

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

---

**УКРАЇНСЬКИЙ  
БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ  
ЖУРНАЛ**



**УКРАИНСКИЙ  
БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ**



**UKRAINIAN  
BIOPHARMACEUTICAL  
JOURNAL**

Заснований у лютому 2008 р.

№ 1 (36) 2015

УДК 615.015:615.3:615.31

*Науковий журнал «Український біофармацевтичний журнал» внесений до затвердженого ВАК України Переліку наукових фахових видань України, в яких можуть публікуватися результати дисертаційних робіт на здобуття наукових ступенів доктора і кандидата наук з біологічних та фармацевтичних наук (протокол № 1-05/01 від 10.02.2010)*

## УКРАЇНСЬКИЙ БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ

**ЗАСНОВНИК:**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**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., Дедух Н. В., Деримедвідь Л. В., Дрогвоз С. М., Залюбовська О. І., Зупанець І. А., Кисличенко В. С., Кравченко В. М., Маслово 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), Корпачов В. В. (Київ), Краснопольський Ю. М., Мамчур В. Й. (Дніпропетровськ), Мітрохін М. М. (Москва), Одегова Т. Ф. (Перм), 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)

*Схвалено вченою радою НФаУ (протокол № 6 від 30.01.2015 р.)*

# **Біофармацевтичні дослідження**

**Рецензенти рубрики:**

**Піняжко О. Р.,**  
*д. мед. н., професор*

**Філімонова Н. І.,**  
*д. мед. н., професор*



УДК 615.076.9:57.021:57.021

Н. В. Ділай, Т. Г. Калинюк

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького*

## **(1→3)-β-D-ГЛЮКАНИ – ЗАВАЖАЮЧИЙ ФАКТОР ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ЛАЛ-ТЕСТУ**

*Розглянуто проблему вмісту (1→3)-β-D-глюканів у стерильних лікарських засобах для парентерального застосування та їх активних фармацевтичних інгредієнтів як заважаючого фактора для проведення ЛАЛ-тесту та способи її усунення.*

*Ключові слова:* (1→3)-β-D-глюкани; бактерійні ендотоксини; пірогени, лікарські засоби для парентерального застосування; активні фармацевтичні інгредієнти; GMP

### **ВСТУП**

Лікарські засоби (ЛЗ) для парентерального застосування повинні перевірятись на наявність пірогенів за допомогою лізату амебоцитів лімулюса-тесту (ЛАЛ-тесту) або тесту «Пірогени». Тест «Пірогени» проводиться на кроликах шляхом визначення підвищення температури тіла тварин у відповідь на введення ЛЗ для парентерального застосування, забруднених пірогенами. Проте не всі ЛЗ можна контролювати на кроликах, переважно, через токсичність та фармакологічні властивості. Світова тенденція зменшення використання тварин для випробувань, розвиток фармацевтичної галузі та впровадження належних виробничих практик (НВП) також спонукають до застосування альтернативних методів, таких як ЛАЛ-тест для контролю медичних та ветеринарних препаратів, а також води для ін'єкцій, активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ), первинного пакування тощо [3-4].

Визначення бактерійних ендотоксинів (БЕ) за допомогою ЛАЛ-тесту є перспективним та, водночас, складним процесом, оскільки для кожного окремого ЛЗ для парентерального застосування, АФІ та контролю технологічного процесу повинна бути розроблена та валідована окрема методика випробування.

При розробці та валідації методик, а також у рутинних тестуваннях за допомогою ЛАЛ-тесту виникає цілий ряд псевдопозитивних чи псевдо-негативних результатів, пов'язаних із заважаючими факторами, які перешкоджають перебігу реакції, тобто активують або інгібують її. Майже всі ЛЗ для парентерального застосування можуть впливати на взаємодію з лізатом амебоцитів лімулюсу, тому для одержання вірогідних результатів випробувань необхідно враховувати заважаючі фактори.

Одним із таких заважаючих (псевдопозитивних) факторів є наявність у ЛЗ для парентерального застосування (1→3)-β-D-глюканів. Цю проблему ми частково вивчили та описали при дослідженні БЕ у стерильних лікарських засобах рослинного походження [8]. Але (1→3)-β-D-глюкани зустрічаються в АФІ та ЛЗ для парентерального застосування не рослинного походження.

Бета-глюкани – полісахариди мономерів D-глюкози, з'єднаних за допомогою бета-глікозидних зв'язків [5]. (1,3;1,6)-β-D-Глюкани є нейтральними резервними полісахаридами морських бурих водоростей, лишайників, входять у склад клітинних стінок рослин (каллоза), а також грибів і мікроорганізмів [7]. D-глюкани продукуються деякими бактеріями у вигляді екзополісахаридів, а також є компонентами вуглеводного ланцюга целюлозовмісних фільтрів [6]. Домішки глюканів можуть з'являтися через те, що продукт мав контакт з целюлозними матеріалами, або з продуктів грибового походження. Певні бактеріальні чи водоростеві продукти можуть також впливати на наявність втручань глюканового походження. При наявності глюканів результати тесту можуть бути вищими через активацію ЛАЛ-реакції.

Причиною псевдопозитивних результатів є активація у ЛАЛ-тесті фактора глюкан-чутливості (фактора G) (рис. 1) [2].

ЛАЛ-реактив взаємодіє з полісахаридами, утворюючи гель, не розрізняючи полісахариди БЕ чи (1→3)-β-D-глюканів, що виглядає як невідповідність зразка за вмістом БЕ. БЕ складаються з ліпополісахаридів (ЛПС) та Ліпиду А. Ліпід А – це токсична та відповідальна за імунобіологічну активність частини макромолекули ЛПС [3].

При проведенні контролю за допомогою тесту «Пірогени» у кроликів не відбувається підвищення температури у відповідь на присутність (1→3)-β-D-

© Ділай Н. В., Калинюк Т. Г., 2015

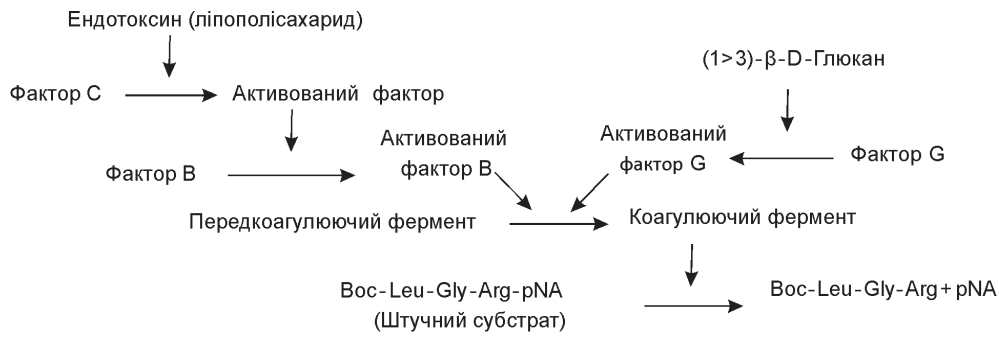


Рис. 1. Зміна шляху взаємодії ЛАЛ-реактиву.

Таблиця 1

**КОНТРОЛЬ АФІ ІНОЗИНУ ТА ВИГОТОВЛЕНИХ НА ЙОГО ОСНОВІ ЛЗ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ РИБОКСИН, РОЗЧИН ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ 20 мг/мл**

АФІ та ЛЗ	Кількість серій	Кількість серій, що відповідала вимогам за вмістом БЕ	Кількість серій, що відповідала вимогам тесту «Пірогени»
Інозин	30	0	30
Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл	50	43	50

глюканів, тому проблема їх вмісту у ЛЗ для парентерального застосування стала неочікуваним та невивченим чинником, який не становить ризику для пацієнта, але активує реакцію гелеутворення при проведенні ЛАЛ-тесту і часто стає причиною бракування вільних від БЕ зразків.

Причиною вивчення та дослідження цієї проблеми стали позитивні результати при проведенні ЛАЛ-тесту АФІ та ЛЗ для парентерального застосування не рослинного походження, які не викликали підвищення температури тіла у кроликів при контролі за допомогою тесту «Пірогени».

Дослідження проводили на ПАТ «Галичфарм». Зразки: АФІ Інозин та ЛЗ для парентерального застосування Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл.

Вміст БЕ визначали за допомогою ЛАЛ-тесту (п. 2.6.14. «Бактерійні ендотоксини», методи А, В, С) [1, 9, 10]. Для проведення досліджень використовували набори реактивів «Associates of Cape Cod Inc.» (США).

Нами було проконтрольовано 30 серій АФІ Інозину. Усі вони не відповідали вимогам за вмістом БЕ, однак відповідали вимогам тесту «Пірогени» (табл. 1).

З АФІ Інозину виготовлено 50 серій ЛЗ для парентерального застосування Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл. Граничний вміст БЕ (ГВЕ) для АФІ Інозин менше 0,9 МО/мг, для ЛЗ Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл менше 17,6 МО/мл.

У результаті застосування заходів щодо зниження вмісту БЕ (рис. 2), а саме різних варіантів фільтрації з різною періодичністю заміни фільтрів для кожної серії, нам вдалося досягнути ГВЕ у ЛЗ для парентерального застосування.

Визначення БЕ проводили на стадії «розчин приготований» і після отриманих результатів застосували наведені схеми фільтрації.

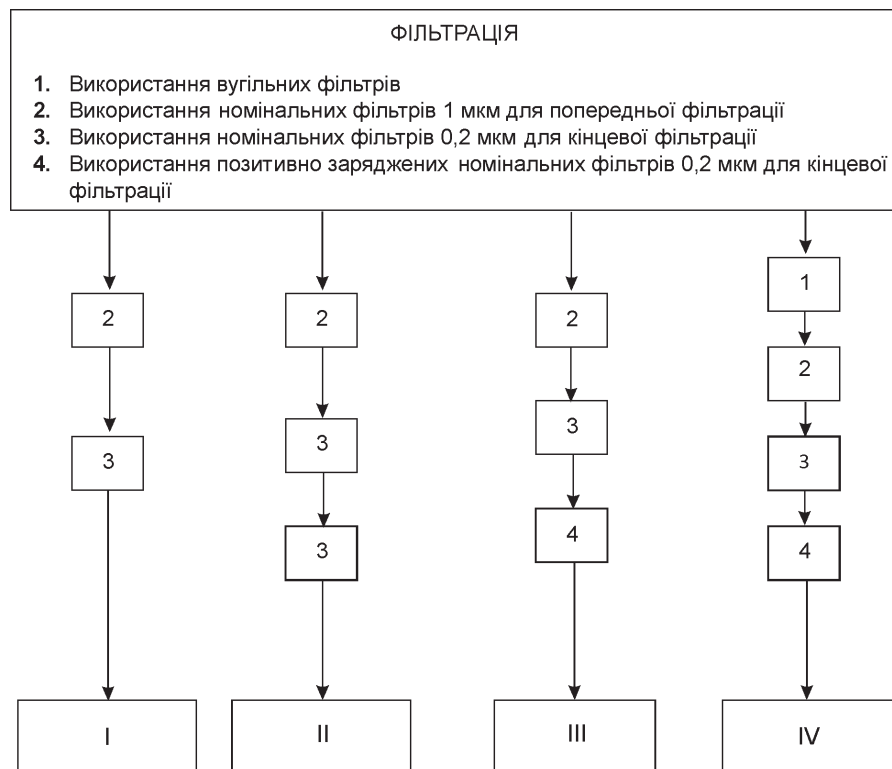
Під час подальшого вивчення причин позитивних результатів у визначенні АФІ та ЛЗ для парентерального застосування було прийнято рішення провести випробування на заважаючі фактори з використанням буфера, призначеного для блокування втручання, викликаних концентрацією глюканів до 100 мг/мл; у нашому випадку – це буфер Glucashield® виробництва «Associates of Cape Cod Inc.» (США), оскільки всі дослідження проводились з використанням реактивів даного виробника.

У табл. 2 та на рис. 3-4 наведені результати випробувань з використанням буфера Glucashield® і без нього для тих же зразків. При проведенні випробувань з використанням буфера Glucashield® спостерігається вміст БЕ у зразках з випробуваним розчином та у зразках з додаванням контрольного стандарту ендотоксину (КСЕ) у діапазоні від 50 % до 200 %, що відповідає вимогам ДФУ. Отже, використавши буфер Glucashield®, який зв'язується з (1→3)-β-D-глюканами, ми визначили реальний рівень БЕ у зразках АФІ Інозин та ЛЗ для парентерального застосування Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл.

У результаті проведених досліджень нами було визначено, що АФІ Інозин та ЛЗ для парентерального застосування Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл містять (1→3)-β-D-глюкани, які активують реакцію гелеутворення.

Причиною позитивних результатів були використання некоректної методики та некоректно проведеного випробування на заважаючі фактори, а проблемою – вміст (1→3)-β-D-глюканів невеликої концентрації в межах ГВЕ у зразках.

На підставі отриманих результатів можна рекомендувати наступний алгоритм проведення ЛАЛ-тесту для розробки та валідації методик, а також для



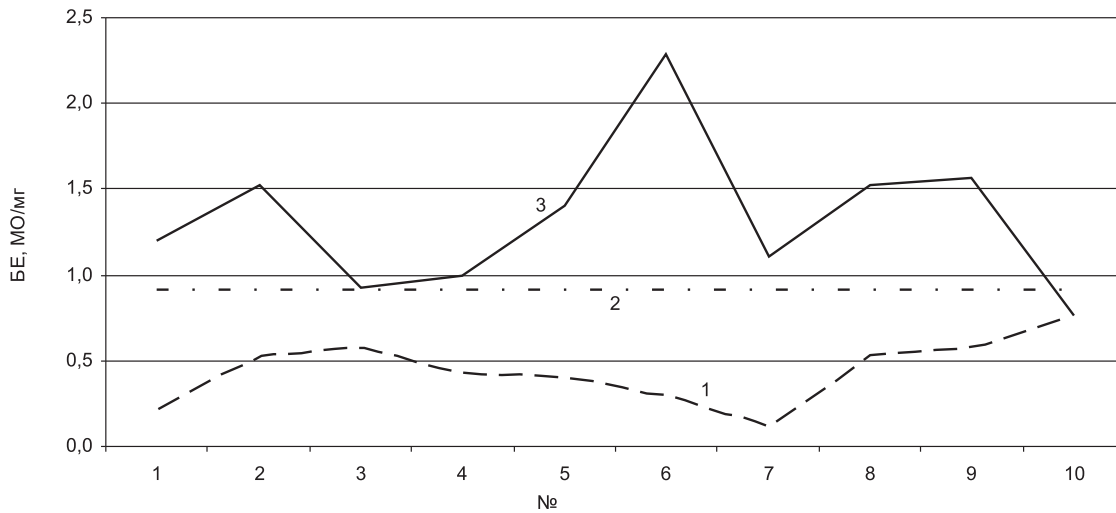
**Рис. 2.** Блок-схема заходів щодо зниження вмісту БЕ  
(I – БЕ < ГВЕ; II – БЕ ≈ ГВЕ; III – БЕ > ГВЕ; IV – БЕ >> ГВЕ) на стадії фільтрації.

Таблиця 2

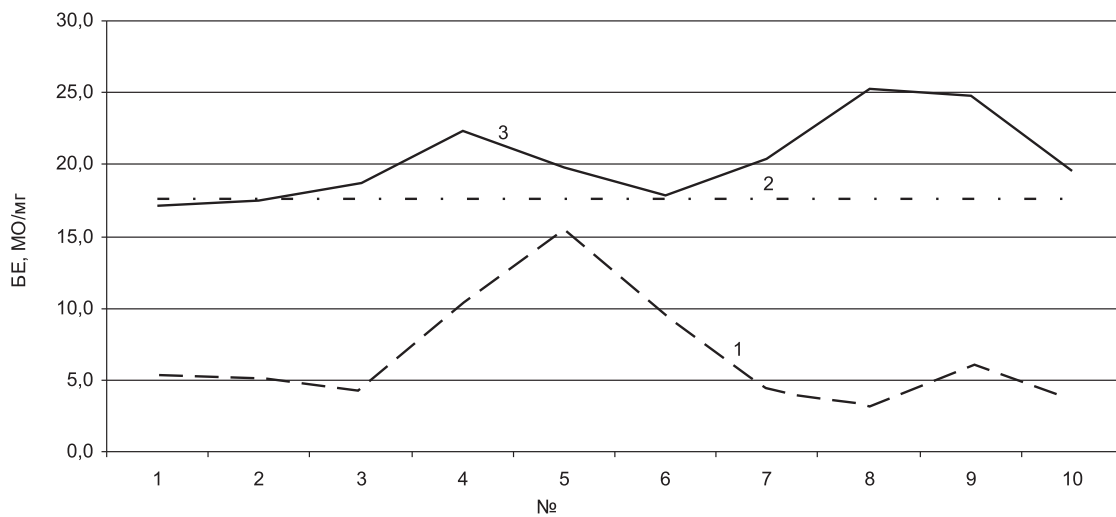
**ВИЗНАЧЕННЯ БЕ У ЗРАЗКАХ АФІ ІНОЗИН ТА ЛЗ ДЛЯ ПАРЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ РИБОКСИН, РОЗЧИН ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ 20 МГ/МЛ З ВИКОРИСТАННЯМ І БЕЗ БУФЕРА GLUCASHIELD® ЗА ДОПОМОГОЮ КІНЕТИЧНОГО ТУРБІДИМЕТРИЧНОГО МЕТОДУ ЛАЛ-ТЕСТ**

№ з/п	АФІ та ЛЗ	МО/мл	Вміст БЕ з використанням Glucashield®			Вміст БЕ без використання Glucashield®		
			МО/мл(мг)		%	МО/мл(мг)		%
			КСЕ*	зразок		зразок з КСЕ	зразок	
1	Інозин	0,090	0,203	0,321	87,879	1,203	2,588	48,159
2		0,040	0,521	0,513	110,148	1,521	3,782	40,647
3		0,128	0,569	0,654	108,175	0,929	1,999	49,653
4		0,200	0,412	0,481	146,619	0,999	2,465	44,106
5		0,126	0,399	0,427	132,558	1,399	2,983	48,967
6		0,111	0,284	0,399	98,611	2,284	4,981	46,899
7		0,128	0,111	0,312	60,326	1,111	2,481	47,216
8		0,125	0,521	0,700	90,609	1,521	3,281	48,194
9		0,124	0,569	0,684	101,607	1,569	3,381	48,173
10		0,125	0,764	0,854	104,801	0,764	1,681	49,100
1	Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл	0,125	5,400	5,564	99,283	17,100	36,410	47,127
2		0,250	4,990	5,340	98,035	17,500	42,510	41,410
3		0,149	4,270	4,421	99,953	18,700	44,570	42,097
4		0,130	10,320	10,320	101,276	22,400	44,980	49,944
5		0,124	15,400	15,531	99,955	19,800	39,965	49,698
6		0,122	9,460	9,642	99,370	17,900	37,650	47,698
7		0,199	4,240	4,567	97,070	20,400	43,110	47,540
8		0,125	3,170	3,432	95,857	25,300	59,000	42,972
9		0,280	6,110	6,379	100,180	24,800	51,350	48,561
10		0,126	3,640	3,847	97,823	19,510	39,650	49,362

\*Примітка: КСЕ – контрольного стандарту ендотоксину.



**Рис. 3.** Контроль АФІ Інозин: 1 – вміст БЕ з використанням буфера Glucashild®, 2 – ГВЕ згідно з НД, 3 – вміст БЕ без використання буфера Glucashild®.



**Рис. 4.** Контроль ЛЗ Рибоксин, розчин для ін'єкцій 20 мг/мл: 1 – вміст БЕ з використанням буфера Glucashild®, 2 – ГВЕ згідно з НД, 3 – вміст БЕ без використання буфера Glucashild®.

рутинних випробувань. Щоб визначити, чи містять зразки (1→3)- $\beta$ -D-глюкани, потрібно порівняти рівень ендотоксину, який вони мали у контролі з використанням буфера Glucashild® і без його використання. Якщо показники суттєво нижчі у зразках, які контролювались з використанням буфера Glucashild®, тоді, ймовірно, вони містять (1→3)- $\beta$ -D-глюкани.

#### ВИСНОВКИ

1. Усі активні фармацевтичні інгредієнти та лікарські засоби для парентерального застосування при розробці, валідації та ревалідації методик з використанням ЛАЛ-тесту потрібно перевіряти на вміст (1→3)- $\beta$ -D-глюканів.
2. Необхідно проводити при отриманні позитивних результатів для активних фармацевтичних інгредієнтів та лікарських засобів для парентерального застосування повторне випробування

на наявність заважаючих факторів, а саме (1→3)- $\beta$ -D-глюканів. При підтвердженні наявності (1→3)- $\beta$ -D-глюканів слід провести ревалідацію методики з використанням буфера, що їх зв'язує і попереджає активацію ЛАЛ-реакції.

3. Бактерійні ендотоксини та (1→3)- $\beta$ -D-глюкани однаково поведуть себе при застосуванні різних варіантів фільтрації, і їх вміст у приготованих розчинах лікарських засобів для парентерального застосування знижується за допомогою певної послідовності використовуваних фільтрів.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Доп. 4. – Х., 2008. – 620 с.



2. Інструкція до застосування буфера Glucashield® «Associates of Cape Cod Inc.» (США).
3. Калинюк Т. Г. Перспективи удосконалення біологічного контролю стерильних лікарських засобів для парентерального застосування / Т. Г. Калинюк, Н. В. Ділай // Науковий журн. «Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація». – 2012. – № 1-2. – С. 102-107.
4. Коцюмбас І. Я. Проблема визначення ендотоксинів як основної причини пірогенності / [І. Я. Коцюмбас, Г. Ю.Тесляр, А. О. Костюк та ін.] // Ветеринарна медицина України. – 2001. – № 8. – С. 34-36.
5. Лукьянчук В. Д. Бета-глюканы как основа создания средств иммуномодулирующего действия / В. Д. Лукьянчук, Е. М. Мищенко, М. Н. Бабенко // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 5. – С. 92-93.
6. Меркулова Ю. В. Современные подходы к испытанию «Бактериальные эндотоксины» / Ю. В. Меркулова // Матер. семинара. – К., 2014. – С. 65.
7. Федорцева В. Я. Влияние 1,3;1,6- β-D-глюкана и продуктов его ферментативной трансформации на формирование проростков гречихи *Fagopyrum esculentum* Monch / [В. Я. Федорцева, Е. Л. Чайкина, И. Ю. Бакунина и др.] // Химия растит. сырья. – 2009. – № 3. – С. 139-146
8. Dilai N. The problem of bacterial endotoxin determination in sterile herbal medicines / N. Dilai // II Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Szkoleniowa [“Plant – the source of research material”]. – Poland, Lublin, 2012. – P. 198.
9. European Pharmacopoeia, 8-th ed. 2014. – 3656 p.
10. The United States Pharmacopoeia, 37-th ed., NF 32., 2014. – 5230 p.

**УДК 615.076.9:57.021:57.021****Н. В. Дилай, Т. Г. Калинюк****(1→3)-β-D-ГЛЮКАНЫ – МЕШАЮЩИЙ ФАКТОР ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ЛАЛ-ТЕСТА**

Рассмотрена проблема содержания (1→3)-β-D-глюканов в стерильных лекарственных средствах для парентерального введения и их активных фармацевтических ингредиентов как мешающего фактора для проведения ЛАЛ-теста и способы ее устранения.

**Ключевые слова:** (1→3)-β-D-глюканы; бактериальные эндотоксины; пирогены; парентеральные лекарственные средства; активные фармацевтические ингредиенты; GMP

**UDC 615.076.9:57.021:57.021****N. V. Dilay, T. G. Kalynyuk****(1→3)-β-D-GLUCANES – NEGATIVE FACTOR FOR LAL-TEST**

The problem of (1→3)-β-D-glucanes' content in sterile remedies for parenteral introduction and their active pharmaceutical ingredients as negative factor for LAL-test as well as methods of its neutralization has been shown.

**Key words:** (1→3)-β-D-glucanes; bacterial endotoxines; pyrogens; parenteral remedies; active pharmaceutical ingredients; GMP

Адреса для листування:

79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Львівський національний медичний університет  
ім. Данила Галицького

Надійшла до редакції

15.12.2014 р.



УДК 665.585: 687.552: 661.185:615.28

О. В. Жук, І. І. БАРАНОВА, О. П. СТРИЛЕЦЬ

Національний фармацевтичний університет

## ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ КОНСЕРВАНТА У РОЗРОБЛЕНОМУ ПІНОМИЙНОМУ ЗАСОБІ ДЛЯ ДІТЕЙ

Проведені мікробіологічні дослідження з вибору консерванта та його концентрації у розробленому піномийному засобі для дітей. На підставі отриманих результатів обґрунтовано вибір консерванта. Для подальшого дослідження обрані зразки шампунів з наступними консервантами «Rokonsal» (0,1 %), «Kathon CG» (0,05 %), «Phenopir» (0,25 %). Ці речовини у поєднанні з антимікробним комплексом природного походження на основі іонів срібла «JM Acti Care» (0,6 %) є найбільш активними відносно різних культур мікроорганізмів.

**Ключові слова:** шампунь для дітей; «JM Acti Care»; консервант; антимікробна активність

### ВСТУП

Дитячий шампунь повинен володіти максимальною м'якою миючою дією, не містити яскравих барвників, заборонених консервантів, занадто активних біодобавок і не володіти різким запахом. Він повинен бути гіпоалергенним, тобто не викликати алергічних реакцій [2, 5, 15, 16].

Одна з важливих властивостей шампуню – відсутність подразнюючої дії не тільки на шкіру голови, яка є дуже ніжною і чутливою, але й на слизові оболонки очей. І, нарешті, рН (водневий показник) дитячого шампуню повинен відповідати рН шкіри, тобто бути слабко-кислим [1, 14, 17].

Шампунь представляє собою сприятливе середовище для росту і розмноження мікроорганізмів. Мікроорганізми не тільки псують продукт, а й виділяють токсини, які можуть спровокувати розвиток запальних і алергічних реакцій на шкірі. Від мікробіологічної чистоти залежать не тільки споживчі властивості продукту, але і його ефективність і безпека [3, 4, 6, 12].

Сучасний консервант повинен відповідати наступним вимогам: бути ефективним проти широкого спектра мікроорганізмів; мати бактерицидний і/або бактериостатичний ефект; володіти доброю розчинністю; зберігати стабільність у широких межах температур; мати повну сумісність із сировиною і пакувальними матеріалами; зберігати стабільність у широкому діапазоні рН; володіти низькою токсичністю для людини і навколишнього середовища. У теперішній час не існує консерванта, що відповідає відразу всім критеріям. Тому консерванти найчастіше комбінують між собою, створюючи мультикомпонентні системи [2, 11-13, 15, 19, 20].

Підбір консерванта здійснюється індивідуально до кожного виробу. Існує перелік консервантів, дозволених для застосування в парафармацевтичних засобах, затверджений Директивою 2003/15 ЄС. Вона регламентує використання досить широкого асортименту консервантів, серед яких найбільш часто використовуються формальдегідовмісні консерванти, парабени, феноксіетанол, бензойна кислота, її ефіри і солі, сорбонова кислота її солі, бронопол, хлорометилізотіазолінон, метилізотіазолінон, триклозан та інші [18].

Виходячи з вищевикладеного, проблема створення безпечних дитячих шампунів є досить актуальною. Метою нашої роботи було обґрунтування вибору консерванта та його концентрації в розробленому піномийному засобі для дітей.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження став «JM Acti Care» (Silver Chloride (and) Titanium Dioxide (and) Diethylhexyl Sodium Sulfosuccinate (and) Propylene Glycol), «Clariant», Німеччина), що є ефективним антибактеріальним компонентом на основі іонів срібла [9]. Проявляє широкий спектр антимікробної дії, сумісний з великою кількістю допоміжних речовин. Повільно вивільняє антимікробні іони срібла. Активний проти грампозитивних і грамнегативних бактерій, дріжджів і цвілі. Низка консервантів, які рекомендуються для використання при розробці сучасних піномийних засобів, – це «Rokonsal» (бензойна кислота, дегідрооцтова кислота, феноксіетанол) – виробництва «ISP group» Німеччина, «Kathon CG» (метилхлорізотіазолінон та метилізотіазолінон) – виробництва «Rohtm&Naas» США, «Phenopir» (метилпарабен, етилпарабен, пропілпарабен, бутилпарабен, ізобутилпарабен та феноксіетанол) –

## АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ДОСЛІДЖУВАНИХ ЗРАЗКІВ

№ п/п	Зразки шампунів	Культури мікроорганізмів			
		S.aureus	Bacillus spp.	E. coli	C. albicans
		Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм			
1	Основа + «Rokonsal» 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	29,0 ± 0,6	29,6 ± 0,5	26,0 ± 0,6	28,4 ± 0,5
2	Основа + «Rokonsal» 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	30,2 ± 0,7	30,0 ± 0,7	27,2 ± 0,7	28,6 ± 0,5
3	Основа + «Rokonsal» 0,2 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	29,2 ± 0,4	30,6 ± 0,5	27,4 ± 0,5	28,8 ± 0,7
4	Основа + «Rokonsal» 0,2 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	30,4 ± 0,5	30,6 ± 0,5	27,6 ± 0,5	28,8 ± 0,4
5	Основа + «Rokonsal» 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	30,6 ± 0,5	30,8 ± 0,7	28,0 ± 0,6	29,6 ± 0,9
6	Основа + «Rokonsal» 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	31,0 ± 0,6	30,8 ± 0,4	28,6 ± 0,8	30,0 ± 0,9
7	Основа + «Kathon CG» 0,05 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	30,4 ± 0,5	30,2 ± 0,7	26,4 ± 0,5	26,0 ± 0,6
8	Основа + «Kathon CG» 0,05 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	30,6 ± 0,8	31,8 ± 0,7	30,8 ± 0,7	27,2 ± 0,7
9	Основа + «Kathon CG» 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	32,0 ± 0,6	32,2 ± 0,7	31,0 ± 0,6	28,6 ± 0,8
10	Основа + «Kathon CG» 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	32,4 ± 0,5	32,6 ± 0,5	31,4 ± 0,5	29,2 ± 0,7
11	Основа + «Phenonip» 0,25 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	28,0 ± 0,6	28,8 ± 0,7	25,6 ± 0,5	25,2 ± 0,7
12	Основа + «Phenonip» 0,25 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	30,2 ± 0,7	30,6 ± 0,5	29,4 ± 0,5	29,2 ± 0,7
13	Основа + «Phenonip» 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	31,0 ± 0,9	29,8 ± 0,7	25,8 ± 0,4	25,4 ± 0,5
14	Основа + «Phenonip» 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	31,2 ± 0,4	32,2 ± 0,7	30,0 ± 0,6	29,6 ± 0,5
15	Основа + «Phenonip» 0,35 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %	30,6 ± 0,8	30,0 ± 0,6	25,6 ± 0,5	25,8 ± 0,4
16	Основа + «Phenonip» 0,35 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %	31,4 ± 0,5	32,8 ± 0,7	30,6 ± 0,9	30,4 ± 0,5

Примітка. (n = 5).

виробництва «Nira Laboratories/ Clariant», Німеччина [3, 6, 20, 21]. Також були розроблені експериментальні зразки піномийної основи, до складу якої входила низка детергентів, а саме динатрію лаурет сульфосукцинат, кокамідпропілбетаїн, кокоглюкозид-гліцерил олеат, гліцерет кокоат та інші допоміжні речовини [10].

Антимікробну активність досліджуваних зразків шампунів вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод орієнтовний), заснований на здатності діючих речовин дифундувати в агар, засіяний попередньо культурами мікроорганізмів. В якості тест-культур використовували грампозитивні мікроорганізми *S. aureus* ATCC 25293, спорову культуру *Bacillus spp.* ATCC 6633, грамнегативну культуру *E. coli* ATCC 25922. Антифунгальна активність визначалась по відношенню до дріжджоподібних грибів *C. albicans* ATCC 885-653 [7, 8].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Як за кордоном, так і в Україні відмічається чітка тенденція до одночасного застосування декількох консервантів, а також збільшення обсягів споживання багатокомпонентних консервуючих засобів. У сучасній косметичній промисловості застосовуються мультикомплексні системи, що задовольняють відразу всім критеріям. До їх переваг відносять: розширення антимікробного спектра дії, синергічний антимікробний ефект, зниження токсичності, зменшення ризику стійкості мікроорганізмів, зниження концентрації консервуючої суміші. Для визначення оптимальної концентрації мультикомплексного консерванта були приготовлені наступні зразки дитячого шампуню:

- № 1 – основа шампуню + Rokonsal 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 2 – основа шампуню + Rokonsal 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %

- № 3 – основа шампуню + Rokonsal 0,2 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 4 – основа шампуню + Rokonsal 0,2 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %
- № 5 – основа шампуню + Rokonsal 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 6 – основа шампуню + Rokonsal 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %
- № 7 – основа шампуню + Kathon CG 0,05 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 8 – основа шампуню + Kathon CG 0,05 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %
- № 9 – основа шампуню + Kathon CG 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 10 – основа шампуню + Kathon CG 0,1 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %
- № 11 – основа шампуню + Phenonip 0,25 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 12 – основа шампуню + Phenonip 0,25 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %
- № 13 – основа шампуню + Phenonip 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 14 – основа шампуню + Phenonip 0,3 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %
- № 15 – основа шампуню + Phenonip 0,35 % + комплекс «JM Acti Care» 0,3 %
- № 16 – основа шампуню + Phenonip 0,35 % + комплекс «JM Acti Care» 0,6 %.

Результати проведених досліджень з вивчення антимікробної активності експериментальних зразків шампунів з даними консервантами («Rokonsal», «Kathon CG», «Phenonip») та активної речовини (комплекс «JM Acti Care») відносно різних культур мікроорганізмів представлені в таблиці.

Дані, отримані експериментально та представлені в таблиці, показують, що всі досліджувані зразки шампунів мають антимікробну активність по відношенню до всіх використовуваних мікроорганізмів (бактеріальної культури: грампозитивної *S. aureus*, *Bacillus spp.* і грамнегативної *E. coli*, а також по відношенню до дріжджоподібного гриба роду *Candida* (*C. albicans*) і мають високу активність (діаметр зон затримки росту культур – більше 25 мм).

Слід зазначити, що з додаванням у розроблені склади шампунів різних консервантів вдалося розширити спектр антимікробної дії зразків (попередніми дослідженнями було встановлено, що зразки шампунів без консервантів не володіли активністю щодо дріжджоподібного гриба роду *Candida*) і посилити активність, що має позитивно позначитися не тільки на дії розроблених шампунів, але і на строках зберігання та якості косметичних засобів у процесі зберігання.

Таким чином, отримані результати показали, що всі зразки шампунів мають досить високу антимікробну активність відносно бактеріальних культур і

дріжджоподібного гриба роду *Candida*, однак найбільш активними і більш перспективними для подальших досліджень є зразки №№ 2-5; 8; 9; № 12-15. Подальше збільшення концентрації обраних консервантів є недоцільним, т. я. не призводить до значного посилення антимікробної дії.

Таким чином, для наступних досліджень обрано піномийні основи з консервантами «Rokonsal», «Kathon CG» та «Phenonip» у концентраціях 0,1 %, 0,05 %, 0,25 % відповідно. На теперішній час проводиться дослідження по встановленню безпечності обраних зразків дитячого шампуню з обраними мультикомплексними консервантами.

## ВИСНОВКИ

На підставі проведених мікробіологічних досліджень було доведено антимікробну активність консервантів «Rokonsal», «Kathon CG», «Phenonip», які входять до складу розроблених зразків шампуню. Відмічено, що додавання обраних консервантів у різних концентраціях в поєднанні з антимікробним комплексом «JM Acti Care» забезпечує антимікробну активність відносно мікроорганізмів *S. aureus*, *Bacillus spp.*, *E. Coli* та дріжджоподібного гриба роду *Candida* (*C. Albicans*). Для подальших досліджень обрані зразки шампунів №№ 2-5; 8; 9; 12-15. Дані зразки шампуню проявляли задовільну активність відносно досліджуваних мікроорганізмів, яка відповідає вимогам нормативної документації.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Анатомо-физиологические особенности строения кожи в детском возрасте // Медицинский совет. – 2008. – № 1. – 21 с.
2. Башура А. Г. Технология косметических и парфюмерных средств / [А. Г. Башура, Н. П. Половко, Е. В. Гладух и др.]. Под ред. А. Г. Башуры. – Х.: Изд-во НФаУ; Золотые страницы, 2002. – 272 с.
3. Беликов О. Е. Консерванты в косметике и средствах гигиены / О. Е. Беликов, Т. В. Пучкова. – М.: Школа косметических химиков, 2003. – 250 с.
4. Волянський Ю. Л., Гриценко І. С., Ширококов В. П. та ін. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: [метод. рекомендації]. – К., 2004. – 38 с.
5. Выглазов О. Г. Современные тенденции и специфика использования отдушек в косметике / О. Г. Выглазов. – К.: Тереза-Интер, 2006. – 6 с.
6. Гудзь О. В. Сучасні вимоги до споживчих властивостей та безпеки консервантів для косметичної продукції / О. В. Гудзь // Вісник Вінницького нац. університету. – 2004. – Т. 8, № 2. – С. 409-413.
7. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид., 1 доп. – Х.: РІРЕГ, 2004. – 520 с.

8. Державні санітарні правила та норми: ДСанПіН 2.2.9.027-99. – [Чинний від 1999-01-07]. – К.: Держстандарт України, 1999. – 116 с. (Національний стандарт України).
9. Жук О. В. Мікробіологічне обґрунтування вибору концентрації компоненту «JM Acti Care» / О. П. Стрелець, О. В. Жук, І. І. Баранова // Проблеми екол. та мед. генетики і клін. імунол. – 2013. – № 6 (120). – С. 222-228.
10. Жук О. В. Особливості розробки вітчизняних піномийних косметичних препаратів для дітей / О. В. Жук, Л. С. Петровська // Матер. наук.-практ. конф.: [Косметологія: сьогодні та майбутнє]. – Х., 2013. – С. 65-66.
11. Засоби косметичні для очищення шкіри та волосся. Загальні технічні умови: ДСТУ 4315:2004. – [Чинний від 2005-07-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2005. – 7 с. (Національний стандарт України).
12. Калиниченко Н. Ф., Волянський Ю. Л., Старобимець З. Г. Определение активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций: [метод. рекоменд.]. – Х., 1991. – 16 с.
13. Консерванты в косметике [Електронний ресурс] [www.kosmetika-dlya-vseh.ru](http://www.kosmetika-dlya-vseh.ru)
14. Марголина А. Новая косметология / А. Марголина, Е. Эрнандес, О. Зайкина. – М.: ИД «Косметика и медицина», 2002. – 247 с.
15. Рогова Г. Б. Использование детской косметики / Г. Б. Рогова // Журн. мед. обслуж. и организация питания в ДОУ. – 2011. – № 6. – С. 35-37.
16. Студеникин В. М. Уход за кожей детей первых лет жизни: нейрпедиатрические аспекты / В. М. Студеникин, Н. И. Студеникина // Лечащий врач. – 2008. – № 3. – С. 2-7.
17. Ali S. Skin pH: From Basic Science to Basic Skin Care / S. Ali, G. Yosipovitch // Acta Dermatolo-Venerologica. – 2013. – Vol. 93. – P. 261-267.
18. Directive 2003 / 15/ EC of the European Parliament and of the Council of the 27 February 2003 // L 66, 11.3.2003. – P. 26.
19. Handbook of Cosmetic Science and Technology / Ed. A. O. Barel, M. Paye, H. I. Maibach. – Marcel Dekker Inc. – New York: Basel, 2001. – 902 p.
20. Mc Kay Tonya The Ultimate Guide to Humectants Heir / Tonya Mc Kay // J. of the University of Chem. Technol. and Metallurgy. – 2013. – Vol. 60, № 2 – P. 112-118.
21. Preservatives for Cosmetics Second Edition by David C. Steinberg A Book review by Dr. Trevor G. Blease, Applications Expert, Uniqema, Wilton, UK. – 2006, 137 p.

