ми мали право вибрати вузький інтервал концентрацій розчинів трамалу гідрохлориду, який знаходиться в межах  $5,0 \cdot 10^{-4}$ – $5,0 \cdot 10^{-3}$  М (цей інтервал відповідає вмісту препарату в 1 мл розчину, що аналізували).

Вибір саме цього вузького інтервалу для вимірювань обумовлений тим, що препарат належить до групи сильнодіючих речовин (у лікарських формах застосовується у малих дозах).

Готували водні розчини трамалу гідрохлориду різної концентрації (від  $5,0 \cdot 10^{-4}$  до  $5,0 \cdot 10^{-3}$  М), а також два стандартних розчини трамалу гідрохлориду з концентраціями  $C_1 = 5,0 \cdot 10^{-4}$  М та  $C_2 = 5,0 \cdot 10^{-3}$  М.

Спочатку в електродну комірку ланцюга (1) вміщували перший стандартний розчин ( $C_1$ ) і піс-

ля встановлення стабільного потенціалу (2–3 хв) вимірювали  $E_1$ . Після цього комірку промивали разом з електродами водою дистильованою, осушували фільтрувальним папером, заповнювали її розчином, що аналізували, і вимірювали  $E_A$ . Потім повторювали попередню операцію і після заповнення комірки другим стандартним розчином ( $C_2$ ) вимірювали  $E_2$ .

Концентрацію розчинів, що аналізували, розраховували за вищенаведеною формулою (1).

Вміст трамалу гідрохлориду, X, у грамах в об'ємі мірної колби виконували за формулою:

$$X = MM \cdot VMK1000 \cdot \text{antilg} (E_A - E_2 E_1 - E_2 + \lg C_2) \quad (2),$$

де MM — молярна маса трамалу гідрохлориду.

Результати досліджень та їх метрологічні характеристики представлені в табл. 1 та 2.

Таблиця 1

**РЕЗУЛЬТАТИ ІОНОМЕТРИЧНОГО  
ВИЗНАЧЕННЯ ТРАМАЛУ ГІДРОХЛОРИДУ  
В ВОДНИХ РОЗЧИНАХ**

Взято трамалу гідрохлориду, мг	Знайде-но трамалу гідрохлориду, мг	Метрологічні характеристики (n = 5; p = 0,95)
52,5	1 51,7	X= 52,4 S = 0,58 S <sub>x</sub> = 0,26 ΔX̄ = 0,72 ε = 1,38%; X ± ΔX = 52,4 ± 0,72
	2 53,0	
	3 52,9	
	4 52,5	
	5 51,9	
37,5	1 37,8	X= 37,5 S = 0,26 S <sub>x</sub> = 0,12 ΔX̄ = 0,33 ε = 0,88%; X ± ΔX = 37,5 ± 0,33
	2 37,6	
	3 37,4	
	4 37,6	
	5 37,1	
22,5	1 22,5	X= 22,7 S = 0,13 S <sub>x</sub> = 0,06 ΔX̄ = 0,16 ε = 0,71%; X ± ΔX = 22,7 ± 0,16
	2 22,8	
	3 22,6	
	4 22,8	
	5 22,7	
15,0	1 14,9	X= 15,1 S = 0,22 S <sub>x</sub> = 0,10 ΔX̄ = 0,27 ε = 0,71%; X ± ΔX = 15,1 ± 0,27
	2 15,0	
	3 15,0	
	4 15,4	
	5 15,3	
14,2	1 14,2	X= 14,2 S = 0,15 S <sub>x</sub> = 0,07 ΔX̄ = 0,19 ε = 1,33%; X ± ΔX = 14,2 ± 0,19
	2 13,9	
	3 14,2	
	4 14,2	
	5 14,3	
11,2	1 11,6	X= 11,5 S = 0,11 S <sub>x</sub> = 0,05 ΔX̄ = 0,14 ε = 1,23%; X ± ΔX = 11,5 ± 0,14
	2 11,5	
	3 11,4	
	4 11,7	
	5 11,5	

