

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**УКРАЇНСЬКИЙ
БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ
ЖУРНАЛ**

**УКРАИНСКИЙ
БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

**UKRAINIAN
BIOPHARMACEUTICAL
JOURNAL**

Науковий журнал

№ 6 (29) 2013

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

ЗАСНОВНИК:
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Схвалено вченою радою НФаУ
(протокол від 28.11.2013 р. № 4)

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., Гладух Є. В., Гриценко І. С. (науковий консультант), Загайко А. Л. (заступник головного редактора), Ковальов В. М., Гризодуб О. І., Дєдх Н. В., Деримедвідь Л. В., Дроговоз С. М., Залюбовська О. І., Зупанець І. А., Кисличенко В. С., Кравченко В. М., Маслова Н. Ф., Риженко І. М., Рубан О. А., Сахарова Т. С., Стрельников Л. С., Тихонов О. І., Філімонова Н. І., Черних В. П. (головний науковий консультант), Хворост О. П., Штриголь С. Ю., Ярних Т. Г., Яковлева Л. В.

Редакційна рада:

Александрова К. В. (Запоріжжя), Гараєв Е. А. (Баку), Гольцев А. М., Головенко М. Я. (Одеса), Германюк Т. А. (Вінниця), Дев'яткіна Т. О. (Полтава), Корпачев В. В. (Київ), Краснопольський Ю. М., Мамчур В. Й. (Дніпропетровськ), Мітрохін М. М. (Москва), Одегова Т. Ф. (Пермь), Петренко О. Ю., Полянська Г. Г. (Санкт-Петербург), Субота Н. П., Чайковський Ю. Б. (Київ), Фіра Л. С. (Тернопіль), Чалдаков Г. Н. (Варна), Чекман І. С. (Київ), Цемахович В. А. (Тель-Авів), Юнусходжаєв А. Н. (Ташкент)

Свідоцтво про державну реєстрацію
КВ № 19397-9197 ПР від 21.09.2012 р.
Тираж 100 пр. Зам. № 29/12.

АДРЕСА РЕДАКЦІЇ:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Тел./факс (057) 706-30-99.

Оглядові статті

Рецензенти рубрики:

Загайко А. Л.,
д. біол. н., професор



УДК 615.322 : 615.07

В. О. Антонюк^{1,2}¹ Інститут біології клітини НАН України² Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ЛЕКТИНИ: ПОШИРЕННЯ І ФУНКЦІЯ В ЖИВИХ ОРГАНІЗМАХ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЗАГОТІВЛІ СИРОВИНИ

Зроблений короткий огляд власних робіт та наукових даних щодо поширення лектинів у вищих рослинах, у справжніх грибах і тваринних організмах. Розглянуті особливості розподілу лектинів за органами у рослин, зміни у їх активності в процесі вегетації, кількісний вміст лектинів у різних органах та родин, їх фізіологічна роль та особливості заготівлі сировини. Також акцентується увага на відмінностях при заготівлі сировини для очистки лектинів із справжніх грибів та органів тварин і на можливому взаємозв'язку вуглеводної специфічності лектинів та їх біологічної функції.

Ключові слова: лектини; поширення; функція; рослини; гриби; тваринна сировина

ВСТУП

Лектини – це група речовин білкової природи неімунного походження, які володіють властивостями зворотно і вибірково зв'язувати вуглеводи і вуглеводні детермінанти біополімерів без змін їх ковалентної структури [16]. Інтерес до лектинів з боку фармацевтичної науки проявлявся з моменту їх відкриття, так як вони мають ряд унікальних властивостей, які дозволяють вважати перспективним їх застосування у фармацевтичній та медичній практиці. Однак застосувати лектини у традиційних лікарських формах здебільшого неможливо. У настоях, відварах, настоянках з рослин, які найчастіше використовуються як лікарські форми, лектини не зберігаються. Тому на сьогодні вони знайшли практичне застосування лише у ряді вузькоспеціалізованих медичних галузей, таких як гістологія (виявлення вуглеводних структур на поверхні клітин і тканин) [16, 33], діагностика імунодефіцитних станів і виявлення хромосомних порушень [40], трансплантологія (розділення клітин крові та лімфоїдних клітин, відмінних за антигенними властивостями) [32]. Велика перспектива застосування лектинів у очищенні крові від вірусів [44], патологічно змінених глікопротеїнів [39], у цілеспрямованій доставці ліків до нормальних або патологічно змінених клітин і тканин організму або до інфекційних агентів [37].

ЛЕКТИНИ РОСЛИН

Рослини є найдоступнішим джерелом одержання лектинів, хоча вони знайдені у тварин, мікроорганізмів і вірусів. Теоретично лектини можуть місти-

тись у всіх рослинах і у всіх родин рослинного світу. Однак є родини, де лектини знайдені у великих кількостях, і родини, де вони не знайдені.

Сьогодні виділяють декілька груп еволюційно споріднених лектинів рослин, відокремлених за структурою і функціями. Це лектини бобових [41], хітинов'язуючі лектини, які вміщують «гевеїнові» домени [38], рибосоминоактивуючі білки типу 2 [34] та манозоспецифічні лектини однодольних [23]. Лектини бобових обмежені родиною *Fabaceae*, в той час як хітинов'язуючі лектини та рибосоминоактивуючі білки типу 2 знайдені в декількох таксономічно незв'язаних родин рослин.

Лектини можуть міститись в усіх органах рослинного організму, проте найчастіше лектини одержують із насіння. В дозрілому насінні вміст лектинів знаходиться на постійному рівні, воно добре зберігається, а методи очистки лектинів з насіння сьогодні добре розроблені. Перші дослідники лектинів вважали, що лектини знаходяться майже виключно в насіннях і відсутні (або містяться в незначній кількості) в інших органах рослин. Дійсно, в насінні рицини, абруса, канавалії мечоподібної, квасолі, гороху активність лектинів у насінні є значно вищою, ніж в інших органах цих рослин. Насіння є рекордсменом по вмісту лектинів. З 1 кг муки канавалії мечоподібної можна одержати до 26 г конканаваліну А [20]. В інших рослинах вміст лектину є значно нижчим, але може сягати 1-2 г/кг сировини, як у насінні рицини звичайної [9]. Дещо нижчий, але теж значний (в межах 0,5-1 г/кг) вміст лектинів у насінні деяких бобових, зокрема, в насінні квасолі, арахісу, сої, де вони часто є основними запасними білками у насіннях [19].

© Антонюк В. О., 2013

Лектини можуть знаходитися у бульбах, цибулинах або кореневищах. Наприклад, кореневище кропиви (до 1 г/кг) [36] та купини (250-340 мг/кг) [2] є доволі багатим джерелом для одержання лектинів. Так само достатньо багатим джерелом для очистки лектинів (50-500 мг/кг) є цибулини однодольних: амарилісових (підсніжник, білоцвіт, нарцис), лілійних (тюльпан, пізноцвіт) та цибулевих (часник) [9]. У той же час з цілого ряду рослин близьких родин, наприклад, гіацинтових (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.) [12] або з ксантореевих (*Heimerocallis fulva* L.) [13], які містять дуже близькі за властивостями до інших однодольних лектини, з підземних органів можна одержати лише 6-10 мг/кг лектину.

У деяких рослин лектини є головним білком підземних органів, наприклад, у рослин родини ароїдних [47] або у бульбах важливої сільськогосподарської культури тропіків – таро (*Colocasia esculenta*) [42]. Однак іноді лектини одержують з сировини, в якій їх незначна кількість. Наприклад, з бульб картоплі або з плодів помідора. Це пояснюється доступністю і дешевизною самих рослин (сировини), які є важливими сільськогосподарськими культурами. Лектин зародків пшениці є доступним і одним з найдешевших лектинів, хоча самі зародки становлять лише 1/20 зернівки пшениці і вміст у зародках зaledве сягає 1%. Це пояснюється головним чином добре розробленою в мукомольному виробництві технологією відокремлення зародків пшениці в промислових масштабах.

У деяких рослин спостерігається значно вища активність лектинів в інших органах. Наприклад, співвідношення активності екстрактів різних органів *Laburnum anagyroides* таке: кора – насіння – листки – зелені оплодні – 1024:8:1:2 [5]. У *Sarothamnus scoparius* маємо таке співвідношення активності екстрактів кори – насіння – листки – квіти – 512:64:1:1. Гемаглютинуюча активність в екстрактах кори, листків і плодів бузини співвідноситься як 128:1:1 [6]. Зрозуміло, що у цих рослин кора рослин є значно вигіднішим джерелом одержання лектинів.

Однак у органах рослин активність лектинів і відповідно їх вміст сильно залежать від фази вегетації. Особливо це помітно у корі та листі.

Нами виявлені наступні загальні закономірності у змінах активності лектинів у річному циклі розвитку рослин [9]:

- у насінні активність лектинів зростає в міру їх дозрівання;
- у корі деревних і кущових видів рослин активність лектинів не постійна і зростає під час весняного сокоруху, досягаючи максимуму в момент розпускання бруньок листків або в деяких рослин в моменти максимального росту суцвіть. У літній період активність лектинів у корі є найнижчою, а далі зростає до моменту дозрівання насіння, залишаючись на високому, відносно постійному рівні в зимовий період;

- з ростом листків активність лектинів у них знижується, а з початком їхнього повноцінного функціонування вона зростає, залишаючись на відносно постійному рівні протягом літа і знижується восени;
- різні вегетативні органи рослин можуть містити лектини або ізолектини неоднакової вуглеводної специфічності. Окрім того, один і той же орган рослини може містити декілька лектинів або ізолектинів різної вуглеводної специфічності;
- у деяких рослин у різні періоди вегетації екстракти одного і того ж органу можуть проявляти різну вуглеводну специфічність.

Подібний характер змін лектинів рослин відмічали також і інші автори. Наприклад, у тюльпана лектин знаходиться переважно в цибулинах. В момент їх садіння абсолютна концентрація лектину однакова в усіх лусках. У процесі росту і підготовки рослин до цвітіння концентрація лектину швидко зменшується у внутрішніх лусках, а згодом – і в зовнішніх. Зразу ж після цвітіння лектин швидко накопичується в нових дочірніх цибулинах. Вміст лектину в листках і стеблах незначний. У тканинах цих частин рослини протягом перших двох тижнів після висадки він синтезується в незначних кількостях, після чого спостерігається швидке зниження вмісту лектину перед цвітінням. Під час цвітіння весь лектин зникає з надземних частин тюльпану [46].

Виявлений характер змін активності та пов'язана з нею кількість лектинів у рослинах дозволяє висловити припущення, що такі лектини виконують транспортну функцію – транспортують вуглеводні речовини по флоемі, а також відіграють визначну роль у накопиченні вуглеводних речовин у насінні. І дійсно, в насінні *Canavalia ensiformis*, *Vicia faba*, *Vicia sativa*, *Ricinus communis* були знайдені глікопротеїни, асоційовані з лектином цих насінин [27]. У процесі проростання і росту рослин ці глікопротеїни з'являються в їх коренях.

Листки зрідка слугують основним джерелом для одержання лектинів. Зазвичай у листках знаходиться незначна їхня кількість. Однак у випадку цінності лектину листки можуть слугувати основним сировинним джерелом. Наприклад, листки горошку однопарного (*Vicia unijuga*) можуть бути використані для одержання цінного анти-N специфічного лектину [35], а з листків омели білої одержують цитотоксичний протипухлинний лектин [29]. Перспективними є лектини листків розхідника (*Glechoma hederacea*) [48] та листків алое [49].

У флоемному соку гарбузових (гарбуза, дині, огірка) міститься два основні білки, одним з яких є лектин. Інші білки містяться в незначній кількості. Однак для його очистки необхідно попередити швидку гелізацію флоемного соку, що неможливо без спеціальних реактивів [24].

У генеративних органах деяких рослин концентрується значна кількість лектинів. Ці роботи з ви-

вчення фізіологічної ролі лектинів у специфічній взаємодії пилку і маточки були започатковані проф. Є.Л.Голінською у Києві [15]. Зокрема, було виявлено, що у приймочках маточки примули зворотньоконоїчної (*Primula obconica*) міститься висока концентрація лектину, проте лектин не виявлено в інших частинах рослини. Цей лектин відіграє важливу роль у забезпеченні специфічності взаємодії між пилком і маточкою квітки рослин одного виду, тому пилки одного виду не здатні запилювати маточку іншого виду [15]. Ці дослідження були продовжені іншими авторами. Наприклад, у пилку *Nicotiana tabacum* L. були виявлені лектини, що беруть участь у взаємодії між пилком і маточкою [17].

Ми виявили лектин у спорах хвоща польового. Активність лектину у спорах була у 90-100 разів вищою, ніж у спороносних стеблах цієї рослини. У літніх, вегетуючих стеблах хвоща польового лектину взагалі не виявлено [10].

Корені вищих рослин можуть вмішувати лектини, хоча їх відносно рідко використовують як сировинне джерело для їх одержання. Найбільший інтерес представляють роботи з вивчення фізіологічної ролі лектинів коренів бобових рослин та їхньої участі у формуванні симбіозу з бульбочковими бактеріями. Така взаємодія необхідна для активного зв'язування атмосферного азоту і підвищення врожайності сільськогосподарських рослин. Встановлено, що штами бульбочкових бактерій *Rhizobium leguminosarum* специфічно інфікують бобові рослини лише певних видів і ступінь їх взаємодії корелює з взаємодією лектину коренів рослин із ліпополісахаридами мікроорганізмів [21]. Симбіоз між бактеріями і рослинами можливий не тільки для рослин родини бобових. Як і для рослин родини бобових, симбіоз між азотфіксуючими бактеріями *Azospirillum brasilense* та коренями пшениці має важливе практичне значення – результатом його є значне підвищення врожайності [14].

Молекулярні, біохімічні, фізіологічні та еволюційні аргументи засвідчують, що лектини можуть відігравати певну роль у захисті рослин. Головний аргумент на користь цієї ролі – спостереження, що лектини рослин зв'язують глікокон'югати інших організмів. Хоча чимало рослинних лектинів здатні зв'язувати прості вуглеводи (типу глюкози, манози або галактози), вони мають значно вищу афінність до олігосахаридів, які нехарактерні або цілком відсутні у рослин. Наприклад, хітинов'язуючі лектини рослин розпізнають вуглевод, що є типовим елементом стінки клітини грибів і зовнішнього скелету безхребетних. Так само сіалоспецифічні лектини видів бузини (*Sambucus* sp.) [43] *Maackia amurensis* [30] зв'язуються з набагато вищою афінністю з вуглеводом, який відсутній у рослин, але є головним компонентом вуглеводної частини тваринних глікопротеїнів.

Переважає асоціація лектинів з тими частинами рослин, які є найбільш чутливими до нападу чужо-

рідних організмів – також аргумент на користь цієї ролі. Органи, що накопичують запасні речовини, передусім насіння, особливо вразливі, тому що вони найбільш привабливі для потенційних паразитів і хижаків. Беручи до уваги еволюційну адаптацію рослин, можна припустити, що вони розвинули пасивні системи захисту запасних органів і насіння. З цього погляду переважне нагромадження лектинів у типових запасуючих органах є, звичайно, показовим. Чимало з цих лектинів присутні у значних кількостях і, можливо, крім захисної у насінні виконують і функцію накопичення резервного азоту. Однак найбільш обґрунтованим є висновок, що функція лектинів є різною у різних органах і тканинах рослинного організму.

При заготівлі рослинної сировини з метою одержання лектинів слід дотримуватись тих самих правил, що і при заготівлі і сушінні лікарських рослин. Відмінним є те, що у трав'янистих рослин максимальна кількість лектинів досягається у період їх інтенсивного росту, це, як правило, весною, а під час цвітіння спостерігається мінімальна кількість лектинів у сировині, крім того, сушку необхідно здійснювати при температурі не вище +60°C.

При визначенні практичної цінності лектинів дуже часто звертають увагу на деякі інші їхні характеристики, насамперед, на їхню вуглеводну специфічність, яка є важливою функціональною характеристикою лектинів, що найчастіше визначає перспективи їх подальшого застосування.

ЛЕКТИНИ СПРАВЖНІХ ГРИБІВ

Справжні гриби хоча часто і містять лектини у значній кількості, рідко служать джерелом їхнього одержання. Головною причиною є непостійність сировинної бази та складність їхньої переробки. Лише окремі з них, які легко піддаються промислового виробуванню, служать джерелом одержання лектинів. Наприклад, лектини одержують з плодових тіл печериці та алеврії – грибів, які можна легко вирощувати. Останній гриб, за нашими спостереженнями, легко сушити, причому активність лектинів після сушки не знижується [1]. Водночас гриби, які мають масивні плодові тіла, при висушуванні можуть втрачати значну кількість лектинів. Наприклад, ми помітили, що при висушуванні гриба дубовика (*Boletus luridus*) втрачалось до 90% лектинової активності [4]. Деякі базидіомікотові гриби взагалі втрачають лектинову активність після висушування або навіть після заморожування плодових тіл. До них відносяться лектини великої родини *Russulaceae*, яка вміщує лише два роди, але з високою лектиновою активністю – *Russula* і *Lactarius*. Як було нами встановлено, це пов'язано з особливостями молекулярної будови цих лектинів. Вони мають незвичну для білків гексамерну будову, зв'язок між окремими поліпептидними ланцюгами є дуже слабким [18]. Лектин з рідкісною специфічністю до N-гліколінейрамінової кисло-

ти був виявлений в плодових тілах гриба *Hericium erinaceum*, але його одержання і використання нашкодилося на значні труднощі через крайню нестійкість його молекули до змін рН. Його молекула стійка лише у вузькому значенні рН 6-8 [28].

З деяких грибів лектини з екстрактів необхідно дуже швидко вилучати через швидке зниження у них активності. До них належить фукозоспецифічний лектин *Peziza badia* [3].

В той же час лектини грибів часто містять лектини рідкісної вуглеводної специфічності або з властивостями, які не зустрічаються у рослин. Наприклад, ми з базидієм *Amanita virosa* Secr. та *Muscena pura* /Fr./ Kumm одержали лектини з гемолітичними властивостями, які крім того виявляли сильну антимікробну дію проти ряду мікроорганізмів [11, 22]. Однак одержувати подібні лектини необхідно із свіжих грибів без їх висушування і тривалого зберігання через швидкий протеоліз грибного матеріалу, що є у багатьох випадках проблематичним. Крім того, у плодових тілах базидіомікозових грибів відбуваються дуже швидкі зміни кількості лектинів, тому їх потрібно заготовляти молодими у період їх росту. Ми спостерігали, що в межах навіть однієї грибниці у різних екземплярах грибів *Lactarius pergamenus* гемаглютинуюча активність їх екстрактів відрізнялась більше, ніж у 256 разів [18]. Тому заготовля старих плодових тіл грибів для одержання лектинів є недоцільною.

ЛЕКТИНИ ТВАРИННИХ ОРГАНІЗМІВ

Поряд з рослинами лектини знайдені і у тваринному матеріалі. Прикладами таких лектинів є лектини морських безхребетних, ікри риби, отрути змій. Деякі з них є доволі доступними, випускаються світовими фірмами і є добре дослідженими. Їхня концентрація у відповідних органах тіла тварин часто є доволі високою. Лектини також містяться у багатьох органах ссавців (в т.ч. і людини), як правило, у клітинах імунних органів або клітинах імунного генезу. Через необхідність сепарації таких клітин та їх незначну кількість одержання таких лектинів часто становить значні труднощі. У зв'язку з їх важливою фізіологічною роллю лектини ссавців представляють значний науковий інтерес і сьогодні інтенсивно вивчаються. Наприклад, «асіалоглікопротеїновий рецептор» – мембранний білковий комплекс клітин Купфера, що специфічно розпізнає термінальні β -галактозильні залишки або залишки GalNAc, відіграє дуже важливу роль у процесах специфічної елімінації патологічно змінених клітин (зокрема, пухлинних) та циркулюючих глікопротеїнів у ссавців [45].

Одним з найвідоміших і найдоступніших тваринних лектинів є лектин виноградного равлика (*Helix pomatia* L.). Цей високоспецифічний до A_1 -групоспецифічної речовини крові людини та N-ацетил-D-галактозаміну лектин міститься у високій концентрації

у статевій залозі равлика, але його кількість змінюється в різні періоди його життя. За нашими спостереженнями кількість лектину є максимальною весною до відкладання яєць і мінімальною восени [9]. Очевидно, цей лектин відіграє якусь важливу роль у процесі розмноження або відкладання яєць равлика. Два лектини різної специфічності містяться у статевій залозі садового равлика (*Cepaea hortensis*) та близькоспорідненого виду деревного равлика (*C. nemoralis*), зміни у кількостях лектинів у статевій залозі яких, за нашими спостереженнями відбуваються аналогічним чином. У більш високоорганізованих тварин – слизнів лектини містяться як у внутрішніх органах (печінці), так і у шкірі [31]. Однак нічого невідомо про фізіологічну функцію лектинів шкіри та можливі зміни в активності лектину у різні періоди життя слизнів.

Багатим джерелом лектинів є ікра прісноводних і морських риби. Серед них зустрічаються лектини з рідкісною специфічністю. Наприклад, з ікри річкового окуня (*Perca fluviatilis* L.) [8] та судака (*Lucioperca lucioperca* /L./) [7] можна одержати лектини з рідкісною специфічністю до L-фукози. Дуже цікавим фактом є те, що у двох екологічних підвидів окуня – трав'яного і глибинного ікра відрізняється ізолектиновим складом. У трав'яного окуня у складі ікри є ізоформи лектину, які реагують з целобіозою та з целюлозою з високою афінністю [8]. Лектини ікри риби за фізико-хімічними властивостями не відрізняються від більшості відомих лектинів. Як правило, вони достатньо стійкі до змін рН (4-10) і нагрівання до +60°C, а іноді і вище.

Лектини містяться в отруті змій часто у високій концентрації. Вони відносяться до так званих С-типу лектинів і чинять геморагічний ефект. Значна кількість С-типу лектинів з отрути змій відзначається впливом на фактори коагуляції або на тромбоцити. Діючи на тромбоцити, вони їх пригнічують або активізують, зв'язуючись із специфічними тромбоцитарними рецепторами GPIb, $\alpha_2\beta_1$, і GPVI [25]. Були спроби використання лектинів С-типу з отрути змій в якості антитромботичних речовин, так як здатні блокувати взаємодію між фактором Віллебранда і тромбоцитами. Однак, коли есхідетин (С-типу лектин) з отрути піщаної ефи (*Echis carinatus*) чи інші подібні лектини отрути змій вводились лабораторним тваринам для вивчення їх ефекту in vivo, часто спостерігалась значна тромбоцитопенія. Це явище залишилось нез'ясованим [26]. Яка ж біологічна функція лектинів отрути змій? Зрозуміло, що вони є зброєю агресії, оскільки допомагають змії вполювати здобич. Лектини С-типу в зміях родини *Viperidae* і *Crotalidae* зумовлюють різноманітні геморагічні ефекти, що підсилює дію зміїної отрути. Зрозуміло, що незважаючи на високий вміст лектинів у отруті змій, їх одержання доступне лише високоспеціалізованим лабораторіям.

ВИСНОВКИ

Лектини – речовини білкової природи, які селективно зв'язують вуглеводи, є речовинами первинного синтезу і присутні у всіх царствах, типах і класах живих організмів. В окремих випадках вони здатні накопичуватись в органах і тканинах у високих концентраціях. Це пов'язано з їх біологічною функцією у цих органах і корелює з вуглеводною специфічністю. У рослин, грибів і тварин концентрація лектинів дуже змінюється в залежності від фази вегетації рослини, стадії розвитку організму або функціонального призначення органу. Окремі лектини відзначаються високою лабільністю і впливом до факторів зовнішнього середовища. Все це необхідно враховувати при заготівлі сировини з метою одержання лектинів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Антонюк В. А. Использование маннофукогалактана из *Phellinus igniarius* (L:Fr.) Quell для очистки лектина *Aleuria aurantia* (Fr.) Tekl. / В. А. Антонюк // Микол. и фитопатол. – 1990. – Т. 24, № 6. – С. 538-542.
2. Антонюк В. А. Лектины из купены многоцветковой (*Polygonatum multiflorum* (L.) All.). Очистка, свойства и получение производных, меченных пероксидазой и коллоидным золотом / В. А. Антонюк // Биохимия (М.). – 1992. – Т. 57, № 12. – С. 1847-1854.
3. Антонюк В. А. Очистка и частичная характеристика фукозоспецифического лектина из плодовых тел *Peziza badia* Merat. / В. А. Антонюк // Биохимия (М.). – 1997. – Т. 62, № 8. – С. 983-987.
4. Антонюк В. А. Очистка и частичная характеристика лектина из гриба дубовика оливково-бурого (*Boletus luridus* Fr.) / В. А. Антонюк // Микол. и фитопатол. – 1997. – Т. 31, №1. – С. 35-41.
5. Антонюк В. А. Сезонные изменения титра гемагглютинации и средства к углеводам экстрактов растений, содержащих фукозоспецифичные лектины / В. А. Антонюк, М. Д. Луцик, Л. Я. Ладная // Физиол. растений. – 1982. – Т. 29, вып. 6. – С. 1219-1224.
6. Антонюк В. А. Фитолектины во флоре УССР и специфичность связывания ими углеводов / В. А. Антонюк, М. Д. Луцик, Л. Я. Ладная // Растит. ресурсы. – 1983. – № 2. – С. 151-159.
7. Антонюк В. О. L-фукозоспецифичний лектин ікри судака (*Lucioperca lucioperca* L.): очистка та вивчення вуглеводної специфічності / В. О. Антонюк // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, № 2. – С. 60-64.
8. Антонюк В. О. Очищення лектину з ікри окуня (*Perca fluviatilis* L.), специфічного до целобіози та вивчення його властивостей / В. О. Антонюк // Укр. біохім. журн. – 2004. – Т. 76, №1. – С. 72-77.
9. Антонюк В. О. Лектини та їх сировинні джерела. – Львів: Кварт, 2005. – 554 с.
10. Антонюк В. О. Вуглеводна специфічність лектинів рослин роду хвощ / В. О. Антонюк, О. Л. Дубицький // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 3. – С. 93-96.
11. Антонюк В. О. Дослідження гемолітичної та антимікробної дії лектинів отруйних грибів *Amanita virosa* Secr. та *Muscena pura* /Fr./ Kumm. / [В. О. Антонюк, О. О. Немченко, І. В. Тимчук та ін.] // Біополімери і клітина. – 2010. – Т. 26, №1. – С. 29-35.
12. Антонюк В. О. Новий манозоспецифічний лектин з кореневищ лілійника рудуватого (*Heimerocallis fulva* L.): очистка та властивості / В. О. Антонюк, Л. В. Панчак, М. О. Старикович, Р. С. Стойка // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 2. – С. 27-32.
13. Антонюк В. О. Очистка і характеристика нового манозоспецифічного лектину з цибулин гіацинтика гостролопатевого (*Hyacinthella acutiloba* K. Perss.) / [В. О. Антонюк, Л. В. Панчак, М. О. Старикович та ін.] // Biotechnol. Acta. – 2013. – Т. 6, №3. – С. 69-74.
14. Антонюк Л. П. Лектин пшеницы как фактор растительно-микробной коммуникации и белок стрессового ответа / Л. П. Антонюк, Н. В. Евсеева // Микробиол. – 2006. – Т. 75, № 4. – С. 544-549.
15. Голынская Е. Л. Фитогемагглютинины генеративных органов и их возможное участие в реакции распознавания при взаимодействии пыльцы и пестика. В кн.: Молекулярная биология / Е. Л. Голынская. – К.: Наукова думка, 1979. – С. 34-41.
16. Луцик А. Д., Детюк Е. С., Луцик М. Д. Лектины в гистохимии. – Львов: Вища шк., 1989. – 142 с.
17. Матвеева Н. П. Выявление лектинов оболочки пыльцевого зерна *Nicotiana tabacum* L, стимулирующих прорастание in vitro / [Н. П. Матвеева, Е. А. Лазарева, Т. П. Клюшник и др.] // Физиол. растений. – 2007. – Т. 54, № 5. – С. 699-706.
18. Панчак Л. В. Очистка лектина из плодовых тел *Lactarius pergamenus* (Fr.) Fr и изучение его свойств / Л. В. Панчак, В. А. Антонюк // Биохимия (М.). – 2011. – Т. 76, №4. – С. 537-550.
19. Хомутовский О. А., Луцик М. Д., Передерей О. Ф. Электронная гистохимия рецепторов клеточных мембран. – К.: Наукова думка, 1986. – 168 с.
20. Agrawal B. B. L. Specific binding of concanavalin A to cross-linked dextran gels / B. B. L. Agrawal, I. J. Goldstein // Biochem. J. – 1965. – Vol. 96. – P. 23-25.
21. Allan D. J. The roles of extracellular proteins, polysaccharides and signals in the interactions of rhizobia with legume roots / D. J. Allan // FEMS Microbiol. Rev. – 2010. – Vol. 34, № 2. – P. 150-170.
22. Antonyuk V. O. Cytotoxic proteins of *Amanita virosa* Secr. mushroom: purification, characteristics and action towards mammalian cells / V. O. Antonyuk, O. Yu. Klyuchivska, R. S. Stoika // Toxicol. – 2010. – Vol. 55. – P. 1297-1305.
23. Barre A. Structure-Function Relationship of Monocot Mannose-Binding Lectins / [A. Barre, E. J. M. Van

- Damme, W. J. Peumans, P. Rouge] // Plant Physiol. – 1996. – Vol. 112. – P. 1531-1540.
24. Bostwick D. E., Skaggs M. I., Thompson G. A. Organization and characterization of Cucurbita phloem lectin genes / D. E. Bostwick, M. I. Skaggs, G. A. Thompson // Plant Mol. Biol. – 1994. – Vol. 26, № 3. – P. 887-897.
25. Clemetson K. J. Multifunctional snake C-type lectin affecting platelets / [K. J. Clemetson, A. Navdaev, D. Dormann et al.] // Haemostasis. – 2001. – Vol. 31, № 3-6. – P. 148-154.
26. Fujimura Y. Snake venom proteins modulating the interaction between von Willebrand factor and platelet glycoprotein Ib. / Y. Fujimura, T. Kawasaki, K. Titani // Thromb. Haemostasis. – 1996. – Vol. 76. – P. 633-639.
27. Gansera R. Lectin-associated proteins from seeds of leguminosae / R. Gansera, H. Shura, H. Rüdiger // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. – 1979. – Vol. 360, № 11. – P. 1579-1585.
28. Gong M. Effects of Denaturation and Amino Acid Modification on Fluorescence Spectrum and Hemagglutinating Activity of *Hericium erinaceum* Lectin / [M. Gong, J. An, H.-Z. Lu et al.] // Acta Biochimica et Biophysica Sinica. – 2004. – Vol. 36, № 5. – P. 343-350.
29. Kienle G. S. Review Article: Influence of *Viscum album* L (European Mistletoe) Extracts on Quality of Life in Cancer Patients: A Systematic Review of Controlled Clinical Studies / G. S. Kienle, H. Kiene // Integr. Cancer Ther. – 2010. – Vol. 9, № 2. – P. 142-157.
30. Knibbs R. N. Characterization of the carbohydrate binding specificity of the leucoagglutinating lectin from *Maackia amurensis* / [R. N. Knibbs, I. J. Goldstein, R. M. Ratcliffe, N. Shibuya] // J. Biol. Chem. – 1991. – Vol. 266, № 1. – P. 83-88.
31. Kurachi S., Song Z., Takagaki M. et al. Sialic-acid-binding lectin from the slug *Limax flavus* – cloning, expression of the polypeptide, and tissue localization / [S. Kurachi, Z. Song, M. Takagaki et al.] // Eur. J. Biochem. – 1998. – Vol. 254, № 2. – P. 217-222.
32. Li L. Lectin-aided separation of circulating tumor cells and assay of their response to an anticancer drug in an integrated microfluidic device / [L. Li, W. Liu, J. Wang, Q. Tu et al.] // Electrophoresis. – 2010. – Vol. 31, № 18. – P. 3159-3166.
33. Lutsyk A. D. Diabetic alteration versus postnatal maturation of rat kidney glycoconjugates: a comparative detection by lectin probes / A. D. Lutsyk, N. A. Ambarova, V. O. Antonyuk // Folia histochemica et cytobiologica. – 2013. – Vol. 51, № 1. – P. 10-20.
34. Ng T. B. Recent Progress in Research on Ribosome Inactivating Proteins / T. B. Ng, J. H. Wong, H. Wang // Current Protein and Peptide Sci. – 2010. – Vol. 11, № 1. – P. 37-53.
35. Ohyama K. Investigation of *Vicia graminea* lectin- and *Vicia unijuga* lectin-binding glycoproteins as novel oncofetal antigens in cyst and ascitic fluids of human ovarian tumors in benign, dysplastic, and malignant stages / [K. Ohyama, K. Yanag, S. Hayashi et al.] // Cancer Detect/Prev. – 1997. – Vol. 21, № 4. – P. 304-311.
36. Peumans W. I. An unusual lectin from stinging nettle (*Urtica dioica*) rhizomes / W. I. Peumans, Marc De Ley, W. F. Broekaert // FEBS Lett. – 1984. – Vol. 177, № 1. – P. 99-103.
37. Rabia H. Lectin-Mediated Therapeutics / H. Rabia // IOSR J. of Pharmacy. – 2012. – Vol. 2, № 4. – P. 22-28.
38. Raikhel N. V. Structure and function of chitin-binding proteins / N. V. Raikhel, W. F. Broekaert // Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1993. – Vol. 44. – P. 591-615.
39. Rambaruth N. D. S. The lectin *Helix pomatia* agglutinin recognizes O-GlcNAc containing glycoproteins in human breast cancer / N. D. S. Rambaruth, P. M. Greenwell, M. V. Dwek // Glycobiol. – 2012. – Vol. 22, № 6. – P. 839-848.
40. Sachdeva M. U. Philadelphia chromosome detection in chronic myeloid leukemia: Utility of phytohemagglutinin-stimulated peripheral blood culture / [M. U. Sachdeva, N. Varma, K. S. Rana, S. Varma] // Ind. J. Pathol. Microbiol. – 2012. – Vol. 55, № 2. – P. 196-201.
41. Sharon N. Lectins: Carbohydrate-specific Reagents and Biological Recognition Molecules / N. Sharon // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282. – P. 2753-2764.
42. Shewry P. R. Tuber Storage Proteins / P. R. Shewry // Ann. Bot. (London). – 2003. – Vol. 91, № 7. – P. 755-769.
43. Shibuya N. The elderberry (*Sambucus nigra* L.) bark lectin recognizes the Neu5Ac(a2-6)Gal/GalNAc sequence / [N. Shibuya, W. F. Goldstein, W. F. Broekaert et al.] // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 262, № 4. – P. 1596-1601.
44. Tullis R. H. Modeling Hepatitis C Virus Therapies Combining Drugs and Lectin Affinity Plasmapheresis / [R. H. Tullis, R. P. Duffin, T. E. Ichim et al.] // Blood Purif. – 2010. – Vol. 29. – P. 210-215.
45. Ueno S. Asialoglycoprotein Receptor Promotes Cancer Metastasis by Activating the EGFR-ERK Pathway / [S. Ueno, M. Mojic, Y. Ohashi et al.] // Cancer Res. – 2011. – Vol. 71, № 20. – P. 6419-27.
46. Van Damme E. I. M. Developmental changes and tissue distribution of lectin in tulipa / E. I. M. Van Damme, W. I. Peumans // Planta. – 1989. – Vol. 178, № 1. – P. 10-18.
47. Van Damme E. J. The major tuber storage protein of araceae species is a lectin. Characterization and molecular cloning of the lectin from *Arum maculatum* L. / [E. J. Van Damme, K. Goossens, K. Smeets et al.] // Plant Physiol. – 1995. – Vol. 107, № 4. – P. 1147-1158.
48. Wang W. The Tn antigen-specific lectin from ground ivy is an insecticidal protein with an unusual physiology / [W. Wang, B. Hause, W. J. Peumans et al.] // Plant Physiol. – 2003. – Vol. 132, № 3. – P. 1322-1334.
49. Winters W. D. Immunoreactive lectins in leaf gel from *Aloe barbadensis* Miller // Phytotherapy Res. – 1993. – Vol. 7, № 7. – P. 23-25.

