№ 25 (168) 2013
Выпуск 24/1

НАУЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Основан в 1995 г.

Журнал входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук

НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ
Белгородского государственного университета
Медицина Фармация

Belgorod State University Scientific bulletin
Medicine Pharmacy

Учредитель:
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»)

Издатель:
НИУ «БелГУ».
Издательский дом «Белгород»

Журнал зарегистрирован в Федеральной службе по надзору за соблюдением законодательства в сфере массовых коммуникаций и охраны культурного наследия

Свидетельство о регистрации средства массовой информации ПИ № ФС 77-21121 от 19 мая 2005 г.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ ЖУРНАЛА

Главный редактор

О.Н. Полухин,
ректор НИУ «БелГУ», доктор политических наук, профессор

Зам. главного редактора

И.С. Константинов,
проректор по научной и инновационной деятельности НИУ «БелГУ», доктор технических наук, профессор

Ответственные секретари:

В.М. Московкин,
профессор кафедры мировой экономики НИУ «БелГУ», доктор географических наук

О.В. Шевченко,
зам. начальника УНИД НИУ «БелГУ», кандидат исторических наук

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ СЕРИИ ЖУРНАЛА

Главный редактор серии
В.Ф.Куликовский
доктор медицинских наук, профессор, директор медицинского института (НИУ «БелГУ»)

Заместитель главного редактора
О.А. Ефремова,
доктор медицинских наук, профессор (НИУ «БелГУ»)

ответственный секретарь
Л.А. Камышникова,
кандидат медицинских наук, ассистент (НИУ «БелГУ»)

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

Общие знания и состояние исследований в области фармакологии растений рода *juniperus* L. (обзор с ретроспекцией) ***О.О. Новиков Д.И. Писарев, Е.Т.Жилякова, Б.В.Трифонов, В.Е. Левченко, И.В. Корниенко 5***
Фармакологическая и токсикологическая характеристика антигистаминных препаратов на примере цетиризина (обзор) ***Н.А. Писарева, О.О. Новиков, Д.И. Писарев, М.Ю. Новикова, В.Е. Левченко, Д.В. Волков, Д.А. Фадеева, Л.В. Титарева 10***
Овременные знания и состояние исследований в области систематики и морфологии растений рода *juniperus* l. (обзор и собственные данные) ***Д.И. Писарев, О.О. Новиков, Е.Т. Ж илякова, Б.В. Трифонов, М.Ю. Новикова, В.Е. Левченко 14***
Современные метаболические кардиоцитопротекторы. Технологические аспекты разработки лекарственных препаратов на их основе. ***А.А. Теслев, В.В. Сорокин, С.А. Минина, М.А. Буракова, Е.М. Пучкова 20***
Применение растений рода *juniperus* l. В народной медицине. Перспективные научные данные (обзор) ***О.О. Новиков, Д.И. Писарев, Е.Т. Жилякова, Б.В. Трифонов, Н.В. Автина, В.Е. Левченко, И.В. Корниенко 29***

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

Разработка состава, технологии офтальмологических систем транспорта. ***Е.Т. Жилякова, В.В. Акопова, М.Ю. Новикова, Н.В. Автина 35***
Разработка методики улучшения растворимости ацикловира ***Е.Т. Жилякова, А.В. Баскакова, О.О. Новиков, М.И. Комиссаров, А.Н. Фадеев 38***
Оптимизация состава и технологии таблеток экстракта цикория и кукурузы. ***О.И. Езерская, Т.Г. Калинюк 42***

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ И ФАРМАКОГНОЗИЯ

Контроль сопутствующих примесей в субстанции кокарбоксилаза гидрохлорид методом высокоэффективной жидкостной хроматографии ***А.А. Зинченко 46***
Разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в некоторых видах рода Citrus ***О.С. Евсеева, О.А. Андреева, Э.Т. Оганесян 55***
Сравнительный анализ порошка бодяги украинской и китайской ***Ю.С. Целюба, В.С. Кисличенко 61***
Взаимодействие между компонентами в смесях парацетамола, кофеина и ацетилсалициловой кислоты ***Г.Б. Голубицкий, Е.В. Будко, Н.О. Ельцова, О.И. Изосимин 68***
Изучение хлорофиллов и каротиноидов выжимок плодов ribes nigrum ***Н.А. Сущук, В.С. Кисличенко, В.Ю. Кузнецова 72***
Обоснование вида гелеобразователя мягкой лекарственной формы для лечения варикозного расширения вен ***С.А. Куценко, Е.А. Рубан, И.В. Ковалевская 75***
Разработка и валидация методики количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в траве galinsoga parviflora ***В.Н. Бубенчикова, С.А.Боева 80***
Разработка способа количественного определение органических соединений методом масс-спектроскопии с лазерной десорбцией/ионизацией на примере анализа резвератрола ***Д.И. Писарев, О.О. Новиков, Г.В. Васильев, М.Ю. Новикова, Е.Т. Жилякова 86***
Редкие растения юго-запада Среднерусской возвышенности в коллекции Ботанического сада «НИУ БелГУ» и возможности их применения ***Н.А. Мартынова, В.К. Тохтарь, Е.Т. Жилякова, О.О. Новиков 93***
Сравнительная характеристика методов анализа ацикловира ***Е.Т. Жилякова, А.В. Баскакова, М.Ю. Новикова, О. А. Кузьмичева 100***
Изучение полифенольного состава и разработка способов оценки качества травы репешка обыкновенного ***Н.А. Писарева, Д.И. Писарев, О.О. Новиков, И.А. Севрук, О.А. Ванхин 104***

Члены редколлегии

А.А. Должиков,
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Ю.И. Журавлев,
кандидат медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
О.О. Новиков,
доктор фармацевтических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
Н.В. Олейник,
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
С.П. Пахомов,
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
А.В. Цымбалистов,
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
М.И. Чурносов,
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)
А.Л. Ярош,
кандидат медицинских наук, доцент
(НИУ «БелГУ»)

Оригинал-макет *О.В. Чернышева, Н.А. Гапоненко*
E-mail: efremova.bgu@gmail.com

Подписано в печать 27.12.2013
Формат 60×84/8
Гарнитура Georgia, Impact
Усл. п. л. 27,43
Тираж 1000 экз.
Заказ 540

Подписной индекс в каталоге агентства «Роспечать» – 18078

Оригинал-макет подготовлен и тиражирован в Издательском доме «Белгород»
Адрес: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

Использование метода *MALDI/TOF/MS* для исследования компонентов жирных масел растительного происхождения ***О.О. Новиков, Д.И. Писарев, О.А. Ванхин 110***
Сравнительный анализ методов количественного определения никорандила ***Д.И. Писарев, О.О. Новиков, Л.М. Даниленко 115***
Анализ количественных морфологических признаков лекарственных растений *momordica charantia* (cucurbitaceae) различного географичечского происхождения ***Доан Хоанг Жанг, В.К. Тохтарь, Л.А. Тохтарь, О.О. Новиков 120***
Анализ перспективных для использования видов лекарственных растений Ботанического сада НИУ «БелГУ» ***Н.А. Мартынова, В.К. Тохтарь, Л.А. Тохтарь, О.О. Новиков 125***
Разработка и стандартизация методов обнаружения метформина для судебно-токсикологических исследований ***В.Ю. Москаленко, С.И. Мерзликин 128***
Синтез и противомикробная активность 2-алкилтио-3-N-замещенных тиено[3,2-*d*]пиримидин-4(3*H*)-онов ***Е.В. Ткаченко, С.В. Власов, И.А. Журавель, С.Н. Коваленко, В.П. Черных 133***

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Краниотопография передних и задних височных диплоических вен ***И.В. Андреева, А.А. Виноградов, Е.И. Орзулова 140***
Изменения в височно-нижнечелюстном суставе при его дисфункции по данным ортопантомографии ***И.В. Андреева, О.М. Седых 145***
Особенности ультразвуковой анатомии околоушной слюнной железы ***И.В. Андреева, А.Г. Яремчук 150***
Анализ показателей физического развития детей подросткового возраста начала XX и XXI веков ***М.А. Безатян, А.А. Виноградов 154***
Морфологические особенности кровоснабжения челюстей при внутриартериальной каротидной ангиографии ***И.В. Андреева, В.В. Воликов, М.М. Оноприенко, Н.А. Шаповалов, Д.А. Некрасов 158***
Физическое развитие и состояние осанки у детей периода второго детства ***М.Е. Криворучко 163***
Показатели пигментообразующей функции печени при токсическом гепатите ***А.С. Лысенко, В.В. Осадчий, А.А. Виноградов 166***
Активности мочевины и креатинина в сыворотке крови при хлороформной интоксикации без и на фоне введения алкилселенонафтиридина ***Р.А. Комнацки, А.А. Виноградов 169***
Влияние телегамматерапии на показатели маркеров печеночной патологии в сыворотке крови при локальном облучении печени крыс ***А.А. Виноградов, Д.А. Стрюков 174***
Показатели печеночных маркеров сыворотки крови при токсическом поражении печени до и после физической нагрузки ***В.Ф. Дрель, А.А. Виноградов 179***
Исследование фармакотерапевтической активности суппозиториев с фитоэкстрактами на модели доброкачественной гиперплазии предстательной железы у крыс ***А.В. Зайченко. Е.А. Солдатова, В.И. Гриценко 182***
Морфологическая адаптация миокарда к хлороформной интоксикации ***С.А. Лобко, А.А. Виноградов 190***
Исследование антимикробной и противовоспалительной активности новой лекарственной формы с маслом монарды ***Е.Т. Жилякова, О.О.Новиков, Е.Н. Науменко, О.А. Кузьмичева, Л.В. Титарева, К.А. Бочарова 198***
Морфологическое исследование легких морских свинок после профилактического введения гомеопатических гранул циклорин на фоне бронхообструктивного синдрома ***А.В. Зайченко, Т.А. Брюханова, А.Н. Колос 202***
Влияние ионизирующего излучения и глутамата натрия на морфологические особенности бронхов и легочной ткани в эксперименте. ***Э.А. Яровая 206***
Влияние алкилселенонафтиридина на динамику активности А-амилазы, щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы на фоне экспериментального сахарного диабета. ***Е.А. Черняк, А.Р. Авад, А.А. Виноградов 210***
Влияние опиатных рецепторов на состояние митохондреальных дегидрогеназ мезенхимальных стволовых клеток крыс in vitro. ***Е. М. Климочкина, Н.А. Сухоставская 214***
Анализ закупок противовирусных лекарственных препаратов в госпитальном сегменте. ***М.Ю. Кинев, А.Ю. Петров, О.А. Мельникова, В.Я. Панюшев 219***

Сведения об авторах ***231***

Информация для авторов ***234***

© Белгородский государственный национальный исследовательский университет, 2013

№ 25 (168) 2013
Issue 24/1
SCIENTIFIC REVIEWING JOURNAL

Founded in 1995

The Journal is included into the list of the leading peer-reviewed journals and publications coming out in the Russian Federation that are recommended for publishingkey results of the theses for Doktor and Kandidat degree-seekers

Belgorod State University Scientific bulletin
Medicine Pharmacy

НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ
Белгородского государственного университета
Медицина Фармация

Founder:
Federal state autonomous educational establishment of higher professional education
«Belgorod National Research University»

Publisher:
Belgorod National Research University.
Publishing house «Belgorod»

The journal is registered in Federal service of control over law compliance in the sphere of mass media and protection of cultural heritage

Certificate of registration of mass media
ПИ № ФС 77-21121 May 19, 2005.

EDITORIAL BOARD OF JOURNAL

Editor-in-chief
O.N. Poluchin,
Acting Rector of Belgorod National Research University, doctor of political sciences, Professor

Deputy editor-in-chief
I.S. Konstantinov,
Vice-rector of Belgorod National Research University, doctor of thecnical sciences, Professor

Assistant Editors
V.M. Moskovkin,
Professor of world economy department Belgorod National Research University,
Doctor of geographical sciences

O.V. Shevchenko,
Deputy head of department of scientific and innovative activity of Belgorod National Research University,
Candidate of Historical Sciences

EDITORIAL BOARD OF JOURNAL SERIES

Editor-in-chief of the series
V.F. Kulikovsky
Doctor of medicine sciences, Professor
Director Medical Institute
(Belgorod National Research University)

Deputy of chief editor
O.A. Efremova
Doctor of medicinesciences, Professor
(Belgorod National Research University)

Responsible secretary
L.A. Kamyshnikova
Candidate of medicine sciences
(Belgorod National Research University)

Members of editorial board

A.A. Dolzhikov
Doctor of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

CONTENTS

REVIEW

General knowledge and state of research in pharmacology plants of the genus JUNIPERUS L. (with retrospective review) ***O.O. Novikov***, ***D.I. Pisarev***, ***E.T. Zhilyakova***, ***B.V. Trifonov***, ***V.E. Levchenko***, ***I.V. Kornienko*** *5*
Pharmacological and toxicological characteristic antihistamines for example cetirizine (review) ***N.A. Pisareva***, ***O.O. Novikov***, ***D.I. Pisarev***, ***V.E. Levchenko***, ***D.A. Fadeeva***, ***M.Yu. Novikova, L.V. Titareva*** *10*
Current knowledge and state research taxonomy and morphology of plants of the genus juniperus l. (review and own data) ***D.I. Pisarev***, ***O.O. Novikov***, ***E.T. Zhilyakova***, ***B.V. Trifonov, M.Yu. Novikova***, ***V. E. Levchenko*** *14*
Modern metabolic cardiocytoprotectors. Technological aspects of development of drugs on their basis. ***A.A. Teslev, V.V. Sorokin, S.A. Minina, M.A. Burakova, E.M. Puchkova*** *20*
Use of plants of the genus JUNIPERUS L. In folk medicine, advanced scientific evidence (review) ***O.O. Novikov, D.I. Pisarev, E.T. Zhilyakova, B.U. Trifonov, N.V. Avtina, V.E. Levchenko, I.V. Kornienko*** *29*

PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY

Development of, ophthalmic systems technology transport ***E.T. Zhilyakova, A.V. Akopova, M.Yu. Novikova, N.V. Avtina*** *35*
The development of methods enhance the solubility of aciclovir ***E.T. Zhilyakova, A.B. Baskakova, O.O. Novikov, M.I. Komissarov, A.N. Fadeev*** *38*
Optimization of composition and technology of the tablets with chicory and corn extract. ***O.I. Yezerska, T.H. Kalynyuk*** *42*

PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHARMACOGNOSY

Control related substance impurities kokarboksilaza hydrochloride high performance liquid chromatography ***A.A. Zinchenko*** *46*
Development and validation of assay method of flavonoids in some species of the genus Citrus ***O.S. Evseeva, O.A. Andreeva***, ***E. T. Oganesyan*** *55*
The complex study of Spongilla powder of Ukrainian and Chinese origin ***Yu. S. Celuba, V.S. Kyslychenko*** *61*
The interaction between the components in mixtures of paracetamol, caffeine and aspirin ***G.B. Golubitckiy, E.V.Budko, N.O. Eltsova, O.I. Izosimin*** *68*
Study of chlorophylls and carotenoids fruit pomace ***N.A. Sushchuk***, ***V.S. Kyslychenko***, ***V.Yu. Kuznetsova*** *72*
Rationale kind of soft gelling agent formulations for treating varicose veins ***S.A. Kutsenko, E.A. Ruban, I.V. Kovalevskaya*** *75*
Development and validation of methods of quantitative determination of hydroxycinnamic acids in the grass galinsoga parviflora ***V.N. Bubenchikova, S.A.Boeva*** *80*
A method for quantitative determination of organic compounds by mass spectroscopy, laser desorption / ionization on the example of the analysis of resveratrol ***D.I. Pisarev***, ***O.O. Novikov***, ***G.V. Vasiliev***, ***M.U. Novikova***, ***E.T. Zhilyakova*** *86*
Rare plants of the south-west of the Central Russian Upland in the collection of the Botanical Garden NIU BSU and their possible applications ***N.A. Martynov, V.K. Tokhtar, E.T. Zhilyakova, O.O. Novikov*** *93*
Comparative characteristics of the methods of analysis of aciclovir ***E.T. Zhilyakova, A.B. Baskakova, M.U. Novikova, O.A. Kusmicheva*** *100*
The study the polyphenol composition and working methods of assessing the quality of grass Repeshko ordinary ***N.A. Pisareva***, ***D.I. Pisarev***, ***O.O. Novikov***, ***I.A. Sevruk, O.A. Vanhin*** *104*
The use of MALDI / TOF / MS for researchcomponents of fatty oils of vegetable origin ***O.O. Novikov, D.I. Pisarev, O.A. Vanhin*** *110*
Comparative analysis of methods for quantifyingnicorandil ***D.I. Pisarev***, ***O.O. Novikov, L.M. Danilenko*** *115*
Quantitative analysis of morphological characters of medicinal plants momordica charantia (cucurbitaceae) geografichechskogo different origin doan hoang giang ,

Yu.I. Zhuravlev
Candidate of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

O.O.Novikov
Doctor of pharmacysciences, Professor
(Belgorod National Research University)

N.V. Oleynik
Doctor of of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

S.P.Pachomov
Doctor of of medicine sciences, Professor
(Belgorod State University)

A.V. Cymbalistov
Doctor of of medicine sciences, Professor
(Belgorod National Research University)

M.I. Churnosov
Doctor of of Medical Science,
Professor (Belgorod National Research University)

A.L. Yarosh
Candidate of medicine sciences
(Belgorod National Research University)

V.K. Tokhtar , L.A. Tohtar , O.O. Novikov, Doan Hoang Giang 120
Analysis perspective for use of types of herbs of the botanical garden NRU "BelSU"
N.A. Martynova , V.K. Tokhtar, L.A. Tokhtar, O.O. Novikov 125
Development and standardization of methods for the detection of metformin for forensic toxicology studies ***V.Yu. Moskalenko, S.I. Merzlikin 128***
Synthesis and antimicrobial activity of 2-S-alkylthio-3-N-substituted thieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-ones ***E.V. Tkachenko, S.V. Vlasov, I.A. Zhuravel, S.N. Kovalenko, V.P. Chernykh 133***

CLINICAL MEDICINE AND EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

Craniotopography of anterior and posterior temporal veins ***I.V. Andreeva, A.A. Vinogradov, E.V. Orzulova 140***
Changes in the temporomandibular joint in its dysfunction on orthopantomography data ***I.V. Andreeva, O.M. Sedykh 145***
Peculiarities of ultrasound anatomy of parotid gland***I. V. Andreeva, A. G. Yaremchuck 150***
The analysis of the indexes of physical development teenagers beginning of the xx and xxi centuries.***M.A. Bezatyan, A.A. Vinogradov 154***
Morphological peculiarities of blood supply of jaws at intraarterial carotid angiography***I.V. Andreeva, V.V. Volikov, M.M. Onoprienko N.A. Shapovalov, D.A. Nekrasov 158***
Physical development end posture children of the period of the second childhood ***M.E. Krivoruchko 163***
Chologenic indicators of liver function at toxically hepatitis ***A.S. Lysenko, V.V. Osadchyi, A.A. Vinogradov 166***
Activity of urea and kreatinine in the blood serum chloroform intoxication without and on a background introduction of alkilselenonaphtiridin ***R.A. Komnatski,A.A. Vinogradov 169***
Influence of kilocuritherapy on the indexes of markers of hepatic pathology in the whey of blood at the local irradiation of liver of rats ***A.A. Vinogradov, D. A. Stryukov 174***
Dinamika biochemical indexes in the whey of blood after the physical loading on a background experimental hepatitis ***V.F. Drell, A.A. Vinogradov 179***
Research of pharmacotherapeutic of activity of suppositories with phytoextracts on model prostate gland hyperplasia for rats ***A.V. Zajchenko, E.A. Soldatova, V.I. Gritsenko 183***
Morphological adaptation of myocardium to chloroform intoxication ***S.A. Lobko, A.A. Vinogradov 190***
Antimicrobial and anti-inflammatory activity new formulation oil Monarda ***E.T. Zhilyakova, O.O. Novikov, E.N. Naumenko, O.A. Kuzmichyova, L.V. Titareva ,K.A. Bocharova 198***
Morphological research of lungs of guinea pigs after preventive introduction of homoeopathic granules of cyclorine against bronchial obstruction syndrome ***A.V. Zajchenko, T.A. Bruhanova, A.N. Kolos 202***
Influence of ionizing radiation and sodium glutamate on morphological peculiarites of bronhial tubes and lungs in experiment ***E.A. Yarova 206***
Influence alkylsilanes naphthyridine on the dynamics of α-amylase activity, alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase against the background of experimental diabetes mellitus ***E.A. Chernyak, A.R. Awad, A.A. Vinogradov 210***
Influence of opioid receptors on the state of mitichondrial dehydrogenases of rats mesenchymal stem cells in vitro ***E.M. Klimochkina, N.A Sukhostavskaya 214***
Analysis of procurement antiviral medicines in the hospital segment ***M.Y. Kinev, A.Y. Petrov, O.A. Melnikova, V.J. Panyushev 219***

Information about Authors ***231***

Information for Authors ***234***

Dummy layout by *O.V. Chernysheva, N.A. Gaponenko*
e-mail: efremova.bgu@gmail.com

Passed for printing 27.12.2013
Format 60×84/8
Typeface Georgia, Impact
Printer's sheets 27,43
Circulation 1000 copies
Order 540

Subscription reference
in Rospechat' agency catalogue – 18078

Dummy layout is replicated at BNRU
Publishing-polygraphic complex
Address: 85, Pobedy str., Belgorod, Russia, 308015

© Belgorod National Research University, 2013

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК615.322:582.477

ОБЩИЕ ЗНАНИЯ И СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ ФАРМАКОЛОГИИ РАСТЕНИЙ РОДА *JUNIPERUS* L. (ОБЗОР С РЕТРОСПЕКЦИЕЙ)

О.О. НОВИКОВ, Д.И. ПИСАРЕВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА, Б.В. ТРИФОНОВ
В.Е. ЛЕВЧЕНКО, И.В. КОРНИЕНКО

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

В статье представлен обзор данных литературы о растениях рода можжевельник, как перспективных источниках биологически актиных соединений классов терпеноидов и полифенолов. Кроме того, приведен ретроспективный анализ значимости данного рода для медицины.

Ключевые слова: можжевельник, фармакология, ретроспекция.

Введение.

Известно, что применение препаратов синтетических зачастую имеет своей оборотной стороной серьезные побочные проявления, особенно опасные для ослабленного организма, страдающего не одним, а целым набором различных заболеваний. Доказано, что лекарственные растения и лекарственные продукты на их основе зачастую способны заменить синтетические лекарственные препараты. И при этом в значительной степени снижен вред здоровью человека.

В этой связи, по-прежнему актуальными остаются научные исследования в области натуроцевтики, проблемы получения и представления на потребительском рынке новых препаратов из лекарственных растений.

Таким образом, в поле нашего зрения попали яркие представители голосеменных растений – можжевельники.

Применение растений рода *Juniperus* L.

В настоящее время в отечественной научной медицине практическое применение находит *м. обыкновенный – J. communis* L., его плоды (шишкоягоды) включены в ГФ XI издания в качестве диуретического средства. Использование плодов других видов можжевельников не предусмотрено нормативной документацией [1].

Практически все растительные мочегонные средства (плоды можжевельника, почки березы, лист или побеги толокнянки или брусники, трава хвоща полевого и др.) содержат вещества, оказывающие раздражающее действие на эпителий почечных канальцев и тем самым вызывающие обострение имеющихся заболеваний почек. Наличие острых воспалительных заболеваний почек (нефрозо-нефриты) считают прямым противопоказанием для использования плодов можжевельника. Лекарственные формы можжевельника как мочегонное средство применяют при отеках сердечного происхождения или для санации мочевыводящих путей, но на фоне отсутствия заболеваний, связанных с поражением паренхимы почек. Плоды можжевельника обыкновенного оказывают достаточно выраженное раздражающее действие на слизистую оболочку желудка, и в этой связи их нельзя применять длительными курсами. К противопоказаниям для применения можжевельника относят язвенную болезнь, энтерит. Не рекомендуют использовать можжевельник при водянке и беременности. Эфирное масло можжевельника оказывает легкое гипотензивное действие, что также необходимо принимать во внимание при назначении лекарственных форм [2].

Биологическая активность шишкоягод *J. communis* L. в значительной мере обусловлена эфирным маслом, которое в основном и определяет диуретический, желчегонный, антимикробный и отхаркивающий эффекты растения. Выделяясь через почки, эфирное масло умеренно раздражает их, оказывая диуретическое действие, и одновременно дезинфицирует мочевыводящие пути. Кроме того, оно усиливает секрецию бронхиальных желез, тем самым способствуя разжижению секрета, а также облегчает эвакуацию желчи из желчного пузыря [3, 4].

В опытах на животных было определено, что мочегонный эффект после приема плодов можжевельника в виде отвара наступает примерно через 4 часа и длится также около 4 часов, причем процесс выделения мочи сопровождается повышенной секрецией ионов натрия и хлора. Мочегонное действие эфирного масла обусловлено наличием в его составе терпинеола, который усиливает фильтрацию в почечных клубочках и тормозит обратную резорбцию ионов натрия и хлора в извитых канальцах почек. По последним научным данным, мочегонное действие плодов объясняется не только воздействием эфирного масла, но и комплексом полифенолов [3, 4].

Плоды используются самостоятельно в виде водного настоя, чаще в сочетании с калия ацетатом, а также входят в состав некоторых мочегонных сборов и прописи М.Н. Здренко, применяемой при папилломатозе мочевого пузыря и анацидном гастрите. *М. обыкновенный* назначают в качестве мочегонного средства при отеках сердечного происхождения, асцитах, нарушениях солевого обмена, хроническом пиелонефрите, циститах, мочекаменной болезни без признаков почечной недостаточности; при заболеваниях легких, сопровождающихся отделением гнойной мокроты (бронхоэктатическая болезнь, абсцесс легких, хроническая пневмония), выпотном плеврите, а также при воспалительных заболеваниях ротоглотки в виде полосканий [5].

Мочегонные свойства можжевельника позволяют его использовать также при черепно-мозговых травмах, ишемических инсультах, то есть при необходимости дегидратации тканей мозга, снижения повышенного давления в желудочках мозга. Особое внимание уделяется применению можжевельника при рассеянном склерозе с сопутствующей ему гипотензией, нарушениях менструального цикла, иммунодепрессиях, полинейропатиях с ортостатическими коллапсами.

Для улучшения пищеварения можжевельник назначают больным с недостаточной секреторной и моторной деятельностью желудка и кишечника, метеоризме, желчнокаменной болезни и холецистите, применяют в комплексном лечении больных сахарным диабетом. Плоды обладают противомикробными и противовоспалительными свойствами, тонизирующим действием, пригодным для лечения больных, страдающих гипотонической болезнью и вегетососудистой дистонией по гипотоническому типу, склонных к ортостатическим коллапсам [6-9]. Противопоказаны плоды при острых нефритах и нефрозах (так как вызывают раздражение паренхимы почек), язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, острых гастритах и колитах, при беременности, так как могут спровоцировать выкидыш.

В научной медицине стран Средней Азии также применяется *м. туркменский* – *J. turcomanica* B. Fedtsch. М.О. Каррыевым подробно изучен химический состав и разработаны лекарственные препараты на основе его хвои и шишкоягод. Выявлен антибактериальный и диуретической эффект этих частей растения в виде свежего сока, настойки (1:5), настоев (1:10 и 1:30), экстракта (1:1), 0,25% раствора суммы флавоноидов из хвои и 0,01% раствора эфирного масла. Мазь на основе эфирного масла обладала выраженным ранозаживляющим действием [10, 11].

В онкологической практике ранее применялась настойка из хвои *м. казацкого*, проявлявшая высокую антимитотическую активность, как сильный кариокластический яд – поражающий одновременно ядро и цитоплазму, тем самым тормозящий рост опухоли и применявшийся при раке кожи [12].

Древесина *м. красного* – *J. oxycedrus* L. – входила в отечественную фармакопею 1 – 6 изданий [13, 14] как сырье для получения кадинового масла (пригорелого масла можжевельника [15, 16]), а сырье *можжевельника обыкновенного* было включено в российскую военную фармакопею. *J. sabina* L. входил в первые Российские фармакопеи (1765, 1778, 1798 гг.) как противоглистное и регулирующее менструальный цикл средство, но в настоящее время не применяется в аллопатической медицине по причине высокой токсичности.

Описание пригорелых масел встречается в известном труде ординарного академика Академии наук по кафедре минералогии и члена многих ученых обществ В. М. Севергина «Способ испытать чистоту и неподложность произведений лекарственных».

В Болгарии хвоя растения используется при туберкулезном перитоните, отвар шишкоягод – при гепатите у детей, в сборе – как общеукрепляющее при анемии, астении, церебральном параличе у детей, остеомиелите, тромбофлебите, бронхиальной астме, циррозе печени у детей, холецистите, панкреатите, пиелите, брадикардии, перикардите, метеоризме [6, 17].

В России фабричное производство можжевелового спирта наравне с другими «сложными фармацевтическими препаратами» было нормативно закреплено в нормативных актах Российской империи. Данная лекарственная форма включена в «Список фармацевтических препаратов, разрешаемых к фабричному производству и оптовой продаже на фабриках, лабораторных и особых отделениях химических заводов, устраиваемых на основании ст. ст. 398-407 Уст. Врач. изд. 1905 г., утв. 1 ноября 1908 г. и изд. М-ством вн. дел по соглашению с М-ством торг. и промышл. (Собр. указ. 1909 г. №8, ст. 29)».

В фармакотерапевтический справочник доктора Рабова помимо можжевелового спирта и сока были включены прописи диуретических экстемпоральных микстур.

В свою очередь, М. В. Рытов – русский ученый-агробиолог, основоположник русского научного овощеводства, член-корреспондент Ученого комитета Министерства земледелия и государственных имуществ – большую часть своего двухтомного труда «Русские лекарственные растения» посвятил можжевельникам. И если в первый том вошли вопросы, связанные с ботаническими особенностями *можжевельников обыкновенного и казацкого* и их лечебным свойствам, то во втором томе достаточно подробно описано можжевеловое масло, его получение и критерии качества, а в части «Фармацевтические препараты» – экстракт можжевельника. Нам удалось познакомиться с репринтным прижизненным переизданием этого фундаментального труда 1918 года издательства П.П. Сойкина.

Значительное внимание можжевельникам уделено в уникальном издании XIX века «Руководство к фармацевтической и медико-химической практике» Х. Хагера с добавлениями профессора А.В. Пеля [18, 19]. Кроме морфологических признаков сырья (можжевеловых ягод и можжевелового дерева), в книге приводятся обширные сведения о его фитохимии, вплоть до результатов анализа можжевеловых ягод, данные о продуктах (спирт и жидкий экстракт – «сгущенный сок», масло из ягод, масло из древесины, пригорелое масло), полученных из можжевельника. Подробно рассмотрены их технология получения, свойства и анализ на доброкачественность.

Отдельно следует выделить сведения об экстемпоральных лекарственных формах (прописи) на основе вышеперечисленных продуктов. Это и мазь Juniperin, и можжевеловая вода, и линимент, и сложный спирт, и др.

В доступных нам изданиях по фармакологии XIX века присутствуют подробные данные о самих растениях и нозологиях, при которых можно использовать можжевельники, а также информация о всквозможных экстемпоральных лекарственных формах на их основе. Так, в книге «Основы фармакологии и рецептуры» профессора Казанского университета И. М. Догеля упоминаются водная вытяжка и наливка из плодов можжевельника обыкновенного.

В широко известной в профессиональных кругах книге ординарного профессора и директора фармакологического института в Бонне Карла Бинца с добавлениями П.П. Сущинского [20] «Лекции фармакологии для врачей и студентов» предметно рассмотрен *можжевельник казацкий*, его фармакологические (глистогонное, для усиления менструаций, абортивное – подобно спорынье) и токсикологические свойства, в том числе со ссылкой на упоминания Св. Гильдегарды, настоятельницы монастыря Rupertsberg bei Bingen. О *можжевельнике обыкновенным* говорится вскользь как о мочегонном средстве.

В переводной книге «Фармакология и токсикология» авторского коллектива из Австрии под редакцией академика В.В. Пашутина [21-23] очень подробно рассмотрены *можжевельники обыкновенный и донской (казачий)*. Упоминается *можжевельник виргинский*. Приведены известные на то время ботанические, фитохимические и исторические данные. Последние, на наш взгляд, не соответствуют действительности, т.к. сказано, что в древности можжевельники не играли никакой роли как лекарственные растения.

Из лекарственных средств описаны сок (жидкий экстракт) можжевеловых ягод, можжевеловый спирт, можжевеловая мазь, масло можжевеловых ягод и пригорелое масло.

В переводных с немецкого сочинениях доктора медицины Ацерсвальда [24] «Целебные травы и растения» можжевельник называется дроздовым деревцом, венце-ягодной тростью и полевой кипариссой. Здесь, как и в других источниках, дана информация о *можжевельнике обыкновенном и казацком*, который, в свою очередь, назван сабанником обыкновенным, садовым деревом и севеновым деревом. Предлагаемые автором варианты применения растительного сырья ближе к народной рецептуре. Так, предлагается использовать в качестве мочегонного средства холодный чай из ягод *можжевельника обыкновенного*, а также морс и пиво. А плоды *можжевельника казацкого* предложено употреблять в виде наливки и мази на свином сале для удаления нарывов и устранения «фиговых сосцов». Возможно, имеется в виду гидроаденит (или сучье вымя) – гнойное воспаление апокриновых потовых желез.

В гомеопатической практике использовался препарат Sabin, о нем, например, упоминается в гомеопатическом лечебнике доктора К. Миллера с дополнениями и введением Л. Кучинского 1891 года издания (8-е издание).

Применялись плоды можжевельника и в ветеринарии. Об этом свидетельствует «Фармакология для ветеринарных врачей и студентов» доктора медицины, профессора высшей ветеринарной школы в Берлине (основанной в 1790 году, ныне – факультет ветеринарной медицины Берлинского университета имени Гумбольдта, старейшего из четырех университетов Берлина) Евгения Фрэнера. В этой книге в разделе «Мочегонные средства» дана статья о можжевеловых ягодах. Имеются в виду шишкоягоды *можжевельника обыкновенного*. Рассмотрены масло можжевельника, можжевеловые спирт и жидкий экстракт (сок сгущенный). Кроме того, представлена экстемпоральная рецептура для животных.

Эфирные растения и стоматология.

В древние века люди использовали при заболеваниях зубов и десен эфиромасличные растения. В Юго-Восточной Азии, Индии, Китае – гвоздику, индейцы в Америке – базилик, в Древней Руси для этого готовили бальзамы хвойников (пихты, кедра и сосны), которые укрепляли и лечили зубы, десны, слизистую оболочку полости рта [25]. Смолу мастике (мастика) издревле использовали в стоматологии в странах Ближнего Востока, используют ее и в настоящее время при стоматитах, гингивитах, при пломбировании зубов, устранении запаха изо рта. Арабы использовали для лечения зубов и укрепления десен смолу финного дерева.

Сегодня при различных стоматологических заболеваниях по-прежнему применяют эфирные масла ряда растений, например, при гингивите – пихты, аира, душицы, кедра и др.; при стоматите – розы, шалфея, ромашки, эвкалипта и др.

Активно используются аппликации из воска с эфирными маслами. Так, терапия пародонтоза с использованием аппликации воска уже на 3-6-й день дает изменение клинической картины: исчезает воспаление, прекращается кровоточивость десен. При стоматитах, в т.ч. язвенном, наблюдалось благотворное воздействие восков розы, апельсина, шалфея, лаванды на слизистую оболочку полости рта и ткани протезного поля.

Эфирное масло шалфея эффективно при терапии корневого пульпита – в пульпе затухает острый воспалительный процесс, останавливается его переход в хроническую стадию.

При воспалении десен применяют и отвар из шишкоягод можжевельника в виде полосканий [26-28].

При пародонтите эффективными являются следующие эфирные масла: апельсина, мелиссы, можжевельника, гвоздики, монарды, мирра, пихты, шалфея, бергамота, лаванды, чабреца, лимона, пачули, мяты. Используемая для этого эфирная композиция «За верность Арго» содержит в своем составе эфирное масло можжевельника и, кроме того, эфирные масла базилика, лаванды, ладана, мяты (производитель – ООО «Пенталис», г. Новосибирск, Россия).

Чем же объяснить биологическую активность можжевельника? Если эфирными маслами, тогда почему действенен отвар? Или действуют флавоноиды и комплекс соэкстрактивных соединений в целом?

В любом случае явно необходим набор лекарственных форм с можжевельником или его биологически активными соединениями. В ходе разработки таковых возникнут и ответы на возникшие вопросы.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР: Вып. 2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. / МЗ СССР. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1991. – 397 с.
2. Дрозд, Г.А. Ограничения и противопоказания для лекарственного растительного сырья: Информационно-аналитическое пособие по побочным эффектам лекарственных растений / Г.А. Дрозд // Курск: КГМУ, 2006. – 79 с.
3. Корсун, В.Ф. Можжевельник исцеляющий и омолаживающий / В.Ф. Корсун, В.К. Викторов. – СПб.: ДИЛЯ, 2001. – 192 с.
4. Соколов, С.Я. Фитотерапия и фитофармакология: рук-во для врачей / С.Я. Соколов – М.: Мед. информ. агентство, 2000. – 976 с.
5. Можжевельник (Juniperus) сем. Кипарисовые. Энциклопедия декоративных садовых растений. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://flower.onego.ru/conifer/junipe.html (дата обращения 16.10.2013).
6. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
7. Лавренев, В.К. Полная энциклопедия лекарственных растений: В 2 т. / В.К. Лавренев, Г.В. Лавренева. – СПб.: Издательский Дом Нева; М.: ОЛМА-ПРЕСС, 1999. – Т 2. – 816 с.
8. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: В 2 т. – 13-е изд. новое / М.Д. Машковский – Харьков: Торсинг, 1997. – Т. 1. – 560 с.