Таблиця 2

**РЕЗУЛЬТАТИ ІОНОМЕТРИЧНОГО  
КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ТРАМАЛУ  
В ВОДНИХ РОЗЧИНАХ (n = 5; p = 0,95)**

Взято трамалу гідрохлориду, мг	Знайдено трамалу гідрохлориду		Метрологічні характеристики (n = 5; p = 0,95)
	мг	%	
11,2	11,5	102,7	X = 100,86
14,2	14,2	100,0	S = 1,12
15,0	15,1	100,7	S <sub>x</sub> = 0,50
22,5	22,7	100,9	ΔX = 1,39
			ε = 1,38%;
37,5	37,5	100	X ± ΔX = 100,86 ± 1,39
			S <sup>2</sup> = 1,25; t = 0,77

Дані, наведені в табл. 1 та 2, свідчать про те, що запропонований іонометричний метод, заснований на використанні розробленого ІСЕ, дозволяє визначити трамалу гідрохлорид у водних розчинах з невизначеністю, що не перевищує 1,38%.

**Іонометричне визначення трамалу  
гідрохлориду в модельних лікарських формах**

Іонометричне визначення трамалу гідрохлориду в модельних лікарських формах проводили з використанням електрохімічного ланцюга (1).

Вимір ЕРС ланцюга (1) проводили за допомогою цифрового іоніметра І-130. Як електрод порівняння використовували насичений хлорсрібний електрод. Готували стандартні розчини трамалу гідрохлориду з концентрацією C<sub>1</sub> = 5,0·10<sup>-4</sup> М та C<sub>2</sub> = 5,0·10<sup>-3</sup> М.

**Іонометричне визначення трамалу  
гідрохлориду в ін'єкційних розчинах  
(5% розчин)**

Попередньо готували розчин, який аналізували. Для цього відбирали 1,00 мл вихідного ін'єкційного розчину трамалу гідрохлориду і вміщували його в мірну колбу на 50 см<sup>3</sup>, об'єм розчину доводили до мітки і перемішували (C<sub>A</sub> = 3,33·10<sup>3</sup>). Вимірювання проводили, як описано вище.

Розрахунок результатів іонометричного визначення трамалу гідрохлориду в ін'єкційних розчинах проводили за формулою (1).

У табл. 3 наведені результати визначення трамалу гідрохлориду в ін'єкційних розчинах іонометричним методом і їхні метрологічні характеристики.

Дані табл. 3 свідчать про те, що за допомогою запропонованого методу з використанням розробленого ІСЕ на трамалу гідрохлориді можна визначити препарат в ін'єкційних розчинах з невизначеністю 1,02%.

Таблиця 3

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ТРАМАЛУ  
ГІДРОХЛОРИДУ В ІН'ЄКЦІЙНИХ  
РОЗЧИНАХ ІОНОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ**

Вміст трамалу гідрохлориду в розчині для ін'єкцій, мг/мл	Знайдено трамалу гідрохлориду		Метрологічні характе- ристики (n = 5; p = 0,95)
	мг	%	
50,0	48,5	97,0	X = 98,36
	49,1	98,2	S = 0,81
	49,1	98,2	S <sub>x</sub> = 0,36
	48,9	97,8	ΔX = 1,0
	49,5	99,0	ε = 1,02%;
			X ± ΔX = 98,36 ± 1,0
			S <sup>2</sup> = 0,66

**Іонометричне визначення трамалу  
гідрохлориду в капсулах (одна капсула  
містить 0,05 г трамалу гідрохлориду  
та допоміжні речовини)**

Попередньо визначали середню масу капсули трамалу гідрохлориду відповідно до ДФУ [2]. Потім готували розчин для аналізу. Для цього наважку масою біля 0,3 г (точна наважка) кількісно переносили в мірну колбу на 50 см<sup>3</sup>, розчиняли у воді дистильованій і доводили об'єм розчину до мітки. Після цього проводили вимірювання ЕРС, як описано вище.