**УДК 665.585: 687.552: 661.185: 615.28****Е. В. Жук, И. И. Баранова, О. П. Стрелец****ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА КОНСЕРВАНТОВ В РАЗРАБОТАННОМ ПЕНОМОЮЩЕМ СРЕДСТВЕ ДЛЯ ДЕТЕЙ**

Проведены микробиологические исследования по выбору консерванта и его концентрации в разработанном пеномоющем средстве для детей. На основании полученных результатов обоснован выбор консерванта. Для дальнейшего исследования выбраны образцы шампуней со следующими консервантами «Rokonsal» (0,1 %), «Kathon CG» (0,05 %), «Phenonip» (0,25 %). Эти вещества в сочетании с антимикробным комплексом природного происхождения на основе ионов серебра «JM Acti Care» (0,6 %) являются наиболее активными в отношении различных культур микроорганизмов.

**Ключевые слова:** шампунь для детей; «JM Acti Care»; консервант; антимикробная активность

**UDC 665,585: 687,552: 661,185: 615,28****O. V. Zhuk, I. I. Baranova, O. P. Strelets****SUBSTANTIATION OF CHOICE OF PRESERVATIVES IN THE DEVELOPED FOAM DETERGENT FOR CHILDREN**

Microbiological research of preservative type and concentration for designed foam detergent for children was carried out. Based on these results the choice of preservative was substantiated. For the further study were chosen shampoo samples with the following preservatives: «Rokonsal» (0,1 %), «Kathon CG» (0,05 %), «Phenonip» (0,25 %). These substances in combination with antimicrobial complex of natural origin based on silver ions «JMActiCare» (0,6%) are the most active against various microbial cultures.

**Key words:** shampoo for children; «JMActiCare»; preservative; antimicrobial activity

Адреса для листування:  
61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції  
17.12.2014 р.



# *Біохімія та фармакологія*

## **Рецензенти рубрики:**

**Деримедвідь Л. В.,**  
*д. мед. н., професор*

**Загайко А. Л.,**  
*д. біол. н., професор*

**Малоштан Л. М.,**  
*д. біол. н., професор*

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

**Набока О. І.,**  
*д. біол. н., професор*

**Дроговоз С. М.,**  
*д. мед. н., професор*

**Кононенко Н. М.,**  
*д. мед. н., професор*

**Крижна С. І.,**  
*д. мед. н., професор*



УДК 615.214.2/3:615.357:577.112.3

Р. Д. Дейко<sup>1</sup>, С. Ю. Штриголь<sup>1</sup>, А. Н. Прусаков<sup>2</sup>, О. О. Колобов<sup>2</sup><sup>1</sup> Національний фармацевтичний університет<sup>2</sup> ФГУП «Гос. НИИ особо чистых биопрепаратов» ФМБА России

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПСИХОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА ВЗАЄМОДІЇ З РЕЧОВИНАМИ ПРИГНІЧУВАЛЬНОЇ ТА ЗБУДЖУВАЛЬНОЇ ДІЇ НОВИХ ОЛІГОПЕПТИДІВ, ГОМОЛОГІЧНИХ ПЕРВИННИЙ АМІНОКИСЛОТНИЙ ПОСЛІДОВНОСТІ ДІЛЯНКИ АКТГ 15-18

*Досліджені психотропні властивості оригінальних нейроактивних олігопептидів загальної формули Lys-Lys-Arg-Arg, які містять природні амінокислоти, стійкі до дії амінопептидаз крові, їх D-форми, а також N-метильовані похідні. Всі пептиди мають виражену ноотропну активність. Деякі з них виявили стимулювальний вплив на ЦНС в тестах екстраполяційного позбавлення, плавання з навантаженням, антагонізму з етанолом та анкіолітичну активність.*

*Ключові слова:* нейропептиди; психотропні властивості; поведінкові тести

### ВСТУП

Пошук нових церебропротекторних засобів є актуальною проблемою сучасної неврології, фармакології та суміжних галузей медицини та фармації [7]. Впродовж останніх десятиліть дедалі більшу увагу науковців та клініцистів привертають пептидергічні нейропротектори [4]. Наразі використовуються такі пептидні церебропротектори та ноотропи як семакс, церебролізин. На різних стадіях клінічних та експериментальних досліджень знаходяться інші препарати.

В НДІ Особливо чистих біопрепаратів (м. Санкт-Петербург) під керівництвом д. біол. наук Колобова О. О. шляхом твердофазного хімічного синтезу створено панель конформаційно обмежених олігопептидів, гомологічних амінокислотній послідовності АКТГ 15-18. Вони містять природні амінокислоти аргінін та лізин, їх D-форми та N-метильовані похідні. Дослідження *in vitro* вказали на відсутність цитотоксичності та високу стійкість до амінопептидаз крові, що зумовлює їх тривалу дію [11]. Виявлені антигіпоксичні та церебропротекторні властивості пептидів на моделі нормобаричної гіпоксичної гіпоксії з гіперкапнією та церебральною ішемією [2].

Розмаїття механізмів впливу на патологічний процес в нервовій системі зумовлює широкий спектр психотропних властивостей, що виявляють олігопепти-

ди. Зокрема, для відомого олігопептидного нейропротектора семаксу відомим є вплив на холінергічну трансмісію в головному мозку, рівень моноамінів. Також семакс виявляє ноотропну та стреспротекторну дію, стимулює ЦНС [6, 8]. Деякі церебропротектори змінюють свій фармакодинамічний профіль на тлі паралельного застосування інших психотропних засобів. З огляду на викладене актуальним є дослідження психотропних властивостей нейропептидів та з'ясування характеру їх взаємодії з речовинами, які пригнічують та збуджують ЦНС.

Мета роботи – визначення можливих видів нейротропної активності нових пептидів: ноотропної, актопротекторної, антидепресантної, протитривожної, а також їх взаємодії з коразолом та етанолом.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчали психотропні властивості тетрапептидів, аналогів ланки АКТГ 15-18, загальної формули Lys-Lys-Arg-Arg. Усі вони мають у своєму складі одну або декілька неприродних форм лізину чи аргініну: D- і/або N-метильовану. Структура пептидів і лабораторні шифри наведені в табл. 1.

Більшість досліджень проводили на білих мишах масою 18-24 г, отриманих із віварію Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ. Тест екстраполяційного вивільнення виконували на білих щурах масою 180-220 г. При проведенні фармакологічних випробувань дотримувалися вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, використовуваних

© Дейко Р. Д., Штриголь С. Ю., Прусаков А. Н., Колобов О. О., 2015



Таблиця 1

**СТРУКТУРА ДОСЛІДЖУВАНИХ НЕЙРОПЕПТИДІВ**

Лабораторний шифр	Структура
NP-4	Acetyl-Lys-Lys-Arg-Arg-amide
KK-1	Acetyl-(D-Lys)-Lys-Arg-Arg-amide
KK-2	Acetyl-Lys-(D-Lys)-Arg-Arg-amide
KK-3	Acetyl-Lys-Lys-(D-Arg)-Arg-amide
KK-4	Acetyl-Lys-Lys-Arg-(D-Arg)-amide
KK-5	Acetyl-(D-Lys)-Lys-(D-Arg)-Arg-amide
KK-6	Acetyl-Lys-(D-Lys)-(D-Arg)-Arg-amide
KK-7	Acetyl-Lys-(NMe-Lys)-Arg-Arg-amide
KK-8	Acetyl-Lys-Lys-(NMe-Arg)-Arg-amide
KK-9	Acetyl-(D-Lys)-(D-Lys)-(D-Arg)-(D-Arg)-amide
KK-10	Acetyl-(D-Arg)-(D-Arg)-(D-Lys)-(D-Lys)-amide

для експерименту та з іншою науковою метою» (Страсбург, 1985).

Фармакологічні препарати вводилися інтраназально в дозі 20 мкг/кг за 15-20 хвилин до проведення тесту. Дози пептидів, використовувани у дослідженні, є умовно терапевтичними на моделях ішемії та гіпоксії [2]. З урахуванням пептидної природи препаратів та видів досліджуваної фармакологічної активності як препарати порівняння використовували семакс, який вводили в аналогічному режимі та еквівалентній дозі 20 мкг/кг, і класичний ноотроп пірацетам, що його вводили внутрішньоочеревинно в дозі яка за даними літератури виявляє виразний психотропний ефект – 400 мг/кг [3].

*Відкрите поле.* Локомоторну, орієнтовно-дослідницьку діяльність та вегетативний супровід емоційних реакцій мишей оцінювали у відкритому полі, де протягом 3 хв реєстрували кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок та обстежень отворів, реакцій грумінгу, фекальних болюсів та уринацій.

*Умовний рефлекс пасивного уникнення (УРПУ).* Для вивчення першої фази пам'яті як показника мнестичної активності ЦНС фармакологічні препарати вводили на фоні скополамінової ретроградної амнезії [6]. Формували УРПУ, наявність якого перевіряли через 24 год. Скополамін вводили в дозі 1,5 мг/кг, мишам групи інтактного контролю внутрішньоочеревинно – ізотонічний розчин NaCl, група контролю амнезії отримувала тільки розчин скополаміну. Визначали латентний час входу до темної камери та відсоток тварин, що досягли критерію навченості (не входили до темного відсіку протягом 3 хв).

*Екстраполяційне вивільнення (ЕВ).* Через 20 хв після введення пептидів або референс-препарату щурів вміщували до циліндра установки та визначали час, потрібний для вивільнення з циліндра шляхом пірнання під його край, а також відсоток щурів, які розпізнали ситуацію впродовж 3 хв [5].

*Плавання з навантаженням* використовували для оцінки фізичної витривалості. Через 20-25 хв після введення препаратів на корінь хвоста прикріплювали вантаж (10 % маси тварини). Мишей поміщали в басейн довільного розміру з водою кімнатної температури. Реєстрували час плавання до моменту, доки тварина не могла випірнути з води протягом 10 с [5, 7].

*Імобілізаційний тест Порсолта* використовували для дослідження антидепресантних властивостей [5, 10]. Мишей фіксували до штативу за кінчик хвоста лейкопластиром на відстані 10 см від поверхні стола. Тривалість імобілізації (нерухомого зависання) реєстрували секундоміром протягом 6 хв. Також реєстрували кількість епізодів імобілізації.

*Піднесений хрестоподібний лабіринт.* Тварин, втриманих у темному місці протягом 5 хв, розташовували на освітленому центральному майданчику, піднесеному на 1 м над підлогою хрестоподібного лабіринту головою до відкритого рукава. Протягом 5 хв реєстрували латентний час входу до темного рукава, кількість відвідувань темних та світлих рукавів, центрального майданчика, кількість тварин, що відразу відвідали світлий або темний рукав, кількість фекальних болюсів та уринацій [5].

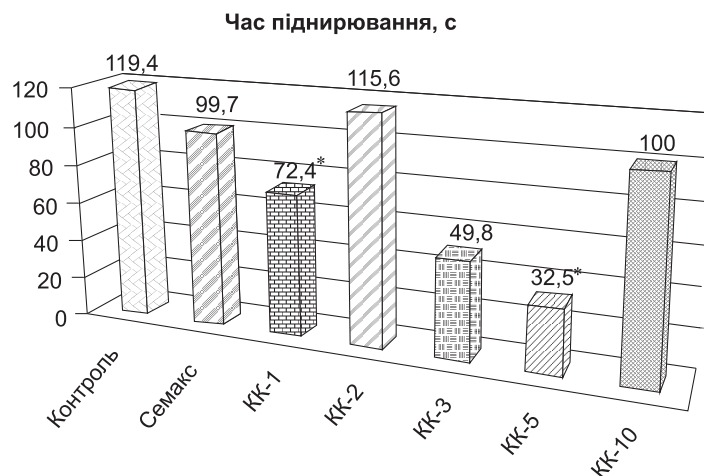
*Етанольний наркоз (ЕН)* використовували для оцінки взаємодії нейропептидів з отрутою депримууючого типу дії. 12,5 % (мас./мас.) розчин етанолу внутрішньоочеревинно вводили мишам (5,5 г абсолютного спирту на 1 кг маси тварини). Реєстрували час наркозної фази інтоксикації з моменту прийняття тваринами бічного положення до пробудження [5].

*Коразолові судоми* моделювали підшкірним введенням пентилентетразолу (коразолу) в дозі 80 мг/кг [5]. Як препарат порівняння використовували відомий антиконвульсант – вальпроат натрію (Депакін, Sanofi, Франція), внутрішньошлунково в дозі 300 мг/кг. Водні розчини пептидів вводили за 20 хв до коразолу. Протягом 60 хв реєстрували латентний період судом, кількість нападів в одній тварини, % мишей із судомами (клонічними та тонічними), тяжкість судом, час судомного періоду, час смерті, смертність у групах.

Результати наведені в формі середнього та помилки середнього ( $M \pm m$ ). Для статистичної обробки використано t-критерій Стьюдента, а при врахуванні в альтернативній формі – кутове перетворення Фішера. Міжгрупові відмінності вважали статистично значущими за умови  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

У тесті відкритого поля досліджувані препарати знижують суму всіх видів активності. Найбільш виражено це для пептидів KK-2, KK-3 та KK-5. Вони максимально та статистично значущо порівняно з контролем знижують локомоторну ( $p < 0,05$ ) та виявляють тенденцію до пригнічення орієнтовно-дослідницької діяльності, що свідчить про седативний



**Рис. 1.** Час, витрачений щурами для піднирювання під край циліндра в тесті екстраполяційного вивільнення (\* – статистично значущі відмінності з групою контролю ( $p < 0,05$ )).

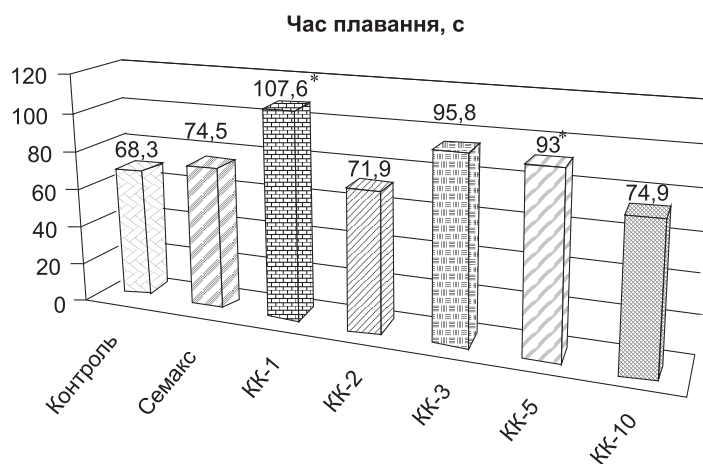
вплив. Тенденцію до зниження всіх видів активності демонструють також пептиди КК-1 та КК-10, однак пригнічення орієнтовно-дослідницької активності мінімальне для пептиду КК-1 і знаходиться на рівні групи контролю. Вегетативний супровід емоційних реакцій не зазнав значущих змін у жодній з досліджених груп. Все ж статистично значуще ( $p < 0,05$  порівняно з контролем) почастишення уринацій в групах КК-2 та КК-10 може свідчити про збільшення емоційної лабільності тварин за умов стресу.

На фоні пригнічувального впливу на поведінку у відкритому полі (КК-2, КК-3, КК-5) та тенденції до нього (КК-1, КК-10) усі пептиди позитивно вплинули на мнестичні функції у тесті УРПУ. Всі вони статистично значущо ( $p < 0,05$ ) збільшували латентний період входу до неосвітленої камери у 3,5-5,4 рази порівняно з контролем амнезії, а навченості досягли в різних групах 55-100 % тварин ( $p < 0,05$ ). Препарат порівняння пірацетам у дозі 400 мг/кг збільшував латентний час у 3,7 рази ( $p < 0,05$ ). Подібний ефект виявив і семакс, що відповідає даним літератури [9], в дозі в 20 тисяч разів меншій за дозу пірацетаму.

Позитивний вплив пептидів КК-1, КК-3 та КК-5 на когнітивні функції підтверджено в тесті ЕВ. Вони статистично значущо ( $p < 0,05$  порівняно з контролем) зменшували час, витрачений щурами на вивільнення з циліндра (на 39,4 %, 58,3 % та 72,8 % відповідно). Пептид КК-2 майже не впливав на показник, а семакс виявив тенденцію до його зниження (на 16,5 %). Критичну ситуацію опанували 100 % тварин у групах КК-1 та КК-5 та 83% – в групі КК-3 проти 43 % у контролі ( $p < 0,05$ ).

Пептиди КК-1 та КК-5 відзначилися позитивним впливом на фізичну витривалість у тесті плавання з навантаженням. Вони збільшували час плавання на 56,2 % та 36,2 % відповідно ( $p < 0,05$  порівняно з контролем). Тенденцію до збільшення фізичної витривалості виявив також пептид КК-3.

Стимулювальний вплив пептидів КК-1 та КК-5 на ЦНС спостерігався у тесті антагонізму з етанолом. Обидва пептиди зменшували тривалість наркозної фази інтоксикації на 34 % порівняно з контролем ( $p < 0,05$ ), як і референс-препарат семакс та нейропептид КК-2 ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 2.** Час плавання мишей з прикріпленим вантажем масою 10 % від маси тварини (\* – статистично значущі відмінності з групою контролю ( $p < 0,05$ )).



Рис. 3. Вплив нейропептидів на тривалість наркотичної фази етанолової інтоксикації у мишей (\* – статистично значущі відмінності з групою контролю (p < 0,05)).

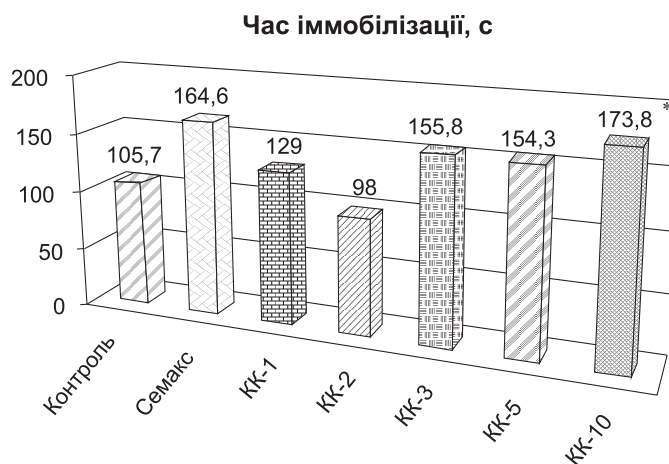


Рис. 4. Вплив нейропептидів на час іммобілізації мишей в тесті підвішування за хвіст (іммобілізаційний тест Порсолта) (\* – статистично значущі відмінності з групою контролю (p < 0,05)).

Таблиця 2

**ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ ОЛІГОПЕПТИДІВ НА ЛОКОМОТОРНУ, ОРІЄНТОВНО-ДОСЛІДНИЦЬКУ АКТИВНІСТЬ ТА ВЕГЕТАТИВНИЙ СУПРОВІД ЕМОЦІЙНИХ РЕАКЦІЙ МИШЕЙ В ТЕСТІ ВІДКРИТОГО ПОЛЯ**

Показники (за 3 хв)	Контроль (n = 7)	Семакс (n = 6)	КК-1 (n = 7)	КК-2 (n = 7)	КК-3 (n = 5)	КК-5 (n = 7)	КК-10 (n = 7)
Локомоторна активність (перетнуті квадрати)	68,7 ± 6,4	65,5 ± 8,9 (-4,66 %)	55,3 ± 4,3 (-19,5 %)	51,6 ± 2,1* (-24,9 %)	42,0 ± 7,1* (-38,9 %)	48,6 ± 6,6* (-29,3 %)	52,9 ± 4,3 (-23,0 %)
Орієнтовно-дослідницька діяльність: Стийки	9,6 ± 1,1	11,2 ± 2,4 (+16,7 %)	11,3 ± 2,5 (+17,7 %)	9,0 ± 2,5 (-6,25 %)	6,2 ± 2,3 (-35,4 %)	8,1 ± 2,4 (-15,6 %)	8,6 ± 2,2 (-10,4 %)
Отвори	64,5 ± 5,0	61,5 ± 4,7 (-4,65 %)	65,9 ± 3,9 (+2,2 %)	50,1 ± 5,0* (-22,3 %)	46,4 ± 3,4* (-28,1 %)	47,1 ± 6,1* (-27,0 %)	54,8 ± 3,2 (-15,0 %)
Сума	75,0 ± 5,6	72,7 ± 5,0 (-3,1 %)	77,1 ± 3,3 (+2,8 %)	59,1 ± 4,6 (-21,2 %)	52,6 ± 4,4* (-29,9 %)	55,3 ± 7,0* (-26,3 %)	63,4 ± 4,1 (-15,5 %)
Емоційні реакції:							
Болюси	0,86 ± 0,28	0,33 ± 0,32	0,43 ± 0,28	0,29 ± 0,28	0,4 ± 0,38	0,84 ± 0,42	0*
Уринації	0	0	0	0,43 ± 0,14*	0,2 ± 0,19	0	0,43 ± 0,14*
Грумінг	0,43 ± 0,14	0,83 ± 0,32	0,57 ± 0,28	0,86 ± 0,70	1,4 ± 0,57	0,71 ± 0,28	0,43 ± 0,14
Сума	1,29 ± 0,42	1,17 ± 0,32	1,00 ± 0,56	1,57 ± 0,70	2,0 ± 0,77	1,86 ± 0,70	0,86 ± 0,28
Сума всіх видів активності	145,0 ± 11,9	139,3 ± 13,4 (-3,93 %)	133,4 ± 4,7 (-8,00 %)	112,3 ± 5,3* (-22,6 %)	96,6 ± 12,3* (-33,4 %)	107,1 ± 12,4* (-26,1 %)	117,1 ± 7,0 (-19,2 %)

Примітка: \* – статистично значущі відмінності з групою інтактного контролю (p < 0,05).

Таблиця 3

**ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ ПЕПТИДІВ НА ФОРМУВАННЯ ПАМ'ЯТНОГО СЛІДУ НА ФОНІ  
СКОПОЛАМІНОВОЇ РЕТРОГРАДНОЇ АМНЕЗІЇ (МОДЕЛЬ УРПУ)**

Група, речовина	Доза мг/кг	n	Показники		
			ЛП вихідний, с	ЛП через 24 год, с	% тварин, у яких виробився рефлекс
Контроль інтактний	–	10	16,7 ± 1,85	168,4 ± 11,9 <sup>ψ</sup>	90 <sup>ψ</sup>
Контроль амнезії	–	14	22,6 ± 6,04	33,2 ± 5,57 <sup>ψ</sup>	0 <sup>ψ</sup>
Семакс	0,02	10	28,1 ± 3,49	128,3 ± 14,0 <sup>*®</sup>	30 <sup>*®</sup>
Пірацетам	400	6	33,2 ± 4,83	124,4 ± 26,0 <sup>*</sup>	50,0 <sup>**</sup>
NP-4	0,02	9	28,7 ± 7,85	126,7 ± 17,9 <sup>*</sup>	55,6 <sup>*</sup>
КК-1	0,02	5	33,8 ± 4,79	180,0 ± 0,00 <sup>*ψ</sup>	100 <sup>*ψ</sup>
КК-2	0,02	5	22,8 ± 4,02	180,0 ± 0,00 <sup>*</sup>	100 <sup>*ψ</sup>
КК-3	0,02	5	23,2 ± 4,41	164,8 ± 14,6 <sup>*</sup>	80 <sup>*ψ</sup>
КК-4	0,02	5	29,4 ± 6,51	116,0 ± 20,5 <sup>*®</sup>	20 <sup>*®</sup>
КК-5	0,02	5	15,6 ± 2,11	180,0 ± 0,00 <sup>*ψ</sup>	100 <sup>*ψ</sup>
КК-6	0,02	5	22,6 ± 5,75	154,2 ± 23,9 <sup>*</sup>	60 <sup>*</sup>
КК-7	0,02	5	27,6 ± 3,64	154,0 ± 26,8 <sup>*</sup>	80 <sup>*ψ</sup>
КК-8	0,02	5	15,0 ± 4,21	180,0 ± 0,00 <sup>*ψ</sup>	100 <sup>*ψ</sup>
КК-9	0,02	5	31,8 ± 12,6	150,0 ± 26,8 <sup>*</sup>	80 <sup>*ψ</sup>
КК-10	0,02	5	13,0 ± 1,34	180,0 ± 0,00 <sup>*ψ</sup>	100 <sup>*ψ</sup>

Примітка: \* – статистично значущі відмінності з групою контролю амнезії (p < 0,05); ® – статистично значущі відмінності з групою інтактного контролю (p < 0,05); ψ – статистично значущі відмінності з групою семаксу (p < 0,05); ЛП – латентний період входу до неосвітленої камери пристрою УРПУ.

За результатами іммобілізаційного тесту анти-депресивних властивостей не виявлено. Однак пептид КК-10 та референс-препарат семакс продемонстрували депресогенні властивості. Вони на 63,7 % та 55,7 % відповідно збільшували час іммобілізації (p < 0,05 порівняно з контролем). Подібною була тенденція у пептидів КК-1, КК-3 та КК-5. Зважаючи на стимулювальний вплив нейропептидів, відзначений у попередніх тестах, це може свідчити про особли-

вості фенотипу емоційно-стресової реакції мишей, які використовувалися у дослідях.

Час, проведений мишами в освітлених рукавах піднесеного хрестоподібного лабіринту, свідчить про тенденцію до анксиолітичної дії у пептидів КК-2, КК-3 та КК-5 (пряма кореляція із седативним впливом у тесті відкритого поля). Також зазначені препарати статистично недостовірно збільшували латентний час входу тварин до темного рукава, що свідчить на

Таблиця 4

**ПОКАЗНИКИ ТРИВОЖНОСТІ МИШЕЙ В ТЕСТІ ПІДНЕСЕНОГО ХРЕСТОПОДІБНОГО ЛАБІРИНТУ**

Показники	Контроль (n = 7)	Семакс (n = 7)	КК-1 (n = 7)	КК-2 (n = 7)	КК-3 (n = 6)	КК-5 (n = 7)	КК-10 (n = 7)
Латентний період входу в темний рукав, с	4,7 ± 2,9	24,1 ± 10,3	16,6 ± 3,6 <sup>*</sup>	8,7 ± 4,3	24,2 ± 11,1	31,4 ± 22,6	11,4 ± 4,3
Час знаходження, с – в світлих рукавах – в темних рукавах	7,4 ± 4,9 213,1 ± 41,5	35,0 ± 13,5 197,5 ± 17,3	7,6 ± 4,3 225,3 ± 18,0	61,1 ± 26,3 207,7 ± 28,8	32,0 ± 22,3 174,8 ± 37,7	44,1 ± 19,4 184,3 ± 25,3	6,6 ± 4,6 223,0 ± 22,2
Кількість відвідувань – світлих рукавів – темних рукавів – центр. майданчика	0,86 ± 0,56 7,4 ± 1,9 9,1 ± 2,1	2,0 ± 0,7 8,1 ± 1,7 8,6 ± 1,7	0,57 ± 0,42 5,4 ± 1,3 5,6 ± 1,4	3,4 ± 0,98 7,3 ± 1,4 7,4 ± 1,4	1,2 ± 0,48 6,3 ± 1,7 7,2 ± 1,3	2,0 ± 0,56 8,7 ± 0,98 8,9 ± 1,1	0,71 ± 0,42 8,6 ± 1,9 8,7 ± 1,9
Кількість тварин, що відразу відвідали – світлий рукав – темний рукав	0 (0%) 7 (100%)	1 (14,3%) 6 (85,7%)	0 (0%) 7 (100%)	0 (0%) 7 (100%)	1 (16,7%) 5 (83,3%)	1 (14,3%) 6 (85,7%)	0 (0%) 7 (100%)
Вегетативний супровід емоційних реакцій – болюси – уринації – сума	1,43 ± 0,70 0 1,43 ± 0,70	0,29 ± 0,28 0 0,29 ± 0,28	0,43 ± 0,42 0 0,43 ± 0,42	0,57 ± 0,13 0,14 ± 0,13 0,71 ± 0,28	0,17 ± 0,16 0,33 ± 0,16 0,50 ± 0,16	0,43 ± 0,14 0,14 ± 0,13 0,57 ± 0,13	0,71 ± 0,28 0,14 ± 0,13 0,85 ± 0,28

Примітка: \* – статистично значущі відмінності з групою контролю (p < 0,05).



Таблиця 5

**ВПЛИВ НЕЙРОПЕПТИДІВ НА ПЕРЕБІГ ГОСТРОГО СУДОМНОГО СИНДРОМУ (n = 8)**

Показники	Контроль	Депакін	Семакс	КК-1	КК-2	КК-3	КК-5	КК-10
Латентний період, хв	5,27 ± 0,83	6,55	4,59 ± 0,41	7,79 ± 2,44	5,27 ± 1,16	6,69 ± 1,01	8,59 ± 1,27*	4,00 ± 0,92
Кількість нападів на 1 мишу	1,57 ± 0,14	0,14 ± 0,14*	1,29 ± 0,22	1,43 ± 0,42	1,43 ± 0,42	1,29 ± 0,56	1,43 ± 0,14	1,43 ± 0,42
% мишей із судомами:								
а) клонічними	57,1	0	55,6	57,1	42,3	0	28,6	0
б) тонічними	42,9	14,3	44,4	28,6	42,3	57,1	71,4	71,4
Тяжкість судом, бали	3,71 ± 0,42	3,20	4,11 ± 0,34	3,40 ± 0,31	3,60 ± 0,21	4,22 ± 0,34	4,30 ± 0,31	4,60 ± 0,31
Час судомного періоду, хв	0,51 ± 0,01	0,5	0,47 ± 0,03	0,50 ± 0,00	0,55 ± 0,05	0,55 ± 0,09	0,58 ± 0,05	0,81 ± 0,26
Час смерті, хв	8,97	–	3,39 ± 3,05	9,73	–	21,97	5,86 ± 6,65	10,72 ± 1,43
Летальність, %	14,3	–	42,3	14,3	–	14,3	28,6	42,3

Примітка: \* – статистично значущі відмінності від групи контролю (p<0,05).

користь зниження тривожності мишей. Пептид КК-1 достовірно порівняно з контролем (p < 0,05) у 4 рази збільшував цей показник. Поєднання протитривожного та активуючого компонентів дії описане в літературі та є характерним для деяких похідних ГАМК (фенібут, мефебут), що вдало використовуються в неврологічній практиці [1].

На моделі коразолових судом жоден з досліджених нейропептидів не виявив ані проконвульсивних, ані антиконвульсивних властивостей. Однак фармакологічний препарат КК-10 та референс-препарат семакс статистично недостовірно збільшували летальність тварин і тяжкість судом, що свідчить про підвищену збудливість мотонейронів під дією ноотропів [3].

Таким чином, результати дослідження психотропних властивостей олігопептидів та їх взаємодії з етанолом та коразолом свідчать про стимуляцію когнітивних функцій, особливо виразну для пептидів КК-1 та КК-5, які також виявляють позитивний вплив на фізичну витривалість, у цілому активуючи ЦНС. Седативний вплив пептидів КК-2, КК-3 та КК-5, виявлений у тесті відкритого поля, прямо корелює зі зниженням тривожності мишей у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту, що характеризує психотропний вплив цих препаратів як транквілоноотропний. Жоден із досліджених нейропептидів не потенціює дію коразолу, разом з цим препарати КК-1, КК-2 та КК-5 виявляють антагонізм до дії етанолу. За комплексом фармакологічної активності – виразної церебропротекторної, ноотропної, транквілізуючої, алко- та актопротекторної – інтерес для поглибленого вивчення становлять нейропептиди КК-1 та КК-5, що містять D-лізин у першому положенні тетрапептидного ланцюга.

**ВИСНОВКИ**

1. Усі досліджені пептиди – гомологи ланки АКГГ 15-18 виявляють виражений ноотропний ефект

на моделі скополамінової ретроградної амнезії, перевищуючи показники референс-препаратів семаксу та пірацетаму.

2. Нейропептиди КК-1 та КК-5, які містять D-лізин у першому положенні амінокислотної послідовності, мають найбільш сприятливий спектр фармакологічної активності, стимулюючи ЦНС у тестах екстраполяційного вивільнення, плавання з навантаженням та виявляючи антагонізм до дії етанолу. Також ці пептиди знижують тривожність тварин у тестах піднесеного хрестоподібного лабіринту та відкритого поля.
3. Пептид КК-10, що має зворотній до ланки АКГГ 15-18 порядок амінокислот у ланцюгові, а також препарат порівняння семакс виявляють депресогенні властивості.
4. Олігопептиди не демонструють взаємодії з коразолом. Тільки КК-10 виявив тенденцію до збільшення летальності мишей та тяжкості коразолових судом, однак не перевищив показники референс-препарату семаксу. Пептиди КК-1, КК-2 та КК-5 статистично значущо виявляють антагонізм до пригнічувальної дії етанолу.
5. Поєднання встановлених раніше церебропротекторних властивостей пептидів КК-1, КК-5 та їхньої ноотропної, транквілізуючої, алко- та актопротекторної дії є перспективним для подальшого клінічного використання.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Багметова В. В. Сравнительное экспериментальное изучение ноотропных свойств аналога ГАМК фенибута и его метилового эфира / [В. В. Багметова, Л. Е. Бородкина, И. Н. Тюренков и др.] // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 10. – С. 467-471.
2. Дейко Р. Д. Экспериментальное исследование церебропротекторных и антиамнестических свойств но-

- вых нейроактивных пептидов / Р.Д. Дейко, С.Ю. Штрыголь, А.А. Колобов // *Обзоры по клин. фармакол. и лекарственной терапии.* – 2013. – Т. 11. – С. 46.
3. Машковский М. Д. / *Лекарственные средства: в 2-х т. Т. 1.* – 14-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО Изд-во Новая Волна, 2002. – 540 с.
  4. *Нейропротекция: модели, механизмы, терапия* / Под ред. М. Бэра; пер. с англ. под ред. В. П. Зыкова, П. Р. Камчатнова. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. – 429 с.
  5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств* / Под ред. д. мед. наук А. Н. Миронова. – Ч. 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
  6. Черний В. И. Острая церебральная недостаточность / [В. И. Черний, В. Н. Ельский, Г. А. Городник и др.]. Под ред. В. И. Черний. – 4-е изд., испр. и доп. – Донецк: Издатель Заславский А. Ю., 2010. – 434 с.
  7. Штрыголь С. Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах / С. Ю. Штрыголь. – Х.: Авеста-ВЛТ, 2007. – 360 с.
  8. De Wied D., Jolles J. Neuropeptides derived from pro-opiocortin: behavioral, physiological, and neurochemical effects // *Physiol. Rev.* – 1982. – Vol. 62, № 3. – P. 976-1059.
  9. Iasnetsov V. V. Pharmacological correction of memory impairment caused by a complex extremal action in mice with bilateral ligation of common carotid arteries / V. V. Iasnetsov, Iu. V. Ivanov // *Eksp. Klin. Farmakol.* – 2004. – № 5 (67). – P. 4-5.
  10. Porsolt R. D., Lenegre A. Behavioral models of depression // *Experimental Approaches to Anxiety and Depression* / J. M. Elliot, D. J. Heal, C. A. Morsden (eds.) – Chichester New York, 1992. – P. 73-85.
  11. Strober W. Trypan blue exclusion test of cell viability / W. Strober // *Curr. Protoc. Immunol.* – 2001. – Appendix 3B.

### УДК 615.214.2/.3:615.357:577.112.3

Р. Д. Дейко, С. Ю. Штрыголь, А. Н. Прусаков, А. А. Колобов

#### ИССЛЕДОВАНИЕ ПСИХОТРОПНЫХ СВОЙСТВ И ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С ВЕЩЕСТВАМИ УГНЕТАЮЩЕГО И ВОЗБУЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ ОЛИГОПЕПТИДОВ, ГОМОЛОГИЧНЫХ ПЕРВИЧНОЙ АМИНОКИСЛОТНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ УЧАСТКА АКТГ 15-18

Исследованы психотропные свойства оригинальных нейроактивных олигопептидов общей формулы Lys-Lys-Arg-Arg, содержащих природные аминокислоты, резистентные к действию аминопептидаз крови, их D-формы, а также N-метилованные производные. Все пептиды обладают ноотропной активностью. Ряд олигопептидов проявил активирующее влияние на ЦНС в тестах экстраполяционного избавления, плавания с нагрузкой, антагонизма с этанолом и анксиолитическую активность.

**Ключевые слова:** нейропептиды; психотропные свойства; поведенческие тесты

### UDC 615.214.2/.3:615.357:577.112.3

R. D. Deiko, S. Yu. Shtrygol', A. N. Prusakov, A. A. Kolobov

#### STUDY OF PSYHOTROPIC PROPERTIES AND INTERACTION WITH INHIBITORY AND STIMULATE SUBSTANCES OF NEW OLIGOPEPTIDES HOMOLOGOUS PRIMARY SEQUENCE OF ACTH 15-18

Investigated psychotropic properties original neuroactive oligopeptides of the general formula Lys-Lys-Arg-Arg, which contain naturally aminoacids that are resistant to the action of blood aminopeptidases, their D-forms, as well as N-methylated derivatives. For all the objects found pronounced nootropic activity. Some oligopeptides showed an activating effect on the CNS in the tests of the extrapolation deliverance, swimming with a load, antagonism with ethanol, anxiolytic activity.

**Key words:** neuropeptides; psychotropic properties; behavioral tests

Адреса для листування:  
61121, м. Харків, вул. Тимурівців, 35, кімн. 438.  
Р. Д. Дейко

Надійшла до редакції  
11.12.2014 р.



УДК 615.322:582.772.2:615.277:615.28

І. В. ПАВЛЮК<sup>1</sup>, Н. Є. СТАДНИЦЬКА<sup>1</sup>, І. ЯСЦЬКА-МІСЯК<sup>2</sup>, П. ВЕЧОРЕК<sup>2</sup>,  
Г. В. ЗАГОРІЙ<sup>3</sup>, О. М. БРЕЗВИН<sup>4</sup>, Г. В. РУДИК<sup>4</sup>, В. П. НОВІКОВ<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Національний університет «Львівська Політехніка»

<sup>2</sup> Опольський університет, Польща

<sup>3</sup> Київська національна академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика

<sup>4</sup> Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок

## ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ВТОРИННОГО ЕКСТРАКТУ ЗІ ШРОТУ ТРАВИ МАТЕРИНКИ ЗВИЧАЙНОЇ (*ORIGANUM VULGARE*)

Проведено вивчення антимікробної активності вторинного екстракту зі шроту трави материнки звичайної (*Origanum vulgare*) по відношенню до 7 стандартних тест-штамів мікроорганізмів. Мінімальна бактерицидна концентрація екстракту по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р складала 3,125-6,25 мг/мл та 6,25-12,5 мг/мл до грамнегативних бактерій та *Candida albicans* ATCC 10231. Загальна антиоксидантна активність, визначена методом DPPH, екстракту в концентрації 400 мкг/мл становила 92 %. Досліджуваний екстракт виявляє фотопротекторну активність. Отримані результати підтверджують перспективність використання шроту трави материнки для виготовлення екстрактів та створення на їх основі фармацевтичних препаратів, засобів для ветеринарії та косметології.