9. Михайлов, И.В. Современные препараты из лекарственных растений: Справочник / И.В. Михайлов, А.И. Шретер. – М.: МСП, 1999. – 336 с.
10. Каррыев, М.О. Изучение некоторых эфирномасличных растений из флоры Туркмении / М.О. Каррыев // Изв. АН ТССР. Сер. биол. наук. – Ашхабад, 1966. – № 5. – С. 11 – 16.
11. Каррыев, М.О. Сравнительная характеристика эфирных масел у среднеазиатских видов Juniperus / М.О. Каррыев // Изв. АНТССР. Сер. биол. наук. – Ашхабад, 1967. – № 1. – С. 40.
12. Балицкий, К.П. Лекарственные растения и рак / К.П. Балицкий, А.Л. Воронцова. – Киев: Наук. думка, 1982. – 376 с.
13. Сало, В.М. Растительные лекарственные средства отечественных фармакопей на латинском языке / В.М. Сало, И.Р. Килачицкая // Фармация. – 1987. – № 2. – С. 75 – 78.
14. Левченко, В.Е. Аптечная торговля в России: историческая ретроспектива и государственно-правовое регулирование на современном этапе / В.Е. Левченко А.В. Максименко, Н.Н. Коротеева [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2012. – № 22(141). Вып. 20/1. – С. 8-18.
15. Пиролиз древесины. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://www.istok59.ru/55-piroliz-drevesiny.html (дата обращения 16.10.2013).
16. Сухая перегонка дерева лиственных пород. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://msd.com.ua/suxaya-peregonka-dereva-listvennyx-i-xvojnyx-porod/suxaya-peregonka-dereva-listvennyx-porod/ (дата обращения 16.10.2013).
17. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Ч. I – Семейства Licopodiaceae – Ephedraceae, часть II – Дополнения к 1-7 т / Отв. ред. А.Л. Буданцев. – СПб.: Мир и семья-95, 1996. – 571 с.
18. История Александра Васильевича Пеля. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://aptekapelya.ru/index.php?option=com_content&view=article&id=225&Itemid=278 (дата обращения 16.10.2013).
19. Пель, Александр Васильевич. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://ru.wikipedia.org/wiki (дата обращения 16.10.2013).
20. Энциклопедический словарь Ф.А. Брокгауза и И.А. Ефрона. – СПб.: Брокгауз-Ефрон. 1890-1907.
21. Пашутин Виктор Васильевич. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://slovari.yandex.ru (дата обращения 16.10.2013).
22. Пашутин Виктор Васильевич. Большая медицинская энциклопедия. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://bigmeden.ru/article (дата обращения 16.10.2013).
23. Пашутин Виктор Васильевич. Сайт Казанского государственного медицинского университета. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://kgmu.kcn.ru/ubi/index.php?option=com_content&view=article&id=373:2012-11-13-09-39-35&catid=6:uface&Itemid=45 (дата обращения 16.10.2013).
24. Бернард Ауэрсвальд. Сайт Ботанического института им. В.Л. Комарова РАН [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://www.binran.ru/LabSite2009_AK/Hist_rus.htm (дата обращения 16.10.2013).
25. Ароматерапия в стоматологии. Интернет-портал Российского потребительского общества АРГО. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://argo-tema.ru/library-8382.html (дата обращения 16.10.2013).
26. Ваш айболит. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://www.vashaibolit.ru/ (дата обращения 16.10.2013).
27. Можжевельник в рецептах народной медицины. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://health.wild-mistress.ru/wm/health.nsf/publicall/7E54CBE42A9A7B1AC32573F90047F31A (дата обращения 16.10.2013).
28. Можжевельник обыкновенный (яловець звичайний). [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://herbalis.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=122 (дата обращения 16.10.2013).

GENERAL KNOWLEDGE AND STATE OF RESEARCH IN PHARMACOLOGY OF THE GENUS JUNIPERUS L. PLANTS (WITH RETROSPECTIVE REVIEW)

O.O. NOVIKOV, D.I. PISAREV
E.T. ZHILYAKOVA, B.V. TRIFONOV
V.E. LEVCHENKO, I.V. KORNIENKO

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

The article presents an overview of the literature on the genus juniper plants as promising sources of biologically active compounds of terpenoids and polyphenols classes. In addition, the retrospective analysis of importance of this kind for medicine is given.

Key words: juniper, pharmacology, retrospection.

УДК615.218.2

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ И ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИГИСТАМИННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПРИМЕРЕ ЦЕТИРИЗИНА

Н.А. ПИСАРЕВА , О.О. НОВИКОВ
Д.И. ПИСАРЕВ, М.Ю. НОВИКОВА
В.Е. ЛЕВЧЕНКО, Д.В. ВОЛКОВ
Д.А. ФАДЕЕВА, Л.В. ТИТАРЕВА

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

В статье приведены некоторые данные о фармакологической и токсикологической характеристике антигистаминных средств на примере цетиризина. Анализ литературных данных позволил подтвердить значительный интерес современных исследователей к проблеме, касающейся исследования побочных эффектов у антигистаминных препаратов, и способов их устранения

Ключевые слова: аллергические заболевания, антигистаминные препараты, цетиризин

По данным мировой статистики, аллергическими заболеваниями страдает пятая часть населения нашей планеты, а в структуре аллергозов около 80% составляют больные аллергодерматозами, причем с ежегодной тенденцией их роста. Аллергия (повышенная чувствительность организма, готовность организма к аллергическим реакциям) в настоящее время рассматривается как сложное системное иммунное расстройство, при котором нарушаются все уровни клеточной и гуморальной регуляции [1].

Иммунологический конфликт, который всегда является вторичной иммунной реакцией, развивается под генетическим контролем в сенсибилизированном организме, как правило, на повторный контакт со специфическим антигеном. При этом важнейшим противовоспалительным и вазоактивным медиатором, вызывающим развитие основных клинических проявлений аллергии, является гистамин, эффекты которого связаны с его действием на разные типы рецепторов клеток (H_1-, H_2-, H_3-рецепторы), локализующихся на наружной поверхности цитоплазматической мембраны [1].

Цетиризина дигидрохлорид по химической классификации относится к производным пиперазина.

Цетиризин является функциональным антагонистом гистаминовых H_1 рецепторов и не влияет на H_2 рецепторы. Препарат действует быстро, сильно и продолжительно. Относится к группе противоаллергических средств II поколения. Благодаря значительно высокой, по отношению к гидроксизину, полярности молекулы, действующее вещество практически не проникает через гематоэнцефалический барьер и поэтому не вызывает нежелательных седативных эффектов. Эффективно подавляет периферические рецепторы типа H_1, при этом практически не влияет на подобные рецепторы в ЦНС. Благодаря такому избирательному действию, не блокирует холинергических и серотонинергических $5HT_2$, допаминергических D_2, адренергических α_1 и мускариновых рецепторов, что присуще антигистаминным препаратам первого поколения [2].

Цетиризин оказывает антигистаминное действие двухфазно. В начальной фазе аллергической реакции уменьшает количество эндо- и экзогенного гистамина в непосредственной близости периферических H_1-гистаминовых рецепторов и тормозит вызванную ими аллергическую кожную реакцию, проявляющуюся покраснением и появлением пузырей. В поздней фазе подавляет миграцию воспалительных клеток (в основном, эозинофилов) к месту аллергической реакции и снижает количество выделяемых клетками медиаторов, которые могут привести к повреждению слизистой оболочки дыхательных путей и способствовать развитию бронхиальной астмы. Цетиризин, уменьшая гиперчувствительность бронхов, блокирует развитие бронхоспазма, вызванного гистамином. Препарат значительно снижает проницаемость сосудов слизистой оболочки носа и уменьшает количество эозинофилов в них. Подавляет развитие кожных реакций, вызванных антигенами трав, реактивом 48/80 и действием нейропептидов типа VIP и субстанцией P [2].

Противоаллергическое действие цетиризина исследовано на большой группе экспериментальных моделей. Эксперимент на бенгальских собаках показал, что 3% рекомендуемой дозы цетиризина выделяется с молоком. Проникновение цетиризина в мозг крыс является несущественным. Низкие концентрации цетиризина могут тормозить процесс провокации гиста-

мином и анафилаксию у гвинейских свиней и предотвращать у собак развитие гипотонии. Цетиризин не влияет на язвенные процессы, что доказывает его избирательное воздействие на гистаминовые H_1 рецепторы. Испытания ex vivo на мышах, которым систематически вводили цетиризин, не выявили влияния на H_1 рецепторы в мозге. Двухлетнее исследование канцерогенных свойств и генеративной функции у крыс, которые получали дозы цетиризина, соответственно, в 15 раз и 28 раз превышающие максимальную рекомендуемую дозу для людей, не выявило существенных изменений [2]. В несколько раз превышение рекомендуемых доз не приводит к появлению симптомов токсического действия препарата (в экспериментах на животных с фармакокинетическим профилем, подобным человеческому, отмечено, что доза LD_{50} является по крайней мере в 500 раз большей, чем рекомендуемая доза).

В одиночных случаях возможные транзиторные побочные эффекты, в частности головная боль, умопомрачение, возбуждение, слабость, ксеростомия (сухость во рту), проявления кожных аллергических реакций, повышенная утомляемость, ларингит, боль в животе, кашель, диарея, носовое кровотечение, бронхоспазм, тошнота, рвота, ангионевротический отек. У отдельных пациентов наблюдались реакции повышенной чувствительности и проявления печеночной дисфункции (гепатит, повышение активности трансаминаз) [3]. Симптомом передозировки препаратом может быть сонливость. В случае передозировки у детей может развиться возбуждение. Однако в случае подозрения отравления препарата следует как можно быстрее вызвать рвоту и провести промывание желудка и немедленно обратиться к врачу. Специфического антидота при отравлении цетиризином нет [2, 4].

Следует помнить, что в общем тяжесть отравления антигистаминными препаратами определяется не только количеством принятого внутрь вещества, но и степенью индивидуальной чувствительности к нему [5]. Дети раннего возраста особенно чувствительны к этой группе препаратов [6]. Клиника отравления во многом сходна с картиной отравления атропинсодержащими веществами, что может быть связано с холинолитическим действием антигистаминных средств. Они избирательно влияют на такие образования центральной нервной системы, как ретикулярная формация ствола мозга, вестибулярный анализатор, мозжечок. Имеется также выраженный тропизм по отношению к сосудистой системе.

Основным в клинической картине отравления является психомоторное возбуждение с яркими зрительными галлюцинациями [6]. Продолжительность этого состояния составляет 10-12 ч. Оно может предшествовать фазе нарушения сознания или развиться после нее. Клиника нарушения сознания проявляется чаще оглушенностью или повышенной сонливостью, при тяжелых отравлениях может быть кома различной глубины. У большей части больных в фазе возбуждения наблюдаются различного характера судороги: миоклонические подергивания отдельных мышечных групп, единичные или повторные генерализованные припадки.

В период возбуждения наблюдаются также такие неврологические симптомы, как мидриаз, повышение мышечного тонуса и сухожильных рефлексов, тремор конечностей, динамическая и статическая атаксия [6]. Сопор или кома сопровождается сужением зрачков, снижением мышечного тонуса, гипорефлексией. Вегетативные расстройства включают гиперемию и сухость кожных покровов и слизистых оболочек, учащение дыхания, тахикардию, повышение артериального давления. На ЭЭГ регистрируются отдельные высокоамплитудные острые и медленные волны, возникающие в любом участке коры мозга.

Первая помощь при отравлении антигистаминными препаратами: промыть пострадавшему желудок с помощью зонда или искусственного вызывания рвотного рефлекса, в завершение промывания использовать взвесь активированного угля; после промывания желудка ввести солевое слабительное [7]. В качестве препарата с противоположным действием применяют аминостигмин, который вводят двукратно с интервалом в 15-20 мин. Используются также галантамин и прозерин. При судорогах вводят диазепам или натрия оксибутират (100-150 мг/кг массы тела). При тяжелых отравлениях антигистаминными препаратами показан гемодиализ.

Характерное описание пострадавшего от отравления антигистаминными препаратами: сумасшедший, как шляпник, горячий, как заяц, сухой, как лист, красный, как свекла [7]. Сравнение «сумасшедший, как шляпник» связано с аналогичными нарушениями мозговой деятельности у изготовителей шляп, возникающими в результате хронического отравления ртутью, использовавшейся ими когда-то в работе.

В свою очередь, антигистаминные препараты часто используются в суицидальных целях.

При изучении 3300 случаев несмертельных отравлений по материалам Санкт-Петербургского центра по лечению отравлений М.И. Круть с соавт. показали, что общее коли-

чество этих отравлений за последние десятилетия увеличилось более чем в 1,5 раза, а отравления лекарственными средствами – в 2 раза. При изолированном приеме только одного лекарственного препарата, как отмечают авторы, ведущее место занимали отравления транквилизаторами, антигистаминными препаратами, нейролептиками и снотворными средствами, причем из антигистаминных препаратов чаще всего использовался димедрол (85-90%) [8].

Выбор средств для совершения суицидальных попыток неоднороден в зависимости от возраста. Так, у лиц 15-19 лет преобладают микстные отравления с преимущественным использованием препаратов из «домашней аптечки» (35,6%), или приемом антигистаминных средств (21,9%) [9].

Таким образом, необходим жесткий контроль за оборотом антигистаминных средств на каждом этапе их хождения и использования, в том числе, а возможно и прежде всего, при хранении в домашних условиях.

Вывод.

К сожалению, аллергии и их симптоматическое проявление стали неотъемлемой частью жизни современного общества. Организм людей может быть сенсибилизирован к различным веществам, окружающим нас в повседневной жизни, и избежать контакта с аллергенами зачастую бывает невозможно [10].

Анализ данных литературы позволил подтвердить значительный интерес современных исследователей к данной проблеме, касающийся в том числе и исследования побочных эффектов у антигистаминных препаратов, и способов их устранения [10].

Можно сделать обоснованный вывод, что, с одной стороны, благодаря накоплению знаний в области химии и фармакологии соединений с антигистаминной активностью и, с другой стороны, нормированному контролю их реализации в аптечных организациях [11] возможно значительное снижение рисков их использования.

Литература

1. Антигистаминные средства в комплексной терапии аллергозов – критерии выбора [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://consilium.com.ua/stuff/doctor/Allergologiyaimmunologiya/Drugie-allergicheskie-zabolevaniya/Antigistaminnye-sredstva-v-kompleksnoi-terapii-allergozov-kriterii-vybora/ (дата обращения 28.11.2013).

2. Амертил [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.vidal.by/poisk_preparatov/amertil__36404.htm (дата обращения 28.11.2013).

3. Амертил при аллергии [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://my-allergy.ru/traditsionnaya-meditsina/amertil-pri-allergii.html (дата обращения 28.11.2013).

4. Левин, Я.И. Антигистаминные препараты и седация / Я.И. Левин, Г.В. Ковров // Аллергология. – 2002, № 3, – С. 21-22.

5. Альберт, А. «Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии» / Пер с анг. в 2 т. Т.1. – М.: Медицина, 1989.

6. Отравление антигистаминными препаратами. Неотложная терапия лекарственных отравлений [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://meduniver.com/Medical/Neurology/1053.html (дата обращения 28.11.2013).

7. Первая помощь при отравлении антигистаминными препаратами [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.sweli.ru/zdorove/meditsina/pervaya-pomosch/pervaya-pomosch-pri-otravlenii-antigistaminnymi-preparatami.html (дата обращения 28.11.2013).

8. Острые отравления димедролом (клинико-экспериментальное исследование) [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://medical-diss.com/medicina/ostrye-otravleniya-dimedrolom-kliniko-eksperimentalnoe-issledovanie (дата обращения 25.11.2013).

9. Исследование суицида как следствия социально-психологической дезадаптации личности [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://otherreferats.allbest.ru/psychology/00200094_0.html (дата обращения 25.11.2013).

10. Антигистаминные лекарственные средства [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.bibliofond.ru/view.aspx?id=603932 (дата обращения 28.11.2013).

11. Отраслевой стандарт ОСТ 91500.05.0007-2003 «Правила отпуска (реализации) лекарственных средств в аптечных организациях. Основные положения». Приказ Министерство здравоохранения Российской Федерации № 80 от 4 марта 2003 г. Зарегистрирован в Минюсте РФ 17 марта 2003 г. № 4272.

PHARMACOLOGICAL AND TOXICOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ANTIHISTAMINES FOR EXAMPLE CETIRIZINE (REVIEW)

N.A. PISAREVA, O.O. NOVIKOV
D.I. PISAREV, V.E. LEVCHENKO
D.A. FADEEVA, M.U.NOVIKOVA
L.V.TITAREVA

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

The article presents some data on the pharmacological and toxicological properties of antihistamines on the example of cetirizine. Analysis of published data has confirmed the great interest of modern researchers to the problem concerning the side effects in studies of antihistamines, and their solutions

Key words:allergies, antihistamines, cetirizine.

УДК615.322:582.477

СОВРЕМЕННЫЕ ЗНАНИЯ И СОСТОЯНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ В ОБЛАСТИ СИСТЕМАТИКИ И МОРФОЛОГИИ РАСТЕНИЙ РОДА *JUNIPERUS* L. (обзор и собственные данные)

Д.И. ПИСАРЕВ, О.О. НОВИКОВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА, Б.В. ТРИФОНОВ
М.Ю. НОВИКОВА, В.Е. ЛЕВЧЕНКО

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

В статье изложены обзорные данные о систематике и морфологии некоторых растений рода *Juniperus* L., представлены результаты собственных профильных исследований.

Ключевые слова: можжевельники, систематика, морфология.

Введение.

Очень трудно представить парк или сад без можжевельника. Это лучшее украшение любого сада, его изюминка, неотъемлемая составляющая современного сада. К достоинствам можжевельников следует отнести их долговечность, неприхотливость. Высокорослые можжевельники можно использовать в качестве солитеров для создания аллей, крупных композиций [1]. Можжевельники сегодня стали едва ли не ведущим изобразительным компонентом в ландшафтном дизайне. И не напрасно: самое ценное их качество – круглогодичная декоративность. К тому же можжевельник обогащает воздух кислородом, сдерживает сильные порывы ветра, смягчает микроклимат на участке, поглощает шумы, идущие с оживленных улиц, и эффективно поглощает пыль [2].

Можжевельник, верес, яловец, арча, бруждевельник, можевел, можжуха, тетеревиные ягоды, тетеревиный куст. О происхождении русского названия растения среди исследователей нет единого мнения. Чаще всего его связывают со словами «меж ельник», «мозг» – из-за крепкой ядреной древесины, и старорусским словом «можжа» – узел [3].

Можжевельник принадлежит к семейству Cupressaceae Bartl. – кипарисовые, подсемейству Juniperoideae Endl. – можжевеловые. Это самый крупный род в семействе, объединяющий, по мнению большинства систематиков, около 70 видов, распространенных практически на всех континентах северного полушария. От других представителей семейства этот род отличается значительным полиморфизмом, что дало основание систематикам выделить в нем несколько подродов, секций и серий. Главным отличительным характеристическим признаком рода является наличие ягодообразной шишки, называемой шишкоягодой, образующейся в результате срастания чешуевидных мегаспорофиллов [4-6].

На Руси можжевельник всегда был обычным и доступным лекарственным средством. Ягодам можжевельников приписывают фитонцидные, противовоспалительные свойства. Они способны произвести отхаркивающий эффект, тонизирующий. При нарушении работы пищеварительной системы и кишечника можжевельник может использоваться как сильное слабительное средство. Существует довольно внушительный перечень заболеваний, при которых это удивительное растение принесло огромную пользу [7, 8].

Употребляются зрелые (черные с сизым налетом) соплодия обыкновенного можжевельника. Хотя их и принято называть ягодами, на самом же деле это мясистые шишечки, построенные из трех мясистых чешуек, заключающих каждая по одному твердому желто-бурому семечку. Мякоть плодов зеленовато-бурая, смолистая и сладкая, со своеобразным ароматом [9].

Давнюю историю имеет применение можжевельника в народной медицине и бытовой санитарии, парфюмерии и даже в магических обрядах. Изделия из можжевельника сохраняют все свойства этого благородного дерева [10].

Можжевеловые ягоды, как и можжевеловое дерево, представляют в настоящее время главным образом как народное средство. Причем ягоды наиболее употребимы и применяются и в научной медицине как мочегонное средство, но при воспалении они противопоказаны [11].

О можжевельнике собрано огромное количество эмпирических и научных знаний. Это растение издревле приковывает внимание целителей, ботаников и простых людей.

Все вышесказанное подчеркивает заслуженный многосторонний интерес человечества к растениям рода *Juniperus* L. и определяет актуальность его дальнейшего изучения с позиций фармакогнозии и фармации в целом.

Систематика рода *Juniperus* L.

Все представители рода *Juniperus* L. – небольшие вечнозеленые ароматические деревца или кустарники, иногда стелющиеся, приспособленные к сухому климату и скудным почвам [3, 4, 12].

Систематика рода основана на различиях в строении вегетативных органов – листьев (хвои) и генеративных органов – шишкоягод [13].

С. Эндлихер в 1847 году выделил отдельно подсемейство можжевеловых (*Juniperoideae Endl.*), секцию *Oxycedrus* Spach. он разбил на две: *Caryocedrus* Endl. и *Oxycedrus* Endl., дал им названия и возвел в ранг самостоятельных секций. Секцию *Sabina* Spach., определенную Е. Спахом, С. Эндлихер оставил без изменения [14].

Согласно общепринятой классификации [4, 6, 13], род *Juniperus* L. подразделяется на три секции (подрода) по следующим морфологическим признакам:

Секция 1. *Oxycedrus* Endl. – около 20 видов. Листья в мутовках по 3, игловидные, у основания не низбегающие. Шишки с единственной верхушечной семяпочкой, расположены в пазухах листьев, имеют 3 несросшихся семени, почки с почечными чешуями. Сюда входят такие виды, как *J. communis* L., *J. sibirica* Burgsd., *J. oxycedrus* L., *J. oblonga* Bieb. и др.

Секция 2. *Caryocedrus Endl*. Листья в мутовках по 3, игловидные, не низбегающие. Шишки с 3 сросшимися между собой семенами. Единственный представитель – *J. drupaceae* Labill.

Секция 3. *Sabina* Endl. – около 50 видов. Листья у молодых растений и иногда у взрослых игловидные, в мутовках по 3, у взрослых большинство листьев чешуйчатые, попарно-супротивные, реже в 3 мутовках, у основания сросшиеся. Шишки без верхушечной семяпочки, расположены на концах веточек, с 1- 12 несросшимися семенами. Эта секция представлена – *J. sabina* L., *J. excelsa* Bieb. и др. [4, 6, 13].

Впоследствии было предложено множество различных классификаций рода *Juniperus* L., одна из наиболее крупных за последние 30 лет представлена в монографии М.И. Исмаилова (1974). В подроде *Juniperus* L. выделяются 3 секции: секция *Oxycedroides* Gauss. – средиземноморские мезотермные крупные деревья (3 – 5 видов), листья с двумя белыми устьичными полосками, шишкоягоды красные или красно-бурые; секция *Regioides* Gauss. – евроазиатско – восточно-азиатские микротермные деревца и кустарники (4–6 видов), листья с одной белой устьичной полоской, шишкоягоды темно-синие; секция *Recurvoides* Gauss. – центральноазиатские микротермные кустарники и стланики (6–8 видов), листья игольчатые, короткие, прижатые к побегам, шишкоягоды чёрные, односемянные. Подрод *Sabina* Spach. также делится на три секции, каждая из которой, в свою очередь, подразделяется на две серии: *Folia denticulatae* Engelm. – мелкозубчатые листья и *Folia integrae* Engelm. – цельнокрайние листья. Секция *Policarpoides Ant*. – мезотермные и олиготермные высокие деревья (20-25 видов), многосемянные можжевельники; секция *Virginoides* Gauss. – североамериканские мезо- и олгиотермные деревья (18-20 видов), многосемянные можжевельники; секция *Pseudosabinoides* Ant. *(Monospermae)* – центральноазиатские микротермные деревья, кустарники и стланики (18-20 видов), односемянные с черными шишкоягодами.

Представители рода *Juniperus* L. распространены исключительно в северном полушарии. Благодаря экологической разрозненности одни его представители произрастают в арктической зоне и альпийском поясе южных гор, другие на разных высотах горных хребтов субтропической и тропической зон. Здесь разные виды распространены от подножья хребтов до 4000 м над ур.м. и выше [4, 5, 12].

На территории России произрастает 14 видов можжевельников. Они встречаются на Урале, в горах Сибири и Дальнего Востока, равнинных лесах Севера Европейской и Азиатской частей в качестве подлеска и сопутствующих пород [3, 5, 15].

J. oblonga Bieb. *(J. communis var. oblonga* Bieb.*)* – типичный представитель секции *Oxycedrus*. Это невысокое деревце или крупный кустарник 3 -5 м высотой, имеет длинные игольчатые листья (16 – 20 мм длиной), собранные в мутовках по три, с одной белой устьичной полосой, шишкоягоды черные, шаровидной или эллиптической формы, с сизым налетом. Встречается форма с повислыми ветвями, но без каких-либо особенностей, которая была описана, как *J. Wittmanniana* Stev. или *J. communis var. reflexa* Parl. [16, 17].

Сведения о систематическом положении *м. длиннохвойного* противоречивы. Некоторыми исследователями флоры Кавказа *м. длиннохвойный* трактуется как самостоятельный вид. Крупнейший исследователь кавказской флоры А.А. Гроссгейм указывает, что *м. длиннохвойный* – это отдельный вид, хотя и очень близкий к *м. обыкновенному* [15, 17, 18]. А.И. Галушко в 1950 г. перевел *м. длиннохвойный* в подвид – *J. communis* L. *subsp. oblonga (*Bieb.*)* Galushko, однако не считая его таковым в своих более поздних работах, как и другие кавказские и зарубежные ботаники, например, авторы обработки рода *Juniperus* L. «Флоры Турции», в которой наряду с *м. обыкновенным м. длиннохвойный* приведён как самостоятельный вид [19]. Некоторые работы сотрудников Ботанического института им. В.Л. Комарова, касающиеся систематической обработки кавказских представителей рода *Juniperus* L., относят *м. длиннохвойный* в подвид к полиморфному виду *J. communis* L. Мотивируется это тем, что хотя *м. длиннохвойный* и отличается в своем типичном выражении достаточно четко морфологически и более или менее обособлен географически, а также имеет определённые отличия в высотном распространении в горах Кавказа, тем не менее, связан многочисленными, трудноидентифицируемыми переходными формами и поэтому иногда трактуется в ранге подвида [19-21].

Ареал произрастания *м. длиннохвойного*: Северный Иран, Северная Турция, Крым. Широко распространен этот вид по всему Кавказу, особенно в восточных и южных районах [22, 16-18]. Места наибольшего произрастания: верхний и средний горные пояса Апшеронского, Майкопского, Мостовского районов Краснодарского края; Предгорный, Зеленчукский и Карачаевский районы Карачаево-Черкессии; Эльбрусский, Зольский, Черекский районы Кабардино-Балкарии; в Северной Осетии по среднему и верхнему течению рек Урух, Ардон, Фиагдон, Гизельдон, районы Верхнего Мизура, Садона, Мацуты, в окрестностях Зарамага, Згида, Заки [20, 23]. Поднимаясь от уровня моря до субальпийского пояса (2500 м над ур. м), он произрастает на всяких почвах, не избегая открытых каменистых склонов, в зарослях кустарников, реже в лесах. В Западном Закавказье сравнительно редок, почти отсутствует в Абхазии и Аджарии [24-26].

J. sabina L. относится к подроду *Sabina* Spach. Это стелющийся двудомный кустарник, с лежачими и приподнимающимися ветвями, листья игольчатые, ланцетолинейные с колючими кончиками, черепитчатые, ромбические, шишкоягоды черные одиночные, мелкие, с 2 семенами [16, 17].

Общее распространение: Кавказ, Крым, горы Южной Европы, степная часть Сибири, Алтай, Средняя Азия и Монголия [18, 26]. Растет на известковых, глинистых почвах и сыпучих песках, в предгорных и горных районах Кавказа поднимается до 2500 м над уровнем моря [18, 20, 25, 26].

Стандартизация растительного сырья по морфологическим признакам

Для введения в научную медицину нового лекарственного растительного сырья необходимо, в т.ч., установить его морфолого-анатомические признаки.

Нами предложены основные морфологические признаки плодов *м. обыкновенного* и *длиннохвойного*, которые представлены в таблице.

Таблица

Морфологические признаки плодов *м. обыкновенного*и *м. длиннохвойного*

Плоды *м. обыкновенного*	Плоды *м. длиннохвойного*
Плоды диаметром 6–9 мм, шаровидные, часто по бокам вдавленные, гладкие, блестящие, реже матовые, почти черные или фиолетовые. На верхушке три сходящиеся бороздки; при основании плода две трёхлистные мутовки из бурых чешуек. В мякоти плода 3 (иногда 1 или 2) семени. Семена продолговато-трехгранные, выпуклые снаружи и плоские на соприкасающихся сторонах длиной 4–5 мм. Кожура семени твердая. Цвет мякоти зеленовато-бурый, семян – желтовато-бурый	Плоды 8–10 мм в диаметре, шаровидные или овальные, часто по бокам вдавленные, гладкие, блестящие, реже матовые, иссиня-черные или фиолетовые с сизым налетом. На верхушке трёхлучевой шов, часто с выдающимися кончиками, отвёрнутыми назад. При основании плода две трёхлистные мутовки из бурых чешуек. В мякоти 3 (реже 1 или 2) семени. Семена овально-продолговатые, тупо-трёхгранные, буроватые, выпуклые снаружи и плоские на соприкасающихся сторонах, длиной 5-7 мм. Кожура семени твердая. Цвет мякоти зеленовато-бурый

Порошок плодов обоих видов бурый с многочисленными черными вкраплениями. Запах своеобразный, ароматный. Вкус водного извлечения горький.

Для определения характерных анатомических диагностических признаков сырья изучались поперечные срезы плода, препараты эпидермы и семени *м. длиннохвойного*. Сведения о микроскопических признаках *м. обыкновенного* взяты из литературы [27].

При рассмотрении препарата эпидермы шишкоягод с поверхности ее клетки округлом-ногоугольные с сильно утолщенными стенками, пронизаны множеством плазмодесм. В боковых стенках имеются поры (рис. 1).

На поперечном срезе шишкоягоды видно, что эпидермальные клетки покрыты толстым слоем кутикулы, под эпидермой находятся два ряда клеток гиподермы, которые крупнее эпидермальных. Клетки эпидермы и гиподермы заполнены красно-бурым содержимым.

Мякоть плода состоит из тонкостенных паренхимных клеток овальной формы (рис. 2).

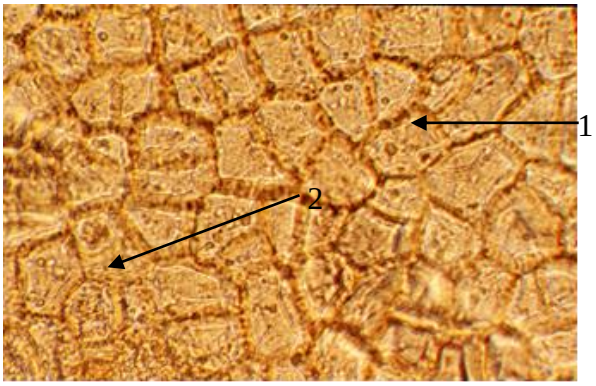


Рис. 1. Эпидерма плода *м. длиннохвойного*:
1 – пора; 2 -плазмодесма

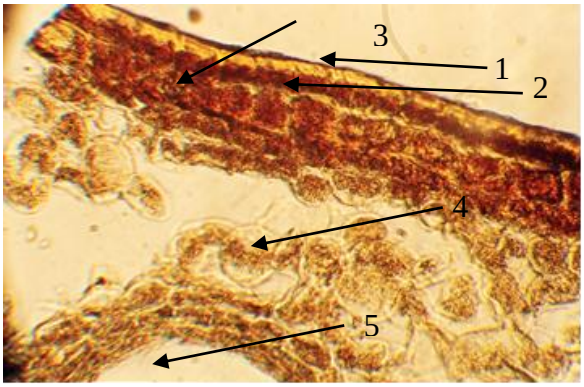


Рис. 2. Строение плода *м. длиннохвойного*:
1 – кутикула; 2 – эпидерма; 3 – гиподерма; 4 – клетки паренхимы; 5 – эфиромасличное вместилище

В клетках паренхимы расположены идиобласты и вместилища с эфирным маслом. Идиобласты – крупные клетки с толстыми стенками, в которых имеются поры (рис. 3).

Вместилища эфирного масла большей частью округлой формы, разного диаметра, схизолизигенного типа, с 2-3 слоями выстилающих клеток, крупные, особенно около семян (рис. 4).

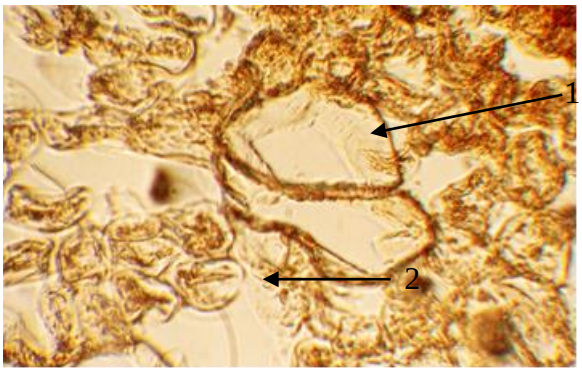


Рис. 3. Идиобласты:
1 – идиобласт; 2 – клетки паренхимы

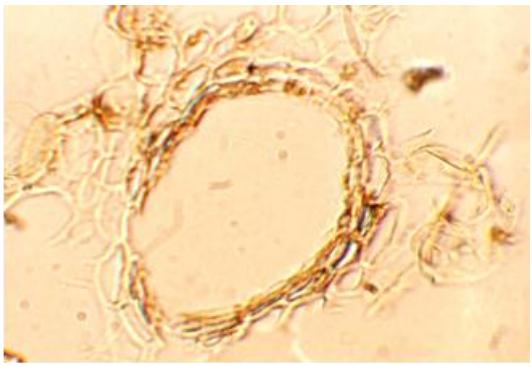


Рис. 4. Эфиромасличное вместилище

На поперечном срезе кожуры видно, что она состоит из толстостенных каменистых клеток. Эпидерма однорядная, под ней расположены толстостенные паренхимные клетки. С внутренней стороны к каменистым клеткам примыкает спавшаяся ткань.

Семенное ядро состоит из эндосперма и зародыша. Клетки эндосперма содержат алейроновые зерна и жирное масло.

В препарате порошка плодов видны обрывки кожуры семени, состоящей из расположенных пластами каменистых клеток желтоватого цвета, округлой или 5-6-угольной формы; клетки эпидермы плода с бурым содержимым; мякоть плода состоит из рыхлой тонкостенной паренхимы. Редко встречаются клетки со слабо утолщенными стенками, обрывки колленхимы стенки плода, обрывки эндосперма и зародыша с каплями жирного масла и алейроновыми зернами.

Результаты определения макро- и микроскопических признаков плодов *м. длиннохвойного* сравнивали с таковыми *м. обыкновенного* [27]. Принципиального различия в их основных диагностических элементах не было обнаружено.

Результаты определения микроскопических признаков плодов *м. длиннохвойного* были подтверждены и уточнены с помощью растровой электронной микроскопии, сконцентрировавшей в себе все достижения просвечивающей электронной микроскопии.

Выводы.

В последние годы интерес потребителей к натуральным лекарствам и лекарственным продуктам непрерывно растет. По данным различных источников, количество лекарственных растений достигает 17-20 тысяч, однако официальной медициной пока используется около 300. В последние десятилетия в связи с появлением новой нозологической формы — «лекарственной болезни» — возможность применения препаратов из растительного сырья возрастает непомерно. В этой связи, изучение растений рода можжевельник продолжает оставаться актуальным.

Литература

1. Александрова, М.С. Хвойные растения в вашем саду / М.С. Александрова. – М.: Фитон, 2000. – 120 с.
2. Экофарм. Ландшафтный дизайн [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://ekofarm-kramar.com.ua/landshaftnij_dizajn.html (дата обращения 16.10.2013).
3. Можжевельник (Juniperus). [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://herbalogya.ru/ (дата обращения 16.10.2013).
4. Жизнь растений / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. – Т. 4. – М.: Просвещение, 1980. – 447 с.
5. Исмаилов, М.И. Ботанико-географический обзор можжевельников в связи с их происхождением и развитием / М.И. Исмаилов // Вопросы экологии и географии растений. – Душанбе, 1974. – С. 3-80.
6. Козубов, Г.М. Современные голосеменные (морфолого-анатомический обзор и кариология) / Г.М. Козубов, Е.Н. Муратова. – Л.: Наука, 1986. – 192 с.
7. Можжевельник в народной медицине [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://www.bestgardener.ru/gardening/mojjevelnik_02.shtml (дата обращения 16.10.2013).
8. Ваш айболит. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://www.vashaibolit.ru/ (дата обращения 16.10.2013).
9. Можжевельник и его использование в народной медицине. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://www.vashaibolit.ru/3034-mozhzhevelnik-i-ego-ispolzovanie-v-narodnoy-medicine.html (дата обращения 16.10.2013).
10. Можжевельник, Juniper [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://ukrspice.kiev.ua/special/juniper.html (дата обращения 16.10.2013).
11. Можжевельник обыкновенный [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://shitovidki.ru/rastenii/50-2010-04-14-17-49-49 (дата обращения 16.10.2013).
12. Исмаилов, М.И. Можжевеловые редколесья и их классификация / М.И. Исмаилов // Вопросы экологии и географии растений. – Душанбе, 1974. – С. 81-128.
13. Исмаилов, М.И. О систематике рода Juniperus L. / М.И. Исмаилов // Вопросы экологии и географии растений. – Душанбе, 1974. – С. 138-168.
14. Исмаилов, М.И. Можжевельники СССР. Ботанико-географическое и систематическое исследование рода Juniperus L. в связи с его происхождением и эволюцией : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / М.И. Исмаилов. – Ташкент, 1975. – 32 с.
15. Гроссгейм, А.А. Растительные богатства Кавказа / А.А. Гроссгейм. – М.: Советская наука, 1952. – 632 с.
16. Галушко, А.И. Деревья и кустарники Северного Кавказа / А.И. Галушко. – Нальчик: Кн. изд-во, 1967. – 535 с.
17. Гроссгейм, А.А. Определитель растений Кавказа / А.А. Гроссгейм – М.: Советская наука, 1949. – 748 с.
18. Имханицкая, Н.Н. Критические заметки о кавказских видах секции Juniperus L. (Cupressaceae) / Н.Н. Имханицкая // Новости систематики высших растений. – 1990. – Т. 27. – С. 5 – 16.
19. Конспект флоры Кавказа / Под ред. А.Л. Тахтаджяна. – СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2003. – Т. 1. – 204 с.
20. Черепанов, С. К. Сосудистые растения России и сопредельных госу-дарств / С.К. Черепанов – СПб.: Мир и семья-95, 1995. – 990 с.
21. Гроссгейм, А.А. Флора Кавказа: В 4 т. / А.А. Гроссгейм. – Тифлис, 1928. – Т. 1. – 296 с.
22. Алексеев, Б.Д. Заготовка и применение лекарственных растений Кабарды / Б.Д. Алексеев – Нальчик: Кабардинское гос. изд-во, 1952. – 103 с.
23. Лекарственная флора Кавказа / А.И. Шретер [и др.]. – М.: Медицина. 1979. – 368 с.
24. Лекарственные растения Северной Осетии / Б.Д. Алексеев [и др.]. – Орджоникидзе: Кн. изд-во, 1953. – 84 с.
25. Медведев, Я.С. Деревья и кустарники Кавказа / Я.С. Медведев. – Тифлис, 1919. – 410 с.
26. Меницкий, Ю.Л. Проект «Конспект флоры Кавказа». Карта районов флоры / Ю.Л. Меницкий // Бот. журн. – 1991. – Т. 76, №11. – С. 1513-1522.
27. Никитин, А.А. Анатомический атлас полезных и некоторых ядовитых растений / А.А. Никитин, И.А. Панкова. – Л.: Наука, 1982. – 768 с.