УДК 615.322 : 615.07

В. А. Антонюк

ЛЕКТИНЫ: РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ФУНКЦИЯ В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ И ОСОБЕННОСТИ ЗАГОТОВКИ СЫРЬЯ

Предложен краткий обзор собственных работ и научных данных о распространении лектинов в высших растениях, настоящих грибах и животных организмах. Рассмотрены особенности распределения лектинов по органам растений, изменение их активности в процессе вегетации, количественное содержание лектинов в различных органах и семействах, их физиологическая роль и особенности заготовки сырья. Также акцентируется внимание на отличиях при заготовке сырья для очистки лектинов из настоящих грибов и органов животных, на возможной взаимосвязи углеводной специфичности лектинов и их биологической функции.

Ключевые слова: лектины; распространение; функция; растения; грибы; животное сырьё

UDC 615.322 : 615.07

V. O. Antonyuk

LECTINS: DISTRIBUTION AND FUNCTION IN LIVING ORGANISMS AND PECULIARITIES OF THE PROCUREMENT OF RAW MATERIALS

It has been suggested brief overview of personal investigations and scientific data on the distribution of lectins in higher plants, true fungi and animals. Peculiarities of distribution of lectins in plant organs, changes of their activity during vegetation, quantitative content of lectins in various organs and families, their physiological role and peculiarities in harvesting raw materials are considered. Our attention was focused on differences in the harvesting of raw materials for purification lectins from true fungi and organs of animals, on the possible relationship of carbohydrate specificity of lectins and their biological function.

Key words: lectins; distribution; function; plants; fungi; animals; raw materials

Адреса для листування:
79005, м. Львів, вул. Драгоманова, 14/16.
Інститут біології клітини НАН України.
Тел. (032) 786-64-64.

Надійшла до редакції:
26.11.2013 р.

Біофармацевтичні дослідження

Рецензенти рубрики:

Піняжко О. Р.,
д. мед. н., професор



УДК 615.45:615.074

О. В. БАБІЙ, К. Ф. ВАЩЕНКО

*Вінницький медичний коледж ім. акад. Д. К. Заболотного
Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького*

БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИВІЛЬНЕННЯ ТІЛОРОНУ ІЗ МАЗЕЙ НА ГІДРОФІЛЬНИХ ОСНОВАХ

Вивчено вивільнення тілорону в дослідженнях in vitro з мазей на поліетиленоксидних основах. Розроблено методику спектрофотометричного кількісного визначення тілорону в діалізаті методом добавок. Проведено валідаційну оцінку методики за критеріями точності, лінійності, відтворюваності та показано, що вона може бути використана в лабораторних умовах при вивченні вивільнення тілорону з мазевих основ.

Ключові слова: тілорон; мазь; діаліз; спектрофотометричний метод аналізу; валідація

ВСТУП

Інфекційні ураження людини, етіологічним чинником яких є вірус простого герпесу (ВПГ) 1-го та/або 2-го типу, обіймають широке коло клінічних проблем. Серед них на особливу увагу заслуговує лікування рецидивів і профілактика загострень герпетичної інфекції (ГІ). Актуальність вирішення цих проблем обумовлена підвищенням ступеня інфікованості ВПГ, а також зростанням частоти рецидивів та поширеності клінічних проявів герпетичного процесу [7]. На теперішній час існують три основні напрямки в лікуванні та профілактиці загострень ГІ: хіміотерапія (використання противірусних препаратів); імунотерапія (неспецифічна та специфічна); комплексний метод лікування, що включає імунотерапію у поєднанні з противірусною терапією [6].

Лікування загострення ГІ, крім системних препаратів, обов'язково включає місцеве застосування противірусних мазей, кремів та гелів [3]. Зовнішнє призначення противірусних препаратів при герпесі шкіри та слизових оболонок необхідне для зменшення клінічних проявів у місці ураження, прискорення епітелізації та скорочення часу видалення вірусу з місця ураження. Основними лікарськими засобами (ЛЗ) для лікування ГІ на сьогоднішній день є ациклічні нуклеозиди – інгібітори реплікації вірусу герпесу, які специфічно взаємодіють з вірусним ферментом тимідинкіназою. Найчастіше застосовують ацикловір. У клінічній практиці ацикловір має репутацію безпечного засобу, але його низька біодоступність (20%) та комплаєнтність стали причиною розробки препаратів II покоління – валацикловіру та фамцикловіру [1], проте і стосовно даних препаратів також відмічається ріст резистентності збудника, а також високі показники рецидивування [7].

Розвиток резистентності до ацикловіру у хворих, які страждають на рецидивуючий герпес, спонукає дослідників при розробці м'яких лікарських засобів для лікування ГІ застосовувати імуномодулятори, індуктори інтерферону, одним з яких є тілорон.

Нами запропонована мазь з тілороном, яка призначена для зовнішнього лікування герпетичної інфекції. Механізм противірусної дії тілорону пов'язаний з інгібуванням трансляції вірус-специфічних білків в інфікованих клітинах, внаслідок чого пригнічується репродукція вірусів. Для зменшення болю та свербіння в місцях ураження в мазеву композицію був введений ментол [4]. Оскільки ефективність ЛЗ залежить не тільки від активного фармацевтичного інгредієнта, але і від інших чинників, зокрема, від виду і кількості допоміжних речовин (ДР) [9], метою нашої роботи є вивчення впливу основи на вивільнення тілорону з мазей.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для проведення експерименту були виготовлені мазі з тілороном на гідрофільних (поліетиленоксидних) основах. Кількість тілорону в усіх зразках складає 2%, ментолу – 0,5%. Склад модельних мазевих основ представлено в табл. 1.

Здатність лікарської речовини (ЛР) вивільнятися з основи оцінювали за результатами дифузії тілорону через напівпроникну мембрану в дослідженнях in vitro [9]. В якості напівпроникної мембрани використовували кишку свині. Для цього використовували діалізаційну камеру, що складається із зовнішнього та внутрішнього циліндрів. До нижнього отвору внутрішнього циліндра герметично прикріплювали напівпроникну мембрану. Наважку дослідного зразка (0,5 г) рівномірно наносили на поверхню мембрани, внутрішній циліндр з дослідним зразком вміщували в діалізаційну камеру. Як акцепторний розчин

© Бабій О. В., Ващенко К. Ф., 2013

СКЛАД МОДЕЛЬНИХ МАЗЕВИХ ОСНОВ

Зразок, №	Назва інгредієнтів основи					
	гліцерин	пропіленгліколь	ПЕО-400	ПЕО-1500	ПЕО-4000	твін-80
1	+	-	+	+	-	+
2	-	+	+	+	-	+
3	+	-	+	-	+	+
4	-	+	+	-	+	+

* Примітка: (+) – наявність речовини в основі; (-) – відсутність речовини в основі.

використовували воду очищену. Перші 10 год відбір проб (1 мл) проводився кожні 30 хв, останню пробу відбирали через 24 год з початку експерименту. Діаліз проводили в термостаті ТС-80-М-2 при температурі $34 \pm 1^\circ\text{C}$, що відповідає температурі шкіри здорової людини [5].

Кількісний вміст тілорону визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Helios γ з використанням методу добавок при довжині хвилі 270 нм і товщині кювети 10 мм; розчин порівняння – вода очищена. Метод добавок є різновидом методу порівняння. Визначення концентрації розчину за допомогою цього методу засноване на порівнянні оптичної густини досліджуваного розчину і того ж розчину з додаванням відомої кількості досліджуваної речовини. Цей метод використовується для спрощення роботи, для усунення сторонніх домішок. Невідому концентрацію знаходять розрахунковим або графічним методами. При дотриманні основного закону світлопоглинання і постійної товщини шару відношення оптичної густини дослідного розчину і дослідного розчину з добавкою буде дорівнювати відношенню їх концентрацій:

$$\frac{A_1}{A_{1+0}} = \frac{C}{(C + C_0)}, \text{ звідки } C = \frac{C_0 \cdot A_1}{A_{1+0} - A_1},$$

де: A_1 – оптична густина досліджуваного розчину; A_{1+0} – оптична густина досліджуваного розчину з добавкою;

C – невідома концентрація досліджуваної речовини в досліджуваному забарвленому розчині;

C_0 – концентрація добавки в досліджуваному розчині.

Попередньо була вивчена можливість визначення тілорону в присутності діалізату з мажевої основи та ДР. З цією метою спектрофотометричному аналізу був підданий діалізат мажевих основ.

На рис. 1 наведені спектри поглинання розчину тілорону з концентрацією $0,333 \cdot 10^{-5}$ г/мл.

Як видно з рис. 1, максимум поглинання діалізату мажевої основи при довжині хвилі 270 нм (аналітична область тілорону) є низькоінтенсивним, тому така методика кількісного визначення тілорону в діалізаті специфічна та дозволяє визначати діючу речовину в присутності компонентів основи.

Для отримання достовірних результатів методика кількісного визначення тілорону в діалізаті була піддана валідаційній оцінці відповідно до рекомендацій Міжнародної конференції по гармонізації (ICH) за показниками: лінійність, точність, відтворюваність [9]. З цією метою на модельній мажевій основі №4 були виготовлені модельні композиції з вмістом тілорону 0,50%, 0,75%, 1,00%, 1,25%, 1,50%, 1,75%, 2,00%, 2,25%, 2,50% відповідно.

Визначення точності методики проводили на модельному зразку, з якого було взято діалізат мазі з вмістом тілорону 2% після 6-годинного діалізу. Концентрація тілорону в ньому складала $2,432 \cdot 10^{-4}$ г/мл ($2,432 \cdot 10^{-2}\%$). З цього діалізату готували розведення 1:2, 1:1, 1:0,5 та розраховували вміст тілорону. Потім діалізат розводили водою очищеною відповідно до вказаних розведень, вимірювали оптичну густина

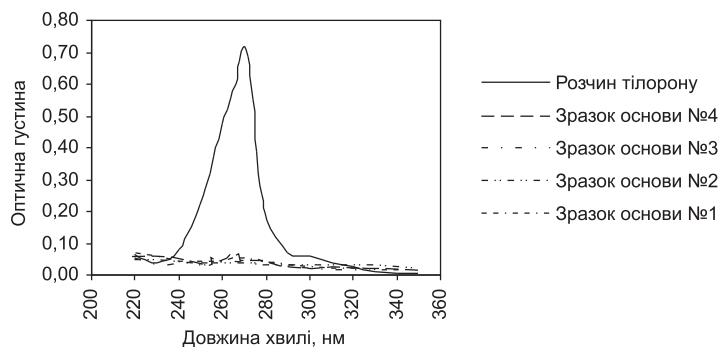


Рис. 1. УФ-спектри поглинання розчину тілорону з концентрацією $0,333 \cdot 10^{-5}$ г/мл та діалізату плацебо модельних мажевих основ.

Таблиця 2

**ОЦІНКА ТОЧНОСТІ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ТІЛОРОНУ В ДІАЛІЗАТІ
(ПОЧАТКОВИЙ ВМІСТ $2,432 \cdot 10^{-2} \%$)**

Дослід, №	Розведення модельного зразка діалізату	Значення оптичної густини діалізату	Розрахунковий вміст тілорону в діалізаті, $\% \cdot 10^{-2}$	Знайдена кількість тілорону в діалізаті, $\% \cdot 10^{-2}$	Знайдена кількість тілорону в діалізаті, $\% \cdot 10^{-2}$ (з урахуванням розведення)	Знайдений вміст, у $\%$ до введеного, Z
1	1:2	0,126	0,8107	0,8088	2,4264	99,77
2	1:2	0,128	0,8107	0,8106	2,4318	99,99
3	1:2	0,129	0,8107	0,8127	2,4380	100,25
4	1:1	0,209	1,2160	1,2153	2,4310	99,96
5	1:1	0,210	1,2160	1,2191	2,4380	100,25
6	1:1	0,207	1,2160	1,2115	2,4230	99,63
7	1:0,5	0,275	1,6213	1,6018	2,4000	98,68
8	1:0,5	0,277	1,6213	1,6057	2,4090	99,04
9	1:0,5	0,276	1,6213	1,6038	2,4060	98,93
Метрологічні характеристики						
Середнє значення (X), $\% \cdot 10^{-2}$					2,423	
Стандартне відхилення (S_x), $\% \cdot 10^{-3}$					0,142	
$X \pm \Delta X$ (%)					$2,423 \cdot 10^{-2} \pm 0,109 \cdot 10^{-3}$	
Відносне стандартне відхилення RSD, %					0,59	
Середнє значення Z, %					99,61	
Відносне стандартне відхилення S_z , %					0,59	
Відносний довірчий інтервал $\Delta_{\text{дв}}$, %					1,36	
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_{\text{кр}}$, %					<2,95	
Систематична похибка δ , %					0,39	
Критерій невизначеності системної похибки					< 0,45	

Примітка. * – $p \leq 0,05$; $t(P, n) = 2,31$; $n = 9$.

та розраховували фактичний вміст тілорону методом добавок. Далі розраховували значення стандартного відхилення методики (S_x), довірчий інтервал, значення відносного стандартного відхилення (RSD). Результати оцінки точності методики наведені в табл. 2.

Як видно з даних, наведених у табл. 2, значення відносного стандартного відхилення не перевищує 3%, що відповідає рекомендаціям Міжнародної конференції по гармонізації (ICH) [10].

Відтворюваність аналітичної методики визначає ступінь близькості між відомим значенням та значенням цієї величини, отриманим за даною методи-

кою. Для цього аналізу піддавали обробці діалізати дев'яти паралельно проведених діалізів мазі з тілоронном з концентрацією 2% (протягом 6 год). Результати представлені в табл. 3.

Отже, значення відносного стандартного відхилення складає 0,76%, що підтверджує достатню відтворюваність отриманих результатів.

Лінійність методики характеризує можливість одержання аналітичних величин, у нашому випадку

Таблиця 3

**РЕЗУЛЬТАТИ ТЕСТУВАННЯ МЕТОДИКИ
ЗА КРИТЕРІЄМ ВІДТВОРЮВАНOSTІ**

Дослід, №	Значення оптичної густини діалізату	Кількість тілорону в діалізаті, $\% \cdot 10^{-2}$	Метрологічні характеристики
1	0,419	2,432	$\bar{X} (\%) = 2,438 \cdot 10^{-2}$ $S_x (\%) = 0,186 \cdot 10^{-3}$ RSD (%) = 0,76 $X \pm \Delta X (\%) = 2,438 \cdot 10^{-2} \pm 0,143 \cdot 10^{-3}$
2	0,416	2,418	
3	0,421	2,442	
4	0,423	2,450	
5	0,424	2,456	
6	0,422	2,447	
7	0,421	2,442	
8	0,418	2,427	
9	0,419	2,432	

Примітка. * – $p \leq 0,05$; $t(P, n) = 2,31$; $n = 9$.

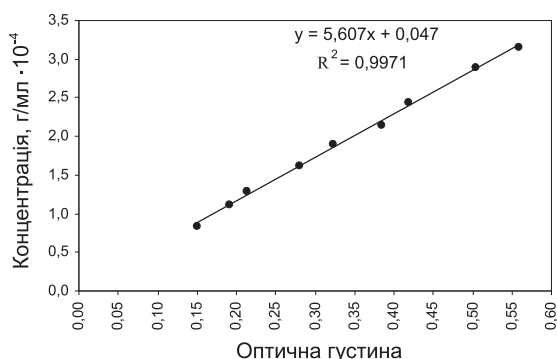


Рис. 2. Графік залежності оптичної густини від концентрації тілорону в діалізаті, рівняння регресії та коефіцієнт кореляції.

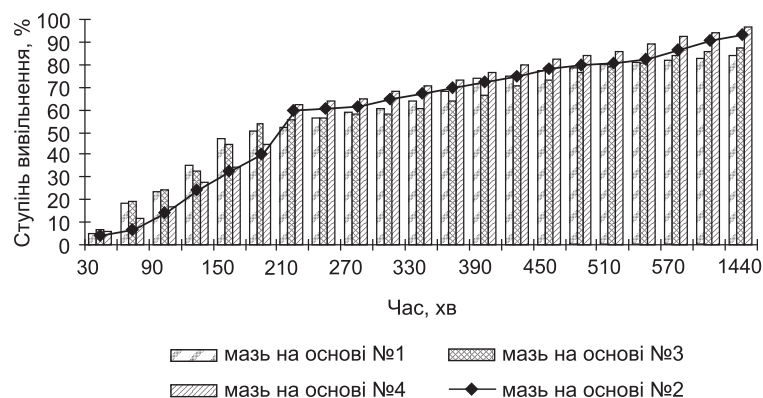


Рис. 3. Динаміка вивільнення тілорону з мазей.

це значення оптичної густини, які пропорційні кількості речовини, що визначається. Для проведення експерименту були виготовлені мазі з тілороном з концентрацією 0,5%, 0,75%, 1,0%, 1,25%, 1,5%, 1,75%, 2,0%, 2,25%, 2,5%. З виготовлених зразків мазей був проведений діаліз за вищеописаною методикою, а діалізати проаналізовані. Результати експерименту представлені на рис. 2.

На представленому графіку майже всі експериментальні точки лежать на лінії тренду. Для з'ясування того, наскільки міцна ця залежність, розраховували коефіцієнт кореляції, який складає 0,9971. В аналітичній хімії в більшості випадків використовують лінійні залежності з коефіцієнтом кореляції $\geq 0,98$, а при аналізі слідових кількостей розглядають лінійні залежності з коефіцієнтом кореляції $\geq 0,9$ [2]. Оскільки розраховане нами значення коефіцієнта кореляції максимально наближене до 1, то це дозволяє говорити про наявність жорсткої залежності оптичної густини від концентрації тілорону в діалізаті.

Таким чином, запропонована методика кількісного визначення тілорону методом спектрофотометрії в діалізаті є точною, відтворюваною, лінійною та може застосовуватися для вивчення вивільнення останнього з мазевих основ.

Дана методика була використана для визначення швидкості вивільнення тілорону з поліетиленоксидних мазевих основ.

Концентрацію одержаних у результаті діалізу розчинів розраховували, використовуючи дані оптичної густини досліджуваних розчинів та тих же розчинів з додаванням відомої кількості тілорону.

$$C = \frac{C_0 \cdot A_1 \cdot b}{A_{1+0} - A_1},$$

де: A_1 – оптична густина досліджуваного розчину;
 A_{1+0} – оптична густина досліджуваного розчину з відомою добавкою тілорону;
 C – концентрація досліджуваного розчину, г/мл;
 C_0 – концентрація добавки тілорону в досліджуваному розчині, г/мл;
 b – розведення.

При розрахунку загальної кількості тілорону, що перейшов у розчин, враховували його кількість, яка містилась у відібраних раніше пробах:

$$X_n = C_n \cdot V_p + \frac{X_{n-1}}{V_p} \cdot V_a,$$

де: X_n – загальна кількість речовини, що перейшла у розчин за n годин досліджу;

C_n – концентрація речовини в діалізаті, г/мл через за n годин досліджу;

V_p – загальний об'єм розчину в діалізаційній камері (30 мл);

X_{n-1} – загальна кількість речовини, що перейшла у розчин за n годин досліджу;

V_a – об'єм аликвоти, вибраний для аналізу (1 мл).

Ступінь вивільнення (%) тілорону з мажею основ розраховували за відношенням загальної кількості ЛР, що перейшла у розчин за n годин досліджу (г) до кількості ЛР у мажевій основі (г).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення вивільнення тілорону із мазей на поліетиленоксидних основах наведені на рис. 3.

Як видно з даних, наведених на рис. 3, вивільнення тілорону з мазей залежить від складу мазевих основ. Найбільший ступінь вивільнення тілорону за перші 4 год дослідження спостерігається із зразків мазей на основах №2 і №4 та складає відповідно 60,24% і 63,48%. Наприкінці експерименту (на 24-й годині досліджу) теж більш повне вивільнення тілорону спостерігається із зразків мазей на цих основах і становить відповідно 93,48% і 96,54%. Оскільки основи відрізняються наявністю різних зволожувачів, то, очевидно, пропіленгліколь, який входить до складу мазей №2 і №4, сприяє більш повному вивільненню тілорону з мажевої основи, а також більш швидкій дифузії молекул останнього через пори напівпроникної мембрани.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено та проведено валідаційну оцінку методики кількісного визначення тілорону в діалізаті методом спектрофотометрії.

2. Методом рівноважного діалізу крізь напівпроникну мембрану вивчено вивільнення тилорону і встановлено, що введення до складу поліетиленоксидних мазевих основ пропіленгліколю значно підвищує біодоступність тилорону з мазей.
4. Машковский М. Д. Лекарственные средства: в 2-х т. / М. Д. Машковский. – 14-е изд., перераб. и доп. – М.: Новая волна, 2000. – Т. 1. – 540 с.
5. Нормальна фізіологія / За ред. В. І. Філімонова. – К.: Здоров'я, 1994. – 608 с.
6. Панкратов О.В. Иммуномодуляторы в лечении герпетической инфекции, вызванной вирусом простого герпеса / О. В. Панкратов // Мед. новости. – 2011. – № 4. – С. 18-24.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аковбян В.А. Генитальный герпес: современные проблемы и пути их решения / [В. А. Аковбян, С. А. Масюкова, Е. В. Владимировна и др.] // Клин. микробиол. и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т. 5, № 1. – С. 4-18.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с. – Доп. 2, 2008. – 620 с.
3. Маркевич К. Г. Рациональна комплексна діагностика та терапія рецидивуючого генітального герпесу / К. Г. Маркевич, В. І. Степаненко // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. – 2007. – № 4 (27). – С. 77-94.
7. Петрунин Д. Д. Использование препаратов интерферона альфа для лечения урогенитальных инфекций / Д. Д. Петрунин // АГ-инфо. – 2009. – № 2. – С. 6-12.
8. Степаненко В. І. Рецидивний генітальний герпес / В. І. Степаненко // Therapia. – 2008. – № 12 (32). – С. 21-29.
9. Тихонов А. И. Биофармация: учеб. для студ. высш. учеб. завед. и фармацевтов / [А. И. Тихонов, Т. Г. Ярных, И. А. Зупанец и др.]; Под ред. А. И. Тихонова. – Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2003. – 240 с.
10. Validation of analytical procedures: methodology Q2B / Intern, conf. on harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. – Geneva: ICH Secretariat, 1996. – 8 p.

УДК 615.45:615.074

Е. В. Бабий, Е. Ф. Ващенко

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ТИЛОРОНА ИЗ МАЗЕЙ НА ГИДРОФИЛЬНЫХ ОСНОВАХ

Изучено высвобождение тилорона в исследованиях *in vitro* из мазей на полиэтиленоксидных основах. Разработана методика спектрофотометрического количественного определения тилорона в диализате методом добавок. Проведена валидационная оценка методики по критериям точности, линейности, воспроизводимости и показано, что она может быть использована в лабораторных условиях при изучении высвобождения тилорона с мазевых основ.

Ключевые слова: тилорон; мазь; диализ; спектрофотометрический метод анализа; валидация

UDC 615.45:615.074

E. V. Babiy, K. F. Vashchenko

BIOPHARMACEUTICAL RESEARCH OF TILORONE RELEASE FROM OINTMENTS ON THE HYDROPHILIC BASIS

It has been studied release of tilorone in *in vitro* studies from ointments on the polyethylenoxide basis. The technique of spectrophotometric quantitative determination of tilorone in dialysate using supplements has been created. Evaluation of methods has been carried out on the criteria of accuracy, linearity, repeatability, what showed that this methods can be used *in vitro* by study of tilorone release from ointment bases.

Key words: ointment; tilorone; dialysis; spectrophotometric analysis; validation

Адреса для листування:

79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Львівський національний медичний університет
ім. Данила Галицького.

Тел. (32)275-59-56. E-mail: himmedvin@gmail.com.

Надійшла до редакції:

24.10.2013 р.

Біохімія

Рецензенти рубрики:

Набока О. І.,
д. біол. н., професор



УДК 577.121.9

А. Ю. Бродська¹, А. Л. Загайко², Л. В. Галузінська²¹ Херсонський державний університет² Національний фармацевтичний університет

БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ РОЗВИТКУ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ У ЖІНОК У ПЕРІОД ПРЕМЕНОПАУЗИ

Представлені експериментальні дані, отримані при порівняльній оцінці жінок у пременопаузі в залежності від наявності метаболічного синдрому (за показниками гормонального статусу, ліпідного обміну та компонентів вуглеводного обміну) для з'ясування механізму метаболічних порушень. Встановлено, що зміни ліпідного профілю пов'язані з балансом естрогенів і андрогенів та опосередковуються інсулінорезистентністю.

Ключові слова: пременопауза; метаболічний синдром; вісцеральне ожиріння; гіперандрогенія; інсулінорезистентність; дисліпідемія

ВСТУП

Регуляція репродуктивної системи жінки пов'язана з певними змінами у функціонуванні гіпоталамо-гіпофізарної системи в різні періоди життя: до пубертату, від пубертатного періоду до припинення менструацій (репродуктивний період) та пре- і постменопаузальний період. У свою чергу, гіпоталамо-гіпофізарна система контролюється корою головного мозку за допомогою нейромедіаторів. Це свідчить про те, що гармонійний розвиток репродуктивної системи жінки залежить від чіткої взаємодії ряду регуляторних факторів, таких як нейропептиди, ліберини, тропні гормони, які реалізують у певній послідовності нормальну функцію яєчників.

Пременопауза – це генетично запрограмований відрізок у житті жінки, коли починає згасати функція яєчників. Цей процес супроводжується зміною тривалості та якості менструального циклу, охоплюючи 1-2 роки після настання менопаузи [5].

Інволюційні процеси в яєчниках у період пременопаузи створюють передумови для розвитку метаболічного синдрому – комплексу гормональних та метаболічних порушень, які збільшують ризик виникнення цукрового діабету 2 типу та захворювань серцево-судинної системи. Основою для виділення метаболічного синдрому як окремої патології стало встановлення тісного зв'язку між ожирінням, артеріальною гіпертензією, інсулінорезистентністю та порушенням обміну ліпідів, наявність якого було постульовано вже у 60-х роках ХХ століття [8].

Аналіз літературних джерел свідчить, що вивчення рівня гонадотропінів і статевих гормонів, а також комплексу метаболічних порушень, викликаних ко-

ливанням рівня гормонів, проводилося у жінок у менопаузі та постменопаузі [1, 2, 3, 4, 6, 7, 17, 18], а дослідженням цих змін у пременопаузі присвячені поодинокі роботи [3, 4].

З врахуванням вищезазначеного метою даної роботи було з'ясування механізму метаболічних порушень у жінок у період пременопаузи.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У клініко-лабораторному дослідженні брали участь 90 жінок віком від 45 до 52 років ($48,60 \pm 0,51$), які знаходились у пременопаузі. Аналіз рівня гормонів проводили у 30 умовно здорових жінок (1 група) та 15 жінок з метаболічним синдромом та гірсуїтизмом (2 група). У жінок був зафіксований менопаузальний перехід на основі порушення менструальних циклів (затримки менструації від 1 до 3 місяців впродовж року), а також зменшення візуалізованого фолікулярного резерву за результатами трансвагінального ультразвукового дослідження органів малого тазу із застосуванням ультразвукового апарату «Aloka SSD 5000».

Електрохемілюмінісцентне імунологічне дослідження кількісного визначення дегідроепіандростерону сульфату (ДГЕА-С), глобуліну, що зв'язує статевий гормон (ГЗСГ), лютеїнізуючий гормон (ЛГ), фолікулостимулюючий гормон (ФСГ), естрадіол (E_2), прогестерон у людській сироватці крові. Дослідження проводили *in vitro* за допомогою наборів фірми «Roche Diagnostics» (Швейцарія) на імунологічному аналізаторі «Cobas e 411».

За допомогою радіоімунологічного аналізу проводили кількісне визначення вільного тестостерону та інсуліну в людській сироватці крові *in vitro* за допомогою набору фірми «Beckman Coulter» (США) на радіометрі «Гамма-12» (СРСР).

© Бродська А. Ю., Загайко А. Л., Галузінська Л. В., 2013

ПОКАЗНИКИ РІВНЯ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ І ГОНАДОТРОПІНІВ У ЖІНОК У ПРЕМЕНОПАУЗІ

Показники гормонального статусу	Група 1	Група 2	Клінічна норма для фолікулінової фази репродуктивного періоду
ФСГ, МОд/л	59,32±0,71	60,78±1,73	10
ЛГ, МОд/л	41,12±0,85	43,62±2,35	1-20
E ₂ , пг/мл	23,52±1,66	21,88±1,03	5-53
Прогестерон, мкг/л	0,54±0,04	0,5±0,08	0,3-0,7

За допомогою ензиматичного, колориметричного методу проводили кількісне визначення загально-го холестерину (ХС загальний), тригліцеридів, ліпопротейнів високої густини (ЛПВГ), ліпопротейнів низької густини (ЛПНГ) в людській сироватці крові *in vitro* за допомогою наборів фірми «Roche Diagnostics» (Швейцарія) на радіометрі автоматичному біохімічному та аналізаторі «Cobas Integra 800 Plus» (Швейцарія).

Концентрацію глюкози встановлювали за допомогою колориметричного методу для візуального визначення рівня глюкози в крові та порівнянням кольору тест-смужки «Betachek» (Австралія) з кольоровою шкалою на етикетці тубусу для концентрацій від 0 до 55 ммоль/л (0-1000 мг/дл). Малі кроки в змінах інтенсивності кольорів шкали та велика кількість значень концентрації підвищують точність результату.

Маса тіла встановлювалась за допомогою медичних підлогових механічних ваг РП-150 МГ, а зріст – за допомогою ростоміру РП-2000.

Для діагностики ожиріння і визначення його ступеня застосовували індекс маси тіла (ІМТ), запропонований А. Кетле (1969 р.), який є не лише діагностичним критерієм ожиріння, але й показником розвитку асоційованих з ним захворювань, зокрема метаболічного синдрому.

Розраховували індекс центрального ожиріння за формулою: ОТ/ОС, який характеризує локалізацію переважного відкладання жиру і тип ожиріння. Вимірювання окружності талії та стегон проводилось із застосуванням сантиметрової стрічки.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В останні роки приділяється велика увага проблемі менопаузального метаболічного синдрому. Це пов'язано з тим, що сучасна жінка близько третини свого життя проводить у стані менопаузи, і саме в цій віковій категорії відмічається достатньо висока поширеність цукрового діабету 2 типу і ожиріння [7, 11, 18, 23].

Доведено, що причинами формування метаболічного синдрому у жінок є вплив різних стресорних факторів. У складні механізми патогенезу залучається декілька систем: гіпоталамус-гіпофіз-наднирники, гіпоталамус-гіпофіз-яєчники і аутокринна ендокринна система вісцеральної жирової тканини.

Стосовно гормонального статусу жінок у період менопаузи літературні дані суперечливі, тому ми

провели аналіз рівня статевих гормонів та гонадотропінів у жінок даної вікової групи (табл. 1).

Відповідно до отриманих нами даних рівень E₂ знаходився в межах норми для фолікулінової фази репродуктивного періоду у жінок обох груп, що узгоджується з літературними даними, згідно з якими жінки старше 40 років мають звичайно або нормальний (5-53 пг/мл), або дещо вищий рівень E₂ [20]. Однак у жінок з метаболічним синдромом рівень E₂ в середньому нижчий на 4,76 пг/мл (p = 0,08) порівняно з умовно здоровими жінками.

Отримані нами дані свідчать про нормальний рівень прогестерону у жінок обох досліджуваних груп у менопаузі (0,1-0,8 мкг/л), що узгоджується з даними, представленими в роботі Klein N. et al. (1996). Однак у жінок з метаболічним синдромом рівень прогестерону є дещо вищим (p>0,05) порівняно з умовно здоровими жінками.

Зазначена динаміка змін E₂ і прогестерону є взаємозв'язаною у жінок з метаболічним синдромом.

Відповідно до отриманих нами даних у період менопаузи спостерігається підвищення рівня ФСГ (у 5-6 разів) та ЛГ (у 2 рази) порівняно з репродуктивним періодом, яке більш виражене у жінок з метаболічним синдромом.

Отримані нами дані частково узгоджуються з літературними відомостями. Так, у роботах Klein N. et al. (1996), Santoro N. et al. (1996) відзначається, що для жінок у менопаузі характерне помірне підвищення рівня ФСГ при незмінному ЛГ [14, 20]. При цьому рівень ФСГ підвищується протягом всього циклу, а найбільше у фолікулінову фазу [13, 19].

Отже, жінки в менопаузі характеризуються підвищенням рівнів ФСГ та ЛГ при нормальних рівнях E₂ і прогестерону.

За результатами ультразвукового дослідження органів малого тазу у жінок у період менопаузи спостерігається виснаження фолікулярного апарату яєчників, що обумовлює тенденцію до зниження E₂ і прогестерону, внаслідок чого виникає компенсаторне підвищення рівнів гонадотропінів. У старших овулюючих жінок підвищення рівня ФСГ є певним показником зниження яєчничового резерву та старіння яєчників. Н. Burger і N. Santoro (1996) висловили думку про можливість оцінки підвищення рівня ФСГ і ЛГ як «компенсаторну недостатність» яєчників [10, 20]. Цей феномен може бути результатом «ско-

рочення» фолікулінової фази, початку неадекватних періовуляторних подій або серії коротких фолікулінових фаз та високого рівня ФСГ і ЛГ, які створюють умови для дисфункції гіпоталамо-гіпофізарної системи.

Деякі автори відзначають, що на фоні гормональних перебудов, особливо в період пременопаузи, відбувається зміна композиційної будови тіла, що зумовлюється перерозподілом акумульованої жирової тканини в організмі [1, 7].

З метою перевірки цього припущення проведено антропометричне дослідження жінок у період пременопаузи (табл. 2).

У жінок з метаболічним синдромом ІМТ коливався в діапазоні від 32,21 до 39,72 кг/м², що свідчить про наявність у них ожиріння II ступеня за шкалою ВООЗ, тоді як у умовно здорових жінок значення цього показника знаходилося у межах норми.