**Ключові слова:** шрот трави материнки звичайної (*Origanum vulgare*); антимікробна активність; антиоксидантна активність; фотопротекторна активність

### ВСТУП

Лікарські препарати рослинного походження займають достойне місце серед засобів профілактики та лікування багатьох захворювань [4]. В останні роки зростає потреба в раціональному використанні сировинних ресурсів. Пошук перспективних рослинних джерел біологічно активних речовини (БАР) з достатньою сировинною базою в Україні, розробка та створення на їх основі фармацевтичних препаратів та засобів для косметології є актуальним завданням вітчизняної фармацевтичної науки. Одним зі шляхів вирішення цієї проблеми є комплексне використання лікарської рослинної сировини. Враховуючи це, для досліджень обрано промисловий шрот трави материнки звичайної (*Origanum vulgare*), яка має багатоголіковий досвід використання у народній медицині, використовується як приправа в кулінарії, а також введена до Державної фармакопеї України та Європи [2, 9]. Трава материнки містить ефірну олію (до складу якої входять: тимол, карвакрол, сесквітерпени, вільні спирти, геранілацетат), флавоноїди, дубильні речовини, аскорбінову кислоту. Цей комплекс біологічно активних речовин чинить відхарку-

вальну, протизапальну, антимікробну дію. Препарати материнки підвищують секрецію травних, бронхіальних та потових залоз, діють заспокійливо на центральну нервову систему, посилюють перистальтику і тонус кишечника, скорочення гладкої мускулатури матки, стимулюють секрецію жовчі, підвищують діурез, регулюють менструальний цикл, мають знеболювальні властивості. В домашній косметичці материнка використовується у вигляді настоек для догляду за шкірою та волоссям [1]. Трава материнки виявляє високу антиоксидантну активність [7, 14, 13], антибактеріальну та антигрибкову дію [8, 10, 15]. Отже, шрот після первинної переробки сировини може бути ще раз використаний в якості джерела БАР.

Метою нашого дослідження було проведення біологічного скринінгу, а саме, визначення антимікробної, антиоксидантної та фотопротекторної активності вторинного екстракту, одержаного з промислових фітовідходів трави материнки звичайної.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

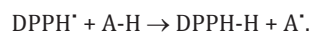
Антимікробну активність, а саме визначення мінімальної інгібуючої концентрації досліджували методом послідовних розведень у рідкому поживному середовищі. Результатом була наявність або відсут-

## МІНІМАЛЬНА БАКТЕРИЦИДНА КОНЦЕНТРАЦІЯ ЕКСТРАКТУ ЗІ ШРОТУ ТРАВИ МАТЕРИНКИ

Тест-мікроорганізми						
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	<i>Salmonella</i> Abony CIP8039	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404
Діапазон МБцК, мг/мл						
3,125-6,25	6,25-12,5	3,125-6,25	6,25-12,5	6,25-12,5	6,25-12,5	не виявляє активності

ність росту мікроорганізмів при різних концентраціях досліджуваного зразка [3]. Оцінку антимікробної активності проводили на тест-штабах грампозитивних бактерій: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативних бактерій: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella Abony CIP-8039*, на дріжджовому грибку: *Candida albicans* ATCC 10231 та плісневому *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 [2]. Для статистичної точності результатів всі випробування проводили в шести повторях.

Для оцінки антиоксидантної активності (АОА) застосовували метод, зоснований на реакції 2,2-дифеніл-1-пікрілгідразу (DPPH), розчиненого в метанолі, із зразком антиоксиданта (А-Н), а саме досліджуваного екстракту по схемі:



В результаті відновлення DPPH<sup>·</sup> антиоксидантом спостерігається поступове знебарвлення розчину DPPH в метанолі, яке визначається зміною оптичної густини при 517 нм на спектрофотометрі [5].

Модель системи для визначення фотопротекторної активності заснована на УФ-індукованій зміні кольору каротиноїдів екстракту паприки (*Capsicum annuum*) [6, 11, 12]. В агар (20 мг/мл) додавали екстракт паприки з розрахунку 0,2 г екстракту на 1 л агару. Для порівняння інтенсивності фотопротекторної активності використовували розчин рутину та кверцетину у метанолі в концентрації 0,25 мг/мл і досліджуваний екстракт в концентрації 1 мг/мл. Контролем був зразок агару без додавання екстракту паприки. Всі зразки піддавали ультрафіолетовому опроміненню при 360 нм протягом 120 хвилин.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для визначення мінімальної бактерицидної концентрації (МБцК) із пробірок в яких середовище залишилося прозорим, тобто візуально видимий ріст мікроорганізмів був відсутній, робили висів 0,1 мл вмісту пробірки на чашки Петрі з густим поживним середовищем. Після інкубації відзначали ту мінімальну концентрацію екстракту, посів з якої не давав росту мікроорганізмів на густому поживному середови-

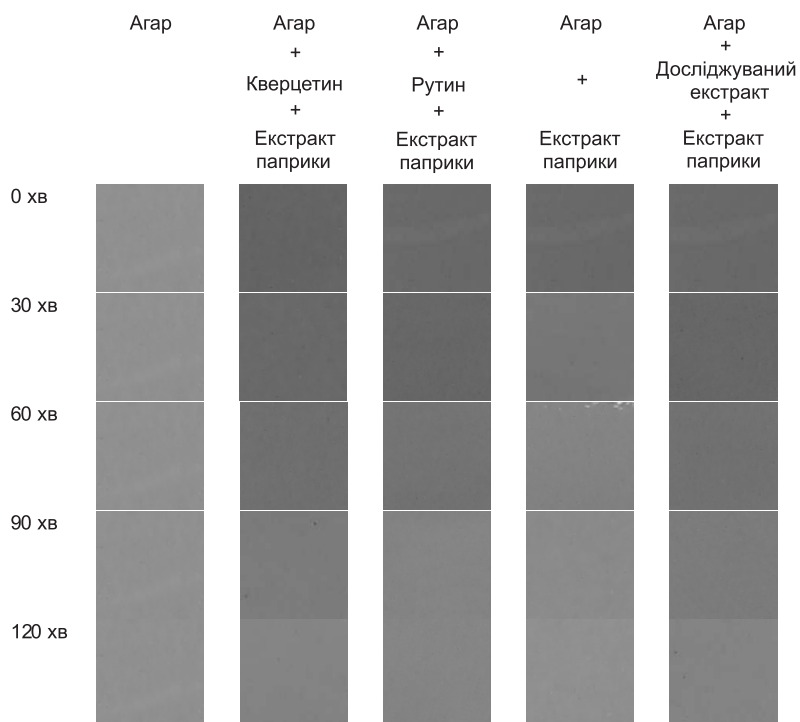


Рис. Фотопротекторна активність екстракту зі шроту трави материнки звичайної.

щі. Ця кількість екстракту відповідає його мінімальній бактерицидній концентрації. МбцК екстракту по відношенню до *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P знаходиться в межах 3,125-6,25 мг/мл та 6,25-12,5 мг/мл до грамнегативних бактерій та *Candida albicans* ATCC 10231 (результати представлені в табл.).

Антиоксидантну активність обчислювали за формулою:

$$AOA (\%) = 100 (A_0 - A) / A_0,$$

де:  $A_0$  – оптична густина розчину DPPH в метанолі з концентрацією 2,2 мг/100 мл;

$A$  – оптична густина розчину досліджуваного екстракту.

АОА (%) досліджуваного екстракту в концентрації 400 мкг/мл становила 92 %, в концентрації 100 мкг/мл – 60 % та для 40 мкг/мл – 21 %, що свідчить про високий рівень АОА вторинного екстракту зі шроту трави материнки.

Рівень фотопротекторної активності визначали по візуальній зміні інтенсивності забарвлення пігментів паприки протягом всього часу опромінення. Для цього робили фотографії через 0, 30, 60, 90 та 120 хвилин в однакових умовах (результати представлені на рис.). Через 60 хв спостерігається значне знебарвлення пігментів паприки, тоді як у контрольному зразку з додаванням екстракту зі шроту трави материнки забарвлення пігментів паприки залишається на рівні зі зразком з додаванням рутину. Одержані дані свідчать про наявність фотопротекторної активності досліджуваного екстракту.

#### ВИСНОВКИ

1. Вивчена *in vitro* антимікробна активність екстракту зі шроту трави материнки звичайної (*Origanum vulgare*). Встановлені мінімальні бактерицидні концентрації по відношенню до грам-позитивних, грамнегативних бактерій та дріжджового гриба, які знаходяться в діапазоні 3,25-12,5 мг/мл, отже досліджуваний екстракт виявляє значну антимікробну активність.
2. Досліджена загальна антиоксидантна активність екстракту зі шроту трави материнки звичайної є високою (92 %).
3. При додаванні екстракту зі шроту трави материнки звичайної спостерігалось збереження забарвлення пігментів паприки на рівні зразка з вмістом рутину, що свідчить про наявність фотопротекторної активності.
4. Одержані результати підтверджують доцільність використання шроту трави материнки звичайної для одержання вторинних екстрактів та застосування у складі фармацевтичних препаратів і засобів для ветеринарії та косметології з антимікробною, антиоксидантною та фотопротекторною дією.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

##### ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Гродзінський А. М. Лікарські рослини: [енциклопед. довідник] / За ред. А. М. Гродзінського. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1991. – 544 с.
2. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний центр». – 1 вид. – Х.: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Лабинская А. С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: [учеб. пособие] / Под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блиникова, А. С. Ещиной. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
4. Махалюк В. П. Лекарственные растения в народной медицине / В. П. Махалюк. – М.: Нива России, 1992. – 478 с.
5. Хасанов В. В. Методы исследования антиоксидантов / В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова, Е. В. Мальцева // Химия растит. сырья. – 2004. – № 3. – С. 63-75.
6. Cuvelier M. Phenolic compounds and plant extracts protect paprika against UV-induced discoloration / M. Cuvelier, C. Berset // Int. J. of Food Sci. and Technol. – 2005. – № 40. – P. 67-73.
7. Dadalioglu I. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common food-borne pathogens / I. Dadalioglu, G. A. Evrendilek // J. Agric. Food Chem. – 2004. – Vol. 52, № 27. – P. 8255-8260.
8. Dorman H. J. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils / H. J. Dorman, S. G. Deans // J. Appl. Microbiol. – 2000. – Vol. 88, № 2. – P. 308-316.
9. European Pharmacopoeia 8-th ed. – Strasbourg Council of Europe, 2013. – 3893 p.
10. Faleiro L. Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbra capitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* / [L. Faleiro, G. Miguel, S. Gomes et al.] // L. J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53, № 21. – P. 8162-1868.
11. Jarzycka A. Assessment of extracts of *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* grain photoprotective UVA and UVB; photostability in cosmetic emulsions / A. Jarzycka, A. Lewin'ska, R. Gancarz, K. Wilk // J. of Photochemistry and Photobiol. B: Biology. – 2013. – № 128. – P. 50-57.
12. Kapur A. Screening methanolic extracts of beta vulgaris roots for photoprotective activity / A. Kapur, S. Sati, P. Gupta // Int. J. Pharm. Sci. – Vol. 4. – P. 124-127.
13. Lagouri V. Nutrient antioxidants in oregano / V. Lagouri, D. Boskou // Int. J. Food Sci. Nutr. – 1996. – Vol. 47, № 6. – P. 493-497.

14. Nakatani N. A new antioxidative glucoside isolated from oregano (*Origanum vulgare* L.) / N. Nakatani, H. Kikuzaki // *Agric. Biol. Chem.* – 1987. – Vol. 51, № 26. – P. 2727-2732.
15. Teixeira B. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil / [B. Teixeira, A. Marques, C. Ramos et al.] // *Sci. Food Agric.* – 2013. – Vol. 93. – P. 2707-2714.

**УДК 615.322:582.772.2:615.277:615.28**

**И. В. Павлюк, Н. Е. Стадницькая, И. Ясицка-Мисяк, П. Вечорек, Г. В. Загорий, О. М. Брезвин, Г. В. Рудик, В. П. Новиков**

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ВТОРИЧНОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ШРОТА ТРАВЫ ДУШИЦЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (*ORIGANUM VULGARE*)**

Проведено изучение антимикробной активности вторичного экстракта из шрота травы душицы обыкновенной (*Origanum vulgare*) относительно 7 стандартных тест-штаммов микроорганизмов. Минимальная бактерицидная концентрация экстракта относительно *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P составляет 3,125-6,25 мг/мл и 6,25-12,5 мг/мл к грамотрицательным бактериям и *Candida albicans* ATCC 10231. Общая антиоксидантная активность, определенная методом DPPH, экстракта в концентрации 400 мкг/мл была 92 %. Установлено, что исследуемый экстракт обладает фотопротекторной активностью. Полученные результаты подтверждают перспективность использования шрота травы душицы обыкновенной для изготовления экстрактов и создания на их основе фармацевтических препаратов и средств для ветеринарии и косметологии.

**Ключевые слова:** шрот травы душицы обыкновенной (*Origanum vulgare*); антимикробная активность; антиоксидантная активность; фотопротекторная активность

**UDC 615.322:582.772.2:615.277:615.28**

**I. V. Pavluk, N. E. Stadnytska, I. Jasicka-Misiak, P. Wiczorek, G. V. Zagoriy, O. M. Brezvyin, H. V. Rudyk, V. P. Novikov**

**STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF SECONDARY EXTRACT FROM OREGANO HERBS WASTE (*ORIGANUM VULGARE*)**

Studied the antimicrobial activity of secondary extract from oregano herbs waste (*Origanum vulgare*) against 7 standard test strains of microorganisms. Minimum bactericidal concentration of the extract to *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P-is 3.125-6.25 mg/ml and 6.25-12.5 mg/ml to gram-negative bacteria and *Candida albicans* ATCC 10231. Total antioxidant activity determined by DPPH, secondary extract at a concentration of 400 ug/ml was 92 %. The tested extract had photoprotective activity. Obtained results confirm the perspective of using waste of oregano herbs for making extracts and creation on their basis of pharmaceuticals, veterinary drugs and cosmetics.

**Key words:** waste of oregano herbs (*Origanum vulgare*); antimicrobial activity; antioxidant activity; photoprotective activity

Адреса для листування:  
79013, м. Львів, вул. С. Бандери, 12.  
Тел. (067) 9036951. Е-mail: ipavluk@gmail.com.  
Національний університет «Львівська політехніка»

Надійшла до редакції  
10.12.2014 р.



УДК 615.33:615.322:615.244:616.37-002

О. І. НАБОКА, С. З. ХУАРІ, Ю. Б. ЛАР'ЯНОВСЬКА, В. С. ПТАШИНСЬКА, О. В. ПАВИЧЕНКО

Національний фармацевтичний університет

## МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОЇ НЕФРОТОКСИЧНОЇ ДІЇ БІ-ТОЛУ ТА КОРЕГУЮЧОГО ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗОЛОТИСТОГО ТА КУРАЮ ПАГОРБКОВОГО

*Представлені результати морфологічного дослідження можливої нефротоксичної дії Бі-толу та корегуючого впливу спиртових екстрактів кураю пагорбкового і ласкавця золотистого в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг. При мікроскопічному дослідженні в нирках інтактних щурят спостерігали чіткий поділ тканини на кіркову та мозкову речовину. Рисунок капілярних петель клубочків помірно виразний, вміст ядер у межах норми. Звивисті каналці (дистальні та проксимальні) звичайні за розміром, формою. Просвіт каналців добре видний. У мозковому шарі гістоструктура збиральних трубочок та прямих каналців не змінена. Після введення Бі-толу у звивистих каналцях нефрону помічено наявність нефроцитів, схожих на апоптотично змінені клітини. Спостерігали також злушення епітеліальних клітин (у тому числі і апоптотично подібних) у просвіт каналців. Помітно підвищено мітоз епітелію звивистих каналців. У декількох щурят виявлено дрібноосередковий інтерстиціальний нефрит. Після введення екстракту кураю пагорбкового на тлі Бі-толу у щурят виразно поменшало звивистих каналців, в яких видно апоптотично подібні клітини, злушення епітелію у просвіт каналців, особливо після введення дози 10 мг/кг. При використанні екстракту ласкавця золотистого у дозі 10 мг/кг ніяких відхилень від нормального стану звивистих каналців не спостерігали. Після введення кверцетину або силібору на тлі Бі-толу абсолютна більшість звивистих каналців не змінена, зорових ознак наявності апоптотично подібних клітин та поділу нефроцитів практично не спостерігали. Отже, за «апоптозпротекторною» дією у нирках перевагу мав екстракт ласкавця золотистого, який не поступався кверцетину та силібору.*

**Ключові слова:** сульфаніламідні препарати; нефротоксична дія; екстракт ласкавця золотистого; екстракт кураю пагорбкового; гістологія

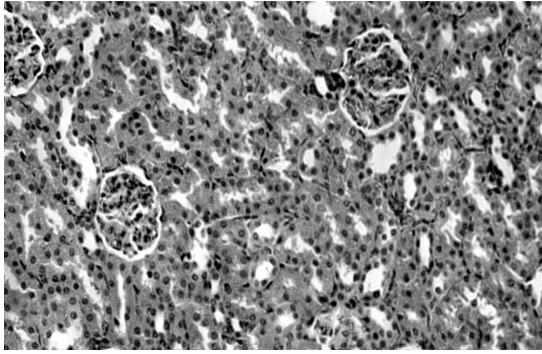
### ВСТУП

Проблема безпеки лікарських препаратів є актуальною в усьому світі. Смертність внаслідок негативної дії лікарських препаратів посідає 5-те місце після серцево-судинних захворювань, хвороб легень, онкологічної патології та травм [1]. Однією з груп медикаментозних препаратів, які часто призначають, є сульфаніламідні. Сульфаніламідні препарати – це перші хімотерапевтичні засоби, які систематично стали застосовувати для попередження та лікування бактеріальних інфекцій у людини [10]. На особливу увагу заслуговують гепатотоксичні і нефротоксичні ефекти антибактеріальних препаратів [5]. Недивлячись на те, що ці лікарські засоби викликають вказані реакції з невисокою частотою, їх широке медичне застосування і значні об'єми використання можуть обумовлювати лікарські ураження печінки і нирок у достатньо великої кількості пацієнтів [4, 7].

Приблизно 5 % пацієнтів, які застосовували сульфаніламідні, отримували ускладнення захворювань нирок [10].

У зв'язку з цим фармакологічна наука приділяє велику увагу пошуку нових ефективних та нешкідливих лікарських засобів із гепато- і нефропротекторною дією, а удосконалення вже існуючих лікарських препаратів, перш за все, спрямоване на підвищення їх специфічності і зменшення побічних ефектів, пов'язаних із фармакологічними властивостями препарату [12, 13].

На сьогодні в Україні з групи сульфаніламідних препаратів широко застосовується вітчизняний препарат Бі-тол виробництва Житомирської фармацевтичної фабрики. Попередніми дослідженнями було встановлено, що Бі-тол у дозі 0,7 мг/кг при двотижневому курсі введення чинить певну гепатотоксичну дію. У щурят розвивається помірно виразний реактивний лікарський підгострий гепатит з зорово помітним підвищенням рівня апоптозу гепатоцитів.



**Рис. 1.** Нирка інтактного щуряти. Нормальний стан ниркових тілець та звивистих каналців. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

Рослинні екстракти ласкавця золотистого та кураю пагорбкового в певній мірі корегують гепатотоксичну дію Бі-толу, знижують виразність апоптозу гепатоцитів. Метою даного дослідження стало морфологічне вивчення можливої нефротоксичної дії Бі-толу та корегуючого впливу спиртових екстрактів ласкавця золотистого та кураю пагорбкового.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

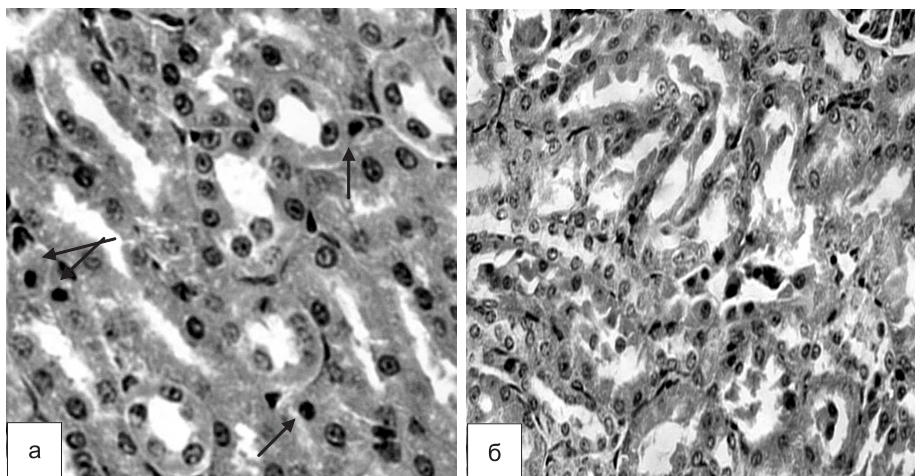
Досліджена морфоструктура нирок щурят з відомою масою 60-100 г, яким протягом 2 тижнів вводили Бі-тол у дозі 0,7 мг/кг; аналогічні органи щурят, які на тлі Бі-толу отримували спиртовий екстракт кураю пагорбкового та спиртовий екстракт ласкавця золотистого у дозах 5 мг/кг та 10 мг/кг або препарати порівняння силібор у дозі 100 мг/кг чи кверцетин у дозі 50 мг/кг, а також нирки інтактних щурят відповідної маси. Виведення щурят з експерименту проводили шляхом декапітації під легким ефірним наркозом згідно з положеннями Європейської конвенції по захисту прав хребетних тварин, що використовуються для дослідження та інших наукових цілей [6]. Гістологічні дослідження проведені у ЦНДЛ

НФаУ (зав. лаб., д. м. н., проф. Штриголь С. Ю.) у співпраці зі ст. н. співр. Лар'яновською Ю. Б. Відібрані зразки органів фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої концентрації, заливали у целоїдин-парафін [2, 11]. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином [7, 8, 11]. Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

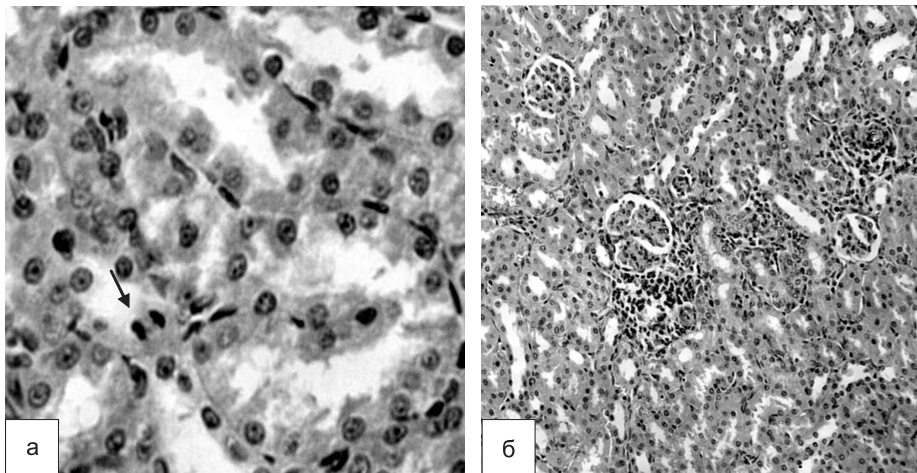
При мікроскопічному дослідженні у нирках інтактних щурят спостерігали чіткий поділ тканини на кіркову та мозкову речовину. У кірковій речовині видні численні сформовані ниркові тільця, розташовані зі звичайною щільністю. Розмір основної маси ниркових тілець нормальний. Рисунок капілярних петель клубочків помірно виразний, вміст ядер у межах норми. Ступінь розширення капілярів достатній, еритроцити у капілярах розташовані центрально. Просвіт капсули вільний, звичайний за розміром. Звивисті каналці (дистальні та проксимальні частини каналців нефронів) звичайні за розміром, формою. Нефротелій не змінено, ядра чіткі. Як правило, варіювання ядер за кількістю та розмірами відсутні. Просвіт каналців добре видний. У частині каналців відмічено помірне розпушення апікальних відділів нефротелію. У мозковому шарі гістоструктура збиральних трубочок та прямих каналців не змінена. Стан внутрішньоорганних кровоносних судин та строми без особливостей (рис. 1).

Після введення Бі-толу помітних змін у стані ниркових тілець не спостерігали. У звивистих каналцях помічена наявність нефроцитів з більш потужною еозинофільною цитоплазмою та пікнотичним ядром, схожих на апоптотично змінені клітини. Вогнищево

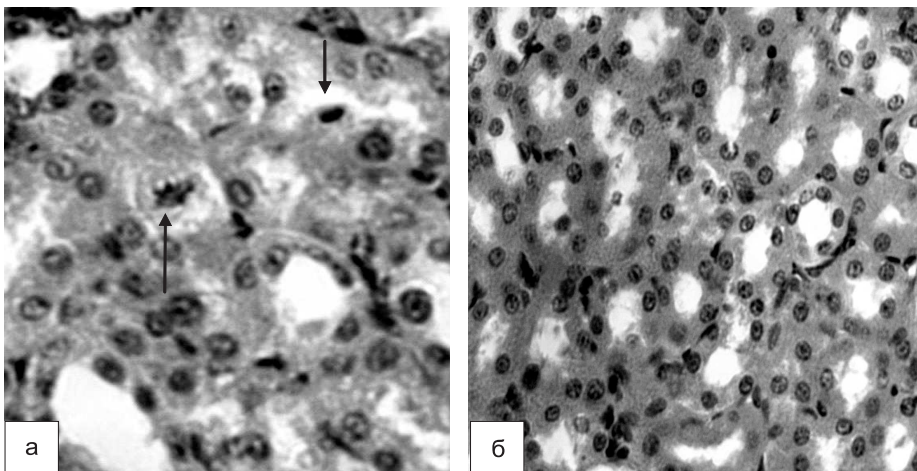


**Рис. 2.** Нирка щурят після введення Бі-толу:  
а – апоптотично подібні епітеліальні клітини у звивистих каналцях ( $\times 400$ );  
б – злушення нефроцитів у просвіт каналців ( $\times 250$ ). Гематоксилін-еозин.





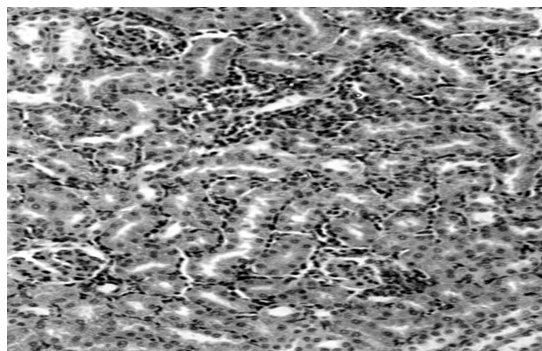
**Рис. 3.** Нирка щуряти після введення Бі-толу:  
*а – мітоз у епітеліальній клітині (x400);*  
*б – круглоклітинний інфільтрат у інтерстиції кіркової речовини (x200). Гематоксилін-еозин.*



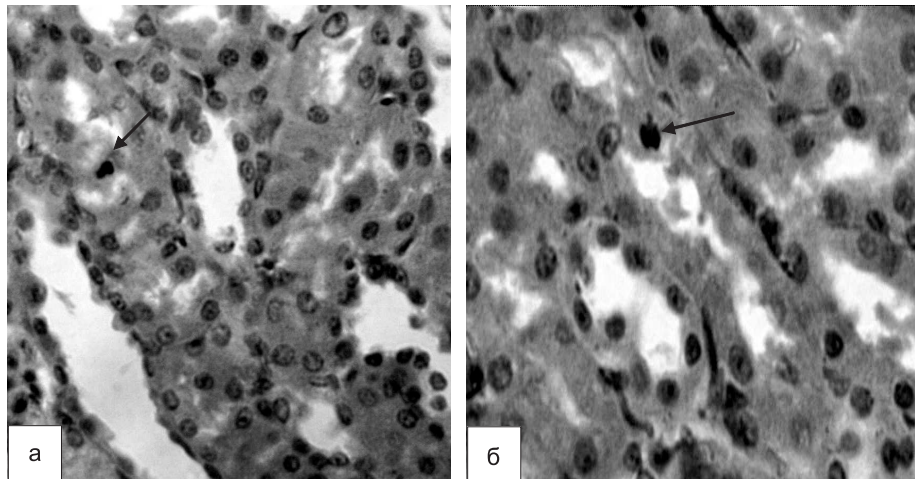
**Рис. 4.** Нирка щуряти після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 5 мг/кг (а) та 10 мг/кг (б) та Бі-толу: *а – поодинокі каналці з мітозом та апоптотично подібними клітинами, коливання розміру ядер нефроцитів (x400);*  
*б – незмінені звивисті каналці (x250). Гематоксилін-еозин.*

простежено злушення епітеліальних клітин (у тому числі і апоптотично подібних) у просвіт каналців (рис. 2). Помітно підвищено мітоз епітелію звивистих каналців. Крім того, у декількох щурят виявлено дрібноосередкований інтерстиціальний нефрит (рис. 3).

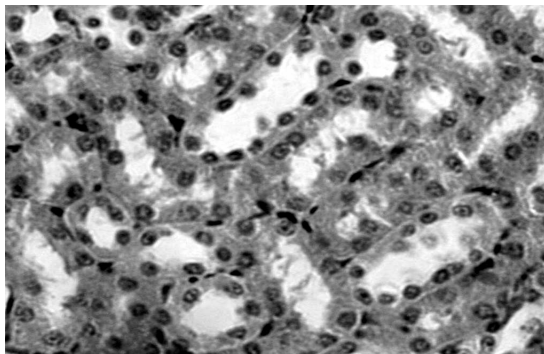
Після введення екстракту кураю пагорбкового на тлі Бі-толу у щурят виразно поменшало звивистих каналців, в яких видно апоптотично подібні клітини, злушення епітелію у просвіт каналців, особливо після введення дози 10 мг/кг. В той же час ще залишався підвищений рівень поділу епітелію, спостерігали доволі помітне коливання розміру ядер нефроцитів – певна напруга функції клітин (доза 5 мг/кг), поодинокі дрібні круглоклітинні інфільтрати в інтерстиції кіркової речовини (доза 10 мг/кг) (рис. 4, рис. 5).



**Рис. 5.** Нирка щуряти після одночасного введення екстракту кураю пагорбкового у дозі 10 мг/кг та Бі-толу. *Осередки круглоклітинної інфільтрації в інтерстиції кіркової речовини. Гематоксилін-еозин. x200.*



**Рис. 6.** Нирка щуряти після одночасного введення екстракту ласкавця золотистого у дозі 5 мг/кг та Бі-толу:  
а – апоптотично подібна клітина; б – мітоз нефроциту. Гематоксилін-еозин. x400.



**Рис. 7.** Нирка щуряти після одночасного введення екстракту ласкавця золотистого у дозі 10 мг/кг та Бі-толу. Незміннені звивисті каналці. Гематоксилін-еозин. x400.

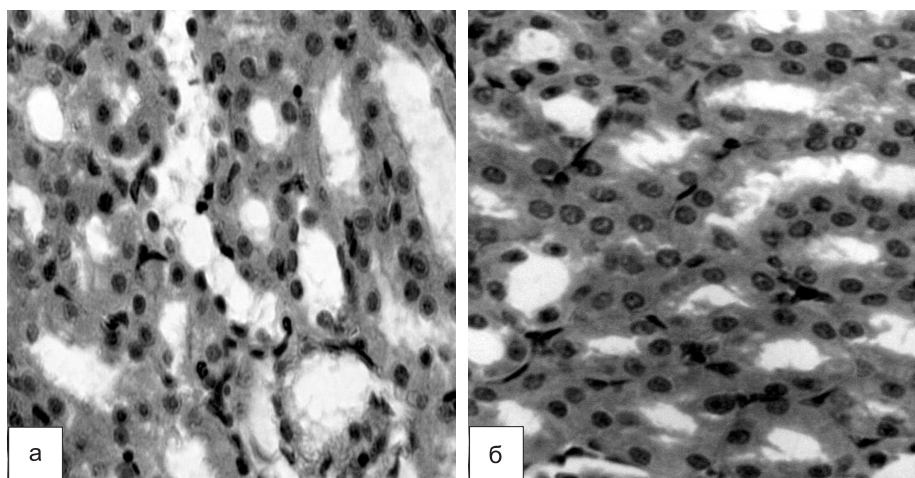
Нормальний стан переважної більшості звивистих каналців спостерігали і після введення щуря-

там екстракту ласкавця золотистого на тлі Бі-толу у дозі 5 мг/кг. Лише дуже нечисленні каналці містили апоптотично подібні епітеліальні клітини та нефроцити у стані поділу (рис. 6).

Після введення екстракту ласкавця золотистого у дозі 10 мг/кг ніяких відхилень від нормального стану звивистих каналців не спостерігали (рис. 7).

Після введення кверцетину або силібору на тлі Бі-толу абсолютна більшість звивистих каналців не змінена, зорових ознак наявності апоптотично подібних клітин та поділу нефроцитів практично не спостерігали (рис. 8).

Отже, Бі-тол у дозі 0,7 мг/кг при двотижневому курсі введення чинить певну нефротоксичну дію. Досліджені екстракти в певній мірі корегують нефротоксичну дію Бі-толу, знижують виразність апоптозу в нефроцитах. Перевагу має екстракт ласкавця золотистого.



**Рис. 8.** Нирки щуряти після одночасного введення кверцетину (а) та силібору (б) з Бі-толом. Нормальний стан звивистих каналців. Гематоксилін-еозин. x400.



**ВИСНОВКИ**

1. При двотижневому курсі введення Бі-толу в дозі 0,7 мг/кг у нирках щурят спостерігали підвищену наявність апоптотично змінених клітин (морфологічні особливості апоптотичних клітин є спільними для будь-яких еукаріотичних клітин).
2. За «апоптозопротекторною» дією у нирках перевагу мав екстракт ласкавця золотистого, який не поступався кверцетину та силібору. Екстракт кураю пагорбкового за таким ефектом поступався обом препаратам порівняння.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Амосова Е. Н. Актуальные вопросы лечения больных ишемической болезнью сердца в сочетании с сахарным диабетом / Е. Н. Амосова // Укр. мед. часопис. – 2008. – У/УІ, № 3 (23). – С. 12-17.
2. Аруин Л. И. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций: [руководство АМН СССР] / [Л. И. Аруин, А. Г. Бабаева, В. Б. Гельфанд и др.]. – М.: Медицина, 1987. – 448 с.
3. Биркун А. А. Патологическая анатомия болезней плода и ребенка: [руководство для врачей в 2-х т.] / [А. А. Биркун, В. В. Власюк, П. С. Гуревич и др.]. – М.: Медицина, 1989. – Т. 2. – 416 с.
4. Бондарев Л. С. Современный взгляд на проблему лекарственных гепатитов / Л. С. Бондарев, А. А. Заплотная // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2008. – Т. 9, № 2. – С. 226-229.
5. Ковтун А. В. Лекарственно-индуцированные поражения печени. Диагностика и лечение / [А. В. Ковтун, А. В. Яковенко, А. Н. Иванов и др.] // Лечащий врач. – 2011. – № 2. – С. 25-32.
6. Кожем'якин Ю. М. Научно-практичные рекомендации з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К.: Авіценна, 2002. – 156 с.
7. Кушнир И. Э. Лекарственные поражения печени / И. Э. Кушнир // Мистецтво лікування. – 2006. – № 8 (34). – С. 43-47.
8. Манских В. Н. Морфологические методы верификации и количественной оценки апоптоза / В. Н. Манских // Бюл. сибирской медицины. – 2004. – № 1. – С. 63-70.
9. Меркулов Г. А. Курс патологистологической техники. – М.: Медицина, Ленингр. отд-ние, 1969. – 424 с.
10. Нестеренко И. С. Иммунохимические методы определения сульфаниламидных препаратов / И. С. Нестеренко, М. А. Нокель, С. А. Еремин // Журн. аналит. химии. – 2009. – Т. 64, № 5. – С. 453-462.
11. Хэм А., Кормак Д. Гистология / Пер. с англ. В 5 т. – М.: Мир, 1983. – Т. 2. – 254 с.
12. Livshits I. K. Therapeutic action of herbal hepatoprotectors in chronic hepatitis / I. K. Livshits, E. I. Belobrodova, A. I. Vengerovskiy // Bull. of Siberian medicine. – 2006. – Ann. 2. – P. 106-109.
13. Ruzhenkova I. V. Basics of Phytotherapy / I. V. Ruzhenkova. – М.: Phenix press, 2005. – 188 p.

**УДК 615.33:615.322:615.244:616.37-002****О. И. Набока, С. З. Хуари, Ю. Б. Ларьяновская, В. С. Пташинская, О. В. Павиченко****МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОГО НЕФРОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ БИ-ТОЛА И КОРРЕГИРУЮЩЕГО ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТОВ ВОЛОДУШКИ ЗОЛОТИСТОЙ И СОЛЯНКИ ХОЛМОВОЙ**

Представлены результаты морфологического исследования возможного нефротоксического действия Би-тола и коррегирующего влияния спиртовых экстрактов солянки холмовой и володушки золотистой в дозах 5 мг/кг и 10 мг/кг. При микроскопическом исследовании в почках интактных крысят наблюдали отчетливое деление ткани на корковое и мозговое вещество. Рисунок капиллярных петель клубочков умеренно отчетливый, содержание ядер в норме. Извитые канальцы (дистальные и проксимальные) обычные по размеру и форме. Просвет канальцев хорошо виден. В мозговом слое гистоструктура собирательных трубочек и прямых канальцев не изменена. После введения Би-тола в извитых канальцах нефрона отмечено наличие нефроцитов, сравнимых с апоптически измененными клетками. Наблюдала также слущивание эпителиальных клеток (в том числе и апоптически подобных) в просвет канальцев. Заметно повышен митоз эпителия извитых канальцев. У некоторых крысят выявлен мелкоочаговый интерстициальный нефрит. После введения экстракта солянки холмовой на фоне Би-тола у крысят выражено уменьшилось количество извитых канальцев, в которых видны апоптозоподобные клетки, слущивание эпителия в просвет канальцев, особенно после введения дозы 10 мг/кг. При использовании экстракта володушки золотистой в дозе 10 мг/кг никаких отклонений от нормы не наблюдали. После введения кверцетина или силибора на фоне би-тола абсолютное большинство извитых канальцев не изменено, внешних признаков наличия апоптозоподобных клеток и деления нефроцитов практически не наблюдали. Таким образом, по «апоптозпротекторному» действию в почках преимущество имел экстракт володушки золотистой, который не уступал кверцетину и силибору.

**Ключевые слова:** сульфаниламидные препараты; нефротоксическое действие; экстракт володушки золотистой; экстракт солянки холмовой; гистология

**UDC 615.33:615.322:615.244:616.37-002****O. I. Naboka, S. Z. Khouri, Yu. B. Larianovska, V. S. Ptashinska, O. V. Pavichenko****MORPHOLOGICAL STUDY OF BI-TOL NEPHROTOXICITY AND CORRECTIVE INFLUENCE OF THE EXTRACTS OF BUPLEURUM AUREUM AND SALSOLA COLLINA**

Morphological study of nephrotoxic effect of Bi-tol and corrective influence of alcoholic extracts of Salsola Collina and Bupleurum Aureum (5 and 10 mg/kg) has been conducted. Cortical and medullary kidney tissues of intact rats were clearly visible under microscopic examination. Pattern of glomerular capillary loops are moderately well-defined, content of nucleus is normal. Proximal and distal convoluted tubules are typical by size and shape. The tubule lumen is clearly visible. Histostructure of collecting and straight tubules in the medulla has not changed. After administration of Bi-tol in the convoluted tubules of the nephron revealed the presence of nephrocytes which can be compared with apoptotic-modified cells. Additionally, a desquamation of epithelial cells was observed (including apoptotic-similar ones) in tubules lumen. Mitosis of convoluted tubule epithelial cells is markedly increased. In some infant rats revealed piecemeal interstitial nephritis. After administration of Salsola Collina extract (10 mg/kg) the number of convoluted tubules with apoptosis-similar cells and desquamation of epithelial cells in tubules lumen have significantly decreased. After administration of Bupleurum Aureum (10 mg/kg) no abnormality was observed. After administration of Quercetinum or Siliborum with Bi-tol, the absolute majority of convoluted tubules were not modified. The presence of apoptosis-similar cells and dividing of nephrocytes was not observed. Thus, "apoptosprotective" activity of Bupleurum Aureum extract in kidneys is not inferior Quercetinum and Siliborum.