CURRENT KNOWLEDGE AND STATE OF RESEARCH IN THE SPHERE OF TAXONOMY AND MORPHOLOGY OF PLANTS OF THE GENUS *JUNIPERUS L.* (review and own data)

D.I. PISAREV, O.O. NOVIKOV
E.T ZHILYAKOVA, B.V. TRIFONOV.
M. U. NOVIKOV, V. E. LEVCHENKO

Belgorod National Research University

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

The article describes the overview of the taxonomy and morphology of some plants of the genus Juniperus L., presents the results of their research profile.

Key words: junipers, taxonomy, morphology.

УДК 615.45:615.22:615.03

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ КАРДИОЦИТОПРОТЕКТОРЫ. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ИХ ОСНОВЕ

А.А. ТЕСЛЕВ
В.В. СОРОКИН
С.А. МИНИНА
М.А. БУРАКОВА
Е.М. ПУЧКОВА

Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия

e-mail: andrew.teslev@pharminnotech.com

В статье представлен обзор технологических аспектов создания современных метаболических кардиоцитопротекторов, предназначенных для лечения и профилактики ишемической болезни сердца (ИБС). Описаны их свойства и технологии, исходя из представлений об особенностях их действия и технологических подходов в разработке и производстве лекарственных препаратов на их основе.

Показаны возможности применения современных фармацевтических технологий для повышения эффективности лечения ИБС.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, цитопротекторы, антиоксиданты, разработка состава, разработка технологии, лекарственные формы, таблетки.

Первоначальные результаты применения неспецифических активаторов обмена веществ привели к тому, что метаболическая терапия на некоторое время выпала из методов лечения и профилактики ИБС. Лишь с раскрытием механизмов нарушения метаболизма при ишемии появилась возможность целенаправленно влиять на эти процессы. Этим было положено начало новому направлению антиангинальной терапии – миокардиальной цитопротекции. Его идея заключается в переключении метаболизма ишемизированного миокарда с окисления жирных кислот (ЖК) на более экономичный путь утилизации глюкозы, в результате которого снижается потребность миокарда в кислороде и повышается устойчивость клеток к ишемии [1].

В последние годы интерес к метаболической кардиопротекции заметно возрос. С одной стороны, это обусловлено ограниченными возможностями традиционной фармакотерапии. Препараты, влияющие на гемодинамические параметры, эффективны, преимущественно когда речь идет о профилактике приступов стенокардии, но фактически не защищают клетку миокарда от метаболических изменений, которые составляют основу прогрессирования патологического процесса [2]. С другой стороны, формируются новые представления об ишемии как сущности проявления ИБС [1]. По мнению P.A. Poole-Wilson, ишемия является не только результатом нарушения баланса между потребностью миокарда в кислороде и его доставкой, но и результатом нарушения энергообеспечения миокарда и равновесия между использованием АТФ и кровоснабжением [3, 4]. Недостаток же кислорода вызывает изменения метаболизма кардиомиоцитов. лишневская В связи с этим назначение кардиоцитопротекторов с целью защиты миокарда при ишемии является патогенетически обусловленным [5].

Целью настоящего исследования является обзор свойств и технологий современных метаболических кардиоцитопротекторов, применяемых для профилактики и лечения ИБС, исходя из представлений об особенностях их действия и технологических аспектах разработки и производства лекарственных препаратов на их основе.

Кардиоцитопротекторы являются препаратами различных химических групп, их механизм действия включает в себя улучшение клеточного энергетического метаболизма и уменьшение содержания пероксидов в сосудистой стенке и крови.

Классификации кардиоцитопротекторов по локализации фармакологического эффекта представлены в работах [1, 6, 7, 8, 9].

1. Внутримитохондриальные цитопротекторы

1.1. Средства, тормозящие окисление ЖК

Наиболее изученными препаратами, блокирующими окисление свободных ЖК, являются p-FOX-ингибиторы (partial fatty and oxidation inhibitors), к которым относятся широко распространённые в СНГ триметазидин и мельдоний [6].

На сегодняшний день **триметазидин** достаточно хорошо изучен и широко используется в клинической практике [6, 9]. Не влияя на параметры гемодинамики, препарат оказывает антиишемическое действие, уменьшая количество приступов стенокардии и увеличивая время нагрузки, способствует уменьшению частоты и продолжительности эпизодов безболевой ишемии миокарда, улучшению общей и локальной сократимости, оказывает непрямое антиоксидантное действие, повышая активность защитных антиоксидантных систем и уменьшая процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) [4, 9]. Его клиническая эффективность доказана как при монотерапии, так и в составе комплексного лечения (клинические исследования TRIMPOL-I, TACT, ТРИУМФ, ПРИМА и др.) [6,10]. Применение триметазидина при стабильной стенокардии одобрено рекомендациями Европейского кардиологического общества [6, 10].

Описан способ получения пролонгированной композиции триметазидина дигидрохлорида, включающий следующие технологические стадии: а) смешение триметазидина, поливинилпирролидона и кальция фосфата дигидрата, увлажнение полученной смеси водой, гранулирование и сушка; б) смешение полученного гранулята с гидроксипропилметилцеллюлозой (ГПМЦ); в) опудривание смеси магния стеаратом и коллоидным диоксидом кремния; г) прессование [11].

Запатентована матрица для получения таблеток с пролонгированным высвобождением триметазидина, содержащая комбинацию нескольких производных целлюлозы, выбранных из ГПМЦ и гидроксипропилцеллюлозы (ГПЦ), в сочетании с Пласдоном S-630. Порошки триметазидина, лактозы, ГПМЦ, кальция фосфата дигидрата, кремния диоксида, МКЦ и Пласдона S-630 смешивают, увлажняют 5,5% раствором ГПЦ, гранулируют, сушат, проводят сухое гранулирование, опудривают смесью соли стеариновой кислоты и талька, прессуют и наносят плёнкообразующую суспензию в псевдоожиженном слое. Недостатками такого способа являются довольно сложные составы и способы получения и, особенно, высокие температуры, которым подвергаются смеси ингредиентов при получении указанных композиций [11].

Разработана матричная таблетка, содержащая триметазидин, полимер метакриловой кислоты, воск и вспомогательные вещества. На таблетки-ядра наносят плёночное покрытие. Такая лекарственная форма (ЛФ) обеспечивает пролонгирование антиишемического эффекта до 8 или 12 ч и прием препарата 1 или 2 раза в сутки [11].

Мельдоний – синтетический аналог γ-бутиробетаина, является конкурентным ингибитором гамма-бутиробетаингидроксилазы – фермента, ответственного за биосинтез карнитина, в результате чего средство нарушает транспорт ЖК в митохондрии и, следовательно, меньшее их количество вступает в реакции окисления [1, 12]. С одной стороны, он вызывает ограничение транспорта в клетки активированных форм ЖК, с другой – задерживает их накопление внутри клеток [13].

Известно использование фармацевтических композиций, содержащих мельдоний и соли кислоты янтарной, в твёрдой и жидкой ЛФ (патент RU №2005125660) [13]. Существует также фармацевтическая композиция, содержащая D-глюкуроновую кислоту, мельдоний и изотонический раствор [14].

Принимая во внимание важность изменений антиоксидантного статуса как одного из важнейших путей повышения антиишемической активности, можно считать необходимым повышение антиоксидантного действия препарата за счёт введения дополнительной антиоксидантной группы или введения других субстанций, обладающих подобным эффектом [13].

Ещё одним представителем класса ингибиторов окисления свободных ЖК является **ранолазин**. Наряду с частичной блокадой свободных ЖК препарат стимулирует гликолиз, вызывает селективное ингибирование позднего натриевого потока, снижает

индуцированную ишемией перегрузку клетки натрием и кальцием, тем самым улучшая перфузию и функциональные возможности миокарда. Ранолазин показал высокую антиишемическую активность у больных со стабильной стенокардией в качестве монотерапии (исследование MARISA) и в комбинации с бета-адреноблокатором (CARISA). Препарат обладает не только антиишемической, но и достаточной антиаритмической активностью [2, 15]. Он выпускается как для перорального, так и для внутривенного применения, но только таблетированная ЛФ с замедленным высвобождением (SR) по 500 мг и 1000 мг используются в клинической практике [15].

Запатентована ЛФ замедленного высвобождения, содержащая ранолазин, pH независимое связующее вещество (ГПМЦ) и один или несколько наполнителей (например, целлюлозу микрокристаллическую – МКЦ). Данный состав обеспечивает пролонгирование эффективного уровня ранолазина в плазме крови, по меньшей мере, в течение 12 ч [16].

Разработана ЛФ ранолазина замедленного высвобождения, в которой препарат находится в капсулированной ЛФ, включающий микросферы, содержащие ранолазин, покрытый МКЦ и полимерами, обеспечивающими замедленное высвобождение.

Известны препараты (патент US 6503911 B2) замедленного высвобождения ранолазина, которые включают смесь ранолазина и частично нейтрализованного pH зависимого связующего вещества, при помощи которого осуществляется контролирование скорости растворения ранолазина в водной среде во всем интервале значений pH среды желудка и кишечника. Было установлено, что в этом случае для получения дозированной ЛФ необходимо, по крайней мере, одно pH-зависимое связующее в сочетании с pH-независимым [16].

1.2. Средства, оказывающие прямую стимуляцию окисления глюкозы

Дальнейший поиск средств метаболического действия привёл к появлению новых кардиоцитопротекторов, среди которых большой интерес вызывает отечественный метаболический препарат **этилметилгидроксипиридина сукцинат** [17]. В ряде исследований было показано его положительное действие при остром коронарном синдроме, стабильной стенокардии, застойной сердечной недостаточности, артериальной гипертензии, при некоторых видах аритмии [17].

Принципиальным отличием этилметилгидроксипиридина сукцината от триметазидина является его способность активировать сукцинатдегидрогеназный путь окисления глюкозы, что переключает клеточный метаболизм в условиях гипоксии на более кислородосберегающее направление энергообмена, нежели триметазидин [2, 9]. В то же время препарат обладает выраженной антиоксидантной активностью, что позволяет при его использовании значительно уменьшить клинические проявления окислительного стресса [2]. В локальных исследованиях препарат показал высокую антиишемическую и антиаритмическую эффективность при острых и хронических формах ИБС, а также у больных с сахарным диабетом [2, 6, 8]. Использование этилметилгидроксипиридина сукцината защищает ишемизированные ткани от последствий окислительного стресса и способствует сохранению их функциональной активности [8].

Препарат выпускается в форме раствора для инъекций, таблеток и твёрдых желатиновых капсул. Его недостатком в форме 5% водного раствора является невысокая стабильность, в частности повышенная цветность раствора.

Составы твёрдых ЛФ на его основе также не всегда являются рациональными. Описанные в патенте RU 2065299 C1 таблетки содержат высокий процент вспомогательных веществ. Ядро таблетки характеризуется высоким содержанием крахмала картофельного и глины белой, при этом их сочетание не обеспечивает стабильного качества таблеток, даже на стадии изготовления ядро таблеток желтеет. Покрытие таблеток оболочкой на основе метилцеллюлозы, твина-80 и титана диоксида существенно усложняет технологию получения ЛФ [18].

В патенте RU 2144822 C1 описан состав массы для инкапсулирования, содержащей этилметилгидроксипиридина сукцинат, крахмал, ПВП, магния стеарат и тальк, при этом содержание крахмала почти эквивалентно содержанию действующего веще-

ства. Этот состав также не обеспечивает качество инкапсулируемой смеси (содержимое капсул кремоватого цвета) [18].

В патенте RU 2145855 C1 приведен состав порошка в капсулах, содержащий действующее вещество, крахмал, ПВП, МКЦ и лактозу, который также не обеспечивает стабильного качества порошка, суммарное содержание лактозы и крахмала от 29% до 53% приводит к пожелтению массы, несмотря на введение в состав МКЦ [18].

Введение в составах этилметилгидроксипиридина сукцината кислоты янтарной в качестве стабилизатора повышает качество гранулированных порошков, а также улучшает их технологические свойства при производстве. Механизм стабилизации соединения в литературе не описан, однако можно предположить, что добавление избытка кислоты янтарной предотвращает гидролиз субстанции, которая является её солью, что способствует повышению стабильности ЛФ. Кроме этого, являясь эндогенным метаболитом, она выполняет определенную биологическую роль, участвуя в энергетическом метаболизме клеточных мембран [18].

Некоторые составы как водного раствора для инъекций, так и таблетки и гранулированный порошок в капсулах содержат трилон-Б (до 0,2 масс.%). В состав таблеток также включают натрия крахмал гликолят в качестве супердезинтегранта и коллидон cL [18].

Увеличение стабильности растворов для инъекций этилметилгидроксипиридина сукцината обеспечивается введением в состав натрия метабисульфита, что позволяет увеличить срок годности препарата до 3 лет и более, улучшить параметры цветности раствора в течение всего срока годности при сохранении других параметров качества, что позволяет говорить об улучшении качества данной ЛФ [19].

Раствор для инъекций, содержащий этилметилгидроксипиридина сукцинат, кислоту янтарную, трилон Б и воду для инъекций неудобен при необходимости инфузионного капельного введения, поскольку требует дополнительных разбавлений. Удобным для применения, стабильным и эффективным является его изотонический раствор для инфузионного введения [20].

Предложена антиоксидантная и иммуностимулирующая композиция в виде порошка, включающая этилметилгидроксипиридина сукцинат, лития аскорбат и литонит. Получен малотоксичный препарат, обладающий высокой антиоксидантной активностью в сочетании с иммуностимулирующими свойствами [21].

За последние два десятилетия созданы и другие препараты, потенциально способные оказывать цитопротективный эффект за счет ингибирования карнитинпальмитоилтрансферазы-I (пергексиллин, этомоксир, оксфеницин, метилпальмоксират и др.) и прямой активации пируватдегидрогеназного комплекса (дихлороацетат). Эти препараты изучались в эксперименте, у некоторых из них выявлены нежелательные побочные эффекты, поэтому перспективы их клинического использования пока являются не совсем определёнными [1].

Прямые ингибиторы карнитинпальмитоилтрансферазы-I **пергекселин** и **этомоксир** нарушают перенос длинноцепочечных ацильных групп на карнитин, что приводит к блокаде образования ацилкарнитина. Вследствие этого падает внутримитохондриальный уровень ацил-КоА и уменьшается соотношение $НАДН_2$/НАД, что сопровождается стимуляцией окисления глюкозы. Существуют отдельные данные о положительном влиянии препаратов на состояние обменных процессов и сократительную способность миокарда [2]. Для усиления фармакологического эффекта предложено использовать нитратные соли пергексилина.

К числу препаратов, способных уменьшить потребление ЖК, относится также **кислота никотиновая**. Ингибируя липолиз, она снижает концентрацию свободных ЖК в плазме крови, стимулируя тем самым процессы утилизации глюкозы и лактата в миокарде. Имеются положительные результаты экспериментальных и небольших клинических исследований, однако крупных плацебоконтролируемых исследований эффективности кислоты никотиновой не проводилось. Кроме того, многочисленные побочные эффекты ограничивают ее широкое клиническое применение [1].

К группе неспецифических активаторов метаболизма относится и **кокарбоксилаза** – коферментная форма витамина В, в присутствии которой происходит декарбоксилирование пирувата. Известно, что комплекс витаминов B_1, B_2, B_3 и PP положительно влияет на метаболизм глюкозы, однако изолированное применение какого-либо из этих витаминов не оказывает должного эффекта, более того, чрезмерное применение кокарбоксилазы может привести к гиповитаминозу B_2.

1.3. Средства, стимулирующие цитохромную цепь

Коэнзим Q_{10} (убихинон) является эндогенным антиоксидантом и антигипоксантом с антирадикальным действием. Он защищает липиды биомембран от перекисного окисления, предохраняет ДНК и белки организма от окислительной модификации. Его защитная роль при ИБС обусловлена участием в процессах энергетического метаболизма кардиомиоцита и антиоксидантными свойствами.

Клинические исследования последних десятилетий показали терапевтическую эффективность коэнзима Q_{10} в комплексном лечении ИБС, артериальной гипертензии, атеросклероза. В терапии больных ИБС его приём может сочетаться с бета-адреноблокаторами и ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ). Однако препарат малоэффективен у больных с низкой толерантностью к физической нагрузке и при наличии высокой степени стенозирования коронарных артерий [9].

Коэнзим Q_{10} является липофильным соединением, практически нерастворимым в воде, и его биологическая доступность в различных ЛФ при их применении *per os* невелика, вследствие чего среди недостатков указанного средства можно выделить низкую лечебно-профилактическая эффективность [22].

Биодоступность лекарственных препаратов, содержащих малорастворимые субстанции, может быть ограничена их степенью растворимости. Разработан способ увеличения растворимости коэнзима Q_{10} при образовании комплексов с β-циклодекстрином [22]. Известны также бинарные твердодисперсные композиции коэнзима Q_{10} с гидрофильными полимерными носителями, в частности поливинилпирролидоном К-30, ГПЦ, и полоксамером 188 [23].

В настоящее время создана нанокомпозиция в виде твёрдой дисперсной системы коэнзима Q_{10} с полиэтиленгликолем (ПЭГ), обеспечивающая повышение биодоступности коэнзима Q_{10} и хорошо подходящая для создания твёрдых ЛФ с контролируемым высвобождением, Данная нанокомпозиция является дисперсной системой ПЭГ с коэнзимом Q_{10} с размером частиц 48-200 нм, в которой массовое соотношение ПЭГ и коэнзима Q_{10} находится в пределах от 1:1 до 15:1. Данная система обеспечивает увеличение биодоступности коэнзима Q_{10} более чем в 2 раза по сравнению с субстанцией коэнзима Q_{10} и пригодна для получения твёрдой дозированной ЛФ (таблеток) [22].

2. Средства, осуществляющие транспорт энергетического субстрата в митохондрии

40 лет назад D. Sodi-Pallares было предложено использовать в лечении больных инфарктом миокарда **поляризующую смесь**, содержащую глюкозу, инсулин и хлорид калия. За прошедшие годы отношение к поляризующей смеси менялось, однако недавний метаанализ результатов многочисленных рандомизированных исследований показал, что введение поляризующей смеси снижает смертность от инфаркта миокарда на 28%. Имеются данные о целесообразности включения в состав поляризующей смеси магния сульфата [1].

Некоторое время назад большой популярностью пользовался **фосфокреатин** как препарат, способный восполнить дефицит эндогенного фосфокреатина у больных ИБС и тем самым создать условия для ферментативного ресинтеза АТФ. Проведено достаточно много исследований его эффективности при ИБС, однако результаты их были противоречивы. Кроме этого, до сих пор нет единого мнения относительно доз и схем его назначения. Эти обстоятельства не дают возможности для широкого клинического применения фосфокреатина у больных ИБС [1].

Непрямой ингибитор окисления жирных кислот **L-карнитин** является эндогенным соединением и образуется из лизина и метионина в печени и почках. Он игра-

ет важную роль в переносе длинноцепочечных ЖК через внутреннюю мембрану митохондрий, в то время как активация и проникновение низших ЖК происходит без карнитина. Кроме того, карнитин играет ключевую роль в образовании и регуляции уровня ацил-КоА. Накоплены данные о потенциальной способности L-карнитина и его аналогов оказывать кардиопротективный эффект за счет удаления из митохондрий избытка ацил-КоА, благодаря чему стимулируется утилизация углеводов. В одном из самых больших исследований с применением карнитина – CEDIM было показано, что длительная терапия карнитином в достаточно высоких дозах у больных с инфарктом миокарда ограничивает дилатацию левого желудочка [1, 2].

В то же время высказывается и противоположное мнение: карнитин, как переносчик ЖК, увеличивает удельный вес их окисления в общем метаболизме клетки, повышая потребность миокарда в кислороде. На сегодняшний день клинических данных, подтверждающих целесообразность приёма карнитина в составе терапии ИБС пока недостаточно [1].

Хорошо известны фармацевтически приемлемые производные L-карнитина или ацил-L-карнитина, включаемые в состав твёрдых ЛФ. Наиболее предпочтительными из них являются ацетил-, пропионил-, бутирил-, валерил- и изовалерил-L-карнитин [24].

3. Средства, стимулирующие анаэробный гликолиз

Тиотриазолин, обладает как метаболическим, так и антиоксидантным эффектом. В основе его антиишемического эффекта лежит способность усиливать компенсаторную активацию анаэробного гликолиза, снижать степень угнетения окислительных процессов в цикле Кребса с сохранением внутриклеточного пула АТФ, стабилизировать метаболизм кардиомиоцитов. В то же время тиотриазолин активирует антиоксидантную систему ферментов и тормозит процессы ПОЛ в ишемизированных участках миокарда [2].

Тиотриазолин активирует антирадикальные ферменты – супероксиддисмутазу и каталазу, глутатионпероксидазу способствует экономизации расхода токоферола [2, 25]. Препарат тормозит образование начальных и конечных продуктов реакции ПОЛ в патологически измененных тканях, тем самым защищает структурно-функциональную целостность мембран кардиомиоцитов, снижает чувствительность к действию катехоламинов и повышает устойчивость кардиомиоцитов к гипоксии [2]. Была показана эффективность тиотриазолина при различных формах ИБС. Кроме того, тиотриазолин существенно повышает эффективность базисных средств терапии, особенно в гериатрической практике [25]. Кроме антиоксидантного и антиишемичского действия препарат обладает мембраностабилизирующим, противовоспалительным, иммуномодулирующим, гепатопротекторным, нейропротекторным и нефропротекторным действием. Однако механизм действия препарата еще не достаточно изучен [2, 25].

Лекарственные средства на основе тиотриазолина известны в формах раствора для инъекций, таблеток и глазных капель.

4. Антиоксиданты и митохондриальные цитопротекторы, обладающие антиоксидантными свойствами

Участие свободных радикалов в патологиях сердечнососудистой системы в настоящее время не вызывает сомнений. При гипоксии (ишемии) миокарда окислительные процессы в митохондриях кардиомиоцитов не доходят до конца, в результате накапливаются промежуточные метаболиты цикла Кребса, легко подвергающиеся восстановлению с образованием свободных радикалов и перекисных соединений, угнетающих систему антиоксидантной защиты. Создаётся парадоксальная ситуация – уменьшение количества кислорода в клетке приводит к увеличению кислородных радикалов [2]. В связи с этим в течение многих лет стоит вопрос о необходимости включения в схему терапии ИБС антиоксидантов.

Среди механизмов действия препаратов, позволяющих противостоять оксидативному стрессу, выделяют:

а) инактивацию свободных радикалов и уменьшение их образования,

б) восстановление антиоксидантов,

в) опосредованную антиоксидантную активностью (препараты не являются антиоксидантами, но способны либо активировать антиоксидантную систему, либо повышать эффективность природных антиоксидантов, либо препятствовать окислению потенциальных субстратов) [2, 9].

Эмоксипин является синтетическим антиоксидантным средством, обладающим широким спектром биологического действия. Он активно взаимодействует с перекисными радикалами липидов, гидроксильными радикалами пептидов, стабилизирует клеточные мембраны. Может комбинироваться с изосорбида-5-мононитратом, что позволяет достичь большего антиангинального и противоаритмического эффектов, предотвратить развитие сердечной недостаточности [9]. Препарат увеличивает содержание цАМФ и цГМФ в клетках, благоприятно воздействуя на процессы обмена энергии, нарушенные при ишемии/гипоксии. Опыт парентерального применения эмоксипина у больных с острым инфарктом миокарда на фоне традиционной терапии показал, что препарат существенно улучшал клиническое течение болезни, снижал частоту фатальных осложнений, увеличивал выживаемость больных в острый и подострый период инфаркта [17].

Витамин Е способен встраиваться в липидный слой клеточных мембран и оказывать мембранопротективный и мембраностабилизирующий эффект. Он также стабилизирует мембраны лизосом, улучшает процессы тканевого дыхания в мембранах митохондрий, снижает активность мембранных фосфолипаз, стабилизирует работу Ca^{2+}-АТФ-азы, препятствуя перегрузке клеток кальцием. В исследованиях показано, что альфа-токоферол в комплексной терапии инфаркта миокарда способствует ограничению зоны инфаркта, уменьшает количество нарушений ритма, в том числе реперфузионных. Изучается эффективность витамина Е у больных хронической ИБС, однако данные проведенных исследований не позволяют пока прийти к единому мнению, в том числе и относительно дозы препарата. Тем не менее, все чаще встречаются рекомендации включать его в комплекс лечения больных стабильной стенокардией, что обусловлено, по-видимому, его влиянием не столько на миокард, сколько на атеросклеротическую бляшку [2, 8].

Следует отметить, что отношение к антиоксидантным препаратам у специалистов двусмысленное. С одной стороны, патогенетическая обусловленность применения данного класса препаратов при ИБС не вызывает сомнений, с другой – в проведённых исследованиях не удалось убедительно доказать их эффективность. В частности, опубликованные результаты исследования Women's Antioxidant Cardiovascular Study (WACS), проводимого на протяжении 9,5 лет, показали отсутствие позитивного влияния витаминов С и Е и бета-каротина на прогноз жизни больных ИБС [2,26].

"Антиоксидантная терапия" гармонично вписывается в традиционные схемы лечения ИБС благодаря использованию таких препаратов, как статины, ИАПФ, карведилол, обладающих выраженным антиоксидантным действием. При этом благоприятные антиишемические, кардиопротективные и антиатеросклеротические эффекты "чистых" антиоксидантов (биофлавоноидов, полифенолов, витаминов, глутатиона, эмоксипина и др.), показанные на различных биологических моделях, в настоящее время не были продемонстрированы ни в одном крупном клиническом исследовании [27]. В нескольких проспективных плацебоконтролируемых исследованиях были показаны нейтральные и даже негативные эффекты витаминов [26, 27].

Имеются результаты многоцентрового исследования ARISE, показавшего эффективность липофильного антиоксиданта **сукцибуккола** в снижении риска развития кардиальной смерти, инфаркта миокарда и инсульта. Кроме того, препарат на 64% снижал риск развития сахарного диабета в группе обследования [2].

Было показано, что **кверцетин** способен существенно уменьшать как гемодинамические нарушения, так и объём некротических повреждений при острой ишемии и реперфузии сердца. Этот эффект обусловлен его мембраностабилизирующим действием, о чем свидетельствуют резкое торможение деградации мембранных фосфоли-

пидов и уменьшение накопления свободных ЖК в ишемизированном миокарде, а также торможение активности липоксигеназ и антиоксидантный эффект [2].

Эти данные позволяют надеяться, что создание новых антиоксидантных средств окажется перспективным направлением профилактической медицины, в том числе, кардиологии [2].

Современным подходом в разработке эффективных и безопасных препаратов для лечения и профилактики ИБС является создание ЛФ, обладающих антиишемической, метаболической и антиоксидантной активностью, при этом имеющих минимальное число побочных эффектов [2].

На сегодняшний день отсутствует полная доказательная база по эффективности использования метаболических средств (пока только триметазидин и ранолазин рекомендованы Европейским обществом кардиологов к применению у больных ИБС), для некоторых не вполне ясны механизмы их антиишемического действия. Однако, то обстоятельство, что препараты, ещё вчера активно отвергавшиеся, включены сегодня в Европейские рекомендации по лечению ИБС (Guidelines on the management of stable angina pectories) является показателем их перспективности и актуальности, а значит, продолжение работ по формированию метаболических средств в качестве отдельного класса лекарственных препаратов актуально [2].

Литература

1. Полонецкий Л.З. Метаболическая терапия ишемической болезни сердца: от неспецифической активации метаболизма к миокардиальной цитопротекции/ Л.З. Полонецкий, И.Л. Полонецкий, С.И. Латышев // РНПЦ «Кардиология». "Медицинская панорама". – 2002. – № 6. – С.12-17.

2. Лишневская, В.Ю. Метаболическая терапия при ИБС – из прошлого в будущее / В.Ю. Лишневская // CONSILLIUM MEDICUM UKRAINA. – 2008. – №1. – С.34-39.

3. Бобров, В.А. Лечение ишемической болезни сердца: новые ответы на старые вопросы / В.А. Бобров, И.В. Давыдова, А.И. Макаревский // Здоров'я України. – 2011. – №1(16). – С.12-15.

4. Карташова, Е.А. Сравнительная оценка эффективности и безопасности применения триметазидина и милдроната в комплексной терапии ишемической болезни сердца : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.06 / Е.А. Карташова. – Ростов-на-Дону, 2009.

5. Жернакова, Н.И. Клинико-экспериментальное исследование эффективности фосфокреатина при ишемии миокарда / Н.И. Жернакова, О.В. Ромащенко, Т.В. Горбач [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Серия "Медицина. Фармация". – 2012.- №16 (135). – Вып. 19. – С.176-181.

6. Стаценко, М.Е. Использование метаболических средств в комплексной терапии ишемической болезни сердца / М.Е. Стаценко, С.В. Туркина, Б.А. Лемперт и др. // Лечащий врач. – 2012. – №3.

7. Колгунова, Т.Ю. Влияние кардиоцитопротективных препаратов на физическую толерантность больных хронической ИБС : автореф. дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.06 / Т.Ю. Колгунова. – Курск, 2006. – 23 с.

8. Современный подход к цитопротекторной терапии: метод. пособие для врачей / под ред. Ю.Б. Белоусова.- М.: 2010. – 30 с.

9. Морозова, Т.Е. Метаболические лекарственные средства в кардиологической практике / Т. Е. Морозова // Лечащий врач. – 2008.- N 6.- С.48-51.

10. Алмазов, В.А. Антиишемическая эффективность триметазидина у больных со стабильной стенокардией / В.А. Алмазов, Е.В. Шляхто, Е.М. Нифонтов [и др.] // Кардиология. – 2000. – №6. – С.40-42.

11. Лекарственная форма триметазидина модифицированного высвобождения и способ её получения (варианты) : патент РФ 2410097 : МПК A61K31/495, A61K9/22, A61P9/10, A61J3/10 / Н.Н. Авдонина, А.Т. Залялова ; опубл. 27.04.2010.

12. *Михин, В.П. Милдронат в кардиологической практике – итоги, новые направления, перспективы / В.П. Михин, Ю.М. Поздняков, Ф.Е. Хлебодаров [и др.] // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. -2012. – №11(1). – С.95-102.*

13. Производное 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата – 5-бромникотинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат калия, обладающее противоишемической активностью : патент RU 2 4 5 8 6 9 0 C 1 : МПК A61K 31/205, A61K 31/4406, A61P 9/00 / Л.М. Даниленко, О.В. Харитонова, Л.Н. Сернов [и др.] ; опубл. 20.08.2012. – 6 с.

14. Средство для стимуляции гемопоэза: патент RU 2033152 C1 : МПК A61K31/15, A61K31/70 / Е.Д. Гольдберг, А.М. Дыгай, Е.В. Симанина [и др.] ; опубл. 20.04.1995. – 3 с.

15. Лупанов, В.П. Ранолазин при ишемической болезни сердца / В.П. Лупанов // Рациональная фармакотерапия в кардиологии.- 2012.- №8(1). – С.103-109.

16. Фармацевтические препаративные формы замедленного высвобождения: патент RU 2384332 C2 : МПК A61K31/495, A61K47/32, A61K47/38, A61K9/22, A61P9/00 / С. Састри, Я. Нишадхам ; опубл. 20.03.2010. – 10 с.

17. Егоров, И.В. Современные подходы к лечению ИБС в гериатрической практике / И.В. Егоров // Поликлиника. – 2011. -№2. – С.40-42.

18. Стабильный фармацевтический состав, содержащий мексидол : патент RU 2205640 C1 : МПК A61K31/44, A61K47/12, A61K9/00, A61P9/10 / Л.Н. Сернов, С.Я. Скачилова ; опубл. 10.06.2003. – 7 с.

19. Фармацевтический состав для инъекций : патент RU 2380089 C2 : МПК A61K9/00, A61P39/06 / О.Н. Торопцева, И.В. Морозова, Н.С. Минаева ; опубл. 27.01.2010. – 4 с.

20. Антиоксидантное и антигипоксантное средство на основе 6-метил-2-этил-3-гидроксипиридина сукцината : патент RU 2398583 C2 : МПК A61K31/4412, A61K33/14, A61P39/06, A61K47/02 / Т.В. Трухачева, Ю.Г. Чернецкая, Г.О. Григорян [и др.] ; опубл. 10.09.2010. – 5 с.

21. Антиоксидантная и иммуностимулирующая композиция : патент RU 2444358 C1 : МПК A61K31/4412, A61K31/375, A61K31/455, A61P39/06, A61P37/04 / Е.И. Короткова, Е.В. Плотников ; опубл. 30.08.2010. – 3 с.

22. Нанодисперсная композиция с коэнзимом Q10 и способ её получения : патент RU 2411027 C1 : МПК A61K8/04, A61K31/122, B82B1/00 / О.Н. Пожарицкая, М.В. Карлина, А.Н. Шиков ; опубл. 24.06.2009. – 6 с.

23. Bhandari K.H., Newa M., Kim J.A., et al. Preparation, characterization and evaluation of coenzyme Q10 binary solid dispersions for enhanced solubility and dissolution. Biol. Pharm. Bull. – 2007. – V.30(6). – P.1171-1176.

24. Композиция для снижения содержания церамидов : патент RU 2203047 C2 : МПК A61K31/205, A61K31/7072, A61K45/00 / С. Моретти ; опубл. 27.04.2003. – 8 с.

25. Савченкова, Л.В. Клиническая фармакология тиотриазолина (обзор литературы) / Л.В. Савченкова, Д.А. Филатов, И.П. Белоусова // Український медичний альманах. – 2008. – Т.11, №3. – С. 212-217.

26. Ланкин, В.З. антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков // Кардиология. – 2004. -№ 2. – С.72-81.

27. Ашихмин, Я.И. Современные стратегии антиангинальной фармакотерапии хронической ишемической болезни сердца / Я.И. Ашихмин // Фарматека. – 2012. – № 14. – С.54-59.

MODERN METABOLIC CARDIOCYTOPROTECTORS. TECHNOLOGICAL ASPECTS OF DEVELOPMENT OF DRUGS ON THEIR BASIS

A.A. TESLEV
V.V. SOROKIN
S.A. MININA
M.A. BURAKOVA
E.M. PUCHKOVA

Saint-Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy

e-mail: andrew.teslev@pharminnotech.com

Review of technologies of development modern metabolic cardiocytoprotectors for treatment and prevention of coronary disease is shown in the article. Main features of their compositions and technologies are given.

The possibilities of application of modern pharmaceutical technology to improve the treatment of coronary disease are demonstrated.

Key words: coronary disease, cytoprotectors, antioxidants, formulations, development of technology, dosage form, tablets.

УДК 615.89:582477

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТЕНИЙ РОДА *JUNIPERUS* L. В НАРОДНОЙ МЕДИЦИНЕ. ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАУЧНЫЕ ДАННЫЕ (обзор)

О.О. НОВИКОВ, Д.И. ПИСАРЕВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА, Б.В. ТРИФОНОВ
Н.В. АВТИНА, В.Е. ЛЕВЧЕНКО
И.В. КОРНИЕНКО

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

В стате представлена информация о возможностях применения различных видов можжевельника в медицине. Приведены любопытные научные данные.

Ключевые слова: можжевльники, применение в народной медицине, перспектива.

Невозможно переоценить популярность *М. обыкновенного* в народной медицине. Плоды и ветви его используют для внутреннего и наружного применения в виде компрессов, настоек, отваров и экстрактов.

В поэме «О свойствах трав» можжевельнику уделено особое внимание: В качестве лекарственного растения можжевельник впервые применили в Древнем Египте, затем в Древней Греции и Риме. Одо из Мена в поэме «О свойствах трав» пишет [1]:

Он и желудку полезен. Так, область груди исцеляя,
Он унимает чрезмерный, пусть даже внедрившийся, кашель.
Он против ядов различных подать в состоянии помощь,
Так и от судорог он, так еще от разрывов поможет.
Матки порок и болезнь, что бесплодье дает, он уносит;
Сок его тех исцеляет, кого укусила гадюка.
Так, если он пережжен и с водою чистою смешан,
То умащеньем проказу изгонит с позорного тела.
Сок древесины его опьянение уничтожает…
Голову мазью намажут и этим ей помощь окажут;
Волос, знаток уверяет, – красу головы сохраняет;
Выпал он – станет как прежде, само выпаденье задержит.
Так же, но с меньшей порукой, плешивости вылечит муку,
Вырастив волос проворно на прежней главе смехотворной.

«Медицина признает возможность передачи так называемых заразных болезней через дыхание… Врага можно победить, лишь зная его силу. Дыхание в зараженном помещении неполезно. Или открытый воздух, или тщательное проветривание комнаты. Убийствен воздух больниц, где было много страданий: нужны озонаторы и солнца лучи. Естественные озонаторы – хвойные деревья – лучше всего… Мята и эвкалипт мощные очистители, а также смола хвойных деревьев и хвойные корешки…» (Гр А.Й., 5.07.60 г.). Лекари в можжевеловом масле хранили нити для зашивания ран, обрабатывали им свежие порезы, гноящиеся раны. Известен опыт лечения с помощью можжевельника нервных заболеваний.