Аналіз індексу центрального ожиріння виявив, що жінки з метаболічним синдромом мають достовірно вищі значення цього індексу ($p \leq 0,001$), ніж умовно здорові жінки, у яких значення даного індексу не виходило за межі норми. Тобто у жінок з метаболічним синдромом відбувається зміна композиційної будови тіла з накопиченням жиру в абдомінальній області, що узгоджується з літературними даними [17, 18].

Отже, у жінок у пременопаузі на фоні нормального рівня статевих гормонів та підвищеного рівня гонадотропінів можливим є розвиток абдомінального ожиріння, що узгоджується з літературними даними, однак патогенез цього явища залишається нез'ясованим. Тому наступним етапом нашого дослідження стало з'ясування можливих причин зміни типу акумулювання жирової тканини у жінок у пременопаузі.

Відомо, що тип розподілу жиру знаходиться під контролем естрогенів і андрогенів, а також активності відповідного рецепторного апарату [15, 16].

З метою оцінки рівня андрогенів було проведено лабораторне дослідження рівнів вільного тестостерону як біологічно активної фракції тестостерону та ДГЕА-С, який має таку саму дію, що і тестостерон. Велике значення у регуляції концентрації циркулюючих вільних статевих стероїдних гормонів має рівень ГЗСГ, який має високу спорідненість до тестостерону та дигідротестостерону і понижену спорідненість до естрогенів [9]. Тому додатково визначали рівень ГЗСГ (табл. 3).

Аналіз рівнів вільного тестостерону та ДГЕА-С виявив, що жінки з метаболічним синдромом мають достовірно вищі ($p \leq 0,001$) показники, ніж жінки контрольної групи, що свідчить про наявність у них гіперандрогенії. Крім того, у жінок 2 групи рівень ГЗСГ у 4 рази нижчий ($p \leq 0,001$), ніж у жінок контрольної групи, що вказує на зниження здатності до зв'язування андрогенів у жінок з метаболічним синдромом і може бути посилюючим фактором розвитку гіперандрогенії.

Таблиця 2

АНТРОПОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ У ЖІНОК У ПРЕМЕНОПАУЗІ

Антропометричний показник	Група 1	Група 2	Норма
ІМТ, кг/м ²	24,35±0,19	35,9±0,52*	18,5 – 25
ОТ/ОС, у. о.	0,71±0,01	0,89±0,01*	< 0,8

Примітка. * – достовірна відмінність між групами ($p \leq 0,001$).

Представляє інтерес взаємозв'язок андрогенів і експресії андрогенних рецепторів у формуванні фенотипів ожиріння. Кількість андрогенних рецепторів, на відміну від естрогенних, набагато більша в преадипоцитах із абдомінальних жирових депо в порівнянні з підшкірними. Виявлена підвищена експресія андрогенних рецепторів у жирі сальника в порівнянні з підшкірним та зменшення їх експресії з диференціюванням преадипоцитів у зрілі адипоцити. Важливо також, що стимуляція вісцеральних адипоцитів андрогенами підвищує експресію їх власних рецепторів. Таким чином, при наявності в організмі жінки гіперандрогенії вісцеральні адипоцити, які містять найбільшу кількість андрогенних рецепторів, виявляються більш чутливими до неї і відповідають накопиченням центрального жиру. У той же час доведено, що самі андрогенні рецептори здатні стимулювати продукування андрогену, посилюючи таким чином гіперандрогенію та, як наслідок, вісцеральне ожиріння [21].

Формування центрального ожиріння у жінок супроводжується збільшенням розмірів вісцеральних адипоцитів і активацією в них ліполізу, що призводить до збільшення концентрації вільних жирних кислот. Крім того, в центральному жирі відбувається накопичення метаболічно більш активних бурих адипоцитів [22].

Андрогени, як відомо, стимулюють ліпопротеїн-ліпазу печінки та ліполіз, проте вони також стимулюють секрецію інсуліну. До тих пір, поки жирова тканина чутлива до інсуліну, який стримує ліполіз, переважають процеси ліпогенезу з розвитком в умовах гіперандрогенії центрального ожиріння. З часом збільшені вісцеральні адипоцити при розвитку вісцерального ожиріння посилюють продукцію лептину і фактора некрозу пухлин-α (ФНП-α), які порушу-

Таблиця 3

ПОКАЗНИКИ РІВНЯ АНДРОГЕНІВ ТА ГЗСГ У ЖІНОК У ПРЕМЕНОПАУЗІ

Показники	Група 1	Група 2	Норма
Тестостерон вільний, пг/мл	1,12±0,05	4,34±0,03*	0,9-2,6
ДГЕА-С, ммоль/л	1,44±0,11	4,44±0,09*	3,28-6,95
ГЗСГ, ммоль/л	52,54±1,05	14,72±0,46*	58,6-110

Примітка. * – достовірна відмінність між групами ($p \leq 0,001$).

Таблиця 4

**ПОКАЗНИКИ ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНОСТІ
У ЖІНОК У ПРЕМЕНОПАУЗІ**

Показники інсулінорезистентності	Група 1	Група 2	Норма
Глюкоза крові натще, ммоль/л	4,76±0,04	6,26±0,14*	4,4-6,6
Глюкоза крові через 30 хв, ммоль/л	5,18±0,06	7,1±0,09*	
Глюкоза крові через 60 хв, ммоль/л	5,71±0,09	8,1±0,01*	
Глюкоза крові через 120 хв, ммоль/л	6,28±0,1	9,22±0,01*	
Інсулін натще, мкОД/мл	4,6±0,15	6,36±0,25*	2,1-5

Примітка. * – достовірна відмінність між групами ($p \leq 0,001$).

ють взаємодію інсуліну з його рецептором і сприяють формуванню інсулінорезистентності [12].

З метою встановлення факту порушення взаємодії інсуліну з його рецептором у жінок у період пременопаузи нами проведено дослідження рівня інсуліну (табл. 4).

За результатами наших досліджень рівень інсуліну у жінок 1 групи знаходився в межах норми, тоді як у жінок 2 групи рівень інсуліну достовірно підвищився ($p \leq 0,001$), що оцінюється як базальна гіперінсулінемія, яка є маркером інсулінорезистентності.

З метою підтвердження цього факту нами проведено глюкозо-толерантний тест.

Отримані результати показали, що у жінок 1 групи рівень глюкози натще та після проведення тесту знаходився в межах норми, тоді як у жінок 2 групи рівень глюкози в крові натще коливався в межах нормативних показників, а через 30 хв з моменту введення глюкози її рівень підвищився порівняно з базальним рівнем в середньому на 0,97 ммоль/л, через 60 хв – на 2,1 ммоль/л, а через 2 год перевищував базальний рівень глюкози майже у 1,5 рази.

Зазначена динаміка рівня глюкози в крові при глюкозо-толерантному тесті та підвищений базальний рівень інсуліну в крові дозволяють зробити висновок про те, що у жінок з метаболічним синдромом у пременопаузі формується інсулінорезистентність.

З розвитком інсулінорезистентності стримуючий вплив інсуліну на процеси ліполізу зменшується [12], що супроводжується збільшенням у крові вільних жирних кислот та призводить до зміни ліпідного профілю.

Так, за результатами нашого дослідження (табл. 5) у жінок з метаболічним синдромом рівень тригліцеридів, загального ХС та ХС ЛПНГ достовірно вищий ($p \leq 0,001$), ніж у жінок контрольної групи.

Імовірно, підвищений рівень тригліцеридів, загального ХС та ХС ЛПНГ у жінок за метаболічним синдромом пов'язаний з посиленням синтезом жирних кислот у печінці, звідки вони вивільняються у складі ХС ЛПНГ і транспортуються до жирової тканини.

Таблиця 5

**ПОКАЗНИКИ ЛІПІДНОГО ОБМІНУ
У ЖІНОК У ПРЕМЕНОПАУЗІ**

Показники ліпідного обміну	Група 1	Група 2	Норма
Тригліцериди, ммоль/л	2,14±0,12	2,7±0,08*	< 2,3
ХС загальний, ммоль/л	5,28±0,09	6,88±0,07*	< 5,2
ХС ЛПНГ, ммоль/л	2,71±0,06	4,06±0,12*	до 3,3
ХС ЛПВГ, ммоль/л	3,35±0,14	0,5±0,04*	> 1,68
Коефіцієнт атерогенності, у.о.	0,66±0,08	14,03±1,21*	< 3

Примітка. * – достовірна відмінність між групами ($p \leq 0,001$).

У той же час рівень ХС ЛПВГ у жінок з метаболічним синдромом виявився достовірно ($p \leq 0,001$) нижчим, ніж у жінок контрольної групи.

Коефіцієнт атерогенності у жінок 2 групи становив $12,68 \pm 1,5$ у.о., перевищуючи нормативні значення у 4 рази, що є несприятливим фактором розвитку атеросклерозу і серцево-судинних захворювань.

Отже, для жінок з метаболічним синдромом у період пременопаузи характерна зміна співвідношення ліпідовмісних фракцій в крові – дисліпідемія.

Таким чином, гіперандрогенія спричиняє розвиток вісцерального ожиріння у жінок у пременопаузі, що формує та підтримує каскад метаболічних порушень, викликаних гіперінсулінемією і гіпертригліцеридемією. Тобто створюється замкнене коло, яке сприяє накопиченню жирової тканини в абдомінальній області.

У жінок у пременопаузі в організмі починаються інволютивні зміни в репродуктивній системі, які характеризуються порушенням характеру менструальних циклів та зменшенням візуалізованого фолікулярного резерву яєчників. У зв'язку з цим в організмі жінок спостерігається варіабельність концентрації гонадотропінів при нормативних концентраціях жіночих статевих гормонів.

Андрогенорецептороопосередкована регуляція певних функцій преадипоцитів у період пременопаузи впливає на розподіл жирової тканини: збільшення маси тіла та перерозподіл жирової тканини зі стеново-сідничної області в абдомінальну. Підвищення кількості абдомінально-вісцерального жиру, як правило, поєднується з інсулінорезистентністю, яка відіграє ключову роль у формуванні метаболічного синдрому. Внаслідок інсулінорезистентності розвивається гіперінсулінемія в результаті гіперфункції β -клітин підшлункової залози з метою підтримання нормоглікемії. Наступним етапом як результатом гіперінсулінемії є порушення ліпідного спектра крові (дисліпідемія), що характеризується підвищенням атерогенних факторів (тригліцеридів, ліпопротеїнів низької щільності) і зниженням рівня ліпопротеїнів високої щільності.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Григорян О. Р. Менопаузний синдром у жінок з порушеннями вуглеводного обміну. Вгляд гінеколога-ендокринолога / О. Р. Григорян, Е. Н. Андреева // Трудный пациент. – 2007. – № 9. – С. 29-34.
2. Григорян О. Р. Заместительная гормональная терапия у женщин, больных сахарным диабетом, в период пери- и постменопаузы: руковод. для врачей / О. Р. Григорян, М. Б. Анциферов. – М., 2001. – С. 15-16.
3. Дубоссарская З. М., Дубоссарская Ю. А. Репродуктивная эндокринология (перинатальные, акушерские и гинекологические аспекты): учебно-метод. пособ. – Д.: Лира ЛТД, 2008. – 416 с.
4. Ефименко О. А. Пременопауза – предчувствие осени / О. А. Ефименко // Здоров'я України. – 2009. – Тематич. номер. – С. 60-62.
5. Левитская З. И. Артериальная гипертония у женщин в менопаузе [Электронный ресурс] / З. И. Левитская // Лечащий врач. – 2006. – № 4. – Режим доступа до журн.: <http://www.lvrach.ru/2006/04/4533692>.
6. Медицина климактерия / Под ред. В. П. Сметник. – Ярославль: ООО «Изд-во Литерра», 2006. – 848 с.
7. Сметник В. П. Системные изменения у женщин в климактерии [Электронный ресурс] / В. П. Сметник // Рус. мед. журн. – 2001. – № 9. – Режим доступа до журн.: http://www.rmj.ru/articles_1286.htm.
8. Avogaro P. Metabolic aspects of essential obesity / P. Avogaro, G. Grepaldi, G. Enzil, A. Tiengo // Acta Diabetol. Lat. – 1967. – Vol. 4. – P. 36-41.
9. Bray G. A. Medical consequences of obesity / G. A. Bray // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89. – P. 2583-2589.
10. Burger H. G. A prospective, longitudinal study of serum testosterone, dehydroepiandrosterone, androstendione and sex hormone-binding globulin levels through the menopausal transition / H. G. Burger, E. D. Dudley, J. Cui et al. // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2000. – Vol. 85. – P. 2812-2838.
11. Douchi T. The effect of menopause on regional and total body lean mass / T. Douchi, S. Yamamoto, S. Nakamura [et al.] // Maturitas. – 1998. – Vol. 29. – P. 247-252.
12. Festa A. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS) / [A. Festa, R. J. D'Agostino, G. Howard et al.] // Circulation. – 2000. – Vol. 102. – P. 42-47.
13. Harper A. J. Is the short follicular phase in older women secondary to advanced or accelerated dominant follicle development? / A. J. Harper, B. S. Houmard, M. R. Soules, N. A. Klein // Presented at the 56-th Annual Meeting of the Society for Reproductive Medicine, Orlando, October. – 2001.
14. Klein N. The gonadotropin secretion pattern in normal women of advanced reproductive age in relation to the monotropic FSH rise / [N. Klein, D. Battaglia, D. Clifton et al.] // J. Soc. Gynecol. Invest. – 1996. – Vol. 3. – P. 27-32.
15. Milewicz A. Clinical aspects of obesity in the gynecological endocrinology practice / A. Milewicz, D. Jedrzejuk // Maturitas. – 2007. – Vol. 56. – P. 113-121.
16. Pasquali R. Obesity and androgens: facts and perspectives / R. Pasquali // Fertility and Sterility. – 2006. – Vol. 85, № 5. – P. 1319-1340.
17. Poehlman E. T. Changes in energy balance and body composition at menopause: a controlled longitudinal study / E. T. Poehlman, M. J. Toth, A. W. Gardner // Ann. Intern. Med. – 1995. – Vol. 123. – P. 673-675.
18. Poehlman E. T. Traversing the menopause: changes in energy expenditure and body composition / E. T. Poehlman, A. Tchernof // Coronary Artery Dis. – 1998. – Vol. 1. – P. 799-803.
19. Reame N. Age effects on FSH and pulsate LH secretion across the menstrual cycle of premenopausal women / [N. Reame, R. Kelch, I. Beitins et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1996. – Vol. 81. – P. 1512-1518.
20. Santoro N. Characterization of reproductive hormonal dynamics in the postmenopause / N. Santoro, J. Brown, T. Adel, J. Skurnick // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1996. – Vol. 81. – P. 1495-1501.
21. Skouby S. O. Climacteric medicine. European Menopause and Andropause Society (EMAS) 2004/2005 position statements on peri- and postmenopausal hormone replacement therapy / S. O. Skouby, F. Al-Azzawi, D. Barliw // Maturitas. – 2005. – Vol. 51. – P. 8-14.
22. Speroff L. Clinical gynecologic endocrinology and infertility / L. Speroff, M. A. Fritz. – Philadelphia, 2005. – 1334 p.
23. Wing R. R. Weight gain at the time of menopause / R. R. Wing, K. A. Matthews, L. H. Kuller [et al.] // Arch. Intern. Med. – 1991. – Vol. 151. – P. 97-102.

УДК 577.121.9

А. Ю. Бродская, А. Л. Загайко, Л. В. Галузинская

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ЖЕНЩИН В ПЕРИОД ПРЕМЕНОПАУЗЫ

Представлены экспериментальные данные, полученные при сравнительной оценке женщин в пременопаузе в зависимости от наличия метаболического синдрома (по показателям гормонального статуса, липидного обмена и компонентов углеводного обмена) для выяснения механизма метаболических нарушений. Установлено, что изменения липидного профиля связаны с балансом эстрогенов и андрогенов и опосредуются инсулинорезистентностью.

Ключевые слова: пременопауза; метаболический синдром; висцеральное ожирение; гиперандрогения; инсулинорезистентность; дислипидемия

UDC 577.121.9

A. Yu. Brodska, A. L. Zagayko, L. V. Galuzinska

BIOCHEMICAL ASPECTS OF DEVELOPMENT OF METABOLIC SYNDROME IN WOMEN DURING PREMENOPAUSE

The experimental data obtained in the comparative evaluation of women during the premenopausal period according to the presence of metabolic syndrome (in terms of hormonal status, lipids and carbohydrate metabolism components) for elucidation of the mechanism of metabolic disorders. It has been found that changes in lipid profile are associated with the balance of estrogens and androgens and mediated with insuline resistance.

Key words: pre-menopause; metabolic syndrome; visceral obesity; hyperandrogenism; insuline resistance; dyslipidemia

Адреса для листування:
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.
Національний фармацевтичний університет,
кафедра біологічної хімії.
E-mail: dromicia@rambler.ru

Надійшла до редакції:
29.10.2013 р.

Фармакологія

Рецензенти рубрики:

Дроговоз С. М.,
д. мед. н., професор

Щокіна К. Г.,
д. фарм. н., професор

Загайко А. Л.,
д. біол. н., професор

Кравченко В. М.,
д. біол. н., професор

Березнякова А. І.,
д. мед. н., професор

Піняжко О. Р.,
д. мед. н., професор



УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

І. П. БУХТІЯРОВА

Донецький національний медичний університет ім. М. Горького

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РАЛЕЙКІНУ НА МОДЕЛІ ДИТИЗОНОВОГО ДІАБЕТУ У КРОЛІВ

Сучасна терапія цукрового діабету (ЦД) базується на вивченні ряду патофізіологічних механізмів розвитку хвороби. В останні роки існує гіпотеза, згідно з якою універсальним механізмом, причетним до основних біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією, є оксидативний стрес, який поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β -клітин, що обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів у комплексній терапії ЦД.

Враховуючи наявність у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну визначеної у попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії, цікаво було вивчити його антиоксидантні властивості.

У статті наведені результати експериментального вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну на вміст первинних та вторинних продуктів ПОЛ та активність антиоксидантної системи захисту на моделі дитизонового діабету у кролів. Визначено, що ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект, знижуючи концентрацію первинних та вторинних продуктів ПОЛ, збільшуючи активність антиоксидантної системи тварин з абсолютною інсуліновою недостатністю. За нормалізуючим впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступається референс-препарату анакінра та перевищує метформін. Поєднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з позитивним впливом препарату на початкові реакції неферментативного глікозильовання та глюкозний обмін свідчить про перспективність його застосування в комплексній терапії ЦД 1 типу.

Ключові слова: дитизоновий діабет; первинні продукти ПОЛ; антиоксидантна дія; ралейкін

ВСТУП

Сучасна терапія цукрового діабету (ЦД) базується на вивченні ряду патофізіологічних механізмів розвитку хвороби. В останні роки існує гіпотеза, згідно з якою універсальним механізмом, причетним до основних біохімічних порушень, індукованих гіперглікемією, є оксидативний стрес – стан дисбалансу між продукцією та утилізацією вільних радикалів [8]. Оксидативний стрес є універсальним механізмом, який при ЦД об'єднує різні біохімічні процеси, що були індуковані гіперглікемією.

Таким чином, оксидативний стрес при ЦД поєднує інсулінорезистентність із дисфункцією панкреатичних β -клітин, що обґрунтовує доцільність застосування антиоксидантів у комплексній терапії ЦД. На особливу увагу заслуговують антидіабетичні препарати, яким поряд з гіпоглікемічним притаманний антиоксидантний ефект, а також які володіють здатністю зберігати або поліпшувати секреторну функцію β -клітин [10].

За даними сучасних досліджень важливу роль у патогенезі ЦД обох типів відіграють прозапальні цитокіни, а саме, інтерлейкін-1 (ІЛ-1) [9, 12].

З врахуванням наявності у рекомбінантного антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну визначеної у попередніх дослідженнях гіпоглікемічної дії інтерес становило вивчення його антиоксидантних властивостей.

Метою даної роботи є експериментальне вивчення впливу антагоніста рецепторів ІЛ-1 ралейкіну, отриманого у Санкт-Петербурзькому НДІ ОЧБП, на вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ та активність антиоксидантної системи захисту на моделі дитизонового діабету у кролів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дитизоновий діабет викликали за допомогою одноразового внутрішньовенного введення розчину дитизону в дозі 35 мг/кг маси тіла самцям кролів породи Шиншила вагою 2,8-3,4 кг, які попередньо годували протягом 16-18 годин [3].

В якості референс-препаратів було обрано метформін (діаформін виробництва ВАТ «Фармак», табл. 0,5 г) та анакінра (кінерет виробництва «Swedish Orphan Biovitrum» (Швеція), пор. р/і 100 мг). Вибір препаратів порівняння зумовлений тим, що метформін є еталонним гіпоглікемічним препаратом, який вхо-

© Бухтіярова І. П., 2013

Таблиця 1

**ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА ВМІСТ ПЕРВИННИХ ПРОДУКТІВ ПОЛ У СИРОВАТЦІ КРОВІ КРОЛІВ
З ДИТИЗОНИМ ДІАБЕТОМ, (n=5)**

Група тварин	Дієнові кон'югати, ммоль/л	Триєнові кон'югати, ммоль/л	Тетраєнові кон'югати, ммоль/л	Оксидієнові кон'югати, ммоль/л
Інтактний контроль	0,23±0,02	0,36±0,05	0,42±0,03	0,27±0,01
Контрольна патологія	1,37±0,13*	0,76±0,08*	0,88±0,06*	1,12±0,14*
Ралейкін, 7 мг/кг	0,31±0,09**#	0,47±0,07**	0,48±0,05**	0,34±0,06***
Метформін, 30 мг/кг	1,12±0,07*	0,54±0,03*/**	0,49±0,04**	0,81±0,10*
Анакінра, 8 мг/кг	0,38±0,04*/***	0,52±0,06**	0,44±0,05**	0,32±0,03***

Примітка. Статистично значущі відмінності (p≤0,05): * – до групи інтактного контролю; ** – до групи контрольної патології, # – до метформіну; n – кількість тварин у групі.

дить до стандартів лікування ЦД обох типів [8], а анакінра – рекомбінантний антагоніст рецепторів ІЛ-1 з доведеною гіпоглікемічною та антиоксидантною активністю, який є аналогом досліджуваного препарату [13].

Дані препарати вводили в лікувальному режимі: ралейкін в дозі 7 мг/кг та анакінра в дозі 8 мг/кг підшкірно [7], метформін у дозі 30 мг/кг – внутрішньошлунково [5, 6] одноразово протягом 30 днів.

На 31 добу брали кров на аналіз. У сироватці крові визначали вміст первинних продуктів ПОЛ, а саме, дієнових, триєнових, тетраєнових та оксидієнових кон'югатів (метод Плацер 3. та ін.), вміст відновленого глутатіону (ВГ) (Beutler E. et al.) та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) (Стальна І. Д., Гаришвілі Г. Т.), а також активність каталази (Корольок М.А. та ін.) [4].

При обліку результатів у вигляді середня ± стандартна помилка статистичну достовірність міжгрупових відмінностей розраховували за критерієм t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження наведені в табл. 1-2.

Обрана експериментальна модель являє собою абсолютну інсулінову недостатність прямого β-цитотоксичного генезу: дитизон (8-гідроксибензопіридин) здатен утворювати хелатні комплекси з цинком та індукувати інсулін-залежний ЦД. Незважаючи на те, що зв'язок між ЦД та метаболічними порушеннями цинку спостерігається як у людини, так і в експериментальних тварин, його роль у патогенезі інсулін-

незалежного ЦД залишається ще не до кінця з'ясованою [2].

Вже на другу добу після ін'єкції дитизону у тварин спостерігалось різке підвищення базальної гіперглікемії, яке продовжувалось протягом наступних 5 діб і залишалось на досягнутому високому рівні тривалий час. Базальна гіперглікемія також супроводжувалась значним зниженням концентрації інсуліну в сироватці крові. Слід відзначити, що в даному випадку відтворювався тільки абсолютний дефіцит інсуліну без включення аутоімунних компонентів, що характерно для ЦД 1 типу у людини [10, 11].

Як видно з табл. 1, збільшена концентрація первинних продуктів ПОЛ – дієнових, тетраєнових та оксидієнових кон'югатів у сироватці крові тварин групи контрольної патології порівняно з групою інтактного контролю свідчить про інтенсифікацію ПОЛ.

Слід зазначити також, що підвищення концентрації тетраєнових кон'югатів, окрім індукції ПОЛ, може бути також результатом активації ліпооксигеназного шляху синтезу ейкозаноїдів, які впливають на проникність судинної стінки і змінюють в'язкість та агрегаційні властивості крові [2].

Крім того, в сироватці крові кролів групи контрольної патології спостерігалось підвищення вмісту ТБК-АП, зниження концентрації ВГ та активності каталази (табл. 2), що підтверджує послаблення антиоксидантної системи захисту за умов дитизонового діабету.

Доведено, що застосування ралейкіну та анакінра впродовж місяця, на відміну від метформіну, сприяло нормалізації рівня первинних продуктів ПОЛ у си-

Таблиця 2

**ВПЛИВ РАЛЕЙКІНУ НА АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ТА ПОКАЗНИКИ
АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ КРОЛІВ ІЗ ДИТИЗОНИМ ДІАБЕТОМ, (n=5)**

Група тварин	ТБК-АП, ммоль/л	Каталаза, мккат/л	ВГ, ммоль/л
Інтактний контроль	76,42±5,33	1,47±0,11	0,71±0,04
Контрольна патологія	124,58±6,29*	0,86±0,06*	0,32±0,05*
Ралейкін, 7 мг/кг	88,83±5,71**#	1,22±0,07**#	0,57±0,07**
Метформін, 30 мг/кг	118,34±8,67*	1,04±0,09*	0,49±0,06*
Анакінра, 8 мг/кг	90,75±7,58***	1,11±0,08*/***	0,52±0,08

Примітка. Статистично значущі відмінності (p≤0,05): * – до групи інтактного контролю; ** – до групи контрольної патології, # – до метформіну; n – кількість тварин у групі.

роватці крові експериментальних тварин. На тлі ралейкіну вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові кролів знизився в 4,4 рази, вміст триєнових кон'югатів знизився в 1,6 рази, вміст тетраєнових кон'югатів – в 1,8 рази, оксидієнових кон'югатів – в 3,3 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Всі вищезазначені показники первинних продуктів ПОЛ достовірно не відрізнялись від відповідних показників тварин групи інтактного контролю.

Під впливом анакінра вміст дієнових кон'югатів у сироватці крові кролів знизився в 3,6 рази, вміст триєнових кон'югатів – в 1,5 рази, вміст тетраєнових кон'югатів – у 2 рази, оксидієнових кон'югатів – у 3,5 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Всі вищезазначені показники первинних продуктів ПОЛ, крім вмісту дієнових кон'югатів, достовірно не відрізнялись від відповідних показників тварин групи інтактного контролю.

Застосування метформіну також сприяло нормалізації рівня первинних продуктів ПОЛ і достовірно знизило лише вміст триєнових та тетраєнових кон'югатів у сироватці крові експериментальних тварин – в 1,4 рази та в 1,8 рази порівняно з відповідними показниками групи контрольної патології. Інші зміни не були достовірними.

Тобто, за впливом на вміст первинних продуктів ПОЛ ралейкін та анакінра переважають метформін. Достовірних відмінностей в антиоксидантній дії ралейкіну та анакінра не зафіксовано. Гальмування інтенсивності ПОЛ під впливом ралейкіну та анакінра, ймовірно, є результатом активації антиоксидантної системи.

Підтвердженням антиоксидантних властивостей рекомбінантних антагоністів рецепторів ІІ-1 є достовірне підвищення вмісту ТБК-АП в 1,6 рази, зниження рівня ВГ в 2,2 рази та активності каталази в 1,7 рази в крові тварин групи контрольної патології порівняно з показниками тварин групи інтактного контролю (табл. 2). Ці дані підтверджують важливу роль оксидативного стресу в розвитку ЦД 1 типу. Каталаза та ВГ проявляють протекторний ефект відносно вільних радикалів, що накопичуються поблизу β-клітин під час інсульту. При важких формах ЦД спостерігається незворотне глікозування антиоксидантних ферментів, таких як каталаза, з втратою її властивостей і наступною інактивацією, що також спричиняє збільшення ВРО-уражень [1].

На тлі ралейкіну рівень ТБК-АП у сироватці крові кролів достовірно знизився в 1,4 рази, вміст ВГ зріс в 1,8 рази, активність каталази збільшилась в 1,4 рази порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології. Всі показники достовірно не відрізнялись від відповідних показників групи інтактного контролю.

Під дією анакінра рівень ТБК-АП у сироватці крові кролів достовірно знизився в 1,4 рази, вміст ВГ зріс

в 1,6 рази, активність каталази збільшилась в 1,4 рази порівняно з відповідними показниками в крові тварин групи контрольної патології, але зміни вмісту ВГ не були достовірними.

Під впливом метформіну жоден з показників (вміст ТБК-АП, ВГ, активність каталази) достовірно не відрізнявся від показників тварин групи контрольної патології.

Тобто, за нормалізувальним впливом на вторинні продукти ПОЛ вміст ВГ та активність каталази ралейкін та анакінра достовірно переважають метформін. Достовірні відмінності у дії ралейкіну та анакінра не спостерігались.

Отримані результати підтверджують наявність взаємозв'язку між розвитком оксидативного стресу, який характеризується підвищенням рівня вільнорадикального окиснення ліпідів, білків, ДНК і зниженням антиоксидантного захисту. Незважаючи на різні причини загибелі β-клітин за умов ЦД обох типів, детермінуючим чинником, що призводить до прогресуючого зниження маси інсулінопродукуючих клітин і далі до абсолютної інсулінової недостатності, є зростання генерації активних форм кисню, яка викликає активацію апоптозу [5]. Імовірно, антидіабетична дія ралейкіну проявляється у тому числі й за рахунок його антиоксидантних властивостей.

ВИСНОВКИ

Таким чином, в умовах дитизонового діабету у кролів ралейкін виявив виразний антиоксидантний ефект і як наслідок знижені концентрації первинних та вторинних продуктів ПОЛ, збільшення активності антиоксидантної системи тварин з абсолютною інсуліновою недостатністю. За нормалізувальним впливом на вищезазначені показники ралейкін не поступається референс-препарату анакінра та перевищує метформін. Поеднання антиоксидантних властивостей ралейкіну з позитивним впливом препарату на початкові реакції неферментативного глікозилювання та глюкозний обмін свідчить про перспективність його застосування в комплексній терапії ЦД 1 типу.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Брюханов А. Л., Нетрусов А. И. Каталаза и супероксиддисмутаза: распространение, свойства и физиологическая роль в клетках строгих анаэробов // Биохимия. – 2004. – Т. 69, вып. 9. – С. 1170-1186.
2. Горбенко Н. І., Полторак В. В., Гладких О. І. та ін. Протективний ефект фенсукцинала щодо розвитку дитизонового діабету у кролів / [Н. І. Горбенко, В. В. Полторак, О. І. Гладких, О. В. Іванова] // Вісник фармації. – 2000. – Т. 21, № 1. – С. 44-46.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.

4. Камышников В. С. Справочник по клиническо-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х т. / В. С. Камышников. – Мн: «Беларусь», 2002. – Т. 1. – 495 с. Т. 2. – 463 с.
5. Полторак В. В. Вплив метформіну на розвиток інсулінорезистентності, індукованої дексаметазоном у щурів / [В. В. Полторак, Н. І. Горбенко, О. В. Іванова, М. Ю. Горшунська] // Ендокринологію. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 249-251.
6. Шумейко О. Г. Експериментальне обґрунтування застосування екстракту з мідії чорноморської (*Mytilus galloprovincialis* Lam.) у комплексній терапії цукрового діабету : Дис. канд. мед. наук : 14.01.14 – ендокринологія, Х., 2009. – 153 с.
7. Щокіна К. Г. Органотропні ефекти рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 (експериментальне дослідження) : Дис. докт. фарм. наук: 14.03.05 – фармакологія. – Х., 2011. – 440 с.
8. Baynes J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes / J. W. Baynes // Diabetes. – 1991. – Vol. 40, № 4. – P. 405-412.
9. Börjesson A. Altered proinsulin conversion in rat pancreatic islets exposed long-term to various glucose concentrations or interleukin-1beta / A. Börjesson, C. Carlsson // J. Endocrinol. – 2007. – Vol. 192 (2). – P. 381-387.
10. Cnop M, Welsh N, Jonas J. C. et al. Mechanisms of pancreatic β -cell death in type 1 and type 2 diabetes. Many differences, few similarities / M. Cnop, N. Welsh, J. C. Jonas [et al.] // Diabetes. – 2005. – Vol. 54, Suppl. 2. – P. S97-S107.
11. Faure P., Roussel A., Coundray C. et al. Zinc and insulin sensitivity / P. Faure, A. Roussel, C. Coundray [et al.] // Biol. Trace Elements Res. – 1992. – Vol. 32, № 3. – P. 305-310.
12. Mandrup-Poulsen T. Human tumor necrosis factor potentiates human interleukin 1-mediated rat pancreatic beta-cell cytotoxicity / T. Mandrup-Poulsen, K. Bendtzen, C. A. Dinarello [et al.] // J. Immunol. – 1987. – Vol. 139 (12). – P. 4077-4082.
13. Van Asseldonk E. J. P. Treatment with Anakinra Improves Disposition Inde But Not Insulin Sensitivity in Nondiabetic Subjects with the Metabolic Syndrome: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study / E. J. P. van Asseldonk, R. Stienstra, T. B. Koenen [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2011. – Vol. 96, № 7. – P. 2119-2126.

УДК 615.252.349.7:616.349-008.64

И. П. Бухтиярова

ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ РАЛЕЙКИНА НА МОДЕЛИ ДИТИЗОНОВОГО ДИАБЕТА У КРОЛЕЙ

Современная терапия сахарного диабета (СД) базируется на изучении ряда патофизиологических механизмов развития болезни. В последние годы существует гипотеза, согласно которой универсальным механизмом, причастным к основным биохимическим нарушениям, индуцированным гипергликемией, является оксидативный стресс, который объединяет инсулинорезистентность с дисфункцией панкреатических β -клеток, что обосновывает целесообразность применения антиоксидантов в комплексной терапии СД.

Учитывая наличие у рекомбинантного антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина, определенно в предыдущих исследованиях гипогликемического действия, представляло интерес изучение его антиоксидантных свойств.

В статье приведены результаты экспериментального изучения влияния антагониста рецепторов ИЛ-1 ралейкина на содержание первичных и вторичных продуктов ПОЛ и активность антиоксидантной системы животных на модели дитизонового диабета у кролей. Определено, что ралейкин обнаружил выраженный антиоксидантный эффект, снижая концентрацию первичных и вторичных продуктов ПОЛ, увеличивая активность антиоксидантной системы животных с абсолютной инсулиновой недостаточностью. По нормализующему воздействию на вышеупомянутые показатели ралейкин не уступает референс-препарату анакинра и превышает метформин. Сочетание антиоксидантных свойств ралейкина с положительным влиянием препарата на начальные реакции неферментативного гликозилирования и глюкозный обмен свидетельствует о перспективности его применения в комплексной терапии СД 1 типа.