**Key words:** sulfonamides; nephrotoxic activity; extract of Bupleurum Aureum; Salsola Collina extract; histology

Адреса для листування:  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Тел. +38(057)706-23-42.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції  
11.12.2014 р.

УДК 615.322: 582.751: 615.273

М. О. Остапець<sup>1</sup>, В. А. Волковой<sup>1</sup>, А. В. Березняков<sup>2</sup>, Г. П. Фоміна<sup>1</sup><sup>1</sup> Національний фармацевтичний університет<sup>2</sup> Харківський медичний університет

## ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ

*На сьогоднішній день вивчення фармакологічних властивостей лікарських рослин є актуальною проблемою медицини. Метою наших досліджень було проведення фармакологічного скринінгу біологічно активних речовин сухого екстракту з трави герані болотної. З урахуванням фітохімічного складу нами було вивчено гемостатичну, протизапальну та анальгетичну дію. Гемостатичну активність вивчали методом Альтгаузена, і в дозі 3 мг/кг сухий екстракт проявив найбільш виражену активність. Комплекс БАР виявив протизапальну дію на рівні референс-препарату диклофенаку натрію. Анальгетичну активність даний екстракт проявив у незначній мірі.*

**Ключові слова:** герань болотна; біологічно активні речовини; гемостатична активність; протизапальна дія; анальгезуючий ефект

### ВСТУП

Досвід багатьох поколінь доводить, що рослинний світ – це невичерпне джерело лікарських засобів, які здавна використовуються в народній медицині для лікування різних захворювань. До таких цінних рослин належить герань болотна (*G. palustre*) роду Geraniaceae. За літературними даними відомо, що сировина цієї рослини містить значну кількість біологічно активних речовин, а саме: фенольні сполуки, флавоноїди, хінони та аскорбінову кислоту [5].

Багатий хімічний склад герані болотної свідчить про багатогранність фармакологічної дії даної рослини. У Національному фармацевтичному університеті на кафедрі фармакогнозії під керівництвом доц. Крючкової Т. М. було отримано сухий екстракт з трави герані болотної. До її складу входять: сума дубильних речовин 19,75 % (гало- та елаготаніни, конденсовані таніни, вільний катехін), сполуки флавоноїдної природи 1,42 % (кемпферол, кверцетин та їх глікозиди – рутин та гіперозид), що суттєво перевищує вміст БАР у лікарської рослини з гемостатичною дією – екстрактом грициків звичайних.

Як відомо, фенольні сполуки впливають на проникність судинно-тканинних бар'єрів. Рутин, елагова кислота зменшують тривалість кровотечі, збільшують кількість  $Ca^{2+}$  в крові. Дубильні речовини, в свою чергу, викликають часткове згортання білків слизової оболонки та призводять до утворення плівки, яка захищає чутливі нервові закінчення оточую-

чих тканин, знижують поріг больової чутливості, місцево звужують судини, а також безпосередньо ущільнюють клітинні мембрани, що призводить до зменшення запальної реакції [3].

Різноманітний хімічний склад трави герані болотної може зумовлювати багатоплановість її застосування.

Мета нашої роботи – вивчення гемостатичної, протизапальної, анальгетичної активності сухого екстракту з трави герані болотної.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Протягом дослідження сухого екстракту з трави герані болотної проводилась оцінка гемостатичної, протизапальної та анальгетичної дії.

Визначення гемостатичної активності проводили за методом Альтгаузена, який базується на визначенні часу появи перших ниток фібрину. Досліди проводили на 60 нелійних щурах масою 180-205 г (в кожній групі по 6 тварин). Досліджуваний екстракт вводили перорально у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80. Дію екстракту вивчали в дозах 3, 5, 7, 10 мг/кг [1].

Через 1 годину у фіксованої тварини забиравась 1 крапля крові із хвостової вени на предметне скло. Через кожні 15-20 с голкою проводили по краплі крові, фіксуючи появу перших ниток фібрину (час спонтанного згортання крові) [2, 6]. В якості препаратів порівняння вводились перорального 5 % амінокапронова кислота в дозі 100 мг/кг («Амінокапронова кислота» 5 % р-н 100 мл, Юрія-Фарм) зі стабілізатором твіном-80 та дистильованою водою в кількості

Таблиця 1

**ГЕМОСТАТИЧНА АКТИВНІСТЬ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ (n = 60)**

Досліджувана сполука	Доза, мг/кг	Час згортання крові, с	Скорочення часу згортання крові (% до контролю)
Контроль (очищена вода)	–	217,16 ± 1,85	100
Сухий екстракт з трави герані болотної	3	106,66 ± 0,88	49,11
	5	125,50 ± 1,26*/**/**	59,79
	7	143,17 ± 1,08*/**/**	65,93
	10	159,20 ± 1,25*/**/**	73,31
ε-Амінокапронова кислота	100	109,33 ± 1,05*	50,34
Екстракт грициків звичайних	3	186,5 ± 0,96*	85,88
	5	172,5 ± 1,26*	79,43
	7	164,50 ± 1,26*	75,75
	10	168,33 ± 1,30*	77,74

Примітки: \* – достовірність результатів у відношенні контрольної групи,  $p < 0,001$ ; \*\* – достовірність результатів у відношенні до препарату порівняння грициків звичайних,  $p < 0,001$ ; \*\*\* – достовірність результатів у відношенні препарату порівняння ε-амінокапронової кислоти,  $p < 0,001$ .

1 мл, а також водний розчин екстракту грициків звичайних в дозах 3, 5, 7, 10 мг/кг маси.

Розрахунок гемостатичної активності проводили за формулою:

$$A = [(T_{\text{инт}} - T_{\text{експ}}) / (T_{\text{инт}} - T_{\text{пр.пор}})] \times 100\%$$

де: A – гемостатична активність, %;

$T_{\text{инт}}$  – час спонтанного згортання крові в інтактній групі тварин, с;

$T_{\text{експ}}$  – час спонтанного згортання крові в експерименті (досліджуваний екстракт в різних дозах), с;

$T_{\text{пр.пор}}$  – час спонтанного згортання крові тварин, які отримували препарат порівняння, с.

Протизапальну (антиексудативну) активність екстракту герані болотної вивчали на експериментальній моделі гострого ексудативного запалення у щурів, індукованого флогогенним агентом – карагеніном. Три серії дослідів було поставлено на 90 нелінійних щурах масою 200-230 г [4].

Сухий екстракт з трави герані болотної вводили внутрішньошлунково однократно у вигляді водного розчину за 1 годину до індукції запалення у дозі 10, 20, 30 мг/кг маси тварин. Як препарат порівняння був обраний диклофенак натрію – стандартний препарат порівняння, класичний інгібітор циклооксигенази, який вводили в його ефективній дозі 8 мг/кг («Диклофенак натрію» табл. 0,025 мг № 30 Дарниця). Інтактні тварини одержували дистильовану воду у відповідних дозах [10].

Гостре асептичне запалення відтворювали флогогеном – 1 % розчином карагеніну, який вводили субплантарно в задню стопу щура в об'ємі 0,1 мл.

Вимір об'єму стопи у щурів проводили за допомогою механічного онкометра по А. С. Захаревському: до початку дослідів, через 2 і 4 години після введення карагеніну [7].

Антиексудативну активність речовин виражали у відсотках і визначали за здатністю зменшувати на-

бряки у дослідних тварин у порівнянні з контрольними. Розрахунок проводили за формулою:

$$A = (V_k - V_d) / V_k \times 100 \%$$

де: A – антиексудативна активність;

$(V_k - V_d)$  – різниця об'ємів між ненабряклою та набряклою стопою в контролі та досліді.

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення аналгетичної активності екстракту на 90 нелінійних щурах масою 200-220 г на моделі «оцтових корчів», в основі якої лежить хімічне больове подразнення [8].

Сухий екстракт герані болотної вводили одноразово перорально (внутрішньошлунково) у вигляді водного розчину, стабілізованого твіном-80 у дозах 20, 30, 40 мг/кг. Аналіз отриманих експериментальних даних проводили у порівнянні з препаратом анальгіном у дозі 50 мг/кг («Анальгін» табл. 0,5 мг № 10, Дарниця). Корчі викликали внутрішньоочеревинним введенням 0,6 % розчину оцтової кислоти в дозі 0,1 мл на 10 г маси. Підрахунок числа корчів вели через 15 хв після введення оцтової кислоти впродовж 30 хв. Зменшення кількості корчів у тварин у порівнянні з контролем – показник аналгетичної активності препарату [9].

Розрахунок проводили за формулою:

$$AA = ((C_k - C_o) / C_o) \cdot 100 \%$$

де: AA – аналгетична активність у %;

$C_k$  – середня кількість корчів в контрольній групі;

$C_o$  – середня кількість корчів у дослідній групі.

Математична обробка результатів проводилася з розрахунком t-критерію Стьюдента. Достовірною вважалася різниця показників при  $p < 0,001$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

Результати дослідження гемостатичної активності сухого екстракту з трави герані болотної представлені в табл. 1.



Таблиця 2

**АНТИЕКСУДАТИВНА АКТИВНІСТЬ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ  
НА МОДЕЛІ КАРАГЕНІНОВОГО НАБРЯКУ (n = 90)**

Об'єкт дослідження	Доза, мг/кг	Приріст об'єму лапки через 2 год	У % до контролю	Протизапальна активність	Приріст об'єму лапки через 4 год	У % до контролю	Протизапальна активність
Контроль	–	12,67 ± 1,09	100,00	–	32,83 ± 1,94	100,00	–
Екстракт з трави герані болотної	10	12,33 ± 0,71*	59,70	40,30	17,00 ± 0,89*	51,78	48,22
	20	13,17 ± 0,98*	63,72	36,28	18,83 ± 1,56*/**	57,97	42,13
	30	14,17 ± 0,54*/**	68,55	31,34	20,33 ± 0,62*/**	61,93	38,08
Диклофенак натрію	8	10,50 ± 0,85*	50,80	49,20	14,67 ± 0,71*	45,65	55,35

Примітки: \* – достовірність результатів у відношенні контрольної групи,  $p < 0,001$ ; \*\* – достовірність результатів у відношенні препарату порівняння диклофенаку натрію,  $p < 0,001$ .

Таблиця 3

**АНАЛГЕТИЧНА АКТИВНІСТЬ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ**

Об'єкт дослідження	Доза мг/кг	Кількість корчів за 30 хв (M ± m)	% від контролю	Аналгетична активність
Контроль	–	57,00 ± 1,07	100	–
Екстракт з трави герані болотної	20	40,70 ± 1,33*	70,70	29,53
	30	41,50 ± 1,54*	72,93	27,07
	40	44,30 ± 2,50*	77,90	22,10
Анальгін	50	29,15 ± 1,15**	50,96	49,04

Примітки: \*, \*\* – достовірність результатів при  $p < 0,05$  і  $p < 0,01$  відповідно у порівнянні з контрольною групою.

Аналіз даних табл. 1 свідчить про те, що сухий екстракт з трави герані болотної викликає активацію процесу згортання крові: у дозі 3 мг/кг скорочує час згортання крові на 111 с; 5 мг/кг – на 92 с; 7 мг/кг – на 74 с; 10 мг/кг – на 58 с у порівнянні з контролем.

Встановлена гемостатична активність може бути обумовлена комплексом біологічно активних речовин, які впливають на різні ланки гемостазу та сприяють нормалізації гемокоагуляції шляхом зменшення тривалості кровотечі, збільшення іонів  $Ca^{2+}$  (за рахунок флавоноїдів). Також фенольні сполуки захищають адреналін (викликає утворення кров'яних згустків) від інактивації у кров'яному руслі.

Результати дослідження протизапальної активності сухого екстракту з трави герані болотної представлені в табл. 2.

У контрольній групі тварин, яким вводили тільки карагенін, максимум набряку стопи щурів відмічено на четвертій годині після його введення. Як показали дослідження, через 4 год після досліду антиексудативну активність виявив екстракт з трави герані болотної у дозі 10 мг/кг – 48,22 %; 20 мг/кг – 42,13 %; 30 мг/кг – 38,07 %; диклофенак натрію – 55,35 % у порівнянні з контролем.

Відомо, що карагенін як індуктор гострої фази запалення сприяє виділенню серотоніну, гістаміну (у перші 30-90 хв), кінінінів (1,5-2,5 год) та простагландинів (2,5-5,5 год). Оскільки дубильні речовини мають здатність звужувати судини, ущільнювати клі-

тинні мембрани, що, як наслідок, призводить до зменшення запальної реакції, можна припустити, що екстракт з трави герані болотної виступає як інгібітор циклооксигеназного метаболізму арахідонової кислоти.

Результати дослідження аналгетичної дії наведені в табл. 3.

Дані таблиці свідчать про слабку аналгетичну активність сухого екстракту з трави герані болотної. Досліджуваний екстракт зменшує кількість «оцтових корчів» на 29,5 %. Препарат порівняння анальгін знижує чутливість ноцицепторів на хімічний подразник на 49,04 %. Можна припустити, що механізм аналгетичної дії сухого екстракту з трави герані болотної пов'язаний зі здатністю дубильних речовин знижувати кількість простагландинів (профакторів запалення). За рахунок цього зменшується набряк і, відповідно, стискання чутливих нервових закінчень.

### ВИСНОВКИ

1. Ефективна доза сухого екстракту з трави герані болотної за гемостатичною активністю складає 3 мг/кг. У цій дозі досліджуваний засіб перевищує препарат порівняння – амінокапронову кислоту в 1,03 рази, екстракт грициків звичайних в 1,54 рази.
2. Найкращу протизапальну активність на моделі карагенінового набряку (48,22 %) проявив сухий екстракт з трави герані болотної у дозі 10 мг/кг по відношенню до диклофенаку натрію.

3. Экстракт герани болотной проявил незначную анальгетичную активність (29,5 %) відповідно до препарату порівняння анальгіну (49,09 %).
- ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**
1. Долгов В. В. Лабораторная диагностика нарушенный гемостаза / В. В. Долгов, П. В. Свирич. – М., Тверь: ООО Изд-во «Триада», 2005. – 227 с.
  2. Межнева В. В. Экспериментальные исследования гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств / [В. В. Межнева, Н. Н. Самсонова, М. Г. Плющ и др.] // Бюл. НЦССХ. – 2007. – Т. 8, № 1. – С. 71-75.
  3. Рибак Л. М. Дослідження поліфенольних комплексів деяких видів герани флори України методом ВЕРХ / Л. М. Рибак // VII Національний з'їзд фармацевтів України: [Фармація України. Погляд у майбутнє]. Тез. доп. Харків 15-17 вересня 2010. – Т. 1. – С. 331-332.
  4. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів / О. В. Стефанов. – К.: Авіценна, 2001. – С. 292-307.
  5. Andersen Q. M. Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications / Q. M. Andersen, K. R. Markham. – London: Press Taylor & Francis group, 2006. – 1197 p.
  6. Mora S. Physical activity and reduced risk of cardiovascular events potential mediating mechanism / S. Mora, N. Cook, J. Buring // Circulation. – 2007. – Vol. 116. – P. 2110-2118.
  7. Perianayagam J. B. Anti-inflammatory activity of trichodesma indicum root extract in experimental animals / J. B. Perianayagam, S. K. Sharma, K. K. Pillai // J. of Ethnopharmacol. – 2006. – Vol. 104 (3). – P. 410-414.
  8. Perianayagam J. B. Evaluation of antipyretic and analgesic activity of Emblica officinalis / J. B. Perianayagam, S. K. Sharma // J. of Ethnopharmacol. – 2004. – Vol. 95 (1). – P. 83-85.
  9. Randall L. O. A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue / L. O. Randall, J. J. Sclitto // Archives International. – 2007. – № 111 (4). – P. 409-419.
  10. Shim J. U. Anti-inflammatory activity of ethanol extract from Geranium sibiricum Linne / J. U. Shim, P. S. Oh, K. T. Lim // J. of Ethnopharmacol. – 2009. – Vol. 126. – P. 5-90.

**УДК 615.322: 582.751: 615.273****М. А. Остапеч, В. А. Волковой, А. В. Березняков, Г. П. Фомина****ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУХОГО ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ГЕРАНИ БОЛОТНОЙ**

На сегодняшний день изучение фармакологических свойств лекарственных растений является актуальной проблемой в медицине. Целью наших исследований было проведение фармакологического скрининга биологически активных веществ сухого экстракта травы герани болотной. С учетом фитохимического состава было изучено гемостатическое, противовоспалительное и анальгезирующее действие. Гемостатическую активность изучали методом Альтгаузена, и в дозе 3 мг/кг сухой экстракт проявил наиболее выраженную активность. Комплекс БАВ проявил противовоспалительное действие на уровне референс-препарата диклофенака натрия. Анальгетическую активность данный экстракт проявил в незначительной степени.

**Ключевые слова:** герань болотная; биологически активные вещества; гемостатическая активность; противовоспалительное действие; анальгезирующий эффект

**UDC 615.322: 582.751: 615.273****М. А. Ostapets, V. A. Volkovoy, A. V. Bereznyakov, G. P. Fomina****STUDYING OF THE PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF DRY EXTRACT FROM THE HERB OF GERANIUM PALUSTRE**

Nowadays, studying of the pharmacological properties of medicinal plants is actual problem in medicine. The purpose of our research was pharmacological screening of biologically active substances from dry extract of geranium palustre. In view of phytochemical composition was studied haemostatic, anti-inflammatory and analgesic effect. Haemostatic activity studied by method of Althauzena and dose 3 mg/kg of dry extract showed the most pronounced activity. Complex BAS showed anti-inflammatory effect on the level of the reference drug diclofenac sodium. Analgesic activity extract showed in minor degree.

**Key words:** geranium palustre; biologically active substances; hemostatic activity; anti-inflammatory action; analgesic effect

Адреса для листування:  
Тел. (050) 9652296.  
E-mail: marina.ostapets.22@mail.ru.  
М. А. Остапеч

Надійшла до редакції  
29.12.2014 р.

УДК 577.126:57.042

А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, М. А. Мусмарі, І. Ю. Капустянський,  
С. В. Власов

Національний фармацевтичний університет

## ВПЛИВ НОВИХ СИНТЕТИЧНИХ ІНГІБІТОРІВ JNK НА РОЗВИТОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ГО ТИПУ

Проведено дослідження впливу нових синтетичних інгібіторів JNK на показники цукрового діабету 2-го типу, спричиненого дексаметазоном. Встановлено, що вивчені речовини 006 та G0007 чинять гіпоглікемічний та гіполіпідемічний вплив за рахунок попередження активації JNK. При цьому ефективність захисного впливу речовини 006 вища за ефективність речовини G0007.

Ключові слова: JNK; інгібітори JNK; інсулінорезистентність; цукровий діабет 2 типу; дексаметазон

### ВСТУП

C-Jun N-кінцеві кінази (JNK) – група MAP-кіназ, що активуються при стресі, беруть участь у регуляції росту, диференціюванні, апоптозі, запаленні та інших важливих клітинних процесах [11, 12, 16]. Відомо, що активація JNK відбувається у відповідь на накопичення активних метаболітів кисню, цитокінів, при гіперглікемії тощо та є важливою ланкою патогенезу багатьох захворювань. Зокрема, порушення механізмів внутрішньоклітинної регуляції, до яких відноситься система JNK, залучені в розвиток інсулінорезистентності, метаболічного синдрому, діабету, серцево-судинних захворювань та інших патологій [7, 14].

Показано, що активація JNK може брати участь у прояві дефектів секреції інсуліну при цукровому діабеті 2 типу (ЦД2) через свою участь у роботі  $\beta$ -клітин у підшлунковій залозі, а також впливає на периферійні мішені дії інсуліну, зокрема класичні мішені – клітини м'язової та жирової тканини [7]. Інсулінорезистентність цих тканин JNK викликає шляхом безпосереднього фосфорилування субстрату інсулінового рецептора-1 (IRS-1) [15]. Ряд експериментальних робіт продемонстрували позитивний вплив пригнічення JNK відносно цукрового діабету 2-го типу, ожиріння, атеросклерозу [8-10]. Дослідження мишей, які страждають на ожиріння і ЦД2, показали, що інгібування JNK відновлює активність  $\beta$ -клітин та чутливість до інсуліну і приводить до поліпшення чутливості до глюкози [9]. Оскільки ЦД2 є найбільш поширеною формою діабету та становить одну з найглобальніших медико-соціальних проблем людства, пошук інгібіторів JNK є надзвичайно гострою і актуальною проблемою. Раніше ми дослідили інгібуючу

активність відносно JNK нових синтетичних сполук (006 і G0007) в умовах *in vitro* [2].

Метою даного дослідження було вивчення впливу синтезованих речовин (006 і G0007), що проявили JNK-інгібуючу активність *in vitro*, на показники цукрового діабету 2-го типу.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Робота виконана на щурах лінії Wistar масою 140-200 г, які утримувалися на стандартному раціоні віварію НФаУ. Цукровий діабет моделювали тривалим введенням низьких доз дексаметазону, як описано у роботі [13]. Дослідні тварини були розділені на 6 груп: 1) інтактні тварини, які утримувалися на стандартному раціоні віварію; 2) тварини, яким підшкірно щодня вводили дексаметазон у дозі 2 мг протягом 4-ох тижнів; 3) тварини, яким вводили дексаметазон протягом 4-ох тижнів і ще впродовж 2-ох тижнів на фоні дексаметазону, внутрішньошлунково вводили суспензію синтетичного інгібітора JNK 006 (6,7-диметокси-4-N-(4-ціанофеніл)амінохіназолін); 4) тварини, яким вводили дексаметазон протягом 4-ох тижнів і ще впродовж 2-ох тижнів на фоні дексаметазону, внутрішньошлунково вводили суспензію синтетичного інгібітора JNK G0007 (етил 3-метил-5-(4-фторобензамідо)-4-ціанотіофен-2-карбоксилат); 5) тварини, які впродовж 4-ох тижнів утримувалися на стандартному раціоні віварію і ще протягом 2-ох тижнів отримували суспензію речовини 006; 6) тварини, які 4 тижні утримувалися на стандартному раціоні віварію і ще впродовж 2-ох тижнів отримували суспензію речовини G0007. Тварини були декапітовані під хлорозоло-уретановим наркозом. Об'єктами дослідження були сироватка крові та гомогенат печінки. При виконанні експериментів дотримувались «Загальних

Таблиця 1

**ВМІСТ ГЛЮКОЗИ, ІНСУЛІНУ, ТАГ, ВЖК, АпоВ-ЛП, ЛПВЩ ТА ТБК-РАП В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ДЕКСАМЕТАЗОНУ І СИНТЕТИЧНИХ ІНГІБІТОРІВ JNK (M ± m, n = 6)**

Інтакт	Дексаметазон	Дексаметазон + 006	Дексаметазон + G0007	006	G0007
Глюкоза, ммоль/л					
4,9 ± 0,1	9,2 ± 0,2*	7,3 ± 0,3**	8,0 ± 0,2**	4,7 ± 0,2	4,9 ± 0,3
Інсулін, пг/мл					
1290 ± 45	2073 ± 32*	1585 ± 38**	1836 ± 25**	1354 ± 27	1267 ± 37
ВЖК, ммоль/л					
0,40 ± 0,07	0,86 ± 0,05*	0,57 ± 0,02**	0,63 ± 0,06**	0,44 ± 0,05	0,39 ± 0,04
ТАГ, ммоль/л					
0,83 ± 0,07	2,07 ± 0,09*	1,51 ± 0,11**	1,76 ± 0,13**	0,89 ± 0,082	0,91 ± 0,07
АпоВ-ЛП, мг/мл					
4,86 ± 0,25	6,78 ± 0,15*	5,46 ± 0,21**	6,17 ± 0,18**	4,78 ± 0,19	4,73 ± 0,25
ЛПВЩ, мг/мл					
1,12 ± 0,06	0,97 ± 0,07 <sup>†</sup>	1,15 ± 0,05	1,14 ± 0,04	1,11 ± 0,06	1,13 ± 0,07
ТБК-РАП, мкмоль/л					
2,67 ± 0,16	3,47 ± 0,27*	2,93 ± 0,2**	3,14 ± 0,15**	2,68 ± 0,12	2,55 ± 0,14

Примітка: \* – відхилення достовірне щодо інтакту ( $p \leq 0,05$ ); \*\* – відхилення достовірне щодо дексаметазону ( $p \leq 0,05$ ); † – тенденція щодо інтакту ( $0,05 \leq p \leq 1$ ).

етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), гармонізованих із «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985).

Вміст глюкози, інсуліну, вільних жирних кислот (ВЖК) і триацилгліцеролів (ТАГ) визначали з використанням стандартних наборів фірми «Фелісіт-Діагностика» (Україна) та фірми «Lachema» (Чехія). Сумарну концентрацію  $\beta$ - і пре- $\beta$ -ліпопротеїнів (АпоВ-ЛП) і ліпопротеїнів високої щільності (ЛПВЩ) у сироватці крові визначали турбідиметричним методом. Вміст ТБК-реактивних продуктів (ТБК-РАП) визначали спектрофотометрично за допомогою реакції з тіобарбітуровою кислотою [3]. Для визначення рівня загальної JNK використовували набір реактивів (Total JNK Pan Specific DuoSet IC ELISA (R & D Systems, Inc., USA), для визначення рівня фосфорильованої JNK (p-JNK) – набір реактивів [pThr183/Тур185] JNK1 / 2 EIA kit (Enzo Life Sciences).

Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням програми STATISTICA (StatSoft Inc., США, версія 6.0). Значимість міжгрупових відмінностей оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента.

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тривале введення низьких доз дексаметазону викликає майже дворазове підвищення вмісту глюкози в сироватці крові (табл. 1). Це, ймовірно, пов'язане зі зниженням утилізації глюкози периферичними тканинами внаслідок пригнічення дексаметазоном експресії транспортерів глюкози GLUT1 та GLUT4 [6]. В цей же час спостерігається гіперінсулінемія як компенсаторна реакція на гіперглікемію (табл. 1), що свід-

чить про нечутливість клітин до інсуліну, тобто про розвиток інсулінорезистентності. Зростання концентрації ВЖК і ТАГ (табл. 1), що спостерігається через 4 тижні експерименту, є наслідком мобілізації жиру з жирової тканини і посилення синтезу ліпопротеїнів дуже низької щільності печінкою через ослаблення інгібуючої дії інсуліну на ліполіз. Накопичення атерогенних АпоВ-ЛП у даної групи щурів (табл. 1) – компенсаторна відповідь, спрямована на зменшення вмісту ВЖК, обумовлена підвищеним синтезом ендогенних ліпопротеїнів і їх зниженою утилізацією [1]. При цьому спостерігається тенденція до зменшення рівня антиатерогенних ЛПВЩ (табл. 1), що, очевидно, пов'язано з порушенням ремоделювання АпоВ-ЛП і посиленням катаболізму ЛПВЩ.

У печінці тварин контрольної патології також відбувається накопичення ВЖК і ТАГ (табл. 2). Підвищення ВЖК у крові і посилене їх надходження в клітини різних тканин провокує подальші порушення метаболізму, посилюючи гіперглікемію і гіперінсулінемію. Встановлено, що одним з механізмів токсичності ВЖК є посилене утворення активних форм кисню і активація вільнорадикального окиснення [1]. Наші результати також свідчать про порушення антиоксидантно-прооксидантної рівноваги – накопичення продуктів вільнорадикального окиснення (ТБК-РАП) спостерігається як у сироватці крові, так і в печінці щурів (табл. 1, 2). Відомо, що істотний внесок у розвиток інсулінорезистентності вносить посилене утворення активних форм кисню, а одним з механізмів дії АФК є активація JNK-сигнального шляху [5]. Як видно з табл. 2, введення дексаметазону не впливає у досліджений термін на рівень загальної JNK, проте викликає її активацію, про що свідчить під-



Таблиця 2

**ВМІСТ ТАГ, ВЖК ТА ТБК-РАП І РІВНІ ЗАГАЛЬНОЇ ТА ФОСФОРИЛЬОВАНОЇ JNK В ГОМОГЕНАТІ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ВВЕДЕННІ ДЕКСАМЕТАЗОНУ І СИНТЕТИЧНИХ ІНГІБІТОРІВ JNK (M ± m, n = 6)**

Інтакт	Дексаметазон	Дексаметазон + 006	Дексаметазон + G0007	006	G0007
ВЖК, ммоль/мг білка					
1,18 ± 0,04	1,63 ± 0,05*	1,31 ± 0,07**	1,48 ± 0,05**	1,20 ± 0,06	1,23 ± 0,06
ТАГ, ммоль/мг білка					
1,43 ± 0,03	2,28 ± 0,04*	1,70 ± 0,13**	2,00 ± 0,06**	1,49 ± 0,05	1,54 ± 0,04
ТБК-РАП, нмоль /мг білка					
0,74 ± 0,12	2,03 ± 0,14*	1,19 ± 0,13**	1,79 ± 0,08**	0,82 ± 0,09	0,76 ± 0,12
Загальна JNK, нг/мг білка					
315 ± 33	324 ± 23	320 ± 27	319 ± 23	311 ± 31	319 ± 28
p-JNK, нг/мг білка					
98 ± 7	171 ± 13*	125 ± 15**	142 ± 11**	93 ± 10 <sup>†</sup>	92 ± 12 <sup>†</sup>

Примітка: \* – відхилення достовірне щодо інтакту (p ≤ 0,05); # – відхилення достовірне щодо дексаметазону (p ≤ 0,05); † – тенденція щодо інтакту (0,05 ≤ p ≤ 1).

вищення вмісту p-JNK на 74 % порівняно з інтактом. Останнє, ймовірно, обумовлене здатністю дексаметазону викликати оксидативний стрес [4].

Введення досліджуваних речовин 006 і G0007 істотно знижує концентрації глюкози та інсуліну в сироватці крові (табл. 1), а також зменшує рівні ВЖК і ТАГ у сироватці крові та гомогенаті печінки (табл. 1, 2). Як наслідок, спостерігається падіння вмісту АпоВ-ЛП в сироватці крові тварин з експериментальною інсулінорезистентністю (табл. 1). Слід зазначити, що речовина 006 виявила більш виражену протекторну дію. Вивчені сполуки чинять також значний нормалізуючий вплив на накопичення ТБК-РАП в обох досліджуваних тканинах (табл. 1, 2). Рівень p-JNK в печінці при введенні синтезованих речовин на тлі введення дексаметазону теж змінюється в бік нормалізації (табл. 2). І знову ефективність речовини 006 виявилася більш високою. При цьому найдослідженіші сполуки не вплинули на жоден з вивчених показників.

Оскільки речовини 006 і G0007 не проявляють гіпоглікемічних, гіполіпідемічних і антиоксидантних властивостей при окремому введенні, а чинять такий вплив на тлі активації JNK, а також знижують її активацію, можна розглядати можливість їх застосування в комплексному захисті при станах, що супроводжуються активацією JNK, зокрема при цукровому діабеті 2-го типу.

**ВИСНОВКИ**

- Таким чином, проведені дослідження показали, що:
1. Вивчені синтетичні речовини 006 і G0007 чинять антидіабетичний вплив: знижують рівень глюкози та інсуліну в сироватці крові, ймовірно, в результаті зниження проявів інсулінорезистентності при введенні дексаметазону.
  2. Речовини 006 і G0007 виявляють нормалізуючий вплив на досліджені показники ліпідного

обміну в сироватці і печінці щурів, що може знижувати ризик атерогенезу при цукровому діабеті 2-го типу.

3. Речовини 006 і G0007 знижують вміст p-JNK, тобто пригнічують активацію JNK, спровоковану дексаметазоном.
4. Ефективність захисного впливу речовини 006 вища, ніж речовини G0007.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Загайко А. Л. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної терапії: [монографія] / А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, К. В. Стрельченко. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2007. – 216 с.
2. Загайко А. Л. Пошук інгібіторів c-jun N-кінцевих кіназ (JNK) серед 4-N-(3-ціанофеніл)аміно- та 4-N-(4-ціанофеніл)амінозаміщених хіназолінів / [А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, І. Ю. Капустянський та ін.] / Укр. біофармац. журн. – 2014. – № 3 (32). – С. 55-59.
3. Строев Е. А. Практикум по биологической химии / Е. А. Строев, В. Г. Макарова – М.: Высш. шк., 1986. – 231 с.
4. Almeida M. Glucocorticoids and tumor necrosis factor increase oxidative stress and suppress wnt protein signaling in osteoblasts / [M. Almeida, L. Han, E. Ambrogini et al.] // J. Biol. Chem. – 2011. – Vol. 286, № 52. – P. 44326-44335.
5. Bogoyevitch M. A. C-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling: recent advances and challenges / [M. A. Bogoyevitch, K. R. Ngoei, T. T. Zhao et al.] // Biochem. Biophys. Acta. – 2010. – Vol. 1804, № 3. – P. 463-475.
6. Buren J. Dexamethasone decreases GLUT 1 and GLUT 4 content in primary cultured rat adipocytes / J. Buren, J. Erekssohn // Diabetol. – 1999. – Vol. 42, № 1. – P. 170.



7. Hirosumi J. A central role for JNK in obesity and insulin resistance / [J. Hirosumi, G. Tuncman, L. Chang et al.] // Nature. – 2002. – Vol. 420. – P. 333.
8. Lim A. K. Evaluation of JNK blockade as an early intervention treatment for type 1 diabetic nephropathy in hypertensive rats / [A. K. Lim, F. Y. Ma, D. J. Nikolic-Paterson et al.] // Am. J. Nephrol. – 2011. – Vol. 34, № 4. – P. 337-346.
9. Nakatani Y. Modulation of JNK pathway in liver affects insulin resistance status / Y. Nakatani, H. Kaneto, D. Kawamoti // J. Biol. Chem. – 2004. – Vol. 279, № 44. – P. 45803-45809.
10. Osto E. C-Jun N-terminal kinase 2 deficiency protects against hypercholesterolemia-induced endothelial dysfunction and oxidative stress / [E. Osto, C. M. Matter, A. Kouroedov et al.] // Circulation. – 2008. – Vol. 118, № 20. – P. 2073-2080.
11. Sehgal V. Network Motifs in JNK Signaling / V. Sehgal, P. T. Ram // Genes. Cancer. – 2013. – Vol. 4, № 9-10. – P. 409-413.
12. Seki E. A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches / E. Seki, D. A. Brenner, M. Karin // Gastroenterol. – 2012. – Vol. 143, № 2. – P. 307-320.
13. Severino C. Low-dose dexamethasone in the rat: a model to study insulin resistance / [C. Severino, P. Brizzi, A. Solinas et al.] // Am. J. of Physiol. – 2012. – Vol. 283, № 2. – P. 367-373.
14. Tarantino G. JNKs, insulin resistance and inflammation: A possible link between NAFLD and coronary artery disease / G. Tarantino, A. Caputi // World J. Gastroenterol. – 2011. – Vol. 17, № 33. – P. 3785-3794.
15. Vinayagamoorthi R. Antioxidants preserve redox balance and inhibit c-Jun N-terminal kinase pathway while improving insulin signaling in fat-fed rats: evidence for the role of oxidative stress on IRS-1 serine phosphorylation and insulin resistance / R. Vinayagamoorthi, B. Zachariah, M. G. Sridhar // J. Endocrinol. – 2008. – Vol. 197. – P. 287-296.
16. Vlahopoulos S. JNK: a key modulator of intracellular signaling / S. Vlahopoulos, V. C. Zoumpourlis // Biochemistry Mosc. – 2004. – Vol. 69, № 8. – P. 844-854.

#### УДК 577.126:57.042

**А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, М. А. Мусмари, И. Ю. Капустянский, С. В. Власов**

#### **ВЛИЯНИЕ НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ИНГИБИТОРОВ JNK НА РАЗВИТИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 2-ГО ТИПА**

Проведено исследование влияния новых синтетических ингибиторов JNK на показатели сахарного диабета 2-го типа, вызванного дексаметазоном. Установлено, что изученные вещества 006 и G0007 оказывают гипогликемическое и гиполлипидемическое влияние за счет предотвращения активации JNK. При этом эффективность защитного влияния вещества 006 выше эффективности вещества G0007.

**Ключевые слова:** JNK; ингибиторы JNK; инсулинорезистентность; сахарный диабет 2 типа; дексаметазон

#### UDC 577.126:57.042

**A. L. Zagayko, V. P. Fylymonenko, M. A. Musmari, I. Yu. Kapustyanskiy, S. V. Vlasov**

#### **THE INFLUENCE OF NEW SYNTHETIC JNK INHIBITORS ON THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES**

The influence of new synthetic JNK inhibitors on Type 2 diabetes indicators, caused by dexamethasone was investigated. It was found that the studied substances 006 and G0007 have hypoglycemic and hypolipidemic effects by preventing the activation of JNK. The substance 006 efficiency of protective effect is higher than the substance G0007 efficiency.

**Key words:** JNK; JNK inhibitors; insulin resistance; type 2 diabetes; dexamethasone

Адреса для листування:  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Тел. (факс): 8(057)7063099.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції  
22.11.2014 р.

УДК 615.21:547.466.64.615.322:582.782.2

А. Л. Загайко, Н. А. Цубанова, Е. С. Цубанова

Національний фармацевтичний університет

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМПЛЕКСУ ПОЛІФЕНОЛІВ ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГЛУТАМАТНОЇ ЕКСАЙТОТОКСИЧНОСТІ

*Наведені результати впливу комплексу поліфенолів винограду культурного на перебіг експериментальної глутаматної ексайтотоксичності у щурів. Встановлено, що глутаматна ексайтотоксичність характеризується суттєвим порушенням функціональної активності ЦНС, розвитком оксидативного стресу та порушенням гормонального фону. Додавання до харчового раціону концентрату поліфенолів винограду у дозі 90 мг/кг зменшувало прояви ексайтотоксичності. Всі досліджувані показники ЦНС, локомоторно-дослідницька активність та вегетативні реакції знаходились у межах фізіологічної норми. Введення концентрату поліфенолів винограду нормалізувало прооксидантно-антиоксидантний баланс та сприяло зниженню рівня кортикостерону.*

*Ключові слова:* ексайтотоксичність; глутамат натрію; БАР винограду

### ВСТУП

Рівень захворюваності населення України продовжує підвищуватися протягом останніх десятиріч. За даними офіційної медичної статистики відзначається, що в останні 10-15 років Україна знаходиться у стані глибокої демографічної кризи, яка зумовлена депопуляцією, збільшенням питомої ваги населення старше 70 років, зменшенням середньої тривалості життя та зниженням рівня якості життя. Однією з провідних причин, що впливають на стан здоров'я населення, є проблеми аліментарного характеру. Вживання у великій кількості їжі, що містить підсилювачі смаку (наприклад, глутамат натрію (ГН)), призводить до зростання рівня захворюваності.

Негативною тенденцією у розвитку харчової промисловості є те, що з кожним роком вміст ГН у продуктах харчування продовжує зростати. Так, сьогодні рівень додавання глутамату в продукти харчування у 50 разів більший, ніж десятки років тому, і ця цифра продовжує збільшуватись (величина щорічного приросту виробництва нині складає 4 % [12].