Можжевельник относится к реликтовым целебным растениям, известным еще с библейских времен, когда его использовали для изгнания злых духов. Было замечено, что оберег из можжевельника охраняет от многих заразных болезней. У многих народов можжевельник – символ преодоления смерти и символ вечной жизни. С этим связан обряд устилания ветвями можжевельника последнего пути умершего и сжигания их на похоронах. Так как можжевеловая древесина не гниет и с течением времени даже приобретает особую прочность, то знатных особ хоронили в дорогих саркофагах из можжевельника [1]. В Древней Греции и Риме можжевельник считался верным средством против змей. В известном мифе об аргонавтах рассказывается, как Медея и Ясон с помощью можжевельника усыпили чудовищного змея, охранявшего золотое руно. На Руси также считалось, что семена можжевельника, носимые на теле, способны защитить от укусов змей. Еще было замечено, что молоко в крынке из можжевельника даже в

жаркий летний день не прокисает, а в запаренных можжевельником бочках долго не портятся засоленные на зиму овощи. Также казались удивительными и неувядающая зелень можжевельника, и его особый бальзамический запах и число три, которому соответствуют многие части растения (хвоя собрана по три, три чешуйки в женских колосках, три семени в шишкоягодах). Все это рождало веру во всеохраняющую силу этого растения и большое количество суеверий и обычаев, связанных с ним. До сегодняшнего дня существует обычай: ветви можжевельника, освященные в церкви, хранят за иконами, крепят под потолком, в хлевах, считая это защитой от болезни и других несчастий. Растение защитной магии может применяться для окружения дома можжевеловым «забором», а также расти в доме в кадке, защищая от недругов и радуя вкусными ягодками. Лечебный эффект дает даже присутствие можжевельника, не говоря уже об оберегах из этого материала. Считается, что волшебная палочка из можжевельника выбирает себе в качестве хозяина инициативного человека; а также того, кто любит, чтобы последнее слово в споре всегда оставалось за ним. Волшебные палочки из можжевельника отдают предпочтение ответственным, смелым и решительным волшебникам.

Индейцы Северной Америки использовали можжевельник для лечения ран и туберкулеза кожи, костей и суставов, помещая больных в заросли можжевельника, где воздух был насыщен целебными летучими веществами.

В Германии можжевельник даже приносили в жертву. Люди верили в примету: если намеренно поломать ветки можжевельника, то судьба обязательно преподнесет какой-то неприятный сюрприз или несчастье. Позже к этому растению начали относиться, как к живому существу: прохожие при виде его снимали шляпу. В северной Баварии из веток делали специальную лопатку, которая предназначалась для помешивания масла, так как люди верили, что оно в результате получится волшебным. Путешественники вплетали в волосы маленькую веточку можжевельника, которая должна была охранять путника в дороге.

Рано узнали можжевельник в России как лекарственное, оздоравливающее и пряное растение. Оно распространилось на европейскую часть России, Западную и Восточную Сибирь, Забайкалье, Якутию. Любимые места обитания – сосновый бор, смешанные леса, лесные опушки, а также берега рек, холмы, горные склоны. В некоторых странах Западной Европы, а также в Чехии, Словакии. Он относится к числу охраняемых растений. В России можжевельник всегда был доступным лекарственным растением. Использовали его шишкоягоды, свежие и сушеные, в виде порошков, настоев. Применяли его обеззараживающие свойства, окуривая дома, хлева при эпидемиях. Известно, что в старину ходили в баню не только с березовыми, но и с можжевеловыми вениками.

В народной медицине плоды можжевельника использовали внутрь при отеках, малярии, заболеваниях почек, цистите, при белях, подагре, ревматизме, в составе смесей при метаболическом полиартрите; наружно – как отвлекающее и болеутоляющее средство для полосканий при воспалении дёсен, при мокнущем лишае, чесотке. Корни употребляли при туберкулезе, бронхите, язвенной болезни желудка, кожных болезнях; отвар веток – при аллергии [2].

Можжевельник обладает сильными фитонцидными свойствами. Ни одно дерево не выделяет столько фитонцидов, сколько можжевельник, поэтому его охотно высаживали в городах, но сильно загазованный воздух уничтожил эти растения.

Санитарно-гигиеническое и лечебно-профилактическое значение можжевельников неоценимо. Один гектар можжевеловых насаждений способен выделить летом за один день в окружающую атмосферу до 30 кг летучих веществ с бактерицидными и противогрибковыми свойствами, образуя своего рода «противомикробную зону». Это свойство можжевельников используется для озеленения ими курортных районов [3].

Эфирным маслом из плодов *м. обыкновенного* пользуются для растираний при ревматизме, параличе, невралгии, полиартрите, для лечения трихомонадного кольпита. При лучевом методе лечения злокачественных опухолей кожи делают эфирно-масляные повязки. Это связано с тем, что основной компонент эфирного масла *м. обыкновенного* – α-пинен оказывает дозозависимый антимутагенный эффект, то есть предупреждает мутации, вызванные УФ-излучением, в частности, с длиной волны 254 нм. А-пинен не раздражает кожу и не вызывает сенсибилизации [4-6]. Его вводят в состав препаратов для лечения УФ-индуцированного рака кожи [7-9].

В болгарской народной медицине плоды можжевельника применяются в виде отвара с сахаром при лечении хронических кожных заболеваний (экзема, нейродермит, псориаз). В Германии ягодами лечат болезни желудка, печени и кожи (чесотка, лишай). Во Франции все части можжевельника используют в качестве мочегонного средства. Во французских госпиталях сжигали можжевельник во время эпидемии оспы. Его применяли также повсеместно для борьбы с чумой и другими заразными болезнями. В Польше ягоды назначают как диуретиче-

ское средство при хронических воспалениях почек и мочевого пузыря, заболеваниях печени, дерматитах и ревматизме. В отечественной народной медицине ягоды заваривают и пьют при болезнях печени, мочевого пузыря, нефролитиазе, воспалениях придатков матки, кандидозе половых органов, ревматизме, длительно незаживающих ранах, поверхностных повреждениях кожи и паратравматической экземе. Наружно отвар ягод применяется при себорейном и питироспоральном дерматите волосистой части головы, а также для укрепления волос. Внутрь отвар ягод и ветвей применяют при дисменорее и диатезе, отвар корней – при язвенной болезни желудка и бронхите. Настойку плодов на спирте этиловом 70% принимают при ревматизме, подагре и диабетическом полиневрите. При розовых и юношеских угрях, выпадении волос, простом герпесе плоды используют в виде лосьона. При герпесе слизистых оболочек также употребляют экстракт ягод на спирте этиловом 40%. Хвоя *м. обыкновенного* используется в традиционной медицине для лечения трихомонадного кольпита, хронического пиелонефрита, цистита, бронхолегочных заболеваний (туберкулёза, бронхоэктатической болезни, хронических и острых бронхитов, бронхиальной астмы, пневмонии), гипотонии, анорексии, гипотрофии, вегетососудистой дистонии, дисбактериозе, желчно- и мочекаменной болезни [10].

В отечественной и зарубежной народной медицине находят применение и другие виды можжевельника [11, 12].

Так, в народной медицине Сибири и Дальнего Востока используется *м. сибирский* – *J. sibirica* Burgsd. (рис. 1), по составу и применению близкий *м. обыкновенному*.

Рис. 1. Внешний вид *м. сибирского* [13]

Отвар ветвей *м. Саржента – J. Sargentii (*A. Henry*)* Takeda ex Koidz. (рис. 2) в Сибири назначают при респираторных инфекциях, наружно – при артрите и дерматомикозах, отвар хвои – как гемостатическое. В Китае шишкоягоды – отхаркивающее, мягчительное при инфильтратах, судорогах у детей.

Эфирное масло *м. твердого – J. rigida* Siebold et Zucc. (рис. 3) применяется в японской народной медицине как мочегонное средство. Плоды в китайской народной медицине – кардиотоническое средство. В русской народной медицине отвар плодов издавна применяют как диуретическое при асците, дизурических явлениях, болезнях мочевого пузыря и почек. Экстракт, полученный из шишкоягод *м. твердого,* проявляет высокую антибактериальную активность.

Рис. 2. Внешний вид *м. Саржента* [13]

Рис. 3. Внешний вид *м. твердого* [13]

Хвоя и шишкоягоды *м. даурского – J. davurica* Pall. (рис. 4) используются в тибетской медицине при туберкулезе легких, пневмонии, бронхите, ванны с ними – при гинекологических заболеваниях и дерматозах. В Забайкалье отвар применяют как отхаркивающее, диуретическое, при гипоксии, желудочно-кишечных заболеваниях, наружно при артритах, невралгии, дерматозах.

Рис. 4. Внешний вид *м. даурского* [13]

J. oblonga Bieb. в официальной медицине в настоящее время не применяется по причине недостаточной изученности с позиций химии и фармакологии, но используется в народной медицине на Кавказе, аналогично *м. обыкновенному* [14]. Подземная часть, ветви и шишкоягоды его употребляются при болезнях почек, мочевого пузыря, дизурии и почечнокаменной болезни. Плоды проявляют сильное мочегонное действие, а также используются как противоцинготное средство. Шишкоягоды также используют в пищу в основном как пряную приправу к мясным блюдам и кислой капусте. А.А. Гроссгейм и Б.Д. Алексеев писали о том, что *м. длиннохвойный* может обладать аналогичными лечебными свойствами с *м. обыкновенным* [15-18].

Ж. Хартуелл с сотрудниками установили, что водная взвесь из сухой хвои *J. sabina L.* вызывает геморрагические и некротические изменения в злокачественных опухолях, и выделили один из компонентов с противоопухолевой активностью – подофиллотоксин. А.П. Дегтярёвой с соавторами из *м. казацкого* выделено вещество, обладавшее значительной антимикробной активностью в отношении грамположительных бактерий [19].

В гомеопатии известен препарат «Сабин» (см. выше), применяющийся при угрозе выкидыша и сексуальной перевозбудимости. Эссенция растения входит в состав гомеопатических препаратов, используемых при болезнях почек, мочевого пузыря, странгурии, женских болезнях, подагре [4].

В народной медицине его применяют как диуретическое, желчегонное, противосудорожное, противовоспалительное, антисептическое, потогонное, антигельминтное средство, а также для заживления гнойных ран, язв, лечения чесотки, лишаев, выведения бородавок, как антитрихомонадное и абортивное средство, а также при полипах, кондиломах, невралгии, алопеции. Все части растения применяются при болезнях почек, мочевого пузыря, дизурии, почечнокаменной болезни, ветви – при грибковых инфекциях [4, 7, 12].

Аналогично *м. казацкому* в народной медицине Сибири применяется *м. ложноказацкий – J. pseudosabina* Fisch. et C. A. Mey. (рис. 5) [11].

Рис. 5. Внешний вид *м. ложноказацкого* [13]

Заключение.

Как и все хвойники, можжевельники богаты биологически активными веществами. Везде, где встречаются виды данного рода, с незапамятных времен они используются в народной медицине. Некоторые из них получили признание в официальной медицине. И, конечно, изучение билогически активных соединений сырья разных видов можжевельника имеет большие перспективы.

Литература

1. Можжевельник (Juniperus). [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://herbalogya.ru/ (дата обращения 16.10.2013).89. Токин, Б.Н. Целебные яды растений / Б.Н. Токин. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1980. – 280 с.

2. Экофарм. Ландшафтный дизайн [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://ekofarm-kramar.com.ua/landshaftnij_dizajn.html (дата обращения 16.10.2013).
3. Токин, Б.Н. Целебные яды растений / Б.Н. Токин – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1980. – 280 с.
4. Корсун, В.Ф. Можжевельник исцеляющий и омолаживающий / В.Ф. Корсун, В.К. Викторов. – СПб.: ДИЛЯ, 2001. – 192 с.
5. Корсун, В.Ф. Фитотерапия аллергических заболеваний кожи / В.Ф. Корсун, А.А. Кубанова, С.Я. Соколов – Минск: «Полымя», 1998. – 426 с.
6. Корсун, Е.В. Лекарственные растения при заболеваниях волос : методическое пособие / Е.В. Корсун, В.Ф. Корсун. – М.: «ИНФИТ», 2005. – 43 с.
7. Лавренёв, В.К. Полная энциклопедия лекарственных растений: В 2 т. / В.К. Лавренёв, Г.В. Лавренёва. – СПб.: Издательский Дом Нева; М.: ОЛМА-ПРЕСС, 1999. – Т 2. – 816 с.
8. Кузнецова, М.А. Сказания о лекарственных растениях / М.А. Кузнецова, Резникова А.С. – М.: Высш. шк., 1992. – 272 с.
9. Николайчук, Л.В. Целебные деревья и кустарники / Л.В. Николайчук, Н.М. Матусевич, Р.П. Желясков. – Минск: Современ. слово, 2002. – 224 с.
10. Лекарственные свойства пряностей / Барнаулов О.Д. [и др.] – СПб.: Изд-во фонда русской поэзии. 2001. – 240 с.
11. Растительные ресурсы России и сопредельных государств: Ч. I – Семейства Licopodiaceae – Ephedraceae, часть II – Дополнения к 1 –7-му томам / Отв. редактор А.Л. Буданцев. – СПб.: Мир и семья-95, 1996. – 571 с.
12. Дикорастущие полезные растения России / Отв. ред. А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб.: Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.
13. Можжевельник (Juniperus) сем. Кипарисовые. Энциклопедия декоративных садовых растений. [Электронный ресурс]. Режим доступа: URL: http://flower.onego.ru/conifer/junipe.html (дата обращения 16.10.2013).
14. Алексеев, Б.Д. Заготовка и применение лекарственных растений Кабарды / Б.Д. Алексеев – Нальчик: Кабардинское государственное изд-во, 1952. – 103 с.
15. Гроссгейм, А.А. Растительные богатства Кавказа / А.А. Гроссгейм – М.: Советская наука, 1952.- 632 с.
16. Лекарственная флора Кавказа / Шретер А.И. [и др.]. – М.: Медицина. 1979. – 368 с.
17. Лекарственные растения Северной Осетии / Алексеев Б.Д. [и др.] – Орджоникидзе: Кн. изд-во, 1953. – 84 с.
18. Середин, Р.М. Лекарственные растения (распознавание, распространение, заготовка, химический состав и медицинское применение) / Р.М. Середин, С.Д. Соколов. – Ставрополь: Кн. изд-во, 1965. – 176 с.
19. Айзенман, Б.Е. Фитонциды и антибиотики высших растений / Б.Е. Айзенман, В.В. Смирнов, А.С. Бондаренко. – Киев: Наук. думка, 1984. – 280 с.

USE OF PLANTS OF THE GENUS JUNIPERUS L. IN FOLK MEDICINE. ADVANCED SCIENTIFIC DATA (REVIEW)

O.O. NOVIKOV, D.I. PISAREV
E.T. ZHILYAKOVA, B.V.TRIFONOV
N.V. AVTINA, V.E. LEVCHENKO
O.V. ZAKHAROV
I.V. KORNIENKO

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

The article presents the information about the functionality of different types of juniper in medicine. The article presents up-to-date scientific data.

Key words: mozhzhevlniki, used in folk medicine perspective.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ

УДК 615.12

РАЗРАБОТКА СОСТАВА, ТЕХНОЛОГИИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ СИСТЕМ ТРАНСПОРТА

Е.Т. ЖИЛЯКОВА
В.В. АКОПОВА
М.Ю. НОВИКОВА
Н.В. АВТИНА

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail:ezhilyakova@bsu.edu.ru

В статье представлены результаты изучения состава полимеров контактных линз, а также данные, позволяющие сделать вывод о возможности насыщения контактных линз раствором лекарственного вещества. Разработка новых составов пролонгированных глазных капель для лечения инфекционных конъюнктивитов, как наиболее распространенных глазных заболеваний, а также методов их анализа является актуальной. На этапе теоретического обоснования выбора материала контактных линз под конкретные лекарственные вещества возможно использование метода молекулярного моделирования.

Ключевые слова: глазные капли, офтальмологические лекарственные формы, пролонгирование, антимикробный агент

В настоящее время инфекционные конъюнктивиты являются одной из серьезных проблем практической офтальмологии. Больные с этой патологией составляют до 50% пациентов, обращающихся за офтальмологической помощью.

Лечение глазных заболеваний инфекционной этиологии требует особо тщательного выбора не только лекарственного препарата, но и приемлемой лекарственной формы. Таковыми являются глазные капли – наиболее широко используемые в офтальмологической практике.

Наиболее эффективным в терапии глазных инфекций является выбор пролонгированных глазных капель, использование которых позволяет снизить количество инстилляций препарата при сохранении терапевтического эффекта, что обеспечивается путем введения в лекарственную форму вспомогательных веществ пролонгаторов. Повысить пролонгированный эффект можно за счет предварительной механохимической обработки полимеров, которая приводит к увеличению вязкости их водных растворов, что позволяет снизить концентрацию вспомогательных веществ в лекарственной форме.

Выбор антимикробного агента должен быть обусловлен широким спектром его антимикробного действия и возможностью возникновения резистентности микроорганизмов к нему. С этой точки зрения особого внимания заслуживает мирамистин, оказывающий широкое противовирусное и бактерицидное действие вследствие гидрофобного взаимодействия с мембранами микроорганизмов, приводящего к разрушению последних.

Основным недостатком глазных капель (ГК) является их низкая вязкость, из-за чего происходит вымывание препарата и как следствие снижение его биологической доступности. Поэтому разработка новых составов пролонгированных ГК для лечения инфекционных конъюнктивитов, как наиболее распространенных глазных заболеваний, а также методов их анализа является актуальной.

Исследования по обоснованию состава и разработке технологии проводились по определенной схеме, которая представлена на рисунке.

Схема исследований состоит из классических для фармацевтической технологии операций, а также операций с применением программного моделирования, что позволяет систематизировать данные и сузить объем проводимых исследований.

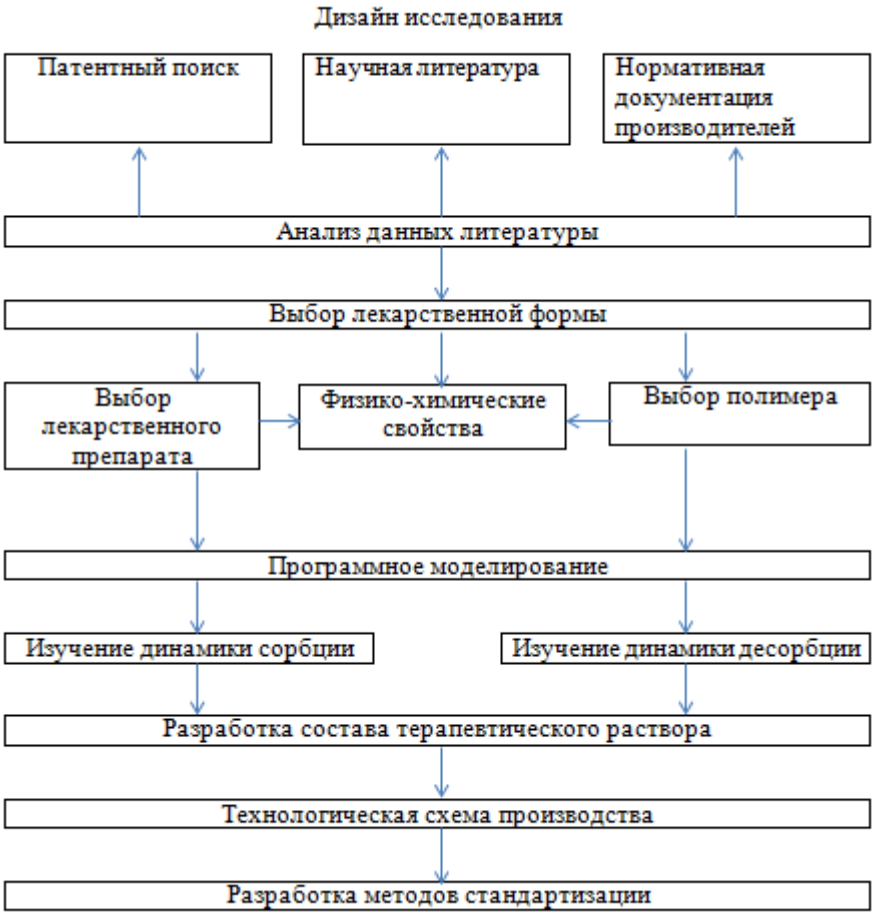


Рис. Дизайн исследований

Разработка систем транспорта с использованием компьютерного программирования

На этапе теоретического обоснования выбора материала контактных линз под конкретные лекарственные вещества нами были использованы методы молекулярного моделирования (метод молекулярной механики и метод молекулярных орбиталей) для получения (расчета) физико-химических дескрипторов. Для последующего сравнения вычисленных дескрипторов и, соответственно, определения материала линз, имеющего наибольшее сродство к данному биологически активному соединению, нами использовался кластерный анализ в приближении k-среднего.

В результате исследований были получены физико-химические дескрипторы молекулы мирамистина и мономеров контактных линз. Эти параметры были сгруппированы в кластеры (группы). Анализ результатов проведения кластерного анализа показывает, что в одинаковые группы (кластеры) веществ со сходными физико-химическими дескрипторами попадают лекарственные вещества и мономеры материалов контактных линз, что отражено в таблице.

Таблица

Сродство физико-химических дескрипторов лекарственных веществ и мономеров контактных линз

Лекарственное вещество	Мономер									
	NCVE	NVP	TPVC	N,N-Dim	TRIS	EDMA	HEMA	MAA	ALM	2E2H
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Сульфацил-натрий	+	+		+		+	+	+	+	

Окончание табл.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Атропин										+
Левомицетин										+
Мирамистин			+		+					
Пилокарпин	+	+		+		+	+	+	+	
Таурин	+	+		+		+	+	+	+	
Тимолол										+
Эмоксипин	+	+		+		+	+	+	+	

Примечание:
NCVE – N-карбоксивиниловый эфир,
NVP – N-винилпирролидон,
TPVC – (триметилсилокси)силилпропилвинилкарбамат,
PBVC – поли(диметилсилокси)ди(силилбутанол)бис-винилкарбамат,
TRIS – метакрилоксипропилтрис(триметилсилоксисилан),
N,N-Dim – N,N-диметилакриламид,
HEMA – 2-гидроксиэтилметакрилат,
EDMA – этилендиметакрилат,
MAA – метакриловая кислота,
ALM – аллилметакрилат,
2E2H – 2-этил-2гидроксиметил-1,3-пропандиолтриметакрилат.

Выводы.

Состав полимеров контактных линз, а также данные, приведенные в таблице, позволяют сделать вывод о том, что для насыщения контактных линз лекарственными препаратами: сульфацил-натрий, пилокарпин, таурин, эмоксипин – требуются следующие материалы полимеров: балафилкон А, лотрафилкон А, окуфилкон А, полимакон, хилафилкон А и этафилкон А. Однако существуют лекарственные вещества, сорбция которых требует применения строго определенного полимера. Сорбцию атропином, левомицетином и тимололом следует проводить на линзу из этафилкона А, а для мирамистина подходят такие полимеры, как балафилкон А и лотрафилкон А.

Литература

1. Акопова, В. В. Перспективы разработки пролонгированных глазных лекарственных форм с бензилдиметил [3-(миристоиламино) пропил] аммония хлорид моногидратом / В. В. Акопова // II Международная научно-практическая конференция «Молодые ученые в решении актуальных проблем науки» : сб. работ молодых ученых. – Владикавказ, 2011. – Ч. 1. – С. 161-163.

2. Акопова, В. В. Мягкие контактные линзы как возможное средство доставки лекарственных средств / В. В. Акопова // Современные наукоемкие лечебные и фармацевтические технологии для офтальмологии : для молодых ученых : сб. материалов Всерос. шк.- семинара, 28 сент. – 1 окт. 2009 г. / БелГУ ; под ред. Е.Т. Жилякова [и др.]. – Белгород, 2009. – С. 7-11.

3. Контактная линза как изделие медицинского назначения для введения глазных капель / В. В. Акопова [и др.] // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. – 2012. – № 10 (129), вып. 18/3. – С. 148-150.

DEVELOPMENT OF COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF OPHTHALMIC SYSTEMS OF TECHNOLOGY TRANSPORT

E.T. ZHILYAKOVA
V.V. AKOPOVA
M.Yu. NOVIKOVA
N.V. AVTINA

Belgorod National Research University

e-mail:ezhilyakova@bsu.edu.ru

The article presents the results of a study of polymer contact lenses, as well as evidences for drawing a conclusion about the possibility of saturation of the contact lens solution of the drug substance. Development of new formulations of prolonged eye drops for the treatment of infectious conjunctivitis is the most common eye diseases as well as methods of their analysis is correct. At the stage of theoretical justification material selection of contact lenses for specific drugs can use the method of molecular modeling.

Key words: eye drops, ophthalmic dosage forms, prolongation, antimicrobial agent.

УДК 615.012

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ РАСТВОРИМОСТИ АЦИКЛОВИРА

Е.Т. ЖИЛЯКОВА[1]
А.В. БАСКАКОВА[2]
О.О. НОВИКОВ[1]
М.И. КОМИССАРОВ[3]
А.Н. ФАДЕЕВ[3]

[1] Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[2] ОАО «Верофарм»

[3] ООО «АТК»

e-mail: haitelle@gmail.com

В статье изложены данные об изученных режимах измельчения ацикловира в вибрационной шаровой мельнице МЛ-1 и струйной мельнице ВСМ-10П. Установлено влияние ультразвуковой гомогенизации на процесс растворения ацикловира и солюбидизаторов. Изучено влияние солюбилизаторов на процесс повышения растворимости ацикловира. Предложена методика повышения растворимости ацикловира в воде, разработана методика количественного определения ацикловира методом УФ-спектрофотометрии.

Ключевые слова: глазные капли, ацикловир, вирусные конъюнктивиты, УФ-спектрофотометрия

Актуальность.

В настоящее время вирусные конъюнктивиты остаются одной из главных причин обращений к офтальмологам в мире. Вирусными конъюнктивитами, согласно статистическим данным МНИИ им. Гельмгольца, заражаются более 70% геронтологических пациентов в интернатах, более 35% пациентов при кератопластике, от 20 до 60% больных с роговичными патологиями. На долю воспалительных заболеваний глаз у детей приходится свыше 80% заболеваний вирусными конъюнктивитами.

На современном фармацевтическом рынке представлен широкий спектр противовирусных субстанций: наиболее широко распространенной и эффективной фармацевтической субстанцией для лечения вирусных конъюнктивитов является ацикловир [1][1], вторую позицию занимает идоксуридин, третье место принадлежит интерферону альфа-2b. Ацикловир (2-амино-9-[(2-гидрокси-этокси)метил]-1,9-дигидро-6Н-пурин-6-он) обладает широкой терапевтической активностью, не позволяя вирусной ДНК встраиваться в ДНК клеток органа зрения, однако не применяется в составе глазных капель ввиду своей низкой растворимости в воде.

В связи с этим, **целью** настоящего исследования является разработка методики повышения растворимости ацикловира в воде для разработки состава, технологии и аналитического обеспечения пролонгированных глазных капель противовирусного действия.

Материалы: ацикловир USP 27.

Методы: контент-анализ, ультразвуковой гомогенизации, спектрофотометрический.

Результаты.

Ввиду низкой растворимости ацикловира в воде, на современном фармацевтическом рынке Российской Федерации отсутствуют его жидкие лекарственные формы. Поэтому необходима разработка методики повышения растворимости ацикловира. Рабочая гипотеза состоит в том, что супрамикроструктурирование ацикловира приводит к увеличению его поверхности, и, как следствие, к увеличению растворимости.

На рис. 1 представлен дизайн исследования.

[1] Жилякова Е.Т., Новикова М.Ю., Новиков О.О., Баскакова А. В. (Ткачева А.С.)., Придачина Д.В. Изучение ассортимента противовирусных глазных лекарственных форм // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1 . – С. 179-183.

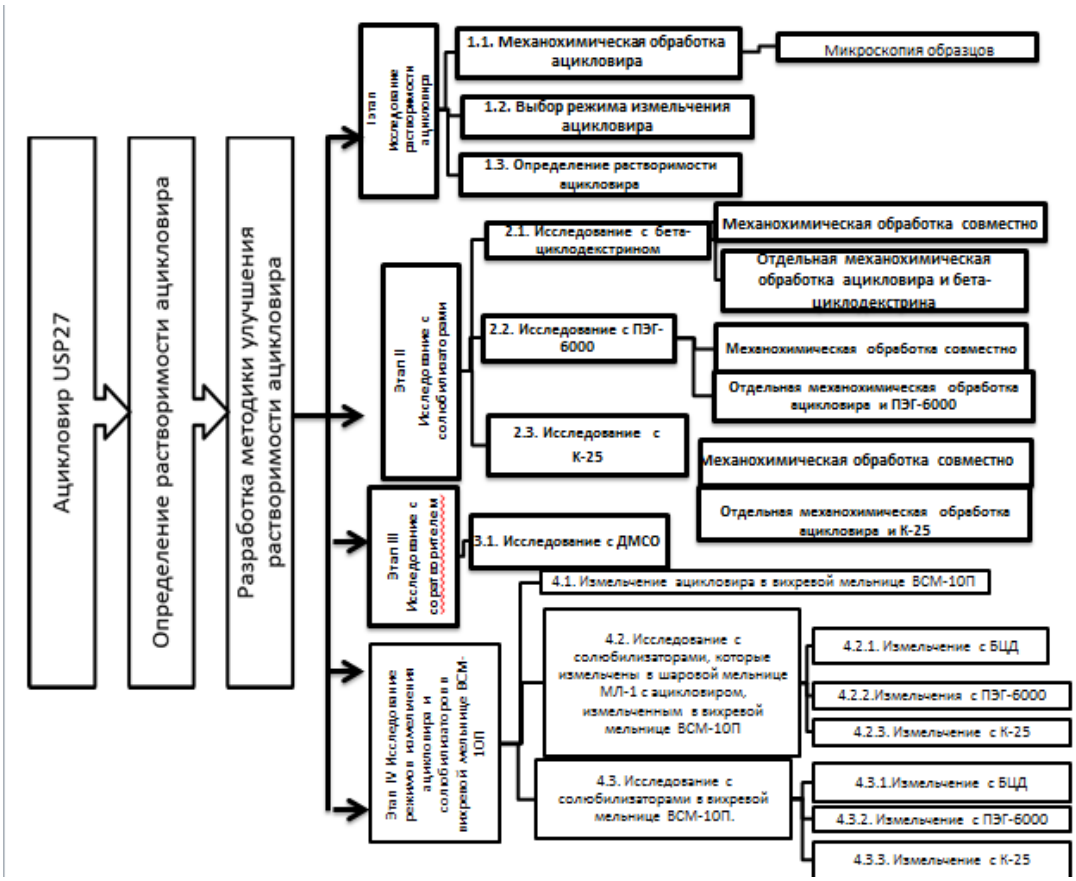


Рис. 1. Дизайн исследования

Как видно из рис. 1, исследование включает 4 этапа. По результатам предварительных испытаний на первых этапах исследования установлено, что оптимальный режим измельчения ацикловира составляет 10 минут в вибрационной шаровой мельнице МЛ-1, при этом в раствор переходит около 4,2% ацикловира, что на 0,8% превышает растворимость неизмельченной субстанции [2][2].

Для приготовления водного раствора ацикловира (навеска около 0,05 г) использовали 50 мл воды очищенной с перемешиванием в ультразвуковом гомогенизаторе Bandelin Sonoplus HD 3200 в течение 7 минут с амплитудой 50%.

Для оценки количественного содержания ацикловира в водных растворах использовалась разработанная методика анализа ацикловира методом УФ-спектрофотометрии [3][3]. Ошибка опыта не превышает 3%.

1 мл полученного раствора растворяли в 100 мл кислоты хлороводородной 0,1 М, приготовленной из фиксанала,1 мл из полученного раствора растворяли в 50 мл кислоты хлороводородной 0,1М. и спектрофотометрировали при длине волны 256±1нм.

Количество ацикловира в растворе рассчитывали по формуле 1:

$$x = \frac{D \times W_1 \times W_2}{a \times E \times l \times 100}, \quad (1),$$

где x – количественное содержание ацикловира, г;

D – оптическая плотность;

W – разбавление, мл;

[2] Жилякова Е.Т., Баскакова А.В. Разработка технологической методики повышения растворимости ацикловира // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 11 . – С. 199.

[3] Жилякова Е.Т., Баскакова А.В. (Ткачева А.В.), Новикова М.Ю., Фадеева Д.А. Разработка технологической методики повышения растворимости // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 5.

a – аликвота, мл;
e – удельный коэффициент;
l – толщина кюветы, см.

Формула 1. Количественное определение ацикловира в водных растворах.

Полученные хроматограммы водных растворов ацикловира представлены на рис. 2.

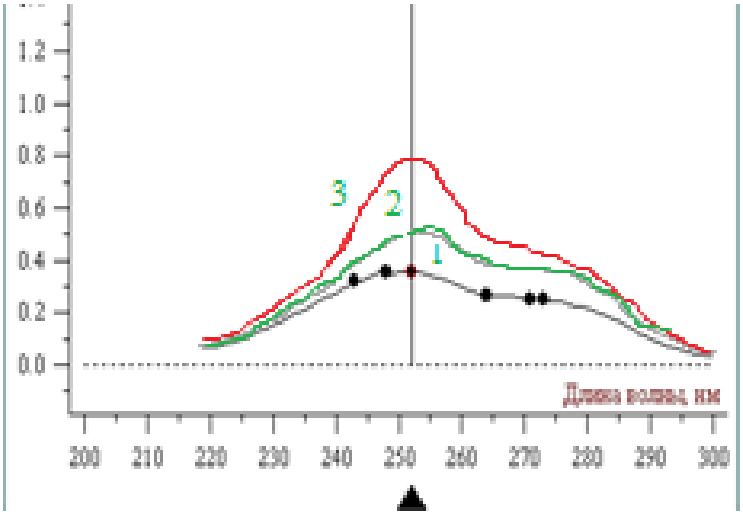


Рис. 2. Оптическая плотность раствора ацикловира неизмельченного(1), D=0,3573, режим 10 минут на вибрационной шаровой мельнице МЛ-1, D=0,5215 (2), измельченного на вихревой струйной мельнице ВСМ-10П, D=0,7812 (3).

Как видно из рис. 2, максимальная оптическая плотность присуща раствору, полученному при измельчении ацикловира на вихревой струйной мельнице ВСМ-10П. Результаты количественного расчета растворенного ацикловира представлены в таблице.

Таблица

Сравнение эффективности режимов обработки ацикловира

№ образца	Способ обработки	Количество раствореного ацикловира , мг	Стандартное отклонение
I этап 1.1.	Ацикловир неизмельченный	3,4	±0,03
1.2.-1.3.	Ацикловир, измельченный в течение 10 минут	4,2	±0,02
II этап 4.1.	Ацикловир, измельченный на вихревой струйной мельнице ВСМ-10П	55,8	±0,02

Установлено, что при использовании вихревой струйной мельницы ВСМ-10П достигается значительное увеличение растворения ацикловира. На рис. 3 представлен график сравнения растворимости ацикловира при различных режимах измельчения.

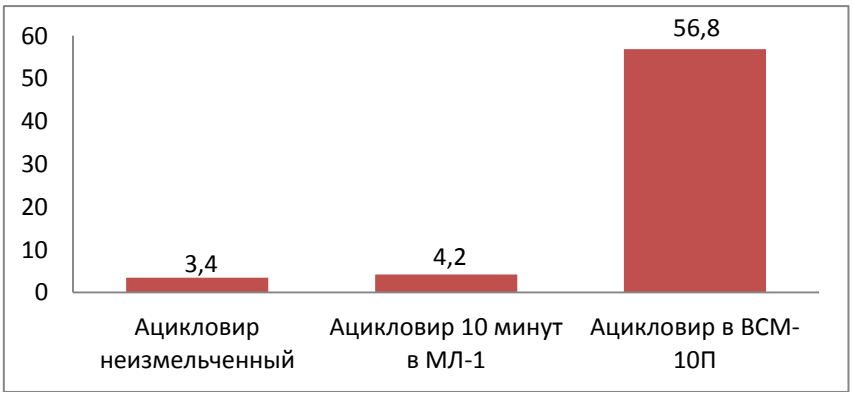


Рис. 3. Диаграмма сравнения растворимости ацикловира при различных режимах измельчения

Как видно из рис. 3, максимальное количество ацикловира содержится в растворе, в котором ацикловир был измельчено на вихревой струйной мельнице ВСМ-10П.

Выводы.

В ходе исследования достигнуто значительное увеличение растворимости ацикловира, более чем в 16 раз по сравнению с неизмельченной субстанцией, что подтверждает необходимость введения стадии измельчения субстанции на вихревой струйной мельнице ВСМ-10П для обеспечения повышения растворимости исходного вещества для разработки состава и технологии глазных капель противовирусного действия на основе ацикловира.

Литература

1. Жилякова Е.Т. Изучение ассортимента противовирусных глазных лекарственных форм / Е.Т. Жилякова, М.Ю. Новикова, О.О. Новиков, А.В. Баскакова (А.С. Ткачева), Д.В. Придачина // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1 . – С. 179-183;
2. Жилякова Е.Т, Разработка технологической методики повышения растворимости ацикловира / Е.Т. Жилякова, А.В. Баскакова // Успехи современного естествознания. – 2013. – № 11 . – С. 199;
3. Жилякова Е.Т. Разработка технологической методики повышения растворимости / Е.Т. Жилякова, А.В. Баскакова (А.С. Ткачева), М.Ю. Новикова, Д.А. Фадеева // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 5;

THE DEVELOPMENT OF METHODS OF ENHANCING THE SOLUBILITY OF ACICLOVIR

E.T. ZHILYAKOVA[1]
A.B. BASKAKOVA[2]
O.O. NOVIKOV[1]
M.I. KOMISSAROV[3]
A.N. FADEEV[3]

[1)] Belgorod National Research University

[2)] LLC «Veropharm»

[3)] Ltd «ATK»

e-mail: haitelle@gmail.com

The article presents the data on comparative characteristic of the modes of aciclovir grinding in vibrating ball mill ML -1 and a jet mill VCM -10P . The effect of ultrasound on the process of homogenization and dissolution of aciclovir solubilizing agents was studied. The technique of increasing the solubility of aciclovir in the water and the methods of quantitative determination of aciclovir by UV-spectrophotometry were developed.

Key words: eye drops , aciclovir, viral conjunctivitis , UV- spectrophotometry.

УДК 615.453.6:(582.998.4+582.542.1).014.21

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ТАБЛЕТОК ЭКСТРАКТА ЦИКОРИЯ И КУКУРУЗЫ

О.И. ЕЗЕРСКАЯ
Т.Г. КАЛИНЮК

Львовский национальный медицинский університет имени Данила Галицкого

e-mail: o_yezerska@mail.ru

В результате проведенных исследований методом регрессионного анализа установлено влияние вспомогательных веществ и их количества на фармако-технологические свойства таблеток экстракта цикория и кукурузы. Определены вспомогательные вещества для получения оптимального состава таблеток.