Ключевые слова: дитизоновый диабет; первичные продукты ПОЛ; антиоксидантное действие; ралейкин

UDC 615.252.349.7:616.349-008.64

I. P. Bukhtiyarova

STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RALEUKIN ON THE MODEL OF DITHIZONE DIABETES RABBITS

Current therapy is based on the study of diabetes a number of pathophysiological mechanisms of the disease. In recent years, there is a hypothesis, according to which universal mechanism involved in the major biochemical abnormalities induced by hyperglycemia, is oxidative stress, which combines the insulin resistance with dysfunction of pancreatic β -cells, and this proves the usefulness of antioxidants in the treatment of diabetes.

Given the presence in the recombinant receptor antagonist IL-1 raleukin defined in previous studies of hypoglycemic action of interest to study its antioxidant properties.

The paper presents the results of an experimental study of the influence of receptor antagonist IL-1 raleukin the maintenance of primary and secondary products of lipid peroxidation and antioxidant activity of animals in the model of dithizone diabetes in rabbits. Determined that raleukin detected lived pronounced antioxidant effect, reducing the concentration of primary and secondary products of lipid peroxidation, increasing the activity of antioxidant system in animals with an absolute insulin deficiency. By normalizing effect on these indicators raleukin not inferior to the reference drug anakinra and more than metformin. The combination of antioxidant properties with positive effect of raleukin on the initial reaction of non-enzymatic glycosylation and glucose metabolism suggests the prospect of its application in the treatment of type 1 diabetes.

Key words: dithizone diabetes mellitus; primary products of lipid peroxidation; an antioxidant effect; raleukin

Адреса для листування:

83003, м. Донецьк, пр. Ілліча, 16.

Донецький національний медичний університет

ім. М. Горького.

E-mail-acya@ukr.net

Надійшла до редакції:

07.10.2013 р.

УДК 615.262:615.361:616.5

В. М. КОВАЛЕНКО¹, Г. І. БОРЩЕВСЬКИЙ², А. К. ВОРОНІНА¹¹ ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ² ВАТ «Фармак», м. Київ

БЕЗПЕЧНІСТЬ ПРЕПАРАТУ ЕФІАЛЬ™, СПРЕЙ ВИРОБНИЦТВА ВАТ «ФАРМАК»

На ВАТ «Фармак» (м. Київ) було розроблено препарат Ефіаль™ у лікарській формі спрею, що включає пептидні комплекси шкіри свиней і фосфатидилхолін. За показниками підгострої токсичності визначено, що препарат Ефіаль™, спрей за умов повторних аплікацій протягом 28 днів у терапевтичній дозі та у п'ятикратній терапевтичній дозі не призводить до загибелі тварин та до порушень інтегральних показників їхнього стану, не спричиняє негативного впливу на гематологічні показники периферичної крові тварин і не викликає патологічних змін у внутрішніх органах. Препарат не проявляє алергенних властивостей та місцевоподразнювальної дії на шкіру та слизові оболонки.

Ключові слова: Ефіаль™; безпечність; алергенна та місцевоподразнювальна дія

ВСТУП

Незначний асортимент на фармацевтичному ринку країни лікарських засобів тваринного походження, виготовлених, зокрема, на основі пептидних комплексів, що містяться у шкірі свиней, зумовлює необхідність розробки та створення таких препаратів. Наявність у шкірі свиней різних хімічних сполук органічної та неорганічної природи: нуклеотидів, гліколіпідів, амінокислот, олігопептидів, електролітів, мікроелементів, вуглеводів, ліпідів та продуктів їх обміну зумовлює активність лікарських засобів зазначеного походження [2]. Хімічний склад шкіри свиней надзвичайно різноманітний, але найбільше в ній міститься мукополісахаридів, глікогену, глюкози. Фактично властивості кожного з компонентів шкіри свиней або їхніх комплексів можуть застосовуватися (або використовуватися) фармакологами та фармацевтами для створення та використання високоактивних лікарських засобів.

Сучасні методи обробки шкіри свиней дозволяють отримати високотехнологічні продукти, що відповідають досить високим вимогам, які пред'являються до препаратів тваринного походження. Зокрема, з метою зниження алергізуючих властивостей препаратів, виготовлених на основі біологічної сировини, проводять депротейнізацію біологічного субстрату, залишаючи у ньому інші активні компоненти. Саме шляхом депротейнізації шару шкіри свиней на ВАТ «Фармак» (м. Київ) було розроблено препарат Ефіаль™ у лікарській формі спрею на основі пептидних комплексів шкіри свиней, стандартизований біологічно

та хімічно, у перерахунку на пептиди – 0,12 мг/мл. У якості діючої речовини до складу препарату включено фосфатидилхолін – 100 мг. Обґрунтуванням щодо долучення до препарату фосфатидилхоліну були також фармакологічні, фармакокінетичні властивості фосфоліпідів, що входять до структурних компонентів клітини. Наприклад, порушення (зниження) синтезу фосфатидилхоліну через патологічний стан призводить до пошкодження мембран, а це, в свою чергу, веде до дисрегуляції метаболічних процесів. Тому численні патологічні стани – захворювання печінки, серцево-судинної системи, травматичні ураження потребують включення до переліку засобів терапії або компонентів лікарських засобів есенціальних фосфоліпідів [1, 6, 7, 9].

Новостворений засіб потребує всебічного вивчення за програмою доклінічних досліджень. Зокрема, було проведено вивчення безпеки препарату Ефіаль™, спрею, що за передбаченням виробника може призначатися для лікування ран та виразкових уражень шкіри різного генезу, за показниками підгострої токсичності, алергенної та місцевоподразнювальної дії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ ПІДГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ

Тест-система: білі щури (*Rattus norvegicus*). Тест-зразок: Ефіаль, спрей – депротейнізований епідермальний шар шкіри свиней, стандартизований хімічно та біологічно.

З використанням системи рандомних номерів 18 самиць з масою тіла 150-180 г були розподілені на 2 дослідні та одну контрольну групу (по 6 особин у кожній). У відповідності до клінічного застосування,

що передбачається, експозицію тест-зразка здійснювали шляхом нашкірної аплікації у двох дозах: терапевтичній (ТД) та d дози, що перевищує терапевтичну у 5 разів (5ТД). З урахуванням визначеної методичними рекомендаціями площі, на яку здійснюється аплікація тест-зразка, терапевтична доза склала 0,8 мл, що відповідає 8 мг діючої речовини в перерахунку на суху речовину. Препарат наносили щурам за допомогою пульверизатора. Тваринам контрольної групи наносили воду для ін'єкцій в об'ємі, що дорівнював об'єму 5ТД тест-зразка. Спостереження за тваринами з метою виявлення клінічних ознак токсичності та загибелі здійснювали щоденно протягом усього періоду експозиції препарату [3]. Усі помітні ознаки незадовільного стану здоров'я та відхилень у поведінці реєструвалися щоденно. Щотижня проводили моніторинг маси тіла щурів та оцінювали цей показник у порівнянні до вихідної маси тіла кожної тварини, яку визначали перед введенням тест-зразка.

За 24-48 год до евтаназії за використання метаболічних кліток здійснювали відбір сечі та її аналіз, що складався з вивчення загальних властивостей та хімічного і мікроскопічного досліджень. При цьому застосовували діагностичні смужки-індикатори Medi-Test Combi II фірми «Macherey-Nage». Мікроскопію осаду сечі проводили з використанням мікроскопу MBL 2000 (Kruss, Німеччина).

Через 24 год після останнього введення щурам тест-зразка тварин зважували, здійснювали забір зразків крові для біохімічних та гематологічних досліджень, потім – евтаназію шляхом дислокації шийних хребців під легким ефірним наркозом. Проводили розтин тварин, макроскопічний огляд та вилучення органів для мікроскопічних досліджень та визначення відносної маси органів.

Гематологічні показники крові визначалися на автоматичному гематологічному аналізаторі Mythic 22, Швейцарія. За допомогою лабораторних наборів визначали біохімічні показники крові.

Макроскопічному огляду піддавалися печінка, серце, нирки, селезінка, легені, сім'яники, яєчники, тимус, головний мозок. Відносна маса органів розраховувалася на 100 г маси тіла.

Мікроскопічному дослідженню підлягали, крім зазначених органів, тканини підшлункової залози, шлунка, тонкої та товстої кишок, а також місце нашкірної аплікації тест-зразка.

МЕТОДИ ВИВЧЕННЯ АЛЕРГЕННОЇ ДІЇ

Тест-системи: морські свинки-альбіноси (*Cavia porcellus*), 6 особин, самці; білі миші (*Mus musculus*), 20 особин, самиці.

Оцінка сенсibilізуючих властивостей препарату Ефіаль™ за тестом нашкірних аплікацій була проведена на морських свинках самцях, а також за тестом шкірної реакції гіперчутливості уповільненого типу на білих мишах [3, 5, 8].

У тесті реакції нашкірних аплікацій були використані 6 морських свинок самців масою 350-400 г. Тест-зразок наносили один раз на добу протягом 20 діб на вистрижену поверхню живота площею 4 см² (2×2). Об'єм препарату, необхідного для досягнення відповідної дози, наносився на шкіру шляхом 5 натисків на головку флакона, що складає 0,4 мл. Тестування проводили у динаміці: на 10-у та 20-у добу спостереження за шкалою оцінки шкірних проб у балах [3].

Реакцію гіперчутливості уповільненого типу вивчали на білих мишах масою 18-22 г, що були рандомізовані за двома групами, кожна з яких включала по 10 особин. Тваринам дослідної групи однократно внутрішньошкірно в основу хвоста вводили 60 мкл емульсії тест-зразка з додаванням повного ад'юванта Фрейнда у співвідношенні 1:1. Тварин контрольної групи сенсibilізували 60 мкл емульсії повного ад'юванта Фрейнда у фізіологічному розчині. Внутрішньошкірний шлях введення був обраний як такий, що максимально стимулює імунокомпетентні органи. Введення повного ад'юванта Фрейнда разом з препаратом створює оптимальні умови для розвитку реакцій уповільненого типу. Для виявлення сенсibilізації через 5 діб після введення сенсibilізуючої дози мишам дослідної групи в апоневроз правої задньої кінцівки вводили 40 мкл препарату (вирішальна доза). Контрольна група тварин отримувала за такого ж шляху введення фізіологічний розчин. В апоневроз лівої задньої кінцівки кожної тварини з обох груп вводили аналогічний об'єм фізіологічного розчину. Вимірювали товщину кожної задньої лапи у всіх тварин через 6 год та 24 год після введення вирішальної дози за допомогою мікрометра МК-25. Інтенсивність реакції (ІР) обчислювали за формулою:

$$IP = \frac{D - K}{K} \cdot 100\%,$$

де: D – товщина задньої правої лапи (дослідної), мм;
K – товщина задньої лівої лапи (контрольної), мм.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ МІСЦЕВОПОДРАЗНЮВАЛЬНОЇ ДІЇ

Гостра місцевоподразнювальна дія на шкіру і слизові оболонки ока та місцевоподразнювальна дія на шкіру за умов повторних аплікацій були досліджені відповідно до методичних рекомендацій [5].

Тест-система: кролі-альбіноси, 9 особин.

Місцевоподразнювальну дію препарату Ефіаль на шкіру кролів-альбіносів за умов одноразової експозиції було досліджено шляхом нашкірного нанесення 0,5 г тест-зразка з використанням оклюзивної пов'язки. Було використано три ділянки шкіри площею 6 см² кожна. На першу ділянку наносили тест-зразок, друга ділянка слугувала інтактним контролем, на третю наносили воду для ін'єкцій. Через 24 год пов'язку знімали, а ще через 1 год, а також через 48 та 72 год проводили оцінку щодо наявності ерите-

ми, набряку, струпу, некрозу за модифікованою шкалою Draize [8].

З метою вивчення місцевоподразнювальної дії за повторних аплікацій на ділянку шкіри площею 6 см² щодня наносили 0,5 г тест-зразка протягом 14 днів з використанням оклюзивної пов'язки. Стан шкіри оцінювали за наведеними вище показниками.

Місцевоподразнювальну дію на слизові оболонки ока за умов одноразової інсталяції тест-зразка вивчали згідно з методичними рекомендаціями за відповідною шкалою оцінки показників: стан ділянки навколо очей, включаючи повіки, кон'юнктиву, мигальну перетинку, рогову та райдужну оболонки ока у кожної тварини [5]. Здійснювали інсталяцію 0,01 мл тест-зразка в кон'юнктивальний мішок правого ока кроля. Контролем слугувало ліве око, в кон'юнктивальний мішок якого вводили аналогічний об'єм води для ін'єкцій. Спостереження здійснювали через 1, 24, 48 та 72 год після інсталяції препарату.

Статистична обробка даних проводилася з використанням MS Excel. Аналіз вірогідності результатів проводився з використанням t-критерію Стьюдента при значенні $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Динаміка змін маси тіла тварин, як один з інтегральних показників токсичності препарату, досліджувалася протягом 28 днів за умов аплікації тест-зразка в ТД та 5ТД. За даними досліджень маса тварин як дослідних, так і щурів контрольної групи збільшувалася рівномірно протягом усього періоду спостереження і знаходилася в межах фізіологічної норми для даного виду тварин відповідно їх віку (табл. 1).

З метою виявлення клінічних ознак токсичної дії препарату, починаючи з першого дня його аплі-

ДИНАМІКА МАСИ ($M \pm m$, г; $n=6$) ТІЛА ЩУРІВ-САМИЦЬ ЗА УМОВ НАШКІРНОЇ АПЛІКАЦІЇ ПРЕПАРАТУ ЕФІАЛЬ У ТЕРАПЕВТИЧНІЙ ДОЗІ ТА ЗА УМОВ ЇЇ П'ЯТИКРАТНОГО ЗБІЛЬШЕННЯ

Термін спостереження	Групи тварин		
	контроль	дослід	
		ТД	5ТД
0	177,8 $\pm$ 2,54	178,2 $\pm$ 2,79	172,8 $\pm$ 3,16
7	189,3 $\pm$ 2,43	194,8 $\pm$ 4,02	186,0 $\pm$ 2,78
14	203,0 $\pm$ 3,98	210,7 $\pm$ 4,62	192,5 $\pm$ 3,34
21	209,8 $\pm$ 2,85	215,8 $\pm$ 4,04	191,8 $\pm$ 3,16
28	214,5 $\pm$ 4,47	218,2 $\pm$ 4,45	208,2 $\pm$ 2,48

кації, проводили спостереження за тваринами. Було встановлено, що всі тварини усіх груп мали охайний вигляд, були активними, мали рівну блискучу шерсть, шкіру без слідів розчухування, виразкоутворення та облісіння, чисті слизові оболонки. На місці аплікації препарату за умов застосування різних доз не зафіксовано змін поверхні шкіри, ущільнень, гіперемії та інших ознак місцевоподразнювального впливу тест-зразка. Поведінкові реакції тварин та рефлекси також не змінювалися.

За даними вивчення біохімічного складу крові встановлено, що деякі з показників мали достовірні відмінності по відношенню до значень у контрольних тварин (табл. 2). Водночас слід зазначити, що ці показники залишалися в межах фізіологічної норми, властивої для даного виду тварин у відповідному віці.

Критеріальні показники стану печінки та нирок свідчать про відсутність структурно-функціональних порушень з боку цих органів за повторного нанесення

Таблиця 2

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ-САМИЦЬ ЗА УМОВ НАШКІРНОЇ АПЛІКАЦІЇ ПРЕПАРАТУ ЕФІАЛЬ У РІЗНИХ ДОЗАХ

Показники	Групи тварин		
	контроль	дослід	
		ТД	5ТД
Альбумін, г/л	42,8 $\pm$ 0,84	43,4 $\pm$ 0,88	46,1 $\pm$ 0,61
Загальний білок, г/л	67,3 $\pm$ 0,61	67,3 $\pm$ 1,17	69,2 $\pm$ 1,25
Загальний білірубін, мг/мл	1,6 $\pm$ 0,22	1,6 $\pm$ 0,15	1,6 $\pm$ 0,22
Холестерин, ммоль/л	1,4 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,14	1,4 $\pm$ 0,18
Глюкоза, моль/л	5,3 $\pm$ 0,52	5,5 $\pm$ 0,36	6,3 $\pm$ 0,59
Креатинін, ммоль/л	40,2 $\pm$ 1,08	47,7 $\pm$ 0,88*	54,2 $\pm$ 1,06*
Сечовина, ммоль/л	6,2 $\pm$ 0,21	6,9 $\pm$ 0,28	8,7 $\pm$ 0,34*
Тригліцериди, ммоль/л	0,55 $\pm$ 0,03	0,55 $\pm$ 0,08	0,65 $\pm$ 0,06
Аланінамінотрансфераза, МО/л	42,0 $\pm$ 2,96	48,8 $\pm$ 3,0	45,3 $\pm$ 4,50
Аспартатамінотрансфераза, МО/л	187,7 $\pm$ 10,99	182,7 $\pm$ 10,40	204,5 $\pm$ 22,13
Лактатдегідрогеназа, МО/л	2038,2 $\pm$ 96,62	1956,8 $\pm$ 86,43	1788,2 $\pm$ 168,70
Лужна фосфатаза, МО/л	80,82 $\pm$ 6,66	72,5 $\pm$ 8,89	96,1 $\pm$ 8,54
Гаммаглутамінтрансфераза, МО/л	0,03 $\pm$ 0,002	0,0 $\pm$ 0	0,02 $\pm$ 0,002

Примітка: тут і в наступних таблицях * – зміни статистично достовірні ($p \leq 0,05$) у порівнянні з показником контрольної групи.

Таблиця 3

**ГЕМАТОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ
НАШКІРНОЇ АПЛІКАЦІЇ ПРЕПАРАТУ ЕФІАЛЬ У РІЗНИХ ДОЗАХ**

Показники	Групи тварин		
	контроль	дослід	
		ТД	5ТД
Лейкоцити, 10^3 мл	5,98±0,89	4,95±0,36	6,92±0,60
Лімфоцити, %	80,7±1,45	79,8±2,45	86,5±1,12*
Моноцити, %	2,1±0,11	2,1±0,14	1,6±0,11*
Нейтрофіли, %	13,5±1,14	14,8±1,97	9,8±0,94
Еозинофіли, %	0,7±0,04	0,5±0,03	0,6±0,01
Базофіли, %	2,87±0,21	3,15±0,38	1,85±0,21
Еритроцити, 10^6 мл	7,9±0,13	7,9±0,06	8,3±0,10
Гемоглобін, Г/л	144,2±7,2	143,8±9,1	147,2±11,2
Гематокрит, %	41,0±0,63	40,9±0,48	42,2±0,42
Середній об'єм еритроциту, мм ³	51,9±0,40	52,1±0,47	50,7±0,65
Середня концентрація гемоглобіну в еритроциті	18,3±0,11	18,3±0,16	17,7±0,35
Тромбоцити	710,2±28,66	674,3±18,61	710,8±21,61

на шкіру тварин досліджуваного препарату протягом 28 діб у зазначених дозах і фактично не відрізняються від показників, властивих тваринам контрольної групи.

Результати дослідження гематологічних параметрів периферичної крові тварин за дії препарату у дозі ТД свідчать про те, що показники білої крові, в тому числі – лейкоцитарна формула, та червоної крові були на рівні значень відповідних показників, що реєструвалися у тварин контрольної групи (табл. 3). За умов аплікації Ефіалю у дозі 5ТД відзначалися зміни у кількості лімфоцитів, моноцитів та базофілів, однак ці значення залишалися у межах фізіологічної норми. Не відзначено достовірної зміни у кількості тромбоцитів у тварин контрольної та дослідних груп.

Тест-зразок за умов повторних аплікацій на шкіру щурів протягом 28 днів у різних дозах ТД та 5ТД не викликав відхилень гематологічних показників крові від фізіологічної норми для даного виду тварин.

Колір та об'єм сечі тварин дослідних груп не відрізнялися від зазначених показників у тварин конт-

рольної групи (табл. 4). Зміна рН та питомої ваги сечі за умов аплікації препарату Ефіаль у дозі 5ТД може пояснюватися, ймовірно, фізико-хімічними властивостями власне як препарату, так і його метаболітів, що виводилися з сечею. Однак, величини цих показників не виходили за межі фізіологічної норми. Змін інших біохімічних показників (глюкози, білка, білірубину, нітритів, кетонів та ін.) у сечі тварин дослідних груп не відзначалося. Результати мікроскопії осаду сечі свідчили про наявність в неорганізованому осаді кристалів амонієво-магнієвого фосфату (трипельфосфату) в значній або помірній кількості. Іноді зустрічалися аморфні кристали; кристали фосфорнокислого вапна зустрічалися у слідових кількостях [4].

У сечі зустрічалися поодинокі еритроцити, лейкоцити (1-2 в полі зору), циліндри відсутні в усіх групах; в осаді сечі не спостерігалось епітелію нирок та сечового міхура. Склад осаду сечі у щурів дослідних та контрольної груп істотно не відрізнявся.

Отримані дані свідчать про відсутність порушень функціонального стану нирок за умов аплікації до-

Таблиця 4

**БІОХІМІЧНІ ТА МІКРОСКОПІЧНІ ПОКАЗНИКИ ($M \pm m$) СЕЧІ ЩУРІВ-САМИЦЬ ЗА УМОВ
НАШКІРНОЇ АПЛІКАЦІЇ ПРЕПАРАТУ ЕФІАЛЬ ПРОТЯГОМ 28 ДНІВ У РІЗНИХ ДОЗАХ**

Показники	Групи тварин		
	контроль (n=6)	дослід	
		ТД, (n=6)	5ТД, (n=6)
Об'єм, мл	8,37±2,04	8,72±0,43	4,12±0,68
Кров, еритроцит/мкл	2,5±1,56	0,83±0,76	1,67±0,96
рН	6,08±0,08	6,33±0,15	5,42±0,14*
Питома вага, кг/л	1,02±0,002	1,01±0,001	1,023±0,001*
Кристали трипельфосфату	2 ++; 4 -	2 +++; 3 +; 1 -	6 -
Кристали фосфорнокислого вапна	3 +; 3 -	1 +; 3 +; 2 -	1 +++; 1 +; 4 -
Аморфні кристали			1 +; 4 +; 1 -
Циліндри	-	-	-

Таблиця 5

**ІНДЕКС РЕАКЦІЇ ГІПЕРЧУТЛИВОСТІ
УПОВІЛЬНЕНОГО ТИПУ У МИШЕЙ
ЧЕРЕЗ 6 ТА 24 ГОД ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ
ВИРІШАЛЬНОЇ ДОЗИ ПРЕПАРАТУ ЕФІАЛЬ™**

Групи тварин	Термін спостереження, год	
	6	24
Тест-зразок, n=10	1,24±0,12	1,19±0,06
Контроль, n=10	1,27±0,09	1,27±0,09

сліджуваного препарату на шкіру тварин у різних дозах.

Результати вивчення сенсibiliзуючих властивостей тест-зразка за шкалою оцінки шкірних проб у балах [3] свідчили про відсутність будь-яких проявів сенсibiliзуючих властивостей у морських свинок-альбіносів за дії препарату Ефіаль™.

Дані тестування алергенної дії препарату Ефіаль™ за реакцією гіперчутливості уповільненого типу у мишей свідчать, що через 6 год після введення вирішальної дози препарату індекс реакції складав 1,24±0,12% і практично не відрізнявся від аналогічного показника для тварин контрольної групи (1,27±0,09%). Про відсутність реакції гіперчутливості уповільненого типу свідчили індекси реакції у тварин дослідної та контрольної груп і через 24 год після введення вирішальної дози препарату (табл. 5).

Таким чином, дослідження, проведені за тестом на шкірних аплікацій морським свинкам-альбіносам та за реакцією гіперчутливості уповільненого типу у білих мишей, свідчать про відсутність алергенної дії у препараті Ефіаль™.

За одноразової аплікації на шкіру кролів-альбіносів препарату Ефіаль™ не зареєстровано будь-яких змін у місці аплікації: не спостерігалися еритеми, набряк, струп, некроз через 24, 48 та 72 год після нашкої аплікації тест-зразка у дозі 0,5 г на 6 см² шкіри. За умов нашкої аплікацій препарату Ефіаль™ протягом 14 днів також не виявлялося будь-яких уражень шкіри. Як за одноразової, так і за повторних аплікацій тест-зразка індекс прямого подразнення шкіри для препарату і для розчинника складав 0,0, що свідчить про відсутність у препараті Ефіаль™ подразнювальних властивостей при нанесенні на шкіру.

Відсутність негативних змін рогової, райдужної та слизової оболонок ока у кролів-альбіносів впродовж 72 год за одноразової інсталяції в кон'юнктивальний мішок тест-зразка в дозі 0,1 мл свідчить про відсутність подразнювальної дії препарату Ефіаль™ на очі тварин.

ВИСНОВКИ

1. Препарат Ефіаль™ (спрей, виробник ВАТ «Фармак») за умов повторних аплікацій протягом 28

днів у різних дозах – терапевтичний (8 мг діючої речовини) та за дозового навантаження (п'ятикратне перевищення терапевтичної дози) не призводить до загибелі тварин та до порушень інтегральних показників їхнього стану.

2. Препарат Ефіаль™ (спрей, виробник ВАТ «Фармак») за умов повторних аплікацій на скарифіковану шкіру не спричиняє негативного впливу на структурно-функціональний стан печінки, нирок, не призводить до порушень гематологічних показників периферичної крові тварин та не викликає патологічних змін у внутрішніх органах, головному мозку та шкірі.
3. Препарат Ефіаль™ (спрей, виробник ВАТ «Фармак») не проявляє алергенних властивостей та місцевоподразнювальної дії на шкіру та слизові оболонки піддослідних тварин.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Балукіна Е. В., Успенский Ю. П. Эссенциальные фосфолипиды в комплексной терапии неалкогольной жировой болезни печени // Рус. мед. журн. – 2011. – № 28. – С. 1766-1770.
2. Демяненко В., Лукашук Л. Вітчизняні ксеноімпланти у лікуванні опікових хворих // Ваше здоров'я. – 2009. – Т. 3 (1031). – С. 3-7.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 527 с.
4. Камышников В. С. Справочник по клинико-биологическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М., 2004. – 912 с.
5. Коваленко В. М., Ципкун О. Г. Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів: метод. рекомендації. – К., 2007. – 382 с.
6. Хромов О. С., Добреля Н. В. Експериментальне обґрунтування застосування фосфатидилхолінових ліпосом як нового гіпотензивного засобу // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2008. – Вип. 16, Т. 1. – С. 197-203.
7. Шульпекова Ю. О. Эссенциальные фосфолипиды в лечении заболеваний печени // Рус. мед. журн. – 2003. – № 5. – С. 11-13.
8. Draize J. H., Woodard G., Calvery H. O. Method for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1944. – Vol. 82. – P. 337-390.
9. Niderau C., Strohmeyer G., Heiges T. et al. Polyunsaturated phosphatidyl-choline and interferon alpha for treatment of chronic hepatitis B and C: multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial // Hepato-Gastroenterol. – 1998. – Vol. 45. – P. 797-804.

УДК 615.262:615.361:616.5

В. М. Коваленко, Г. И. Борщевский, А. К. Воронина

БЕЗОПАСНОСТЬ ПРЕПАРАТА ЭФИАЛЬ™, СПРЕЙ ПРОИЗВОДСТВА ОАО «ФАРМАК»

На ОАО «Фармак» (г. Киев) был разработан препарат Эфиаль™ в лекарственной форме спрея, включающий пептидные комплексы кожи свиней и фосфатидилхолин. По показателям подострой токсичности определено, что препарат Эфиаль™, спрей в условиях повторных аппликаций в течение 28 дней в терапевтической дозе и пятикратной терапевтической дозе не приводит к гибели животных и к нарушениям интегральных показателей их состояния, не влияет отрицательно на гематологические показатели периферической крови животных и не вызывает патологических изменений во внутренних органах. Препарат не проявляет аллергенных свойств и местнораздражающего действия на кожу и слизистые оболочки.

Ключевые слова: Эфиаль™; безопасность; аллергенное и местнораздражающее действие

UDC 615.262:615.361:616.5

V. M. Kovalenko, G. I. Borshchevsky, A. K. Voronina

SAFETY OF THE DRUG EFIAL™ SPRAY, PRODUCED BY «FARMAK»

The drug Efial™, spray was developed by «Farmak» (Kiev). It contained peptide complexes skin of pig and phosphatidylcholine. Subacute toxicity study showed that the drug Efial™ with repeated applications in for 28 days at a therapeutic dose and five times the therapeutic dose did not affect the death of the animals and their integral parameters, and did not cause the abnormal changes of hematological values and histopathological alterations in the various organs of animals studied. The allergenic and irritative properties of Efial™ to the skin and mucous membranes have not been detected.

Key words: Efial™; safety; allergenic and irritative properties

Адреса для листування:

04114, м. Київ, вул. Ежена Потьє, 14.

ДУ «Інститут фармакології та токсикології
НАМН України»

Надійшла до редакції:

25.11.2013 р.

УДК 615.243.2.57.089.5.00.5

О. І. НАБОКА, Ю. В. ВОРОНІНА

Національний фармацевтичний університет

ВИВЧЕННЯ ГІПОТЕНЗИВНОЇ ДІЇ ХІНОКАРБУ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ У ЩУРІВ

У роботі представлені результати вивчення впливу субстанції хінокарб – похідного аніліду хінолін-2-карбонової кислоти на АТ і ЧСС при одноразовому і 7-денному введенні щурам з експериментальною артеріальною гіпертензією. Показано, що хінокарб при одноразовому внутрішньошлунковому введенні експериментально гіпертензивним щурам у дозі 10 мг/кг виявив суттєвий антигіпертензивний ефект, максимум якого розвивався через 6 год та складав 13,6 % (-24,0 мм рт. ст.), а його вираженість і тривалість децю перевищували антигіпертензивну активність гідрохлортіазиду (8,7 %, або -15,0 мм рт. ст.). Вірогідне зниження рівня АТ (17,1 %) під впливом нової субстанції при 7-денному введенні свідчить про наявність у дослідної субстанції вираженого антигіпертензивного ефекту, який був вищим, ніж після одноразового введення. 7-денне введення хінокарбу, як і референтних препаратів гідрохлортіазиду та еналаприлу, не чинило впливу на ЧСС щурів.

Ключові слова: аніліди хінолін-2-карбонової кислоти; артеріальний тиск; частота серцевих скорочень; хінокарб

ВСТУП

Фармакологічна корекція артеріальної гіпертензії (АГ) – одного з найбільш поширених захворювань людини є актуальним завданням кардіофармакології [3, 8]. За даними МОЗ України в країні зареєстровано понад 9,8 млн хворих на АГ, що становить 24 % дорослого населення, та спостерігається стійке підвищення цього показника. Згідно з дослідженнями Інституту кардіології ім. Н.Д. Стражеска підвищений рівень артеріального тиску (АТ) має близько 44 % дорослого населення країни. Рівень серцево-судинної смертності, яка завжди тісно асоційована з АГ, в Україні є одним із найвищих в Європі – у 2-4 рази вище, ніж у розвинених країнах світу [4, 11, 15, 16, 19].

В останні десятиліття діуретики посіли одне з провідних місць у лікуванні гіпертонічної хвороби і при лікуванні хронічної серцевої недостатності [5, 7, 9, 10, 12, 14, 18]. Як встановлено в ряді робіт, у механізм підвищення АТ залучена ціла низка органів і систем: серце й судини, надниркові залози, нирки, вегетативна нервова система тощо. Не будучи безпосередньо антигіпертензивними препаратами, діуретики сприяють виведенню великої кількості рідини, проявляють гіпотензивну дію, знижуючи АТ до фізіологічної норми [5, 7].

Метою даного дослідження стало вивчення впливу субстанції хінокарб – похідного аніліду хінолін-2-

карбонової кислоти на АТ і ЧСС при одноразовому і 7-денному введенні щурам з експериментальною артеріальною гіпертензією.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведені на щурах-самцях і щурах-самицях масою 200-250 г. Протягом експерименту щури знаходилися у віварії при 20-25°C, вологості не більше 50 %, природному світловому режимі «день-ніч», у стандартних пластикових клітках на стандартному харчовому раціоні [2]. Гіпотензивну дію хінокарбу вивчали на моделі індометацинової АГ [17], яку відтворювали шляхом хронічного введення (6 тижнів) інгібітора синтезу простагландинів – індометацину на фоні зміни функціонального стану нирок завдяки сольовому навантаженню. Вплив на АТ та ЧСС субстанції хінокарбу вивчали при одноразовому і 7-денному введенні щурам (при вивченні водно-сольового обміну).

АТ і частоту серцевих скорочень (ЧСС) у щурів реєстрували у хвостовій артерії неінвазивним методом за допомогою реєстратора АТ BP Recorder («Ugo Basile», Італія). На підставі отриманих результатів у кожній серії дослідів формували однорідні за рівнем АТ групи. В день досліді у щурів реєстрували вихідний рівень АТ і відразу після цього їм вводили в шлунок хінокарб та референтні препарати. Ефекти препаратів, що порівнюються, оцінювали за змінами АТ відносно вихідного рівня, беручи його за 100 %. Згідно

Таблиця 1

ВПЛИВ ОДНОРАЗОВОГО ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОГО ВВЕДЕННЯ СУБСТАНЦІЇ ХІНОКАРБ (10 мг/кг) І ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ (10 мг/кг) НА АТ І ЧСС У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ

Препарати	АТ, мм рт. ст.										
	вих.	через 2 год		через 4 год		через 6 год		через 24 год		через 27 год	
	Абс.	Абс.	ΔАТ	Абс.	ΔАТ	Абс.	ΔАТ	Абс.	ΔАТ	Абс.	ΔАТ
Хінокарб (n=10)	181±6,2	170±7,0	-11,0 (6,2%)	170±4,7	-11,0 (6,2%)	157±2,7 ¹	-24,0 (13,6%)	166±2,2 ¹	-15,0 (8,7%)	170±3,8	-11,0 (6,2%)
Гідрохлор- тіазид (n=10)	172±6,0	167±4,4	-5,0 (2,9%)	167±1,7	-5,0 (2,9%)	157±4,4 ¹	-15,0 (8,7%)	167±1,8	-5,0 (2,9%)	167±3,3	-5,0 (2,9%)
Препарати	ЧСС, уд./хв										
	вих.	через 2 год		через 4 год		через 6 год		через 24 год		через 27 год	
	Абс.	Абс.	ΔЧСС	Абс.	ΔЧСС	Абс.	ΔЧСС	Абс.	ΔЧСС	Абс.	ΔЧСС
Хінокарб (n=10)	450±21	470±38	+20	460±38	+10	440±28	-10	444±29	-6	430±37	-20
Гідрохлор- тіазид (n=10)	463±38	523±32	+60	530±21	+67	523±23	+60	473±33	+10	500±17	+37

Примітки:

1. n – кількість тварин;

2. ¹ – $p \leq 0,05$ відносно вихідного рівня;

3. У дужках – ΔАТ відносно вихідного рівня у %.

із загальноприйнятими в біології підходами антигіпертензивний ефект препаратів розраховували як в цілому в кожній експериментальній групі, так і окремо в підгрупах щурів, у яких АТ під впливом вивчених препаратів знижується на 5 % та більше відносно вихідного рівня. Це дозволило глибше оцінити потенційні антигіпертензивні властивості дослідної субстанції.