Щорічна світова потреба в цьому продукті за даними лондонської консалтингової асоціації Л. Гепнера (L. Herper & Associates) становить близько 1,1 млн тонн. Зараз ГН як харчова приправа за обсягами виробництва поступається лише солі та перцю.

При цьому допустимі норми можуть бути значно перевищені, що призводить до таких реакцій ор-

ганізму, як головні болі, болі в грудях, тахікардія, почервоніння обличчя, холодний піт, підвищення температури, запаморочення, нудота, розлад шлунка, м'язова слабкість, висипання на шкірі, алергічні реакції, проблеми з диханням, значні психовегетативні розлади, проблеми координації тощо [8, 11, 13]. Сьогодні у медичній практиці такий симптомокомплекс має загальну назву «синдром китайського ресторану» [8]. Кількість глутамату, що викликає виникнення вищезазначеного синдрому, індивідуальна для кожного, а сама реакція може початися як миттєво, так і протягом 48 годин.

Окрім алергічних реакцій можливі набагато серйозніші наслідки регулярного вживання ГН, що може призводити до порушень мозкового кровообігу, провокувати розвиток хвороби Альцгеймера та Паркінсона [10, 13].

Враховуючи провідну роль активації вільнорадикальних процесів у патогенезі розвитку глутаматної ексайтотоксичності, можна зробити припущення про доцільність використання природних антиоксидантів у її корекції.

На жаль, більшість синтезованих речовин із антиоксидантною дією та спроможністю виявляти нейротропну активність є ксенобіотиками, тобто чужерідними хімічними структурами для організму. Так, відомими на сьогоднішній день нейтропами та антиоксидантами є емоксипін (2-етил-6-метил-3-піридинол), пірацетам (2-оксо-1-піролідинацетамід), цитиколін (цитидин-5'-дифосфохолін) та ін., але зазначе-

Таблиця 1

**ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ ПФВ НА ПОКАЗНИКИ ТЕСТУ «ВІДКРИТОГО ПОЛЯ»  
У ЩУРІВ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ (ГІ) (n = 6)**

Група	Показники (за 5 хв.)					
	локомоторна-дослідницька активність			вегетативні реакції		
	кількість перетнутих квадратів	стійки	обстеження отворів	грумінг	болюси	уринації
Інтактний контроль	47,8 ± 3,36	12,0 ± 1,21	20,3 ± 2,37	0,90 ± 0,18 (0 ÷ 2)	1,10 ± 0,14 (0 ÷ 3)	0,40 ± 0,12 (0 ÷ 1)
Контрольна патологія (ГІ)	65,3 ± 2,93*	18,6 ± 1,35*	11,8 ± 1,84*	1,90 ± 0,23* (1 ÷ 3)	2,10 ± 0,17* (0 ÷ 4)	0,90 ± 0,11* (0 ÷ 2)
ГІ + комплекс ПФВ 90 мг/кг	52,4 ± 2,14 <sup>#</sup>	13,6 ± 1,18 <sup>#</sup>	24,6 ± 2,17 <sup>#</sup>	0,60 ± 0,19 <sup>#</sup> (0 ÷ 2)	0,40 ± 0,15 <sup>#</sup> (0 ÷ 1)	0,80 ± 0,10 (0 ÷ 2)

Примітки:

1) ГІ - глутаматна інтоксикація індукована надлишковим введенням ГН;

2) \* - достовірні відмінності до інтактного контролю, p < 0,05; <sup>#</sup> - достовірні відмінності до групи контрольної патології (ГІ), p < 0,05.

ні ксенобіотики як і інші синтетичні лікарські засоби завжди мають великий спектр протипоказань та ризик виникнення негативної токсичної дії [1].

Перспективним напрямом ефективної корекції глутаматної ексайтотоксичності та виразною нейротропно дією може бути застосування комплексу поліфенолів винограду (ПФВ).

За останнє десятиліття багаточисельні та різноспрямовані дослідження фармакологічної активності комплексу ПФВ проведені вченими кафедри біохімії НФаУ. Доведена стрес-протекторна активність комплексу ПФВ у щурів на моделі емоційно-больового стресу, у механізмі якої лежить не лише встановлена раніше антиоксидантна та цитопротекторна дія, але і здатність комплексу ПФВ нормалізувати гормональний фон (за вмістом катехоламінів та кортикостерону) [2, 6]. Встановлена нейропротективна дія комплексу ПФВ за умов ураження ЦНС різного генезу [2, 9].

Метою даної роботи було дослідження впливу глутамату натрію на функціональний стан ЦНС, показники системи перикисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи (ПОЛ-АОС), вміст кортикостерону та вивчення можливості застосування комплексу поліфенолів винограду культурного з лікувально-превентивною метою.

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проводили на безпородних щурах самцях масою 180-220 г. Тварини були розподілені на групи наступним чином: 1) група інтактних тварин (n = 6); 2) група тварин контрольної патології, яким вводили ГН у дозі 4 г/кг [7, 8] внутрішньощлунково протягом 30 діб (n = 6); 3) група тварин, яким вводили комплекс ПВК у дозі 90 мг/кг за 40 хв до щоденного введення ГН у дозі 4 г/кг.

З метою дослідження функціональної активності ЦНС на тлі експериментальної патології вивчали показники тесту відкритого поля [3], де реєструва-

ли горизонтальну рухову активність (кількість перетнутих квадратів), вертикальну рухову активність (стійки), дослідницьку активність (обстеження отворів), вегетативні реакції (фекальні болюси, уринації) та кількість актів грумінгу, який є маркером емоційності тварин.

Стан показників системи ПОЛ-АОС вивчали у сироватці крові. Визначали вміст дієвих кон'югатів (ДК) [4], активних продуктів, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП) [4, 5], відновленого глутатіону (ВГ) [4, 5] та α-токоферолу [4, 5]. Зміни гормонального фону верифікували за вмістом кортикостерону [4, 5].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistika Analystsoft з використанням критерію Стьюдента [14].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Надмірне вживання ГН експериментальними тваринами впливало на зміну показників функціональної активності ЦНС (табл. 1). У тварин групи контрольної патології зареєстровано зростання збудливості, що встановлено за збільшенням в 1,4 рази кількості перетнутих квадратів, в 1,5 рази за збільшенням кількості стійок, тобто активацією локомоторного компонента з одночасним зменшенням в 1,7 рази дослідницької активності (за показником обстеження отворів).

Глутаматна інтоксикація характеризується розвитком тривожності – збільшенням у 2 рази всіх показників емоційності (табл. 1), що контролюються вегетативною нервовою системою (грумінг, болюси, уринації).

Вищезазначене підтверджується даними літератури, де доведено, що вживання надлишку ГН індукує розвиток ексайтотоксичності зі зростанням тривожності та розвитком інших психосоматичних розладів [10].

Крім того, тварини, що вживали ГН, мали підвищений в 1,4 рази рівень кортикостерону, що може провокувати ускладнення з боку ЦНС (табл. 2).

Таблиця 2

**ВПЛИВ КОМПЛЕКСУ ПФВ НА ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ПОЛ-АОС ТА ГОРМОНАЛЬНИЙ СТАН ЩУРІВ ЗА УМОВ ГЛУТАМАТНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ (ГІ) (n=6)**

Група	Показники системи ПОЛ-АОС у сироватці крові				Гормональний фон
	ТБК-АП	ДК	ВГ	α-токоферол	кортикостерон, нмоль/л
Інтактний контроль	0,98 ± 0,04	17,5 ± 1,28	4,28 ± 0,16	30,6 ± 1,17	52,0 ± 4,0
Контрольна патологія (ГІ)	2,05 ± 0,25*	31,8 ± 0,82*	2,91 ± 0,27*	12,9 ± 0,23*	71,0 ± 2,0*
ГІ + комплекс ПФВ 90 мг/кг	1,34 ± 0,19 <sup>#</sup>	23,5 ± 0,96 <sup>#</sup>	3,34 ± 0,11 <sup>#</sup>	18,5 ± 0,75 <sup>#</sup>	60,0 ± 2,0 <sup>#</sup>

Примітки:

1) ГІ – глутаматна інтоксикація індукована надлишковим введенням ГН;

2) \* – достовірні відмінності до інтактного контролю,  $p < 0,05$ ; <sup>#</sup> – достовірні відмінності до групи контрольної патології (ГІ),  $p < 0,05$ .

Тривале та надмірне споживання їжі з додаванням ГН спричиняло також розвиток оксидативного стресу, що встановлено за зростанням вмісту продуктів ПОЛ (збільшення вмісту ТБК-АП у 2,1 рази, ДК – у 1,8 рази) та зниженням активності АОС (зменшення ВГ у 1,5 рази, α- токоферолу – у 2,4 рази).

Відомо, що головним напрямом первинної нейропротекції є корекція дисбалансу збуджувальних та гальмівних нейротрансмітерних систем, зменшення ексайтотоксичності за рахунок переривання швидких механізмів глутамат-кальцієвого каскаду. Додавання до харчового раціону комплексу ПФВ зменшувало прояви ексайтотоксичності. Всі досліджувані показники ЦНС, локомоторна-дослідницька активність та вегетативні реакції знаходились у межах фізіологічної норми щодо збільшення уринацій, що можна пояснити діуретичним ефектом комплексу ПФВ (табл. 1).

Введення концентрату з насіння винограду у дозі 90 мг/кг нормалізувало всі показники прооксидантно-антиоксидантного балансу у досліджуваній групі до рівня інтактного контролю (табл. 2).

Також слід відзначити, що на тлі глутаматної інтоксикації тварини, що ортримували комплекс ПВК показували вірогідно нижчий рівень кортикостерону, що свідчить про нормалізацію гормонального фону відносно групи контрольної патології.

### ВИСНОВКИ

Введення щуром у харчовий раціон надлишку глутамату натрію у дозі 4 г/кг призводить до розвитку ексайтотоксичності, яка характеризується, перш за все, суттєвим порушенням функціональної активності ЦНС за показниками тесту «відкритого поля». Надлишкове введення глутамату натрію викликає дисбаланс у системі ПОЛ-АОС та характеризується порушенням гормонального фону, що зареєстровано за збільшенням кортикостерону.

Введення комплексу ПФВ сприяло зниженню проявів глутаматної ексайтотоксичності за всіма досліджуваними показниками. За умов введення комплексу ПФВ відбувалось відновлення функціональних показників ЦНС до рівня інтактних тварин; зареєстровано нормалізацію балансу системи ПОЛ-АОС;

зниження вмісту кортикостерону до фізіологічної норми.

Проведені дослідження дозволяють зробити висновки, що одним із ефективних превентивних засобів попередження розвитку глутаматної інтоксикації є введення до раціону харчування комплексів поліфенолів винограду культурного.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Ахапкина В. И. Фундаментальные основы модуляторной концепции и классификации модуляторных лекарственных средств / В. И. Ахапкина, Р. В. Ахапкин // Рос. мед. журн. – 2012. – № 19. – С. 6-15.
2. Биологически активные вещества винограда и здоровье: [монографія] / Под общ. ред. проф. А. Л. Загайко. – Х.: Изд-во «Форт», 2012. – 404 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
4. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – Мн: Беларусь, 2000. – 168 с.
5. Комаров Ф. И. Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. – Элиста: Джангар, 1999. – 250 с.
6. Перспективи застосування природних антиоксидантів у профілактиці атеросклерозу: [монографія] / [А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, Г. Б. Кравченко та ін.]. – Х.: НФаУ, 2010. – 272 с.
7. Chiaki S. History of glutamate production / S. Chiaki // The American J. of Clinical Nutr. – 2009. – Vol. 3. – P. 728S-732S.
8. Paul S. Ameliorative effect of α-tocopherol on monosodium glutamate-induced cardiac histological alterations and oxidative / [S. Paul, A. Mohanan, M. V. Varghese et al.] // J. Sci. Food Argic. – 2012. – Vol. 92 (15). – P. 3002-3006.
9. Rahman I. Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols / I. Rahman, S. K. Biswas, P. A. Kirkham // Biochem. Pharmacol. – 2006. – Vol. 72 (11). – P. 1439-1452.



10. Scott G. S. Glutamate-stimulated peroxynitrite production in a brain-derived endothelial cell line is dependent on N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor activation / G. S. Scott, S. R. Bowman, T. Smith // *Biochem. Pharmacol.* – 2007. – Vol. 73 (2). – P. 228-236.
11. Simon D. J. A Caspase Cascade Regulating Developmental Axon Degeneration / [D. J. Simon, R. M. Weimer, T. McLaughlin et al.] // *J. Neurosci.* – 2012. – Vol. 32 (49). – P. 7540-17553.
12. Watkins J. C. The glutamate story / J. C. Watkin, D. E. Jane // *Br. J. Pharmacol.* – 2006. – Vol. 147. – P. 100-108.
13. Williams A.N. Monosodium glutamate “allergy”: menace or myth? / A. N. Williams, K. M. Woessner // *Clin. Exp. Allergy.* – 2009. – Vol. 39 (5). – P. 640-646.
14. [www.analystsoft.com/ru](http://www.analystsoft.com/ru)

**УДК 615.21:547.466.64.615.322:582.782.2****А. Л. Загайко, Н. А. Цубанова, Э. С. Цубанова****ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ КОМПЛЕКСА ПОЛИФЕНОЛОВ ВИНОГРАДА КУЛЬТУРНОГО НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЛУТАМАТНОЙ ЭКСАЙТОТОКСИЧНОСТИ**

Приведены результаты изучения активности комплекса полифенолов винограда культурного на фоне экспериментальной глутаматной эксайтотоксичности у крыс. Установлено, что глутаматная эксайтотоксичность характеризуется значительными нарушениями функциональной активности ЦНС, развитием оксидативного стресса и изменениями гормонального фона. Введение в пищевой рацион концентрата полифенолов винограда в дозе 90 мг/кг уменьшало проявления эксайтотоксичности. Все изучаемые показатели центральной нервной системы: локомоторно-исследовательская активность, вегетативные реакции находились в границах физиологической нормы. Введение концентрата полифенолов винограда нормализовало прооксидантно-антиоксидантный баланс и способствовало снижению уровня кортикостерона.

**Ключевые слова:** эксайтотоксичность; глутамат натрия; БАВ винограда

**UDC 615.21:547.466.64.615.322:582.782.2****A. L. Zagayko, N. A. Tsubanova, E. S. Tsubanova****STUDY OF INFLUENCE OF COMPLEX POLIFENOLS FROM GRAPES CULTURAL ON BACKGROUND OF THE EXPERIMENTAL EKSAITOTOXICITY CAUSED BY MONOSODIUM GLUTAMATE**

The paper presents the results of a study of activity the complex polifenols from grapes cultural background of the experimental exsytotoxicity caused by monosodium glutamate in rats. It has been established that glutamate exsytotoxicity is characterized by significant impairments in functional activity of the central nervous system, the development of oxidative stress and pathological hormonal changes. Introduction to the diet of concentrate the complex polifenols from grapes in a dose of 90 mg/kg reduced the manifestations of exsytotoxicity. All the studied parameters of the central nervous system: research locomotor activity, autonomic reactions were in the range of physiological norm. The complex polifenols from grapes introduced on background of the experimental exsytotoxicity caused by monosodium glutamate contributed normalization prooxidant-antioxidant balance and contributed reduction corticosterone level.

**Key words:** exsytotoxicity; monosodium glutamate; polifenols from grapes cultural

Адреса для листування:  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Тел. (факс): 8(057)7063099.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції  
19.12.2014 р.



УДК 615.322:616.37:616.08

А. Л. Загайко, Е. И. Войтенко, В. П. Филимоненко, И. А. Колычев, О. Н. Кошевой  
Национальный фармацевтический университет

## ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ЧЕРНИКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

*Содержание животных на высококалорийной диете с добавлением фруктозы вызывает комплекс метаболических нарушений, характерных для метаболического синдрома и диабета 2 типа. Введение сухого экстракта черники оказывает выраженное нормализующее действие на все исследованные показатели: значительно снижается концентрация глюкозы, инсулина, гликозилированного гемоглобина, фруктозамина, ТАГ, а также улучшается соотношение уровней  $\alpha$ -холестерина к  $\beta$ -холестерину. Протекторные эффекты экстракта черники связаны с высоким содержанием в листьях данного растения целого ряда фенольных соединений (антоцианидинов, дубильных веществ поликатехиновой природы, кверцетина, арбутина, хлорогеновой кислоты и др.), для которых показано гипогликемическое и антиоксидантное действие.*

**Ключевые слова:** сахарный диабет; гипергликемия; инсулинорезистентность; инсулин; полифенольные соединения; экстракт листьев черники

### ВСТУПЛЕНИЕ

Термин «сахарный диабет» (СД) объединяет группу синдромов, для которых характерны гипергликемия, нарушенный метаболизм липидов, углеводов и белков и высокий риск осложнений, связанный с поражением сосудов. СД и нарушение толерантности к глюкозе не только встречаются сами по себе, но и сопутствуют многим заболеваниям – так называемый «вторичный сахарный диабет».

Ослабление системы антиоксидантной защиты организма при СД приводит к активации перекисных механизмов [1, 4, 9], что наряду с гипергликемией и дислипидемией приводит к нарушению проницаемости фосфолипидной мембраны клеток периферических тканей, толерантности к инсулину, повреждению  $\beta$ -клеток островков Лангерганса и развитию макро- и микроангиопатии. Рядом экспериментальных работ было выявлено, что применение фитотерапии в комплексном лечении СД приводит к предупреждению развития заболевания и его осложнений. Препаратами выбора для профилактики и лечения СД и его осложнений являются природные биофлавоноиды [1]. Для этих веществ характерна высокая антирадикальная активность. Оптимальный эффект растительных АО проявляется при применении их в комплексе сопутствующих биологически активных веществ растительного сырья [7].

Природные антиоксиданты – флавоноиды в комплексе с другими растительными биологически ак-

тивными веществами оказывают гипогликемическое действие [6]. Интерес для исследования в качестве средства для применения при СД представляет черника обыкновенная – *Vaccinium myrtillus*. Применяют препараты листьев черники для снижения сахара в крови при СД в составе различных растительных сборов.

Целью настоящего исследования было изучение влияния экстракта сухого из листьев черники на развитие метаболических нарушений у крыс при экспериментальной инсулинорезистентности.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводили на 18-месячных белых рандомбредных самцах крыс массой 350-370 г. Инсулинорезистентность моделировали содержанием животных на диете, обогащенной фруктозой (60,3 % фруктозы, 18,3 % белка, 5,2 % жиров), которая сопровождается ожирением, нарушениями углеводного и липидного обменов [8]. Опытные животные были разделены на 3 группы: 1) интактные животные, которые содержались на стандартном рационе вивария НФаУ; 2) животные, которые содержались 12 недель на фруктозной диете; 3) животные, которые содержались 8 недель на фруктозной диете и ещё 4 недели на данной диете с ежедневным одноразовым внутрижелудочным введением экстракта сухого из листьев черники в дозе 9 мг общих полифенолов на 100 г массы тела. Данная доза была подобрана в предыдущих экспериментах как наиболее эффективная. Под хлоразоло-уретановым наркозом у животных брали кровь из верхней десны. При выполнении экспе-

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ВЫСОКОФРУКТОЗНОЙ ДИЕТЕ И/ИЛИ ВВЕДЕНИИ ИССЛЕДУЕМОГО ВЕЩЕСТВА (M ± m, n = 6)**

Показатель	Интакт	Диета	Диета + черника
Глюкоза, ммоль/л	4,6 ± 0,1	11,2 ± 0,2*	8,2 ± 0,1*#
Инсулин, пг/мл	1265 ± 28	2675 ± 46*	2224 ± 27*#
Триацилглицерин, ммоль/л	0,87 ± 0,04	1,56 ± 0,07*	1,23 ± 0,06*#
α-Холестерин, ммоль/л	1,25 ± 0,03	1,19 ± 0,04	1,27 ± 0,08
β-Холестерин, ммоль/л	2,63 ± 0,05	3,64 ± 0,07*	3,19 ± 0,04*#
Гликозилированный гемоглобин	7,5 ± 0,5	9,0 ± 0,7*	8,4 ± 0,6*#
Фруктозамин	1,91 ± 0,12	3,52 ± 0,29*	2,45 ± 0,24*#

Примечание:

1) \* – отклонение достоверно относительно интакта ( $p \leq 0,05$ );

2) # – отклонение достоверно относительно «Диеты» ( $p \leq 0,05$ ).

риментов придерживались «Общих этических принципов экспериментов на животных» (Украина, 2001), гармонизированных с «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1985).

В качестве маркера степени компенсации углеводного обмена, качества лечения и риска развития отдаленных осложнений СД использовали уровень гликированного гемоглобина (HbA1c), концентрацию которого определяли иммунотурбидиметрическим методом. Уровень фруктозамина определяли спектрофотометрическим методом с использованием НСТ (нитросинего тетразолия), реактивы фирмы «Хоффманн – Ла Рош».

Содержание глюкозы, инсулина и триацилглицеролов (ТАГ) определяли с использованием стандартных наборов фирмы «Фелісіт-Діагностика» (Украина) и фирмы «Lachema» (Чехия). Концентрации α-холестерина и β-холестерина определяли с помощью стандартных ферментативных холестеролоксидазных наборов фирмы Boehringer Mannheim GmbH Diagnostica (Германия).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из результатов проведенных исследований, содержание крыс на обогащенной фруктозой диете вызывает почти трехкратное увеличение уровня глюкозы в сыворотке крови (табл.). В то же время наблюдается гиперинсулинемия (табл.), что при одновременной гипергликемии свидетельствует о нечувствительности клеток к инсулину, то есть о развитии инсулинорезистентности.

Как известно, фруктоза не вызывает усиления секреции инсулина, необходимого для утилизации других углеводов пищи, и в печени становится субстратом липогенеза [9]. Фруктозная нагрузка таким образом приводит к ускорению синтеза триацилглицеринів *de novo*, а также увеличению уровня свободных жирных кислот, которые могут активировать клю-

чевой фермент гликогенолиза – глюкозо-6-фосфатазу и тем самым увеличивать образование глюкозы в печени, что существенно влияет на увеличение гипергликемии [9].

Возрастание концентрации ТАГ (табл.), наблюдаемое через 6 недель эксперимента, является следствием мобилизации жира из жировой ткани и усиления эндогенного синтеза ТАГ и липопротеинов очень низкой плотности печенью из-за ослабления ингибирующего действия инсулина на липолиз. Уровень гликозилированного гемоглобина увеличивался по сравнению с контролем, т. к. это соединение образуется в результате неферментативной химической реакции гемоглобина А, содержащегося в эритроцитах, с глюкозой крови. Скорость и объем этой реакции зависят от среднего уровня глюкозы крови на протяжении жизни эритроцита.

Как видно из данных (табл.), происходит повышение концентрации глюкозы, гликозилированного гемоглобина и фруктозамина. Повышение средней концентрации глюкозы в крови приводит к повышению концентрации HbA1c на 20 %, а фруктозамина – на 84 %. Повышение концентрации фруктозамина в сыворотке крови экспериментальных животных также свидетельствует о нарушении регуляции гликемии инсулином. Помимо гемоглобина неферментативному гликозилированию в плазме крови подвергается и альбумин, в результате чего образуется фруктозамин. Таким образом, уровень гликированных белков, определяемый по содержанию фруктозамина, отражает средний уровень глюкозы в крови пациента на протяжении ранних сроков развития гипергликемии.

Поскольку скорость образования HbA1c зависит от величины гипергликемии, а нормализация его уровня в крови происходит через 4-6 недель после достижения эугликемии, содержание гликогемоглобина является адекватным показателем компенсации углеводного обмена у больных диабетом на протяжении длительного времени, и возрастание его уровня, от-

меченное и в нашем эксперименте, свидетельствует о большем риске развития ретинопатии, нефропатии и других осложнений диабета [5].

Падение уровня  $\alpha$ -холестерина и повышение содержания  $\beta$ -холестерина у животных группы модельной патологии (табл.), очевидно, связано с усилением переноса эфиров холестерина от ЛПВП к атерогенным АпоВ-ЛП и обусловлено накоплением ТАГ. В результате этих и других изменений развивается атерогенная дислипидемия [3].

Таким образом, содержание животных на высококалорийной диете с добавлением фруктозы вызывает комплекс метаболических нарушений, характерных для метаболического синдрома и диабета 2 типа.

В то же время, введение сухого экстракта черники оказывает выраженное нормализующее действие на все исследованные показатели: значительно снижается концентрация глюкозы, инсулина, гликозилированного гемоглобина, фруктозамина, ТАГ, а также улучшается соотношение уровней  $\alpha$ -холестерина к  $\beta$ -холестерину (табл.).

Установленные протекторные эффекты экстракта черники, по-видимому, связаны с высоким содержанием в листьях данного растения целого ряда фенольных соединений (антоцианидинов, дубильных веществ поликатехиновой природы, кверцетина, арбутина, хлорогеновой кислоты и др.), для которых показано гипогликемическое и антиоксидантное действие [7].

Механизм гипогликемического действия полифенольных соединений, согласно данным литературы, связан с их влиянием на транспорт глюкозы в клетки. Главную роль в антидиабетическом действии экстрактов из листьев черники в последнее время отводят миртиллин и неомиртиллин. Последние представляют собой смесь эфиров дельфинидина и мальвидина, которые повышают чувствительность клеток к инсулину и улучшают функционирование поджелудочной железы [6].

В частности, известно, что в стимулированном инсулином поступлении глюкозы в клетки ключевую роль играет переносчик глюкозы GLUT4, который при необходимости транслоцируется из цитозоля к плазматической мембране. Активации GLUT4 предшествует взаимодействие инсулина со специфическим рецептором, активация тирозинкиназы и ФИ-3-киназы [10]. Однако показано, что транслокация GLUT4 также может быть инициирована посредством p38 MAPK-сигнального каскада, в который вовлечены PKB, Akt, p38 MAPK. Антоцианидины индуцируют аутофосфорилирование инсулинового рецептора, активируют PKB, Akt, p38 MAPK [10]. Согласно данным литературы катехин, как в опытах *in vivo*, так и *in vitro* снижает содержание глюкозы, усиливает поступление глюкозы в клетки, стимулирует синтез гликогена, а также окисление глюкозы [3]. Катехин усиливает как синтез мРНК GLUT4, так и про-

цессы трансляции, что приводит к увеличению числа GLUT4. В результате такого действия кверцетин значительно снижает содержание триацилглицеринов и свободных жирных кислот в сыворотке крови крыс, а также пролонгирует проведение инсулинового сигнала путем увеличения активности тирозинкиназы и снижения активности тирозинфосфатазы в клетках-мишенях инсулина, может также увеличивать количество рецепторов к инсулину на поверхности клеток [6]. Кверцетин также ускоряет использование глюкозы в клетках печени и скелетных мышц путем активации ключевых ферментов гликолиза – гексокиназы и пируваткиназы, снижает активность гликогенфосфорилазы и стимулирует образование гликогена в клетках печени и скелетных мышц у животных с экспериментальным СД2. Кроме того, процианидины, содержащиеся в исследуемом экстракте, являются ингибиторами  $\beta$ -глюкозидазы и сахаразы, поэтому данные концентраты тормозят гидролиз углеводов в ЖКТ и, как следствие, снижают образование и всасывание глюкозы в кишечнике [6].

Немаловажный вклад в наблюдаемые эффекты вносят и мощные антиоксидантные свойства полифенолов черники. Гипергликемия неминуемо сопровождается интенсивным образованием свободных радикалов и активацией свободнорадикальных процессов, усугубляя повреждение органов и тканей.

## ВЫВОДЫ

1. Содержание животных на высокофруктозной диете сопровождается комплексом метаболических нарушений, характерных для метаболического синдрома и сахарного диабета 2 типа.
2. Лечебно-профилактическое применение сухого экстракта листьев черники оказывает нормализующее влияние на показатели гликозилирования, а также на уровень глюкозы и показатели липидного обмена в сыворотке крови исследованных животных, что свидетельствует о целесообразности более глубокого изучения данного экстракта с целью создания на его основе средства для коррекции сахарного диабета 2 типа.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Балаболкин М. И. Эндокринология: [учебник]. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Универсум пубблишинг, 1998. – 416 с.
2. Бондарь И. А., Климонтов В. В. Антиоксиданты в лечении и профилактике сахарного диабета. – [www.diabet.ru](http://www.diabet.ru). Сахарный диабет. – 2001. – № 1.
3. Джафарова Р. Э. Исследование гипогликемического действия некоторых лекарственных растений, содержащих флавоноиды / Р. Э. Джафарова // Проблемы физиол. и биохимии. – 2008. – Т. 26. – С. 237-248.
4. Загайко А. Л. Метаболічний синдром: механізми розвитку та перспективи антиоксидантної тера-

- пії: [монографія] / А. Л. Загайко, Л. М. Вороніна, К. В. Стрельченко. – Х.: Вид-во НФаУ; Золоті сторінки, 2007. – 216 с.
5. Ильин А. В. Гликозилированный гемоглобин как ключевой параметр при мониторинге больных сахарным диабетом / А. В. Ильин, М. И. Арбузова, А. П. Князева // Сахарный диабет. – 2008. – № 2. – С. 60-64.
  6. Макарова М. Н. Антирадикальная активность флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами / М. Н. Макарова, В. Г. Макаров, И. Г. Зенкевич // Фармация. – 2004. – № 2. – С. 30-32.
  7. Рязанова Т. К. Фармакологическое исследование плодов и побегов черники обыкновенной / Т. К. Рязанова // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 8, Ч. 5. – С. 1136-1140.
  8. Строев Е. А. Практикум по биологической химии / Е. А. Строев, В. Г. Макарова. – М.: Высш. шк., 1986. – 231 с.
  9. Altas M. Endothelial dysfunction in high fructose containing diet fed rats: increased nitric oxide and decreased endothelin-1 levels in liver tissue / [M. Altas, A. Var, K. Ozbilgin et al.] // Dicle University Med. School. – 2010. – Vol. 37, № 3. – P. 193-198.
  10. Saifa F. Flavanoid and antioxydant agents: importance of their interaction with biomembranes / [F. Saifa, M. Skalese, V. Lanza et al.] // Free Radical Biol. Med. – 1995. – Vol. 19, № 4. – P. 481-486.

### УДК 615.322:616.37:616.08

А. Л. Загайко, О. І. Войтенко, В. П. Филімоненко, І. А. Количев, О. М. Кошевой

#### ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ЧОРНИЦІ НА ПОКАЗНИКИ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ

Утримання тварин на висококалорійній дієті з додаванням фруктози викликає комплекс метаболічних порушень, характерних для метаболічного синдрому і діабету 2 типу. Введення сухого екстракту чорниці чинить виражену нормалізуючу дію на усі досліджувані показники: значно знижується концентрація глюкози, інсуліну, глікозилизованого гемоглобіну, фруктозаміну, ТАГ, а також покращується співвідношення рівнів  $\alpha$ -холестерину до  $\beta$ -холестерину. Протекторні ефекти екстракту чорниці пов'язані з високим вмістом в листі цієї рослини цілого ряду фенольних сполук (антоціанідинів, дубильних речовин полікатехінової природи, кверцетину, арбутину, хлорогенової кислоти тощо), для яких показана гіпоглікемічна і антиоксидантна дія.

**Ключові слова:** цукровий діабет; гіперглікемія; інсулінорезистентність; інсулін; поліфенольні сполуки; екстракт листя чорниці

### UDC 615,322: 616.37: 616.08

A. L. Zagayko, E. I. Voitenko V. P. Fylymonenko, I. A. Kolychev, O. N. Koshevoy

#### EFFECT OF BLUEBERRY LEAF EXTRACT ON THE PERFORMANCE OF AN EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES

Keeping animals on a high-calorie diet with the addition of fructose causes complex metabolic disorders specific to metabolic syndrome and type 2 diabetes. Introduction of dry Blueberry extract has expressed a normalizing effect on all parameters studied: significantly reduced the concentration of glucose, insulin, glycosylated hemoglobin, fructosamine, TAG, as well as improving the ratio of  $\alpha$ -cholesterol levels to  $\beta$ -cholesterol. Blueberry extract protective effect associated with a high content in leaves of this plants of a number of phenolic compounds (anthocyanidins, tannins polikatehinic nature, quercetin, arbutin, chlorogenic acid, et al.), for which it is showed antioxidant and hypoglycemic action.

**Key words:** diabetes mellitus; hyperglycemia; insulin resistance; insulin; polyphenolic compounds; blueberry leaf extract

Адрес для переписки:  
61002, г. Харьков, ул. Мельникова, 12.  
Тел. (факс): 8(057)7063099.  
Национальный фармацевтический университет

Поступила в редакцию  
05.12.2014 г.



УДК 616.12-008.331.1-092+616-056.52-16

А. Л. Загайко, Т. А. Брюханова, А. И. Шкапо

*Национальный фармацевтический университет*

## ГИПЕРУРИКЕМИЯ КАК ЭЛЕМЕНТ ПАТОГЕНЕЗА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА

*Метаболический синдром как мультиморбидная патология имеет многогранный патогенез, во многих звеньях которого принимает участие мочева кислота. Гиперурикемия играет одну из ключевых ролей в процессах воспаления, эндотелиальной дисфункции, инсулинорезистентности, атерогенеза. Таким образом, избыток уратов при сопутствующем метаболическом синдроме может рассматриваться как независимый фактор сердечно-сосудистого риска. В статье рассмотрены основные аспекты взаимосвязи гиперурикемии и компонентов метаболического синдрома.*

*Ключевые слова:* метаболический синдром; мочева кислота; гиперурикемия; инсулинорезистентность; ожирение

### ВСТУПЛЕНИЕ

Гиперурикемия (ГУ) – повышение уровня мочево кислоты (МК) в сыворотке крови выше 360 мкмоль/л у женщин и выше 420 мкмоль/л у мужчин [5]. Асимптомное повышение уровня МК в сыворотке крови встречается у 5-8 % в популяции, при этом только у 5-20 % из них развивается подагра [8]. В настоящее время это патологическое состояние привлекает пристальное внимание исследователей, что обусловлено ассоциацией повышенного уровня МК с развитием ряда патологий, которые относят к «болезням цивилизации»: ожирение, гипертоническая болезнь, сахарный диабет. Кроме того, гиперурикемия является независимым фактором развития сердечно-сосудистых заболеваний и коррелирует с различными поражениями почек.

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) лидируют среди причин смертности у мужчин в возрасте моложе 65 лет и занимают второе место у женщин [11]. Высокая распространенность патологий этой нозологической группы требует разработки эффективных методов, которые позволили бы предупреждать их развитие/прогрессирование. Коррекция основных факторов риска ССЗ – метаболических нарушений (ожирение, сахарный диабет 2 типа, атеросклероз и др.), артериальной гипертензии, модификация образа жизни позволяет эффективно контролировать течение и предупреждать их осложнения.

Данные клинических наблюдений и эпидемиологических исследований последних лет позволили

выявить причинно-следственную связь между повышением уровня МК в сыворотке крови и частотой развития ССЗ. Среди причин, влияющих на уровень МК, лидирует метаболический синдром (МС) – совокупность модифицируемых факторов риска развития ССЗ, атеросклероза и сахарного диабета 2 типа (СД 2) [2-3, 7]. Актуальность изучения проблемы МС обоснована высокой распространенностью в популяции и неуклонным ростом заболеваемости с одной стороны, а также увеличением показателей общей смертности (в первую очередь вследствие ССЗ) – с другой. Таким образом, МС является мультидисциплинарной проблемой, а изучение отдельных компонентов его патогенеза и поиск способов их коррекции – важной задачей в сфере медико-фармацевтических наук, решение которой позволит определять прогноз и возможность профилактики осложнений синдрома.

На сегодняшний день данные ряда исследований указывают на роль бессимптомной ГУ в развитии и прогрессировании МС. У пациентов с МС уровень МК равен примерно 0,5-1 мг/дл, что превышает средние значения в популяции. При этом выраженность ГУ зависит от наличия компонентов МС и прямо коррелирует с увеличением их числа. Согласно результатам популяционного исследования уровень МК сыворотки крови увеличивался с 4,6 мг/дл у пациентов без компонентов МС до 5,9 мг/дл у пациентов с наличием трех компонентов МС. При этом уровень МК не увеличивался у пациентов, имеющих более трех компонентов МС [7-8].

Установлено, что сочетание повышенного уровня МК, МС и артериальной гипертензии встречается с частотой до 60 %. В случае антигипертензивной



терапии диуретиками частота встречаемости ГУ при АГ возрастает до 50 %; при резистентной и злокачественной АГ может достигать 75 % [8].

Несмотря на то, что данные ряда эпидемиологических исследований свидетельствуют о корреляционной зависимости ГУ с компонентами МС, эти результаты являются довольно противоречивыми и не могут однозначно указать, какую роль МК играет в патогенезе МС и ассоциированных с ним заболеваний. Поскольку ни один из предполагаемых механизмов повышения уровня МК у этой категории пациентов не доказан, данное научное направление требует дальнейшего более детального изучения.

Следует отметить, что ни в одной из действующих версий рекомендаций по диагностике и лечению МС (International Diabetes Federation (IDF), 2006; Всероссийское научное общество кардиологов (ВНОК), второй пересмотр 2009 г.; National Cholesterol Education Program- Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III), 2004; ВОЗ, 1998; American Association Of Clinical Endocrinologists (AAACE), 2003) ГУ не включена в кластер проявлений МС и не признана его критерием. Это обусловлено результатами отдельных исследований, в т. ч. Фрамингемского – самого продолжительно действующего исследования по изучению сердечно-сосудистых заболеваний и факторов риска их развития. В нем не было выявлено прямой зависимости между уровнем МК в сыворотке крови и развитием сердечно-сосудистых осложнений после устранения других модифицируемых факторов (АГ, избыточная масса тела).

Однако на сегодняшний день проведен ряд клинико-эпидемиологических исследований, результаты которых достоверно подтверждают корреляцию между концентрацией МК в крови и развитием МС и его компонентов, отражающих выраженность инсулинорезистентности (ИР) – ожирение, триглицеридемия, гиперинсулинемия и гликемия.

Предполагается двойной механизм ассоциации ГУ с ИР: ксантиноксидоредуктаза (основной фермент синтеза МК) является одним из ключевых факторов дифференциации адипоцитов. Данные литературы свидетельствуют о достоверной корреляции ГУ с дисбалансом адипокинов – адипонектина и ретинол-связывающего протеина-4. Гиперпродукция ретинол-связывающего протеина-4 обуславливает нарушение утилизации глюкозы скелетными мышцами и активизирует глюконеогенез в печени, что соответствует ранним стадиям ИР [7, 11].

Кроме того, повышение уровня МК у пациентов с гиперинсулинемией обусловлено способностью инсулина замедлять клиренс МК в проксимальных канальцах почек. При эугликемической гиперинсулинемии усиливается реабсорбция уратов, что, возможно, является главным патогенетическим аспектом в формировании как неконтролируемой подагры, так и АГ у пациентов с гиперинсулинемией и ИР [1-3].

Следует отметить, что исследования, проведенные в этой области, свидетельствуют о высокой частоте встречаемости гиперинсулинемии и ИР у больных с подагрой – 95 % и 76 % соответственно [1]. Это позволяет предположить, что ИР является для больных подагрой облигатным состоянием. Данные ряда исследователей свидетельствуют о влиянии ИР не только на развитие факторов риска, приводящих к ССЗ (увеличение атерогенных фракций липидов, повышение индекса массы тела, СД 2 и др.), но и на течение непосредственно подагры – пациенты с выявленной ИР демонстрировали тенденцию к затяжному течению подагрического артрита.