Розрахунок результатів іонометричного визначення трамалу гідрохлориду в капсулах проводили за формулою (1).

У табл. 4 наведені результати визначення трамалу гідрохлориду в капсулах іонометричним методом і їхні метрологічні характеристики.

Таблиця 4

**РЕЗУЛЬТАТИ ВИЗНАЧЕННЯ ТРАМАЛУ  
ГІДРОХЛОРИДУ В КАПСУЛАХ  
ІОНОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ**

Вміст трамалу гідрохлориду в капсулі, мг	Знайдено трамалу гідрохлориду, мг		Метрологічні характе- ристики (n = 5; p = 0,95)
	мг	%	
50,0	48,5	97,0	X = 98,12 S = 0,76 S <sub>x</sub> = 0,34 ΔX = 0,94 ε = 0,96% X ± ΔX = 98,12 ± 0,94 S <sup>2</sup> = 0,58
	49,4	98,8	
	49,1	98,2	
	48,9	97,8	
	49,4	98,8	



Дані табл. 4 свідчать про те, що за допомогою запропонованого методу з використанням розробленого ІСЕ на трамалу гідрохлорид і можна визначити препарат в капсулах з невизначеністю 0,96%.

#### ВИСНОВКИ

1. Вивчена можливість визначення трамалу за допомогою запропонованого ІСЕ в водних розчинах (невизначеність  $\pm 1,38\%$ ).
2. Запропоновані методи іонометричного визначення трамалу в модельних ін'єкційних розчинах (невизначеність  $\pm 1,02\%$ ) і капсулах (невизначеність  $\pm 0,96\%$ ) за допомогою розробленого ІСЕ на препарат.
3. Трамалселективний електрод та розроблені іонометричні методи визначення препарату придатні для фармацевтичного та хіміко-токсикологічного аналізу.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Болотов В. В., Ахмедов С. Ю. // Вісник фармації. — 2001. — № 1 (25). — С. 16–19.
2. Державна фармакопея України: — Науково-експертний фармакопейний центр / За ред. В. П. Георгієвського — Х.: РІРЕГ, 2001. — 532 с.
3. Зареченский М. А., Болотов В. В., Ахмедов Э. Ю. // ФАР. — 2001. — № 2 (32). — С. 41–43.
4. Репаш Ч. // Терапев. архив. — 1992. — Т. 64, № 10. — С. 91–94.
5. Flising B., Blaschke G. // J. Chromatogr. Biomed. Appl. — 1993. — № 612. — P. 123–223.
6. Hopkala H., Misztal G., Wieczorek A. // Die Pharmazie. — 1998. — № 53. — P. 869–871.
7. Lagler F., Helm F., Etzel V., Kiel H. // Arzneimittel Forsch. — 1978. — Bd. 28, №1a. — S. 164–172.
8. Matthesem T., Weohrramanh T., Cogan T. P., Uragg H. // Toxicol. Lett. — 1998. — Mar. — 16.95 (1). — P. 63–71.
9. Mistal G., Hopkala H., Przyborowski L. // Acta Poln. Pharma. — Drug Res. — 1996. — № 53. — P. 254.
10. Riedal F., Stokhausen H. // Eur. J. Clin. Pharmacol. — 1984. — Vol. 26, № 5. — P. 631–632.

**УДК 615.212:577.352.523****Э. Ю. Ахмедов, В. В. Болотов, А. А. Бризицкий, В. П. Мороз, О. А. Белопольская****АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ТРАМАЛСЕЛЕКТИВНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ**

Разработан состав мембраны трамалселективного электрода, который по своим электроаналитическим характеристикам превышает описанные ранее. В качестве электроактивного вещества использовался ионный ассоциат трамала с фосфорвольфрамом, а пластификатор — диоктилфталат. Предложены методы ионометрического определения трамала гидрохлорида в водных и инъекционных растворах и капсулах при помощи разработанного трамалселективного электрода. Разработаны ионометрические методы определения трамала гидрохлорида пригодны для фармацевтического и химико-токсикологического анализа.