Ключевые слова: экстракт цикория и кукурузы, таблетки, вспомогательные вещества, фармацевтическая технология.

Проблема патологии гепатобилиарной системы занимает одно из ведущих мест в структуре внутренних болезней [1]. Лечение патологий печени, как правило, является длительным процессом. Поэтому внедрение гепатопротекторных препаратов растительного происхождения весьма перспективно [2].

К доступным источникам получения лекарственных средств относятся цикорий, корни которого имеют широкий спектр фармакологической активности и применяются в народной медицине, в частности, как гепатопротекторное, гипогликемическое и антиоксидантное средство, и кукуруза, столбики с рыльцами которой обладают желчегонными, диуретическими и кровоостанавливающими свойствами [3].

Цель работы.

Установить взаимное влияние количества вспомогательных веществ на фармако-технологические свойства таблеток экстракта цикория и кукурузы, разработать оптимальный состав готовой лекарственной формы.

Материалы и методы исследования.

С целью установления оптимального состава вспомогательных веществ в исследуемых таблетках вспомогательные вещества (факторы), отобранные на основе результатов предыдущих исследований [4, 5], варьировали на двух уровнях (табл. 1). В процессе исследования использовали ротатабельний симметричный план второго порядка [6].

Таблица 1

Перечень количественных факторов и их уровней, которые изучались при разработке оптимального состава таблеток экстракта цикория и кукурузы

Количественные факторы	Уровень фактора				
	нижняя звездная точка «-α»	нижний «-»	основной «0»	верхний «+»	верхняя звездная точка «+α»
x_1 – масса натрий кроскармеллозы на одну таблетку, г	0,028	0,036	0,054	0,072	0,080
x_2 – масса неусилина на одну таблетку, г	0,016	0,024	0,042	0,060	0,068

Было реализовано 8 опытов, а для определения ошибки эксперимента введены дополнительные 8 серий. В результате исследований установлено, что процесс прессования таблеток экстракта цикория и кукурузы проходил без осложнений. Все 16 экспериментальных серий были спрессованы без дефектов поверхности таблеток. Полученные таблетки испытывали согласно фармакопейным требованиям [1]. Матрица планирования эксперимента и результаты исследования таблеток экстракта цикория и кукурузы приведены в табл. 2.

Таблица 2

Симметричный композиционный ротатабельный униформ-план второго порядка и результаты исследования таблеток экстракта цикория и кукурузы

Серия опытов	Фактори		Отклики					
	x_1	x_2	y_1	y_2	y_3	y_4	y_5	y_6
1	+	+	5	5	4,84	136	0,12	9
2	-	+	5	5	3,86	159	0,06	14
3	+	-	5	4	3,82	49	0,09	15
4	-	-	4	5	4,22	57	0,06	18
5	+α	0	5	5	4,5	59	0,14	8
6	- α	0	4	4	4,16	54	0,05	15
7	0	+ α	4	5	5,2	152	0,11	10
8	0	- α	3	4	3,65	77	0,06	16
9	0	0	5	5	4,43	164	0,06	9
10	0	0	5	5	4,33	194	0,06	10
11	0	0	5	5	4,52	181	0,06	12
12	0	0	5	5	4,75	182	0,06	11
13	0	0	4	5	4,32	180	0,05	12
14	0	0	5	5	4,46	179	0,07	10
15	0	0	4	4	4,52	184	0,06	10
16	0	0	5	5	4,41	182	0,06	11

Примечания: y_1 – внешний вид таблеток, балл; y_2 – качество процесса прессования, балл; y_3 – однородность массы таблеток, ± %; y_4 – устойчивость таблеток к раздавливанию, Н; y_5 – истираемость таблеток, %; y_6 – распадаемость таблеток, мин.

Результаты исследования и их обсуждение.

Изученные факторы не влияют на внешний вид (y_1) таблеток экстракта цикория и кукурузы.

Процесс прессования таблеток экстракта цикория и кукурузы (y_2) в большинстве серий был оценен в «5» баллов. Оценку «4» балла получили серии таблеток 3, 6, 8, 15. Оценку «3» балла – серия 8.

Связь изученных факторов и качества процесса прессования (y_2) таблеток экстракта цикория и кукурузы описывается следующим уравнением регрессии:

$$y_2= 4,88 + 0,3x_2.$$

Влияние на этот показатель оказывает содержание неусилина в составе таблеток, увеличение его количества приводит к улучшению процесса прессования.

Связь между изученными факторами и однородностью массы (y_3) таблеток экстракта цикория и кукурузы описывается таким образом:

$$y_3=4,47+0,13x_1+0,36x_2+0,35x_1x_2-0,12x_1^2.$$

Анализ уравнения регрессии показал, что на исследуемый показатель более всего влияет содержание неусилина (x_2) в составе таблеток экстракта цикория и кукурузы. Знак (+) перед коэффициентом регрессии указывает на то, что при изменении значения уровней факторов в интервале от «-α» к «+ α» однородность массы повышается.

Взаимосвязь между изученными факторами и устойчивостью (y_4) таблеток экстракта цикория и кукурузы к раздавливанию описывается следующим образом:

$$y_4=180,77+36,88x_2- 58,45x_1^2-29,47x_2^2.$$

Анализ полученного уравнения свидетельствует о том, что в наибольшей степени на исследуемый показатель влияет фактор x_1.

Полученные результаты исследования механической устойчивости свидетельствуют о том, что увеличение содержания неусилина в составе таблеток экстракта цикория и кукурузы повышает их прочность в среднем на 50 Н.

Уравнение регрессии, описывающее влияние изученных факторов на истираемость (y_5) таблеток экстракта цикория и кукурузы, имеет следующий вид:

$$y_5=0,06+0,03x_1+0,013x_2+0,01x_1x_2+0,02x_1^2+0,01x_2^2.$$

Увеличение количеств натрия кроскармеллозы и неусилина ухудшает истираемость таблеток экстракта цикория и кукурузы. Наблюдается также значительное взаимодействие факторов.

Взаимосвязь изученных факторов и распадаемости (y_6) таблеток экстракта цикория и кукурузы описывается следующим уравнением регрессии:

$$y_6=10,63 - 2,24x_1-2,31x_2+1,62\ x_2^2.$$

Анализ полученного уравнения свидетельствует о том, что в наибольшей степени на исследуемый показатель влияют факторы x_1 и x_2.

Следующим этапом в анализе уравнений регрессии являлось построение линий равного выхода в плоскости пересечения факторов x_1 и x_2. Это дает возможность визуально определить компромиссное решение задачи оптимизации. Для этого уравнения регрессии были приведены к так называемому каноническому виду и на их основе строились линии равного выхода (см. рисунок).

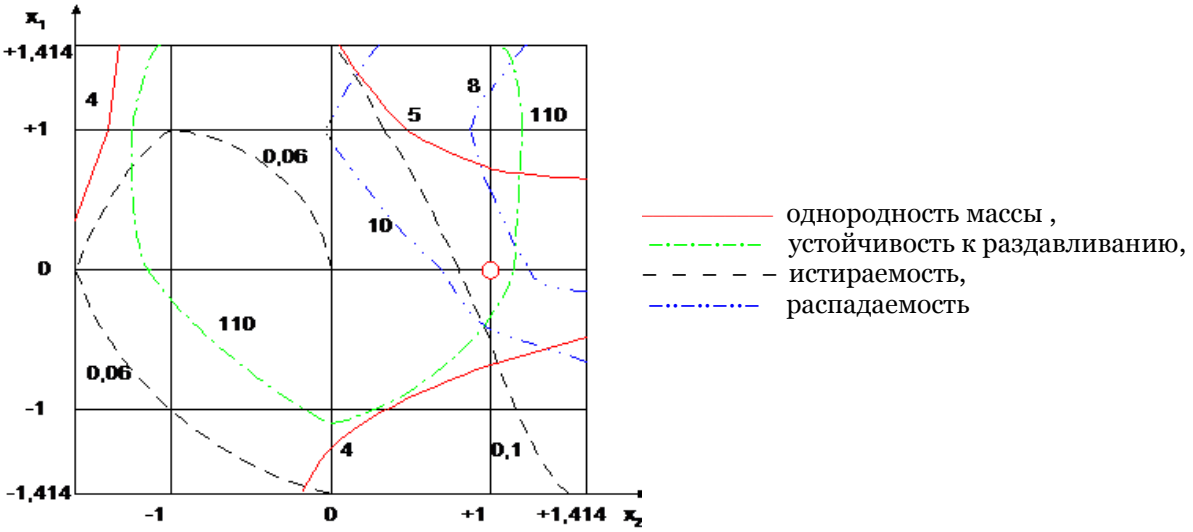


Рис. Линии равного выхода в системе координат x_1 и x_2 по результатам преобразованных уравнений регрессии

Полученные таблетки соответствовали требованиям Государственной фармакопеи по показателям однородности массы, устойчивости таблеток к раздавливанию, истираемости и распадаемости.

Выводы.

1. С помощью метода регрессионного анализа изучено влияние количественных факторов на основные фармако-технологические свойства таблеток экстракта цикория и кукурузы.
2. Предложены оптимальный состав и технология таблеток экстракта цикория и кукурузы методом влажного гранулирования.

Литература

1. Москаленко, В.Ф. Заболевания гепатобилиарной системы (распространенность, нерешенные проблемы) / В.Ф. Москаленко, Н.В. Харченко, М.В. Голубчиков: зб. наук. праць спр. КМАПО ім. П.Л. Шупика. – 2000. – Вип. 9, кн. 4. – С. 5– 10.
2. Коваленко, С.М. Актуальність створення нових комбінованих препаратів гепатопротекторної дії / С.М. Коваленко, Ю.І. Губін, С.М. Коваленко [та ін.] // Запорожский медицинский журнал. – 2009. – №1. – С. 52-56.
3. Єзерська, О.І. Обґрунтування доцільності створення комбінованого лікарського засобу на основі коренів цикорію і приймочок зі стовпчиками кукурудзи / О. І. Єзерська // Матеріали XVII Міжнародного медичного конгресу студентів і молодих вчених, м. Тернопіль 22-24 квітня 2013.– Т.: Укрмедкнига, 2013. – С. 305.
4. Єзерська, О.І. Дослідження впливу кількісних факторів на основні показники якості таблеток екстракту цикорію та кукурудзи / О. І. Єзерська, Т.Г. Калинюк // Фармацевтичний часопис. – 2013. – №2. – С. 44 – 47.
5. Єзерська, О.І. Вибір допоміжних речовин для виробництва таблеток екстракту цикорію та кукурудзи / О. І. Єзерська // Вісник фармації. – 2013. – №3. – С. 21- 23.

6. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації / [Т. А. Грошовий, В. П. Марценюк, Л. І. Кучеренко та ін.] – Тернопіль: ТДМУ, 2008. – 368 с.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид.– Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.

OPTIMIZATION OF COMPOSITION AND TECHNOLOGY OF THE TABLETS WITH CHICORY AND CORN EXTRACT

O.I. YEZERSKA
T.H. KALYNYUK

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Ukraine

e-mail: o_yezerska@mail.ru

As a result of performed investigations the effect of excipients and their quantity on the pharmaco-technological properties of tablets with chicory and corn extract was established using method of regression analysis. Excipients for development of optimal composition of the tablets were defined.

Key words: chicory and corn extract, tablets, excipients, pharmaceutical technology.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ И ФАРМАКОГНОЗИЯ

УДК 615.35:543.544.5

КОНТРОЛЬ СОПУТСТВУЮЩИХ ПРИМЕСЕЙ В СУБСТАНЦИИ КОКАРБОКСИЛАЗА ГИДРОХЛОРИД МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

А.А. ЗИНЧЕНКО

Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств

e-mail: Zincheno@phukr.kharkov.ua

В статье изложены результаты разработки методики определения сопутствующих примесей субстанции кокарбоксилаза гидрохлорид, методом прямофазной жидкостной хроматографии. Приведена подробная методика и результаты определения валидационных характеристик. В отличие от используемых в настоящее время методик, разработанная методика позволяет исключить применение органических растворителей, при этом сократить время получения одной хроматограммы до 10 мин. Результаты валидационных исследований свидетельствуют о соответствии методики требованиям фармакопеи.

Ключевые слова: кокарбоксилаза, фосфотиамин, тиамин, высокоэффективная жидкостная хроматография.

Препараты витамина B_1 широко используется в медицинской практике. Одним из таких препаратов является «кокарбоксилаза», представляющий собой хлорид эфир тиамина и пирофосфорной кислоты. Этот препарат применяют при легочной и печеночной недостаточности, диабете, сердечной недостаточности, хроническом алкоголизме и ряда других заболеваний [1, 2]. В промышленности кокарбоксилазу получают из тиамина по схеме (рис. 1):

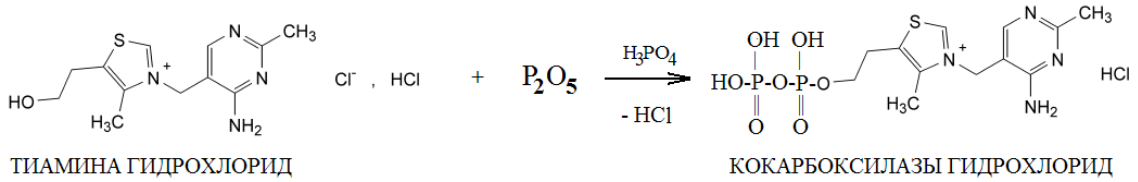
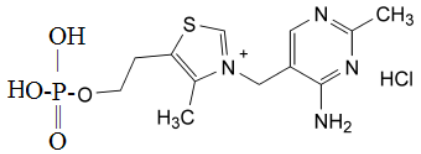
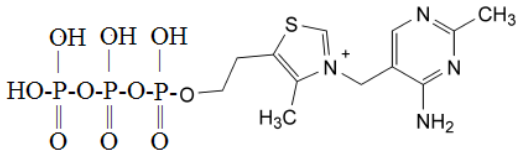


Рис. 1. Схема получения кокарбоксилазы

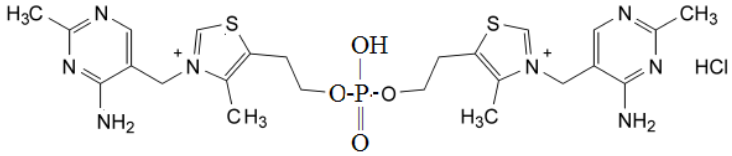
В процессе получения кокарбоксилазы образуются также эфир тиамина и о фосфорной кислоты (фосфотиамин), эфир дитиаминмонофосфорной кислоты, а также эфир тиамина и три-о-фосфорной кислоты (рис. 2). Основная часть этих соединений удаляется из конечного продукта в процессе очистки кокарбоксилазы, однако частично, эти вещества попадают в готовую субстанцию кокарбоксилазы.



эфир тиамина и о- фосфорной кислоты (фосфотиамин)



эфир тиамина и три-о-фосфорной кислоты



эфир дитиаминмонофосфорной кислоты

Рис. 2. Возможные примеси субстанции кокарбоксилазы гидрохлорида

Другой возможной примесью этого препарата может быть не вступивший в реакцию тиамин, а также фосфорная кислота. Таким образом, все перечисленные выше соединения могут быть примесями субстанции кокарбоксилазы, причем как технологическими, так и продуктами распада, за исключением эфира тиамина и три-о-фосфорной кислоты и эфира дитиаминмонофосфорной кислоты. В соответствии с современными требованиями к контролю качества лекарственного препарата, все возможные примеси субстанции кокарбоксилазы подлежат контролю и методика их определения должна быть включена аналитический нормативный документ.

Субстанция кокарбоксилазы в фармакопеях ведущих стан не описана. В СССР было производство этого препарата и по действующей в то время фармакопейной статье содержание примесей контролировали методом ВЭЖХ с использованием колонки размером 80 мм × 2,0 мм, заполненной обращенно-фазовым сорбентом. В качестве подвижной фазы применяли раствор фосфатного буферного раствора pH 6,0 с тетрабутиламмонием гидросульфатом и ацетонитрилом в соотношении 95:5. Условия хроматографирования этой методики были ориентированы на использование микроколоночного хроматографа «Милихром», и методика позволяла определять основную примесь кокарбоксилазы – фосфотиамин.

За прошедшие с момента развала СССР годы в Российской Федерации и в некоторых станах СНГ было организовано несколько производств субстанции кокарбоксилазы. Поскольку технологическая схема производства этого препарата практически не изменилась, в нормативную документацию с небольшими изменениями, связанными с размерами колонки и температурным режимом хроматографирования, включали методику, разработанную еще в СССР. Однако с ростом требований к качеству субстанции и появлением на рынке СНГ препаратов европейских и китайских производителей [3] возникла практическая необходимость в методике, которая позволит провести определение всех возможных примесей кокарбоксилазы при минимальных затратах на проведение анализа.

Целью данной работы являлась разработка методики количественного определения возможных примесей, субстанции кокарбоксилазы и изучение основных метрологических характеристик разработанной методики.

Сама субстанция тиамина хлорида описана во всех фармакопеях ведущих стан [4-8]. В фармакопейных монографиях на этот препарат, для определения сопутствующих примесей применяют метод ВЭЖХ. Поскольку тиамин является катионом, в состав подвижной фазы вводят гексансульфонат натрия (или аналогичный реагент), который модифицирует сорбент, превращая колонку фактически в катионо-обменную, что обеспечивает приемлемые характеристики колонки для разделения примесей тиамина. В процессе производства кокарбоксилазы, при введении в структуру молекулы фрагмента пирофосфорной кислоты (рис. 1) тиамин уже входит в структуру аниона. Поэтому для разделения близких по природе сопутствующих примесей можно либо использовать соответствующий йон-парный реагент, как это было сделано в методике, разработанной в СССР, либо применить анионо-активную колонку. Сравнивая основные характеристики двух вариантов методики, такие как время получения одной хроматограммы,

стоимость растворителей, реактивов и расходных материалов, предпочтение отдали второму варианту.

В литературе описано несколько методик совместного определения тиамина, фосфотиамина и кокарбоксилазы. В большинстве работ определение проводят на колонке с обращенно-фазовым сорбентом с группами С18 или амид-С16 [9-11] или на двух последовательно соединенных колонках с октильными и аминными группами [12]. Во всех этих работах в качестве подвижной фазы применяют смесь фосфатного буферного раствора и ацетонитрила или метанола. В разработанной авторами методике использовали одну колонку, заполненную сорбентом с привитыми пропиламинными группами. Этот сорбент позволяет получить приемлемое разделение определяемых веществ с использованием подвижной фазы, состоящей только из воды с добавками фосфорной кислоты. Изменяя концентрацию фосфорной кислоты, можно менять время удерживания и коэффициент симметрии пика кокарбоксилазы, а также коэффициент разделения пиков тиамина и фосфотиамина и время получения одной хроматограммы (рис. 3).

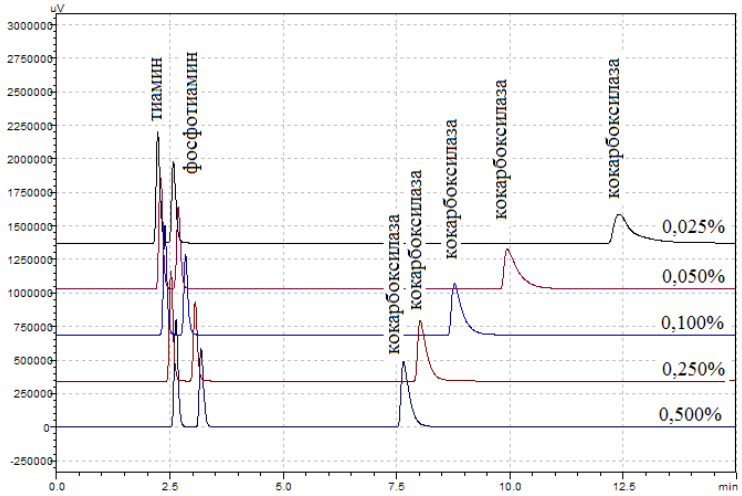


Рис. 3. Хроматограммы модельного раствора, полученные при использовании подвижной фазы с концентрацией фосфорной кислоты от 0,025% до 0,500%

Характеристики хроматографической системы при использовании подвижной фазы с концентрацией фосфорной кислоты от 0,025% до 0,500% представлены в табл. 2.

Таблица 2

Характеристики хроматографической системы, при использовании подвижной фазы с концентрациями фосфорной кислоты от 0,025% до 0,500%

Наименование вещества	Характеристика	Концентрация фосфорной кислоты в ПФ (в %)				
		0,025	0,050	0,100	0,250	0,500
Тиамин	Время удерживания (мин.)	2,231	2,291	2,383	2,522	2,628
	Коэффициент симметрии $T_{10\%}$	1,339	1,337	1,329	1,326	1,321
	Эффективность хроматографической системы (теор. тарелки)	2906	3061	3359	3758	3932
Фосфотиамин	Время удерживания (мин.)	2,574	2,680	2,842	3,050	3,187
	Коэффициент симметрии $T_{10\%}$	1,393	1,369	1,355	1,340	1,338
	Эффективность хроматографической системы (теор. тарелки)	3473	3709	4217	4823	5090
	Коэффициент разделения тиамин/фосфотиамин	2,015	2,272	2,703	3,108	3,229
Кокарбоксилаза	Время удерживания (мин.)	12,407	9,942	8,773	8,021	7,652
	Коэффициент симметрии $T_{10\%}$	2,801	2,641	2,508	2,198	2,096
	Эффективность хроматографической системы (теор. тарелки)	7277	7301	7459	8313	8624

Уменьшение времени удерживания пиков кокарбоксилазы с увеличением концентрации фосфорной кислоты в подвижной фазе можно объяснить процессом вытеснения фосфат-

ионами фосфорной кислоты фрагментов пирофосфорной кислоты кокарбоксилазы с активных центров сорбента. При этом возрастает количество фосфат-ионов, которые взаимодействуют с аминными группами неподвижной фазы, т.е. на определенный момент времени эта часть фосфат-ионов становится неподвижной. С этими неподвижными ионами взаимодействуют фосфотиамин и тиамин, за счет чего происходит увеличение времени удерживания и возрастает коэффициент разделения этих веществ.

Исходя из хроматограмм, представленных на рис. 3, предпочтение, с точки зрения критериев хроматографического разделения, можно было бы отдать подвижной фазе с максимальной концентрацией фосфорной кислоты – 0,5%. Но учитывая, что с ростом концентрации кислоты время эксплуатации колонки снижается, была выбрана подвижная фаза, содержащая 0,1% фосфорной кислоты.

В ходе проведения предварительных исследований на 5 сериях препарата производства ГП «Завод химических реактивов», Украина, было установлено, что эфир тиамина и три-о-фосфорной кислоты в препарате отсутствует, поэтому в разработанную методику не было включено определение этого вещества.

Материалы и оборудование.

При разработке методики и изучении валидационных характеристик использовали жидкостный хроматограф модели LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) следующей комплектации: два насоса LC-20AD, спектрофотометрический детектор SPD-20AV, автоматический инжектор SIL-20, термостат колонок CTO-20A.

Колонка стальная, размером 150 мм × 4,0 мм, заполненная сорбентом «ReproSil-Pur NH_2», размер частиц 3 мкм, производство «Dr. Maisch», Германия.

Тиамин монофосфат хлорид дигидрат (фосфотиамин) – производство Sigma-Aldrich, кат № T8637, с содержанием основного вещества 99,9 %.

Кокарбоксилаза, субстанция – производства ГП «Завод химических реактивов», Украина, содержание основного вещества 99,88 %.

Образец эфира дитиаминмонофосфорной кислоты получен в лабораторных условиях, при реакции избытка тиамина гидрохлорида с фосфорным ангидридом.

При хроматографировании использовали трижды перегнанную воду с электропроводимостью 0,9 мкСм.

Методика.

Приготовление испытуемого раствора. Около 50 мг (точная навеска) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 40 мл подвижной фазы (ПФ), доводят объём раствора этим же растворителем до метки и перемешивают. Полученный раствор фильтруют через фторопластовый фильтр с размером пор не более 0,5 мкм.

Приготовление раствора сравнения фосфотиамина. Около 30 мг (точная навеска) стандартного образца (СО) фосфотиамина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл ПФ, доводят объём раствора этим же растворителем до метки и перемешивают (исходный раствор фосфотиамина).

3,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора ПФ до метки и перемешивают.

Приготовление раствора для проверки пригодности хроматографической системы. 30 мг тиамина гидрохлорида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл ПФ, доводят объём раствора этим же растворителем до метки и перемешивают.

3,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 3,0 мл исходного раствора фосфотиамина, доводят объём ПФ до метки и перемешивают.

Измерение:

По 5 мкл испытуемого раствора, раствора сравнения фосфотиамина и раствора для проверки пригодности хроматографической системы хроматографируют на жидкостном хроматографе в следующих условиях:

– колонка стальная, размером 150 мм × 4,0 мм, заполненная сорбентом «ReproSil-Pur NH_2», размер частиц 3 мкм;

– подвижная фаза – 0,1 % раствор кислоты фосфорной;

– скорость ПФ – 0,5 мл/мин;

– температура колонки – 35 °С;

– длина волны детектирования – 250 нм.

Содержание фосфотиамина и любой другой примеси в препарате (X), в процентах, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_i \times m_o \times 50 \times 3 \times P \times 100}{S_o \times m \times 100 \times 100 \times 100} = \frac{S_i \times m_o \times 3 \times P}{S_o \times m \times 200},$$

где S_o – среднее значение площади пика фосфотиамина, рассчитанное из хроматограмм раствора сравнения фосфотиамина;

S_i – среднее значение площади пика фосфотиамина или любой другой примеси, рассчитанное из хроматограмм испытуемого раствора;

m_o – масса навески фосфотиамина, в миллиграммах;

m – масса навески препарата, в миллиграммах;

P – содержание основного вещества в СО фосфотиамина, в процентах.

Содержание фосфотиамина в препарате должно быть не более 1,0 %.

Содержание любой другой примеси, в пересчете на фосфотиамин, в препарате должно быть не более 0,1 %.

Суммарное содержание фосфотиамина и других примесей, в пересчете на фосфотиамин, должно быть не более 1,0 %.

В качестве критериев пригодности хроматографической системы использованы:

– эффективность хроматографической системы, рассчитанная по пику фосфотиамина на хроматограммах раствора сравнения фосфотиамина которая должна быть не менее 3500 теоретических тарелок;

– коэффициент разделения пиков тиамина и фосфотиамина, рассчитанный из хроматограмм раствора для проверки пригодности хроматографической системы, должен быть не менее 2;

– относительное стандартное отклонение площадей пиков фосфотиамина, рассчитанное из хроматограмм раствора сравнения фосфотиамина, должно быть: для 3 параллельных введений – не более 1,34 %; для 4 параллельных введений – не более 1,92 %; для 5 параллельных введений – не более 2,37 % [13].

Типичные хроматограммы раствора сравнения испытуемого раствора препарата, СО фосфотиамина и раствора для проверки хроматографической системы представлены на рис. 4-6.

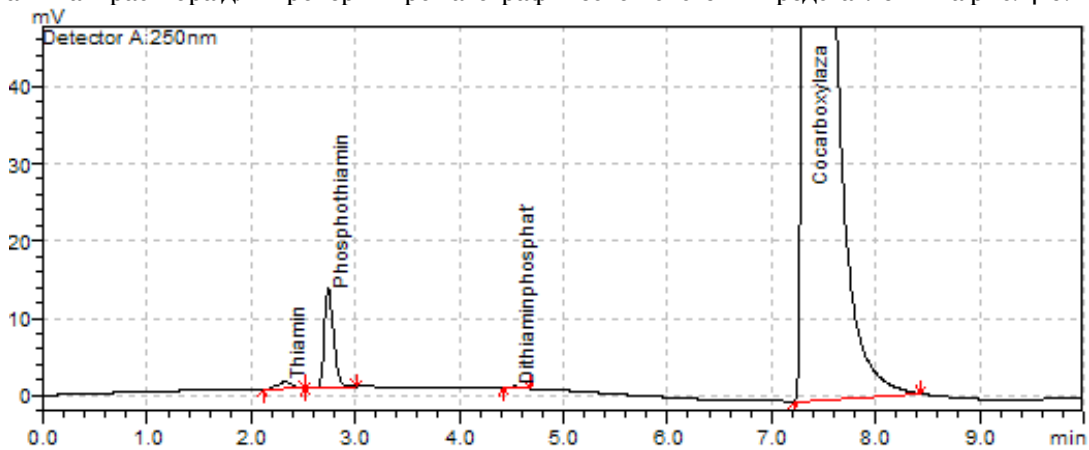


Рис. 4. Хроматограмма испытуемого раствора

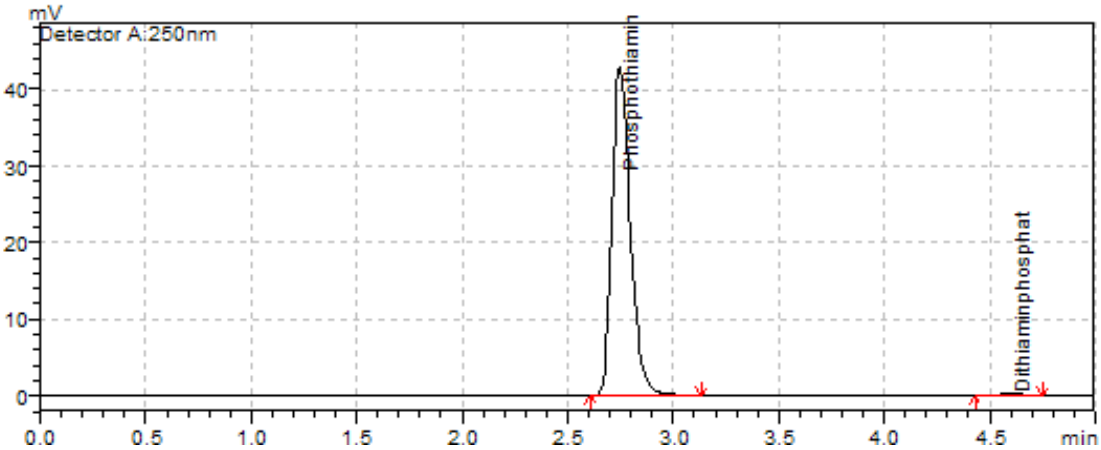


Рис. 5. Хроматограмма раствора сравнения фосфотиамина

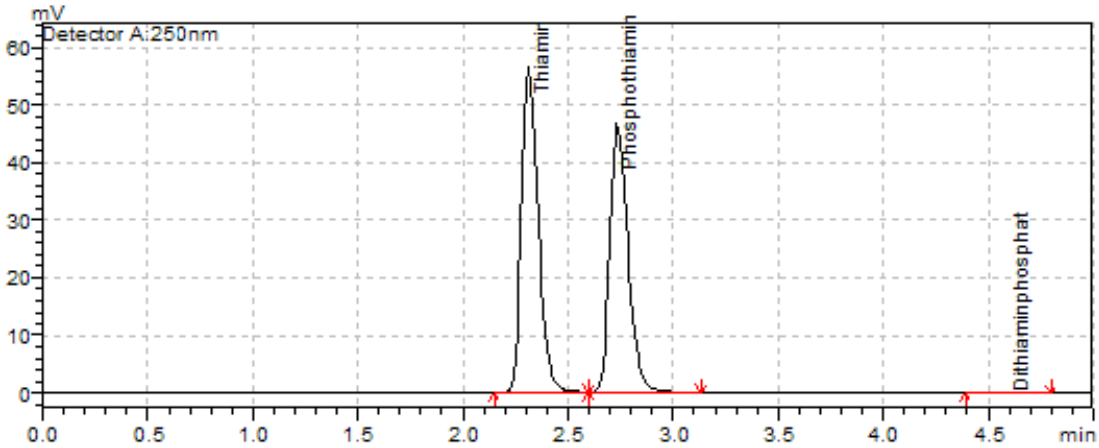


Рис. 6. Хроматограмма раствора для проверки пригодности хроматографической системы

Валидация методики:

В соответствии с [14], валидацию методики проводили по характеристикам селективность, правильность, прецизионность (сходимость), линейность и диапазон применения.

Кроме того, была рассчитана предельная расчетная неопределенность методики количественного определения фосфотиамина и определен предел обнаружения фосфотиамина. Все расчеты критериев приемлемости валидационных характеристик были рассчитаны и приняты как для испытаний количественного определения сопутствующих примесей, т.е. неопределенность результата методики не должна превышать 5%.

Селективность методики подтверждается полным разделением пиков тиамина, фосфотиамина, эфира дитиаминмонофосфорной кислоты и кокарбоксилазы. А также совпадением времен удерживания перечисленных веществ на хроматограммах испытуемого раствора или модельных растворов с временем удерживания основных пиков на хроматограммах растворов сравнения (рис. 7).

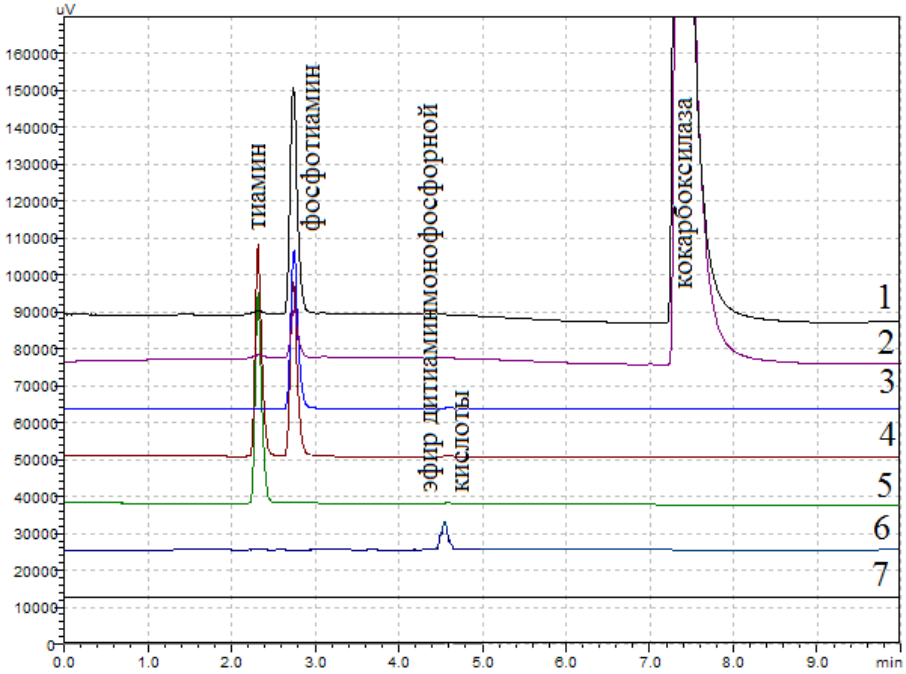


Рис. 7. Хроматограммы модельного раствора препарата с добавкой фосфотиамина (1), испытуемого раствора (2), раствора сравнения фосфотиамина (3), раствора для проверки пригодности хроматографической системы (4), раствора тиамина (5), раствора эфира дитиаминмонофосфорной кислоты (6) и растворителя (7)

Исследование характеристик правильность, прецизионность (сходимость), линейность и диапазон применения проводили на модельных растворах препарата с добавками фосфотиамина в концентрациях, соответствующих диапазону от 25% до 225% по отношению к предельно допустимой концентрации (для данного случая – 1,0%). Выбор этого диапазона обусловлен значительным разбросом предельно допустимой концентрации фосфотиамина в кокарбоксилазе разных производителей (от 1% до 4%) и данными производителей субстанции о реальном содержании фосфотиамина в препарате.

Полученные при хроматографировании модельных растворов результаты приведены в табл.3.

Таблица 3

Результаты анализа модельных растворов, содержащих от 25 % до 225 % фосфотиамина по отношению к предельно допустимой концентрации, и их статистическая обработка

№ раствора	Введено в % от номинальной концентрации (Xi, факт., %)	Найдено в % от номинальной концентрации (Yi, %)	Найдено в % к введенному Zi = 100 • (Yi/Xi)
1	25	24,86	99,43
2	50	49,49	98,99
3	75	75,60	100,80
4	100	100,38	100,38
5	125	125,22	100,17
6	150	149,79	99,86
7	175	174,28	99,59
8	200	199,00	99,50
9	225	225,58	100,26
Среднее, Zср, % =			99,886
Относительное стандартное отклонение, RSD_z, % =			0,566
Относительный доверительный интервал Δ_z % = t (95 %, 9 – 2) x RSD_z = 1,895 x 0,566 =			1,076
Критическое значение для сходимости результатов Δ_{As}, % =			1,6
Систематическая ошибка δ % = | Zср – 100 | =			0,114
Критерий незначимости систематической ошибки:			
1) статистическая незначимость: $\delta < \Delta_z : \sqrt{9} = 1{,}076 : 3 = 0{,}359\ \% > 0{,}114\ \%$			Выполняется
Если не выполняется 1), то $\delta \le \max \delta$: 2) практическая незначимость: $\delta\% \le 0{,}32 \times 1{,}6 = 0{,}51\ \% > 0{,}114\ \%$			Выполняется
Общий вывод о методике			КОРРЕКТНА

Из данных, приведенных в табл. 3, следует, что методика количественного определения фосфотиамина не имеет статистически значимой систематической ошибки, характеризуется достаточной правильностью и сходимостью (прецизионность) во всем диапазоне концентраций (от 25 % до 225%) и является корректной.

График линейной зависимости найденного количества фосфотиамина от введенного и результаты статистической обработки представлены на рис. 8 и в табл. 4.

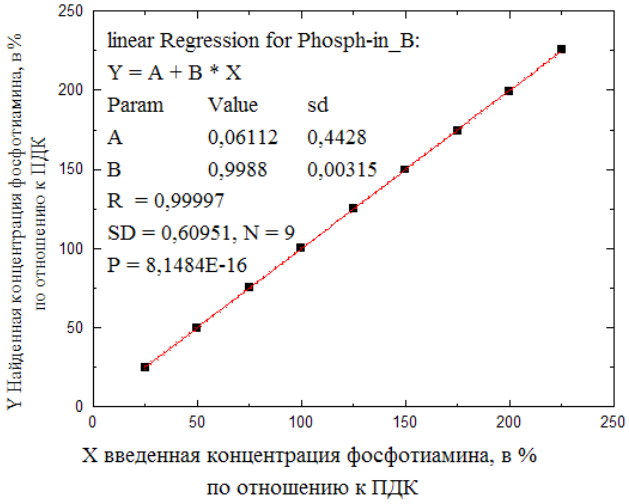


Рис. 8. Линейная зависимость найденной концентрации фосфотиамина от его введенной концентрации (в нормализованных координатах)

Таблица 4

Метрологические характеристики линейной зависимости найденной концентрации фосфотиамина от его введенной концентрации

Параметры	Значения	Требования 1	Требования 2	Заключение
b	0,9988			
S_b	0,00315			
a	0,006112	< |1,88 |	<|0,683|	Выдерживается по 1 критерию
S_a	0,4428			
RSD_o	0,60951			
RSD_o/b	0,6102	<|0,84|		Выполняются
r	0,99997	≥|0,99988|		Выполняются

Как следует из представленных данных, требования к параметрам линейной зависимости выполняются, то есть линейность методики количественного определения фосфотиамина подтверждается в диапазоне концентраций от 25% до 225% от предельно допустимого значения.