Препаратами порівняння були пігулки Гіпотіазиду, які містять 25 мг гідрохлортіазиду («Хіноін», Угорщина), та пігулки Берліприл, які містять 5 мг еналаприлу малеату («Берлін-Хемі АГ», Німеччина). Доза хінокарбу 10 мг/кг та гідрохлортіазиду (за діючою субстанцією) є максимально ефективною діуретичною дозою, як було встановлено у проведених раніше експериментах [1]. Доза еналаприлу 5 мг/кг відповідає діапазону добових доз для людини з розрахунком коефіцієнта перерозрахунку на щурів, а також коливається в діапазоні його фармакологічно активних доз в експерименті [5, 8].

Препарати, які порівнюються, вводили 1 раз на день протягом 7 днів. Контрольній групі нелікованих щурів щоденно внутрішньошлунково вводили 0,9 % розчин натрію хлориду в еквівалентному об'ємі (0,2 мл/200 г).

Статистичну обробку результатів проводили з використанням пакету статистичного аналізу електронних таблиць Excel [6]. Розраховували середні значення показників ($\bar{x}$) і стандартну помилку ($S_{\bar{x}}$). Вірогідність різниці між середніми значеннями визначали за критерієм Ст'юдента. Вірогідність отриманих результатів оцінювали на рівні значущості не менше 95 % ($P \leq 0,05$) [13].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Через 6 тижнів уведення всередину індометацину в дозі 2 мг/кг у 70 % щурів спостерігали досто-

вірне підвищення рівня САТ у порівнянні з вихідним: величина САТ знаходилася в межах 172-181 мм рт. ст. і складала в середньому $177 \pm 4,3$ мм рт. ст. Отримані результати свідчили про розвиток вираженої АГ [20, 22].

Досліди при одноразовому введенні хінокарбу та гідрохлортіазиду проведені на щурах-самцях. Після введення препаратів АТ і ЧСС у щурів реєстрували через 2, 4, 6, 24 і 27 годин. Вибір вказаних інтервалів часу заснований на даних літератури щодо динаміки та тривалості антигіпертензивних ефектів гідрохлортіазиду при внутрішньошлунковому введенні [7].

Досліди при 7-денному введенні хінокарбу, гідрохлортіазиду і еналаприлу проведені на щурах-самцях. Препарати, які порівнюються, вводили 1 раз на день протягом 7 днів. Контрольній групі нелікованих щурів щоденно внутрішньошлунково вводили 0,9 % розчин натрію хлориду в еквівалентному об'ємі (0,2 мл/200 г). На 7-й день після початку експерименту через 4 год після останнього введення препаратів у щурів реєстрували АТ і ЧСС.

Вплив хінокарбу на АТ та ЧСС у експериментально гіпертензивних щурів ми вивчали, вимірюючи вихідний АТ і ЧСС у всіх дослідних щурів. Вихідний АТ складав у середньому $181,0 \pm 6,2$ мм рт. ст., що на 34 % вище за фізіологічні значення цього показника у нормотензивних щурів (120-130 мм рт. ст.). ЧСС у всіх дослідних щурів у середньому складала 470 ± 38 уд./хв.

Одноразове введення щурам хінокарбу в дозі 10 мг/кг викликало у всіх тварин у групі поступове помірне та кількісно різне зниження АТ. Максимальний антигіпертензивний ефект препарату триває до 6 год спостереження, коли рівень АТ у середньому по групі знижувався на 13,6 % (табл. 1).

До 24 год спостереження антигіпертензивний ефект препарату зберігався у 6 з 10 щурів (60 %), а се-

ВПЛИВ 7-ДЕННОГО ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОГО ВВЕДЕННЯ ХІНОКАРБУ, ГІДРОХЛОРТІАЗИДУ І ЕНАЛАПРИЛУ НА ДИНАМІКУ АТ І ЧСС У ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ГІПЕРТЕНЗИВНИХ ЩУРІВ

Препарати	n	АТ, мм рт. ст.			ЧСС, уд./хв	
		вих.	7 діб	ΔАТ	вих.	7 діб
Контроль, без лікування	6	183±7,7	183±9,2	–	513±15	525±16
Експериментальна АГ + хінокарб (10 мг/кг)	Усього – 6	189±7,7	165±9,1	-24,0±9,5 ² (12,8%)	513±24	493±10
	Чутл. – 4	192±10,3	156±7,9 ¹	-36,0±9,0 ² (17,1%)	–	–
Експериментальна АГ + гідрохлортіазид (10 мг/кг)	Усього – 6	184±7,7	168±3,1	-16,0±7,2 (8,7%)	503±11	511±11
	Чутл. – 3	198±9,3	170±5,9	-28,0±10,1 ² (14,1%)	–	–
Експериментальна АГ + еналаприл (5 мг/кг)	6	193±9,5	155±4,5 ^{1,2,3}	-38,0±9,6 ² (19,8%)	517±12	507±11

Примітки:

1. n – кількість тварин, які використовуються при розрахунку середньої величини;
2. ¹ – p < 0,05 відносно вихідного рівня;
3. ² – p < 0,05 відносно нелікованого контролю;
4. ³ – p < 0,05 відносно гідрохлортіазиду;
5. у дужках – ΔАТ відносно вихідного рівня у %.

редній рівень АТ щурів цієї групи залишався вірогідно нижчим за вихідний рівень на 8,7 %. Через 27 год після введення субстанції середнє значення АТ у цій групі щурів становило 6,2 %.

Препарат порівняння гідрохлортіазид також викликав схоже з хінокарбом за динамікою, але дещо менш виражене поступове зниження АТ впродовж перших 6 годин спостереження. Максимальний вірогідний рівень антигіпертензивного ефекту гідрохлортіазиду реєструвався до 6 год та складав 8,7 %. Через 24 год після введення гідрохлортіазиду тільки у 33 % щурів АТ залишався нижче за вихідний на 8,4 %, а середнє значення АТ у щурів цієї групи не відрізнялося від вихідного рівня (табл. 1). Протягом усіх 27 год спостереження хінокарб і гідрохлортіазид не чинили суттєвого впливу на ЧСС, рівні якої були схильні до незначних коливань (табл. 1).

Таким чином, хінокарб при одноразовому внутрішньошлунковому введенні експериментально гіпертензивним щурам у дозі 10 мг/кг виявив суттєвий антигіпертензивний ефект, максимум якого розвивався через 6 год та складав 13,6 % (-24,0 мм рт. ст.), а його вираженість і тривалість дещо перевищувала антигіпертензивну активність гідрохлортіазиду (8,7 %, або -15,0 мм рт. ст.). Отримані нами результати по відношенню до гідрохлортіазиду збігаються з даними літератури [7].

Хінокарб при 7-денному введенні викликав у 67 % щурів у групі зниження АТ більш ніж на 5 %. Індивідуальні зниження АТ (ΔАТ) у цих щурів, чутливих до терапії хінокарбом, коливалися від 20 до 60 мм рт. ст., або 12,1-28,6 %. Середній антигіпертензивний ефект субстанції у цих щурів складав 17,1 %, тобто був вищим, ніж після одноразового введення випробуваної субстанції. При цьому середній рівень АТ у цей період у щурів даної підгрупи знижувався вірогідно нижче за вихідний рівень (табл. 2).

37% щурів виявилися резистентними до антигіпертензивної дії хінокарбу (зниження АТ у них було менше 5 %). У зв'язку з цим при розрахунку в цілому в групі середній ефект досліджуваної субстанції через 4 год після останнього введення складав 12,8 %, була помітна тенденція до зниження середнього рівня АТ відносно вихідного рівня. Разом з тим, середнє зниження АТ (ΔАТ) у групі вірогідно перевищує ΔАТ у групі нелікованого контролю (табл. 2).

У групі щурів, яким вводили препарат порівняння гідрохлортіазид, на 7 добу у 50 % зареєстровані індивідуальні зниження АТ від 10 до 45 мм рт. ст., або на 5,6-28,1 %. Середнє зниження АТ (ΔАТ) у цих щурів складало 14,1 %, маючи тенденцію до більш низького рівня в порівнянні з дією хінокарбу у чутливих щурів (табл. 2). 50 % щурів у групі були резистентними до дії гідрохлортіазиду (в групі хінокарбу таких тварин було менше – 33,3 %). У зв'язку з цим при розрахунку в цілому по групі середнє зниження АТ (ΔАТ) через 4 год після останнього введення складало тільки 8,7 %, не відрізняючись вірогідно від ΔАТ у групі нелікованого контролю (табл. 2). Той факт, що як при одноразовому, так і при 7-денному введенні гідрохлортіазиду зниження АТ у середньому по групі складало 8,7 %, можливо, свідчив про досягнення його максимального ефекту при використанні дози 10 мг/кг.

У групі щурів, яким вводили еналаприл, на 7-й день введення у всіх щурів АТ знижувався більш ніж на 5 %, тобто всі тварини були чутливими до дії еналаприлу. Середній антигіпертензивний ефект препарату складав 19,8 %.

Середній рівень АТ у цей термін в цілому по групі з еналаприлом був вірогідно нижчим як відносно вихідного контролю, так і відносно груп з хінокарбом, гідрохлортіазидом і нелікованим контролем, але статистично не відрізнявся від АТ у підгрупі щурів, чутливих до терапії субстанцією хінокарб (табл. 2).

7-денне введення хінокарбу, як і референтних препаратів гідрохлортіазиду і еналаприлу, не чинило впливу на ЧСС дослідних щурів (табл. 2). У цілому препарати, що порівнюються, при 7-денному введенні у чутливих експериментально гіпертензивних щурів можна розташувати в такому порядку зменшення антигіпертензивного ефекту: еналаприл (19,8 %) > хінокарб (17,1 %) > гідрохлортіазид (14,1 %).

При аналізі отриманих результатів ми враховували такі фактори та обставини. По-перше, привертав увагу той факт, що в серії дослідів, виконаних на самих щурах, у всіх щурів антигіпертензивний ефект як хінокарбу, так і гідрохлортіазиду був досить відчутним і завжди перевищував 5 % рівень (6-13,6 %). На відміну від цього у серії дослідів, проведених на щурах-самцях, частина щурів стала малочутливою до дії хінокарбу і гідрохлортіазиду. Вірогідно, стосовно цих ЛР виявлялася відома закономірність, що самиці більш чутливі до дії багатьох ксенобіотиків, у тому числі й лікарських засобів [21]. По-друге, відомо, що у людини антигіпертензивна дія тiazидних діуретиків розвивається через 3-4 дні їх постійного застосування, але для нейтралізації контррегуляторних механізмів у відповідь на індуковане спочатку лікування зниження АТ та отримання стабільного оптимального ефекту взагалі потребує 3-4 тижні [5]. Крім того, переконливо доведено, що при використанні монотерапії досягнення цільових рівнів АТ, прийнятих Європейським товариством з лікування АГ, Європейським товариством кардіологів, можливе лише у 30-50 % хворих [4].

Тому в сукупності з цими клінічними даними отримані результати про вірогідне зниження рівня АТ під впливом хінокарбу при одноразовому введенні у всіх тварин і при 7-денному введенні у 66,7 % чутливих щурів у групі свідчать, по-перше, про наявність у дослідної субстанції суттєвого антигіпертензивного ефекту, а по-друге, дозволяють припустити, що для отримання антигіпертензивного ефекту у щурів, резистентних до терапії субстанцією хінокарбу, необхідно більш тривале її введення.

ВИСНОВКИ

1. Хінокарб при одноразовому внутрішньошлунковому введенні експериментально гіпертензивним щурам у дозі 10 мг/кг виявив суттєвий антигіпертензивний ефект, максимум якого розвивався через 6 год та складав 13,6 % (-24,0 мм рт. ст.), а його вираженість і тривалість перевищували антигіпертензивну дію гідрохлортіазиду (8,7 %, або -15,0 мм рт. ст.).
2. Середній антигіпертензивний ефект субстанції хінокарбу при 7-денному введенні складав 17,1 %, тобто був вищим, ніж після одноразового введення.
3. 7-денне введення хінокарбу, як і референтних препаратів гідрохлортіазиду і еналаприлу, не чинило впливу на ЧСС у щурів.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Вороніна Ю. В., Набока О. І., Галузіньська Л. В. Експериментальне визначення ефективної дози, гострої токсичності та загально токсичної дії хінокарбу // Укр. біофармац. журн. – 2012. – № 5-6. – С. 32-37.
2. Западнюк В. И. Лабораторные животные. – К.: Вища шк., 1996. – 382 с.
3. Клиническая кардиология: руководство для врачей: практ. пособие / Под ред. В. В. Горбачека. – Мн: Книжный дом, 2007. – С. 141-144, 465-476, 511-525.
4. Кобалова Ж. Д., Котовская Ю. В. Артериальная гипертония: ключи к диагностике и лечению – М., 2007. – 432 с.
5. Компендиум 2005 – лекарственные препараты / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2005. – 1920 с.
6. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. – К.: «МОРИОН», 2000. – 320 с.
7. Лекарственные средства / Ред. Р. У. Хабриев, А. Т. Чуралин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – С. 87.
8. Марчук Е. Ю., Воеводина И. В. Современные представления об использовании ингибиторов АПФ для лечения артериальной гипертензии // РМЖ. – 2005. – Т. 13. – С. 43-49.
9. Машковский М. Д. Лекарственные средства. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Изд-во Новая волна», 2007. – 1200 с.
10. Метелица В. И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых лекарственных средств. – 2-е изд. – М.: Изд-во БИНОМ, С.Пб.: Невский диалект, 2002. – 926 с.
11. Новые подходы в лечении артериальной гипертензии: от снижения артериального давления до предупреждения осложнений. По итогам пресс-конференции, посвященной выполнению национальной программы профилактики и лечения АГ в Украине // Новости медицины и фармации в Украине. – 2005. – № 17 (177). – С. 20-24.
12. Рациональная фармакотерапия сердечно-сосудистых заболеваний / Под ред. Е. И. Чазова, Ю. Н. Беленкова. – М.: Литтерра, 2005. – С. 810.
13. Сернов Л. Н., Гацуря В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. – М., 2000. – С. 318-320.
14. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: справочник. – М.: АстраФармСервис, 2007. – 1632 с.
15. Тарасова К. В., Карвацкий І. М., Шевчук В. Г. Комплексний вплив активаторів і блокаторів мембранних каналів на показники гемодинаміки щурів з нормальним артеріальним тиском та зі спонтанною гіпертензією // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 4. – С. 117-122.

16. Чекман І. С. Спонтанна артеріальна гіпертензія у щурів: патогенетичні механізми розвитку / І. С. Чекман, Я. М. Корнійкова, Р. С. Довгань // Ліки – 2007. – № 1-2. – С. 10-15.
17. Экспериментальное изучение антигипертензивных средств: метод. рекоменд. / Н. А. Мохорт, Н. А. Горчакова, И. С. Чекман; под ред. А. В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – С. 269-289.
18. Doug M. S., Scott B., Rebecca R. // J. Hypertens. – 2005. – Vol. 23, № 12. – P. 2229-2236.
19. European Society of Hypertension – European Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension // J. Hypertens. – 2003. – Vol. 212.
20. Fukuda S., Tsuchikura S., Iida H. Age-related in blood pressure, hemato; ogical values, concentrations of serum biochemical constituentes and weights of organs in the SHR/Izm, SHRSP/Izm and WKY/Izm // Exp. Anim. – 2004. – Vol. 53, № 1. – P. 67-72.
21. Kim J. Mitogen-activated protein kinase contributes to elevated basal tone in aortic smooth muscle from hypertensive rats / J. Kim, Y. R. Lee, C. H. Lee et al. // Eur. J. Pharmacol. – 2005. – Vol. 514, № 2-3. – P. 209-215.
22. Yang H. Y. Soyabean protein hydrolysate prevents the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats / [H. Y. Yang, S. H. Yang, S. I. Chen et al.] // British J. of Nutrition. – 2004. – № 92. – P. 507-512.

УДК 615.243.2.57.089.5.00.5

О. И. Набока, Ю. В. Воронина

ИЗУЧЕНИЕ ГИПОТЕНЗИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИНОКАРБА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У КРЫС

В работе представлены результаты изучения влияния субстанции хинокарб – производного анилида хинолин-2-карбоновой кислоты на АД и ЧСС при однократном и 7-дневном введении крысам с экспериментальной артериальной гипертензией. Показано, что хинокарб при однократном внутрижелудочном введении экспериментально гипертензивным крысам в дозе 10 мг/кг проявил выраженный антигипертензивный эффект, максимум которого развивался через 6 часов и составлял 13,6 % (-24,0 мм рт. ст.), а его выраженность и длительность превышала антигипертензивную активность гидрохлортиазида (8,7 %, или -15,0 мм рт. ст.). Достоверное снижение уровня АД (17,1 %) под влиянием новой субстанции при 7-дневном введении свидетельствует о наличии у хинокарба выраженного антигипертензивного эффекта, который был выше, чем при однократном применении. 7-дневное введение хинокарба, как и референтных препаратов гидрохлортиазида и эналаприла, не оказывало влияния на ЧСС у крыс.

Ключевые слова: анилиды хинолин-2-карбоновой кислоты; артериальное давление; частота сердечных сокращений; хинокарб

UDC 615.243.2.57.089.5.00.5

O. I. Naboka, Yu. V. Voronina

STUDY ON HYPOTENSIVE ACTIVITY OF QUINOCARB ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF ARTERIAL HYPERTENSION IN RATS

The results of study substance of quinocarb-derived anilid quinolinic-2-carboxylic acid influence on arterial pressure (AP) and heart rate have been suggested while single injection for seven-days period to rats with an experimental arterial hypertension. It is appeared that quinocarb while single intragastric injection to the experimental hypertensive rats in a dosage of 10 mg/kg exposed significant antihypertensive effect which went to its maximum point in 6 hours and equaled 13,6 % (-24,0 mm MC), and its intensity and length slightly exceeded antihypertensive activity of hydrochlorthiazide (8,7 %, or -15,0 mm MC). Veritable decreasing of the AP (17,1 %) under the influence of new substance while 7-days injection affirms the existence in quinocarb as the experimental substance significant antihypertensive effect, what was higher compared to the one after a single injection. 7-days-injection of as quinocarb, as referent preparations hydrochlorthiazide and enalapril did not have any influence on the rats heart rate.

Key words: anilids of quinolinic-2-carboxylic acid; arterial pressure; heart rate; quinocarb

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.

Національний фармацевтичний університет,
кафедра біології.

Тел. 706-23-42

Надійшла до редакції:

12.11.2013 р.

УДК 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6

В. А. РИБАК, Л. М. МАЛОШТАН

Національний фармацевтичний університет

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ

Встановлена найбільш виражена гіпоглікемічна активність густого екстракту квасолі в інтактних тварин через 6 годин та у тварин з глюкозним навантаженням через 30 та 60 хвилин, яка наближається до активності препарату порівняння метформіну і переважає екстракти листя кизилу та плодів люпину.

Ключові слова: густий екстракт квасолі; листя кизилу; плоди люпину; гіпоглікемічна активність

ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) II типу є найбільш поширеним і прогресуючим ендокринним захворюванням населення більшості країн світу. За оцінками експертів ВООЗ кількість хворих на ЦД у всьому світі становить 347 млн осіб. На теперішній час в Україні офіційно зареєстровано 1 млн 304 тис. хворих на ЦД. Медико-соціальне значення ЦД визначається не лише його великою поширеністю і тенденцією до подальшого зростання числа хворих, а тими збитками, які ця хронічна хвороба спричиняє [1, 2, 6].

У патогенезі ускладнень ЦД важливу роль відіграють такі фактори, як гіперглікемія та її наслідки – гіпертензія, атеросклеротичні порушення, діабетична мікроангіопатія, ретинопатія та ін. [5].

Однією з актуальних проблем сучасної ендокринології є адекватна корекція ЦД та його ускладнень [1]. Застосування лікарських рослин при ЦД ґрунтується на тому, що їх значна кількість – понад 400 чинить цукрознижувальний ефект [3], а також має низку інших позитивних ефектів, що посилюють їх дію при ускладненому ЦД. Традиційно лікарські рослини застосовуються при ЦД II типу [5].

Об'єктом фармакологічних досліджень були обрані: густий екстракт квасолі, екстракт плодів люпину, отримані під керівництвом професора кафедри фармакогнозії НФаУ В. М. Ковальова, та екстракт листя кизилу, отриманий доцентом кафедри фармакогнозії НФаУ О. В. Криворучко.

Метою дослідження було вивчення гіпоглікемічної активності екстрактів квасолі, листя кизилу та плодів люпину в інтактних щурів і у щурів з глюкозним навантаженням [4].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Визначення можливої гіпоглікемічної дії екстрактів квасолі, листя кизилу та плодів люпину в дозі 50 мг/кг у порівнянні з метформіном у терапевтичній дозі 50 мг/кг проводили в два етапи.

На першому етапі дослідження визначали гіпоглікемічну активність рослинних екстрактів у інтактних щурів масою 180-200 г. Всі тварини були розподілені на 5 груп (по 7 особин у кожній). Тварини 1 групи (інтактні) – внутрішньошлунково отримували еквівалентну кількість питної води, 2 групи – препарат порівняння метформін, 3 групи – густий екстракт квасолі, 4 групи – екстракт листя кизилу і 5 групи – екстракт плодів люпину.

У щурів усіх груп визначали вихідний рівень глюкози та через 2, 4, 6, 8 і 10 год після одноразового введення рослинних екстрактів та препарату порівняння – метформіну.

На другому етапі дослідження була визначена гіпоглікемічна активність рослинних екстрактів у щурів масою 180-200 г з нормальним вуглеводним го-меоостазом в умовах глюкозного навантаження.

Визначення можливої гіпоглікемічної дії рослинних екстрактів при їх одноразовому введенні проводили на моделі гіперглікемії, викликаній внутрішньошлунковим введенням за допомогою зонду 40 % розчину глюкози у дозі 3 г/кг маси тіла (за зниженням сумарної глікемії, яку розраховували шляхом підсумку значень концентрації глюкози за всіма часовими точками дослідження) у щурів, які голодували протягом 18 годин [3]. Всі тварини були розподілені на 6 груп (по 7 у кожній). За 1 годину до «цукрового навантаження» тваринам 1 і 2 групи (інтактна та контрольна) внутрішньошлунково вводили еквівалентну кількість питної води, 3 групи – препарат порівняння метформін, 4 групи – густий екстракт квасолі, 5 групи – екстракт листя кизилу, 6 груп – екстракт плодів люпину.

© Рибак В. А., Малоштан Л. М., 2013

**ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ
У ІНТАКТНИХ ЩУРІВ ($M \pm m$), (n=7)**

Групи тварин	Досліджуваний об'єкт	Динаміка вмісту глюкози (C, ммоль/л)					
		вихідні дані	через 2 год	через 4 год	через 6 год	через 8 год	через 10 год
1	Інтакт	4,42±0,029	4,37±0,022	4,34±0,017	4,32±0,035	4,36±0,023	4,34±0,017
2	Метформін	4,39±0,019	4,07±0,011*	3,59±0,010*	3,25±0,018*	3,24±0,017*	3,64±0,006*
3	Густий екстракт квасолі	4,35±0,016	4,16±0,006*	3,63±0,008*	3,30±0,011*	3,53±0,013*	3,72±0,016*
4	Екстракт листя кизилу	4,45±0,017	4,20±0,017*	3,78±0,077*	3,53±0,021*	3,88±0,014*	3,91±0,010*
5	Екстракт плодів люпину	4,58±0,015	4,25±0,017*	4,15±0,013*	3,94±0,030*	4,17±0,060*	4,19±0,042*

Примітка: * – $p < 0,001$ – достовірно по відношенню до вихідних даних.

У щурів усіх груп визначали вихідний рівень глюкози та через 30, 60, 90 і 180 хв після цукрового навантаження.

Концентрацію глюкози в крові визначали глюкозооксидазним методом за допомогою набору реактивів фірми «Філісіт-Діагностика».

Дослідження проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», що відповідають положенням «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами дисперсійного аналізу за допомогою програми «Statistica, v.6,0».

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Показники рівня глюкози в крові інтактних тварин через 2, 4, 6, 8 та 10 год під час проведення першого етапу дослідження майже не мали відхилень від вихідних показників.

Під впливом одноразового введення метформіну в терапевтичній дозі 50 мг/кг в порівнянні з вихідними даними спостерігалася тенденція до зниження рівня глюкози, що виявилася найбільш вираженою у вигляді гіпоглікемічної активності через 2, 4, 6, 8 та 10 год на рівні 6,8 %; 17,2 %; 26,0 %; 25,8 % та 16,2 % відповідно (табл. 1).

Найвищий рівень зниження глюкози в крові спостерігався під дією метформіну через 6 та 8 год, що у 1,4 та 1,3 рази вище у порівнянні з показниками вихідних даних.

Найбільш виражена гіпоглікемічна активність серед рослинних екстрактів виявлена у густого екстракту квасолі в дозі 50 мг/кг. Через 4, 8 та 10 год густий екстракт квасолі вірменської знижував рівень глюкози в крові у 1,2 рази по відношенню до вихідних даних на рівні гіпоглікемічної дії метформіну, а через 6 год виявив найвищий рівень зниження глюкози в крові – у 1,3 рази та наближався за цим показником до дії метформіну.

Екстракт листя кизилу в дозі 50 мг/кг через 4, 8 та 10 год знижував рівень глюкози в крові у 1,1 рази по відношенню до вихідних даних. Більш виражену

гіпоглікемічну дію проявив і густий екстракт квасолі через 6 год дослідження – в 1,2 рази по відношенню до вихідних даних.

Екстракт плодів люпину в дозі 50 мг/кг проявив найменшу гіпоглікемічну дію через 4, 8 та 10 год дослідження, а через 6 год знижував рівень глюкози в крові в 1,1 рази по відношенню до вихідних даних.

Результати досліджень показали, що найбільш виражена гіпоглікемічна активність була виявлена у густого екстракту квасолі через 4, 6, 8 та 10 год і склала 16,4 %; 24,8 %; 19,1 % і 14,3 %; у екстракту листя кизилу – 2,9 %; 19,7 %; 11,0 % та 9,8 %, а у екстракту плодів люпину гіпоглікемічна активність була слабко вираженою по відношенню до вихідних даних.

Глюкоза є потужним регулятором активності β -клітин острівкового апарату підшлункової залози. Збільшення концентрації глюкози в крові стимулює виділення в кров інсуліну. Для встановлення впливу екстрактів на секрецію β -клітинами був використаний тест толерантності до глюкози.

Показники рівня глюкози в крові інтактних тварин через 30, 60, 90 та 180 хв під час проведення другого етапу дослідження майже не мали відхилень від вихідних показників.

Так, рівень глюкози в крові щурів через 30 хв після її введення достовірно перевищував вихідний: у групі контролю – у 3,0 рази відповідно, у групі тварин, що отримували препарат порівняння метформін, – у 1,3 рази відповідно; у групі тварин, які отримували густий екстракт квасолі, – в 1,4 рази відповідно; у групі тварин, які отримували екстракт листя кизилу, – в 1,7 рази відповідно; у групі тварин, які отримували екстракт плодів люпину, – в 2,1 рази відповідно (табл. 2).

Під впливом одноразового введення метформіну у терапевтичній дозі 50 мг/кг у порівнянні з групою тварин у контролі спостерігалася тенденція до зниження рівня глюкози, що проявлялось гіпоглікемічною дією через 30, 60, 90 та 180 хв у 2,1; 1,7; 1,5 та 1,4 рази відповідно.

Найбільш виражена гіпоглікемічна дія рослинних екстрактів, що вивчалися, була виявлена у густого екстракту квасолі в дозі 50 мг/кг у порівнянні з групою тварин у контролі через 30 та 60 хв у 2,0 та 1,6

Таблиця 2

**ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ
НА ЩУРАХ З ГЛЮКОЗНИМ НАВАНТАЖЕННЯМ (M±m), (n=7)**

Групи тварин	Досліджуваний об'єкт	Динаміка вмісту глюкози (С, ммоль/л)				
		вихідні дані	через 30 хв	через 60 хв	через 90 хв	через 180 хв
1	Інтакт	4,42±0,010	4,39±0,013	4,40±0,007	4,37±0,005	4,35±0,072
2	Контроль (глюкоза)	4,33±0,006	12,82±0,011*	7,82±0,011*	6,09±0,012*	5,98±0,008*
3	Метформін	4,56±0,021	6,15±0,008*	4,66±0,012**/**	4,20±0,008*	4,18±0,005*
4	Густий екстракт квасолі	4,59±0,011	6,28±0,007*	4,85±0,011*	4,49±0,006*	4,37±0,008*
5	Екстракт листя кизилу	4,47±0,009	7,60±0,014*	5,80±0,016*	4,84±0,009*	4,73±0,031*
6	Екстракт плодів люпину	4,68±0,07	9,85±0,011*	6,79±0,016*	5,46±0,014*	5,38±0,018*

Примітки: * – $p_1 < 0,001$ – достовірно по відношенню до вихідних даних, контрольної патології та метформіну;

** – $p_2 < 0,01$ – достовірно по відношенню до контрольної патології.

рази відповідно, а через 90 і 180 хв – у 1,4 рази відповідно.

Одноразове введення екстракту листя кизилу в дозі 50 мг/кг викликало гіпоглікемічну дію через 30 хв у 1,7 рази відповідно, а через 60, 90 і 180 хв – у 1,3 рази відповідно.

У той же час екстракт люпину в дозі 50 мг/кг виявив найменшу гіпоглікемічну дію через 30 хв у 1,3 рази відповідно, через 60 хв – в 1,2 рази відповідно, а через 90 та 180 хв – в 1,1 рази відповідно.

Аналіз результатів досліджень гіпоглікемічної активності рослинних екстрактів через 30, 60, 90 та 180 хв у порівнянні з метформіном показав, що густий екстракт квасолі виразніше за інші екстракти знижував рівень глюкози в крові щурів та наближався за результатами до активності препарату порівняння метформіну.

ВИСНОВКИ

1. Густий екстракт квасолі проявив більш виражену гіпоглікемічну активність через 6 год у інтактних тварин після одноразового введення, ніж екстракт листя кизилу і екстракт плодів люпину та наближався до дії препарату порівняння метформіну, що виявилось у зниженні рівня глюкози у крові протягом 10 год.
2. Внутрішньошлункове введення глюкози в дозі 3 г/кг призвело до достовірного підвищення рівня глюкози через 30, 60, 90 і 180 хв у всіх групах тварин у порівнянні з вихідними даними, окрім інтактною групи тварин.
3. При одноразовому введенні густого екстракту квасолі виявлена більш виражена гіпоглікеміч-

на активність через 30 та 60 хв, ніж у екстрактів листя кизилу і плодів люпину в порівнянні з контролем та препаратом порівняння метформіном.

4. Отримані дані свідчать про доцільність подальших експериментальних досліджень густого екстракту квасолі з метою створення фітопрепарату з гіпоглікемічними властивостями.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Маньковский Б. Н. Частота выявления новых случаев сахарного диабета 2-го типа и эффективность сахароснижающей терапии у впервые выявленных пациентов: результаты исследования DIABETTER / Б. Н. Маньковский // Ліки України. – 2011. – № 10 (156). – С. 1419.
2. Офіційні дані МОЗ України (<http://www.moz.gov.ua>).
3. Рибак В. А. Дослідження гіпоглікемічної активності екстрактів листя кизилу / В. А. Рибак, О. В. Криворучко, Л. М. Малоштан // Укр. біофармац. журн. – 2013. – № 3 (26). – С. 28-30.
4. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
5. Сучасні аспекти пероральної фармакотерапії цукрового діабету 2 типу. Досягнення НФаУ: монографія / В. П. Черних, Л. М. Малоштан, Н. І. Горбенко [та ін.]: БУРУН і К, 2010. – 208 с.
6. American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes // Diabetes Care. – 2012. – Vol. 35. – S11S63.

УДК 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6

В. А. Рыбак, Л. Н. Малоштан

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ

Установлена наиболее выраженная гипогликемическая активность у густого экстракта фасоли через 6 часов у intactных животных и у животных с глюкозной нагрузкой через 30 и 60 минут, которая приближалась к активности препарата сравнения метформина и преобладал над экстрактами листьев кизила и плодов люпина.

Ключевые слова: густой экстракт фасоли; листья кизила; плоды люпина; гипогликемическая активность

UDC 615.25.252.349.7:615.451.16:582.894.6

V. A. Rybak, L. N. Maloshtan

EXPERIMENTAL STUDY HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS

It is installed the most severe hypoglycemic activity in thick extract of beans in 6 hours in intact animals and in animals with a glucose load after 30 and 60 minutes, which was close by the activity of the reference preparation metformin and prevailed over the extracts dogwood leaves and fruits of lupine.

Key words: thick bean extract; dogwood leaves; fruit of lupine; hypoglycemic activity

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.

Національний фармацевтичний університет
кафедра біології.

E-mail: vitarybak@mail.ru.

Надійшла до редакції:

18.11.2013 р.

УДК 615.322: 618.3

Н. Я. АСАДУЛЛАЄВА, І. М. РИЖЕНКО

Національний фармацевтичний університет

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ АРТИШОКУ ПОЛЬОВОГО НА ЕМБРІО- ТА ФЕТОГЕНЕЗ САМОК ЩУРІВ З АЛКОГОЛЬНОЮ ПЛАЦЕНТАРНОЮ ДИСФУНКЦІЄЮ

На підставі проведених досліджень виявлено фетопротекторну дію екстракту з листя артишоку польового в умовах алкогольної плацентарної дисфункції у вагітних самок щурів. Встановлено, що досліджуваний препарат та препарат порівняння солкосерил на фоні алкогольної інтоксикації сприяли покращенню біометричних показників плода. При цьому екстракт з листя артишоку польового за фетопротекторною активністю мав перевагу над препаратом порівняння солкосерилом. Отримані результати дозволяють рекомендувати екстракт з листя артишоку польового у комплексній терапії затримки розвитку плода у жінок з алкогольною плацентарною дисфункцією.

Ключові слова: алкогольна плацентарна дисфункція; екстракт з листя артишоку польового; солкосерил; фетопротекторна активність

ВСТУП

В останні роки спостерігається тенденція до збільшення вживання алкоголю жінками фертильного віку [7, 13]. Зловживання вагітними алкогольних напоїв спричиняє розвиток плацентарної дисфункції (ПД), яка характеризується порушенням загальної гемоциркуляції, матково-плацентарного кровообігу та призводить до гіпоксії і синдрому затримки розвитку плода (ЗРП). Останній є інтегральним показником внутрішньоутробного неблагополуччя, смертності дітей в перинатальному та дитячому віці [10, 11].

Загальновідомо, що алкоголь токсично впливає на паренхіматозні органи, особливо на печінку [4, 8], а також ушкоджує структуру плаценти, яка за своїми функціями подібна до печінки [9]. Тому нормалізація функцій плаценти та створення в материнському організмі оптимальних умов для розвитку плода обумовлюють необхідність своєчасного проведення профілактики і лікування ПД лікарськими препаратами з фетопротекторними властивостями, що сприятиме усуненню синдрому ЗРП.