В ходе крупномасштабного исследования, проведенного в 2013 году, был установлен относительный риск развития МС у пациентов при различных значениях уровня МК в сыворотке крови. В нем приняли участие 7399 пациентов с исходно нормальным уровнем МК и отсутствием МС. Результаты свидетельствуют о том, что при содержании МК на уровне верхней границы референсных значений риск развития МС составляет 1,29 у мужчин и 1,62 у женщин. Относительный риск развития МС при ГУ составляет 1,634-2,67 у мужчин и 1,626-2,14 у женщин. При повышении содержания МК на 1 мг/дл риск возрастает в 1,26 раза у мужчин и в 1,71 раза у женщин [5]. Таким образом, содержание МК в крови напрямую коррелирует с риском возникновения МС и как следствие – его сопутствующих патологий (в том числе ССЗ), что позволяет рассматривать показатели азотистого метаболизма в качестве ранних предикторов возникновения ряда заболеваний, ассоциированных с ИР и МС.

Экспериментально была подтверждена роль МК в развитии ИР. В клиническом исследовании 2011 года было установлено статистически значимое возрастание риска ИР (по индексу HOMA-IR – homeostasis model assessment of insulin resistance) при увеличении содержания МК в сыворотке крови от нижнего к верхнему квартилю: отношение рисков у мужчин составляет 2,51 (95 % ДИ 1,22-5,16), у женщин 1,88 (95 % ДИ 1,06-3,31). Аналогичные результаты были получены Yoo T.W. и соавт. в 2005 году в исследовании с участием 53,477 пациентов по выявлению ассоциации повышения индекса HOMA и увеличения содержания МК в сыворотке крови [4-5].

Еще одним аспектом, подтверждающим взаимосвязь ГУ с ИР, является оценка типа ожирения, характерного для пациентов с повышенным уровнем МК. В исследовании Matsuura F. и соавт. (1998) было продемонстрировано, что пациенты с висцеральным типом ожирения имеют достоверно более высокий уровень МК по сравнению с пациентами, у которых отложения жира локализованы преимущественно подкожно. Как известно, именно висцеральное ожирение коррелирует с синдромом ИР. Кроме того, у паци-

ентов с висцеральным ожирением в сыворотке крови были значительно выше показатели уровня триглицеридов, холестерина и глюкозы натощак, что свидетельствует о более неблагоприятном прогнозе в плане метаболических осложнений. Сопоставимые результаты были продемонстрированы в ряде аналогичных исследований: Vonoga E. и соавт. (1996) – исследование с участием 957 пациентов, в котором было продемонстрировано не только наличие взаимосвязи между сывороточным уровнем МК и висцеральным ожирением, но и прямая корреляция ГУ с триглицеридемией и увеличением риска ССЗ. В исследовании Nikita M. и соавт. (2007) при участии 508 пациентов была доказана прямая корреляция между ГУ и висцеральным типом ожирения, ИР (по индексу НОМА), триглицеридемией и содержанием общего холестерина. Кроме того, была продемонстрирована обратная взаимосвязь между уровнем МК в сыворотке крови и содержанием липопротеинов высокой плотности (антиатерогенная фракция) [5].

Помимо взаимосвязи с ИР ГУ тесно коррелирует с другими составляющими МС: избыточной массой тела, дислипидемией и гипергликемией. Например, в исследовании Puig J. G. и соавт. (2008, Испания), проведенном с участием 503 пациентов, изучалась взаимосвязь между ГУ, МС и уровнем С-реактивного белка (СРБ) [4]. Было установлено, что повышенное содержание МК в сыворотке крови сопровождалось наличием у испытуемых МС и его отдельных компонентов: корреляционная связь между содержанием МК и показателем объема талии (ОТ) составляла не менее 0,455 ( $p < 0,01$ ). При этом ГУ была независимо ассоциирована с показателем СРБ. Схожие результаты были получены в более масштабном исследовании Li C. et al. (2004-2006, Китай), проведенном на 2374 добровольцах. Результаты свидетельствуют о статистически достоверной взаимосвязи между ГУ, ОТ, уровнем АД и содержанием триглицеридов в сыворотке крови. Наиболее значимая корреляция наблюдалась между повышенным содержанием МК-триглицеридов сыворотки крови (0,379) и содержанием МК – показателем ОТ (0,234). Кроме того, была выявлена зависимость между ростом концентрации МК и одновременным увеличением ОТ [2, 11]. Полученные в этих исследованиях результаты демонстрируют, что ГУ на фоне МС усугубляет течение ИР, что, в свою очередь, негативно отражается на состоянии углеводного обмена – у этой категории пациентов наблюдаются более высокие показатели гликемии, гликозилированного гемоглобина, инсулина плазмы. Прогрессирование ИР, в свою очередь, приводит к повышенной реабсорбции уратов в проксимальных почечных канальцах, что замыкает «порочный круг» и стимулирует нарастание тяжести ГУ.

Согласно данным ряда авторов, ИР инициирует активацию ряда патологических каскадов, одним из которых является оксидативный стресс [1, 3, 6]. Ре-

ализация МК провоспалительной и прооксидативной активности подтверждается наличием маркеров воспаления на фоне ГУ: лейкоцитоза, нейтрофилии, интерлейкинов – 1- $\beta$ , 6, 18 (ИЛ-1- $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-18), фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), СРБ. Эти данные были подтверждены в крупном клиническом исследовании T. Lyngdoh и соавт. (2011, Швейцария) при участии 6085 пациентов в возрасте от 35 до 72 лет. Согласно результатам ГУ была ассоциирована с повышенной сывороточной концентрацией ИЛ-6, TNF- $\alpha$ , СРБ независимо от ряда факторов – пол, возраст, индекс массы тела. Однако наблюдалась обратная корреляция между повышенным содержанием МК и ИЛ-1- $\beta$ . Это свидетельствует о том, что МК является триггерным фактором развития процесса воспаления [5-6]. Это обусловлено гиперактивацией ксантиноксидазной системы, что приводит к избыточной генерации активных форм кислорода с одновременным угнетением антиоксидантных систем. Дисбаланс про- и антиоксидантных систем приводит к образованию вторичных продуктов, проявляющих провоспалительный и профибриногенный эффекты в отношении гладкомышечных клеток эндотелия сосудистой стенки. Это в конечном итоге приводит к развитию эндотелиальной дисфункции посредством повышения уровня диметиларгинина (ингибитор NO-синтазы), увеличения продукции вазоконстрикторных веществ (ангиотензин II, эндотелин-1, тромбоксан A2, норэпинефрин), усиления инактивации NO активными формами кислорода. Таким образом, ряд патологических процессов: активация воспаления, гиперпродукция свободных радикалов, пролиферативные процессы гладкомышечных клеток сосудистой стенки в итоге приводят к нарушению эластичности сосудов, что влечет за собой формирование АГ, резистентной к антигипертензивной терапии с поражением органов-мишеней (в первую очередь почек, головного мозга, сердца). Ведущая роль МК в формировании АГ на фоне МС подтверждена данными ряда крупномасштабных клинических исследований. Например, по результатам Worksite Treatment Program (2004, США), в котором приняли участие свыше 8 тысяч пациентов, был установлен риск развития кардиоваскулярных осложнений (32 %) при повышении содержания МК на 1 мг/дл у пациентов с контролируемой гипертензией [8, 9-10].

Таким образом, на сегодняшний день ГУ рассматривается как одна из составляющих МС, что подтверждено данными ряда крупномасштабных клинических исследований. Содержание МК в сыворотке крови является важным маркером, определяющим тяжесть и прогноз заболеваний, ассоциированных с МС (в том числе – ССЗ). Углубленное изучение этого научного направления является актуальной и перспективной задачей медико-фармацевтических наук, что позволит в дальнейшем разрабатывать эффективные схемы фармакологической коррекции МС и его

компонентов с позиции влияния на составляющие пуринового обмена.

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ  
ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ**

1. Березин А. Е. Прогностическая ценность асимптомной гиперурикемии у пациентов с хронической сердечной недостаточностью / А. Е. Березин, А. А. Кремзер // Укр. кардіол. журн. – 2013. – № 4. – С. 93-99.
2. Беспалова И. Д. Бессимптомная гиперурикемия как компонент метаболического синдрома / И. Д. Беспалова, В. В. Калужин, Ю. А. Медянцева // Бюл. сибирской медицины. – 2012. – № 3. – С. 14-18.
3. Денисов И. С. Исходы подагры. Обзор литературы. Ч. II. Коморбидные заболевания, риск развития сердечно-сосудистых катастроф и смерти при подагре / И. С. Денисов, М. С. Елисеев, В. Г. Барскова // Проблемы практ. ревматол. – 2013. – № 6 (51). – С. 703-710.
4. Недогода С. В. Возможности коррекции гиперурикемии при метаболическом синдроме / [С. В. Недогода, А. С. Саласюк, И. Н. Барыкина и др.] // Мед. совет. – 2014. – № 2. – С. 18-24.
5. Польская И. И. Изучение взаимосвязи подагры и метаболического синдрома / И. И. Польская, И. М. Марусенко // Современная ревматол. – 2011. – № 2. – С. 20-26.
6. Шуба Н. М. Гиперурикемия – мультиморбидная патология в ревматологии / Н. М. Шуба // Укр. ревматол. журн. – 2013. – № 2 (52). – С. 14-22.
7. Baldwin W. Hyperuricemia as a Mediator of the Pro-inflammatory Endocrine Imbalance in the Adipose Tissue in a Murine Model of the Metabolic Syndrome / [W. Baldwin, S. McRae, G. Marek et al.] // DIABETES. – 2011. – Vol. 60. – P. 1258-1269.
8. Billiet L. Review of Hyperuricemia as New Marker for Metabolic Syndrome / L. Billiet, S. Doaty, J. D. Katz, M. T. Velasquez // ISRN Rheumatol. – 2014. – P. 1-7.
9. Cohen E. Hyperuricemia and Metabolic Syndrome: Lessons from a Large Cohort from Israel / [E. Cohen, I. Krause, A. Fraser et al.] // IMAJ. – 2012. – Vol. 14. – P. 676-680.
10. Michio O. Association of urine acidification with visceral obesity and the metabolic syndrome / [O. Michio, K. Tetsuhiro, G. Kayoko et al.] // Endocrine J. – 2011. – Vol. 5 (58). – P. 363-367.
11. Soltani Z. Potential Role of Uric Acid in Metabolic Syndrome, Hypertension, Kidney Injury, and Cardiovascular Diseases: Is It Time for Reappraisal? / Z. Soltani, K. Rasheed, D. R. Kapusta, E. Reisin // Curr. Hypertens. Rep. – 2013. – Vol. 15. – P. 175-181.

**УДК 616.12-008.331. 1-092+616-056.52-16****А. Л. Загайко, Т. О. Брюханова, А. І. Шкапо****ГІПЕРУРИКЕМІЯ ЯК ЕЛЕМЕНТ ПАТОГЕНЕЗУ МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

Метаболічний синдром як мультиморбідна патологія має багатогранний патогенез, у багатьох ланках якого бере участь сечова кислота. Гіперурикемія відіграє одну з ключових ролей у процесах запалення, ендотеліальної дисфункції, інсулінорезистентності, атерогенезу. Таким чином, надлишок уратів при супутньому метаболічному синдромі може розглядатися як незалежний фактор серцево-судинного ризику. Розглянуті основні аспекти взаємозв'язку гіперурикемії і компонентів метаболічного синдрому.

**Ключові слова:** метаболічний синдром; сечова кислота; гіперурикемія; інсулінорезистентність; ожиріння

**UDC 616.12-008.331. 1-092+616-056.52-16****A. L. Zagayko, T. A. Briukhanova, A. I. Shkapo****HYPERURICEMIA AS AN ELEMENT OF THE PATHOGENESIS OF THE METABOLIC SYNDROME**

Metabolic syndrome as multimorbidity pathology has a multifaceted pathogenesis, many parts of which participates uric acid. Hyperuricemia plays a key role in the processes of inflammation, endothelial dysfunction, insulin resistance, atherogenesis. Thus, the excess urates with concomitant metabolic syndrome can be considered as an independent factor of cardiovascular risk. The article describes the main aspects of the hyperuricemia intercommunication with metabolic syndrome.

**Key words:** metabolic syndrome; uric acid; hyperuricemia; insulin resistance; obesity

*Адрес для переписки:*

61002, г. Харьков, ул. Мельникова, 12.

Тел. (факс): 8(057)7063099.

Национальный фармацевтический университет

Поступила в редакцию

19.12.2014 г.



УДК 577.121.9

А. Ю. Бродська, А. Л. Загайко\*, Л. В. Галузінська\*

*Херсонський державний університет**\* Національний фармацевтичний університет*

## ЗМІНИ ВМІСТУ ПРОЛАКТИНУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ В ПЕРІОД МЕНОПАУЗИ

*Метою наших досліджень був аналіз рівня статевих гормонів (пролактину) у жінок даної вікової групи з метаболічним синдромом та без даної патології та у хом'яків-самиць різного віку з експериментальним метаболічним синдромом. Проведені клінічні та експериментальні дослідження вказують, що за метаболічного синдрому відбуваються комплексні та системні гормональні зсуви, аналогічні з віковими, та акумулюються з ними.*

*Ключові слова:* метаболічний синдром; пролактин; менопауза

### ВСТУП

У зв'язку зі збільшенням тривалості життя населення актуальною проблемою є діагностика, профілактика і терапія численних функціональних розладів у жінок, які перебувають у менопаузальному віці [2, 9, 25]. Саме в менопаузальному періоді на тлі вікових змін домінують клінічні прояви естрогендефіцитного стану і пов'язані з ним метаболічні і трофічні порушення, зумовлені зниженням, а потім і припиненням функції яєчників [3, 8, 13, 24].

Важливою проблемою сучасної медицини є дедалі зростаюча частота так званих «хвороб цивілізації» – ожиріння, цукрового діабету (ЦД), серцево-судинних захворювань (ССЗ), які часто призводять до інвалідизації і ранньої смертності людей. Численними спостереженнями доведено, що загальною патогенетичною основою цих захворювань є інсулінорезистентність (ІР), яка супроводжується комплексним порушенням вуглеводного, ліпідного і білкового обміну [4, 16, 19, 23]. Такий стан отримав назву «метаболічного синдрому» (МС) [21]. Прояви МС частіше спостерігаються серед людей старшої вікової групи, причому у жінок похилого віку частота МС більша, ніж у чоловіків, що пов'язують з гормональними змінами в період менопаузи [7]. Це дозволило С. Spencer і співавт. виділити особливу нозологію, названу «менопаузальним метаболічним синдромом» (ММС).

Менопаузальний метаболічний синдром – це сукупність метаболічних порушень, що виникають з настанням менопаузи і включають швидку прибавку маси тіла з формуванням абдомінального ожиріння, інсулінорезистентності та дисліпідемії та/або арте-

ріальної гіпертензії. Можливі й інші метаболічні прояви ММС: мікроальбумінурія і порушення в системі гемостазу.

Отже, всі елементи ММС взаємопов'язані між собою і стають тригерами один одного, створюючи «порочне коло». ММС є визначальним у патогенезі ішемічної хвороби серця у жінок в постменопаузі [15].

Статеві гормони визначають характер розподілу жирової тканини: естрогени і прогестерон впливають на локалізацію жиру в сіднично-стегновій області (гіноїдний тип), андрогени відповідають за андроїдний (абдомінальний) тип ожиріння з абдомінальною локалізацією жиру. Крім того, жирова тканина є місцем екстрагонадного синтезу і метаболізму естрогенів за участі ароматази цитохрому Р450. Підвищення активності ароматази з віком сприяє повільній біологічній трансформації у відповідь на вимикання гормонів яєчників. Абдомінальне ожиріння – основний клінічний симптом ММС. Абдомінальне і особливо вісцеральне ожиріння є фактором ризику серцево-судинних захворювань [1, 18].

При ММС дефіцит статевих гормонів веде до зниження рівня глобуліну, що зв'язує статеві стероїди, які сприяють збільшенню вмісту вільних андрогенів у кровотоку, які самі по собі можуть знижувати холестерин ЛПВЩ і викликати інсулінорезистентність, гіперінсулінемію та андроїдний розподіл жиру [31].

При ожирінні та інсулінорезистентності часто виявляється активація факторів запальної реакції (ФНП  $\alpha$ , ІЛ-6, ІАП-1 та ін.), що веде до ендотеліальної дисфункції, оксидативного стресу, запального каскаду цитокінів, сприяючи виникненню атеросклеротичних змін і розвитку інсулінорезистентності [26].

Пролактин знаходиться під безпосереднім гіпоталамічним контролем і його фізіологічна секреція

© Бродська А. Ю., Загайко А. Л., Галузінська Л. В., 2015

Таблиця 1

## ПОКАЗНИКИ РІВНЯ ДЕЯКИХ ГОРМОНІВ У ЖІНОК У МЕНОПАУЗИ

Показники гормонального статусу	Жінки без метаболічного синдрому (контроль)	Жінки з метаболічним синдромом	Клінічна норма
Пролактин, нг/мл	10,24 ± 0,67	26,10 ± 1,34*	10,6-23,3
Тестостерон віль., пг/мл	2,02 ± 0,18	4,34 ± 0,03*	0,9-2,6
Естрадіол, пг/мл	20,25 ± 1,99	19,15 ± 2,12	62,2-166
Прогестерон, мкг/л	0,40 ± 0,06	0,41 ± 0,08	0,7-1,5

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

носить імпульсивний характер, значно підвищуючись під час сну, що пов'язано з циркадними біологічними ритмами. З віком циркадний ритм у чоловіків зникає, а у жінок не змінюється. На ритм вироблення пролактину впливають стрес, лактація, суттєва зміна маси тіла тощо [14, 28]. Гіпоталамо-гіпофізарна система чинить як гальмуючий, так і стимулюючий вплив на секрецію пролактину через нейроендокринні, ауто- і паракринні механізми [12].

Естрогени посилюють секрецію пролактину в гіпофізі, також сенсibiliзують лактофори до стимулюючого впливу інших пролактин-релізінг факторів, в тому числі гонадотропін-релізінг факторів [11].

Прогестерон не впливає на секрецію пролактину [25, 30]. Тестостерон викликає підвищення секреції пролактину, але в значно меншому ступені, ніж естрогени. Цей ефект пов'язаний, очевидно, з метаболізмом тестостерону в естрадіол [17, 20]. Незначне підвищення рівня пролактину в крові може бути причиною інсулінорезистентності, гіперандрогенії, що несприятливо впливає на процеси метаболізму [22].

Роль пролактину в регуляції енергетичного балансу, жирового та вуглеводного обмінів до теперішнього часу до кінця нез'ясована. Дані сучасної літератури відносно впливу підвищеного рівня пролактину на стан ліпідного та вуглеводного обміну людини суперечливі, проте припустити наявність зв'язків між пролактином та цими обмінами можна. Гіперпролактинемія, яка призводить до гіпоестрогенії, може викликати зміни ліпідного спектра, аналогічні порушенням у здорових жінок у менопаузі: підвищення вмісту загального холестерину, ліпопротеїдів низької густини і ліпопротеїдів дуже низької густини з одночасним зниженням ліпопротеїдів високої густини. Доведено, що перераховані порушення сприяють підвищенню атерогенності плазми крові, збільшуючи ризик розвитку ішемічної хвороби серця, артеріальної гіпертензії, ожиріння, цукрового діабету 2-го типу у жінок у менопаузі [6, 10, 29].

Стосовно гормонального статусу жінок у період менопаузи літературні дані суперечливі, тому метою наших досліджень був аналіз рівня статевих гормонів (пролактину) у жінок даної вікової групи з метаболічним синдромом та без даної патології.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У клініко-лабораторному дослідженні брали участь 75 жінок віком від 50 до 56 років ( $54,60 \pm 0,51$ ), які знаходились в менопаузі. В експерименті було використано 40 сирійських хом'ячків-самиць різного віку. Метаболічний синдром на тваринах моделювали утриманням на високофруктозній дієті з підвищеною калорійністю протягом 8 тижнів. Аналіз рівня гормонів проводили у 30 умовно здорових жінок (1 група) та у 20 контрольних тварин (10 молодих та 10 старих) та 45 жінок з метаболічним синдромом та гірсуїтизмом (2 група), а також у 20 тварин з модельованим метаболічним синдромом. У жінок був зафіксований менопаузальний перехід на основі порушення менструальних циклів (затримки менструації до 3 місяців протягом року), а також зменшення візуалізованого фолікулярного резерву за результатами трансвагінального ультразвукового дослідження органів малого тазу із застосуванням ультразвукового апарату «Aloka SSD 5000».

Електрохемілюмінесцентне імунологічне дослідження вмісту пролактину, естрадіолу, прогестерону в людській сироватці 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 в людській сироватці крові *in vitro* за допомогою набору фірми «Beckman Coulter» (США) на радіометрі «Гамма-12» (СРСР) [5].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати отриманих досліджень представлені в табл. 1.

Як видно з отриманих нами даних, рівень  $E_2$  був знижений в порівнянні з нормою для фолікулярної фази репродуктивного періоду у жінок обох груп, що узгоджується з літературними даними, згідно з якими жінки старші 50 років мають знижений рівень  $E_2$ . Отримані дані також свідчать про зменшення рівня прогестерону у жінок обох досліджуваних груп у менопаузі (0,4-0,41 мкг/л), що узгоджується з даними, представленими в роботі Klein N. et al. (1996). Зазна-

**ПОКАЗНИКИ РІВНЯ ДЕЯКИХ ГОРМОНІВ У СИРІЙСЬКИХ ХОМ'ЯЧКІВ  
ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ**

Показники гормонального статусу	Контроль (молодь)	Молоді + МС	Контроль (старі)	Старі + МС
Пролактин, нг/мл	8,16 ± 0,23	14,05 ± 1,98*	10,45 ± 0,58	18,25 ± 1,15*
Тестостерон віль., пг/мл	0,7 ± 0,08	0,85 ± 0,06	1,12 ± 0,14	1,85 ± 0,15*
Естрадіол, пг/мл	56,17 ± 20,25	59,15 ± 5,26	38,85 ± 4,23	28,26 ± 3,25*
Прогестерон, мкг/л	0,62 ± 0,06	0,50 ± 0,06	0,42 ± 0,03	0,33 ± 0,03

Примітка. \* – достовірна відмінність між групами ( $p \leq 0,05$ ).

чена динаміка змін  $E_2$  і прогестерону є взаємопов'язаною у жінок з метаболічним синдромом.

Відповідно до літературних даних у період менопаузи спостерігається підвищення рівня ЛГ (у 2 рази) порівняно з репродуктивним періодом, яке більш виражене у жінок з метаболічним синдромом. Отже, жінки в менопаузі характеризуються підвищенням рівня ЛГ при зниженні рівня  $E_2$  і прогестерону.

З метою оцінки рівня андрогенів було проведено лабораторне дослідження рівнів вільного тестостерону як біологічно активної фракції тестостерону. Аналіз рівнів вільного тестостерону виявив, що жінки в менопаузі з метаболічним синдромом мають достовірно вищі ( $p \leq 0,001$ ) показники, ніж жінки без метаболічного синдрому, що свідчить про наявність у них гіперандрогенії.

Дослідження рівня пролактину показало достовірне зростання його вмісту в сироватці крові у жінок з метаболічним синдромом, що, ймовірно, обумовлено стимулюючим впливом естрадіолу (який є продуктом метаболізму тестостерону). Як відомо, збільшення рівня ЛГ підвищує чутливість клітин Лейдига до дії ЛГ, що опосередковує секрецію тестостерону, який надалі метаболізується до естрадіолу. Естрадіол, у свою чергу, підвищує секрецію пролактину.

Таким чином, високий вміст тестостерону у жінок у період менопаузи з метаболічним синдромом тісно пов'язаний з рівнем пролактину у жінок цієї групи.

Для визначення ролі метаболічного синдрому у формуванні гіперпролактинемії нам було змодельовано метаболічний синдром на самицях золотавих сирійських хом'ячків. Нами були досліджені тварини двох вікових груп: молоді (віком 3 місяці) та старі (віком 18 місяців). Метаболічний синдром було діагностовано за розвитком інсулінорезистентності та наростанням вісцерального жиру. Результати досліджень наведені в табл. 2.

Як видно з даних, наведених в табл. 2, з віком схильність до гормональних розладів, що супроводжують метаболічний синдром, зростає: збільшується вміст пролактину та тестостерону при зменшенні естрадіолу та прогестерону. Такі результати узгоджуються з обговореними вище даними і підтверджують складний та мультисистемний характер ендокринних по-

рушень, що супроводжують як старіння, так і розвиток метаболічного синдрому. Гіперпролактинемія, ймовірно, залучається до дисрегуляції харчової поведінки та використання енергії за гіперкалорійного харчування. Зміни обміну статевих стероїдів, зокрема, зростання ароматазної активності через перерозподіл жирової тканини, що спостерігаються за МС, аналогічні змінам при старінні, що вказує на проатерогенний характер обох станів. Однонаправлені тенденції змін тестостерону з пролактином, а естрадіолу – з прогестероном свідчать про системність розладів, що розвиваються за вказаних станів.

Таким чином, проведені клінічні та експериментальні дослідження вказують, що за метаболічного синдрому відбуваються комплексні та системні гормональні зсуви, аналогічні з віковими та акумулюються з ними. Отримані дані можуть бути підґрунтям для розробки схем корекції метаболічного синдрому з боку ендокринних порушень та вікових змін.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Вихляева Е. М. Руководство по эндокринной гинекологии. – М.: МИА, 2000. – 765 с.
2. Гилязутдинов И. А., Гилязутдинова З. Ш. Нейроэндокринная патология в гинекологии и акушерстве. – М.: МЕДпрессинформ., 2006. – 415 с.
3. Дубоссарская З. М., Дубоссарская Ю. А. Репродуктивная эндокринология (перинатальные, акушерские и гинекологические аспекты): [учебно-метод. пособ.]. – Д.: Лира ЛТД, 2008. – 416 с.
4. Кеттайл В. М., Арки Р. А. Патофизиология эндокринной системы. – С.Пб.: Невский Диалект, 2001. – 335 с.
5. Колб В. Г. Клиническая биохимия / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Мн: Беларусь, 1976. – 312 с.
6. Курляндская Р. М. Влияние гиперпролактинемии на основные показатели жирового обмена / Р. М. Курляндская, Т. И. Романцова // Леч. врач. – 2004. – Т. 1. – С. 73-75.
7. 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>.

8. Медицина климактерия / Под ред. В. П. Сметник. – Ярославль: ООО «Изд-во Литтера», 2006. – 848 с.
9. 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](http://www.rmj.ru/articles_1286.htm).
10. Татарчук Т. Ф., Ефименко О. А. Современный менеджмент гиперпролактинемии // Здоровье женщины. – 2009. – № 9 (45). – С. 33137.
11. Фомичева Е. Е. Действие пролактина на уровень кортикостерона в крови и синтез макрофагами лимфоцит-активирующих факторов в условиях глюкокортикоидной нагрузки / Е. Е. Фомичева, Е. А. Немирович-Данченко // Рос. физиол. журн. – 2003. – № 9. – С. 1117-1126
12. Фомичева Е. Е. Пролактин в нейро-эндокринном взаимодействии / Е. Е. Фомичева, Е. А. Корнева, Е. А. Немирович-Данченко // Патогенез. – 2004. – № 1. – С. 61-70.
13. Bray G. A. Medical consequences of obesity / G. A. Bray // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2004. – Vol. 89. – P. 2583-2589.
14. Breckwoltd M. A new treatment option for hyperprolactinaemic disorders / XI Ann. Meeting of the European Society of Human Reproduction and Embryology. – Hamburg. – June 30, 1995. – 24 S.
15. Bruea T., Delemerb B. The members of the French Society of Endocrinology (SFE) work group on the consensus on hyperprolactinaemia. Diagnosis and management of hyperprolactinemia: expert consensus – French Society of Endocrinology. Ann d'Endocrinologie. – 2007. – Vol. 68. – P. 58-64.
16. 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.
17. Fluckiger E., Del Pozo E., von Werden K. Prolactin: physiology, clinical findings. – Berlin: Springer-Verlay, 1982. – P. 224-249.
18. Harper A. J. Is the short follicular phase in order 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 Ann. Meeting of the Society for Reproductive Medicine, Orlando, October. – 2001.
19. Li-Yuan, Yu-Lee Prolactin Modulation of Immune and Inflammatory Responses / Li-Yuan, Yu-Lee // Recent Progress in Hormone Res. – 2002. – Vol. 57. – P. 435-455.
20. Melmed S. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an endocrine society clinical practice guideline / [S. Melmed, F. F. Casanueva, A. R. Hoffman et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2011. – Feb. – Vol. 96 (2). – P. 273-288.
21. Milewicz A. Clinical aspects of obesity in the gynecological endocrinology practice / A. Milewicz, D. Jedrzejuk // Maturitas. – 2007. – Vol. 56. – P. 113-121.
22. Pasquali R. Obesity and androgens: facts and perspectives / R. Pasquali // Fertility and Sterility. – 2006. – Vol. 85, № 5. – P. 1319-1340.
23. 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.
24. Poehman E. T. Traversing the menopause: changes in energy expenditure and body composition / E. T. Poehman, A. Tchernof // Coronary Artery Dis. – 1998. – Vol. 38 – P. 799-803.
25. 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.
26. Russo J., Russo I. H. The progress in the management of the menopause / Ed. B. G. Wren. – The Parthenon Publish, 1996. – P. 184-193.
27. 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.
28. 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.
29. Speroff L. Clinical gynecologic endocrinology and infertility / L. Speroff, M. A. Fritz. – Philadelphia, 2005. – 1334 p.
30. 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.
31. Wren Barry G. Progress in the Management of the Menopause. – Parthenon Publishing Group, 1997. – P. 475.



**УДК 577.121.9****А. Ю. Бродская, А. Л. Загайко, Л. В. Галузинская****ИЗМЕНЕНИЕ УРОВНЯ ПРОЛАКТИНА ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ В ПЕРИОД МЕНОПАУЗЫ**

Целью наших исследований был анализ уровня половых гормонов (пролактина) у женщин данной возрастной группы с метаболическим синдромом и без данной патологии и у хомячков-самок разного возраста с экспериментальным метаболическим синдромом. Проведенные клинические и экспериментальные исследования показывают, что при метаболическом синдроме происходят комплексные и системные гормональные сдвиги, аналогичные с возрастными, и аккумулируются с ними.

*Ключевые слова:* метаболический синдром; пролактин; менопауза

**UDC 577.121.9****A. Y. Brodska, A. L. Zagayko, L. V. Galuzinska****CHANGES PROLACTIN TO METABOLIC SYNDROME IN MENOPAUSE**

The aim of our study was to analyze the level of sex hormones (prolactin) in women of this age group with metabolic syndrome and without this disease in hamsters, and females of all ages with experimental metabolic syndrome. Clinical and experimental studies indicate that metabolic syndrome occurring complex and systemic hormonal shifts that are similar with age, and accumulate them.

**Key words:** metabolic syndrome; prolactin; menopause

*Адреса для листування:*  
61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12.  
Тел. (факс): 8(057)7063099.  
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції  
01.12.2014 р.

УДК 615.322:576.385.5

Р. Ф. ЕРЕМЕНКО, Л. Н. МАЛОШТАН, О. М. ШАТАЛОВА

*Национальный фармацевтический университет*

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO

*Исследуемый экстракт из травы люцерны посевной проявляет антипролиферативное действие на модели in vitro в культуре гормонозависимых опухолевых клеток человека линий: MCF-7, MDA-MB-231, SiHa. Цитотоксический эффект экстракта из травы люцерны посевной в отношении опухолевых клеток носил дозозависимый характер и был наиболее ярко выражен в дозе 1 мкг/мл.*

*Ключевые слова:* фармакология; эстрогензависимые опухолевые клетки; фитоэстрогены; люцерна

### ВСТУПЛЕНИЕ

В последнее время повышенный интерес вызывают изофлавоны: генистеин, даидзеин, глицитеин, что обусловлено возможным положительным действием этих веществ на организм, а также перспективами создания новых на их основе высокоактивных лекарственных препаратов, обладающих противовоспалительной, антиканцерогенной, противовирусной, антипаразитарной или бактерицидной активностью. Так известно, что в люцерне посевной кроме генистеина и даидзеина присутствуют изофлавоны биоханин А и формонетин, которые также представлены в виде гликозидов ононина и сиссортинна [1, 2, 4, 13]. Изофлавоны являются нестероидными миметиками эстрогенов, называемых фитоэстрогенами. Хорошо известна антиканцерогенная активность генистеина [5, 18], в том числе и в лечении рака молочной железы [15]. Генистеин представляет собой ингибитор тирозинкиназы, который ингибирует пролиферацию как эстроген-позитивных, так и эстроген-негативных линий клеток рака молочной железы [5, 14]. Пищевые изофлавоны рассматриваются как возможная альтернатива гормональным препаратам в лечении множества заболеваний. Они способны подавлять рост опухолей у животных [11] и усиливать действие таких агентов, как моноклональные антитела против фактора роста эпителия [9] и селен [8]. Считается, что изофлавоны могут вызывать гибель клеток рака также посредством мобилизации способности присутствующих в опухоли ионов меди генерировать активные продукты окисления [17] благодаря влиянию на экспрессию генов супрессора опухоли в раковых клетках [6]. Однако необхо-

димо помнить, что фитоэстрогены способны подавлять активность некоторых изоформ цитохромов P450, что может модифицировать действие других лекарственных веществ. Кроме того, недавние исследования свидетельствуют, что генистеин способен усиливать рост опухоли простаты и инициировать процессы метастазирования во вторичные органы вследствие усиления пролиферации и снижения апоптоза раковых клеток [10]. Генистеин способен индуцировать экспрессию фермента ароматазы, присутствующей в клетках рака молочной железы. Этот фермент отвечает за биосинтез эстрогенов, и его экспрессия может способствовать росту клеток опухоли [16]. Кроме того, было показано, что даже низкие дозы генистеина, поступающие с пищей, способны препятствовать проявлению терапевтического действия антиракового агента тамоксифена, являющегося антагонистом рецептора эстрогенов [7].

Представленные литературные данные свидетельствуют о неоднозначности эффектов изофлавоноидов, в связи с чем данное исследование представляет особый интерес. Основанием для этого исследования послужил богатый фитохимический состав экстракта из травы люцерны посевной (ЭТЛП), а в особенности наличие в составе изофлавоноидов. ЭТЛП, полученный на кафедре фармакогнозии НФаУ под руководством проф. В. Н. Ковалева, по результатам хроматографического и фитохимического исследований [1, 2] кроме изофлавоноидов содержит такие фенольные соединения как гидроксикоричные кислоты, кумарины, зумфлавоноиды и дубильные вещества.

Целью исследования было изучение влияния экстракта из травы люцерны посевной на пролиферацию опухолевых гормонозависимых клеток на моделях in vitro для оценки возможного цитотоксического противоопухолевого эффекта.

**ИЗМЕНЕНИЕ ПРОЛИФЕРАЦИИ КЛЕТОК В КУЛЬТУРЕ IN VITRO ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭКСТРАКТА  
ИЗ ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ В РАЗЛИЧНЫХ ДОЗАХ, %**

Доза ЭТЛП, мкг/мл	5	1	0,2	0,04	0,0008
MCF-7 без гормонов	+13,80	-17,90	На уровне контроля	+6,20	На уровне контроля
MCF-7 с гормонами	-60,98	-72,15	-55,49	-34,30	-58,48
SiHa без гормонов	-40,10	-55,9	На уровне контроля	На уровне контроля	На уровне контроля
SiHa с гормонами	-91,10	-94,26	-81,11	-80,40	-80,40
MDA-MB-231 без гормонов	+37,29	На уровне контроля	+62,70	+81,90	+38,50
MDA-MB-231 с гормонами	-85,34	-88,65	-74,46	-83,10	-82,76

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были проведены на базе кафедр токсикологии Познаньского медицинского университета (Польша) им. Кароля Марцинковского под руководством проф. М. Муриуса. В эксперименте использовали гормонозависимые клеточные культуры опухолевых клеток человека линий MCF-7 (эстроген-позитивная ER+ и прогестеронпозитивная PR+ аденокарцинома протоков молочной железы человека), MDA-MB-231 (рак молочной железы), SiHa (клетки чешуйчато-клеточной карциномы шейки матки). Клетки культивировали при 37 °С в увлажненной атмосфере с 5 % CO<sub>2</sub> в среде DMEM, содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, L-глутамин (2 мМ), смесь антибиотиков PISIG (производства Sigma). Клетки после размножения культивировали в пластиковых матрасах площадью 25 см<sup>2</sup> в течение 1 недели со сменой среды каждые 3 дня, и по достижении монослоя производили пересев на 24-луночные планшеты с плотностью 8000 клеток на лунку. Пролиферативную активность клеток в культуре на планшетах под влиянием экстракта люцерны посевной в различных дозах оценивали с помощью Alamar blue теста [12] и выражали в условных единицах флуоресценции (УЕФ). Alamar Blue-анализ основан на преобразовании резазурина во флуоресцентное вещество резорурфин при снижении жизнеспособности клеток. Активный компонент индикатора (резазурин) является нетоксичным, проникающим через мембраны веществом синего цвета (нефлуоресцентным). При попадании в клетку резазурин преобразуется в резорурфин, который обладает яркой флуоресценцией в красной области. Живые клетки способны непрерывно преобразовывать резазурин в резорурфин, тем самым формируя количественный сигнал. Клетки культивировали в среде на основе DMEM с добавлением гормонов (как стимуляторов клеточной пролиферации) и без содержания гормонов (в параллельном опыте) в течение 72 часов. После этого производили измерение интенсивности флуоресценции на детекторе биолуминесценции Xenogen. Контролем служили клетки, которые культивировали в средах с гормонами и без гормонов (в параллельных опы-

тах) после добавления индикатора Alamar blue. Исследования влияния ЭТЛП на пролиферацию клеток в культуре выполняли в два независимых эксперимента с 4-мя образцами для каждой концентрации. Для определения действия ЭТЛП на рост колоний клеток опухолевых культур были выбраны концентрации: 5; 1; 0,2; 0,04 и 0,0008 мкг/мл.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты показывают, что при культивировании в среде с добавлением гормонов под действием ЭТЛП в исследованном интервале концентраций (5, 1, 0,2, 0,04 и 0,0008 мкг/мл) происходит однонаправленное ингибирование роста колоний клеток всех используемых линий: SiHa (клетки чешуйчато-клеточной карциномы шейки матки), MCF-7 и MDA-MB-231 (рак молочной железы) по сравнению с контролем, о чем свидетельствует выраженное уменьшение биофлуоресценции в ячейках под влиянием исследуемого экстракта. Цитотоксический эффект носит дозозависимый характер. Ингибирование роста колоний более 50 % по результатам Alamar blue теста для клеток MCF-7 отмечено в дозах 5 мкг/мл и 1 мкг/мл при культивировании в среде с добавлением гормонов.

Результаты угнетения пролиферации клеток в культурах по сравнению с контролем представлены в таблице.

В то же время для клеток SiHa в среде с гормонами антипролиферативный эффект зарегистрирован во всех исследуемых дозах, однако наиболее значимым он был в дозировке 1 мкг/мл (94,26 %). Максимальное ингибирование роста и пролиферации под влиянием ЭТЛП в дозе 1 мкг/мл наблюдалось и со стороны клеточной культуры MDA-MB-231 (88,65 %), в связи с чем доза ЭТЛП 1 мкг/мл на данных клеточных моделях оценена как эффективная.