Неопределенность методики (Δ_{As}) складывается из неопределенности внесенной пробоподготовки (Δ_{SP}) и неопределенности конечной аналитической операции – хроматографирования и расчета площадей пиков определяемого вещества (Δ_{FAO}):

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2}$$

Расчетная неопределенность операций приготовления испытуемого раствора и раствора сравнения препарата составляет 0,87 %. Неопределенность конечной аналитической операции рассчитывали по результатам хроматографирования модельного раствора с концентрацией фосфотиамина соответствующей предельно допустимой (1%) и раствора сравнения фосфотиамина. Суммарное значение неопределенности результатов конечной хроматографической операции, по трем параллельным хроматограммам каждого из растворов составляет 0,95%. Отсюда следует, что суммарная неопределенность методики (Δ_{As}) составляет 1,3%. Это значение не превышает предельно допустимую величину – 1,6%.

Проведенные исследования основных валидационных характеристик методики определения фосфотиамина и других сопутствующих примесей препарата кокарбоксилаза, субстанция показывают, что по характеристикам селективность, правильность, прецизионность (сходимость), линейность, разработанная методика удовлетворяет фармакопейным требованиям [14] к методикам количественного определения сопутствующих примесей.

Выводы.

1. Разработана методика определения сопутствующих примесей в субстанции кокарбоксилазы методом ВЭЖХ. Методика отличается от используемой в настоящее время низкой себестоимостью одного анализа и значительным сокращением времени получения одной хроматограммы (менее 10 мин.).

2. Исследование основных валидационных характеристик методики показало, что методика соответствует требованиям, предъявляемым к методикам количественного определения сопутствующих примесей.

Литература

1. Машковский, М.Д. Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: Новая Волна, 2006. – 1200 с.
2. Островский Ю.М. Кокарбоксилаза и другие тиамин-фосфаты / Ю.М. Островский. – Минск: Наука и техника, 1974.
3. Регистр лекарственных средств России РЛС Энциклопедия лекарств. – 15-й вып / Гл.ред. Г.Л.Вышковский, – М.: РЛС-2007, 2006. – С.1488.
4. European Pharmacopoeia. 7th ed. – Strasbourg: Council of Europe, V1,V2. 2010. – 3265 p
5. The Japanese Pharmacopeia XVI ed. – 2011. – 2319 p.
6. United States Pharmacopeia. 30 ed.- Rockville, 2010 – 2569 p
7. Pharmacopeia of the people's Rebublic of China (English Edition 2005) Vol. IIa, Chemical Industry Press, Beijng, 2005 – p 830
8. Кузьмин, С.В. Ион-парная обращено-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография в идентификации и количественном определении примеси фосфотиамина в гидрохлориде кокарбоксилазы / С.В. Кузьмин, Е.Е. Ишина, М.Л. Шишкова, В.А. Козлов // Хим-фарм. журн. – 1997. – Т 31, № 5. – С.54-56.
9. F. Aguilar, U.R. Charrondiere, B. Dusemund, P. Galtier, J. Gilbert, D.M. Gott, S. Grilli, R. Guertler, G.E.N. Kass, J. Koenig, C. Lambre, J-C. Larsen, J-C. Leblanc, A. Mortensen, D.Parent-Massin, I. Pratt, I. Rietjens, I. Stankovic, P. Tobback, T. Verguieva, R. Woutersen., Benfotiamine, thiamine monophosphate chloride and thiamine pyrophosphate chloride, as sources of vitamin B1 added for nutritional purposes to food supplements., *The EFSA Journal* (2008) 864, p. 1-31.
10. Бендрышев А.А. Определение водорастворимых витаминов в витаминных комплексах, премиксах, биологически-активных добавках и фармацевтических препаратах методом высокоэффективной хроматографии с градиентным элюированием / А.А. Бендрышев, Е.Б. Пашкова, А.В. Пирогов, О.А. Шпигун // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Химия. – 2010. – Т.51, №4.
11. Rada Amidžič, Jasmina Brborič, Ol.Ivera Čudina and Sote Vladimirov, RP-HPLC Determination of vitamins B_1, B_3,B_6, folic acid and B_{12} in multivitamin tablets, O. Serb. Chem. Soc. 70 (10) 1229-1235 (2005).
12. S. Backermann, C. Poel, W. Ternes., Thiamine Phosphates in Egg Yolk Granules and Plasma of Regular and Embryonated Eggs of Hens and in Five – and Seven-Day-Old Embryos. Poult. Sci., (2008) 87, 108-115.
13. Державна Фармакопея України / Держ. Підпр-во «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Доповнення 1, 2004. – 520 с.
14. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / Под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна и др.; Разработчики В.Л. Багирова, А.И. Гризодуб, Т.Х. Чибиляев, Д.А. Леонтьев, Н.А. Ляпунов и др. – М.: Фармацевтическая промышленность, 2007. – 58 с.

CONTROL OF RELATED SUBSTANCE IMPURITIES IN COCARBOXYLASE HYDROCHLORIDE BY METHOD OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

A.A. ZINCHENKO

Ukrainian research center pharmaceutical grade quality of medicines

E-mail: zinchenko@phukr.kharkov.ua

The article presents results of the development of methods for determining the substance associated impurities kokarboksilaza hydrochloride pryamofaznoy by liquid chromatography. Provides a detailed definition of the method and results validation characteristics. Unlike the currently used techniques developed method avoids the use of organic solvents , and the time of reception of a chromatogram to 10 minutes . The results of validation studies suggest methods according to Pharmacopeia.

Key words: kokarboksilaza , fosfotiamin , thiamine, high performance liquid chromatography

УДК 615.32:54

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В НЕКОТОРЫХ ВИДАХ РОДА CITRUS

О.С. ЕВСЕЕВА
О.А. АНДРЕЕВА
Э.Т. ОГАНЕСЯН

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Государственного бюджетного общеобразовательного учреждения высшего профессионального образования Волгоградского медицинского университета Минздрава России

e-mail: edwardov@mail.ru

Разработана методика количественного определения суммы флавоноидов в некоторых видах цитрусовых в пересчете на гесперидин спектрофотометрическим методом, а также проведена валидационная оценка данной методики по таким параметрам, как правильность, повторяемость, воспроизводимость и линейность. Определено количественное содержание флавоноидов в экстрактах из кожуры C.reticulata (мандарин), C.sinensis (апельсин), C.paradis (грейпфрут), C. maxima (помело) и C.limonia (лимон), максимальное содержание флавоноидов наблюдается в экстрактах из мандарина и грейпфрута – 7,68% и 7,46% с.

Ключевые слова: гесперидин, флавоноиды, количественное определение, валидация.

Широкий спектр биологической активности флавоноидных соединений обусловлен, прежде всего, их высокой антирадикальной активностью, благодаря чему в различных органах и тканях происходит нормализация патохимических процессов. Растущая потребность в препаратах этой группы свидетельствует о необходимости поиска доступных и экономически выгодных сырьевых источников. С этой точки зрения экономически целесообразно использование промышленных отходов пищевого производства, в частности, цитрусовых. В нашей стране кожура плодов цитрусовых практически не применяется, хотя она богата пектинами, витаминами и флавоноидами. Ранее нами из кожуры апельсинов была получена субстанция, характеризующаяся противоязвенной активностью [4]. На основе флавоноидов кожуры цитрусовых (диосмина и гесперидина) за рубежом выпускают препараты «Детралекс», «Диовенор» и др. Максимальное содержание флавоноидов наблюдается в кожуре, причем большинство из них представлено гликозидами флаванонов [11, 12]. В табл. 1 приведен состав флавоноидов плодов различных видов цитрусовых [7, 8, 9, 10].

Таблица 1

Флавоноиды плодов цитрусовых

Флавоноиды	Вид цитрусовых	Структура С-кольцаа	
Нарингин	C.paradisi, C.aurantium C. maxima	FLA	5,4'-OH, 7-o-Neo
Неогесперидин	C. reticulata	FLA	5,3',4'-OH, 7-o-Neo
Гесперидин	C.sinensis, C.paradisi C.limonia, C. reticulata C. maxima	FLA	5,3' -OH, 4'-OMe, 7-o-Rut
Диосмин	C.sinensis, C.limonia	FLO	5,3'-OH, 4'-Оме, 7-o-Rut
Рутин	C.limonia	FOL	5,7,3',4'-OH, 3-o-Rut
Нарингенин	C.paradisi, C.aurantium C.sinensis	FLA	5,7,4'-OH
Эриодиктиол	C.aurantium	FLA	5,7,3',4'-OH
Эриодиктиол	C.aurantium	FLA	5,7,3',4'-OH
Гесперетин	C. Reticulate, C.sinensis	FLA	5,7,3'-OH, 4'–OMe
Апигенин	C.paradisi	FOL	5,7,4'-OH
Лютеолин	C.limonia, C.sinensis C.aurantium	FOL	5,7,3' ,4'-OH
Диосметин	C.sinensis	FOL	5,7,3'-OH ,4' –OMe
Кемпферол	C.paradisi	FOL	5,7,3,4'-OH
Кверцетин	C.limonia	FOL	5,7,3, 3' ,4-OH
Тангеритин	C.aurantium, C.paradisi C.limonia	FLO	5,6,7,8,4'–OMe

Примечание: FLA – флаваноны; FLO – флавоны; FOL – флавонолы Neo – неогесперидозид; Rut – рутинозид.

Из представленных данных следует, что определение содержания суммы флавоноидов целесообразно проводить в пересчете на гесперидин, поскольку данный флаванон-биозид содержится практически во всех представителях рода Citrus, а по молекулярной массе и спектральным характеристикам близок к диосмину и рутину.

Цель нашего исследования – разработка и валидация методики количественного определения флавоноидов в разных видах рода Citrus.

В основу количественного исследования положен спектрофотометрический метод, основанный на измерении оптической плотности флаванонов. В качестве стандартного образца использовали гесперидин.

Материалы и методы.

На первом этапе исследования осуществлялся подбор растворителя. При этом мы исходили из того, что общепринятым растворителем для выделения большинства типов флавоноидов является этанол. УФ-спектры поглощения спиртовых извлечений из различных видов рода Citrus характеризуются широкой полосой поглощения с максимумом при 330 нм, что не характерно для флаванонов. Причиной такого несоответствия является тот факт, что гесперидин (5,3'-диокси-4'-метокси-7-О-глюкорамнозид флаванона) – ведущий флаванон цитрусовых – практически нерастворим в этаноле. Нами ранее было установлено [1, 6], что добавление незначительных количеств диметилсульфоксида (ДМСО) к основному экстрагенту – этанолу существенно улучшает растворимость данного флаванона. Нами экспериментально установлено, что оптимальным экстрагентом в данном случае является смесь этанол–ДМСО 10:2.

Ниже представлены УФ-спектральные кривые поглощения раствора чистого образца гесперидина, а также экстрактов из кожуры C. reticulata (мандарин), C.sinensis (апельсин), C.paradis (грейпфрут) и C. maxima (помело), где в качестве растворителя использовалась смесь этанол–ДМСО 10:2 (рис. 1).

Следует отметить, что в коротковолновой области спектра УФ-спектральные кривые по интенсивности поглощения разнятся, но имеют единый максимум поглощения при 286 нм, который совпадает с таковым гесперидина в смеси этанол–ДМСО 10:2. Из этого можно сделать вывод о том, что характер кривой поглощения экстрактов из кожуры различных видов цитрусовых определяется преимущественно веществами флавононовой природы и для количественного определения в данной смеси растворителей можно исключить стадию комплексообразования с $AlCl_3$ и использовать прямое спектрофотометрическое определение.

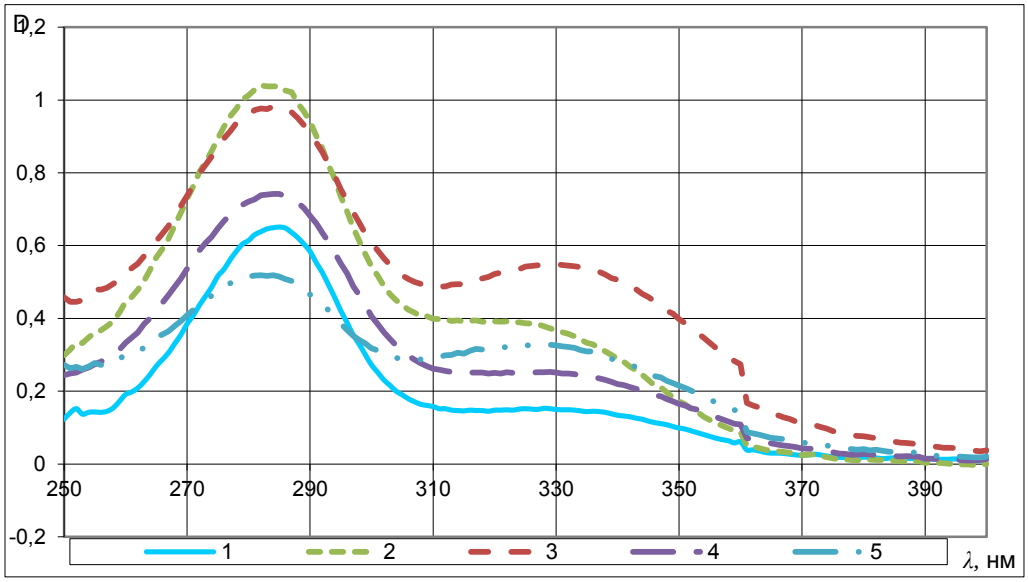


Рис. 1. 1 – гесперидин, 2 –экстракт из кожуры грейпфрута, 3 – экстракт из кожуры мандарина, 4 – экстракт из кожуры помело, 5 – экстракт из кожуры апельсина

Методика.

Аналитическую пробу сырья измельчают до размера частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 2 мм. Около 1,0 (точная навеска) помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл смеси этанол – ДМСО 10:2, к колбе подсоединяют обратный

холодильник и нагревают на кипящей водяной бане в течение 30 мин. Далее смесь охлаждают до комнатной температуры, фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу емкостью 100 мл. Извлечение вышеуказанным способом повторяют 3 раза и доводят объем фильтрата до метки смесью этанол–ДМСО 10:2. 1 мл полученного извлечения переносят в мерную колбу емкостью 25 мл и доводят объем до метки смесью этанол – ДМСО 10:2. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 286 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Для построения калибровочного графика зависимости оптической плотности от количества гесперидина в растворе точную навеску 0,01 г этого вещества количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют отмеренные 40 мл смеси этанол–ДМСО 10:2, растворяют гесперидин, затем объем раствора доводят до метки.

Для приготовления разведений в мерные колбы на 25 мл переносят аликвоты раствора стандарта и доводят до метки смесью этанол–ДМСО 10:2. Используют аликвоты раствора стандарта, мл: 0,6; 1,0; 1,4; 1,8; 2,2; 2,6; 3,0; 3,4; 3,8. При этом количество гесперидина в 25 мл спектрофотометрируемого раствора равно соответственно г*10^{-5}: 0,48; 0,80; 1,12; 1,296; 1,76; 2,08; 2,40; 2,72; 3,04.

Оптическую плотность измеряют при длине волны 286 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см; в рабочую кювету помещают анализируемые растворы, в кювету сравнения – смесь этанол–ДМСО 10:2. Калибровочный график зависимости оптической плотности (D) от количества гесперидина в спектрофотометрируемом растворе (с) имеет вид прямой линии (рис. 2).

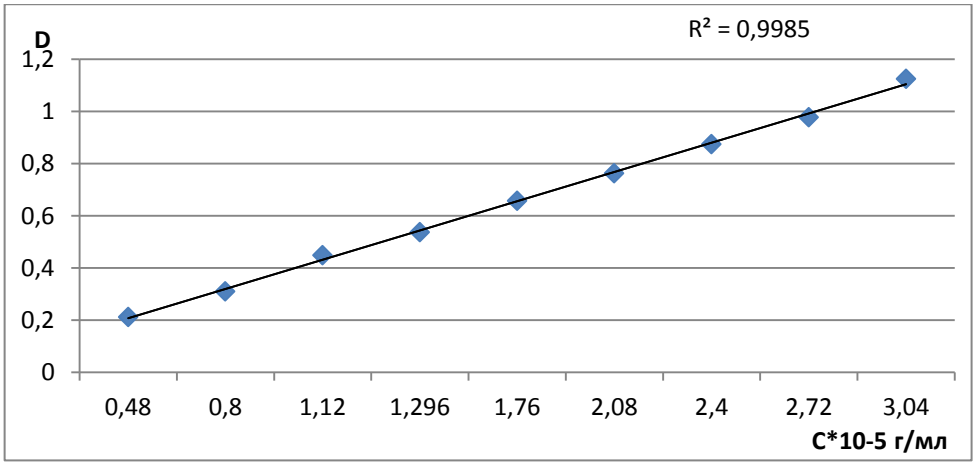


Рис. 2. Градуировочный график

Массовую долю суммы флавоноидов в исследуемых в экстрактах пересчете на гесперидин вычисляют по формуле:

$$X = \frac{c \cdot 100 \cdot 25 \cdot 100}{a \cdot 1 \cdot (100 - \omega)} \cdot 100\%,$$

где с – количество гесперидина в анализируемой аликвоте экстракта, соответствующее измеренной оптической плотности по калибровочному графику, с ·10^{-5} г/мл; а – масса сырья, г; ω – потеря в массе сырья при высушивании, %.

Квалификация методики (валидация) проводилась по таким параметрам как: правильность, повторяемость, воспроизводимость и линейность методики [2, 3, 5].

Правильность методики устанавливали путем измерения количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете на гесперидин в растворах, полученных добавлением необходимого количества стандарта к исследуемому раствору. Критерием приемлемости являлся средний процент восстановления при использовании растворов концентраций, скорректированный на 100%, и его средняя величина должна находиться в пределах 100±5%. Показано, что процент восстановления находится в интервале от 97,7 до 100,98%, а его средняя величина составляет–99,49% (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определения правильности методики

Найдено, опт.плотность	Добавлено, опт.плотность	Должно быть, опт.плотность	Найдено, опт.плотность	Ошибка, %
0,7504	-	-	-	-
	0,1899	0,9403	0,9191	97,75
			0,9286	98,76
			0,9292	98,82
	0,2949	1,0453	1,0474	100,20
			1,0555	100,98
			1,0472	100,18
	0,3767	1,1271	1,1181	99,20
			1,1246	99,78
			1,1241	99,73
Средний % восстановления	99,49			

Повторяемость методики определяли на одном образце сырья в 6 повторениях. Критерий приемлемости выражался величиной коэффициента вариации. Коэффициент вариации не должен превышать 4,0%. Он составил 1,85%, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости (табл. 3).

Таблица 3

Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на гесперидин в кожуре C.maxima

№ измерения	Содержание суммы флавоноидов в пересчете на гесперидин, %
1	6,5012
2	6,6332
3	6,7745
4	6,5167
5	6,6385
6	6,4645
Коэффициента вариации %	1,85

Определение воспроизводимости методики проводили на 3 образцах в трех повторностях (выполняли 2 химика-аналитика). Критерий приемлемости выражался величиной коэффициента вариации. Коэффициент вариации не должен превышать 10%. В нашем случае он составил 5,69%, что указывает на прецизионности методики в условиях воспроизводимости (табл. 4).

Таблица 4

Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на гесперидин в кожуре C. maxima

Первая серия измерений			
Номер образца	1	2	3
Химик №1	5,15	5,13	5,50
Химик №2	5,75	5,47	5,31
Вторая серия измерений			
Химик №1	5,17	5,11	5,63
Химик №2	5,68	5,45	5,51
Третья серия измерений			
Химик №1	5,20	5,12	5,68
Химик №2	5,70	5,49	5,46
Среднее значение	5,44	5,30	5,50
Коэффициента вариации %	5,69	3,81	2,49

Определение линейности проводили на 6 уровнях концентраций от теоретического содержания суммы флавоноидов в пересчете на гесперидин. Растворы готовили путем разбавлении аликвоты и увеличения аликвоты для измерения количественного содержания суммы флавоноидов в пересчете не гесперидин (рис. 3).

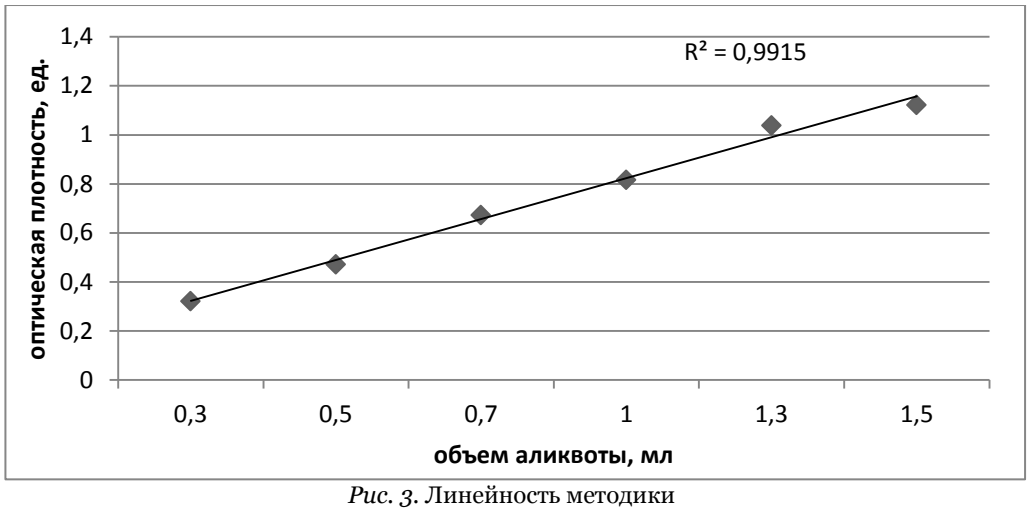


Рис. 3. Линейность методики

Мерой линейности является коэффициент корреляции,и если его величина близка единице, то совокупность данных можно описать прямой линией. Величина коэффициента корреляции должна быть не ниже 0,98. Коэффициент корреляции в нашем экспериментесоставил 0,9915.

В ходе исследований установлено, что разработанная нами методика легко воспроизводима, доступна, занимает минимум рабочего времени и не требует дорогостоящих реактивов.

С использованием этой методики проведено определение содержания суммы флавоноидов в пересчете на гесперидин в некоторых видах рода Citrus: экстрактах из кожуры C. reticulata (мандарин), C.sinensis (апельсин), C.paradis (грейпфрут), C. maxima (помело) и C.limonia (лимон) (табл. 5). Наибольшее содержание флавоноидов отмечено в экстрактах из мандарина и грейпфрута – 7,68% и 7,46% соответственно.

Таблица 5

Количественное содержание суммы флавоноидов в некоторых видах рода Citrus

Вид цитрусового	Количественное содержание суммы флавоноидов, %
Мандарин	7,68±0,24 ε=3,18
Грейпфрут	7,46±0,19 ε=2,61
Помело	6,38±0,29 ε=4,42
Лимон	5,13±0,19 ε=3,86
Апельсин	4,07±0,17 ε=4,17

Выводы.

1. Разработана методика количественного определения содержания флавоноидов в некоторых видах рода Citrus.
2. Установлены параметры правильности, повторяемости, воспроизводимости и линейности разработанной методики.
3. Определено количественное содержание флавоноидов в экстрактах из кожуры C. reticulata (мандарин), C.sinensis (апельсин), C.paradis (грейпфрут) и C. maxima (помело) и C.limonia (лимон), максимальное содержание флавоноидов наблюдается в экстрактах из мандарина и грейпфрута – 7,68% и 7,46% соответственно.

Литература

1. Выделение диосмина из растений рода вика и иссопа лекарственного и его влияние на свертывание крови / М.Н. Ивашев, О.А. Андреева, В.А. Бандюкова, Т.Д. Драгалева // Хим.-фармац. журн. – 1995. – №9. – С. 39-41.
2. ГОСТ Р ИСО 5725-3-2002 « Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений». Часть 3 // Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений. – М.: Госстандарт. – 28 с.
3. Гаврилин, М.В. Валидация аналитических методик : методические указания для студентов и аспирантов / М.В. Гаврилин, С.П. Сенченко. – Пятигорск: ГОУ ВПО Пятигорская ГФА Росздрава, 2008. – 35 с.

4. Патент RU 2262944 C2 A 61 K 35/78, A 61 P 1/04. Средство из отходов цитрусовых, обладающее противоязвенной активностью / Оганесян Э.Т., Хочава М.Р., Доркина Е.Г., Репс В.Ф., Андреева О.А. (РФ). – № 2001103422/15; заявл. 05.02.2001; опубл. 27.10.2005, Бюл.№ 30.

5. Валидация аналитических методик. Содержание и методология : Руководство ICH / Фармация. – 2008. – №4. – С.3-10.

6. Сумма гликозидов диосметина из Вики обрубленной: выделение и изучение биологического действия / О.А. Андреева, Н.И.Ивашев, И.И. Озимина, Г.В. Масликова // Хим.-фармац. журн. – 1998. – Т.32, №11. – С.28-30.

7. Caracteristic of antioxydative flavonoid glycosides in lemon fruit /Miyake Y., Yamamoto K., Morimitsu Y., Osawa T. //Food and Feed Chemistry. – 1998. –Vol.4, №1. – P.48-53.

8. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from theanalytical literature / Peterson, J.J., Beecher, G.R., Bhagwat, S.A. et al.//Journal of Food Composition and Analysis. – 2006. –19. – P.74-80.

9. Flavanones in oranges, tangerines (mandarins), tangors, and tangelos: a compilation and review of the data from the analytical literature/ Julia J. Petersona, Johanna T. Dwyer et al. // Journal of Food Composition and Analysis. – 2006. –№19. – P.66-73.

10. High-performance liquid chromatography-electrospray mass spectrometry in phytochemical analysis of sour orange (Citrus aurantum L.) /He H., Lian L., Lin L., Btrnart M., Matthew W. // J.Chromatogr. – 1997. – Vol. 791, №1-2. – P.127-134.

11. Middleton E. Biological propertis of plant flavonoids: an overview // International Journal of Pharmacognosy. – 1996. – Vol.34, № 34. – P.344-348.

12. User and properties of Citrus flavonoids/ Benavente-Garcia O., Castillo Julian, Marin F.R. et.al // J. Agr. And Food Chem. – 1997. – Vol. 45, №12. – P.4506-4514.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ASSAY METHOD OF FLAVONOIDS IN SOME SPECIES OF THE GENUS CITRUS

O.S. EVSEEVA
O.A. ANDREEVA
E. T. OGANESYAN

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, a branch of the state budget general educational Institution of Higher Professional Education of the Volgograd State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation

e-mail: edwardov@mail.ru

The method of spectrophotometric assay of flavonoids sum in some species of the genus Citrus (equivalent to hesperidin) was developed and validation study was carried out to estimate such characteristics as accuracy, repeatability, reproducibility and linearity. Flavanoids content was determined in extracts of C. reticulate (mandarin), C.sinensis (orange), C.paradis (grapefruit), C. maxima (pomelo) and C.limonia (lemon). The maximum flavanoids content is determined in mandarins and grapefruits – 7.68 % and 7.46 % in accordance.

Key words: hesperidin, flavanoids, assay, validation.

УДК 615.322

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПОРОШКА БОДЯГИ УКРАИНСКОЙ И КИТАЙСКОЙ

Ю.С. ЦЕЛЮБА
В.С. КИСЛИЧЕНКО

Национальный Фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

e-mail: yulchik_05@mail.ru

В статье изложены результаты комплексного исследования бодяги украинской и китайской. Были определены внешний вид, микроскопические признаки, органолептические свойства, технологические параметры, качественный состав и количественное содержание аминокислот, макро-, микроэлементов в порошке бодяги, а также каротиноидов и хлорофиллов в полученных липофильных фракциях.

Ключевые слова: бодяга, аминокислоты, микро- и макроэлементы, каротиноиды, хлорофиллы, технологические параметры.

Введение.

Бодяга, или речная губка, относится к отделу губок со скелетом из кремнезема – Spongilla fluviatialus Lieberkuhn, Spongillala custris Carter к классу кишечнополостных – Demonspongiae. Губки – неподвижные колониальные животные, состоящие из большого количества соединенных между собой организмов. По внешнему виду губки очень напоминают растения. Они располагаются на подводных предметах (камнях, спаях, корягах и др.), по которым стелются в виде наростов или разветвленных кустиков.

Целью исследования стало изучение фармакотехнологических, микроскопических и физико-химических свойств порошка бодяги (украинской и китайской, наиболее распространенных на рынке Украины) с целью сравнения и последующего выбора перспективного объекта для производства косметических средств. Для этого были изучены внешний вид, микроскопические признаки, органолептические свойства, технологические параметры, качественный состав и количественное содержание некоторых биологически активных веществ бодяги.

Материалы и методы.

Внешний вид и органолептические свойства бодяги определяли визуально.

Объемный вес (d_o) – это соотношение измельченного сырья при природной или заданной влажности к ее полному объему, который включает поры, трещины и капилляры, заполненные воздухом [1], рассчитывается по формуле:

$$d_0 = \frac{P_0}{V_0}, \text{ г/см}^3,$$

где: P_o – вес измельченного сырья при природной или заданной влажности, г; V_o – объем, который занимает сырье, см³.

Текучесть (ГФУ 1.0, 2.9.16) определяли методом лейки с виброустройством с помощью прибора ВП 12А Мариупольского завода технологического оборудования [2, 3].

Удельный вес ($d_у$) представляет собой массу абсолютно сухого измельченного сырья к объему растительной ткани [1]. Расчет удельного веса($d_у$) проводили по формуле:

$$d_у = \frac{P \times d_{ж}}{P + G - F}, \text{ г/см}^3,$$

где: P – масса абсолютно сухого измельченного сырья, г; G – масса пикнометра с водой, г; F – масса пикнометра с водой и сырьем, г;$d_ж$ – удельный вес воды, г/см³ ($d_ж$ = 0,9982 г/см³).

Насыпная масса ($d_н$) – это отношение массы измельченного сырья при природной влажности до занятого сырьем полного объема, который включает частички пор и пустоты между ними [1]. Расчет насыпной массы($d_н$) проводили по формуле (2.5):

$$d_н = \frac{P_н}{V_н}, \text{ г/см}^3,$$

где: $P_н$ – вес измельченного сырья при природной или заданной влажности, г; $V_н$ – объем, который занимает сырье, см³.

Определив объемную массу, удельный вес и насыпную массу, рассчитывали пористость, порозность и свободный объем слоя.

Пористость ($П_с$) характеризует величину пустот в средине частичек сырья и определяется как соотношение разницы между удельным весом и объемной массой до удельного веса [1] и рассчитывается по формуле:

$$П_с = \frac{d_у - d_0}{d_у},$$

где: $d_у$ – удельный вес сырья г/см³; d_0 – объемный вес сырья, г/см³.

Порозность ($П_{сл}$) слоя характеризует величину пустот между частицами растительного материала, определяется как соотношение разницы между объемной и насыпной массой к объемной массе [1]. Порозность ($П_{сл}$) рассчитывали по формуле:

$$П_{сл} = \frac{d_0 - d_н}{d_0},$$

где: d_0 – объемная масса сырья, г/см³; $d_н$ –насыпная масса сырья, г/см³.

Свободный объем слоя (V) характеризует относительный объем пустот в единице слоя сырья (пустоты в середине частиц и между ними) и определяется как соотношение разницы между удельным весом и насыпной массой до удельного веса [1]. Свободный объем слоя(V) рассчитывали по следующей формуле:

$$V = \frac{d_у - d_н}{d_у},$$

где: $d_у$ – удельный вес сырья, г/см³; $d_н$ – насыпная масса сырья, г/см³.

Изучение качественного состава и количественного содержания свободных и связанных аминокислот в исследуемом сырье проводили с помощью аминокислотного анализатора Т339М Mikrotechna–Praha. Результаты исследования аминокислотного состава в изучаемых образцах порошка бодяги представлены в табл. 3. [4, 5, 6].

При сравнительном изучении элементного состава порошка бодяги был использован атомно-эмиссионный спектрографический метод с фотографической регистрацией выходящего сигнала [5, 6, 7, 8]. Результаты элементного анализа представлены в табл. 4.

С целью комплексного изучения сырья были получены липофильные фракции бодяги украинского и китайского происхождения исчерпывающей экстракцией хлороформом в аппарате Сокслета. С помощью УФ-спектроскопии было определено количественное содержание каротиноидов и хлорофиллов в них. Определение оптической плотности проводили путем деконволюции спектров поглощения растительных экстрактов на составляющие полосы. Сумму каротиноидов определяли в сравнении с достоверным образцом β-каротина, сумму хлорофиллов (a и b) – в сравнении с достоверным образцом хлорофилла a. Молярные коэффициенты поглощения β-каротина были определены спектрофотометрией растворов стандартных веществ (рис. 5, 6).

Результаты и их обсуждение.

Губка высушенной бодяги представляет собой легкие, пористые и хрупкие обломки разной формы и размера, которые легко рассыпаются при растирании пальцами с ощущением шероховатости от игл кремнезема. Губка и соответственно, порошок бодяги, имеет цвет от зеленовато-серого до зеленовато-бурого, запах своеобразный, присущий данному сырью.

Порошок бодяги является частицами различной формы в виде бесформенных комков и их обломков двух форм: пластинчатой и игольчатой (рис. 1-2). Фрагменты мягкой пористой ткани (рис. 3-4) – спонгина имеют вид плоских пластин. Спикулы имеют вид одноосных двусторонних заостренных игл. При добавлении к порошку бодяги растительного масла хорошо просматривается пористая структура соединительной ткани. Иглы кремнезема (спикул) и их обломки имеют изодиаметрическую форму, о чем свидетельствует значение формфактора К = 0,1 и размер от 50 до 350 мкм (табл. 1). Частицы спонгина – анизодиаметричны, поверхность частиц едва шероховатая, а их размер достигает 100 мкм.

Скелет данной губки представлен только спонгином, который образует сложную пространственную структуру. Губка бодяги пронизана системой полостей и каналов, выстланных эпителием, которая начинается на поверхности тела многочисленными мелкими отверстиями – «порами» и заканчивается одним или несколькими крупными выводными отверстиями.

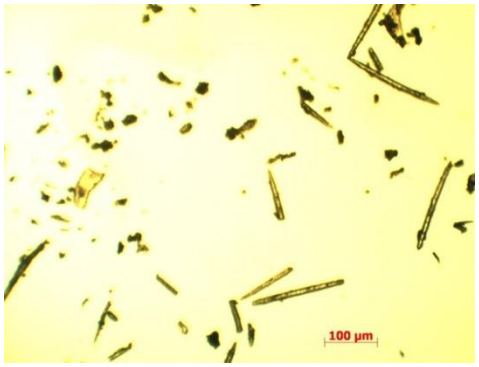


Рис. 1. Внешний вид порошка бодяги украинской (иголки кремнезема)

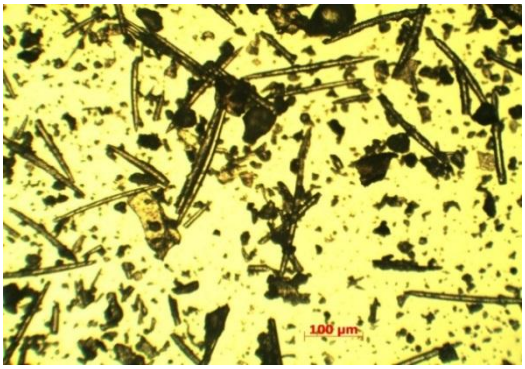


Рис. 2. Внешний вид порошка бодяги китайской (иголки кремнезема)

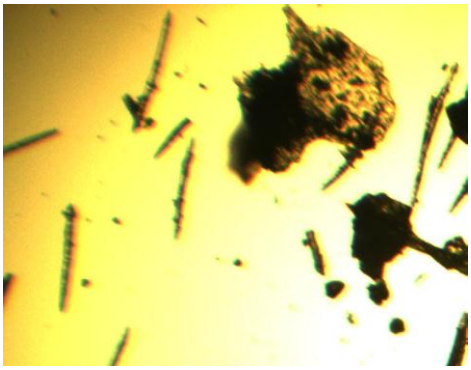


Рис. 3. Внешний вид бодяги украинской (пористая структура)

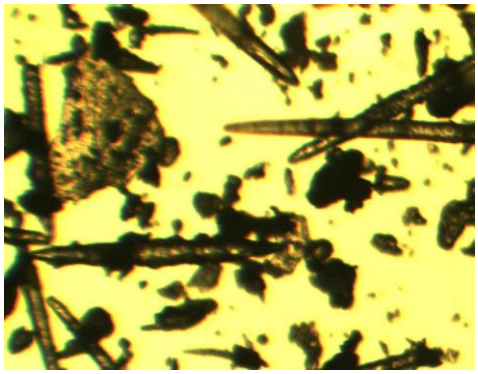


Рис. 4. Внешний вид бодяги китайской (пористая структура)

Таблица 1

Сравнительная характеристика порошка бодяги украинской и китайской

№ образца	Происхождение субстанции	Размер частиц, мкм		Соотношение спонгина и спикул
		Спонгина	Спикул	
1	Украинская	20 – 50	50 – 350	2:1
2	Китайская	20 – 100	50 – 200	1:2

Необходимо отметить, что соотношение структур в опытных образцах неодинаково: в образце бодяги китайского происхождения (№ 2) наблюдается преобладание спикул, а в образце бодяги украинской (№ 1) – наоборо, спонгина, что может свидетельствовать о разной терапевтической активности, то есть в порошке бодяги китайской может быть выше местно раздражающий эффект кожных покровов.

Результаты определения технологических параметров бодяги украинской и китайской представлены в табл. 2.