Об'єктом даного дослідження є фітопрепарат екстракт з листя артишоку польового (ЕЛАП) – хофітол (лабораторія Rosa-Phytopharma, Франція). Раніше була вивчена його гепатопротекторна, антиоксидантна, діуретична та виразна гравідопротекторна дія, у тому числі при алкогольній ПД [1, 5, 8, 12].

Метою роботи стало вивчення фетопротекторної дії ЕЛАП в умовах ПД, викликаній алкогольною інтоксикацією самок щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на вагітних самках білих нелінійних щурів масою 180-220 г. [2]. Було сформовано чотири експериментальні групи тварин: група інтактного контролю – здорові вагітні самки щурів; група контрольної патології – вагітні самки щурів з ПД, яку викликали внутрішньошлунковим введенням 40% розчину етанолу в дозі 4 г/кг з 15-го по 19-й день вагітності (період фетогенезу); дві групи вагітних самок, яким на фоні патології у лікувально-профілактичному режимі з 14-го по 19-й день вагітності вводили ЕЛАП внутрішньошлунково дозою 50 мг/кг і препарат порівняння солкосерил – внутрішньовенно дозою 0,56 мл/кг. На 20-й день вагітності під легким ефірним наркозом проводили евтаназію тварин з дотриманням правил, наведених у відповідних положеннях біоетики [3, 6]. При розтині щурів оцінювали біометричні показники ембріо- та фетогенезу (кількість життєздатних плодів, ембріональну летальність, масу та краніо-каудальний розмір (ККР) плодів, а також масу плаценти) [2].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів проведених досліджень свідчить (табл.), що за кількістю плодів у вагітних самок група тварин контрольної патології не відрізнялась від інтактних щурів. Однак, показник післяімплантаційної загибелі плодів (ПІЗП) у даній групі збільшився в 3,7 рази, відзначалась затримка розвитку плода, що супроводжувалась вірогідним зниженням їх маси і ККР на 22,7% та 12,7% відповідно до показників у плодів самок інтактної групи. В той же

© Асадуллаєва Н. Я., Риженко І. М., 2013

Таблиця

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ АРТИШОКУ ПОЛЬОВОГО НА ПОКАЗНИКИ ЕМБРІО- ТА ФЕТОГЕНЕЗУ У САМОК ЩУРІВ З АЛКОГОЛЬНОЮ ПЛАЦЕНТАРНОЮ ДИСФУНКЦІЄЮ, $\bar{X} \pm S_x$, n=10

Біометричні параметри	Інтактні тварини	Контрольна патологія	ЕЛАП, 50 мг/кг	Солкосерил, 0,56 мл/кг
Кількість плодів	10,10±0,38	10,00±0,49	10,90±0,57	10,20±0,57
Показник післяімплантаційної загибелі плодів	0,30±0,15	1,10±0,23*	0,40±0,16**/**	0,90±0,10
Маса плодів, г	2,38±0,06	1,84± 0,06*	2,42±0,05**/**	2,26±0,03**
Краніо-каудальний розмір плодів, см	3,22±0,04	2,81± 0,05*	3,27±0,02**/**	3,15±0,04**
Маса плаценти, г	0,54±0,01	0,62±0,03*	0,53±0,01**	0,55±0,01**

Примітка:

* – статистично значущі відхилення ($p \leq 0,05$) по відношенню до тварин групи інтактного контролю;

** – до тварин групи контрольної патології;

*** – до тварин, яким вводили солкосерил, на фоні етанолу;

n – кількість тварин у кожній групі.

час маса плаценти, навпаки, збільшилась на 14,8%, що свідчить про її гіпертрофію і може бути пояснено включенням компенсаторно-приспосувальних механізмів.

Вплив ЕЛАП на ембріо- та фетогенез проявлявся вірогідним зменшенням у 2,8 рази показника ПІЗП і нормалізацією маси плодів та ККР, які збільшились на 31,5% та 16,4% відповідно до нелікованої групи тварин. При цьому маса плацент зменшилась на 14,5%, що вказує на відновлення функцій плаценти та пригнічення процесів затримки розвитку плода.

Після введення препарату порівняння солкосерилу спостерігалось зниження ПІЗП у порівнянні з даними контрольної патології лише в 1,2 рази. Такі біометричні показники як маса та ККР плодів зросли на 22,8% та 12,1%, а маса плаценти дорівнювала такій в інтактних тварин.

Таким чином, за результатами проведених досліджень встановлено виразну фетопротекторну дію ЕЛАП та солкосерилу в умовах алкогольної ПД. Отримані дані свідчать, що за такими показниками як ПІЗП маса та ККР плодів ЕЛАП перевершує дію солкосерилу.

ВИСНОВКИ

1. В умовах алкогольної плацентарної дисфункції у групі самок щурів контрольної патології спостерігався негативний вплив етанолу на показники ембріо- та фетогенезу.
2. Досліджувані препарати екстракт з листя артишоку польового та солкосерил позитивно впливали на показники перинатального розвитку у плодів.
3. За фетопротекторною дією екстракт з листя артишоку польового мав перевагу над препаратом порівняння солкосерилом, що дозволяє рекомендувати його для профілактики та комплексної терапії синдрому затримки розвитку плода у жінок з алкогольною плацентарною дисфункцією.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Асадуллаєва Н. Я. Гравідопротекторні властивості хофітолу на моделі плацентарної дисфункції, що виникає в умовах гострої алкогольної інтоксикації / Н. Я. Асадуллаєва, І. М. Риженко, Г. В. Зайченко // Вісник фармації. – 2011. – №2 (66). – С. 78-81.
2. Доклінічне вивчення лікарських засобів, призначених для лікування плацентарної дисфункції: метод. рекомендації. / Уклад. Л. В. Яковлева, Г. В. Зайченко, А. Г. Ципкун та ін. – К.: ДФЦ МОЗ України, 2009. – 61 с.
3. Перший національний конгрес з біоетики: матеріал. доп. (Київ, 17-20 вересня 2001 р.). – К., 2001. – 144 с.
4. Разводовский Ю. Е. Алкогольный синдром плода / Ю. Е. Разводовский // Мед. новости. – 2004. – №11. – С. 31-34.
5. Colla G. Effects of saline stress on mineral composition, phenolic acids and flavonoids in leaves of artichoke and cardoon genotypes grown in floating system / [G. Colla, Y. Roupheal, M. Cardarelli et al.] // J. Sci. Food Agric. – 2013. – Vol. 93(5). – P. 1119-1127.
6. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes: [European Treaty Series. – №123.] – Strasbourg, 1986. – 48 p.
7. Jagielska I. Alcohol-woman, pregnancy and a newborn child / [I. Jagielska, A. Kazdepka-Ziemińska, M. Stankiewicz et al.] // Przegl. Lek. – 2012. – Vol. 69 (10). – P. 1108-1110.
8. Kulza M. Artichoke – herbal drug / [M. Kulza, K. Adamaska, M. Seńczuk-Przybyłowska et al.] // Przegl. Lek. – 2012. – Vol. 69 (10). – P. 1122-1126.
9. Kurjak A. Donald school textbook of ultrasound in obstetrics and gynecology / A. Kurjak, F. A. Chervenak. – New Delhi: Jaypee Brothers, 2007. – 991 p.

10. O'Leary C. M. Prenatal alcohol exposure and educational achievement in children aged 8-9 years / [C. M. O'Leary, C. Taylor, S. R. Zubrick et al.] // *Pediatrics*. – 2013. – Vol. 132(2). – P. e468-e475.
11. Ornoy A. Alcohol abuse in pregnant women: effects on the fetus and newborn, mode of action and maternal treatment / A. Ornoy, Z. Ergaz // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2010. – Vol. 7, №2. – P. 364-379.
12. Rondanelli M. Health-promoting properties of artichoke in preventing cardiovascular disease by its lipidic and glycemic-reducing action / [M. Rondanelli, F. Monteferrario, S. Perna et al.] // *Monaldi Arch. Chest. Dis*. – 2013. – Vol. 80(1). – P. 17-26.
13. Tenenbaum A. Fetal alcohol spectrum disorder in Israel: increased prevalence in an at-risk population / [A. Tenenbaum, P. Hertz, T. Dor et al.] // *Isr. Med. Assoc. J.* – 2011. – Vol. (12). – P. 725-729.

УДК 615.322:618.3

Н. Я. Асадуллаева, И. М. Рыженко

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ АРТИШОКА ПОЛЕВОГО НА ЭМБРИО- И ФЕТОГЕНЕЗ САМОК КРЫС С АЛКОГОЛЬНОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ

На основе проведенных исследований выявлено фетопротекторное действие экстракта из листьев артишока полевого в условиях алкогольной плацентарной дисфункции у беременных самок крыс. Установлено, что исследуемый препарат и препарат сравнения солкосерил на фоне алкогольной интоксикации способствовали улучшению биометрических показателей плода. При этом экстракт из листьев артишока полевого по фетопротекторной активности имел преимущество над препаратом сравнения солкосерилом. Полученные результаты позволяют рекомендовать экстракт из листьев артишока полевого в комплексной терапии синдрома задержки развития плода у женщин с алкогольной плацентарной дисфункцией.

Ключевые слова: алкогольная плацентарная дисфункция; экстракт из листьев артишока полевого; солкосерил; фетопротекторная активность

UDC 615.322:618.3

N. Y. Asadullaeva, I. M. Ryzhenko

THE EFFECT OF EXTRACT OF ARTISHOKE LEAVES ON EMBRIO- AND FETOGENESIS ON THE MODEL OF ALCOHOL PLACENTAL INSUFFICIENCY IN FEMALE RATS

Based on the research conducted it has been determined that extract obtained from artichoke leaves on the model of alcohol placental insufficiency in pregnant female rats has fetoprotective effect. It was proved that investigational medicine and reference medicine solcoseryl on the model of alcohol intoxication contributed to improvement of fetal biometrics parameters. Extract obtained from artichoke leaves causes fetoprotective effect and has priority over the reference medicine solcoseryl. The results obtained allow to recommend this extract in the complex therapy of fetal growth retardation in women with alcohol placental insufficiency.

Key words: alcohol placental insufficiency; extract obtained from artishoke leaves; solcoseryl; fetoprotective activity

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

Надійшла до редакції:
25.11.2013 р.

УДК 615.451.3:687.54]:615.9

О. О. Ващенко

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЛАКУ ДЛЯ НІГТІВ ЛІКУВАЛЬНОГО З УНДЕЦИЛЕНОВОЮ І САЛІЦИЛОВОЮ КИСЛОТАМИ

Стаття присвячена дослідженню параметрів гострої токсичності нового лікарського засобу у формі лаку для нігтів під умовною назвою «Ундесал», що містить ундециленову і саліцилову кислоти як активні фармацевтичні інгредієнти. Встановлено, що досліджуваний лікарський засіб відноситься до практично нетоксичних (V клас токсичності).

Ключові слова: лак для нігтів лікувальний; гостра токсичність; фармацевтичні інгредієнти

ВСТУП

Створення і впровадження новітніх лікарських засобів (ЛЗ) вітчизняного виробництва є актуальним і пріоритетним напрямком сучасної фармації. До таких ЛЗ можна віднести лаки для нігтів лікувальні, які за кордоном називають «транснагтьовими системами доставки препаратів» [8-10]. На кафедрі технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького розроблено протигрибковий лак під умовною назвою «Ундесал», який містить ундециленову та саліцилову кислоти як активні фармацевтичні інгредієнти і призначений для зовнішнього лікування оніхомікозів [5].

Згідно з вимогами Державного експертного центру МОЗ України необхідною умовою комплексу доклінічних досліджень при розробці нових ЛЗ є дослідження їх токсикологічних характеристик [1]. При цьому визначення гострої токсичності є важливим етапом для одержання інформації щодо безпечності / небезпечності ЛЗ для здоров'я людини в умовах короткотривалого прийому високих доз [1, 4].

Мета даної роботи – дослідити показники гострої токсичності лікувального лаку для нігтів «Ундесал».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення токсикологічних властивостей розробленого лаку для нігтів проводили на базі Центральної науково-дослідної лабораторії та лабораторії промислової токсикології Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

У доклінічних дослідженнях використовували експериментальних тварин, вирощених у віварії Львівського національного медичного університету ім. Да-

нила Галицького, який обладнано відповідно до санітарно-гігієнічних норм. Усіх дослідних тварин утримували в стандартних санітарних умовах: в добре провітрюваному приміщенні з температурою повітря 19-24°C, вологістю не більше 50-55%, з природним світловим режимом «день-ніч» у стандартних клітках на збалансованому харчовому раціоні [3]. Тварини пройшли акліматизацію до лабораторних умов протягом 7 діб до початку експерименту. Дослідження проводились з дотриманням правил гуманного поводження з тваринами відповідно до правил Європейської конвенції по захисту лабораторних тварин [7].

При виборі лабораторних тварин для проведення експериментів керувались вимогами Міжнародного комітету з лабораторних тварин, Міжнародної федерації з захисту тварин та вітчизняними інструктивними документами [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Випробування проводили двома способами: нанесенням ЛЗ на шкіру і шляхом внутрішньошлункового введення. Експеримент проводили на білих безпородних різностатевих щурах масою 200-220 г. Досліджуваний засіб застосовували одноразово, для контролю можливого впливу допоміжних речовин застосовували лакову основу.

Спостереження за тваринами проводили протягом 14 діб. Експериментальні групи включали по 6 особин кожна.

Оскільки за певних експериментальних умов будь-яка речовина, введена у досить великій кількості, здатна викликати токсичну дію, лімітуючим показником при визначенні гострої токсичності є максимальна доза четвертого класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення. При нашкірному нанесенні препарату DL_{50} , що відповідає IV кла-

Таблиця 1

**ВИЖИВАННЯ ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ З ВИВЧЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ
ЛАКУ ДЛЯ НІГТІВ «УНДЕСАЛ»**

Група тварин	Доза, мг/кг		Тварини, які загинули / загальна кількість тварин
	нанесення на шкіру	внутрішньошлункове введення	
Лакова основа	2810	5000	0/6
Лак «Ундесал»	2810	5000	0/6

Таблиця 2

**ДИНАМІКА МАСИ ТІЛА ЩУРІВ ПІСЛЯ НАШКІРНОГО НАНЕСЕННЯ ТА ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВОГО
ВВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗРАЗКІВ (n=6)**

Група тварин	Маса тварин, г			
	вихідні дані	3 доба	7 доба	14 доба
Динаміка маси тіла щурів після нашкірного нанесення досліджуваних зразків				
Інтактна група	209,9±2,6	210,6±2,7	211,3±2,6	212,7±2,2
X	210,8±2,5	210,9±2,4	211,2±2,6	211,9±2,6
У	209,7±2,5	208,3±2,7	209,2±2,8	210,5±2,6
Динаміка маси тіла щурів після внутрішньошлункового введення досліджуваних зразків				
Інтактна група	210,8±2,5	211,1±2,5	211,4±2,3	212,1±2,2
X	211,2±2,6	209,8±2,8	210,4±2,6	211,2±2,3
У	211,4±2,9	208,3±2,6	209,9±2,5	210,4±,4

Примітка: X – група тварин, яким наносили або вводили лакову основу; У – група тварин, яким наносили або вводили лак «Ундесал».

су токсичності, становить 350-2810 мг/кг маси тіла щура, при внутрішньошлунковому введенні – 500-5000 мг/кг маси тіла. Якщо при цьому не спостерігається загибелі, введення більшої дози, як правило, є недоцільним [1].

Досліджуючи гостру токсичність при нашкірному введенні, за 24 год до нанесення на шкіру досліджуваних засобів шерсть на боковій поверхні тіла тварин обережно зістригали. Лак використовували у дозі 2810 мг/кг маси тіла.

Шкірний покрив експериментальних тварин після одноразового нанесення препаратів характеризувався відсутністю змін протягом усього терміну спостереження, усі тварини були рухливі, мали нормальний апетит, адекватно реагували на зовнішні подразники.

Результати вивчення гострої токсичності ЛЗ при нанесенні на шкіру наведені в табл. 1.

При внутрішньошлунковому введенні досліджуваний засіб вводили у дозі 5000 мг/кг маси тіла у нативному стані. Об'єм розраховували за формулою:

$$V = R \cdot \rho,$$

де: V – об'єм лаку, що вводиться;

R = 0,005;

ρ – густина лаку.

Через 10 хв після введення ЛЗ спостерігалось зниження рухової активності тварин, звуження очних щілин. Проте вже за годину стан тварин поступово нормалізувався і вже за добу був нормальним. Починаючи з другої доби та до кінця спостереження,

фізіологічний стан щурів, яким наносили лакову лак-основу і лікувальний лак, не відрізнявся від інтактних тварин групи контролю. За весь період спостереження загибелі тварин не відмічено (табл. 1).

Згідно з методикою вивчення гострої токсичності для оцінки токсичного впливу потенційного ЛЗ на організм проводили дослідження динаміки маси тіла тварин досліджуваних груп [2]. Зважування проводили на 3, 7 і 14 добу. Отримані результати порівнювали з динамікою маси тіла щурів інтактною групи, які не отримували досліджуваних препаратів і відповідали тваринам дослідної групи за віком.

Аналіз зміни маси тіла протягом експерименту у тварин, які отримували лак «Ундесал» і лакову основу, і у щурів інтактною групи свідчить про відсутність впливу розробленого засобу на досліджуваний показник (табл. 2).

При розтині та макроскопічному дослідженні внутрішніх органів щурів через 14 діб після введення зразків за розміром, кольором, консистенцією, а також розташуванням внутрішніх органів тварин, які отримали лакову основу та лак «Ундесал», не виходили за межі фізіологічної норми.

ВИСНОВКИ

Результати вивчення гострої токсичності лікувального лаку «Ундесал» при нанесенні на шкіру показали, що досліджуваний засіб у дозі 2810 мг/кг маси тіла протягом періоду спостереження загибелі тварин не викликав. Введення розробленого ЛЗ у шлунок у дозі 5000 мг/кг маси тіла також не викликало загибелі тварин. Це дозволяє віднести досліджува-

ний ЛЗ до практично нетоксичних (V клас токсичності) [1].

Отримані дані будуть використані при проведенні подальших доклінічних випробувань розробленого ЛЗ «Ундесал» у формі лаку для нігтів з метою впровадження даного засобу у виробництво.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації. / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
2. Лабораторные методы исследования в клинике: [справ.] / В. В. Меньшиков, Л. Н. Делекторская, Р. П. Золотницкая и др. Под ред. В. В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 122, 179-180.
3. Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова]. – К.: ВД «Авіценна», 2002. – С. 152-159.
4. Наказ МОЗ України № 944 від 14.12.2009 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.apteka.ua/article/28268>.
5. Пат. 56787 Україна, МПК А 61 К 31/04, А 61 К 17/00. Лак для нігтів для лікування і профілактики оніхомікозів / [О. О. Ващенко, К. Ф. Ващенко, Т. Г. Калинюк, Т. В. Скорохода]. – № u201008727. – Заявл.: 13.07.2010. Опубл.: 25.01.2011. – Бюл. № 2.
6. Севко О. Л. Етичні аспекти біомедичних досліджень з використанням експериментальних тварин / О. Л. Севко // Третій нац. конгр. з біоетики за міжнар. участю (8-11 жовтня 2007 р., м. Київ). – К., 2007. – С. 139-140.
7. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Coun. of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.
8. Kumar Praveen T. Transungual drug delivery: a promising route to treat nail disorders / T. Praveen Kumar, Raju Narajana P. // Intern. J. of Pharma Res. & Review. – Vol. 2 (4). – 2013. – P. 22-33.
9. Pati Nikunja Basini, Dey Biplab Kr., Das Sudip, Sahoo Subhas. Nail drug delivery system: a review // J. of Advanced Pharmacy Education & Res. – 2012. – Vol. 2 (3). – P. 101-109.
10. Vivek B. Rajendra Transungual drug delivery: an overview / [Rajendra Vivek B., Baro Anjana, Kumari Abha et al.] // J. of Applied Pharmac. Sci. – 2012. – Vol. 2 (1). – P. 203-209.

УДК 615.451.3:687.54]:615.9

О. А. Ващенко

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛАКА ДЛЯ НОГТЕЙ ЛЕЧЕБНОГО С УНДЕЦИЛЕНОВОЙ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТАМИ

Статья посвящена исследованию параметров острой токсичности нового лекарственного средства в форме лака для ногтей под условным названием «Ундесал», содержащего в качестве активных фармацевтических ингредиентов ундециленовую и салициловую кислоты. Установлено, что исследуемое лекарственное средство относится к практически нетоксическим (V класс токсичности) веществам.

Ключевые слова: лак для ногтей лечебный; острая токсичность; фармацевтические ингредиенты

UDC 615.451.3:687.54]:615.9

O. O. Vashchenko

INVESTIGATION OF ACUTE TOXICITY OF MEDICATED NAIL LACQUER WITH UNDECYLENIC AND SALICYLIC ACIDS

This article is devoted to investigation of acute toxicity of a new drug product in the form of nail lacquer under the conditional name «Undesal» which contains undecylenic and salicylic acids as active pharmaceutical ingredients. It was established that drug product studied is practically non-toxic (V class of toxicity).

Key words: medicated nail lacquer; acute toxicity; pharmaceutical ingredients

Адреса для листування:
79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.
ЛНМУ ім. Данила Галицького,
кафедра технології ліків і біофармації.
Тел. (022) 76-85-98. Тел. моб. 0973768768.
E-mail: o_vashchenko@ukr.net.

Надійшла до редакції:
21.11.2013 р.

Мікробіологія

Рецензенти рубрики:

Сербін А. Г.,
д. фарм. н., професор



УДК 615.362.357:615.324:615.33

О. О. СТРЕМОУХОВ

Національний фармацевтичний університет

МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ КОМПЛЕКСІВ РІЗНИХ ВИДІВ ЖОВЧІ

*Представлені результати вивчення мікробіологічної активності фракцій жовчі тварин. Виявлена виражена антимікробна активність ліпофільного комплексу жовчі по відношенню до *Candida albicans*. Наявність та спектр антимікробної активності водного залишку методом «тест-об'єктів» показали як бактеріостатичний, так і бактеріоцидний ефекти при терміні експозиції 20 хв.*

Ключові слова: жовч тварин; ліпофільний комплекс; глікопротеїди; антимікробна активність; мікробіологічний скринінг

ВСТУП

На сучасному етапі втручання людей у навколишнє середовище стало носити особливо інтенсивний і, як правило, негативний характер. Масоване забруднення навколишнього середовища під дією техногенного пресингу призвело до дуже серйозних змін природних біоценозів на всіх рівнях, в тому числі мікробіоценозів як людини, так і тварин.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Як джерела сировини для мікробіологічного скринінгу використовували комплекси, отримані з жовчі великої рогатої худоби (ЖВт), свиней (ЖСс) і курей (ЖГг). Як препарат порівняння використовували жовч медичну консервовану [1-3]. Для дослідження використовували 5 тест-культур мікроорганізмів: референс-штами бактерій – *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* CCM 885-653.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Дослідження антимікробної активності ліпофільного комплексу (ЛК) жовчі проводили по відношенню до ряду культур мікроорганізмів, для чого наважку ЛК жовчі розчиняли у ДМСО до створення концентрацій 1 % і 0,1 %.

Використовували методи серійних розведень у щільному поживному середовищі, метод «тест-об'єктів» та метод «колодязів» або «лунок».

Метод серійних розведень у щільному поживному середовищі дає можливість визначити мінімальну концентрацію розчину (МПК), пригнічуючи ріст певного штаму збудника, який полягає в приготу-

ванні ряду послідовних розведень ЛК (1 % і 0,1 %) у поживному середовищі з внесенням в усі розведення досліджуваної культури. Пригнічення зростання мікробів певною концентрацією ЛК у поживному середовищі показує ступінь чутливості мікроорганізму. На чашці Петрі зі щільним поживним середовищем визначається чутливість великої кількості штамів.

Перед постановкою досліду м'ясопептонний агар розплавляли на водяній бані і охолоджували до 50-60°C.

Для постановки досліду в чашках Петрі брали 1 об'єм, що містить певне розведення субстанції ЛК і 9 об'ємів розплавленого і охолодженого м'ясопептонного агару, ретельно перемішували у пробірках і виливали у чашку Петрі. У контрольну пробірку з м'ясопептонним агаром замість розчину препарату вносять 1 об'єм стерильної очищеної води. Приготовлені таким чином чашки Петрі, кожна з яких містить певну концентрацію препарату, ділили на сектори, на кожен з яких засівали випробуваний штам. Посів робили бактеріальною петлею. Посіви бактерій інкубували в термостаті при 37°C протягом 18-24 годин, дріжджоподібного гриба *Candida albicans* – протягом 24-48 годин, після чого розраховували результати.

Показником рівня антимікробної активності досліджуваних субстанцій ЛК слугувала МПК. За МПК препарату для даного штаму приймають ту, при якій відсутні ознаки росту мікробної культури на поверхні поживного агару. Результати дослідження антимікробної активності представлені в табл. 1.

Як видно з даних табл. 1, ЛК виявляє широкий спектр антимікробної активності по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*. Особливий науковий інтерес викликає виражена дія ЛК жовчі по відношенню до *Candida albicans*.

© Стремоухов В. В., 2013

Таблиця 1

МПК ДОСЛІДЖУВАНИХ ЛК РІЗНИХ ВИДІВ ЖОВЧІ (%)

Препарат	Тест-культури мікроорганізмів				
	S.aureus	E.coli	P.aeruginosa	B.subtilis	C.albicans
ЛК ЖВt	0,1	1	0,1	0,1	0,1
ЛК ЖSs	1	1	0,1	0,1	0,1
ЛК ЖGg	1	1	0,1	0,1	0,1

Антимікробну активність ЛК визначали методом «колодязів». Для цього методу використовували ЛК у нативному стані без розведень. Як препарат порівняння використовували препарат «Жовч медична консервована» (ЖМК).

Метод «колодязів» заснований на дифузії досліджуваних препаратів в агаризоване поживне середовище. Чашки Петрі встановлювали на горизонтальну поверхню, наливали 10 мл незараженого, так званого «голодного» агару. Після застигання шару на нього поміщали стерильні циліндри з нержавіючої сталі (висота 10 мм, внутрішній діаметр 6 мм) і заливали їх «зараженим» агаром об'ємом 15 мл. Для цього розтоплений і охолоджений агар додали до агарових змивів добової культури. Густину суспензії визначали за стандартом каламутності № 5 з наступним розведенням до 500 тис. мікробних тіл у 1 мл.

Після застигання другого шару агару циліндри виймали, до лунок, що утворилися, вносили досліджувані субстанції ЛК по $0,3 \pm 0,05$ мл. В одній чашці Петрі випробовували активність 3 експериментальних зразків і контролю. Антимікробну активність кожного зразка вивчали у трикратному повторенні дослідів. Посіви тест-культур бактерій витримували у термостаті при 37°C протягом 18-24 годин, *Candida albicans* – протягом 24-48 годин. Після чого розраховували результати.

Вимірювали зони затримки росту тест-мікроба, виразно проявлених навколо лунок. Якщо випробувана мікробна флора чутлива до однієї з субстанцій ЛК, навколо відповідного диска утворювалася зона затримки росту, яка корелювала з активністю ЛК. Діаметри зон затримки росту мікробів навколо дисків вимірювали, долучаючи діаметр самих дисків, за допомогою лінійки з точністю до 1 мм. Поодинокі колонії або тонка плівка зростання всередині зони затримки росту не враховуються. Відсутність зони затримки росту мікроба навколо диска свідчить про

те, що випробуваний штам нечутливий до даного комплексу. Результати середньостатистичного дослідження представлені в табл. 2.

При зоні затримки росту мікроба діаметром до 10 мм результат розцінювався як відсутність антимікробної активності. Зона затримки росту мікроба більше 10 мм вказувала на наявність антимікробної активності. Чим більше зона затримки росту, тим вища чутливість мікроорганізмів до досліджуваної субстанції. Високочутливими до даної субстанції (препарату) вважають мікроорганізми, які при його дії дають зони затримки росту, що перевищують 25 мм, чутливими – 15-25 мм, малочутливими – 11-15 мм.

Отримані результати показали помірну антимікробну активність досліджуваних ЛК і препарату порівняння (ЖМК). Нижчий за теоретично очікуваний рівень антимікробної активності ЛК жовчі може бути пояснений їх слабкою здатністю дифузії в агар у зв'язку з їх густиною, в'язкою консистенцією та значним вмістом жирних кислот: 1,5 % – в ЛК жовчі ВРХ, 1,25 % – в ЛК жовчі свиней, 1,70 % – в ЛК жовчі курей.

При аналізі результатів треба враховувати, що до препарату порівняння (жовч медична консервована) додані антисептики: формалін у концентрації 0,01 %, фурацилін у спирті – 0,99 % та 9,9 % спирту, що у загальному процентному відношенні становить 12 %.

Отримані нами експериментальні зразки являють собою композицію із суми жовчних кислот, окремих жирних кислот і мікроелементів. Таким чином, виявлена у них антимікробна активність обумовлена тільки їхнім складом без додавання антисептиків та консервантів.

Для дослідження антимікробної активності глікопротеїнового комплексу (ГПК) та водного залишку (ВЗ) жовчі у концентраціях 1 % і 0,1 % також використовували метод серійних розведень у щільному поживному середовищі. Кінцеве розведення ВЗ з ЖВt

Таблиця 2

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ЛК МЕТОДОМ «ЛУНОК»

Препарат	Діаметр зон затримки росту тест-культур мікроорганізмів, мм				
	S.aureus	E.coli	P.aeruginosa	B.subtilis	C.albicans
ЛК ЖВt	$15,2 \pm 0,55$	0	0	$14,2 \pm 0,55$	0
ЛК ЖSs	$13,2 \pm 0,55$	0	0	$13,8 \pm 0,55$	0
ЛК ЖGg	$15,8 \pm 0,68$	0	0	$14,3 \pm 0,68$	0
ЖМК	$13,6 \pm 0,68$	$12,6 \pm 0,68$	0	$13,8 \pm 0,55$	0

Таблиця 3

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ГПК І ВЗ ЖОВЧІ РІЗНИХ ВИДІВ

Препарат	Концентрація, %	Тест-культури мікроорганізмів				
		S.aureus	E.coli	P.aeruginosa	B.subtilis	C.albicans
ГПК ЖВt	1	+	+	+	+	+
	0,1	+	+	+	+	+
ГПК ЖSs	1	+	+	+	+	+
	0,1	+	+	+	+	+
ГПК ЖGg	1	+	+	+	+	+
	0,1	+	+	+	+	+
ВЗ ЖВt	1:20	–	+	+	+	–

Примітка. + зростання тест-культури мікроорганізму; – відсутність росту тест-культури мікроорганізму.

у співвідношенні до розчинника складало 1:20. Результати дослідження антимікробної активності ВЗ представлені в табл. 3.

Результати досліджень показали відсутність антимікробної активності у ГПК жовчі у досліджених концентраціях. Отримані дані можуть бути пояснені присутністю значного вмісту водорозчинного крохмалю (до 80 %), що використовується при отриманні даної серії фракцій.

Для ВЗ ЖВt виявлено антибактеріальну активність відносно *Staphylococcus aureus* і *Candida albicans* у розведенні препарату 1:20. Антимікробний ефект цієї субстанції щодо інших використаних тест-культур можливо нівельований її великим розведенням, що обумовлено методичними особливостями застосованого методу. Для визначення антимікробної активності ВЗ ЖВt нами було використано метод «тест-об'єктів», який застосовують для визначення антимікробної дії дезінфектантів і антисептиків зовнішнього застосування.

Для цього методу приготування бактеріальних тестів здійснювали у такий спосіб: випрана біла бавовняна тканина оброблялась спиртом протягом 30 хв. Тканину, незаражену таким чином, прополіскували, сушили, прасували, розрізали на правильні прямокутники по 10×5 мм, укладали по 20-30 шт. у чашки Петрі та стерилізували. Тести заражали 500-мільйонною мікробною суспензією, для чого використовували змиви однодобових агарових референс-штамів 5 тест-культур бактерій. Стерильні шматочки тканини занурювали у мікробну суспензію на 20-25 хв, після чого витягували стерильним пінцетом, просушували між листами стерильного фільтрованого паперу, витримували 15-20 хв у термостаті при температурі 36-37°C. Тести поміщали у пробірки, в які попередньо було внесено по 5 мл досліджуваних субстанцій, і витримували від 20 хв до 1 год, висіваючи через кожні 20 хв. Виймаючи тест-об'єкти у відповідний термін (через 20, 40 і 60 хв), їх двічі промивали у стерильній воді, занурюючи у пробірку з поживним бульйоном і ставили на 6-8 днів. Помутнілий бульйон висівали на поживний агар для ідентифікації культури. Для кожної експозиції використовували по 3 тести. Як конт-

Таблиця 4

АНТИМІКРОБНИЙ ЕФЕКТ ВЗ ЖВt

Тест-культури мікроорганізмів	Контроль культур	Час експозиції тест-об'єкта у фракції, хв		
		20	40	60
S.aureus	+	+	–	–
E.coli	+	+	–	–
P.aeruginosa	+	–	–	–
B.subtilis	+	+	–	–
C.albicans	+	+	–	–

Примітка. – мікробостатичний ефект фракції; + зростання тест-культури мікроорганізму.

роль життєздатності тест-культур використовували «заражені» батистові тести, не оброблені досліджуваним ВЗ. Наявність та спектр антимікробної активності ВЗ ЖВt методом «тест-об'єктів» показали як бактеріостатичний, так і бактеріоцидний ефекти. Отримані дані представлені у табл. 4.

На різних термінах експозиції заражених батистових тестів ВЗ ЖВt показали затримку росту тест-культур мікроорганізмів, тобто мікробостатичний ефект. При цьому затримка росту *Pseudomonas aeruginosa* зафіксована на всіх часових термінах, починаючи з 20-хвилинної експозиції. При подальшому висіві вмісту пробірок з ВЗ і тест-об'єктами спостерігався ріст мікроорганізмів, що свідчило про відсутність передбачуваного мікробоцидного ефекту. Проте на 40 хв експозиції спостерігався виражений мікробоцидний ефект по відношенню до п'яти штамів мікроорганізмів.

Антимікробну активність ВЗ ЖВt підтверджували також методом «лунок». Для цього методу використовували ВЗ у нативному стані без розведень. Використовували референс-штами 5 тест-культур мікроорганізмів.

Як препарат-референт використовували препарат «Жовч медична консервована». Умови дослідження були аналогічними дослідженню ЛК ЖВt, свиней та курей. В результаті було виявлено різний ступінь активності по відношенню до штамів мікроорганізмів (табл. 5).

АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ВЗ ЖВТ МЕТОДОМ «ЛУНОК»

Препарат	Діаметр зон затримки росту тест-культур мікроорганізмів, мм				
	S.aureus	E.coli	P.aeruginosa	B.subtilis	C.albicans
ВЗ ЖВт	16,6±0,68	14,6±0,68	0	16,6±0,68	13,8±0,55
ЖМК	13,6±0,68	12,6±0,68	0	13,8±0,55	0

Як видно з табл. 5, середній ступінь чутливості лежить в межах від 15 до 17 мм по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Bacillus subtilis*. ВЗ ЖВт проявляла менший ступінь активності – від 13 до 16 мм по відношенню до *Escherichia coli* та *Candida albicans*.