Напротив, при культивировании клеток MDA-MB-231 в среде без гормонов отмечались неоднозначные изменения: умеренная стимуляция пролиферации в дозах 0,2 и 0,04 мкг/мл (заместительное эстрогенподобное действие изофлавоноидов люцерны); отсутствие влияния ЭТЛП в дозе 0,04 мкг/мл на пролиферацию клеток MCF-7 в среде без гормонов, стиму-

ляция пролиферации в дозах 0,2, 0,04, 0,0008 мкг/мл. Похожие результаты относительно активности изофлавоноидов встречаются в литературе [11]. Следует отметить достоверное подавление пролиферации SiHa под действием ЭТЛП в дозе 1 мкг/мл при совместном культивировании в среде без гормонов за счет конкурентного антиэстрогенного действия изофлавоноидов люцерны.

Таким образом, анализ сравнительной эффективности ЭТЛП показал наиболее выраженный цитотоксический эффект на клетках культур SiHa и менее выраженный на клетках линии MCF-7 и MDA-MB-231, что может объясняться культуральными и морфологическими особенностями данных клеток [4].

В дальнейшем целесообразно более детальное изучение экстракта люцерны посевной с целью выяснения механизмов действия его компонентов.

### ВЫВОДЫ

1. Исследуемый экстракт из травы люцерны посевной проявляет антипролиферативное действие на модели *in vitro* в культуре гормонозависимых опухолевых клеток человека линий MCF-7, MDA-MB-231, SiHa.
2. При культивировании клеток в среде, содержащей гормоны, экстракт из травы люцерны посевной умеренно подавляет пролиферацию клеток. В то же время воздействие экстракта на рост и пролиферацию опухолевых клеток в культуральной среде без добавления гормонов неоднозначно.
3. Цитотоксический эффект экстракта из травы люцерны посевной в отношении опухолевых клеток в эксперименте *in vitro* носил дозозависимый характер и был наиболее выражен в дозе 1 мкг/мл. Полученный эффект может объясняться конкурентным связыванием изофлавоноидов люцерны с рецепторами эстрогензависимых клеток и подтверждать противоопухолевое действие фитоэстрогенов.

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Ковальов С. В. Дослідження фенольного комплексу з трави люцерни посівної / [С. В. Ковальов, А. М. Ковальова, Р. Ф. Єрьоменко та ін.] // Фармац. часопис. – 2008. – № 2 (6). – С. 27-30.
2. Ковальов С. В. Кількісне визначення фенольних сполук у траві люцерни посівної / С. В. Ковальов, Р. Ф. Єрьоменко, Л. М. Малоштан // Фармаком. – 2008. – № 4. – С. 35-38.
3. Тараховский Ю. С. Флавоноиды: биохимия, биофизика, медицина / Ю. С. Тараховский, Ю. А. Ким, Б. С. Абдрашилов, Е. Н. Музафаров. – Пушино: Synchronbook, 2013. – 310 с.
4. Шевченко В. Е. Картирование протеома лизата линии опухолевых клеток MCF-7 для идентификации потенциальных маркеров рака молочной железы / [В. Е. Шевченко, М. А. Таипов, С. В. Ковалев и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2012. – № 2. – С. 5-10.
5. Akiyama T. Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases / [T. Akiyama, J. Ishida, S. Nakagawa et al.] // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 262. – P. 5592-5595.
6. Chen Y. MicroRNAs 221/222 and genistein-mediated regulation of ARHI tumor suppressor gene in prostate cancer / [Y. Chen, M. S. Zaman, G. Deng et al.] // Cancer Prev. Res. – 2011. – Vol. 4. – P. 76-86.
7. Du M. Low-dose dietary genistein negates the therapeutic effect of tamoxifen in athymic nude mice / [M. Du, X. Yang, J. A. Hartman et al.] // Carcinogenesis. – 2012. – Vol. 33. – P. 895-901.
8. Hamdy S. M. Prevention of rat breast cancer by genistin and selenium / [S. M. Hamdy, A. K. Latif, E. A. Drees et al.] // Toxicol. Ind. Health. – 2011. – Vol. 28. – P. 746-757.
9. Lattrich C. Additive effects of trastuzumab and genistein on human breast cancer cells / [C. Lattrich, J. Lubig, A. Springwald et al.] // Anticancer Drugs. – 2011. – Vol. 22. – P. 253-261.
10. Lazarevic B. Efficacy and safety of short-term genistein intervention in patients with localized prostate cancer prior to radical prostatectomy: a randomized, placebo-controlled, double-blind Phase 2 clinical trial / [B. Lazarevic, G. Boezelijn, L. M. Diep et al.] // Nutr. Cancer. – 2011. – Vol. 63. – P. 889-898.
11. Nebe B. Influence of phytoestrogens on the proliferation and expression of adhesion receptors in human mammary epithelial cells *in vitro* / B. Nebe // Eur. J. Cancer Prev. – 2006. – Vol. 15 (5). – P. 405-415.
12. O'Brien J. Investigation of the Alamar Blue (resazurin) fluorescent dye for the assessment of mammalian cell cytotoxicity / [J. O'Brien, I. Wilson, T. Orton et al.] // Eur. J. Biochem. – 2000. – Vol. 267 (17). – P. 5421-5426.
13. Rowland I. Bioavailability of phyto-oestrogens / I. Rowland // Br. J. Nutr. – 2003. – Vol. 89, Suppl. 1. – P. 45-58.
14. Sahin K. Inhibitory effects of combination of lycopene and genistein on 7,12-dimethyl benz(a)anthracene-induced breast cancer in rats / [K. Sahin, M. Tuzcu, N. Sahin et al.] // Nutr. Cancer. – 2011. – Vol. 63. – P. 1279-1286.
15. Sotoca A. M. Quantitative proteomics and transcriptomics addressing the estrogen receptor subtype-mediated effects in T47D breast cancer cells exposed to the phytoestrogen genistein / [A. M. Sotoca, M. D. Gelpke, S. Boeren et al.] // Mol. Cell Proteomics. – 2011. – Vol. 10. – P. 110.
16. Van Duursen M. B. Genistein induces breast cancer-associated aromatase and stimulates estrogen-dependent tumor cell growth in *in vitro* breast cancer model / [M. B. Van Duursen, S. M. Nijmeijer,



- E. S. de Morree et al.] // Toxicol. – 2011. – Vol. 289. – P. 67-73.
17. Ullah M. F. Soy isoflavone genistein induces cell death in breast cancer cells through mobilization of endogenous copper ions and generation of reactive oxygen species / [M. F. Ullah, A. Ahmad, H. Zubair et al.] // Mol. Nutr. Food Res. – 2011. – Vol. 55. – P. 553-559.
18. Wahajuddin. Disposition of Pharmacologically Active Dietary Isoflavones in Biological Systems / [Wahajuddin, I. Taneja, S. Arora et al.] // Curr. Drug Metab. – 2013. – Vol. 14. – P. 369-380.

**УДК 615.322:576.385.5****Р. Ф. Єрмоєнко, Л. М. Малоштан, О. М. Шаталова****ВИВЧЕННЯ АНТИПРОЛІФЕРАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO**

Досліджуваний екстракт з трави люцерни посівної проявляє антипроліферативну дію на моделі in vitro в культурі гормонозалежних пухлинних клітин людини ліній: MCF-7, MDA-MB-231, SiHa. Цитотоксичний ефект екстракту з трави люцерни посівної відносно пухлинних клітин носив дозозалежний характер і був найбільш яскраво виражений в дозі 1 мкг/мл.

**Ключові слова:** фармакологія; естрогенозалежні пухлинні клітини; фітоестрогени; люцерна

**UDC 615.322:576.385.5****R. F. Yeriomenko, L. N. Maloshtan, O. M. Shatalova****STUDY OF ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF EXTRACT OF MEDICAGO SATIVA SOWING GRASS ON IN VITRO MODELS**

The observable extract of medicago sativa sowing grass displays the antiproliferative effect on the in vitro models in the culture of hormone-dependent tumorous human cells lines: MCF-7, MDA-MB-231, SiHa. The cytotoxic effect of the extract of medicago sativa sowing grass regarding the tumorous cells had a dose-dependent nature and was most expressed at a dose of 1 mcg / ml.

**Key words:** pharmacology; estrogen-dependent tumorous cells; phytoestrogen; medicago sativa sowing grass

*Адрес для переписки:*

61002, г. Харьков, ул. Мельникова, 12.

Тел. (057) 7063073.

Национальный фармацевтический университет

Поступила в редакцию

05.12.2014 г.

# **Фармацевтична хімія та фармакогнозія**

**Рецензенти рубрики:**

**Євтіфєєва О. А.,**  
*д. фарм. н., професор*

**Комісаренко А. М.,**  
*д. фарм. н., професор*



УДК 548.73:547.792-38

А. Г. КАПЛАУШЕНКО

*Запорізький державний медичний університет*

## РЕНТГЕНОГРАФІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ 4-(2-МЕТОКСИФЕНІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО) АЦЕТАТНОЇ КИСЛОТИ

*Продовжуючи теоретичне обґрунтування будови і властивостей 4-моно- та 4,5-дизаміщених 1,2,4-триазол-3-ілітіоацетатних кислот, слід зазначити, що наявність у структурі карбоксильної групи, електронегативних атомів кисню і електропозитивних атомів водню створює передумови для виникнення водневих зв'язків та існування карбонових кислот у вигляді димерів. З теоретичної точки зору існування карбонових кислот у вигляді димерів більш імовірно в неполярних розчинниках. Крім того, протон карбоксильної групи може мігрувати і приєднуватися до атома азоту 1,2,4-триазолового циклу. Займаючись синтезом фармакологічно активних сполук і використовуючи для подальших перетворень ряд 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатних кислот, ми за допомогою рентгеноструктурного аналізу встановили наявність існування карбонових кислот у вигляді димерів, а також визначили положення атома водню карбоксильної групи.*

*Ключові слова:* 1,2,4-триазол; рентгеноструктурний аналіз; димери

### ВСТУП

Відомо, що на основі 1,2,4-триазолу останнім часом синтезовано велику кількість нових 3-тіо і 4-амінопохідних [2-4], серед яких знайдені сполуки, що мають високі показники фармакологічної активності. Спираючись на досвід попередніх досліджень [5], найбільший інтерес проявляють 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-тіо)-ацетатні кислоти, на основі яких можна отримати естери, солі, аміди, гідрозиди тощо, високі показники фармакологічної активності яких встановлені раніше [5, 6].

Нами відпрацьовані методи отримання 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-тіо)-ацетатних кислот, вивчені їх фізико-хімічні властивості, крім того, виявлена залежність кислотності синтезованих 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-ілітіо(сульфо))-ацетатних кислот від наявності та характеру замісників при п'ятому атомі карбону, а також характеру радикалів при N<sub>4</sub> 1,2,4-триазолу та від ступеня окиснення атому сульфуру [6].

Продовжуючи теоретичне обґрунтування будови та властивостей 4-моно- та 4,5-дизаміщених 1,2,4-триазол-3-ілітіоацетатних кислот, слід зазначити, що наявність у структурі карбоксильної групи електронегативних атомів кисню та електропозитивних атомів водню створює передумови для виникнення гідрогенових зв'язків та існування карбонових кислот у вигляді димерів. Існування карбонових

кислот у вигляді димерів є більш вірогідним у неполярних розчинниках. Крім того, протон карбоксильної групи може мігрувати та приєднуватися до атома нітрогену 1,2,4-триазолового циклу.

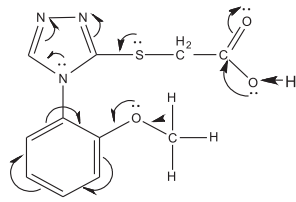
Займаючись синтезом фармакологічно активних сполук і використовуючи для подальших перетворень ряд 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-ілітіо)ацетатних кислот, ми поставили за мету встановити у них наявність існування димерів, а також визначити положення атома водню карбоксильної групи.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Структура при рентгенографічних дослідженнях розшифрована прямим методом по комплексу програм SHELXTL [7]. Поглинання враховано напівемпіричним методом за результатами мультисканування, T<sub>min</sub> = 0,597, T<sub>max</sub> = 0,972. Положення атомів водню розраховані геометрично і уточнені за моделлю «наїзника» з U<sub>iso</sub> = 1,2U<sub>екв</sub> неводневого атома, пов'язаного з даним водневим. Структуру уточнено F2 повноматричним МНК в анізотропному наближенні для неводневих атомів до wR2 = 0,260 за 2491 віддзеркалень (R1 = 0,098 за 2149 віддзеркалень з F > 4 \* (F), S = 1,067).

Параметри елементарної комірки та інтенсивності 5668 відображень (2510 незалежних, R<sub>int</sub> = 0,093) виміряні на дифрактометрі «Xcalibur-3» (MoK \* випромінювання, CCD-детектор, графітовий монохроматор, щ-сканування, 2 \* макс. = 50 \*)

© Каплаушенко А. Г., 2015

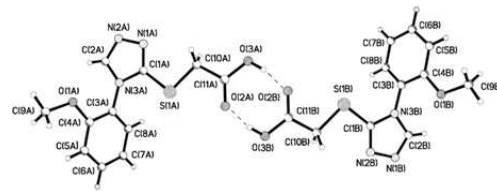


**Рис. 1.** Розподіл електронної густини в молекулі 2-(4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілсульфо)ацетатної кислоти.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для проведення рентгенографічних досліджень нами обрано 2-(4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатну кислоту ( $pK_a=4,73$ ) [6], розподіл електронної густини в якій наведено на рис. 1, з якого видно, що карбоксильна група має 2 центри – електронегативний атом Оксигену карбонільної групи та електропозитивний атом Гідрогену карбоксильної групи, що теоретично можуть утворити димерну структуру.

Для вирішення поставленої мети отримані кристали 4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти, для чого її було перекристалізовано з гексану. Кристали в розчиннику були передані для проведення рентгеноструктурного аналізу. Результати аналізу показали, що обговорювана кислота в гексані існує у вигляді димеру, який утворено за допомогою двох водневих зв'язків між карбонільними атомами оксигену та спиртовими атомами гідрогену карбоксильних радикалів. 2-Метоксифенільні кільця сполуки сильно розвернуті відносно площини триазолових кілець (торсійний кут  $C(2)-N(3)-C(3)-C(4) - 67,9(2)^\circ$ ). Метоксигрупи практично копланарні площині бензенового кільця (торсійний кут  $C(9)-O(1)-C(4)-C(3) 177,0(1)^\circ$ ), незважаючи на достатньо сильне відштовхування між метильною групою та атомами ароматичного циклу (рис. 2) [1, 7]. Карбоксильні групи знаходяться в ар-положенні відносно зв'язку  $C(1)-S(1)$  (торсійний кут  $C(7)-N(2)-C(6)-N(1) - 177,5(1)^\circ$ ) та майже копланарні зв'язку  $C(10)-S(1)$  (торсійний кут  $S(1)-C(10)-C(11)-O(2) - 3,6(2)^\circ$ ). У кристалі молекули утворюють хвилеподібні ланцюги вздовж кристалографічного напрямлення  $[1\ 0\ -1]$  за рахунок міжмолекулярного водневого зв'язку  $O(3A)-H(O3A)...O(2B)$ ,  $O(3B)-H(O3B)...O(2A)'$  ( $0,5 + x, 0,5 - y, 0,5 + z$ )  $H...O$   $1,80\ \text{Å}$ ,  $O-H...N$   $176^\circ$ . Сусідні ланцюги зв'язані між собою за рахунок міжмолекулярних водневих зв'язків  $C(6)-H(6)...S(1)'$  ( $1,5-x, -0,5+y, 0,5-z$ )  $H...S$   $2,98\ \text{Å}$ ,  $C-H...S$   $129^\circ$ ,  $C(7)-H(7)...C(11)(\pi)'$  ( $x, y-1, z$ )  $H...C$   $2,80\ \text{Å}$ ,  $C-H...C$   $126^\circ$ . Кристали сполуки моноклінні,  $C_{22}H_{22}O_6N_6S_2$ , при  $20^\circ\text{C}$ ,  $\alpha=12,692(1)\text{Å}$ ,  $b=7,815(1)\text{Å}$ ,  $c=13,876(1)\text{Å}$ ,  $\beta=110,67(1)^\circ$ ,  $V=1287,7(1)\text{Å}^3$ ,  $M_r=530,09$ ,  $Z=4$ , група у просторі  $P2_1/n$ ,  $d_{\text{розра}} = 1,441\ \text{г/см}^3$ ,  $\mu(\text{MoK}\alpha) = 0,259\ \text{мм}^{-1}$ ,  $F(000) = 584$ .



**Рис. 2.** Просторова структура 4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти.

### ВИСНОВКИ

1. Проведені рентгенографічні дослідження кристалів 4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти.
2. Встановлено, що в апротонному розчиннику гексані молекули 4-(2-метоксифеніл)-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатної кислоти існують у формі димерів. Перспективи подальших досліджень спрямовані на дослідження біологічної активності 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-ілтіо)ацетатних кислот, на основі яких можуть бути створені оригінальні лікарські засоби.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Зефіров Ю. В. // Кристаллографія. – 1997. – Т. 42, № 5. – С. 936-958.
2. Каплаушенко А. Г. Синтез, перетворення і біологічна активність у ряду 5-[2-, (3-, 4-)нітрофеніл]-2,4-дигідро-1,2,4-триазолі-3-тіонів / А. Г. Каплаушенко, Є. Г. Книш, О. І. Панасенко // Мед. хімія. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 98-100.
3. Каплаушенко А. Г. Синтез, перетворення і біологічна активність у ряду 5-(4-амінофеніл)-4-R-1,2,4-триазол-3-тіонів / А. Г. Каплаушенко, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш // Запорозж. мед. журн. – 2006. – № 6 (39). – С. 115-118.
4. Каплаушенко А. Г. Синтез, хімічні перетворення та біологічна активність в ряду 5-R<sub>1</sub>-4-R<sub>2</sub>-1,2,4-триазол-3-тіонів / А. Г. Каплаушенко, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш // Запорозж. мед. журн. – 2007. – № 4. – С. 171-174.
5. Пошук біологічно активних речовин серед іліденгідрозидів 5-(4-нітрофеніл)-2H-1,2,4-триазол-3-ілтіоацетатної кислоти / А. Г. Каплаушенко, Є. Г. Книш, О. І. Панасенко, В. П. Буряк // Запорозж. мед. журн. – 2005. – № 2 (29). – С. 130-131.
6. Синтез, фізико-хімічні та біологічні властивості 2-(5-R<sub>1</sub>-4-R<sub>2</sub>-1,2,4-триазол-3-тіо)ацетатних кислот / [А. Г. Каплаушенко, О. І. Панасенко, Є. Г. Книш та ін.] // Фармац. журн. – 2008. – № 2. – С. 67-72.
7. Sheldrick G. M. // Acta Crystallogr., Sect. A. – 2008. – A64. – P. 112-122.



**УДК 548.73:547.792-38****А. Г. Каплаушенко****РЕНТГЕНОГРАФИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ 4-(2-МЕТОКСИФЕНИЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ИЛТИО) АЦЕТАТНОЙ КИСЛОТЫ**

Продолжая теоретическое обоснование строения и свойств 4-моно- и 4,5-дизамещенных 1,2,4-триазол-3-илтиоацетатных кислот, следует отметить, что наличие в структуре карбоксильной группы электроотрицательных атомов кислорода и электроположительных атомов водорода создает предпосылки для возникновения водородных связей и существования карбоновых кислот в виде димеров. С теоретической точки зрения существование карбоновых кислот в виде димеров более вероятно в неполярных растворителях. Кроме того протон карбоксильной группы может мигрировать и присоединяться к атому азота 1,2,4-триазолового цикла. Занимаясь синтезом фармакологически активных соединений и используя для дальнейших превращений ряд 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетатных кислот, нам с помощью рентгеноструктурного анализа удалось установить наличие существования карбоновых кислот в виде димеров, а также определить положение атома водорода карбоксильной группы.

**Ключевые слова:** 1,2,4-триазол; рентгеноструктурный анализ; димеры

**UDC 548.73:547.792-38****А. G. Kaplaushenko****THE X-RAY STUDIES OF 4-(2-METHOXYPHENYL)-1,2,4-TRIAZOLE-3-YLTHIO)ACETIC ACID**

Continuing theoretical basis of the structure and properties of 4-mono and 4,5-disubstituted 1,2,4-triazole-3-ylthioacetic acids it should be noted that the presence of electronegative oxygen and electropositive hydrogen atoms in the carboxyl group structure creates prerequisites for hydrogen bond occurrence and for the existence of carboxylic acids in the form of dimers. From theoretical point of view, the existence of carboxylic acids in the form of dimers is more likely in nonpolar solvents. Also the proton of carboxyl group may migrate and attach to the nitrogen atom of 1,2,4-triazole cycle. Working on synthesis of pharmacologically active compounds and using 2-(5-R-4-R<sub>1</sub>-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acids for further transformations we revealed the existence of carboxylic acids in the form of dimers by X-ray analysis, and also determined the position of the hydrogen atom in carboxyl group.

**Key words:** 1,2,4-triazole; X-ray analysis; dimers

Адреса для листування:  
69035, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.  
Тел. (061) 233-61-97.  
Запорізький державний медичний університет

Надійшла до редакції  
24.12.2014 р.

УДК 581.192:582.923.1

С. М. Марчишин, Л. І. Стойко

*ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського»*

## ПІГМЕНТНИЙ СКЛАД ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО

*Одержано та визначено вміст ліпофільної фракції трави золототисячника звичайного. Встановлено її пігментний склад; визначено вміст хлорофілів та каротиноїдів.*

*Ключові слова:* ліпофільна фракція; каротиноїди; хлорофіли; золототисячник звичайний

### ВСТУП

Попереднє фітохімічне вивчення трави золототисячника звичайного показало, що рослина містить значну кількість біологічно активних речовин (БАР): флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, фенольні сполуки, аскорбінову кислоту, окиснювані феноли, амінокислоти, полісахариди, карбонові кислоти, які проявляють широкий спектр біологічної дії [2, 3, 5, 6].

Пігменти, зокрема каротиноїди, відіграють важливу роль в обміні речовин, є вихідними компонентами ретинолу, проявляють бактерицидну дію, прискорюють загоєння хронічних, трофічних виразок і ран, ефективні при лікуванні екземи та надмірній пітливості ніг. Хлорофіл – зелений пігмент рослин, який за хімічною будовою близький до гемоглобіну. Він стимулює основний обмін, покращує епітелізацію ран, сприяє збільшенню кількості лейкоцитів і вмісту гемоглобіну в еритроцитах, підвищує тонус серцево-судинної системи та дихального центру [7, 8, 9, 10].

Метою нашої роботи було одержання та дослідження ліпофільної фракції трави золототисячника звичайного.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для одержання ліпофільної фракції (ЛФ) 3,0 г трави золототисячника звичайного поміщали у пакетик з фільтрувального паперу (патрон), зважували на аналітичних вагах. Екстракцію проводили хлороформом в апараті Сокслета на водяній бані до знебарвлення екстракту у зливному патрубку та одержання негативної реакції на жир. Колбу-приймач та патрон зважували на аналітичних вагах до та після екстракції. Для видалення парів екстрагента колбу-приймач із залишком сушили при 95 °С до сталої маси до повного видалення розчинника.

Вміст ліпофільних речовин у відсотках (X) у перерахунку на абсолютно суху сировину обчислювали за формулою:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)},$$

де: *a* – маса колби з ліпофільною фракцією, г;

*b* – маса порожньої колби, г;

*m* – маса сировини, г;

*W* – втрата в масі при висушуванні сировини, % [4].

У ЛФ ми проводили визначення вмісту пігментів: каротиноїдів та хлорофілів. Якісний склад визначали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на пластинках «Sorbifil Plates» у системах розчинників гексан Р – ацетон Р (6:2) – I напрямком; гексан Р – ацетон Р (6:4) – II напрямком.

Локалізацію хлорофілів на хроматограмах виявляли за зеленим забарвленням у видимому світлі та за яскраво-червоною флуоресценцією в УФ-світлі. Наявність каротиноїдів виявляли за жовтим забарвленням плям у видимому світлі та коричневою флуоресценцією плям в УФ-світлі. Кумарини виявляли за яскраво-блакитною флуоресценцією плям в УФ-світлі.

Для підтвердження наявності каротиноїдів та хлорофілів хроматограми обробляли 2 % розчином *n*-диметиламінобензальдегіду Р (реактив А) з наступним витримуванням хроматограм у сушильній шафі при температурі 90 °С протягом 5 хв.

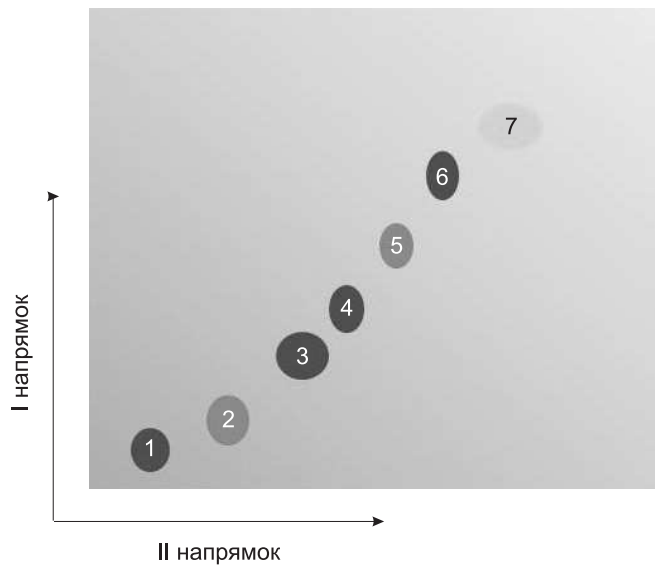
Каротиноїди та хлорофіли також проявляли за допомогою 10 % спиртового розчину фосфорномолібденової кислоти Р (реактив Б) та наступним нагріванням у сушильній шафі при 70 °С протягом 5 хв.

Кількісне визначення каротиноїдів та хлорофілів проводили спектрофотометричним методом. Для цього брали 0,05 г (точна наважка) ЛФ та розчиняли в 50 мл хлороформу. Оптичну густину отриманого розчину визначали на спектрофотометрі Lambda 25 при довжині хвилі 450 нм (каротиноїди) та 670 нм

Таблиця 1

**МЕТРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВИЗНАЧЕННЯ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ  
ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО**

m	f	X <sub>i</sub>	X <sub>сеп.</sub>	S <sup>2</sup>	S <sub>сеп.</sub>	P	t(P, f)	Кількісний вміст	ε, %
5	4	9,87	9,88	0,0031	0,0249	0,95	2,78	9,88 ± 0,07	0,701
		9,89							
		9,97							
		9,83							
		9,84							



**Рис.** Схема тонкошарової хроматограми ліпофільного екстракту трави золототисячника звичайного (система розчинників: I напрямком – гексан Р – ацетон Р (6:2), II напрямком – гексан Р – ацетон Р (6:4)).

(хлорофіли) у кюветі з товщиною шару 10 мм. Розчином порівняння був хлороформ.

Кількісний вміст у відсотках суми каротиноїдів (хлорофілів) в перерахунку на β-каротин (хлорофіл А) розраховували за формулою:

$$X = \frac{10 \cdot A \cdot 50 \cdot 100}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot m},$$

де: 10 – вміст каротину (хлорофілу) в 1 мл 1 % розчину, мг;

A – оптична густина досліджуваного розчину;

m – маса наважки, г;

A<sub>1 см</sub><sup>1%</sup> – екстинція β-каротину – 2400 (екстинція хлорофілу А – 944,5) [1].

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

ЛФ трави золототисячника звичайного – густа олійна однорідна маса жовто-зеленого кольору з характерним запахом; нерозчинна у воді очищеній Р та 96 % спирті Р, добре розчинна у хлороформі Р.

Результати визначення кількісного вмісту ЛФ трави золототисячника звичайного наведені у табл. 1.

Таблиця 2

**РЕЗУЛЬТАТИ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО АНАЛІЗУ ПІГМЕНТІВ ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ  
ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО**

Пляма, №	У видимому світлі	В УФ-світлі	Забарвлення після проявлення (реактив А)	Забарвлення після проявлення (реактив Б)
1	зелене	яскраво-червоне	синє	темно-зелене
2	жовте	коричневе	рожево-фіолетове	синє
3	зелене	яскраво-червоне	синє	темно-зелене
4	зелене	яскраво-червоне	синє	темно-зелене
5	жовте	коричневе	рожево-фіолетове	синє
6	зелене	яскраво-червоне	синє	темно-зелене

Таблиця 3

**МЕТРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТІВ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ КАРОТИНОЇДІВ  
У ЛІПОФІЛЬНІЙ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ЗОЛОТОТІСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО**

m	f	$X_i$	$X_{\text{сер.}}$	$S^2$	$S_{\text{сер.}}$	P	t(P, f)	Кількісний вміст	$\epsilon, \%$
5	4	0,03396	0,0339	0,00000	0,0000	0,95	2,78	0,0339 ± 0,0001	0,165
		0,03384							
		0,03388							
		0,03392							
		0,03391							

Таблиця 4

**МЕТРОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТІВ КІЛЬКІСНОГО ВМІСТУ ХЛОРОФІЛІВ  
У ЛІПОФІЛЬНІЙ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ЗОЛОТОТІСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО**

m	f	$X_i$	$X_{\text{сер.}}$	$S^2$	$S_{\text{сер.}}$	P	t(P, f)	Кількісний вміст	$\epsilon, \%$
5	4	0,08479	0,0848	0,00000	0,0000	0,95	2,78	0,0848 ± 0,0001	0,115
		0,08484							
		0,08486							
		0,08473							
		0,08494							

Вихід ліпофільних речовин становив (9,88 ± 0,07) %. У ЛФ трави золототисячника звичайного методом ТШХ встановлювали наявність хлорофілів, каротиноїдів та кумаринів (рис.).

У ліпофільній фракції виявлено 7 речовин: 2 речовини (2, 5) віднесені до каротиноїдів, 4 речовини (1, 3, 4, 6) – до хлорофілів, 1 речовина (7) – до кумаринів (табл. 2).

Результати кількісного визначення каротиноїдів та хлорофілів наведені у табл. 3 і 4.

Кількісний вміст каротиноїдів становив (0,0339 ± 0,0001) мг/мл.

Кількісний вміст хлорофілів становив (0,0848 ± 0,0001) мг/мл.

### ВИСНОВКИ

- Отримано ліпофільну фракцію трави золототисячника звичайного, кількісний вміст якої становив (9,88 ± 0,07) %.
- Методом ТШХ у ліпофільній фракції трави золототисячника звичайного встановлено наявність каротиноїдів, хлорофілів та кумаринів. Кількісний вміст каротиноїдів становив (0,0339 ± 0,0001) мг/мл, хлорофілів – (0,0848 ± 0,0001) мг/мл.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

- Затильнікова О. О. Хімічне вивчення ліпофільної фракції з кореневищ півників болотних / О. О. Затильнікова, С. В. Ковальов, Т. П. Осолодченко // Вісник фармації. – 2008. – № 3 (55). – С. 9-12.
- Марчишин С. М. Визначення фенольних сполук у траві *Centaureum erythraea* Rafn. методом ВЕРХ / С. М. Марчишин, Л. І. Стойко // Фармац. часопис. – 2014. – № 1 (29). – С. 15-17.
- Марчишин С. М. Визначення якісного складу та кількісного вмісту біологічно активних речовин вторинного синтезу в траві золототисячника звичайного (*Centaureum erythraea* Rafn.) / С. М. Марчишин, Л. І. Стойко // Матер. Міжнар. наук.-практ. конф. молодих науковців: [Проблеми та перспективи досліджень рослинного світу]. – Ялта, 13-16 травня 2014. – С. 56.
- Солодовиченко Н. М. Лікарська рослинна сировина та фітопрепарати: [посіб. з фармакогнозії з основами біохімії лікарських рослин] / Н. М. Солодовиченко, М. С. Журавльов, В. М. Ковальов. – Х.: Вид-во НФАУ; Золоті сторінки, 2001. – 408 с.
- Стойко Л. І. Фітохімічне дослідження ліпофільної фракції з трави золототисячника звичайного (*Centaureum erythraea* Rafn.) / Л. І. Стойко // Матер. XVIII Міжнар. мед. конгр. студентів та молодих учених. – Тернопіль, 28-30 квітня 2014. – С. 273.
- Стойко Л. І. Визначення компонентного складу та кількісного вмісту дубильних речовин у траві *Centaureum erythraea* Rafn. / Л. І. Стойко, С. М. Марчишин // Матер. I Міжнар. наук.-практ. internet-конф. – Х., 20-21 березня 2014. – С. 157.
- Фітотерапія хвороб дитячого віку / М. О. Гарбарець, В. Г. Западнюк, А. В. Захарія, Н. М. Гарбарець. – Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига», 2008. – 408 с.
- Barnes J. Herbal Medicines. 3-rd ed. / J. Barnes, L. A. Anderson, J. D. Phillipson. – Pharmaceutical Press, 2007. – 721 p.
- European Pharmacopoeia. 6-th ed. / European Directorate for Quality of Medicines. – Strasbourg, France: Council of Europe, 2007. – 3308 p.
- Khare C. P. Indian Medicinal Plants: An Illustrated Dictionary / C. P. Khare. – Springer-Verlag, 2007. – 836 p.



**УДК 581.192:582.923.1****С. М. Марчишин, Л. И. Стойко****ПИГМЕНТНЫЙ СОСТАВ ЛИПОФИЛЬНОЙ ФРАКЦИИ ТРАВЫ ЗОЛОТОТЫСЯЧНИКА ОБЫКНОВЕННОГО**

Получено и определено содержание липофильной фракции травы золототысячника обыкновенного. Установлен ее пигментный состав и определено содержание хлорофиллов и каротиноидов.

**Ключевые слова:** липофильная фракция; каротиноиды; хлорофиллы; золототысячник обыкновенный

**UDC 581.192:582.923.1****S. M. Marchyshyn, L. I. Stoiko****THE COMPOSITION OF THE LIPOPHILIC FRACTION FROM THE HERBS OF CENTAURIUM ERYTHRAEA RAFN.**

It is obtained and determined the content of the lipophilic fraction from the herb of Centaurium erythraea Rafn. Pigment composition and the content of chlorophyll and carotenoids have been determined.

**Key words:** lipophilic fraction; carotenoids; chlorophylls; Centaurium erythraea Rafn

*Адреса для листування:*

46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1.  
Тел. (0352) 524492. Fax: +380 352 524183, 25092  
svitlanafarm@ukr.net, stoyko\_li@mail.ru.

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний  
університет ім. І. Я. Горбачевського»

Надійшла до редакції

26.12.2014 р.

# *Мікробіологія*

**Рецензенти рубрики:**

**Піняжко О. Р.,**  
*д. мед. н., професор*

**Кононенко Н. М.,**  
*д. мед. н., професор*



УДК 615.451.3:687.54].015.4

О. О. ВАЩЕНКО

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького*

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИГРИБКОВОЇ ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЛАКУ ЛІКУВАЛЬНОГО ДЛЯ НІГТІВ «УНДЕСАЛ»

*Стаття присвячена вивченню протигрибкової та антибактеріальної активності лаку лікувального для нігтів «Ундесал». Результати мікробіологічних досліджень показали виражену активність розробленого засобу щодо грибів *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, а також щодо бактерій *Staphylococcus aureus*.*

*Ключові слова:* лак для нігтів лікувальний; протигрибкова активність; антибактеріальна активність; мікробіологічні дослідження

### ВСТУП

Зростання захворюваності населення на мікози є серйозною проблемою сучасного світу. Одним з найбільш поширених видів грибкових інфекцій є оніхомікози (грибкове ураження нігтів). Так, за різними експертними оцінками грибок нігтів діагностують у 10-30 % жителів планети [4, 11, 13].

Відомо багато засобів і методів лікування грибкових захворювань нігтів, проте найбільш ефективним підходом є етіотропна терапія, яка може бути системною, місцевою чи комбінованою [10, 11, 16]. Інформаційний аналіз показав, що оптимальною лікарською формою для місцевого лікування оніхомікозу є лак для нігтів, який можна застосовувати як у монотерапії, так і в комбінованій терапії [3].

Нами розроблено новий лікарський засіб у формі лаку для нігтів лікувального під умовною назвою «Ундесал» [8]. Як активні фармацевтичні інгредієнти до складу лаку введено ундециленову та саліцилову кислоти.

Розробка багатокомпонентних лікарських засобів для терапії оніхомікозу виправдана тим, що грибкові захворювання нігтів зазвичай викликаються не лише одним видом грибів. Більше того, часто до мікотичного агента приєднуються бактерії, що значно ускладнюють перебіг мікозу [11]. Тому важливо, щоб дія лікарського засобу була комбінованою, а це залежить від правильно підбраного складу лікарського засобу.

Ундециленова кислота – протигрибковий засіб із вираженою фунгістатичною та фунгіцидною дією [16-18]. Протигрибкову дію зазначена сполука ви-

являє як в лужному, так і в кислому середовищі [15]. За своїм хімічним складом ундециленова кислота дуже близька до складу поту людини, і навіть є однією з його фізіологічних складових частин [17]. Тому на відміну від багатьох хімічних синтетичних протигрибкових агентів зазначена сполука не має виражених подразнювальних і сенсibiliзуючих властивостей [9]. Окрім того, ундециленова кислота виявляє високу антибактеріальну дію і виконує значну роль у захисних функціях шкіри, підтримуючи кислотний бар'єр, при якому не можуть розвиватися коки [15]. Необхідно підкреслити, що ундециленова кислота є природною сполукою, яку, наприклад, Управління з контролю якості за харчовими продуктами і лікарськими засобами (США) затвердило як натуральний фунгіцидний засіб для лікування захворювань не лише шкіри, а й нігтів і дозволило до відпуску з аптеки без рецептів [17].

Саліцилова кислота – відомий антисептичний препарат, який також відносять до неспецифічних синтетичних протигрибкових засобів для місцевого застосування [12]. Саліцилова кислота також широко використовується як кератолітичний компонент для лікування різних видів дерматитів [1]. Відомо, що кератолітики відносяться до найбільш ефективних агентів покращення проникнення лікарських речовин безпосередньо у вогнище ураження, що значно посилює дію препарату [2]. Тому введення до складу лаку саліцилової кислоти дозволить збільшити можливість активного проникнення ундециленової кислоти в уражену ділянку за рахунок розчинення кератину.

Таким чином, введення ундециленової і саліцилової кислот до складу лаку для нігтів, призначеного для місцевого лікування оніхомікозу, є обгрунтованим і виправданим.

© Ващенко О. О., 2015

Таблиця

**ПРОТИГРИБКОВА ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЛАКУ ДЛЯ НІГТІВ  
ЛІКУВАЛЬНОГО «УНДЕСАЛ» І РЕФЕРЕНТНОГО ПРЕПАРАТУ**

Лікарський засіб	Тест-штами мікроорганізмів			
	<i>Trichophyton rubrum</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P
	Зона затримки росту мікроорганізмів, мм			
«Ундесал»	40,6 ± 0,52	23,2 ± 0,43	17,0 ± 0,67	18,6 ± 0,52
Референтний препарат	12,8 ± 0,43	15,0 ± 0,95	12,4 ± 0,52	15,8 ± 1,04

Метою даної роботи було дослідження проти-грибкової та антибактеріальної активності лаку лікувального для нігтів «Ундесал».

#### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення протигрибкової та антибактеріальної активності лаку для нігтів лікувального «Ундесал» проводили на базі лабораторії бактеріологічного контролю якості та безпеки ветеринарних препаратів та кормових добавок Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок (м. Львів).

Для удосконалення проведення порівняльних досліджень МОЗ України рекомендує використовувати референтні препарати [7]. Оскільки під час проведення роботи лаки для нігтів лікувальні були відсутні на вітчизняному фармацевтичному ринку, при дослідженні активності лаку для нігтів «Ундесал» як препарат порівняння було використано готовий лікарський засіб у формі мазі, яка в якості активних фармацевтичних інгредієнтів містить ундециленову кислоту і цинку ундециленат.