Таблица 2

Основные технологические параметры бодяги (n=5)

Параметры	Порошок бодяги	
	украинская	китайская
Удельная масса, г/см³	1,24 ± 0,01	1,22 ± 0,02
Объемный вес, г/см³	0,79 ± 0,01	0,76 ± 0,04
Насыпная масса, г/см³	0,32 ± 0,02	0,33 ± 0,01
Пористость сырья	0,36 ± 0,03	0,38 ± 0,04
Порозность слоя	0,59 ± 0,01	0,56 ± 0,01
Свободный объем слоя	0,74 ±0,03	0,73 ± 0,02
Текучесть	отсутствует	отсутствует

Как видно из табл. 2, значения изученных технологических параметров опытных образцов порошка бодяги почти не отличаются. Насыпная масса во всех изучаемых образцах незначительная, что и повлияло на отсутствие текучести порошков. Прежде всего, это связано с наличием в порошке бодяги игольчатых структур.

Результаты изучения аминокислотного состава исследуемых образцов бодяги украинского и китайского происхожения представлены в табл. 3.

Таблица 3

Аминокислотный (АК) состав исследуемых образцов бодяги

АК	Бодяга украинская				Бодяга китайская			
	Свободные АК		Связанные АК		Свободные АК		Связанные АК	
	мг/ 100мг	мг/ 100мг	мг/ 100мг	мг/ 100мг	мг/ 100мг	мг/ 100мг	мг/ 100мг	мг/ 100мг
Аспарагиновая кислота	3,75	0,6	8,25	1,0	0,65	0,03	7,35	0,97
Треонин	1,4	0,24	9,0	1,0	1,4	0,17	4,85	0,58
Серин	3,5	0,34	6,3	0,66	1,35	0,15	4,8	0,5
Глютаминовая кислота	6,4	1,0	11,0	1,6	2,9	0,42	8,8	1,3
Пролин	1,3	0,16	3,7	0,42	1,15	0,13	2,3	0,27
Глицин	5,0	0,4	10,0	0,74	5,0	0,35	10,0	0,75
Аланин	1,6	0,05	10,7	0,95	2,0	0,2	5,6	0,5
Цистеин	2,3	0,14	4,4	0,26	1,15	0,06	2,3	0,14
Валин	1,0	0,05	8,35	0,95	1,6	0,22	4,6	0,32
Метионин	1,7	0,25	2,47	0,37	1,25	0,2	1,75	0,26
Ізолейцин	0,6	0,08	6,0	0,8	1,0	0,1	2,5	0,34
Лейцин	2,4	0,3	8,43	1,1	1,2	0,15	4,25	0,55
Тирозин	0,4	0,02	5,4	0,98	0,6	0,1	2,4	0,44
Фенилаланин	1,0	0,18	4,5	0,745	0,7	0,1	2,2	0,36
Гистидин	1,4	0,22	1,3	0,2	0,3	0,05	1,4	0,215
Лизин	-	-	7,7	1,12	2,0	0,28	4,0	0,6
Аргинин	0,7	0,11	3,4	0,6	1,0	0,17	2,0	0,36

Как видно из табл. 3, в результате проведенного исследования было установлено наличие 17 свободных и связанных АК в бодяге китайского и украинского происхождения. В значительных количествах в исследуемых объектах содержатся: глицин, аспарагиновая и глютаминовая кислоты, аланин, валин, треонин, серин, лейцин.

Результаты изучения элементного состава бодяги китайской и украинской представлены в табл. 4.

Таблица 4

Результаты анализа элементного состава исследуемых образцов бодяги

Название элемента	Содержание элемента в бодяге украинской, мкг/100г	Содержание элемента в бодяге китайской, мкг/100 г
1	2	3
Fe	715	830
1	2	3
Si	19040	22200
P	405	470
Mn	355	415
Al	475	555
Pb	0,24	0,28
Sr	4,7	5,5
Mg	1430	1665
Zn	47	55
Ni	2,4	2,8
Ca	3810	4440
Mo	0,24	0,83
Cu	4,7	8,3
Na	260	275
K	475	555

Примечание. Во всех образцах: Co<0,03 мг/100 г; Cd<0,01 мг/100 г; As<0,01 мг/100 г; Hg<0,01 мг/100 г.

Как видно из табл. 4, в обоих образцах бодяги было идентифицировано и определено содержание 19 макро- и микроэлементов. Отмечено, что в бодяге китайского происхождения количественное содержание исследуемых элементов больше, чем в бодяги украинского происхождения. Значительное содержание имеют такие элементы, как кремний, магний, кальций. Этот факт следует учитывать при разработке препаратов с бодягой и изучении их фармакологической активности. Содержание тяжелых металлов находится в пределах гранично допустимых концентраций, что соответствует требованиям, предъявляемым к сырью и пищевым продуктам [9, 10].

УФ-спектр поглощения липофильных фракций бодяги украинской и китайской представлены на рис. 5 и 6.

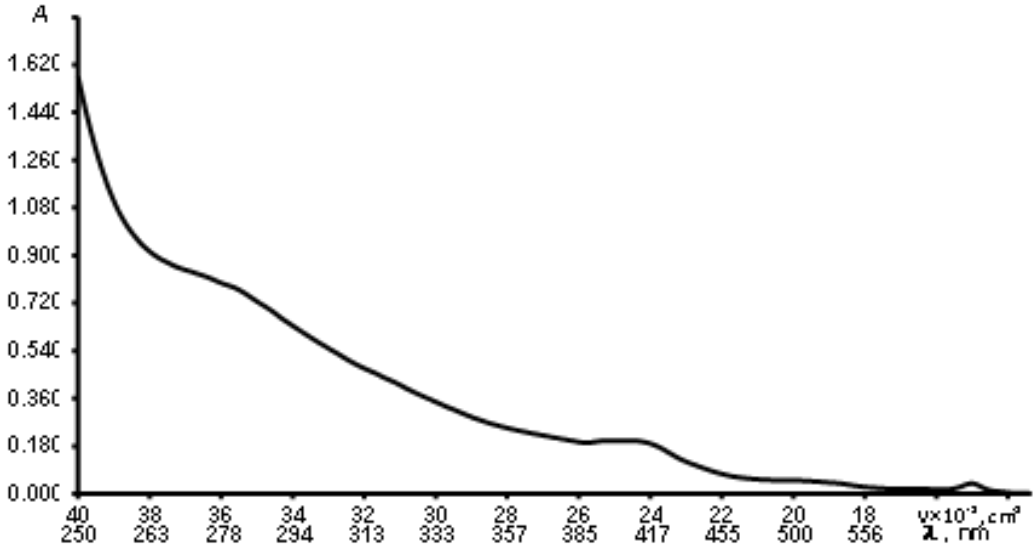


Рис. 5. УФ-спектр поглощения липофильной фракции бодяги китайской

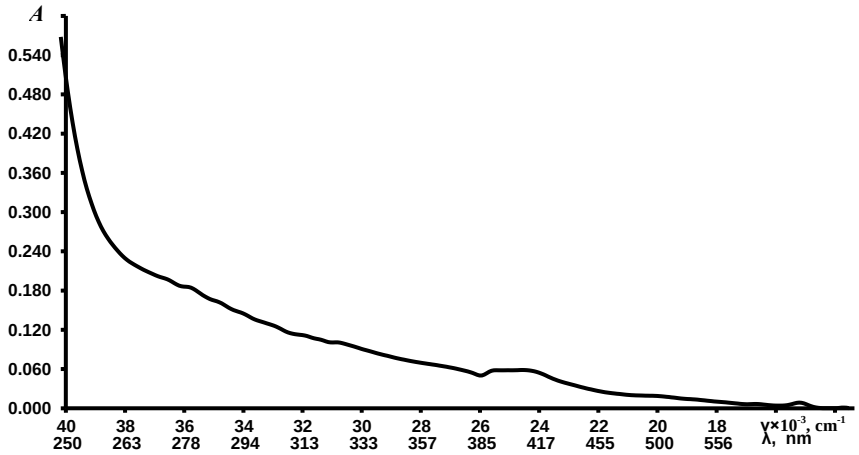


Рис. 6. УФ-спектр поглощения липофильной фракции бодяги украинской

В результате проведенного исследования было установлено, что количественное содержание каротиноидов в липофильном экстракте бодяги китайской составило 12,81 мг / г, хлорофиллов – 12,79 мг / г.; количественное содержание каротиноидов в липофильном экстракте бодяги украинской – 8,65 мг / г, хлорофиллов – 6,71 мг / г.

Выводы.

1. Изучены основные технологические и физико-химические показатели (удельная и насыпная масса, объемный вес, влажность, пористость и свободный объем слоя) порошка бодяги китайского и украинского происхождения, что позволило определить их оптимальные технологические параметры для дальнейшей разработки мягких лекарственных форм.

2. Методом оптической микроскопии установлено, что размер частиц игл бодяги зависит от степени измельчения сырья и составляет от 50 мкм до 350 мкм. Наличие игольчатой структуры предполагает основное биологическое действие: при растирании на коже порошка бодяги иголки кремнезема активно внедряются в верхний слой эпидермиса, мгновенно вызывая раздражение кожного покрова и расширение капилляров.

3. Впервые проведен фитохимический анализ порошка бодяги. Установлено, что в ее состав входят 17 свободных и связанных аминокислот (в значительных количествах: глицин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, аланин, валин, треонин, серин, лейцин и др. Определено наличие 19 элементов (7 макроэлементов: Fe, Si, Al, Ca, Na, Mg, K и 8 микроэлементов: Mn, P, Zn, Ni, Pb, Sr, Mo, Cu). Определено содержание каротиноидов и хлорофиллов в липофильных фракциях бодяги украинской и китайской.

4. Проведенные исследования показали, что оба вида бодяги взаимозаменяемы, поскольку имеют подобный состав и действие.

Литература

1. Езерский, М. Л. Основные характеристики порошкообразных материалов и методы их измерения / М. Л. Езерский. – М., 1989. – 47 с.
2. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний центр». – 1 вид. – Х. : РІРЕГ, 2001. – 556 с.
3. Целюба, Ю. С. Вивчення амінокислотного складу бодяги / Ю. С. Целюба, В. С. Кисличенко, І. І. Баранова // Фітотерапія. Часопис. – 2010. – № 3. – С. 65-68.
4. Андрианов, Е.И. Метод определения структурно-механических характеристик порошкообразных материалов / Е.И. Андрианов. – М. : Химия, 1982. – 256 с.
5. Дроздова, И. Л. Аминокислотный и минеральный состав листьев лопуха / И. Л. Дроздова // Фарм Полежаева И. В. Аминокислотный и минеральный состав вегетативной части Chamerion angustifolium (L.) Holub / И. В. Полежаэва, И. И. Полежаэва, Л. Н. Меняйло // Хим.-фармац. журн. – 2007. – № 3. – С. 27 – 29.
6. Баранова, І. І. Вивчення макро- і мікроелементного складу бодяги / І. І. Баранова, Ю. С. Целюба, В. С. Кисличенко // Найновите постиження на европейската наука : материалы 6-ої междунар. науч.- практ. конф., 17 – 25 юни 2010 г. – София, 2010. – С. 3-5.
7. Опрашанська, Т. В. Вивчення макро- та мікроелементного складу кореня, листя та густих екстрактів кореня і листя лопуха великого в порівнянні з ґрунтом / Т. В. Опрашанська, Хворост О. П. // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2009. –Т.1, № 1. – С. 32 – 34.
8. Рибак, О. В. Мікроелементний склад рудбекії роздільнолистної та ехінацеї пурпурової / О. В. Рибка // Медична хімія. – 2006. – Т.8, № 1. – С. 53-55.
9. Кузнецова, В. Ю. Вивчення біологічно активних речовин Vitis vinifera та створення на їх основі лікарських засобів : дис. ... канд. фармац. наук : 15.00.02 / В. Ю. Кузнецова. – Х., 2006. – 181 с.
10. Попик, А. І. Аналіз ліпофільних фракцій надземний і підземних органів бузку звичайного / А. І. Попик, В. С. Кисличенко, В.В. Король // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2009. – Т.3, № 3. – С. 44-47.

THE COMPLEX STUDY OF SPONGILLA POWDER OF UKRAINIAN AND CHINESE ORIGIN

Yu. S. CELUBA
V.S. KYSLYCHENKO

National University of Pharmacy Kharkiv, Ukraine

e-mail: yulchik_05@mail.ru

The article describes the results of the complex study of Spongilla powder of Ukrainian and Chinese origin. The determination of appearance, microscopical characters, organoleptic properties, technological parameters, qualitative composition and quantitative content of amino acids, macro- and microelements in Spongilla powders, and also carotenoids and chlorophylls in lipophilic fractions, was carried out.

Key words: Spongilla,amino acids, macro - and microelements, carotenoids, chlorophylls, technological parameters.

УДК 615.212

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ КОМПОНЕНТАМИ В СМЕСЯХ ПАРАЦЕТАМОЛА, КОФЕИНА И АЦЕТИЛСАЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

Г.Б. ГОЛУБИЦКИЙ [1]
Е.В. БУДКО [2]
Н.О. ЕЛЬЦОВА [2]
О.И. ИЗОСИМИН [2]

[1] ОАО Фармстандарт-Лексредства, г Курск

[2] Курский государственный медицинский университет

e-mail: Budko.e@list.ru

Комбинированные препараты на основе ацетилсалициловой кислоты, кофеина и парацетамола давно и хорошо себя зарекомендовали, имеют отработанную технологию, однако новые методы исследования, ужесточение требований к качеству делают актуальным и необходимым исследование возможных процессов между компонентами в твердой фазе в естественных условиях и при воздействии стресс-факторов. Изучение возможных процессов взаимодействия проводили в бинарных смесях компонентов с использованием ИК-Фурье спектроскопии.

Ключевые слова: лекарственные препараты, взаимодействие, анализ, спектроскопия ИК-Фурье.

Комбинированные препараты на основе ацетилсалициловой кислоты, кофеина и парацетамола относятся к ненаркотическим анальгетикам и широко распространены в аптечной сети. По популярности, судя по медицинским сайтам, аналоги располагаются так: Цитрамон П, Аскофен П, Кофицил–плюс, экседрин, Цитрамон Ультра, Цитрамон МФФ, ацифеин, цитрапар, аквацитрамон, ацепар. По составу эти препараты подобны широко известным зарубежным аналогам (Панадол и Мигренол). Формы этих лекарственных средств выпускаются большим количеством фармацевтических предприятий, в частности Фармстандарт-Лексредства (Россия), Медисорб (Россия), Акрихин ХФК (Россия), Фармакон (Россия), Бивитех (Россия), Ирбитский химико-фармацевтический завод (Россия), Органика (Россия), Татхимфармпрепараты (Россия), Верофарм (Россия) и др. [1].

Комбинация указанных препаратов фармакологически оправдана и направлена на борьбу с воспалением, болью и жаром. Ацетилсалициловая кислота обладает жаропонижающим и противовоспалительным действием, ослабляет боль, особенно вызванную воспалительным процессом, улучшает микроциркуляцию в очаге воспаления. Кофеин возбуждает дыхательный и сосудодвигательный центры, снижает агрегацию тромбоцитов. В данной комбинации кофеин в малой дозе практически не оказывает стимулирующего действия на центральную нервную систему, однако способствует нормализации тонуса сосудов мозга и ускорению кровотока. Парацетамол обладает анальгетическим, жаропонижающим и крайне слабым противовоспалительным действием [1]. Вариации дозировок приводят к изменению основной направленности действия и, как следствие, являются критерием выбора препарата.

В фармакологии лекарственные препараты принято разделять на синонимы и аналоги. Под аналогами понимаются лекарства, содержащие разные активные вещества, но предназначенные для лечения одних и тех же болезней. Препараты с одинаковым действующим веществом называются синонимами. Несмотря на то, что перечисленные лекарственные препараты имеют в своем составе одни и те же действующие вещества – ацетилсалициловую кислоту, кофеин и парацетамол, – мы называем их аналогами, так как различия в составе вспомогательных веществ и в технологии производства приводят к отличиям в количественных и качественных характеристиках активности. Кроме знаний о фармакологических, фармакокинетических и фармакодинамических эффектах активных компонентов [1], ученые обладают информацией о химических, физико-химических, физических взаимодействиях, которые протекают внутри лекарственных форм и влияют на фармакологическую активность самого препарата. Эти сведения в обязательном порядке учитываются при разработке технологии оригинальных лекарственных препаратов. Технологию дженерика каждое предприятие разрабатывает под свои технологические возможности и, следовательно, изменяет рецептуру вспомогательных веществ, что влияет на распадаемость, растворимость формы и в целом на биодоступность активных компонентов, при этом физико-химические характеристики качества могут не подвергаться значимым изменениям. Однако исследования последних лет подтверждают наличие процессов взаимодействия в твердой фазе, которые могут существенно влиять на качество лекарственной формы [2, 3, 4, 5].

Препараты, содержащие парацетамол, кофеин и ацетилсалициловую кислоту, имеют отработанную технологию и давно зарекомендовали себя с лучшей стороны. Однако ужесточение требований к качеству делает оценку возможности взаимодействия с использованием современных методов исследования актуальной и необходимой.

Материалы и методы исследования.

Рассматриваемые препараты представляют собой сложную смесь химических соединений, относящихся к различным классам. Лекарственные вещества (ЛВ) проявляют кислотные свойства, однако они явно выражены лишь у ацетилсалициловой кислоты, а у кофеина и парацетамола настолько слабы, что при условиях настоящего исследования практически незаметны. В качестве вспомогательных веществ (ВВ) используются вазелиновое масло, какао, кальция стеарат, крахмал картофельный, лимонная кислота, повидон (ПВП), силиконовая эмульсия КЭ 10-12, стеариновая кислота, тальк.

В работе использовались ЛВ и ВВ, соответствующие требованиям нормативной документации. Пробы предварительно взвешивали на весах Sartorius BP 210 S и растирали в течение 15 минут в агатовой ступке. Смеси подвергали «ускоренному старению» в сушильном шкафу VS 10 при температуре ниже температуры плавления обоих компонентов (100°С).

Исследования проводили методом ИК-Фурье спектроскопии на спектрофотометре Avatar 360 ESP фирмы Nicolet в области частот 4000÷500 см$^{-1}$. Использовали приставку однократного НПВО Smart Perfomer (оптический кристалл ZnSe). Спектры обрабатывали при помощи программы Omnic.

Результаты исследования и обсуждение.

Предварительно методом ИК-Фурье спектроскопии были получены спектры поглощения активных и вспомогательных компонентов в области частот 4000÷500 см$^{-1}$ и сопоставлены со спектрами стандартных образцов (СО). Для бинарных смесей получали спектры после совместного растирания, а также после их нагревания. Изменение спектра смеси компонентов по сравнению с суммой спектров исходных компонентов позволяет предположить взаимодействие веществ. Исходные вещества также нагревали при указанных условиях, после чего получали и анализировали их ИК-спектры. Это позволило исключить влияние процессов в индивидуальных веществах.

Полученные результаты подтвердили изменения в спектрах десяти смесей. Изменения интенсивности и положения полос наблюдались уже после растирания компонентов и усилились после нагревания.

Наибольшее количество изменений выявлено в парах, содержащих ацетилсалициловую кислоту. В модельной смеси ацетилсалициловой кислоты и талька установлено уменьшение интенсивности полос ацетилсалициловой кислоты в диапазоне 3226-2358 см$^{-1}$, сдвиг и усиление полосы 1256 до 1247 см$^{-1}$, сложение отдельных полос 1218 и 1182 см$^{-1}$ в полосу с двумя пиками 1206 и 1185 см$^{-1}$, отсутствие полосы при 1093 см$^{-1}$ и появление дополнительных при 1764 и 1751 см$^{-1}$. Изменения спектральных характеристик не сопровождались внешними проявлениями: цвет (белый) и сыпучесть смеси не изменились.

Изменения ИК-спектра смеси ацетилсалициловой кислоты с ПВП могут быть объяснены смещением электронной плотности в сложноэфирной группе и бензольном кольце кислоты. При нагревании смесь расплавилась.

В смеси ацетилсалициловой кислоты с какао также наблюдаются изменения полос поглощения гидроксильной и карбонильной групп.

В спектрах смесей ацетилсалициловой кислоты и кальция стеарата, а также парацетамола и кальция стеарата наблюдается ряд изменений, свидетельствующих о кислотно-основном взаимодействии этих соединений. Ряд изменений проявился уже при растирании компонентов: отсутствуют полосы ацетилсалициловой кислоты при 2700, 2587, 2545 см$^{-1}$. В процессе нагревания смесь расплавилась, при этом уменьшилась интенсивность полос кальция стеарата при 3405, 1660, 1575 см-1, а полосы, характерные для ацетилсалициловой кислоты, сместились: 1680 к 1697, 1218 к 1249, 1182 к 1201, 969 к 955 см$^{-1}$. Участок спектра представлен на рис. 1 и демонстрирует искажение характерных полос.

После нагревания смеси стеарата и парацетамола в спектре отсутствует широкая полоса кальция стеарата при 3434 см$^{-1}$, наблюдается резкое уменьшение интенсивности полос кальция стеарата при 1660 и парацетамола при 1650 см$^{-1}$, сложение полос кальция стеарата 1574, 1537 и парацетамола 1562 см$^{-1}$.

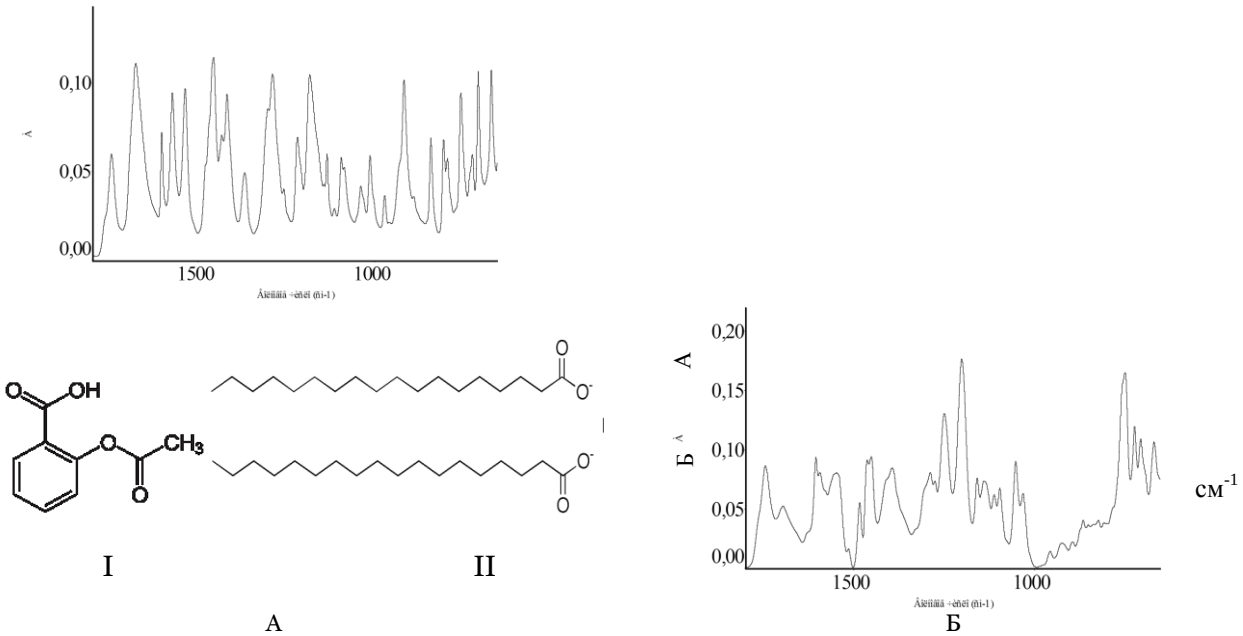


Рис. 1. Сумма ИК-спектров ацетилсалициловой кислоты (I) и кальция стеарата (II) в области частот 1800 – 930 см$^{-1}$ (А) и ИК-спектр их модельной смеси после нагревания (Б)

В ИК-спектрах модельных смесей всех ЛВ, содержащих силиконовую эмульсию, наблюдается исчезновение полосы при 3353 см$^{-1}$ (рис. 2), что демонстрирует разрушение межмолекулярных водородных связей (SiO)n, а усиление полосы в области 3000 см$^{-1}$ позволяет предположить образование более прочных структур из молекул двух типов.

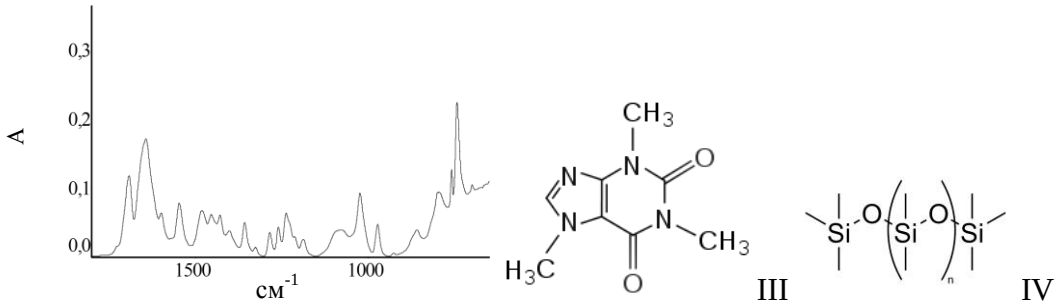


Рис. 2А

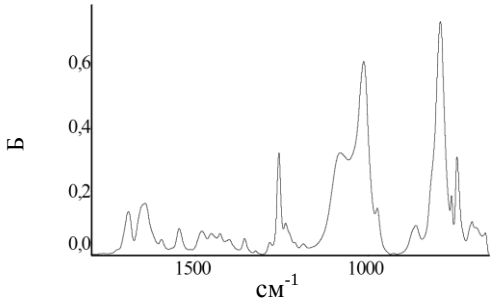


Рис. 2Б

Рис. 2. Сумма ИК-спектров кофеина (III) и силиконовой эмульсии (IV) в области частот 3700-2500 см$^{-1}$ (А) и ИК-спектр их модельной смеси после нагревания (Б)

Выявленные изменения положений и интенсивностей полос на ИК-спектрах изученных смесей позволяют говорить о взаимодействии между компонентами в твердых лекарственных формах.

Ранее при исследовании готовой лекарственной формы методом ВЭЖХ продукты взаимодействия, кроме салициловой кислоты, обнаружены не были [6] (рис. 3). Однако данная

методика была в первую очередь предназначена для количественного определения компонентов, и для направленного определения продуктов разложения необходима ее доработка.

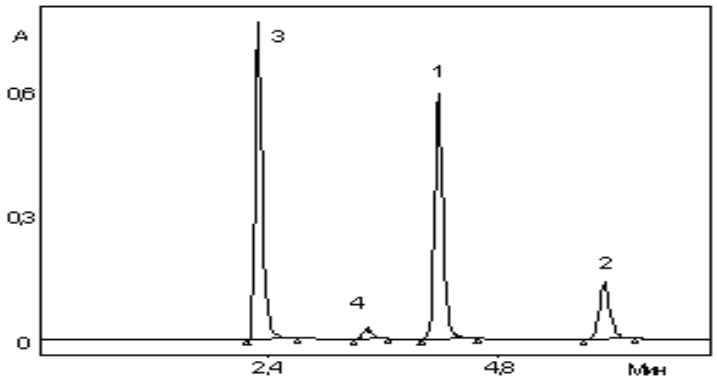


Рис. 3. Хроматограмма испытуемого раствора препарата «Аскофен П»: 1–парацетамол, 2 – кофеин, 3 – ацетилсалициловая кислота, 4 – салициловая кислота. Детектирование при 220 нм

Соответствие препаратов международным стандартам качества достигается планомерными разработками по совершенствованию технологических приемов производства и методик по контролю качества и безопасности. Проведенные исследования позволили обнаружить взаимодействия между некоторыми лекарственными и вспомогательными компонентами в лекарственном препарате, содержащем парацетамол, кофеин и ацетилсалициловую кислоту. Выявлены пары соединений, контакт которых в экстремальных условиях повышенного давления и температуры приводит к изменению физических (плавление) характеристик смеси и структур самих веществ. При этом исследование готовой лекарственной формы, в том числе методом ВЭЖХ в различных условиях, не выявляет значимых отклонений в качестве препарата, что является показателем оптимальности технологических приемов.

Литература

1. Справочник лекарственных средств VIDAL: http://www.vidal.ru
2. Ткаченко, М.Л. Исследование некоторых эвтектических систем лекарственных композиций в условиях ускоренного старения / М.Л. Ткаченко // ХФЖ – 2002.– Т 36, № 12. – С. 45-47.
3. Методы исследования причин нестабильности новой фармакологической композиции в лекарственной форме / Ф.Ф. Ниязи, Е.В. Будко, А.Л.Куликов, Г.Б. Голубицкий, Т.Ю. Валюкевич., В.С. Паньжин // Заводская лаборатория. – 2007. – Т.73, №9. – С.27 -31.
4. Взаимодействие между компонентами таблеток «Пятикомпонентный препарат от простуды» / В.М. Иванов, Г.Б. Голубицкий, А.Л. Куликов, Т.Ю. Валюкевич, М.В. Покровский, Е.В. Будко // Вестн. МГУ. Серия 2: Химия. – Т. 48, № 3. – 2007. – С. 178-181.
5. Исследования тройной лекарственной системы кофеин-парацетамол-мочевина / Л.Е. Жнякина, Ю.В. Мощенский, М.Л. Ткаченко, И.А. Леванкж, М.А. Лосева // Фармация. – 2008. – № 2. – С.29-32.
6. Хроматографическое разделение парацетамола, кофеина и аспирина на сорбенте с привитыми нитрильными группами и анализ таблеток «Аскофен П» / Г.Б. Голубицкий, Е.М. Басова, В.М. Иванов, Е.В. Будко, А.В. Костарной // Журнал аналитической химии. – 2007. – Т 62, №6. – С. 636-640.

THE INTERACTION BETWEEN THE COMPONENTS IN MIXTURES OF PARACETAMOL, CAFFEINE AND ASPIRIN

G.B. GOLUBITCKIY.[1]
E.V. BUDKO [2]
N.O. ELTSOVA [2]
O.I. IZOSIMIN [2]

[1] Pharmstandard-Leksredstva Kursk

[2] Kursk State Medical University

e-mail: Budko.e@list.ru

The combination of drugs based on aspirin, caffeine and acetaminophen has long been performing well in the pharmaceutical market and industry. However, the new method of research, more stringent quality requirements make the assessment of the current process capabilities between components in the solid phase necessary. We used a stress factor for the increase of interaction. Direct study of possible interactions between the pair is in a mixture of all components using IR spectroscopy.

Keywords: therapeutic drugs, interactions, analysis, Fourier-transform infrared spectroscopy.

УДК: 582.717.7:547.979.7

ИЗУЧЕНИЕ ХЛОРОФИЛЛОВ И КАРОТИНОИДОВ ВЫЖИМОК ПЛОДОВ RIBES NIGRUM

Н.А. СУЩУК, В.С. КИСЛИЧЕНКО
В.Ю. КУЗНЕЦОВА

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

e-mail: bryonia@inbox.ru

Спектрофотометрическим методом определено количественное содержание хлорофилла а, хлорофилла b и каротиноидов в выжимках плодов смородины черной. Установлено соотношение содержания хлорофилла а к хлорофиллу b.

Ключевые слова**:** хлорофилл а, хлорофилл b, каротиноиды, выжимки смородины черной.

Введение.

Важнейшей составляющей государственной политики в сфере здравоохранения является обеспечение гарантии качества, эффективности и безопасности всех лекарственных средств. Гарантии подобного рода невозможны без создания системы обеспечения качества лекарственных средств, отвечающих современным требованиям. Разработка национальных спецификаций качества на лекарственные средства растительного происхождения невозможны без всестороннего исследования качественного состава и количественного содержания основных групп биологически активных веществ.

Сведения о составе пигментов выжимок плодов смородины черной ограничены. Качественный состав и количественное содержание пигментов являются (в физиологическом отношении) показателем приспособления растения к условиям окружающей среды. Так, например, количество хлорофилла и каротиноидов несколько отличается у растений, адаптированных к различным условиям освещения: наибольшее содержание хлорофиллов и каротиноидов наблюдается у растений, которые преимущественно растут в тени. Соотношение содержания хлорофиллов а и b также является показателем хроматической адаптации и изменяется следующим образом: растения, преимущественно растущие в тени – растения, преимущественно растущие на свету – и альпийские растения: 2,5-3,5-3,9 до 5, 5 [1-3].

Хлорофилл – зеленый пигмент, содержащийся в хлоропластах, является Mg-содержащим порфирином, участвующим в фотосинтезе. На сегодня известно около 10 пигментов, входящих в группу хлорофиллов, отличающихся друг от друга некоторыми структурными особенностями [2].

Хлорофилл обладает широким спектром действия на живой организм. Возможным механизмом его многочисленных эффектов является облегчение процессов переноса зарядов, в том числе биологически активного вещества, на соответствующую мишень или рецептор и сопутствующее УФ излучение при рекомбинации свободных радикалов. Сходство хлорофилла по своей химической структуре с гемоглобином крови обусловливает его широкое применение в медицине как средства усиливающего процессы кроветворения. Хлорофилл обладает антимикробными свойствами, с успехом применяется для лечения ран и ожогов, оказывает тонизирующее действие на организм, стимулирует работу сердца, дыхательного центра [3].

Каротиноиды – оранжевые и желтые пигменты, находящиеся в хлоропластах и хромопластах. Каротиноиды относятся к тетратерпенам. В растениях обычно присутствуют две группы каротиноидов – каротины и ксантофиллы. Ксантофиллы – это соединения, которые в отличие от каротинов содержат кислород. В зеленых листьях каротиноиды маскируются большим количеством хлорофилла [2, 3].

Целью исследования было определение количественного содержания хлорофиллов а и b и каротиноидов в выжимках плодов смородины черной. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи: установить концентрацию хлорофиллов а, b и каротиноидов в экстракте выжимок плодов смородины черной спектрофотометрическим методом.

Характер спектров поглощения хлорофиллов а, b и каротиноидов позволяет определить количественное содержание указанных соединений в липофильном экстракте без их предварительного разделения. Данный метод количественного определения позволяет без построения калибровочных кривых, а лишь на основании полученных экспериментальных данных рассчитать концентрацию пигментов.

Материалы и методы.

Для выделения пигментов из выжимок плодов смородины черной использовали спирт этиловый, ацетон и другие растворители. Экстракцию необходимо проводить предварительно охлажденным растворителем в темном месте. Количественное определение пигментов проводили по следующей методике. Точную навеску (около 100 мг) измельченного сырья помещали в ступку и растирали с небольшим количеством кальция или магния карбоната, добавляли на кончике шпателя кварцевого песка, 2-3 мл 96% спирта этилового и тщательно растирали в течение 2-3 мин. Полученный экстракт сливали по стеклянной палочке на стеклянный фильтр № 3 (накрытый кружком фильтровальной бумаги), а фильтрат собирали в стеклянную пробирку, подвешенную на нити в колбе Бунзена, присоединенной к водоструйному насосу. Экстракцию пигментов из сырья новыми порциями экстрагента проводили до тех пор, пока фильтрат не обесцвечивался. Экстракт из пробирки количественно переносили в мерную колбу на 25 мл и доводили до необходимого объема чистым 96% спиртом этиловым. Полученный экстракт содержит сумму зеленых и желтых пигментов [4, 5].

Для расчета концентраций хлорофиллов a, b и каротиноидов в экстракте определяли его оптическую плотность спектрофотометрически при длинах волн, соответствующих максимумам спектра поглощения исследуемых пигментов в данном растворителе. Для хлорофилла a в 96% спирте этиловом максимум поглощения находится при $\lambda = 665$ нм, для хлорофилла b – при $\lambda = 649$ нм. Каротиноиды определяли при длине волны 441 Нм.

Концентрацию пигментов в экстракте рассчитывали по формуле Lichtenthaler [5]. Концентрацию хлорофиллов a (Ca, мг / л) и b (Cb, мг / л) рассчитывали по формуле: $Ca = 13{,}70 \cdot A_{665} - 5{,}76 \cdot A_{649}$, $Cb = 25{,}8 \cdot A_{649} - 7{,}60 \cdot A_{665}$, где A_{665} – оптическая плотность раствора при длине волны 665 нм; A_{649} – оптическая плотность раствора при длине волны 649 нм [6]. Концентрацию каротиноидов (Скар., мг / л) рассчитывали по формуле: $C\ кар. = 4{,}695 \cdot A_{441} - 0{,}268 \cdot (Ca + Cb)$, где A_{441} – оптическая плотность раствора при длине волны 441 Нм; Ca + Cb – суммарное содержание хлорофиллов a и b в растворе, мг / л. После установления концентрации пигментов в экстракте рассчитывали их количественное содержания (X, мг / л) в выжимках смородины черной по формуле: $X = V \cdot C \cdot 100 / m \cdot 1000 \cdot (100\text{-}W)$, где V – объем спиртового экстракта, мл; C – концентрация пигмента в спиртовом растворе, мг / л; m – навеска сырья, г; W – потеря в массе при высушивании сырья,%.

Результаты и их обсуждения.

Результаты количественного определения пигментов в выжимках плодов смородины черной представлены в таблице. Соотношение концентрации хлорофилла a к хлорофилла b в выжимках плодов смородины черной составляет 2:3.

Таблица

Количественное содержание хлорофиллов и каротиноидов в вижимках плодов смородины черной

Название сырья	Содержание хлорофилла a, мг/г	Содержание хлорофилла b, мг/г	Содержание каротиноидов, мг/г
Выжимки плодов смородины черной	10,01	4,32	12,84

Выводы:

1. Спектрофотометрическим методом определено количественное содержание хлорофилла a, хлорофилла b и каротиноидов в выжимках плодов смородины черной. Установлено соотношение хлорофилла a к хлорофиллу b, которое составляет 2:3.

2. Полученные результаты исследования могут быть использованы при разработке национальных спецификаций качества на выжимки плодов смородины черной.

Литература

1. Бурлака, І.С. Пігменти трави щучника дернистого і трави суничника звичайного / І.С. Бурлака, В.С. Кисличенко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 14-16.

2. Мерзляк, М.Н. Спектры отражения листьев и плодов при нормальном развитии, старении и стрессе / М.Н. Мерзляк, А.А. Гительсон, С.И. Погосян // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 5. – С. 707-716.

3. Федосеев, Л.М. Изучение и сравнительная оценка липофильных веществ зеленых, красных и черных листьев бадана толстолистого, произрастающего на Алтае / Л.М. Федосеев, Т.С. Малолеткина // Химия растительного сырья. – 1999. – № 2. – С. 113-117.

4. Шлык, А.А. Определение хлорофиллов и каротиноридов в экстрактах зеленых листьев / / Биохимические методы в физиологии растений / Под ред. О.А. Павлиновой. – М.: Наука, 1971. – С. 154-170.