Потрібно відмітити, що препарат-референт «Жовч медична консервована» має у своєму складі консерванти, які збільшують її активність по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Bacillus subtilis*.

ВИСНОВКИ

Таким чином, для отриманих ЛК, ГПК та ВЗ різних видів жовчі виявлені антимікробні властивості, що створює перспективу для розробки комплексних препаратів широкого спектра фармакологічної дії з антимікробними властивостями на їх основі.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Barsuk D. A. Poluchenie i mikrobiologicheskaja aktivnost' proizvodnyh zhelchnyh kislot / D. A. Barsuk, A. A. Stremoukhov // Aktual'ni pitannja stvorennya novih likars'kih zasobiv: [tez. dop. vseukr. nauk.-prakt. konf. stud. ta mol. vchenih, 23-24 kvit. 2009 r., m. Har'kiv]. – X.: Вид-во НФаУ, 2009. – С. 27.
2. Klimnjuk S. I. Kombinirovannoe dejstvie antibiotikov-aminoglikozidov i zhelchnyh kislot na stafylokokki : avtoref. dis. kand. med. nauk. – Minsk, 1980. – 24 c.
3. Silverman J. Bile acids; co-mutagenic activity in the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test: brief communication / J. Silverman, A. W. Andrews // J. Natl. Cancer Inst. – 1977. – Vol. 59. – P. 1557-1559.

УДК 615.362.357:615.324:615.33

А. А. Стремоухов

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ КОМПЛЕКСОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖЕЛЧИ

В статье представлены результаты изучения микробиологической активности фракций желчи животных. Выявлена выраженная антимикробная активность липофильного комплекса желчи по отношению к *Candida albicans*. Наличие и спектр антимикробной активности водного остатка методом «тест-объектов» показали как бактериостатический, так и бактерицидный эффекты при сроке экспозиции 20 мин.

Ключевые слова: желчь животных; липофильный комплекс; гликопротеиды; антимикробная активность; микробиологический скрининг

UDC 615.362.357:615.324:615.33

A. A. Stremoukhov

MICROBIOLOGICAL SCREENING COMPLEXES OF DIFFERENT TYPES OF GALL

This article presents the results of the study of microbial activity fractions bile animals. A substantial antimicrobial activity of the lipophilic complex bile towards *Candida albicans* has been founded. Availability and range of antimicrobial activity of the aqueous residue by means of the method «test-objects» showed bacteriostatic and bactericidal term effects of exposure during 20 minutes.

Key words: animal bile; lipophilic complex glycoproteins; antimicrobial activity; microbiological screening

Адреса для листування:
61146, м. Харків, вул. Блюхера, 4.
Національний фармацевтичний університет.
Тел. 8(0572) 679208. Моб. 0504011347.
E-mail: astrapharm@ukr.net.

Надійшла до редакції:
25.11.2013 р.

Фармацевтична хімія та фармакогнозія

Рецензенти рубрики:

Бондар В. С.,
д. фарм. н., професор

Ісаєв С. Г.,
д. фарм. н., професор

Блажеевський М. Є.,
д. хім. н., професор



УДК 615.25:54.062

Н. Ю. БОНДАРЕНКО

Національний фармацевтичний університет

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ КІНЕТИКО-ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНИМ МЕТОДОМ

З'ясовані умови та розроблена методика кількісного визначення вмісту основної речовини ніфедипіну у модельних розчинах субстанції і таблетках «Фенігідін-Здоров'я» та «Ніфедипін» кінетико-хемілюмінесцентним методом у системі $H_2L - H - H_2O_2$. При визначенні ніфедипіну $RSD \leq 9\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), нижня межа визначуваних концентрацій $c_n = 2$ нг/мл.

Ключові слова: кількісне визначення; люмінал; ніфедипін; кінетико-хемілюмінесцентний метод

ВСТУП

Ніфедипін (**H**) (диметилловий естер (2,6-диметил-4-(2'-нітрофеніл)-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти) є основним представником антагоністів іонів кальцію, похідних 1,4-дигідропіридину і широко використовується як серцево-судинний засіб. **H** знижує артеріальний тиск, покращує коронарний потік крові, виявляє антиангінальну, гіполіпідемічну та антисклеротичну дію. Його випускають у вигляді порошку, розчину для ін'єкцій, капсул, таблеток-ретард, крапель та інших лікарських форм [5].

У науковій літературі описані методики кількісного визначення **H** методом церійметричного титрування у неводному середовищі [7, 10], а також методом ВЕРХ [9, 14, 17], вольтамперометрії [15, 16], полярографії [8] та УФ-спектрофотометрії [2, 6, 13]. Крім того, відома методика високочутливого кінетичного визначення **H** з використанням хемілюмінесцентної системи люмінол (H_2L) – персульфат [12]. У результаті взаємодії H_2L з персульфатом у лужному середовищі виникає слабка хемілюмінесценція, яка сенсифікується **H**. C_{min} для **H** за цією методикою становить 0,017 мкг/мл, $RSD = 0,028$.

Раніше нами була опрацьована методика кількісного визначення **H** з використанням хемілюмінесцентної системи H_2L – гідроген пероксид (H_2O_2) – гемін (**Нет**) – (**H**), в якій **H** чинить інгібуючу дію на виникнення хемілюмінесценції (**ХЛ**) [1].

У теперішній роботі для кількісного визначення **H** методом **ХЛ** у субстанції та лікарських препаратах запропонована аналітична система $H_2L - H - H_2O_2$, в якій **H** виступає активатором **ХЛ**.

Для з'ясування оптимальних умов вивчали вплив порядку змішування розчинів H_2L , натрію гідрокси-

ду, H_2O_2 , і **H** та їх концентрацій на $I_{ХЛ}$, що виникає. Виникнення **ХЛ** досліджували у дискретному режимі, вимірювання здійснювали фотоелектричним методом. За аналітичний відгук було обрано максимальне значення величини інтенсивності ($I_{ХЛ}$) **ХЛ**.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Для досліджень використовували субстанцію ніфедипіну, що відповідає вимогам ВРФ [10], та лікарські форми, які містять ніфедипін: таблетки «Фенігідін-Здоров'я» виробництва ЗТ Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна, 10 мг діючої речовини, серія 151110 і таблетки «Ніфедипін» виробництва «Astavis», Болгарія, серія 1153210.

Вихідний 0,001 М розчин люмінолу (H_2L) виготовляли з очищеного комерційного препарату кваліфікації ч.д.а. (НПФ «Синбіас», ТУ 6-09-08-973) перекристалізацією з льодової ацетатної кислоти в присутності активованого вугілля, а відтак – з насиченого розчину луку за точною наважкою у 0,01 М розчині натрію гідроксиду. У роботі використовували розчини, виготовлені за Гіллебрандтом [3].

Для створення та підтримки необхідної кислотності середовища використовували 0,1 М розчин натрію гідроксиду, величину рН розчинів контролювали за допомогою лабораторного потенціометра «Іономер І-130» зі скляним електродом ЕСЛ-43-07 у парі з аргентумхлоридним (ЕВЛ-1), заповненим насиченим розчином калію хлориду.

Розчин гідрогену пероксиду (H_2O_2) 6% концентрації готували із 50% препарату о.с.ч. (Чехія) розбавленням його двічі дистильованою водою з наступним контролем вмісту гідрогену пероксиду перманганатометрично [4].

Приготування стандартного розчину (РСЗ) ніфедипіну (**H**) $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л. У затемненому місці розчи-

© Бондаренко Н. Ю., 2013

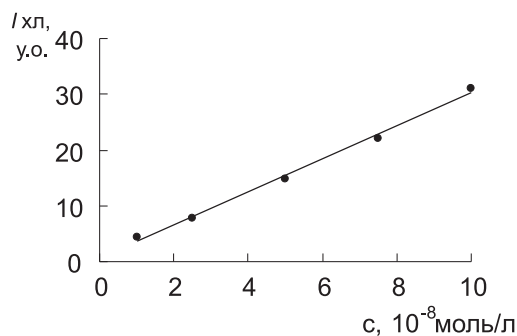


Рис. Градувальна залежність кількісного визначення **Н** за ефектом активування **ХЛ** у системі **Н₂Л – Н – Н₂О₂**

няли 0,02 г субстанції ніфедипіну (точна наважка) у мірній колбі на 50 мл у 25 мл метанолу х.ч. Об'єм розчину доводили до позначки при 293 К. Розчин придатний до застосування протягом 2 тижнів при зберіганні у темному місці. Розчини з меншою концентрацією ніфедипіну виготовляли з основного стандартного розчину відповідним розбавленням метанолом х.ч.

Інтенсивність хемілюмінесценції вимірювали в умовних одиницях (у.о.) на установці з фотоелектронним помножувачем ФЕУ-84-А, вимірювачем малих струмів (ИМТ-0,5) і швидкодіючим (постійна часу 0,1 с) потенціометром-самописцем. Реакцію, що супроводжується хемілюмінесценцією, проводили у кварцовій кюветі циліндричної форми діаметром 30 мм з робочим об'ємом 10 мл. При проведенні дослідів зберігали наступний порядок змішування реагентів: до суміші індикатора люмінолу в розчині лугу в присутності або у відсутності **Н** додавали за допомогою піпеткового дозувача П-1 0,50 мл розчину гідрогену пероксиду і безперервно реєстрували кінетичну криву інтенсивності хемілюмінесценції ($I_{хл}$) – час (хв). Дозувач влаштований у зйомний тримач, який ізолює фотокатод фотоелектронного помножувача від стороннього світла, а відтак дозволяє працювати при звичайному освітленні. Усі досліді виконували при температурі 290...293 К.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті проведених досліджень було встановлено, що оптимальним для активування **ХЛ** в системі **Н₂Л – Н – Н₂О₂** є порядок змішування, коли останнім додається розчин **Н₂О₂**. Оптимальними концентраціями реактивів є: $c(\text{NaOH}) = 0,03$ моль/л, $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0,3\%$, $c(\text{H}_2\text{L}) = 1 \cdot 10^{-4}$ моль/л.

Методика кількісного визначення Н у субстанції методом активування ХЛ. У кварцову кювету послідовно вносили: 1,00 мл 10^{-3} моль/л розчину **Н₂Л**, 1,50 мл 0,2 моль/л натрію гідроксиду, двічі дистильовану воду (10 – х, де х – сумарний об'єм усіх реактивів і проби, мл), 0,5 мл досліджуваного метанольно-го розчину **Н** (для побудови градувального графі-

ка 0-1,00 мл **Н** 10^{-6} моль/л), ретельно перемішували струшуванням, ставили кювету у світлонепроникну камеру фотометра, відкривали шторку, вмикали самописець потенціометр і вливали 0,5 мл 6% розчину **Н₂О₂** у затемнених умовах камери. Реєстрували кінетичну криву хемілюмінесценції. Кінетична крива виникнення **ХЛ** за відсутності **Н** нагадувала короткочасний спалах з подальшим згасанням **ХЛ** за експоненціальним законом впродовж декількох секунд. При додаванні активатора максимальна $I_{хл}$ підвищувалась пропорційно до вмісту доданої речовини. За аналітичний сигнал нами було обрано максимальне значення інтенсивності хемілюмінесценції ($I_{хл}$) з урахуванням фоновго світіння у холостому досліді за відсутності активатора. Градувальний графік **ХЛ** визначення **Н** представлений на рисунку.

Лінійна залежність $I_{хл}$ (у.о.) від концентрації **Н** (моль/л) зберігалась в інтервалі концентрацій $(1-10) \cdot 10^{-8}$ моль/л. Рівняння градувального графіка має вигляд $I_{хл} = 2,96 \cdot 10^8 c + 0,61$ ($r = 0,998$). Під час визначення $5,575 \cdot 10^{-5}$ моль/л **Н** у модельних розчинах субстанції методом активування $RSD = 3,9\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), $c_n = 2$ нг/мл.

Кількісне визначення **Н** у препаратах виконували методом стандарту, використовуючи лінійні ділянки згаданої вище концентраційної залежності $I_{хл}$.

Методика кількісного визначення Н у таблетках «Фенігидин-Здоров'я» по 10 мг. Біля 200 мг розтертих таблеток (точна наважка) розчиняли у мірній колбі на 50 мл у 25 мл метанолу х.ч. Об'єм розчину доводили до позначки при 293 К. Одержаний розчин розбавляли точно у 1000 разів. Аналогічно готували об'ємно-ваговим методом розчин робочого стандартного зразка **Н** з концентрацією $1,93 \cdot 10^{-5}$ г/мл на метанолі.

У кварцову кювету послідовно приливали 1,00 мл $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчину **Н₂Л**, 1,50 мл 0,2 моль/л натрію гідроксиду, двічі дистильовану воду (10 – х, де х – сумарний об'єм усіх реактивів і проби, мл) та 0,5 мл досліджуваного розчину **Н**. Одержану суміш перемішували і встановлювали кювету у світлозахисну камеру фотометра. Відкривали шторку і вливали за допомогою піпеткового дозувача 0,5 мл 6% розчину **Н₂О₂**. Аналогічного порядку додавання розчинів дотримувались при виконанні досліді з **РСЗ Н**. Вміст **Н** у препараті знаходили методом стандарту [4].

Вміст ніфедипіну, г на таблетку (**Х**), розраховували за формулою:

$$X = \frac{m_{cm} \cdot I_{хл} \cdot 50 \cdot \bar{m} \cdot \omega \cdot 1000}{50 \cdot I_{cm} \cdot m_n \cdot 100 \cdot 1000},$$

де: m_{cm} – маса ніфедипіну у розчині **РСЗ**, г;
 $I_{хл}$ – максимальне значення $I_{хл}$ у робочому досліді, у.о.;
 I_{cm} – максимальне значення $I_{хл}$ у розчині **РСЗ**, у.о.;
 50 – об'єм мірної колби, використаної для аналізу, мл;
 1000 – розбавлення;
 $\bar{m}$ – середня маса таблетки ($n = 20$), г;

Таблиця

**РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
НІФЕДИПІНУ ($n = 5, P = 0,95$)**

Лікарська форма складу	Знайдено ніфедипіну, г	Метрологічні характеристики
«Фенігидин- Здоров'я» (Україна) ніфедипіну 10,03 мг*	0,0099 0,0104 0,0102 0,0107 0,0101	$\bar{X} = 0,01026$ $S = \pm 3,05 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{X}} = \pm 1,36 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{X} = \pm 3,8 \cdot 10^{-4}$ $S_r = \pm 2,97 \%$ $\delta = + 2,24 \%$
«Ніфедипін» (Болгарія) ніфедипіну 11,01 мг*	0,0110 0,0105 0,0107 0,0111 0,0102	$\bar{X} = 0,0107$ $S = \pm 3,7 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{X}} = \pm 1,6 \cdot 10^{-4}$ $\Delta \bar{X} = \pm 4,6 \cdot 10^{-4}$ $S_r = \pm 3,4 \%$ $\delta = -2,9 \%$

Примітка. * Вміст встановлено методом УФ-спектроскопії за власним світлопоглинанням при довжині хвилі 238 [6].

m_n – маса наважки розтертих таблеток однієї серії, г;
 ω – вміст діючої речовини у субстанції, %.

Методика кількісного визначення H у таблетках «Ніфедипін» по 10 мг. Біля 400 мг розтертих таблеток (точна наважка) розчиняли у мірній колбі на 50 мл у 25 мл метанолу х.ч. Об'єм розчину доводили до позначки при 293 К. Одержаний розчин розбавляли точно у 1000 разів. Аналогічно готували об'ємно-ваговим методом розчин робочого стандартного зразка H з концентрацією $1,93 \cdot 10^{-5}$ г/мл на метанолі. Далі виконували аналіз, як при визначенні вмісту H у таблетках «Фенігидин-Здоров'я» по 10 мг, і вміст H в г на таблетку (X) розраховували за аналогічною формулою. Результати кількісного визначення H у таблетках наведені в таблиці.

Отже, нами були розроблені вибіркові методи кількісного визначення ніфедипіну в субстанції лікарської речовини і таблетках методом хемілюмінесценції за ефектом активування люмінолової реакції.

ВИСНОВКИ

- З'ясовані умови та розроблена методика кількісного визначення вмісту основної речовини H у субстанції кінетичним методом активування XL в системі $H_2L - H - H_2O_2$. При визначенні H у модельних розчинах субстанції $RSD = 3,9\%$ ($n = 5, P = 0,95$), $c_n = 2$ нг/мл.
- Розроблена методика та показана можливість кількісного визначення вмісту H у таблетках «Фенігидин-Здоров'я» та «Ніфедипін» кінетичним методом хемілюмінесценції.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

- Бондаренко Н. Ю. Кількісне визначення ніфедипіну в лікарських формах кінетичним методом інгібування хемілюмінесценції / Н. Ю. Бондарен-

ко, М. Є. Блажеевський // Вісник фармації. – 2012. – № 3. – С. 40-42.

- Бугрова Е. А. Анализ капсул нифедипина (10 мг) различных производителей / Е. А. Бугрова, А. В. Титова, А. П. Арзамасцев // Хим.-фармац. журн. – 2000. – № 4 (34). – С. 55-56.
- Гиллебранд В. Ф. Практическое руководство по неорганическому анализу / В. Ф. Гиллебранд. – М.: Госхимиздат, 1966. – 1112 с.
- Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. – 620 с.
- Компендиум 2009 – лекарственные препараты. В 2-х т. / Под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторова. – К.: МОРИОН, 2009. – 2224 с.
- Тимошик Ю. В. Спектрофотометричне визначення фенігидину в таблетках / Ю. В. Тимошик, В. В. Петренко // Фармац. журн. – 2009. – № 3. – С. 64-69.
- Туркевич М. Фармацевтична хімія / М. Туркевич, О. Владзімірська, Р. Лесик. – Вінниця: Нова книга, 2003. – 464 с.
- Шаповалов В. А. Определение фенигидаина методом дифференциальной импульсной полярографии с накоплением / В. А. Шаповалов // Журн. аналит. химии. – 2002. – № 2 (57). – С. 185-186.
- Bingyi Y. Одновременное определение четырех блокаторов кальциевых каналов с помощью двух-электродного и двухканального электрохимического детекторов и мицеллярной электрокинетической хроматографии / [Yang Bingyi, Mo Jinyuan, Lai Rong et al.] // Chin. J. Anal. Chem. – 2004. – № 10. – P. 1304-1308.
- British Pharmacopoeia. – London: The Stationary Office, 2009. – Vol. 1, 2. – 6481 p.
- Ćwiczenia z chemii leków / Pod red. M. Gorczykowej, F. Zejca. – Kraków: Collegium Medium UJ, 1996. – 200 p.
- Hemmateenejad B. A kinetic spectrophotometric method for determination of amlodipine and nifedipine in pharmaceutical preparations / B. Hemmateenejad, R. Miri, R. Kamali // J. Iran. Chem. Soc. – 2009. – № 1 (6). – P. 113-120.
- He Shuhua. Проточно-инжекционное хемілюмінесцентное определение нифедипина, основанное на реакции персульфат – люминол / [He Shuhua, Lü Yi, He Deyong et al.] // Chin. J. Anal. Chem. – 2004. – № 4 (32). – P. 474-476.
- Niopas I. Determination of nifedipine in human plasma by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography: validation and application to pharmacokinetic studies / Ioannis Niopas, Athanasios C. Daftisios // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2003. – № 6 (32). – P. 1213-1218.
- Özaltın Nuran. Determination of nifedipine in human plasma by square wave adsorptive stripping voltammetry / Nuran Özaltın, Ceren Yardimci, In-

- cilay Süslü // J. Pharm. and Biomed. Anal. – 2002. – № 3 (30). – P. 573-582.
16. Reddy Madhusudana T. Differential pulse adsorptive stripping voltammetric determination of nifedipine and nimodipine in pharmaceutical formulation, urine and serum samples by using a clay-modified carbon-paste electrode / T. Madhusudana Reddy, S. Jayarama Reddy // Anal. Lett. – 2004. – № 10 (37). – P. 2079-2098.
17. Vertzoni M. V. Sensitive and simple liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of nifedipine in canine plasma / M. V. Vertzoni, C. Reppas, H. A. Archontaki // Anal. chim. acta. – 2006. – № 573. – P. 298-304.

УДК 615.25:54.062

Н. Ю. Бондаренко

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИФЕДИПИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ КИНЕТИКО-ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ

Подобраны условия и разработана методика количественного определения содержания основного вещества нифедипина в модельных растворах субстанции, таблетках «Фенигидин-Здоровье» и «Нифедипин» кинетическим методом активирования хемилюминесценции в системе $H_2L - H - H_2O_2$. При определении нифедипина $RSD \leq 3,9\%$ ($n = 5$, $P = 0,95$), нижняя граница определяемых концентраций $c_n = 2$ нг/мл.

Ключевые слова: количественное определение; люминол; нифедипин; кинетико-хемилюминесцентный метод

UDC 615.25:54.062

N. Yu. Bondarenko

NIFEDIPINE QUANTITATIVE DETERMINATION IN MEDICINAL FORMS USING KINETIC METHOD OF CHEMILUMINESCENCE ACTIVATION

The procedure of Nifedipine chemiluminescence determination in model solutions of pure substance, «Phenihydrin-Zdorovye» and «Nifedipine» tablets based on activation of luminol chemiluminescence oxidation by hydrogen peroxide reaction was developed. For Nifedipine assay $RSD \leq 3.9\%$ ($n = 5$, $P = 0.95$), the limit of concentrations studied (LOQ) is 2 ng mL⁻¹.

Key words: determination; luminol; Nifedipine; kinetic-chemiluminescence method

Адреса для листування:

61204, м. Харків, пр. Перемоги, 66 В, кв. 272.

Тел. (066) 188-53-08.

E-mail: tropikana2003@ukr.net

Надійшла до редакції:

26.11.2013 р.

УДК 615.453.6:615.225.2:54.062:543.42.062

І. Л. КОМАРИЦЬКИЙ, Н. Ю. БЕВЗ, В. А. ГЕОРГІЯНЦ

Національний фармацевтичний університет

ВЕРИФІКАЦІЯ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ТАБЛЕТКАХ

В статті наведені результати верифікації методики кількісного визначення ніфедипіну в таблетках. Вивчені валідаційні характеристики спектрофотометричної методики кількісного визначення за методом стандарту: правильність, збіжність, точність, прецизійність, лінійність та робастність. Валідаційні характеристики методики не перевищують критичного значення похибки (2,4%) і характеризуються якісними аналітичними показниками. Така методика може бути коректно відтворена в умовах лабораторій.

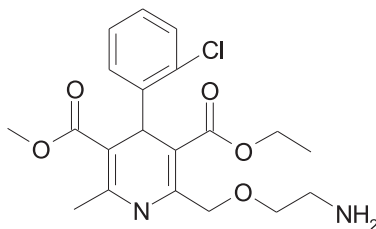
Ключові слова: верифікація; ніфедипін; спектрофотометрія

ВСТУП

Всі методики і дослідження, включені до провідних фармакопей світу, таких як Європейська Фармакопея, Британська Фармакопея, Фармакопея США і Фармакопея Японії, є валідованими і потребують тільки проведення верифікації для включення до Державної фармакопеї України. Верифікація повинна підтвердити на основі експериментальних даних, що дану методику легко відтворити в умовах аналітичних лабораторій українських підприємств та інспекцій з контролю якості лікарських засобів.

Ніфедипін – селективний блокатор кальцієвих каналів L-типу. Пригнічує трансмембранне надходження іонів кальцію в клітини гладких м'язів кардіоміоцитів і артеріальних судин, запобігаючи виснаженню їх енергетичних ресурсів. Застосовується для лікування артеріальної гіпертензії, гіпертонічного кризу в якості профілактичного засобу при стенокардії та легеневої гіпертензії [1].

За хімічною будовою ніфедипін – диметилловий ефір (2,6-диметил-4-(2-нітрофеніл)-1,4-дигідропіридин-3,5-дикарбонової кислоти).



Кількісне визначення ніфедипіну в субстанції Державна фармакопея України і Британська фармакопея рекомендують визначати методом цериметрії, прямим титруванням [5, 7].

У лікарських формах кількісне визначення ніфедипіну проводять методом високоефективної рідин-

ної хроматографії (ВЕРХ) [13] та методом УФ-спектрофотометрії, розраховуючи вміст діючої речовини методом стандарту [6] та методом питомого показника поглинання [9]. Є дані про кількісне визначення ніфедипіну методами екстракційної спектрофотометрії [10], термографії [12], спектрофлуориметрії [11].

Виходячи з цього, ми вирішили використовувати в якості розчинника 95 % розчин етилового спирту замість безводного метанолу [9] через більшу доступність етанолу та високу токсичність метанолу; спектрофотометрична методика більш доступна у виконанні, ніж ВЕРХ [13] за рахунок більшої кількості спектрофотометрів у порівнянні із хроматографіями; використання методу стандарту дає змогу нівелювати похибку вимірювання і пробопідготовки у порівнянні з методом питомого показника поглинання [9]. Тому ми поставили собі за мету провести верифікацію простої у виконанні та високочутливої методики кількісного визначення ніфедипіну в таблетках, проаналізувати валідаційні характеристики спектрофотометричної методики методом стандарту в умовах контрольно-аналітичної лабораторії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

При проведенні досліджень використовували субстанцію ніфедипіну, що відповідає вимогам ДФУ.

Аналізу підлягали таблетки трьох різних українських виробників.

Аналітичне обладнання: спектрофотометр Evolution 60S; ваги AXIS ANG200. Для роботи використовували реактиви, мірний посуд класу А (першого класу), реактиви та розчинники, які відповідають вимогам ДФУ.

Вимірювання проводили з використанням кювети завдовжки 1 см при температурі (20±1)°C за однакових умов з мінімальним інтервалом у часі. Через надмірну чутливість ніфедипіну до світла аналіз проводили в затемненому приміщенні.

© Комарицький І. Л., Бевз Н. Ю., Георгіянц В. А., 2013

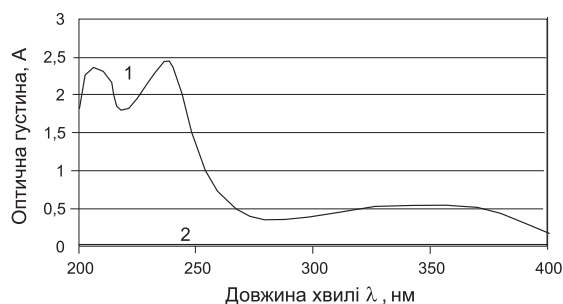


Рис. 1. Ультрафіолетовий спектр поглинання СЗ ніфедипіну (1) та плацебо (2).

Валідація методики здійснювалась відповідно до вимог ДФУ [2-4].

Методика кількісного визначення

Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій області (2.2.25, метод стандарту).

Випробовуваний розчин. До точної наважки порошку таблеток, еквівалентної 50 мг ніфедипіну, додають 30 мл 95 % розчину спирту етилового, струшують протягом 30 хв, доводять об'єм розчину 95% розчином спирту етилового до 50,0 мл і фільтрують. 2 мл одержаного розчину доводять 95% розчином спирту етилового до об'єму 50,0 мл.

Розчин порівняння. 50,0 мг СЗ ніфедипіну розчиняють у 95% розчині спирту етилового і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл; 2,0 мл одержаного розчину доводять 95 % розчином спирту етилового до об'єму 50,0 мл.

Компенсаційний розчин. 95 % розчин спирту етилового.

Оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють за довжини хвилі 336 нм відносно компенсаційного розчину.

Розраховують вміст **ніфедипіну** в одній таблетці у міліграмах у перерахунку на середню масу таблетки, виходячи із заявленого вмісту **ніфедипіну** у СЗ ніфедипіну.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для опрацювання методу нами було одержано та проаналізовано спектр поглинання стандартного зразка (СЗ) ніфедипіну на ділянці від 200 до 400 нм, характер залежності оптичної густини від довжини хвилі для розчину стандартного зразка ніфедипіну та витяжок з таблеткових мас, а також спектр плацебо (рис. 1). В якості розчинника використовували 95 % розчин етилового спирту. Одержаний спектр поглинання має максимуми при довжинах хвилі 237 нм та 336 нм. Пік при довжині хвилі 336 нм є більш специфічним для ніфедипіну, тому він був обраний нами для проведення методики кількісного визначення. Спектри витяжок з таблеткових мас та спектр СЗ ніфедипіну подібні, тому можна знехтувати впливом допоміжних речовин на результати аналізу.

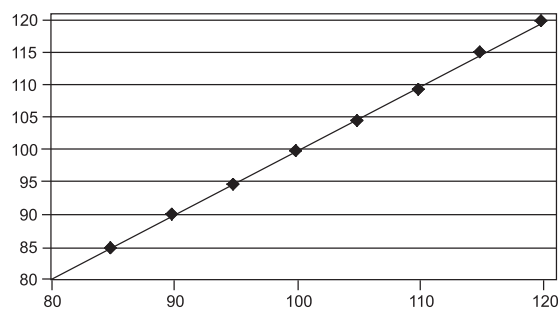


Рис. 2. Графік залежності оптичної густини від концентрації ніфедипіну в нормалізованих координатах.

Внесок плацебо у сумарну величину фонового поглинання є незначущим і ним можна знехтувати, коли виконується відношення $\delta_{\text{exc}} \leq 0,75 \%$:

$$\frac{A_{\text{blank}}}{A_{\text{st}}} \cdot 100 = \frac{0,003}{0,563} \cdot 100 \% = 0,533 \% \leq 0,75 \%$$

Розраховані критерії прийнятності становлять: максимально допустима повна невизначеність методики, яка становить $\Delta A_s = 2,4 \%$, максимальна систематична похибка $\text{тах } \delta = 0,77 \%$, критичне значення $RSD_0 \% = 1,27$, критичне значення коефіцієнта кореляції – $R_c = 0,99571$, критичне значення практичної невизначеності вільного члена лінійної залежності – $a = 3,84$.

Оцінку **лінійності** проводили по всьому діапазону застосування методики за методом стандарту. Вивчення характеру залежності оптичної густини від концентрації проводили з використанням 9 модельних розчинів для аналізу з точними наважками концентрацій: 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 і 120 %.

Одержані результати були статистично оброблені методом найменших квадратів згідно з вимогами ДФУ. Побудову калібрувального графіка проводили в нормалізованих координатах (рис. 2). Для кожного з дев'яти розчинів зразка розраховували середні

Таблиця 1

ПАРАМЕТРИ ЛІНІЙНОСТІ

Розчини	1	2	3	4	5
$(C_i/C_{sp}), \%$	79,84	84,83	89,82	94,81	99,80
$(A_i/A_{sp}), \%$	80,18	84,96	90,06	94,69	99,82
Розчини	6	7	8	9	
$(C_i/C_{sp}), \%$	104,79	109,78	114,77	119,76	
$(A_i/A_{sp}), \%$	104,60	109,38	115,04	120,00	

$$Y_i = 0,9954 \times X_i + 0,5256$$

Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b	0,9954
s_b	0,006773
Вільний член лінійної залежності a	0,5256
s_a	0,6816
Остаточне стандартне відхилення s_r	0,2618
s_r/b	0,2618
Коефіцієнт кореляції методики r	0,9998

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ АНАЛІЗУ МОДЕЛЬНИХ РОЗЧИНІВ ТА ЇХ СТАТИСТИЧНА ОБРОБКА

Розчини	Концентрації компонентів		
	введено у % до концентрації розчину порівняння $X_i = (C_i/C_{sd}) \times 100\%$	знайдено у % до концентрації розчину порівняння $Y_i = (A_i/A_{sd}) \times 100\%$	знайдено у % до введенного $Z_i = (A_i/A_{sd}) \times 100 / (C_i/C_{sd})$
1 розчин	79,84	80,18	100,43
2 розчин	84,83	84,96	100,15
3 розчин	89,82	90,06	100,30
4 розчин	94,81	94,69	99,87
5 розчин	99,80	99,82	100,02
6 розчин	104,79	104,60	99,82
7 розчин	109,78	109,38	99,64
8 розчин	114,77	115,04	100,24
9 розчин	119,76	120,00	100,20
Середнє, $\bar{X}$ %			100,07
Відносне стандартне відхилення, s_x %			0,2561
Відносний довірчий інтервал Δ % = $t(95\%, 8) \times s_x = 1,860 \times s_x =$			0,4762
Критичне значення для збіжності результатів Δ % $\leq$			2,4
Систематична похибка $\delta = \bar{X} - 100 $			0,07
Критерій незначущості систематичної похибки 1) $\Delta \leq \Delta/3 = 0,4762/3 = 0,1587$, якщо не виконується 1), то $\delta \leq 0,4762$			Виконується Виконується
Загальний висновок по методиці:			коректна

значення оптичної густини (A_i). Одержані результати обробляли методом найменших квадратів для прямої $Y = b \times x + a$ (рис. 2). Розраховані статистичні величини b , S_b , a , S_a , S_r (остаточне стандартне відхилення) та r (коефіцієнт кореляції) наведені в табл. 1.

Вимоги до параметрів лінійної залежності в нашому випадку виконуються на всьому діапазоні застосування методики (80-120 %).

Для проведення вимірювання та розрахунку метрологічної оцінки збіжності і правильності мето-

дики було одержано три значення оптичних густин для розчину порівняння та 27 значень оптичних густин для модельних розчинів. Розраховували фактичні величини ($X_{i, \text{факт}}$), відношення середніх значень оптичних густин для кожного з 27 розчинів до середнього значення оптичної густини розчину порівняння, одержуючи величини $X_i = (C_i/C_{sd}) \times 100$ %, $Y_i = (A_i/A_{sd}) \times 100$ %, а також величину $Z_i = (Y_i/X_i) \times 100$ %, яка є знайденою концентрацією у відсотках до введені. Результати розрахунків наведені в табл. 2.

Таблиця 3

СТАБІЛЬНІСТЬ ДОСЛІДЖУВАНОГО РОЗЧИНУ ТА РОЗЧИНУ ПОРІВНЯННЯ

Розчин*	Термін дослідження стабільності nt, хв					Середнє	RSD, %	Δ , %	max δ , %
	0	15	30	45	60				
Випробуваний	0,565	0,566	0,568	0,569	0,570	0,5676	0,3653	0,5756	0,77
Порівняння	0,566	0,566	0,567	0,568	0,568	0,567	0,1764	0,2776	

* Значення оптичної густини є середнім значенням трьох вимірювань розчину.

Таблиця 4

РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ТАБЛЕТКАХ

Зразок	Виробник	A_i	A середнє	X_p , мг	X_p , %	Висновок
1	Виробник № 1	0,562 0,562 0,564	0,5627	9,99	99,95	Відповідає
2	Виробник № 2	0,561 0,561 0,561	0,561	9,96	99,64	Відповідає
3	Виробник № 3	0,562 0,562 0,562	0,562	9,98	99,82	Відповідає

Перевірку стабільності аналітичного розчину проводили впродовж години. Отримані результати наведені в табл. 3. Статистична оцінка впливу часу на аналізований розчин відповідає критеріям прийнятності.

Результати кількісного визначення ніфедипіну в таблетках (табл. 4) різних українських виробників відповідають вимогам нормативної документації. Це свідчить про те, що методика є коректною незалежно від допоміжних речовин і може бути відтворена на таблетках інших виробників.