Противікову та антибактеріальну активність досліджуваних лікарських засобів визначали шляхом дифузії в агар методом «колодязів» [5]. Мікробне навантаження складало 1 × 10 КУО на 1 мл середовища. Визначення антимікробної активності препаратів проводили на двох шарах щільного поживного середовища, розлитого у чашки Петрі. Для нижнього шару використовували неінокульовані поживні середовища, для верхнього шару – середовище, інокульоване тест-мікроорганізмом. Про рівень антимікробної активності судили за діаметром зони затримки росту мікроорганізмів. Статистичну обробку результатів проводили відповідно до вимог Державної фармакопеї України [6].

#### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Онїхомікоз – це поліетіологічне захворювання. Існує понад 50 видів умовно-патогенних і патогенних грибів, які можуть інфікувати нігті. Загалом усіх збудників онїхомікозу можна розділити на три групи: дерматофіти, дріжджеподібні та плісняві гриби [4]. З огляду на вищевказане активність лаку «Ундесал» вивчали по відношенню до основних збудників онїхомікозу, а саме: грибів роду *Trichophyton*, *Candida*

і *Aspergillus*. Враховуючи можливість приєднання бактеріальної флори, було також досліджено активність лікарського засобу щодо *Staphylococcus aureus* – збудника, який часто супроводжує мікози. Результати дослідження мікробіологічної активності лаку для нігтів лікувального у порівнянні з референтним препаратом представлені в таблиці.

Як видно з даних, наведених у таблиці, розроблений лікарський засіб чинить виражену противікову дію щодо обраних тест-штамів. Оскільки переважачим етіологічним чинником онїхомікозу є *Trichophyton rubrum* [4], надзвичайно важливо, що запропонований лак виявляє високу активність щодо вказаного виду грибів. Необхідно підкреслити, що активність лаку для нігтів лікувального «Ундесал» щодо *Trichophyton rubrum* приблизно у три рази вища, ніж референтного лікарського засобу.

Загалом, ефективність досліджуваного лаку щодо *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* і *Staphylococcus aureus* 209-P є вищою, ніж ефективність засобу порівняння.

#### ВИСНОВКИ

Результати мікробіологічних досліджень лаку для нігтів лікувального «Ундесал» показали виражену активність розробленого засобу щодо грибів *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*. За активністю по відношенню до грибів *Trichophyton rubrum*, що є домінуючим етіологічним чинником онїхомікозу, досліджуваний лак значно перевищує активність референтного зразка. Запропонований лак для нігтів виявляє також антибактеріальну активність щодо *Staphylococcus aureus* – збудника, який часто супроводжує мікози.

#### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ

##### ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Андрашко Ю. В. Сучасний погляд на місце кератолітика в комплексному лікуванні псоріазу / Ю. В. Андрашко, І. І. Шаркань // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол. – 2010. – № 3 (38). – С. 42-46.
2. Белоусова Т. А. Современные принципы наружной терапии воспалительных дерматомикозов / Т. А. Белоусова // РМЖ. – 2008. – № 8. – С. 547-552.



3. Ващенко О. О. Перспективи застосування протигрибкових лаків для нігтів / О. О. Ващенко, Т. Г. Калинюк // Фармац. часопис. – 2009. – № 4. – С. 37-41.
4. Ващенко О. О. Порівняльна оцінка сучасних протигрибкових лікарських засобів для системного лікування оніхомікозів / О. О. Ващенко, Т. Г. Калинюк, О. І. Зайченко // Клінічна фармація. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 17-22.
5. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. Ю. Л. Волянського. – К., 2004. – 38 с.
6. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: РІПЕГ, 2001. – Доп. 1. – 2004. – 520 с.
7. Наказ МОЗ України від 07.09.2009 № 663 «Про затвердження Переліку референтних лікарських засобів, що рекомендуються для застосування при доведенні еквівалентності (взаємозамінності) лікарських засобів» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://mozdocs.kiev.ua/index.php?nav=1&ishideform=1&type\\_doc=25&limit=4&page=119&sort=7](http://mozdocs.kiev.ua/index.php?nav=1&ishideform=1&type_doc=25&limit=4&page=119&sort=7).
8. 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.
9. Пученькина К. Ф. Изучение раздражающих, сенсибилизирующих и параспецифических свойств противогрибковой мази, содержащей ундециленовую кислоту на полиэтиленгликолевой основе / К. Ф. Пученькина. – Современные аспекты создания и исследования лекарственных форм. – Баку, 1984. – С. 92-94.
10. Сергеев Ю. В. Фармакотерапия микозов / Ю. В. Сергеев, Б. И. Шпигель, А. Ю. Сергеев. – М.: Медицина для всех, 2003. – 200 с.
11. Сергеев Ю. В. Онихомикозы. Грибковые инфекции ногтей / Ю. В. Сергеев, А. Ю. Сергеев. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – 128 с.
12. Amborabé Bénigne-Ernest. Antifungal effects of salicylic acid and other benzoic acid derivatives towards *Eutypa lata*: structure-activity relationship / Bénigne-Ernest Amborabé, Pierrette Fleurat-Lesnard, Jean-François Chollet, Gabriel Roblin // *Plant Physiol. and Biochemistry*. – 2002. – Vol. 40, № 12. – P. 1051-1060.
13. Gupta A. K. New therapeutic options for onychomycosis / A. K. Gupta, F. C. Simpson // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2012. – Vol. 13 (8). – P. 1131-42.
14. Lain N. Undecylenic acid inhibits morphogenesis of *Candida albicans* // [N. Lain, R. Ascanio, C. Baker et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2000. – Vol. 44. – P. 2873-2875.
15. Prince H.N. Effect of pH on the antifungal activity of undecylenic acid and its calcium salt / H. N. Prince // *J. Bacteriol.* – 1959. – Vol. 78. – P. 788-791.
16. Thappa D. M. Current treatment of onychomycosis / D. M. Thappa // *Ind. J. of Dermatol., Venereol. and Leprol.* – 2007. – Vol. 73, Issue 6. – P. 373-376.
17. Undecylenic acid for nail fungus [Electronic resource]. – Access mode: <http://toenail-fungus.org/medication/undecylenic-acid-for-nail-fungus.html>.
18. Undecylenic acid – Monograph: [undecylenic acid] // *Alternative Medicine Review*. – 2002. – Vol. 7. – P. 68-70.

**УДК 615.451.3:687.54].015.4****О. А. Ващенко****ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛАКА ДЛЯ НОГТЕЙ ЛЕЧЕБНОГО «УНДЕСАЛ»**

Статья посвящена изучению противогрибковой и антибактериальной активности лака для ногтей лечебного «Ундесал». Результаты микробиологических исследований показали выраженную активность разработанного средства по отношению к грибам *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, а также к бактериям *Staphylococcus aureus*.

**Ключевые слова:** лак для ногтей лечебный; противогрибковая активность; антибактериальная активность; микробиологические исследования

**UDC 615.451.3:687.54].015.4****O. O. Vashchenko****INVESTIGATION OF ANTIFUNGAL AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MEDICATED NAIL LACQUER "UNDESAL"**

Article is devoted to investigation of antifungal and antibacterial activity of medicated nail lacquer "Undesal". Results of study showed marked activity of developed preparation against fungi *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, as well as against bacteria *Staphylococcus aureus*.

**Key words:** medicated nail lacquer; antifungal activity; antibacterial activity; microbiological investigations

Адреса для листування:

м. Львів, вул. Пекарська, 69.

Львівський національний медичний університет

ім. Данила Галицького

Надійшла до редакції

08.12.2014 р.

УДК 615.371; 616-097; 616.992.282

М. В. РИБАЛКІН, Н. І. ФІЛІМОНОВА, О. П. СТРИЛЕЦЬ, Л. С. СТРЕЛЬНИКОВ

Національний фармацевтичний університет

## БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ РЕЖИМУ КУЛЬТИВУВАННЯ ГРИБІВ РОДУ *CANDIDA*

Кандидоз – небезпечна хвороба, яка вражає шкіру, слизові та внутрішні органи. Для попередження та лікування кандидозної інфекції перспективно використовувати вакцини на основі грибів *Candida*. Метою роботи було обґрунтовано оптимальної температури та часу культивування грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis*. У результаті проведених досліджень було обґрунтовано оптимальний час 6 діб при температурі  $25 \pm 2$  °C для культивування клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* окремо на поживному середовищі агар Сабуру у матрасах.

Ключові слова: кандидамікоз; антиген; вакцина; імунітет; культивування

### ВСТУП

Сьогодні людство переживає епідемію опортуністичних інфекцій, серед яких мікозам належить одне з провідних місць. Частіше збудниками мікозів є представники роду *Candida*. Кандидоз – опортуністичний мікоз, що перебігає з ураженням слизових оболонок і шкірних покривів, у хворих із важкими імунodefіцитними станами можливі дисеміновані форми, частіше з ураженням легенів та органів шлунково-кишкового тракту [1, 2, 7, 10, 13].

Для попередження та лікування кандидозної інфекції ведуться активні дослідження з розробки вакцин у країнах СНГ, Європи та Америки [5, 8, 9, 11]. Необхідно відзначити, що на сьогодні в Україні не випускається жодної вітчизняної та не зареєстровано жодної імпортової вакцини проти кандидозної інфекції. Дослідники виділяють декілька видів вакцин, таких як убиті або субодиничні [3]. Однак єдиної думки з приводу найефективнішої вакцини не існує. Також останні тенденції з розробки вакцин передбачають створення комбінованих вакцин, які діють одразу проти кількох збудників [6, 14, 15].

Технологія розробки убитої та субодиничної вакцини для попередження та лікування кандидозної інфекції передбачає культивування грибів роду *Candida*, на основі яких і планується розробка вакцин. Тому першочерговим завданням є обґрунтування технологічного режиму культивування грибів роду *Candida*.

Для культивування грибів можуть бути використані рідкі та щільні середовища. Однак при культивуванні грибів на рідкому середовищі необхідно про-

водити тривалі та дорогі процедури очищення, які не завжди забезпечують повне очищення від компонентів поживного середовища, продуктів метаболізму, а їх введення у подальшому разом з вакциною можуть викликати супутні імунні або алергічні реакції. Таким чином, культивування грибів роду *Candida* доцільно проводити на щільних середовищах. Відомі поживні середовища для виділення дріжджеподібних грибів роду *Candida*: м'ясопептонний глюкозний агар, середовище Сабуру, пивне сусло-агар, морквяний агар, морквяно-картопляний агар та інші. За даними літератури агар Сабуру є оптимальним поживним середовищем для культивування грибів роду *Candida* [12].

Для розробки кандидозної вакцини необхідно визначити штами або види мікроорганізмів, які є найрозповсюдженішими або головними збудниками кандидозної інфекції. Згідно з даними літератури при видовій ідентифікації виділених грибів від хворих на кандидозну інфекцію встановлено, що практично в усіх випадках захворювання збудниками хвороби є гриби виду *Candida albicans*. Другим за частотою виділення є вид *Candida tropicalis*, який зустрічається, як правило, в асоціації з *Candida albicans*. В окремих випадках (виявлені *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* і *Candida krusei* також в асоціації з *Candida albicans* або *Candida albicans* та *Candida tropicalis*) [2, 4, 5, 10]. Таким чином, перспективно проводити дослідження з видами *Candida albicans* та *Candida tropicalis* для розробки комбінованої вакцини.

Культивування грибів роду *Candida* різними дослідниками проводилося на матрасах з агаром Сабуру при температурі від  $17 \pm 2$  °C до  $35 \pm 2$  °C тривалістю від 2 до 20 діб [5, 8, 12]. Культивувати гриби роду *Candida* більше 20 діб недоцільно, оскільки куль-

© Рибалкін М. В., Філімонова Н. І., Стрилець О. П., Стрельников Л. С., 2015

Таблиця 1

ДИНАМІКА РОСТУ КЛІТИН ГРИБІВ *CANDIDA ALBICANS*

Час відбору проб, доба	Температура, °C				
	17 ± 2	21 ± 2	25 ± 2	29 ± 2	34 ± 2
	Середня кількість клітин у пробі у 1 мл, шт.				
2	3,5 × 10 <sup>8</sup> - 4,5 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	3,5 × 10 <sup>8</sup> - 4,5 × 10 <sup>9</sup>
3	3,5 × 10 <sup>8</sup> - 4,5 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	3,5 × 10 <sup>8</sup> - 4,5 × 10 <sup>9</sup>
4	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>
5	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>
6	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>
7	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	5,5 × 10 <sup>8</sup> - 6,5 × 10 <sup>9</sup>
8	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	7,5 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	7,5 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>
9	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	7,5 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	7,5 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>
10	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	7,5 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>
11	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,5 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	7,5 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>
12	7,5 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>
13	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>
14	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>	8,0 × 10 <sup>8</sup> - 8,0 × 10 <sup>9</sup>

тура починає старіти та втрачати свої антигенні властивості.

Метою даної роботи було обґрунтування оптимального часу та температури культивування клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* на поживному середовищі агару Сабуро.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Усі дослідження проводили у лабінарному боксі, підтримуючи асептичні умови. У дослідах використовували гриби *Candida albicans* штам ССМ 885-653 та *Candida tropicalis* штам АТТС 20336.

Клітини грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* окремо культивували у пробірках з агаром Сабуро. Агар розплавляли на водяній бані та заливали по 10,0 мл в стерильні пробірки, які вкладали під кутом для збільшення площі висіву культури гриба. Пробірку з агаром витримували у термостаті протягом 24 годин при температурі 33 ± 2 °C та протягом 24 годин при температурі 25 ± 2 °C для перевірки агару Сабуро на стерильність візуально та методом мікроскопування. Далі клітини грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* окремо висівали у пробірку з агаром Сабуро, використовуючи петлю, яку перед висівом прожарювали у полум'ї горілки. Пробірки з висівами культивували у термостаті при температурі 25 ± 2 °C протягом 48 годин та перевіряли культури на мікробіологічну чистоту візуально та методом мікроскопування. Біомасу штамів грибів *Candida* змивали розчином ізотонічного стерильного 0,9 % натрію

хлориду по 5,0 мл на пробірку. Далі одержані клітини грибів *Candida* окремо культивували у матрасах. Для цього попередньо агар Сабуро розплавляли на водяній бані та по 150,0 мл заливали у стерильні матраси. Матраси з агаром витримували у термостаті протягом 24 годин при температурі 33 ± 2 °C та протягом 24 годин при температурі 25 ± 2 °C для перевірки агару Сабуро на стерильність та методом мікроскопування. Далі попередньо одержані змиви з пробірок з агаром Сабуро культур грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* окремо висівали у матраси з агаром Сабуро. Матраси з висівами культивували у термостаті при температурі від 17 ± 2 °C до 34 ± 2 °C тривалістю від 2 діб до 14 діб. Кожну добу відзначали кількість клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis*, також перевіряли культури на мікробіологічну чистоту візуально та методом мікроскопування. Одержані культури змивали 25,0 мл ізотонічного 0,9 % розчину натрію хлориду, інтенсивно збовтуючи матрац до повного переходу клітин гриба з поверхні агару Сабуро до розчину. Для визначення кількості клітин грибів в суспензії підраховували їх у камері Горяєва та за стандартним показником каламутності.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами даних видно, що перші 4 доби відбувається активний ріст клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* при всіх температурних режимах. Починаючи з 6 доби і далі, кількість клітин грибів поступово стає константою і майже не зміню-



ДИНАМІКА РОСТУ КЛІТИН ГРИБІВ *CANDIDA TROPICALIS*

Час відбору проб, доба	Температура, °C				
	17 ± 2	21 ± 2	25 ± 2	29 ± 2	34 ± 2
	Середня кількість клітин у пробі у 1 мл, шт.				
2	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 3,5 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>	4,0 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 3,5 × 10 <sup>9</sup>
3	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 3,5 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>	4,0 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 3,5 × 10 <sup>9</sup>
4	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>
5	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 3,5 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>	4,0 × 10 <sup>8</sup> - 5,0 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 4,0 × 10 <sup>9</sup>	3,0 × 10 <sup>8</sup> - 3,5 × 10 <sup>9</sup>
6	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>
7	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>	4,5 × 10 <sup>8</sup> - 5,5 × 10 <sup>9</sup>
8	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>
9	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,0 × 10 <sup>8</sup> - 6,0 × 10 <sup>9</sup>
10	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>
11	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	6,5 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>
12	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>
13	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>
14	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>	7,0 × 10 <sup>8</sup> - 7,0 × 10 <sup>9</sup>

ється. А саме кількість клітин грибів *Candida albicans* становила  $8 \times 10^8$ - $8 \times 10^9$  в 1 мл та кількість клітин грибів *Candida tropicalis* становила  $7 \times 10^8$ - $7 \times 10^9$  в 1 мл. Необхідно відзначити, що при температурі  $25 \pm 2$  °C кількість клітин перестає змінюватися на 6 добу, при інших температурах це відбувається дещо пізніше. Однак кількість клітин грибів при температурі  $25 \pm 2$  °C дещо збільшувалася після 6 доби, однак їх кількість не змінювалася настільки суттєво, що культивування більше 6 діб можна вважати економічно невигідним. Також враховуючи те, що культури після 6 доби культивування починають «старіти» і відповідно у них послаблюються антигенні властивості, їх тривале культивування недоцільне.

Результати досліджень росту клітин на агарі Сабуро в матрасах окремо грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* наведені у табл. 1 та 2.

## ВИСНОВКИ

1. Обґрунтовано оптимальний час 6 діб для культивування клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* окремо на поживному середовищі агар Сабуро у матрасах.
2. Визначено оптимальний температурний режим  $25 \pm 2$  °C культивування клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis* окремо на поживному середовищі агар Сабуро у матрасах.
3. Визначена кількість клітин грибів *Candida albicans* та *Candida tropicalis*, що становить відповідно  $8 \times 10^8$ - $8 \times 10^9$  та  $7 \times 10^8$ - $7 \times 10^9$  в 1 мл зми-

вів з матрасів при культивуванні протягом 6 діб при температурі  $25 \pm 2$  °C.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Борщ С. К. Комбіноване застосування протигрибкових засобів і пробіотиків у комбустіології для лікування та профілактики кандидозів і синдрому подразненого кишечника / С. К. Борщ, Т. Р. Масляк // Сучасна гастроентерол. – 2011. – № 4. – С. 30-39.
2. Голубка О. В. Поширення кандидозів, загальна характеристика збудника, особливості лабораторної діагностики / О. В. Голубка // Ann. of Mechnikov Institute. – 2011. – № 2. – С. 51-59.
3. Жукова Н. В. Современные вакцины: характеристика и классификация / Н. В. Жукова, И. М. Кривошеева // Крымский терапевт. журн. – 2013. – № 2. – С. 99-104.
4. Капустина О. А. Видовой состав и биологические свойства грибов рода *Candida*, выделенных из разных биотопов тела человека / О. А. Капустина, Л. Е. Логачева, О. Л. Карташова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2009. – Т. 4, № 24. – С. 179-181.
5. Пат. 2445109 Российская Федерация, МПК<sup>7</sup> А 61 К 36/062, А 61 К 47/02 С 12 N 1/14. Ассоциированная вакцина против кожного кандидоза плотоядных, способ изготовления ассоциированной вакцины против кожного кандидоза плотоядных,

- способ профилактики и терапии кожного кандидоза плотоядных / А. М. Литвинов, Н. А. Апанасенко. – 2010127796/10. – Заявл.: 07.07.2010. Оpubл.: 07.07.2010.
6. Петров Р. В. Иммуногены и вакцины нового поколения / Р. В. Петров, Р. М. Хаитов. – М.: ГЭОТАР-Медицина, 2011. – 608 с.
  7. Anaul Kabir M. Candida infections and their prevention / M. Anaul Kabir, Zulfiqar Ahmad // ISRN Preventive Medicine. – 2013. – P. 1-13.
  8. Cassone A. Development of vaccines for *Candida albicans*: fighting a skilled transformer / A. Cassone // Nature Rev. Microbiol. – 2013. – Vol. 11. – P. 884-891.
  9. Carvalho A. Host defense pathways against fungi: the basis for vaccines and immunotherapy / A. Carvalho // Front. Microbiol. – 2012. – Vol. 3. – P. 1-9.
  10. Diekema D. The changing epidemiology of health-care-associated candidemia over three decades / [D. Diekema, S. Arbefeville, L. Boyken et al.] // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. – 2012. – № 73. – P. 45-48.
  11. Han Y. Comparison of two *Candida* mannan vaccines: the role of complement in protection against disseminated candidiasis / Y. Han, K. Y. Rhew // Arch. Pharm. Res. – 2012. – № 35. – P. 2021-2027.
  12. Janelle M. Hare Sabouraud agar for fungal growth / M. Hare Janelle // Laboratory Protocols in Fungal Biol. – 2013. – P. 211-216.
  13. Leibund Gut-Landman S. Immunity to fungi / S. Leibund Gut-Landman, M. Wutrich & T. Hohl // Curr. Opin. Immunol. – 2012. – № 24. – P. 1-10.
  14. Nabel G. J. Designing Tomorrow's Vaccines / G. J. Nabel // New Eng. J. Med. – 2013. – Vol. 6, № 368. – P. 551-60.
  15. Skibinski A. G. David. Combination vaccines / A. G. Skibinski David, C. Barbara Baudner, Singh Manmohan, T. O. 'Hagan Derek // Glob. Infect. Dis. – 2011. – Vol. 3, № 1. – P. 63-72.

### УДК 615.371; 616-097; 616.992.282

Н. В. Рыбалкин, Н. И. Филимонова, О. П. Стрилец, Л. С. Стрельников

#### БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РЕЖИМА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Кандидоз – опасная болезнь, которая поражает кожу, слизистые и внутренние органы. Для предупреждения и лечения кандидозной инфекции перспективно использовать вакцины на основе грибов *Candida*. Целью работы было обоснование оптимальной температуры и времени культивирования грибов *Candida albicans* и *Candida tropicalis*. В результате проведенных исследований было обосновано оптимальное время 6 суток при температуре  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  для культивирования клеток грибов *Candida albicans* и *Candida tropicalis* отдельно на питательной среде агар Сабура в матрасах.

**Ключевые слова:** кандидамикоз; антиген; вакцина; иммунитет; культивирование

### UDC 615.371; 616-097; 616.992.282

M. V. Rybalkin, N. I. Filimonova, O. P. Strilets, L. S. Strelnikov

#### BIOTECHNOLOGICAL JUSTIFICATION CULTIVATION MODE FUNGI OF THE GENUS *CANDIDA*

Candidiasis – dangerous disease that affects the skin, mucous membranes and internal organs. Prevention and treatment of *Candida* infections perspective to use vaccines, based on fungi *Candida*. The aim was to study the optimum temperature and time of mushroom cultivation *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. The studies were justification optimal time 6 days at a temperature of  $25 \pm 2^\circ \text{C}$  for cell culturing fungi *Candida albicans* and *Candida tropicalis* separately on agar Sabouraud broth in flasks.

**Key words:** candidiasis; antigen; vaccine; immunity; cultivation

Адреса для листування:

61032, м. Харків, пр. Московський, б. 296, кв. 20.

Тел. дом.: (057)7791111, моб.: 0674095583,

0636688952, 0990064421.

E-mail: Ribalkin.Nikolay@mail.ru

Надійшла до редакції

04.12.2014 р.

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

1. До розгляду приймаються оригінальні та інші види статей (до 10–11 сторінок), присвячені біофармацевтичним дослідженням лікарських препаратів, експериментальної фармакології, біохімії, фармакогнозії та фармахімії. Перевага в опублікуванні надається статтям, які містять дані щодо використання результатів біологічних, біохімічних, фармакологічних і біофармацевтичних досліджень.

2. Текст статті друкується кеглем № 14 через 1,5 інтервали на аркуші формату А4 (ширина полів: зліва — 3 см, справа — 1 см, зверху та знизу — по 2 см) і починається з таких даних: індекс УДК, ініціали та прізвища всіх авторів (рівняти по лівому краю), назва організації (курсив, рівняти по лівому краю), в яких виконана робота (якщо авторів декілька, відомості про кожного подаються окремими рядками), назва статті (жирним шрифтом, рівняти по лівому краю), анотація укр. мовою (по центру: АНОТАЦІЯ; з абзацу: текст анотації; з абзацу: Ключові слова: перелік ключових слів (понять) у кількості 3–8. Далі з абзацу (через пропущений рядок) починається текст статті.

3. Автори повинні дотримуватись загального плану побудови статті і виділяти обов'язкові структурні елементи:

3.1. Постановка проблеми у загальному вигляді, актуальність теми та її зв'язок із важливими науковими або практичними питаннями.

3.2. Аналіз останніх досліджень і публікацій, в яких започатковано вирішення даної проблеми і на які спирається автор.

3.3. Виділення невирішених раніше частин загальної проблеми, якій присвячена стаття.

3.4. Формулювання цілей (завдання) статті.

3.5. Викладення основного матеріалу дослідження (методів та об'єктів) з обґрунтуванням отриманих результатів.

3.6. Висновки з проведеного дослідження та перспективи подальшого розвитку даного напрямку.

3.7. Перелік використаних джерел інформації, розташованих за алфавітом (спочатку — роботи вітчизняних авторів, потім — зарубіжних). Цитовані джерела позначаються у тексті цифрами (у квадратних дужках). Джерел інформації має бути не менше п'яти; оформлення — за останніми вимогами ВАК.

4. Стаття супроводжується повним перекладом англійською мовою та трьома анотаціями: українською мовою (на початку статті), російською та англійською мовами (після статті). Анотації повинні містити: індекс УДК, ініціали та прізвища всіх авторів, назву статті, ключові слова. Оформлення анотацій:

УДК....

Инициалы и фамилии авторов

НАЗВАННЯ СТАТТІ

АННОТАЦІЯ

Текст (с абзаца)...

Ключевые слова:

UDC...

L. P. Dorokhova

DIRECTIONS OF THE.....

RESUME

The view the constant....

Key words: ...

5. Формули сполук подаються окремими файлами у форматі Corel Draw (версія не пізніше 11); діаграми та рисунки — у форматі Excel або Corel Draw (версія не пізніше 11); рисунки у вигляді фотографій можуть бути представлені файлами TIFF 300–600 dpi Gray Scale (256 градаций сірого), JPG не менше 1 Мб. Ширина графічного матеріалу повинна бути розміром 5,5 см, 11,5 см або 17,4 см.

6. У статтях повинна використовуватись система одиниць СІ.

7. Таблиці повинні мати нумерацію і заголовки. Інформація, наведена у таблицях і на рисунках, не повинна дублюватися.

8. Усі матеріали подаються до редакції у двох друкованих екземплярах та на електронному носії. Один екземпляр друкується так, як передбачено автором розташування всього графічного і текстового матеріалу. Другий екземпляр статті підписується всіма авторами.

9. Стаття супроводжується експертним висновком, рецензією та направленням від організації (для авторів НФаУ — це розпорядження «До друку» за підписом відповідальної особи НФаУ).

10. До статті на окремому аркуші та в електронному вигляді додаються відомості про авторів, які містять: учене звання, учений ступінь; прізвище, ім'я та по батькові (повністю); місце роботи та посаду, яку обіймає автор; адресу для листування; номери телефонів і факсів, E-mail.

11. Редакція залишає за собою право редакційної правки статті.

12. Статті, відіслані авторам на виправлення, повинні бути повернені до редакції не пізніше, ніж через 10 днів після одержання. В авторській коректурі допускається виправлення лише помилок набору.

13. До друкованого варіанту статті (2 екз.) додається електронна копія мовою оригіналу й англійською мовою на CD диску (або на іншому виді електронного носія) у форматі MS Word.

14. Статті приймаються відповідальним секретарем журналу Галузінською Л.В. за адресою: м. Харків, вул. Мельникова, 12, кафедра біохімії.

К. т. (057) 706-30-99, (067) 119-94-85.

E-mail: azagayko@mail.ru,

ljubvgaluzinskaja@rambler.ru.

**ЗМІСТ / СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS****БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ**

- (1→3)-β-D-ГЛЮКАНИ – ЗАВАЖАЮЧИЙ ФАКТОР ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ЛАЛ-ТЕСТУ**  
 Н. В. Ділай, Т. Г. Калинюк.....4  
 (1→3)-β-D-Глюканы – мешающий фактор для проведения ЛАЛ-теста /  
 Н. В. Дилай, Т. Г. Калинюк  
 (1→3)-β-D-Glucanes – negative factor for LAL-test / N. V. Dilay, T. G. Kalynyuk

- ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ КОНСЕРВАНТА У РОЗРОБЛЕНОМУ ПІНОМІЙНОМУ ЗАСОБІ ДЛЯ ДІТЕЙ**  
 О. В. Жук, І. І. Баранова, О. П. Стрілець .....9  
 Обоснование выбора консервантов в разработанном пеномоющем  
 средстве для детей / Е. В. Жук, И. И. Баранова, О. П. Стрелец  
 Substantiation of choice of preservatives in the developed foam detergent  
 for children / O. V. Zhuk, I. I. Baranova, O. P. Strelets

**БІОХІМІЯ ТА ФАРМАКОЛОГІЯ**

- ДОСЛІДЖЕННЯ ПСИХОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА ВЗАЄМОДІЇ  
 З РЕЧОВИНАМИ ПРИГНІЧУВАЛЬНОЇ ТА ЗБУДЖУВАЛЬНОЇ ДІЇ НОВИХ  
 ОЛІГОПЕПТИДІВ, ГОМОЛОГІЧНИХ ПЕРВИННИЙ АМІНОКИСЛОТНИЙ  
 ПОСЛІДОВНОСТІ ДІЛЯНКИ АКТГ 15-18**  
 Р. Д. Дейко, С. Ю. Штриголь, А. Н. Прусаков, О. О. Колобов .....14  
 Исследование психотропных свойств и взаимодействия с веществами  
 угнетающего и возбуждающего действия новых олигопептидов, гомологичных  
 первичной аминокислотной последовательности участка АКТГ 15-18 /  
 Р. Д. Дейко, С. Ю. Штрыголь, А. Н. Прусаков, А. А. Колобов  
 Study of psychotropic properties and interaction with inhibitatory and stimulate  
 substances of new oligopeptides homologous primary sequence of АСТН 15-18 /  
 R. D. Deiko, S. Yu. Shtrygol', A. N. Prusakov, A. A. Kolobov

- ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ВТОРИННОГО ЕКСТРАКТУ  
 ЗІ ШРОТУ ТРАВИ МАТЕРИНКИ ЗВИЧАЙНОЇ (*ORIGANUM VULGARE*)**  
 І. В. Павлюк, Н. Є. Стадницька, І. Ясіцька-Місяк, П. Вечорек,  
 Г. В. Загорій, О. М. Брезвин, Г. В. Рудик, В. П. Новіков .....21  
 Исследование биологической активности вторичного экстракта из шрота травы  
 душицы обыкновенной (*Origanum vulgare*) / И. В. Павлюк, Н. Е. Стадницкая,  
 И. Ясицка-Мисьяк, П. Вечорек, Г. В. Загорий, О. М. Брезвин, Г. В. Рудик, В. П. Новиков  
 Study of biological activity of secondary extract from oregano herbs waste (*Origanum  
 vulgare*) / I. V. Pavluk, N. E. Stadnytska, I. Jasicka-Misiak, P. Wiczorek, G. V. Zagoriy,  
 O. M. Brezvyn, H. V. Rudyk, V. P. Novikov

- МОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ МОЖЛИВОЇ НЕФРОТОКСИЧНОЇ ДІЇ БІ-ТОЛУ  
 ТА КОРЕГУЮЧОГО ВПЛИВУ ЕКСТРАКТІВ ЛАСКАВЦЯ ЗОЛОТИСТОГО ТА КУРАЮ  
 ПАГОРЬКОВОГО**  
 О. І. Набока, С. З. Хуарі, Ю. Б. Лар'яновська, В. С. Пташинська, О. В. Павиченко .....25  
 Морфологическое исследование возможного нефротоксического действия  
 Би-тола и коррегирующего влияния экстрактов володушки золотистой и солянки  
 холмовой / О. И. Набока, С. З. Хуари, Ю. Б. Ларьяновская, В. С. Пташинская,  
 О. В. Павиченко  
 Morphological study of Bi-tol nephrotoxicity and corrective influence of the extracts  
 of bupleurum aureum and salsola collina / O. I. Naboka, S. Z. Khouri, Yu. B. Larianovska,  
 V. S. Ptashinska, O. V. Pavichenko



### **ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ**

М. О. Остапець, В. А. Волковой, А. В. Березняков, Г. П. Фомина .....31

Изучение фармакологической активности сухого экстракта из травы герани болотной / М. А. Остапец, В. А. Волковой, А. В. Березняков, Г. П. Фомина

Studying of the pharmacological activity of dry extract from the herb of geranium palustre / M. A. Ostapets, V. A. Volkovoy, A. V. Bereznyakov, G. P. Fomina

### **ВПЛИВ НОВИХ СИНТЕТИЧНИХ ІНГІБІТОРІВ JNK НА РОЗВИТОК ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2-ГО ТИПУ**

А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, М. А. Мусмари, І. Ю. Капустянський,  
С. В. Власов .....35

Влияние новых синтетических ингибиторов JNK на развитие экспериментального сахарного диабета 2-го типа / А. Л. Загайко, В. П. Филимоненко, М. А. Мусмари, И. Ю. Капустянский, С. В. Власов

The influence of new synthetic JNK inhibitors on the development of experimental type 2 diabetes / A. L. Zagayko, V. P. Fylymonenko, M. A. Musmari, I. Yu. Kapustyanskiy, S. V. Vlasov

### **ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ КОМПЛЕКСУ ПОЛІФЕНОЛІВ ВИНОГРАДУ КУЛЬТУРНОГО ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГЛУТАМАТНОЇ ЕКСАЙТОТОКСИЧНОСТІ**

А. Л. Загайко, Н. А. Цубанова, Е. С. Цубанова .....39

Изучение влияния комплекса полифенолов винограда культурного на фоне экспериментальной глутаматной эксайтотоксичности / А. Л. Загайко, Н. А. Цубанова, Э. С. Цубанова

Study of influence of complex polifenols from grapes cultural on background of the experimental eksaytotoxicity caused by monosodium glutamate / A. L. Zagayko, N. A. Tsubanova, E. S. Tsubanova

### **ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ЧЕРНИКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА**

А. Л. Загайко, Е. И. Войтенко, В. П. Филимоненко, И. А. Колычев,  
О. Н. Кошевой .....43

Вплив екстракту листя чорниці на показники розвитку експериментального цукрового діабету 2 типу / А. Л. Загайко, О. І. Войтенко, В. П. Филимоненко, І. А. Количев, О. М. Кошевой

Effect of blueberry leaf extract on the performance of an experimental type 2 diabetes / A. L. Zagayko, E. I. Voitenko V. P. Fylymonenko, I. A. Kolychev, O. N. Koshevoy

### **ГИПЕРУРИКЕМИЯ КАК ЭЛЕМЕНТ ПАТОГЕНЕЗА МЕТАБОЛИЧЕСКОГО СИНДРОМА**

А. Л. Загайко, Т. А. Брюханова, А. И. Шкапо .....47

Гіперурикемія як елемент патогенезу метаболічного синдрому /

А. Л. Загайко, Т. О. Брюханова, А. І. Шкапо

Hyperuricemia as an element of the pathogenesis of the metabolic syndrome / A. L. Zagayko, T. A. Briukhanova, A. I. Shkapo

### **ЗМІНИ ВМІСТУ ПРОЛАКТИНУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ В ПЕРІОД МЕНОПАУЗИ**

А. Ю. Бродська, А. Л. Загайко, Л. В. Галузінська .....52

Изменение уровня пролактина при метаболическом синдроме в период менопаузы / А. Ю. Бродская, А. Л. Загайко, Л. В. Галузинская

Changes prolactin to metabolic syndrome in menopause / A. Y. Brodska, A. L. Zagayko, L. V. Galuzinska

**ИЗУЧЕНИЕ АНТИПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ НА МОДЕЛЯХ IN VITRO**

Р. Ф. Еременко, Л. Н. Малоштан, О. М. Шаталова .....57

Вивчення антипроліферативної активності екстракту з трави люцерни посівної на моделях in vitro / Р. Ф. Єрьоменко, Л. М. Малоштан, О. М. Шаталова  
 Study of antiproliferative activity of extract of medicago sativa sowing grass on in vitro models / R. F. Yeriomenko, L. N. Maloshtan, O. M. Shatalova

**ФАРМАЦЕВТИЧНА ХІМІЯ ТА ФАРМАКОГНОЗІЯ****РЕНТГЕНОГРАФІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ 4-(2-МЕТОКСИФЕНІЛ)-1,2,4-ТРИАЗОЛ-3-ІЛТІО)АЦЕТАТНОЇ КИСЛОТИ**

А. Г. Каплаушенко .....62

Рентгенографические исследования 4-(2-метоксифенил)-1,2,4-триазол-3-илтио)ацетатной кислоты / А. Г. Каплаушенко  
 The X-ray studies of 4-(2-methoxyphenyl)-1,2,4-triazole-3-ylthio)acetic acid / A. G. Kaplaushenko

**ПІГМЕНТНИЙ СКЛАД ЛІПОФІЛЬНОЇ ФРАКЦІЇ ТРАВИ ЗОЛОТОТІСЯЧНИКА ЗВИЧАЙНОГО**

С. М. Марчишин, Л. І. Стойко .....65

Пигментный состав липофильной фракции травы золототысячника обыкновенного / С. М. Марчишин, Л. И. Стойко  
 The composition of the lipophilic fraction from the herbs of Centaurium erythraea Rafn. / S. M. Marchyshyn, L. I. Stoiko

**МІКРОБІОЛОГІЯ****ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИГРИБКОВОЇ ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЛАКУ ЛІКУВАЛЬНОГО ДЛЯ НІГТІВ «УНДЕСАЛ»**

О. О. Ващенко.....70

Исследование противогрибковой и антибактериальной активности лака для ногтей лечебного «Ундесал» / О. А. Ващенко  
 Investigation of antifungal and antibacterial activity of medicated nail lacquer "Undesal" / O. O. Vashchenko

**БІОТЕХНОЛОГІЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ РЕЖИМУ КУЛЬТИВУВАННЯ ГРИБІВ РОДУ CANDIDA**

М. В. Рибалкін, Н. І. Філімонова, О. П. Стрилець, Л. С. Стрельников .....74

Биотехнологическое обоснование режима культивирования грибов рода Candida / Н. В. Рыбалкин, Н. И. Филимонова, О. П. Стрилец, Л. С. Стрельников  
 Biotechnological justification cultivation mode fungi of the genus Candida / M. V. Rybalkin, N. I. Filimonova, O. P. Strilets, L. S. Strelnikov

**ПРАВИЛА ПІДГОТОВКИ МАТЕРІАЛІВ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В ЖУРНАЛІ «УКРАЇНСЬКИЙ БІОФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЖУРНАЛ».....78**

Свідоцтво про державну реєстрацію  
КВ № 19397-9197 ПР від 21.09.2012 р.

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

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

Підписано до друку 17.02.2015 р. Формат 60x84 1/8  
Умов. др. арк. 9,3. Облік.-вид. арк. 10,76  
Тираж 100 пр. Зам. № 14/12.

Віддруковано у друкарні ФОП Петров В. В.  
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.  
Запис № 2480000000106167 від 08.01.2009 р.  
61144, м. Харків, вул. Гв. Широнінців, 79в, к. 137, тел. (057) 778-60-34.  
E-mail: bookfabrik@rambler.ru