**Ключевые слова:** трамал; отравления; ионселективный электрод; трамалселективный электрод

**UDC 615.212:577.352.523****E. Yu. Akhmedov, V. V. Bolotov, O. A. Brizitsky, V. P. Moroz, O. O. Belopolska****ANALYTICAL APPLICATION OF TRAMALSELECTIVE ELECTRODES**

The structure of a membrane tramalselective electrode has been developed which on electrode analytical characteristics exceeds described earlier. As electrode active substance ionic associate of tramal with phosphorus wolframate was used and as plastifier — dioctylphthalate. The methods of ionometrical determination of tramal hydrochloride in water and injectional solutions and capsules with help of the developed tramalselective electrode have been proposed. Ionometrical methods of determination tramal hydrochloride, wich are suitable for pharmaceutical and chemical-toxicological analysis have been developed.

**Key words:** tramal; poisonings; ionselective electrode; tramalselective electrode

*Адреса для листування:*  
61169, м. Харків, вул. Блюхера, 4.  
Кафедра аналітичної хімії  
Тел. (0572) 67-91-93  
dan.96@mail.ru

Надійшла до редакції:  
04.11.2011 р.

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

1. До розгляду приймаються оригінальні та інші види статей (до 10–11 сторінок), присвячені біофармацевтичним дослідженням лікарських препаратів, експериментальній фармакології, біохімії, фармакогнозії та фармхімії. Перевага в опублікуванні надається статтям, які містять дані щодо використання результатів біологічних, біохімічних, фармакологічних і біофармацевтичних досліджень.
2. Текст статті друкується кеглем № 14 через 1,5 інтервали на аркуші формату А4 (ширина полів: зліва — 3 см, справа — 1 см, зверху та знизу — по 2 см) і починається з таких даних: індекс УДК, ініціали та прізвища всіх авторів (рівняти по лівому краю), назва організації (курсив, рівняти по лівому краю), в яких виконана робота (якщо авторів декілька, відомості про кожного подаються окремими рядками), назва статті (жирним шрифтом, рівняти по лівому краю), анотація укр. мовою (по центру: АНОТАЦІЯ; з абзацу: текст анотації; з абзацу: Ключові слова: перелік ключових слів (понять) у кількості 3–8. Далі з абзацу (через пропущений рядок) починається текст статті.
3. Автори повинні дотримуватись загального плану побудови статті і виділяти обов'язкові структурні елементи:
  - 3.1. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок із важливими науковими або практичними питаннями.
  - 3.2. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які спирається автор.
  - 3.3. Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття.
  - 3.4. Формулювання цілей (завдання) статті.
  - 3.5. Викладення основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів.
  - 3.6. Висновки з проведеного дослідження та перспективи подальшого розвитку даного напрямку.
  - 3.7. Перелік використаних джерел інформації, розташованих за алфавітом (спочатку — роботи вітчизняних авторів, потім — зарубіжних). Цитовані джерела позначаються у тексті цифрами (у квадратних дужках). Джерел інформації має бути не менше п'яти; оформлення — за останніми вимогами МОНмолодьспорту.
4. Стаття супроводжується трьома анотаціями: українською (на початку статті, якщо вона написана українською мовою), російською та англійською (в кінці статті). Анотації повинні містити: індекс УДК, ініціали та прізвища всіх авторів, назву статті, ключові слова. Зразок оформлення анотацій:

УДК  
Инициалы и фамилии авторов  
НАЗВАНІЕ СТАТТІ  
АННОТАЦІЯ  
Текст (с абзаца)  
Ключевые слова

UDC  
L. P. Dorokhova  
DIRECTIONS OF THE ARTICLE  
RESUME  
The view the constant  
Key words