ВИСНОВКИ

1. У процесі верифікації методики кількісного визначення ніфедипіну в таблетках були вивчені валідаційні характеристики спектрофотометричної методики за методом стандарту: правильність, лінійність, прецизійність, збіжність та робастність.
2. Валідаційні характеристики методики не перевищують критичного значення похибки (2,4 %) і характеризуються якісними аналітичними показниками. Дана методика може бути коректно відтворена в умовах лабораторій і не залежить від допоміжних речовин.
3. Верифікована методика має переваги перед вже існуючими, по-перше, в простоті виконання і доступності обладнання, а по-друге, в якості розчинника використовується етанол замість метанолу, по-третє, використання методу стандарту дає змогу нівелювати похибку вимірювання і пробопідготовки у порівнянні з методом питомого показника поглинання.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Березняков І. Г. Застосування антагоністів кальцію в лікуванні артеріальної гіпертензії / І. Г. Березняков, В. В. Страшний // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 3, № 1. – С. 38-42.
2. Гризодуб А. И. // Фармаком. – 2006. – № 1/2. – С. 34-44.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: ПІРЕГ, 2001. – 556 с.

4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 1. – Х.: ПІРЕГ, 2004. – 520 с.
5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 2. – Х.: ПІРЕГ, 2008. – 620 с.
6. Международная фармакопея. Испытания, методы и общие требования. Спецификации для контроля качества фармацевтических препаратов, вспомогательных веществ и дозированных лекарственных форм. – Женева: ВОЗ, 1995. – Т. 4: – 3-е изд. – 425 с.
7. British Pharmacopoeia. – London. The Stationary Office. – 2001. – Vol. 1-2. – 3199 p.
8. European Pharmacopoeia. – 6-th ed. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. – 2008. – 2416 p.
9. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. – 8-th ed. – People's Medical Publishing House. – 2005. – Vol. 2. – 909 p.
10. Rahman N. Extractive spectrophotometric methods for the determination of nifedipine in pharmaceuticals formulations using bromocresol green, bromophenol blue, bromothymol blue and eriochrome black T / N. Rahman, N. A. Khan, S. N. H. Azmi // Farmaco. – 2004. – Vol. 59 (1). – P. 47-54.
11. Sheika M. Al-Ghannam. Spectrofluorometric determination of nicardipine, nifedipine and isradipine in pharmaceutical preparations and biological fluids / M. Al-Ghannam Sheika, M. Al-Olyan Abeer // Cent. Eur. J. Chem. – 2008. – Vol. 6 (2). – P. 222-228.
12. Stability studies on nifedipine tablets using thermogravimetry and differential scanning calorimetry / [R. O. C. Filho, P. I. B. M. Franco, E. C. Concei, M. I. G. Lelles] // J. of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2008. – Vol. 93 (2). – P. 381-385.
13. Vertzoni M. V. Sensitive and simple liquid chromatographic method with ultraviolet detection for the determination of nifedipine in canine plasma / M. V. Vertzoni, C. Reppas, H. A. Archontaki // Anal. Chim. Acta. – 2006. – Vol. 573-574. – P. 298-304.

УДК 615.453.6:615.225.2:54.062:543.42.062

И. Л. Комарицкий, Н. Ю. Бевз, В. А. Георгиянц

ВЕРИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИФЕДИПИНА В ТАБЛЕТКАХ

В статье приведены результаты верификации методики количественного определения нифедипина в таблетках. Изучены валидационные характеристики спектрофотометрической методики количественного определения методом стандарта: правильность, сходимость, точность, прецизионность, линейность и робастность. Валидационные характеристики методики не превышают критического значения погрешности (2,4%) и характеризуются качественными аналитическими показателями. Данная методика может быть корректно воспроизведена в условиях лабораторий.

Ключевые слова: верификация; нифедипин; спектрофотометрия

UDC 615.453.6:615.225.2:54.062:543.42.062

I. L. Komarytskyi, N. Yu. Bevz, V. A. Georgiyants

VERIFICATION METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF NIFEDIPINE IN TABLETS

This article presents the results of the verification methods of quantitative determination of nifedipine in tablets. Validative characteristics of spectrophotometric methods of quantitative determination by means of the standard method: accuracy, convergence, accuracy, precision, linearity and robustness have been studied. These characteristics do not exceed the critical value of error (2.4 %) and are characterized by qualitative analytical indices. This technique can be correctly reproduced in the laboratory conditions.

Key words: verification; nifedipine; spectrophotometry

Адреса для листування:
61146, м. Харків, вул. Блюхера, 4.
Національний фармацевтичний університет,
кафедра фармацевтичної хімії.
E-mail: komarino@ukr.net.

Надійшла до редакції:
22.11.2013 р.

Токсикологічна хімія

Рецензенти рубрики:

Блажеевський М. Є.,
д. хім. н., професор



УДК 615.252.349.7:340.67:54.056:543.422.6:543.544.42

В. Ю. Москаленко, С. І. Мерзлікін

Національний фармацевтичний університет

ІЗОЛЮВАННЯ МЕТФОРМІНУ З БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

Досліджено залежність ступеня екстракції метформіну з біологічних об'єктів від умов ізолювання, природи об'єкта та методу кількісного визначення препарату в одержаних екстрактах. Визначені найприйнятніші умови ізолювання метформіну та біологічні об'єкти для судово-токсикологічних досліджень на токсикант невідомої будови.

Ключові слова: метформін; ізолювання з печінки, сечі та крові; екстракція; УФ-спектроскопія; високо-ефективна рідинна хроматографія; екстракційна фотометрія

ВСТУП

Антидіабетичний засіб Метформін (Сіофор, Глюкофаж, Diformin, Diguanid та ін.) є основою сучасної фармакотерапевтичної схеми лікування цукрового діабету 2 типу [3]. Його призначають в індивідуальному вигляді та в комбінації з іншими антидіабетичними агентами, що підвищують секрецію ендogenousного інсуліну [1, 6, 8, 9-11]. Довічне застосування, побічні дії, доступність в аптечній мережі, постійно зростаюча кількість пацієнтів на діабет (близько 260 млн осіб у світі) – це фактори токсикологічної небезпеки неконтрольованого застосування метформіну, про що свідчить проведений інформаційний огляд щодо гострих отруєнь препаратом [4], а також випадок отруєння метформіном у практиці Республіканського бюро судово-медичної експертизи МОЗ Республіки Татарстан, м. Казань [2]. Проте, у доступних нам джерелах літератури відсутні дані про систематичні судово-токсикологічні дослідження на метформін, у тому числі ефективні методи його ізолювання з біологічних об'єктів.

Мета роботи – дослідження залежності ступеня екстракції метформіну з біологічних об'єктів від умов ізолювання, природи об'єкта та методу кількісного визначення препарату в одержаних екстрактах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Як об'єкти дослідження використовували робочий стандартний зразок (РСЗ) метформіну г/х (субстанція, монографія ЕР 01/2005: 0931, виробник Harman Finocem Ltd., серія № 051121), зразки печінки тваринного походження (свинячої), модельні зразки донорської сечі та крові.

Методика насичення печінки метформіном. Для дослідження *in vitro* близько 50,0 г печінки гомогенізують у гомогенізаторі при 4 °С у 5-ти кратному

об'ємі розчину для гомогенізації (250 мМ сахароза, 20 мМ трисамінометан, 1 мМ ЕДТА, рН розчину 7,4). До 10,0 г подрібненого біологічного матеріалу додають 1,0 мл водного розчину метформіну г/х (1000,0 мкг) та інкубаційну суміш для підтримки активності печінкових ферментів (120 мМ КСІ, 20 мМ трисамінометану, рН розчину 7,4). Дану суміш ретельно перемішують та залишають на добу в термостаті при температурі 37 °С. Паралельно проводять контрольний дослід. Через добу модельні суміші використовують для ізолювання метформіну в різних умовах.

Методика ізолювання метформіну підкисленою водою (модифікація методу О. О. Васильєвої). Одержану модельну суміш біологічного матеріалу вміщують у колбу місткістю 50,0 мл, додають 20,0 мл води, підкисленої насиченим водним розчином кислоти оксалатної до рН 2-3 за універсальним індикатором, та залишають суміш на 2 год при періодичному перемішуванні. Одержане водне вилучення зливають з біологічного матеріалу. Дану операцію повторюють двічі. Одержані водні вилучення об'єднують, проціджують через подвійний шар марлі та центрифугують (3-5 тис. об./хв). Надосадову рідину (центрифугат) переносять у ділильну лійку та тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями діетилового ефіру. Одержані ефірні екстракти об'єднують та у подальшому не досліджують.

Кислий водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчином NaOH до рН 9 та тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями хлороформу. Одержані хлороформні екстракти об'єднують та у подальшому не досліджують. Лужний водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчином NaOH до рН 13, 5,0 мл 25 % розчину NaCl та тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями суміші ізоаміловий спирт-бутанол (1:1). Одержані спиртові екстракти об'єднують, фільтрують через паперовий фільтр «синя стрічка».

© Москаленко В. Ю., Мерзлікін С. І., 2013

ка» та натрію сульфат безводний (5,0 г на фільтрі), упарюють до сухого залишку в потоці холодного повітря та проводять подальші дослідження за визначенням кількісного вмісту.

Методика ізолювання метформіну підкисленим етанолом (модифікація методу Стаса-Отто). Одержану модельну суміш біологічного матеріалу вміщують у колбу місткістю 50,0 мл, додають 20,0 мл етанолу, підкисленого кислотою оксалатною до pH 2-3 за універсальним індикатором і залишають суміш на 15-20 хв при частому перемішуванні. Перевіряють pH суміші універсальним індикатором та при необхідності підкислюють до pH 2-3. Колбу з вмістом встановлюють на електрострушувач на добу. Перевіряють pH середовища, з біологічного матеріалу зливають спиртове вилучення та у колбу з біологічним матеріалом заливають нову порцію етанолу, підкисленого кислотою оксалатною до pH 2-3, і залишають на добу. Дану операцію повторюють ще раз (всього тричі) з контролем pH середовища. Спиртові вилучення об'єднують, центрифугують впродовж 15 хв (3-5 тис. об./хв), центрифугати переносять у порцелянові чашки та випаровують на водяній бані при T 35-40 °C до густини сиропу. Проводять осадження білків абсолютним етанолом до повного припинення випадання осаду, додають 25,0 мл води очищеної, а одержані вилучення центрифугують (3-5 тис. об./хв) впродовж 10 хв. Центрифугати переносять у ділильну лійку і тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями діетилового ефіру. Одержані ефірні екстракти об'єднують та у подальшому не досліджують.

Кислий водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчином NaOH до pH 9 і тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями хлороформу. Одержані хлороформні екстракти об'єднують та у подальшому не досліджують. Лужний водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчином NaOH до pH 13, додають 5,0 мл 25 % розчину NaCl та тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями суміші ізоаміловий спирт-бутанол (1:1). Одержані спиртові екстракти об'єднують, фільтрують через паперовий фільтр «синя стрічка» та натрію сульфат безводний (5,0 г на фільтрі), упарюють до сухого залишку в потоці холодного повітря та проводять подальші дослідження за визначенням кількісного вмісту.

Методика ізолювання метформіну з сечі. До 10,0 мл модельного зразка донорської сечі, який містить 100,0 мкг метформіну г/х, додають 0,1 М розчин HCl до pH 2 та у ділильній лійці екстрагують тричі по 5,0 мл кожного разу новими порціями діетилового ефіру. Ефірні екстракти відокремлюють та у подальшому не досліджують.

Кислий водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчином NaOH до pH 9 та тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими

порціями хлороформу. Одержані хлороформні екстракти об'єднують та у подальшому не досліджують. Лужний водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчину NaOH до pH 13, додають 5,0 мл 25 % розчину NaCl та тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями суміші ізоаміловий спирт-бутанол (1:1). Одержані спиртові екстракти об'єднують, фільтрують через паперовий фільтр «синя стрічка» та натрію сульфат безводний (5,0 г на фільтрі), упарюють до сухого залишку в потоці холодного повітря та проводять подальші дослідження за визначенням кількісного вмісту.

Методика ізолювання метформіну з крові. До 10,0 мл модельного зразка донорської сечі, який містить 100,0 мкг метформіну г/х, додають 5 мл 10 % водного розчину кислоти трихлороацетатної до pH 2, перемішують та залишають на годину при постійному перемішуванні. Суміш центрифугують протягом 5 хв при 5000 об./хв, зливають надосадову рідину та тричі екстрагують діетиловим ефіром кожного разу новими порціями по 5 мл. Ефірні екстракти відокремлюють та в подальшому не досліджують.

Кислий водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчином NaOH до pH 9 і тричі екстрагують кожного разу новими порціями хлороформу по 5 мл (при утворенні стійких емульсій застосовують центрифугування протягом 5 хв при 5000 об./хв). Хлороформні екстракти об'єднують та у подальшому не досліджують.

Лужний водний шар, який залишився у ділильній лійці, підлужують 5 М розчином NaOH до pH 13, додають 5,0 мл 25 % розчину NaCl та тричі по 5,0 мл екстрагують кожного разу новими порціями суміші ізоаміловий спирт-бутанол (1:1). Одержані екстракти об'єднують, фільтрують через паперовий фільтр «синя стрічка» та натрію сульфат безводний (5,0 г на фільтрі), упарюють до сухого залишку в потоці холодного повітря та проводять подальші дослідження за визначенням кількісного вмісту.

Методика спектрофотометричного визначення метформіну.

Приготування випробуваного розчину. Сухий залишок метформіну, одержаний після ізолювання з біологічного об'єкту, розчиняють у 10,0 мл метанолу і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 200,0 мл (розчин 1). 2,0 мл розчину 1 переносять у мірну колбу, додають 10,0 мл метанолу і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл (розчин 2). 2,5 мл розчину 2 переносять у мірну колбу і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл (розчин 3).

Приготування розчину РСЗ метформіну г/х. 250,0 мг РСЗ метформіну г/х розчиняють у 10,0 мл метанолу і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 200,0 мл (розчин 1). 2,0 мл розчину 1 переносять у мірну колбу, додають 10,0 мл метанолу і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл

Таблиця 1

РЕЗУЛЬТАТИ ІЗОЛЮВАННЯ МЕТФОРМІНУ З ТКАНИН ПЕЧІНКИ

Ізолювання	Внесено речовини, мкг	Виділено речовини					
		УФ-спектрофотометрія		ВЕРХ		екстракційна спектрофотометрія	
		мкг	%	мкг	%	мкг	%
Підкисленою водою (модифікація методу О.О. Васильєвої)	1000,0	710	71,0	648	64,8	650	72,0
	1000,0	612	61,2	725	72,5	720	65,0
	1000,0	634	63,4	630	63,0	715	71,5
	1000,0	715	71,5	648	64,8	678	67,8
	1000,0	654	65,4	716	71,6	643	64,3
Підкисленим етанолом (модифікація методу Стаса-Отто)	1000,0	446	44,6	492	49,2	505	50,5
	1000,0	438	43,8	502	50,2	426	42,6
	1000,0	497	49,7	439	43,9	452	45,2
	1000,0	490	49,0	464	46,4	489	48,9
	1000,0	483	48,3	445	44,5	475	47,5

(розчин 2). 2,5 мл розчину 2 переносять у мірну колбу і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл (розчин 3).

Оптичну густину випробуваного розчину метформіну вимірюють за довжини хвилі 236 ± 2 нм. Як розчин порівняння використовують водний розчин РСЗ метформіну г/х (концентрація речовини 6,25 мкг), прилад спектрофотометр СФ-46 ЛОМО модифікований.

Методика проведення високоефективної рідинної хроматографії. Кількісне визначення метформіну в одержаних екстрактах з біологічних об'єктів проводять за методикою [5].

Методика екстракційно-фотометричного визначення метформіну. Сухий залишок метформіну, одержаний після ізолювання з біологічного об'єкту, розчиняють у 10,0 мл води дистильованої. У ділительну лійку вносять 5,0 мл фосфатного буферного розчину (рН 7,8), 5,0 мл 0,02 % розчину бромтимолового синього, 5,0 мл розчину метформіну, одержаного після ізолювання, та 10,0 мл метиленхлориду. Суміш струшують протягом 5 хв на механічному струшувачі та залишають на 10 хв для розділення шарів. Збирають 8,0 мл органічного шару, відкидаючи перші та останні порції (до 1 мл), додають 2,0 мл 25 % розчину тетрабутиламонію гідроксиду в метанолі, ретельно перемішують та вимірюють оптичну густину одержаного розчину на КФК-2 в кюветі завтовшки 5 мм за довжини хвилі 630 нм.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При хіміко-токсикологічному аналізі на токсикант невстановленої будови для ізолювання лікарських речовин із біологічних об'єктів застосовують загальні методи, які включають рідинно-рідинну екстракцію речовин хлороформом та діетиловим ефіром в залежності від їх фізико-хімічних властивостей та рН середовища водного вилучення [7]. Зважаючи на високі гідрофільні властивості метформіну, ми модифікували умови загальних методів ізолювання лікарських речовин (Стаса-Отто та О. О. Васильєвої).

Тобто після екстрагування токсикантів з лужного середовища при рН 9 хлороформом запропоновано водний шар додатково підлучити до рН 13, а подальшу екстракцію метформіну проводити сумішшю ізоаміловий спирт-бутанол (1:1) у присутності 25 % розчину NaCl. Для кількісного визначення метформіну в одержаних екстрактах використовували методи: спектрофотометричний, екстракційно-фотометричний та ВЕРХ.

Результати ізолювання метформіну з тканин печінки модифікованими методами наведені у табл. 1.

За результатами табл. 1 встановлено, що в умовах використання модифікованого методу О. О. Васильєвої з тканин печінки у середньому ізолюється до 67 % метформіну, тоді як при ізолюванні модифікованим методом Стаса-Отто – до 45 %. Середній показник відносного стандартного відхилення кількісного визначення застосованими методами не перевищує 7,0 %, а розбіжність результатів між методами є незначною.

Метрологічні характеристики результатів кількісного визначення метформіну в одержаних екстрактах наведені у табл. 2.

Для виділення метформіну з біологічних рідин (крові і сечі) застосовували аналогічну методику щодо ізолювання препарату з тканин печінки підкисленою водою (модифікація методу О. О. Васильєвої). Результати досліджень наведені у табл. 3.

За результатами табл. 3 встановлено, що із модельного зразка сечі виділено у середньому до 72 % метформіну, тоді як із модельного зразка крові – до 53 %. Зниження ступеня екстракції в останньому випадку обумовлено втратами метформіну при осадженні із крові білків, оскільки препарат активно з ними зв'язується.

У табл. 4 наведені результати кількісного визначення метформіну в одержаних екстрактах з біорідних різними методами.

Як видно з результатів табл. 4, середній показник відносного стандартного відхилення при ви-

Таблиця 2

МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕЗУЛЬТАТІВ ІЗОЛЮВАННЯ МЕТФОРМІНУ З ТКАНИН ПЕЧІНКИ

Метод визначення	Метрологічні характеристики					
	$\bar{X}$	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{X}$	ϵ	RSD, %
При ізолюванні підкисленою водою						
УФ-спектроскопія	655	45,86	0,03	127,51	19,2	6,9
ВЕРХ	673,4	43,73	0,03	121,58	18,0	6,5
Екстракційна фотометрія	681,2	35,67	0,02	99,17	14,56	5,2
При ізолюванні підкисленим етанолом						
УФ-спектроскопія	470,8	26,90	0,02	74,78	15,88	5,7
ВЕРХ	468,4	27,91	0,03	77,61	16,57	5,9
Екстракційна фотометрія	469,4	31,10	0,03	86,46	18,42	6,6

Примітка: критерій Стюдента при $P=95\%$ становить $t(P, v)=2,78$; $n=5$, $v=4$.

Таблиця 3

РЕЗУЛЬТАТИ ІЗОЛЮВАННЯ МЕТФОРМІНУ З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

Біологічна рідина	Внесено речовини, мкг	Виділені речовини					
		УФ-спектрофотометрія		ВЕРХ		екстракційна спектрофотометрія	
		мкг	%	мкг	%	мкг	%
Сеча	100,0	69,0	69,0	81,6	81,6	69,0	69,0
	100,0	66,2	66,2	71,2	71,2	71,6	71,6
	100,0	71,5	71,5	68,3	68,3	75,5	75,5
	100,0	68,3	68,3	73,3	73,3	73,1	73,1
	100,0	75,5	75,5	76,0	76,0	72,0	72,0
Кров	100,0	48,8	48,8	50,1	50,1	51,6	51,6
	100,0	51,4	51,4	56,6	56,6	50,2	50,2
	100,0	49,7	49,7	53,8	53,8	57,5	57,5
	100,0	54,0	54,0	59,2	59,2	53,0	53,0
	100,0	53,6	53,6	58,7	58,7	55,8	55,8

Таблиця 4

МЕТРОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕЗУЛЬТАТІВ ІЗОЛЮВАННЯ МЕТФОРМІНУ З БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

Метод визначення	Метрологічні характеристики					
	$\bar{X}$	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{X}$	ϵ	RSD, %
При ізолюванні з сечі						
УФ-спектроскопія	70,1	3,56	0,02	9,90	14,13	5,08
ВЕРХ	74,08	5,06	0,03	6,29	19,00	6,8
Екстракційна фотометрія	72,24	2,36	0,01	6,56	9,09	3,3
При ізолюванні з крові						
УФ-спектроскопія	51,5	2,30	0,02	2,82	14,42	4,5
ВЕРХ	55,68	3,77	0,03	4,69	18,85	6,7
Екстракційна фотометрія	53,62	2,99	0,02	3,72	15,54	5,6

Примітка: критерій Стюдента при $P=95\%$ становить $t(P, v)=2,78$; $n=5$, $v=4$.

значенні не перевищує 7,0 %. При цьому розбіжність результатів за використаними методами є незначною.

ВИСНОВКИ

Таким чином, одержані результати свідчать про переважне застосування модифікованого методу

О. О. Васильєвої для ізолювання метформіну з тканин печінки у судово-токсикологічних дослідженнях на токсикант невстановленої будови. Запропоновані умови ізолювання метформіну з біорідин також є прийнятними для зазначених цілей. Проте з модельного зразка сечі метформін екстрагується з більш високим показником. Прийнятними також були ви-

користанні інструментальні методи аналізу для визначення кількісного вмісту метформіну в одержаних екстрактах.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аметов А. С. Эффективность и безопасность перевода больных сахарным диабетом 2 типа, не полностью контролируемых монотерапией метформином, на комбинированную терапию метформином и Диабетоном МВ / А. С. Аметов, Л. Н. Богданова // Сахарный диабет. – 2009. – № 4. – С. 68-71.
2. Изолирование метформина из биологического материала и его идентификация / Р. Г. Мансурова, Н. В. Кубасова, З. А. Газизова // Судебно-мед. журн. – 2010. – № 1. – С. 5.
3. Кондратьева Л. В. Метформин – испытание временем / Л. В. Кондратьева // Рус. мед. журн. Эндокринолог. – 2007. – Т. 15, № 27. – С. 2098.
4. Мерзлікін С. І. Інформаційний огляд щодо обґрунтування хіміко-токсикологічного дослідження на метформін / С. І. Мерзлікін, В. Ю. Москаленко // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2010. – № 1-2 (14-15). – С. 3-10.
5. Москаленко В. Ю. Розробка умов рідинної хроматографії для хіміко-токсикологічного аналізу метформіну / В. Ю. Москаленко, С. І. Мерзлікін // Запорозький мед. журн. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 86-88.
6. Смирнова О. М. Преимущества комбинированной терапии в лечении сахарного диабета 2 типа / О. М. Смирнова // Фарматека. – 2008. – № 3. – С. 48-51.
7. Токсикологическая химия: учеб. / Т. Х. Вергейчик; под ред. проф. Е. Н. Вергейчика. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 400 с.
8. Belsey J. Glycaemic control and adverse events in patients with type 2 diabetes treated with metformin + sulfonylure: a meta-analysis / J. Belsey, G. Krishnarajah // Diabetes Obesity Metabolism. – 2008. – Vol. 10, suppl. 1. – P. 1-7.
9. Carbonell B. Long-term efficacy and tolerability of add-on pioglitazone therapy to falling monotherapy compared with addition of gliclazide or metformin in patients with type 2 diabetes / [Carbonell B., Scherthaner G., Brunetti P. et al.] // Diabetol. – 2005. – № 48. – P. 1093-1094.
10. Metformin-glibenclamide versus metformin plus rosiglitazone in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin monotherapy / [A. Garber, E. Klein, S. Bruce et. al.] // Diabetes Obesity Metabolism. – 2006. – № 8. – P. 156-163.
11. Scheen A. J. Drug interactions of clinical importance with antihyperglycaemic agents: an update / A. J. Scheen // Drug Safety. – 2005. – № 28. – P. 601-631.

УДК 615.252.349.7:340.67:54.056:543.422.6:543.544.42

В. Ю. Москаленко, С. І. Мерзликін

ИЗОЛИРОВАНИЕ МЕТФОРМИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ

Исследована зависимость степени экстракции метформина из биологических объектов от условий изолирования, природы объекта и метода количественного определения препарата в полученных экстрактах. Определены наиболее приемлемые условия изолирования метформина и биологические объекты для судебно-токсикологических исследований на токсикант неизвестной структуры.

Ключевые слова: метформин; изолирование из печени, мочи и крови; экстракция; УФ-спектроскопия; высокоэффективная жидкостная хроматография; экстракционная фотометрия

UDC 615.252.349.7:340.67:54.056:543.422.6:543.544.42

V. Yu. Moskalenko, S. I. Merzlikin

ISOLATION OF METFORMIN FROM BIOLOGICAL OBJECTS

The dependence of the extraction degree of metformin from biological objects on isolation conditions, nature of the object and the method of quantitative determination of the drug in the extracts received has been researched. The most acceptable conditions of metformin isolating and biological objects for forensic toxicology research of unknown toxicant structure have been identified.

Key words: metformin; isolation from the liver, urine and blood; extraction; UV-spectroscopy; high-performance liquid chromatography; extractive photometry

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Національний фармацевтичний університет,
кафедра токсикологічної хімії.

Тел.: (0572) 67-91-92, тел./факс (057) 714-25-40,

моб. тел.: 8-096-734-78-93. E-mail: diacamph@mail.ru.

Надійшла до редакції:

15.11.2013 р.

ЗМІСТ

ОГЛЯДОВІ СТАТТІ

ЛЕКТИНИ: ПОШИРЕННЯ І ФУНКЦІЯ В ЖИВИХ ОРГАНІЗМАХ ТА ОСОБЛИВОСТІ ЗАГОТІВЛІ СИРОВИНИ

В. О. Антонюк 4

БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИВІЛЬНЕННЯ ТІЛОРОНУ ІЗ МАЗЕЙ НА ГІДРОФІЛЬНИХ ОСНОВАХ

О. В. Бабій, К. Ф. Ващенко 12

БІОХІМІЯ

БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ РОЗВИТКУ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ У ЖІНОК У ПЕРІОД ПРЕМЕНОПАУЗИ

А. Ю. Бродська, А. Л. Загайко, Л. В. Галузінська..... 18

ФАРМАКОЛОГІЯ

ВИВЧЕННЯ АНТИОКСИДАНТНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РАЛЕЙКІНУ НА МОДЕЛІ ДИТИЗОНОВОГО ДІАБЕТУ У КРОЛІВ

І. П. Бухтіярова 26

БЕЗПЕЧНІСТЬ ПРЕПАРАТУ ЕФІАЛЬ™, СПРЕЙ ВИРОБНИЦТВА ВАТ «ФАРМАК»

В. М. Коваленко, Г. І. Борщевський, А. К. Вороніна..... 31

ВИВЧЕННЯ ГІПОТЕНЗИВНОЇ ДІЇ ХІНОКАРБУ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ У ЩУРІВ

О. І. Набока, Ю. В. Вороніна..... 37

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОГЛІКЕМІЧНОЇ
АКТИВНОСТІ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ**

В. А. Рибак, Л. М. Малоштан 42

**ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ З ЛИСТЯ АРТИШОКУ ПОЛЬОВОГО
НА ЕМБРІО- ТА ФЕТОГЕНЕЗ САМОК ЩУРІВ
З АЛКОГОЛЬНОЮ ПЛАЦЕНТАРНОЮ ДИСФУНКЦІЄЮ**

Н. Я. Асадуллаєва, І. М. Риженко 46

**ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЛАКУ ДЛЯ НІГТІВ
ЛІКУВАЛЬНОГО З УНДЕЦИЛЕНОВОЮ І САЛІЦИЛОВОЮ
КИСЛОТАМИ**

О. О. Ващенко..... 49

МІКРОБІОЛОГІЯ

**МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ СКРИНІНГ КОМПЛЕКСІВ
РІЗНИХ ВИДІВ ЖОВЧІ**

О. О. Стремоухов 54

ФАРМАЦЕВТИЧНА ХІМІЯ ТА ФАРМАКОГНОЗІЯ

**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НІФЕДИПІНУ В ЛІКАРСЬКИХ
ФОРМАХ КІНЕТИКО-ХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНТНИМ МЕТОДОМ**

Н. Ю. Бондаренко 60

**ВЕРИФІКАЦІЯ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ
НІФЕДИПІНУ В ТАБЛЕТКАХ**

І. Л. Комарицький, Н. Ю. Бевз, В. А. Георгіянц 64

ІЗОЛЮВАННЯ МЕТФОРМІНУ З БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

В. Ю. Москаленко, С. І. Мерзлікін 70

СОДЕРЖАНИЕ

ЛЕКТИНЫ: РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ФУНКЦИЯ В ЖИВЫХ ОРГАНИЗМАХ И ОСОБЕННОСТИ ЗАГОТОВКИ СЫРЬЯ <i>В. А. Антонюк</i>	4
БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВЫСВОБОЖДЕНИЯ ТИЛОРОНА ИЗ МАЗЕЙ НА ГИДРОФИЛЬНЫХ ОСНОВАХ <i>Е. В. Бабий, Е. Ф. Ващенко</i>	12
БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗВИТИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА У ЖЕНЩИН В ПЕРИОД ПРЕМЕНОПАУЗЫ <i>А. Ю. Бродская, А. Л. Загайко, Л. В. Галузинская</i>	18
ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНЫХ СВОЙСТВ РАЛЕЙКИНА НА МОДЕЛИ ДИТИЗОНОВОГО ДИАБЕТА У КРОЛЕЙ <i>И. П. Бухтиярова</i>	26
БЕЗОПАСНОСТЬ ПРЕПАРАТА ЭФИАЛЬ™, СПРЕЙ ПРОИЗВОДСТВА ОАО «ФАРМАК» <i>В. М. Коваленко, Г. И. Борщевский, А. К. Воронина</i>	31
ИЗУЧЕНИЕ ГИПОТЕНЗИВНОГО ДЕЙСТВИЯ ХИНОКАРБА НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У КРЫС <i>О. И. Набока, Ю. В. Воронина</i>	37
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ <i>В. А. Рыбак, Л. Н. Малоштан</i>	42
ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ИЗ ЛИСТЬЕВ АРТИШОКА ПОЛЕВОГО НА ЭМБРИО- И ФЕТОГЕНЕЗ САМОК КРЫС С АЛКОГОЛЬНОЙ ПЛАЦЕНТАРНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ <i>Н. Я. Асадуллаева, И. М. Рыженко</i>	46
ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЛАКА ДЛЯ НОГТЕЙ ЛЕЧЕБНОГО С УНДЕЦИЛЕНОВОЙ И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТАМИ <i>О. А. Ващенко</i>	49
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ КОМПЛЕКСОВ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖЕЛЧИ <i>А. А. Стремюхов</i>	54
КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИФЕДИПИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ КИНЕТИКО- ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫМ МЕТОДОМ <i>Н. Ю. Бондаренко</i>	60
ВЕРИФИКАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИФЕДИПИНА В ТАБЛЕТКАХ <i>И. Л. Комарицкий, Н. Ю. Бевз, В. А. Георгиянц</i>	64
ИЗОЛИРОВАНИЕ МЕТФОРМИНА ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ <i>В. Ю. Москаленко, С. И. Мерзликин</i>	70

CONTENTS

LECTINS: DISTRIBUTION AND FUNCTION IN LIVING ORGANISMS AND PECULIARITIES OF THE PROCUREMENT OF RAW MATERIALS <i>V. O. Antonyuk</i>	4
BIOPHARMACEUTICAL RESEARCH OF TILORONE RELEASE FROM OINTMENTS ON THE HYDROPHILIC BASIS <i>E. V. Babiy, K. F. Vashchenko</i>	12
BIOCHEMICAL ASPECTS OF DEVELOPMENT OF METABOLIC SYNDROME IN WOMEN DURING PREMENOPAUSE <i>A. Yu. Brodska, A. L. Zagayko, L. V. Galuzinska</i>	18
STUDY OF ANTIOXIDANT PROPERTIES OF RALEUKIN ON THE MODEL OF DITHIZONE DIABETES RABBITS <i>I. P. Bukhtiyarova</i>	26
SAFETY OF THE DRUG EFIAL™ SPRAY, PRODUCED BY «FARMAK» <i>V. M. Kovalenko, G. I. Borshchevsky, A. K. Voronina</i>	31
STUDY ON HYPOTENSIVE ACTIVITY OF QUINOCARB ON THE EXPERIMENTAL MODEL OF ARTERIAL HYPERTENSION IN RATS <i>O. I. Naboka, Yu. V. Voronina</i>	37
EXPERIMENTAL STUDY HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS <i>V. A. Rybak, L. N. Maloshtan</i>	42
THE EFFECT OF EXTRACT OF ARTISHOKE LEAVES ON EMBRIO- AND FETOGENESIS ON THE MODEL OF ALCOHOL PLACENTAL INSUFFICIENCY IN FEMALE RATS <i>N. Y. Asadullaeva, I. M. Ryzhenko</i>	46
INVESTIGATION OF ACUTE TOXICITY OF MEDICATED NAIL LACQUER WITH UNDECYLENIC AND SALICYLIC ACIDS <i>O. O. Vashchenko</i>	49
MICROBIOLOGICAL SCREENING COMPLEXES OF DIFFERENT TYPES OF GALL <i>A. A. Stremoukhov</i>	54
NIFEDIPINE QUANTITATIVE DETERMINATION IN MEDICINAL FORMS USING KINETIC METHOD OF CHEMILUMINESCENCE ACTIVATION <i>N. Yu. Bondarenko</i>	60
VERIFICATION METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF NIFEDIPINE IN TABLETS <i>I. L. Komarytskyi, N. Yu. Bevez, V. A. Georgiyants</i>	64
ISOLATION OF METFORMIN FROM BIOLOGICAL OBJECTS <i>V. Yu. Moskalenko, S. I. Merzlikin</i>	70

Літературний редактор А. Л. Краснікова
Коректор А. Л. Краснікова

Підписано до друку 20.12.2013 р. Формат 60х84 1/8
Умов. др. арк. 9,3. Облік.-вид. арк. 10,76
Тираж 100 пр.

Віддруковано у друкарні ФОП Петров В.В.
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.
Запис № 24800000000106167 від 08.01.2009 р.
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 778-60-34.
e-mail: bookfabrik@rambler.ru