5. Формули сполук подаються окремими файлами у форматі Corel Draw (версія не пізніше 11); ISIS draw; діаграми та рисунки — у форматі Excel або Corel Draw (версія не пізніше 11); рисунки у вигляді фотографій можуть бути представлені файлами TIFF 300–600dpi Gray Scale (256 градацій сірого), JPG не менше 1 Мб. Ширина графічного матеріалу повинна бути розміром 5,5 см, 11,5 см або 17,4 см. Кожен рисунок, діаграма, таблиця подаються в окремому файлі.
6. У статтях повинна використовуватись система одиниць СІ.
7. Рисунки та підписи до них виконують окремо один від одного; підписи до всіх рисунків статті подаються на окремому аркуші. На зворотньому боці кожного рисунка простим олівцем вказується його номер та назва статті, а в разі необхідності — верх і низ.
8. Таблиці повинні бути надруковані на окремих аркушах і мати нумерацію і заголовок. На полях рукопису необхідно вказати місце розташування рисунків і таблиць. Інформація, наведена у таблицях і на рисунках, не повинна дублюватися.
9. Усі матеріали подаються до редакції у двох екземплярах. Один екземпляр друкується так, як передбачено автором розташування всього графічного і текстового матеріалу. Другий екземпляр статті підписується всіма авторами і оформляється окремо: текст, рисунки, діаграми, схеми.
10. Стаття супроводжується експертним висновком, рецензією та направленням від організації (для авторів НФаУ — це розпорядження «До друку» за підписом відповідальної особи НФаУ).
11. До статті на окремому аркуші та в електронному вигляді додаються відомості про авторів, які містять: учене звання, учений ступінь; прізвище, ім'я та по батькові (повністю); місце роботи та посаду, яку обіймає автор; адресу для листування; номери телефонів і факсів, E-mail.
12. Редакція залишає за собою право редакційної правки статті.
13. Статті, відіслані авторам на виправлення, повинні бути повернені до редакції не пізніше, ніж через 10 днів після одержання. В авторській коректурі допускається виправлення лише помилок набору.
14. До друкованого варіанту статті (2 екз.) додається електронна копія на дискеті (або на іншому виді електронного носія) у форматі MS Word.
15. Статті приймаються відповідальним секретарем журналу Галузінською Л.В. за адресою: м. Харків, вул. Мельникова, 12, кафедра біохімії.  
К. т. (057) 706-30-99, (067) 119-94-85. E-mail: azagayko@mail.ru, ljubvgaluzinskaja@rambler.ru.

# ЗМІСТ

## ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

### АНТИБИОТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЮТЕОЛИНА

Н.В. Попова, С.И. Дихтярев, Н.Ф. Маслова, В.И. Литвиненко ..... 4

## БІОХІМІЯ

### ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРОДУКТІВ З ПОЛІФЕНОЛАМИ ВИНОГРАДУ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ЕМОЦІЙНО-БОЛЬОВОГО СТРЕСУ

А.Л. Загайко, О.А. Красильнікова, Г.Б. Кравченко,

Л.В. Галузінська, Ю.І. Кочубей ..... 14

## ФАРМАКОЛОГІЯ

### ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ НА СТАН МЕМБРАННИХ БІЛКІВ ТА МЕМБРАН В УМОВАХ ГЕМОЛІЗУ ЕРИТРОЦИТІВ

Р. Ф. Єрьоменко ..... 22

### ДОСЛІДЖЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ СПІРОЦИКЛІЧНОГО ПОХІДНОГО ОКСІНДОЛУ

Н. А. Цубанова ..... 27

### ВИВЧЕННЯ МІОТРОПНОЇ СПАЗМОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ КАРБОРЕНУ НА ІЗОЛЬОВАНИХ КІЛЬЦЯХ ГРУДНОГО СЕГМЕНТУ АОРТИ ТА НИРКОВІЙ АРТЕРІЇ ЩУРІВ

О. І. Набока, Р. П. Желясков, В. М. Кравченко ..... 31

**ГІСТОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ СТАНУ  
СТІНКИ ПІХВИ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ  
ВАГІНІТІ ТА ЛІКУВАННЯ ПЕСАРІЯМИ «ФІТОВАГІН»**

А. В. Малоштан, А. Л. Загайко, Ю. Б. Лар'яновська ..... 35

**МІКРОБІОЛОГІЯ**

**РІВЕНЬ АНТИМІКРОБНОЇ ЗДАТНОСТІ ПРОБІОТИКІВ  
ЗАЛЕЖНО ВІД КИСЛОТНО-ЛУЖНОЇ РІВНОВАГИ**

Н.І. Філімонова, О.М. Дика, В.О. Місюрьова, Мухамед Мофтах Єлааті ..... 42

**БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ**

**РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА М'ЯКОЇ  
ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАН  
У ДРУГІЙ ТА ТРЕТІЙ ФАЗАХ РАНОВОГО ПРОЦЕСУ**

Є.В. Гладух, Є.А. Безрукавий, Ю.В. Шмирьова ..... 48

**ФАРМАЦЕВТИЧНА ХІМІЯ**

**ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМУ ЛУЖНОГО ГІДРОЛІЗУ  
ПІРАЦЕТАМУ ПРИ КІЛЬКІСНОМУ ВИЗНАЧЕННІ  
МЕТОДОМ ЗВОРОТНОЇ АЛКАЛІМЕТРІЇ**

В.О.Грудько, В.А.Ханін, Ю.В.Шмирьова ..... 54

**АНАЛІТИЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ  
ТРАМАЛСЕЛЕКТИВНИХ ЕЛЕКТРОДІВ**

Е. Ю. Ахмедов, В. В. Болотов, О. А. Бризицький, В. П. Мороз, О. О. Білопольська .. 62



СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АНТИБИОТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛЮТЕОЛІНУ <i>Н.В. Попова, С.І. Діхтярьов, Н.Ф. Маслова, В.І. Литвиненко</i> .....	ANTIBIOTIC PROPERTIES OF LYUTEOLIN <i>N.V. Popova, S.I. Dikhtyaryov, N.F. Maslova, V.I. Litvinenko</i> .....
4	4
ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОДУКТОВ С ПОЛИФЕНОЛАМИ ВИНОГРАДА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ЭМОЦИОНАЛЬНО- БОЛЕВОГО СТРЕССА <i>А.Л. Загайко, О.А. Красильникова, А.Б. Кравченко, Л.В. Галузинская, Ю.И. Кочубей</i> .....	INVESTIGATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF PRODUCTS WITH GRAPE POLYPHENOLS UNDER EMOTIONAL-PAIN STRESS MODELING <i>A. L. Zagayko, O.A. Krasilnikova, A. B. Kravchenko, L.V. Galuzinskaya, Yu. I. Kochubei</i> .....
14	14
ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ НА СОСТОЯНИЕ МЕМБРАННЫХ БЕЛКОВ И МЕМБРАН В УСЛОВИЯХ ГЕМОЛИЗА ЭРИТРОЦИТОВ <i>Р.Ф. Еременко</i> .....	RESEARCH OF INFLUENCE OF EXTRACT OF MEDICAGO SATIVA SOWING GRASS ON A MEMBRANES PROTEINS AND MEMBRANES IN THE CONDITIONS OF HEMOLYSIS OF BLOOD ERYTHROCYTES <i>R. F. Yeremenko</i> .....
22	22
ИЗУЧЕНИЕ КАРДИОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ СПИРОЦИКЛИЧЕСКОГО ПРОИЗВОДНОГО ОКСИНДОЛА <i>Н.А. Цубанова</i> .....	STUDY OF CARDIOPROTECTIVE EFFECT OF SPIROCICLIC OXINDOLIC DERIVATIVE <i>N.A. Tsubanova</i> .....
27	27
ИЗУЧЕНИЕ МИОТРОПНОЙ СПАЗМОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КАРБОРЕНА НА ИЗОЛИРОВАННЫХ КОЛЬЦАХ ГРУДНОГО СЕГМЕНТА АОРТЫ И ПОЧЕЧНОЙ АРТЕРИИ КРЫС <i>О.И. Набока, Р.П. Желясков, В.Н. Кравченко</i> .....	STUDY OF MYOTROPIC SPASMOLYTIC ACTIVITY OF KARBORAN ON ISOLATED RINGS OF THORACIC FRAGMENT OF RATS AORTA AND ARTERIA RENALIS <i>O.I. Naboka, R.P. Zelyashkov, V.N. Kravchenko</i> .....
31	31
ГИСТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ СТЕНКИ ВЛАГАЛИЩА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВАГИНИТЕ И ЛЕЧЕНИЕ ПЕССАРИЯМИ «ФИТОВАГИН». <i>А.В. Малосштан, А.Л. Загайко, Ю.Б. Ларьяновская</i> .....	HISTOMORPHOLOGICAL RESEARCH OF RATS VAGINA'S WALL STATE BY EXPERIMENTAL VAGINITIS AND TREATMENT WITH PESSARIES «PHYTOVAGIN» <i>A. V. Maloshtan, A. L. Zagayko, Yu. B. Laryanovskaya</i> .....
35	35
УРОВЕНЬ АНТИМИКРОБНОЙ СПОСОБНОСТИ ПРОБИОТИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КИСЛОТНО- ЩЕЛОЧНОГО БАЛАНСА <i>Н.И. Филимонова, Е.М. Дикая, В.А. Мисюрева, Мухаммед Мофтах Елаати</i> .....	LEVEL OF ANTIMICROBIAL ABILITY OF PROBIOTICS DEPENDEND ON ACID-FALKALINE BALANCE <i>N.I. Filimonova, H.M. Dikaya, V.A. Misjureva, Mohammed Moftah Elaati</i> .....
42	42
РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РАН ВО ВТОРОЙ И ТРЕТЬЕЙ ФАЗАХ РАНЕВОГО ПРОЦЕССА <i>Е.В. Гладух, Е.А. Безрукавий, Ю.В. Шмырёва</i> .....	DEVELOPMENT OF THE TECHNOLOGY OF SOFT MEDICINAL FORM FOR THE TREATMENT OF WOUNDS IN THE SECOND AND THIRD PHASES OF WOUND PROCESS <i>Ye.V. Gladukh, Ye.A. Bezrukaviy, Yu.V. Shmyryova</i> .....
48	48
ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА ЩЕЛОЧНОГО ГІДРОЛИЗА ПИРАЦЕТАМА ПРИ КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ МЕТОДОМ ОБРАТНОЙ АЛКАЛИМЕТРИИ <i>В.А.Грудько, В.А.Ханин, Ю.В.Шмырёва</i> .....	THE INVESTIGATION OF THE ALKALINE HYDROLYSIS MECHANISM OF PIRACETAM BY THE QUANTITATIVE DETERMINATION WITH THE METHOD OF CONTACT ALKALIMETRY <i>V.O. Grudko, V.A. Khanin, Yu.V. Shmyryova</i> .....
54	54
АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ТРАМАЛСЕЛЕКТИВНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ <i>Э.Ю. Ахмедов, В.В. Болотов, А.А. Бризицкий, В.П. Мороз, О.А. Белопольская</i> .....	ANALYTICAL APPLICATION OF TRAMALSELECTIVE ELECTRODES <i>E. Yu. Akhmedov, V.V. Bolotov, O.A. Brizitsky, V.P. Moroz, O.O. Belopolska</i> .....
62	62

## Для нотаток

Літературний редактор: А. Л. Краснікова  
Комп'ютерна верстка: М. Ю. Волощук  
Коректор: А. Л. Краснікова

Підписано до друку 29.12.2011 р. Формат 60x84 1/8  
Папір офсетний. Друк офсетний  
Ум. друк. арк. 5,58. Обл.-вид. арк. 8,0  
Тираж 1500 пр.

Редакція: ПП «Фармітек»  
Адреса: 61166, м. Харків, пр. Леніна, 40, а/с 4163  
Тел./факс. (057)717-89-00  
E-mail: [chief\\_editor@megapolis.kharkov.ua](mailto:chief_editor@megapolis.kharkov.ua)  
Виготовлено: ТОВ «НТМТ»