5. Lichtestaller, H.K. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaves extracts in different solvents / HK Lichtestaller, A.R. Wellburn // Biochem.Soc. Trans. – 1983. – Vol. 11, № 5. – P. 591-592.

PIGMENTS OF BLACK CURRANT HUSKS

N.A. SUSHCHUK, V.S. KYSLYCHENKO, V.YU. KUZNETSOVA

National University of Pharmacy Kharkiv, Ukraine

e-mail: bryonia@inbox.ru

The quantitative content of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids were determined in Black currant husks using spectrophotometric method. The ratio of content of chlorophyll a, chlorophyll b was determined.

Key words: chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, Black currant husks.

УДК 615 453:615.218.

ОБОСНОВАНИЕ ВИДА ГЕЛЕОБРАЗОВАТЕЛЯ МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВАРИКОЗНОГО РАСШИРЕНИЯ ВЕН

С.А. КУЦЕНКО
Е.А. РУБАН
И.В. КОВАЛЕВСКАЯ

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

e-mail: inga.kovalevskaya@gmail.com

В статье приведены результаты исследования по разработке состава и технологии мягкой лекарственной формы для лечения венозных патологий.

Изучены основные физико-химические и реологические параметры образцов геля. Установлена зависимость структурно-механических свойств гелевых основ от соотношения карбопола и гидроксипропилметилцеллюлозы в составе гелеобразователя и скорости сдвига. Биофармацевтическими исследованиями in vitro показано влияние соотношения гелеобразователей на степень высвобождения биологически активных веществ сложной настойки. В результате проведенных исследований выбран состав гелеобразователя: карбопол и гидроксипропилметилцеллюлоз (2:1).

Ключевые слова: венозная патология, гель, сложная настойка, структурно-механические, биофармацевтические характеристики.

Ежегодно регистрируется увеличение роста сердечно-сосудистых заболеваний, среди которых значительное место занимает варикозная болезнь нижних конечностей – одна из самых распространённых патологий периферических сосудов, которая значительно снижает трудоспособность, социальную адаптацию и качество жизни больных. Несвоевременное лечение может привести к таким серьезным осложнениям, как инфаркт миокарда, инсульт и тромбоэмболии нижних конечностей. Именно поэтому создание эффективных лекарственных средств с ангиопротекторной активностью является актуальной задачей здравоохранения.

Анализ данных литературы показал, что украинский фармацевтический рынок развивается преимущественно за счет дженериков и импортных препаратов, доля которых, по различным данным, составляет от 78 до 95 %. В связи с этим нами предложена фитокомпозиция, способная обеспечить комплексное фармакотерапевтическое воздействие на паталогически изменённые сосуды нижних конечностей, оказывающая выраженный трансдермальный эффект за счет рационально подобранного состава биологически активных веществ (БАВ) лекарственных растений: плодов каштана конского, рябины обыкновенной, софоры японской, трав донника лекарственного, чистотела большого и листьев орешника. Предварительными фармакологическими исследованиями установлено, что данный растительный комплекс в виде сложной настойки улучшает процессы трофики в близлежащих тканях, реологические показатели крови, имеет репаративную, противовоспалительную, противоотёчную, антиоксидантную активность.

Мягкая лекарственная форма является одной из перспективных систем доставки биологически активных веществ к поврежденному органу-мишени. Наиболее простым и распространенным способом применения топических средств до настоящего времени остается простое нанесение препарата на поверхность кожи. Несмотря на множество достоинств, которыми обладает данный способ применения, главным его недостатком остается реактивность кожи больного. Кроме того, при выборе действующих и вспомогательных веществ необходимо учитывать этиологические и патогенетические аспекты заболевания.

Кожа человека состоит из нескольких слоев. Наиболее важная роль в реализации защитных механизмов кожи принадлежит эпидермису, который представляет собой матрикс с сочетанием гидрофильных и гидрофобних компонентов. Использование веществ-энхансеров будет способствовать проницаемости кожи и увеличивать резорбцию биологически активных веществ (БАВ). Наиболее применяемыми энхансерами являются: спирты, пропиленглиголь, глицерин и т.д. Поэтому нами предложено ввести в состав мягкой лекарственной формы фитокомпозицию в виде 40% спиртовой вытяжки.

Кроме того, за счет рационального выбора компонентов основы мягкая лекарственная форма для лечения варикозного расширения вен должна способствовать увлажнению кожи, укреплению липидного барьера, регуляции и стимуляции пролиферации, дифференцировке

кератиноцитов, созданию окклюзивного слоя, обеспечивать контроль высвобождения, локализацию действия, транспортную функцию, обладать потребительскими свойствами и др.

Целью нашего исследования стал выбор носителя активных компонентов мягкой лекарственной формы для лечения варикозного расширения вен нижних конечностей.

Материалы и методы исследования.

Среди мягких лекарственных форм наибольшей биодоступностью отличаются гелевые системы. В качестве гелеобразователя нами были выбраны карбопол 940 и гидроксипропилметилцеллюлоза (ГПМЦ). Критерием выбора полимеров явилась возможность образования высокопрочных гомогенных систем в спирто-водных растворах с минимальным осмотическим давлением.

Как увлажняющие агенты в составе мягких лекарственных форм широко используются полиолы. Анализ данных литературы показал, что применение глицерина способствует увлажнению кожи за счет образования каналов для облегчения водного транспорта через клеточные мембраны. Местное применение способствует его накоплению в роговом слое, что в свою очередь подавляет фазовый переход липидов при сухости кожи, индуцирует созревание кератиноцитов. Введение в состав мази глицерина в количестве 10% будет усиливать защитный барьер, сохраняя в ней необходимое количество влаги, уменьшать зуд [1, 2]. Таким образом, объектами исследования стали образцы геля на основе карбомера (№1) и его смесей с ГПМЦ в различных соотношениях – 1:2, 1:1, 2:1 образцы №№ 2, 3, 4 соответственно. Содержание глицерина в составе геля во всех образцах составляло 10%, гелеобразователя – 1,5%. В качестве нейтрализатора использовали триэтаноламин до достижения необходимого pH [3, 4]. Для сведения к минимуму осмотического действия этанола на слой интактной кожи с нарушенной трофикой и обеспечения должного фармакологического действия количественное содержание сложной настойки во всех исследуемых составах составляло 15%.

Исследование степени высвобождения БАВ растительного комплекса из исследуемых образцов проводили методом in vitro – диффузии в желатиновый агар, приготовленного на стандартном растворителе с добавлением 10% раствора хлорида железа (III) для определения высвобождения флавоноидов. Масса образца составляла 0,3 г, диаметр лунки 8 мм. Моделирование трансдермальной диффузии проводили с использованием стеклянных диффузионных ячеек Франца при температуре 34°С в течение 6 часов. В качестве мембраны использовали пленку из полиэтилентерфталата (ПЭТФ) с диаметром пор 0,4 мкм (ГОСТ 24234-80), среда высвобождения – буферный раствор (100 мл на каждый образец), кислотность которого соответствовала кислотности наружного слоя кожи голени (5,65±0,14). Количественное содержание суммы флавоноидов в пересчете на рутин определяли спектрофотометрически. Концентрацию ионов водорода раствора геля в воде очищенной измеряли с помощью pH-метра. Вязкость определяли на ротационном вискозиметре MYR VR3000 модель V2R, предназначенном для определения структурно-механических свойств мягких лекарственных форм [5, 6, 7].

Результаты и их обсуждение.

Полученные образцы имели вид гелеобразных масс различной консистенции (см. табл.).

Таблица

Органолептические характеристики исследуемых гелей

№ образца	pH	Внешний вид
1	5,65±0,02	густая, плотная масса, липкая на ощупь
2		нормальной консистенции, легко намазывается
3		нормальной консистенции, легко намазывается
4		нормальной консистенции, легко намазывается

Анализ результатов, приведенных в таблице, свидетельствует, что среди исследуемых образцов наилучшими потребительскими свойствами обладают №№ 2-4. Использование в качестве гелеобразователя ГПМЦ нецелесообразно, так как полученная масса с содержанием полимера 1,5% имела жидкую консистенцию с плохой фиксацией на поверхности кожи.

Результаты биофармацевтических исследований методом диффузии в желатиновый гель не показали четкой зависимости степени высвобождения от вида гелеобразователя. Диаметр окрашенных зон всех образцов находился в пределах 30 мм ± 1,5, что не позволило говорить о статистически достоверном преимуществе одного из образцов.

На следующем этапе исследований были изучены структурно-механические характеристики исследуемых составов (рис. 1).

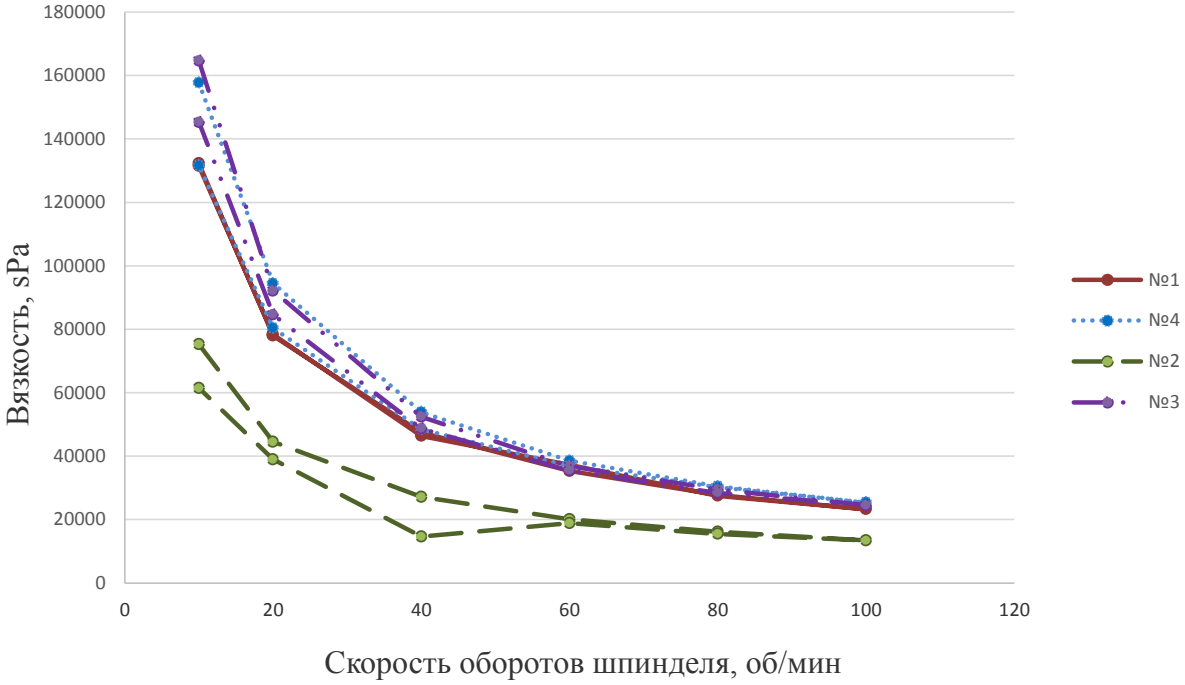


Рис. 1. Вязкость исследуемых образцов в зависимости от вида гелеобразователя и оборотов шпинделя

Полученные результаты свидетельствуют, что монополимерный гель (образец № 1) имеет меньшие показатели вязкости по сравнению с образцами №№ 2-4. Сочетание карбопола и ГПМЦ позволяет получить большую вязкость исследуемых гелей (от 25000 до сП 165000 сП), сохраняя при этом их удовлетворительные потребительские свойства (табл. 1). Полные реограммы течения представлены на рис. 2.

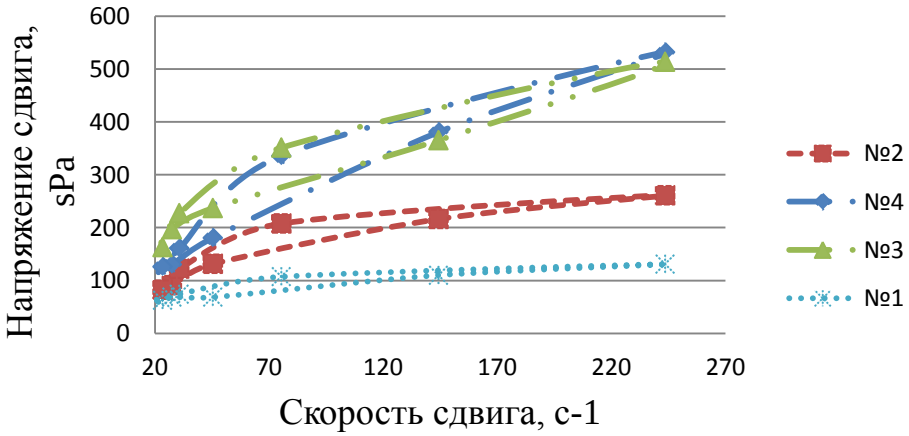


Рис. 2. Реограммы течения

Как видно из рис. 2, характер петель гистерезиса свидетельствует, что все образцы являются неньютоновскими жидкостями. В области малых значений кривые образцов №3, и №4 имеют прямолинейные участки с малым наклоном к оси абсцисс, свидетельствующие об очень низкой скорости деформации. Течение этих систем происходит с низкой скоростью, поэтому число этих связей в структурной сетке остается постоянным и она фактически не изменяется. Такое поведение характерно для структурированных дисперсных систем с коагуляционными контактами между частицами. Для образцов №№ 1, 2 критическое напряжение сдвига находится в области 70 Па в отличие от 120-140 Па для образцов №3 и №4, что позволяет сделать вывод о более прочной структуре двух последних. Восходящие и нисходящие реограммы образцов №1 и №2 свидетельствуют о быстром восстановлении структуры при снижении напряжения сдвига и, следовательно, их тиксотропности.

Биофармацевтические исследования методом диффузии через полунепроницаемую мембрану с дальнейшем определением биологически активных веществ спектрофотометрическим методом показали (рис. 3), что низкий процент высвобождения суммы флавоноидов в пересчете на рутин (5,4% и 7,6%) имеют составы на основе карбопола и одинакового соотношения карбопола и ГПМЦ соответственно. Из состава, содержащего комбинацию карбопола и ГПМЦ 2:1, происходит наиболее полное высвобождение БАВ растительного комплекса (12%).

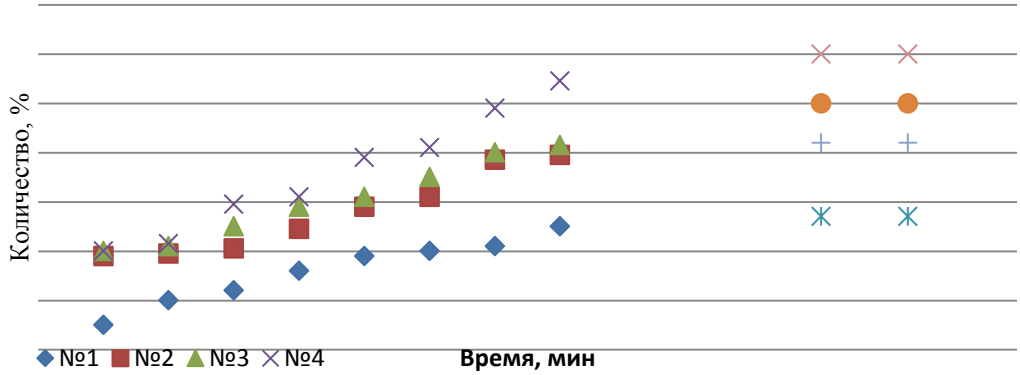


Рис. 3. Динамика высвобождения суммы флавоноидов в пересчете на рутин из исследуемых образцов

Таким образом, гель, содержащий комбинацию двух полимеров в соотношении 2:1, обеспечивает мягкой лекарственной форме оптимальные вязкостные свойства, высокую кинетику высвобождения действующих веществ и удовлетворительные потребительские характеристики.

Выводы.

Исходя из этиопатогенетических аспектов варикозного расширения вен, теоретически обоснован состав мягкой лекарственной формы для лечения варикозного заболевания вен.

Проведенны исследования физико-химических и реологических характеристик образцов геля, приготовленных с различным соотношением карбопола и гидроксипропилметилцеллюлозы.

Показано, что сочетание карбопола и ГПМЦ позволяет получить большую вязкость исследуемых гелей. Результаты биофармацевтических исследований позволяют сделать вывод, что из состава, содержащего комбинацию карбопола и ГПМЦ 2:1, происходит наиболее полное высвобождение БАВ растительного комплекса сложной настойки.

На основании комплекса биофармацевтических и физико-химических исследований определена целесообразность создания мягкой лекарственной формы на основе смеси карбопола и гидроксипропилметилцеллюлозы.

Литература

1. Аковбян, В.А. Композиционные препараты для наружного лечения: преимущества очевидны / В.А. Аковбян // Клин.дерм.и венер. – 2003. – №4. – С. 50-53.
2. Багирова, В.Л. Современные аспекты использования вспомогательных веществ в технологии лекарственных препаратов / В.Л. Багирова, Н.Б. Демина, И.А. Девяткина и др. // Фарматека. – 1998. – №6. – С.34-36.
3. Багирова, В.Л. Современный взгляд на лекарственную форму / В.Л. Багирова, Н.Б. Демина, Н.А. Кулинченко // Фармация. – 2002. – №2.1. – С.24 -26.
4. Башура, А.Г. К вопросу о биодоступности лекарственных веществ / А.Г. Башура, А.А. Яремчук и др. // Фармаком. – 1998. – №2. – С.29-30.
5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1-е вид. – Х.: Ріпег, 2001. – 556 с.
6. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / авт.-уклад.: І.М. Перцев, Д.І. Дмитрієвський, В.Д. Рибачук та ін.; за ред. І.М. Перцева. – Х.: Золоті сторінки, 2010. – 600 с.

7. Лисянська Г.П. Застосування гелеутворювачів органічної природи у сучасних косметичних засобах / Г.П. Лисянська // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2010. – №2.

RATIONALISATON OF THE KIND OF SOFT GELLING AGENT FORMULATIONS FOR TREATING VARICOSE VEINS

S.A. KUTSENKO
E.A. RUBAN
I.V. KOVALEVSKAYA

National university of Pharmacy, Kharkiv

e-mail: inga.kovalevskaya@gmail.com

The results of studies on the development of technology and soft dosage form for the treatment of venous disorders. We study the main physico-chemical and rheological properties of the gel samples. The dependence of the structural and mechanical properties on the ratio of gel base and Carbopol gelling agent comprising hydroxypropylmethylcellulose and shear rate. Biopharmaceutical research shows the effect of in vitro ratio of gelling agents on the degree of release of biologically active substances complex infusions. The research resulted in the composition of the gelling agent is selected: carbopol and hydroxypropyl methylcellulose (2-1).

Key words: venous pathology, gel, complex infusion, structural and mechanical characteristics of biopharmaceuticals.

УДК 581+542

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУММЫ ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ТРАВЕ *GALINSOGA PARVIFLORA*

В.Н.БУБЕНЧИКОВА [1]
С.А.БОЕВА [2]

[1] Курский государственный медицинский университет

[2] Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н.Бурденко

e-mail:fg.ksmu@mail.ru

В статье изложены данные по разработке методики количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в траве галинзоги мелкоцветковой (Galinsoga parviflora) семейства сложноцветные (Compositae), которая в народной медицине применяется как ранозаживляющее, гемостатическое, гипотензивное средство. Снят электронный спектр водно-спиртового извлечения из травы галинзоги мелкоцветковой. Установлены оптимальные параметры проведения экстракции для количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в изучаемом растительном сырье: дисперсность сырья, природа экстрагента, время экстракции. Проведена валидация разработанной методики по следующим характеристикам: линейность, повторяемость, воспроизводимость, правильность.

Ключевые слова: Galinsoga parviflora, сложноцветные, гидроксикоричные кислоты, хлорогеновая кислота, экстракция, валидация

Введение.

В настоящее время в медицинской практике активно применяются фармацевтические препараты, полученные из лекарственного растительного сырья. Это связано с рядом преимуществ лекарственных средств природного происхождения перед синтетическими, в частности, с широким спектром терапевтического действия и низкой токсичностью [1]. Помимо дополнительного изучения фармакопейных растений и их разновидностей, стремительно возрастает интерес к растительному сырью, ранее используемому лишь в народной медицине. Объектом нашего исследования была выбрана трава галинзоги мелкоцветковой (Galinsoga parviflora) семейства сложноцветные (Compositae), которая в народной медицине применяется как ранозаживляющее, гемомтатическое, гипотензивное средство.

Ранее в наших исследованиях [2] методом ВЭЖХ в траве галинзоги мелкоцветковой (Galinsoga parviflora), были идентифицированы гидроксикоричные кислоты, в числе которых, кислота хлорогеновая. Гидроксикоричные кислоты обладают сильными антиоксидантными, антивирусными, антибактериальными и антигрибковыми свойствами, проявляет гипогликемическое, гипохолестеринемическое, противораковое и гепатопротекторное действие. Установлены ее пребиотические свойства [3].

Цель настоящего исследования – разработка методики количественного определения гидроксикоричных кислот в траве галинзоги и демонстрация ее пригодности для применения по назначению.

Объекты и методы.

Для разработки методики количественного определения гидроксикоричных кислот использовали воздушно-сухое сырье – траву галинзоги мелкоцветковой, собранную на территории Воронежской области в период массового цветения растения. В основе метода количественного определения гидроксикоричных кислот положен метод прямой спектрофотометрии [4].

Полученные данные обрабатывали статистически посредством электронных таблиц «Microsoft Excel»: вычисляли средние арифметические, стандартное отклонение.
Валидацию проводили по линейности, повторяемости, воспроизводимости и правильности методики [5-7].

Результаты и их обсуждение.

На первом этапе исследования по описанной методике был снят электронный спектр поглощения водно-спиртового извлечения из травы галинзоги мелкоцветковой в диапазоне длин волн 250-350 нм (рис. 1).

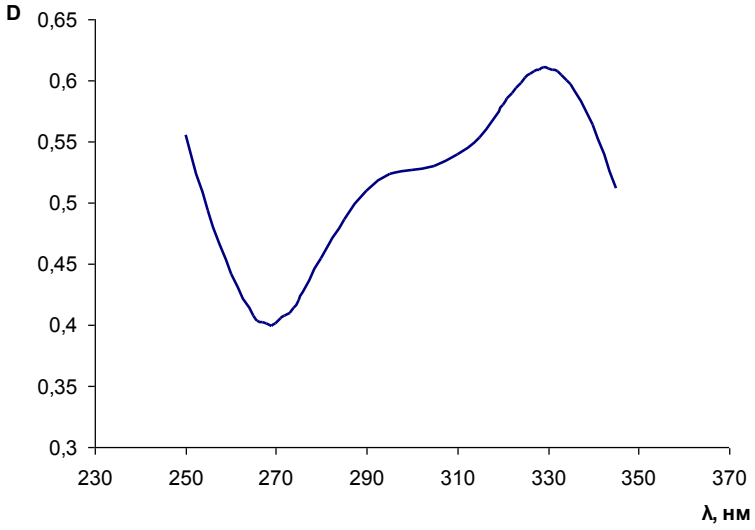


Рис. 1. Спектр 70% этанольного извлечения из травы галинзоги мелкоцветковой.

На рис. 1 отчетливо наблюдаются максимум поглощения при λ = 330 нм и «плечо» в области 290-310 нм, соответствующие сопряженным -CH=CH-связям в ароматических циклах гидроксикоричных кислот. Далее, при разработке методики использовали значения оптических плотностей при длине волны 330 нм, что соответствует максимуму поглощения хлорогеновой кислоты, поэтому расчет содержания гидроксикоричных кислот проводили в пересчете на хлорогеновую кислоту. Использовали удельный показатель поглощения, значение которого для хлорогеновой кислоты 504,425.

На следующем этапе исследования определяли условия проведения экстракции. Для этого изучали влияние дисперсности сырья, природы экстрагента и времени экстрагирования на полноту извлечения суммы гидроксикоричных кислот.

Траву галинзоги мелкоцветковой измельчали, просеивали через сита, брали навески с размерами частиц менее 2 мм, 1 мм, 0,5 мм. Влажность сырья составила 13%.

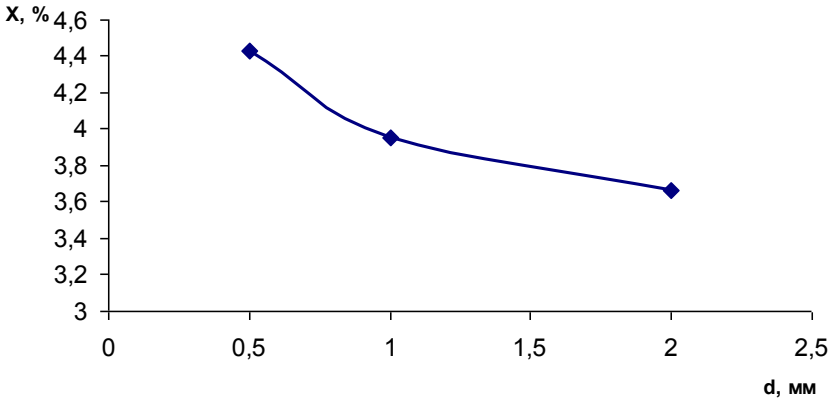


Рис. 2. Влияние степени измельчения сырья на полноту извлечения гидроксикоричных кислот

В результате можно отметить, что наибольшего выхода гидроксикоричных кислот из растения (4,43±0,13% в пересчете на хлорогеновую кислоту) можно добиться, используя сырье с диаметром частиц менее 0,5 мм, так как при большем измельчении сырья увеличивается поверхность соприкосновения фаз «растительный материал – экстрагент» (рис. 2).

Изучение влияния концентрации экстрагента (спирта этилового 30%, 50%; 70% и 96%) на полноту извлечения гидроксикоричных кислот показало, что у водно-спиртовых растворов с увеличением содержания спирта этилового экстрагирующая способность улучшается: выход гидроксикоричных кислот при экстракции 70% раствора спирта этилового составил 4,41±0,04%; использование спирта этилового 96% не обеспечило хорошего набухания сырья, уменьшило проникновение экстрагента внутрь клеток сырья и десорбцию извлекаемых ве-

ществ: содержание суммы гидроксикоричных кислот составило лишь 1,27±0,05%, поэтому применение спирта этилового 96% в качестве экстрагента нецелесообразно (рис. 3).

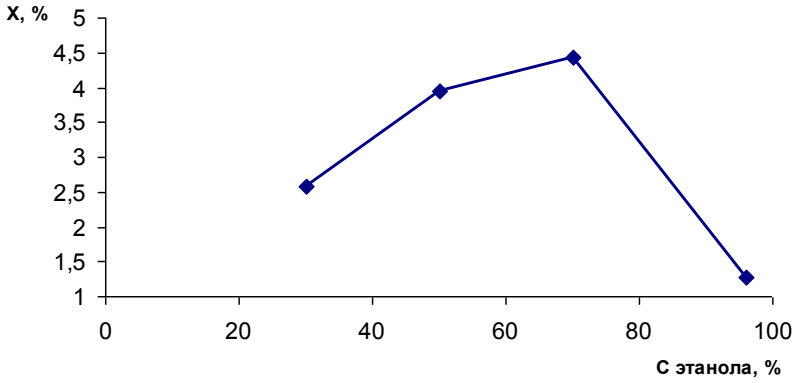


Рис. 3. Влияние природы экстрагента на полноту извлечения гидроксикоричных кислоты

Для установления оптимального времени экстракцию сырья проводили в течение 15, 30, 45, 60 минут до наступления равновесия.

Результат эксперимента показал, что динамическое равновесие в системе «сырье-экстрагент» наступает после 30 минут экстрагирования (выход гидроксикоричных кислот 4,43±0,13%) (рис. 4), и при дальнейшем нагревании общая картина выхода извлекаемых веществ не меняется. Так как гидроксикоричные кислот имеют небольшую молекулярную массу, они быстрее диффундируют, чем высокомолекулярные вещества, следовательно, при дальнейшей экстракции в вытяжку будут экстрагироваться балластные вещества, что приведет к ухудшению качества экстракта.

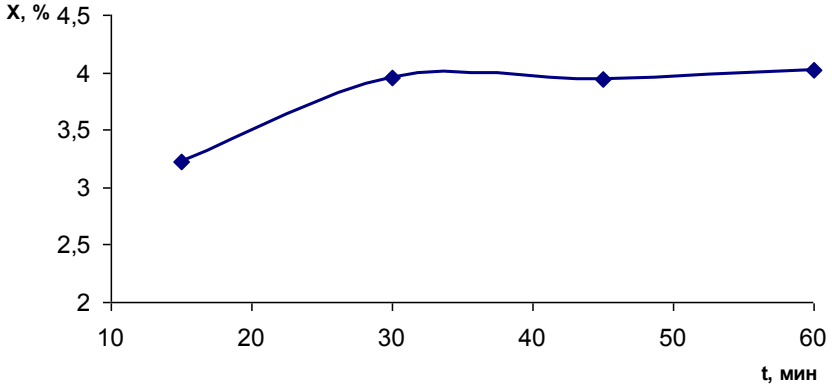


Рис. 4. Влияние времени экстракции на полноту извлечения гидроксикоричных кислоты

Таким образом, для определения количественного содержания суммы гидроксикоричных кислот в траве галинзоги мелкоцветковой были подобраны следующие условия: степень измельчения сырья с диаметром частиц не более 0,5 мм, экстрагент – 70% спирт этиловый, время экстракции – 30 минут.

Валидацию разработанной методики проводили по следующим показателям: линейность, повторяемость, воспроизводимость, правильность.

Для проверки линейности брали 6 экспериментальных точек: взвешивали отдельные навески, массой от 0,7 до 1,2 г (т.н.), и готовили из них извлечнгия соответствующих концентраций.

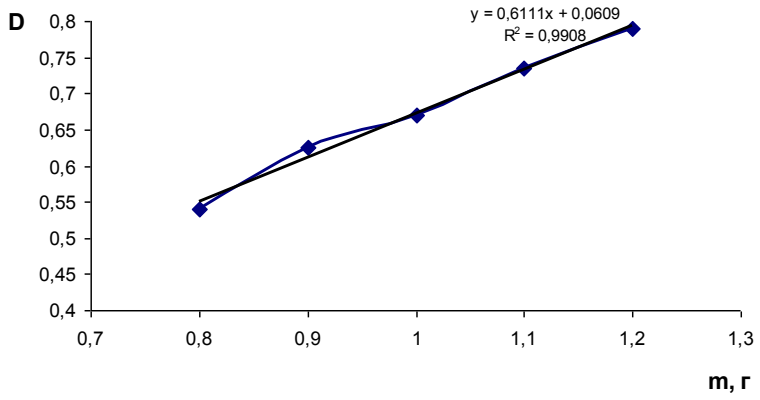


Рис. 5. Зависимость оптической плотности полученных извлечений от концентрации гидроксикоричных кислот

На рис. 5 представлена зависимость значения оптической плотности полученных извлечений от содержания хлорогеновой кислоты в навеске сырья. Коэффициент корреляции, который является главным критерием приемлемости линейности, составил 0,9908, что близко к единице. Значит, наши результаты можно описать прямой, т.е. в пределах диапазона «масса навески 0,7-1,2 г» оптическая плотность раствора прямо пропорциональна концентрации хлорогеновой кислоты в пробе.

При установлении повторяемости проводили 6 параллельных определений, затем вычисляли величину стандартного отклонения (S) и относительного стандартного отклонения (S отн) (табл. 1). Относительное стандартное отклонение составило 8,55% (не более 10%), что свидетельствует о прецизионности методики в условиях повторяемости.

Воспроизводимость определяли 2 аналитика на 3 образцах в 3 повторностях. Относительное стандартное отклонение составило 8,71% – для первого образца, 7,05% – для второго образца, 11,25% – для третьего образца, что свидетельствует о прецизионности методики в условиях воспроизводимости (табл. 2-4).

Таблица 1

Определение повторяемости разработанной методики

	X	d_i	d_i^2	S^2	S	ΔX	Sотн
1	3,64	0,22	0,047669	0,01698	0,13031	0,33	8,55
2	3,81	0,05	0,002336				
3	3,9	-0,04	0,001736				
4	3,84	0,02	0,000336				
5	3,94	-0,08	0,006669				
6	4,02	-0,16	0,026136				
	3,858333		0,084883				

Таблица 2

Определение воспроизводимости разработанной методики (1 образец)

	X	d_i	d_i^2	S^2	S	ΔX	Sотн	
1	3,64	0,03	0,001111	0,01559	0,12486	0,32	8,71	1 аналитик
2	3,81	-0,14	0,018678					
3	3,84	-0,17	0,027778					
4	3,53	0,14	0,020544					2 аналитик
5	3,58	0,09	0,008711					
6	3,64	0,03	0,001111					
	3,673333		0,077933					

Таблица 3

Определение воспроизводимости разработанной методики (2 образец)

	X	d_i	d_i^2	S^2	S	ΔX	Sотн	
1	3,63	0,06	0,0036	0,01056	0,10276	0,26	7,05	1 аналитик
2	3,52	0,17	0,0289					
3	3,72	-0,03	0,0009					
4	3,7	-0,01	0,0001					2 аналитик
5	3,76	-0,07	0,0049					
6	3,81	-0,12	0,0144					
	3,69		0,0528					

Таблица 4

Определение воспроизводимости разработанной методики (3 образец)

	X	d_i	d_i^2	S^2	S	ΔX	Sотн	
1	2,15	0,07	0,005136	0,00946	0,09726	0,25	11,25	1 аналитик
2	2,13	0,09	0,008403					
3	2,19	0,03	0,001003					
4	2,4	-0,18	0,031803					2 аналитик
5	2,21	0,01	0,000136					
6	2,25	-0,03	0,000803					
	2,221667		0,047283					

Правильность оценивали путем добавления к исследуемому извлечению стандартного раствора кислоты хлорогеновой с использованием 9 определений на 3 концентрациях, охватывающих требуемый диапазон. Критерий приемлемости – средний процент восстановления при использовании растворов заданных концентраций, скорректированный на 100%, его средняя величина должна находиться в пределах 100±5%. В разработанной методике процент восстановления находится в пределах от 96,78 до 102,05% (табл. 5).

Таблица 5

Определение правильности методики (эксперимент с добавками)

№п/п	Содержание хлорогеновой кислоты, г	Добавлено РСО хлорогеновой кислоты, г	Ожидаемое содержание хлорогеновой кислоты, г	Полученное содержание хлорогеновой кислоты, г	Полученное содержание хлорогеновой кислоты, %
1	0,0447	0,0112	0,0559	0,0549	98,21
2	0,0447	0,0112	0,0559	0,0563	100,72
3	0,0447	0,0112	0,0559	0,0541	96,78
4	0,0447	0,0224	0,0671	0,0652	97,17
5	0,0447	0,0224	0,0671	0,0683	101,79
6	0,0447	0,0224	0,0671	0,0675	100,60
7	0,0447	0,0335	0,0782	0,0798	102,05
8	0,0447	0,0335	0,0782	0,0788	100,77
9	0,0447	0,0335	0,0782	0,0771	98,59
Среднее значение выхода 99,63%					

В результате проведенного исследования установили, что содержание суммы гидроксикоричных кислот в изучаемом растении колеблется от 1,98±0,09% до 6,90±0,25%. Предложенная методика пригодна для стандартизации травы растений рода галинзога по содержанию суммы гидроксикоричных кислот.

Выводы.

Разработана методика количественного определения суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на кислоту хлорогеновую в траве *Galinsoga parviflora*. Установлены оптимальные параметры экстракции: сырье с диаметром частиц не более 0,5 мм, экстрагент – 70% спирт этиловый, время экстракции – 30 минут. Разработанная методика валидирована по показателям: линейность, повторяемость, воспроизводимость, правильность.

Литература

1. Сафонова, И.А. Изучение фенольных соединений листьев пузыреплодника калинолистного (Physocarpus opulifolius (L.) Maxim) методом ВЭЖХ / И.А. Сафонова, В.Я. Яцюк, А.В. Кузьминова // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2009. – №4. – С. 128-133.

2. Бубенчикова В.Н. Изучение состава фенольных соединений галинзоги мелкоцветковой методом ВЭЖХ / В.Н. Бубенчикова, С.А. Боева // Научно-практический журнал «Традиционная медицина». – 2012. – № 5. – С. 189-191.

3. Левицкий, А.П. Хлорогеновая кислота: биохимия и физиология / А.П. Левицкий, Е.К. Вертикова, И.А. Селиванская // Мікробіологія і біотехнологія. – 2010. – №2. – С. 6-20.

4. Ларькина, М.С. Изучение динамики накопления фенолкарбоновых кислот в надземной части василька шероховатого / М.С. Ларькина // Химия растительного сырья. – 2008. – №3. – С. 71-74.

5. Гаврилин М.В., Сенченко С.П. Валидация аналитических методик: методические указания для аспирантов и студентов. – Пятигорск: ГОУ ВПО Пятигорская ГФА Росздрава, 2009. – 40 с.

6. Руководство ICH «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1) // Фармация. – 2008. – №4. – С. 3-10.

7. Евдокимова О.В. Валидация методики количественного определения суммы флавоноидов в столбиках с рыльцами кукурузы / О.В. Евдокимова // Фармация. – 2008. – №7. – С. 14-17.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF HYDROXYCINNAMIC ACIDS IN THE GRASS *GALINSOGA PARVIFLORA*

V.N. BUBENCHIKOVA [1]
S.A. BOEVA [2]

[1] Kursk State Medical University

[2] Voronezh State Medical Academy of the N.N.Burdenko

e-mail: fg.ksmu@mail.ru

The article presents the data on the development of methods of quantitative determination of the amount of hydroxycinnamyl acids in the grass Galinsoga parviflora family Asteraceae (Compositae), which is used in folk medicine as a healing, haemostatic, hypotensive means. Filmed electronic spectrum of water-alcohol extraction of herbs Galinsoga parviflora. Optimal parameters of extraction for the quantitative determination of the amount of hydroxycinnamyl acids in the studied plant raw material: the dispersion of raw materials, nature extractant, time of extraction. Held validation of methods developed by the following characteristics: linearity, repeatability, reproducibility, accuracy.

Key words: Galinsoga parviflora, Compositae, hydroxycinnamic acids, chlorogenic acid, extraction, validation.

УДК 54.06

РАЗРАБОТКА СПОСОБА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТОДОМ МАСС-СПЕКТРОСКОПИИ С ЛАЗЕРНОЙ ДЕСОРБЦИЕЙ/ИОНИЗАЦИЕЙ НА ПРИМЕРЕ АНАЛИЗА РЕЗВЕРАТРОЛА

Д.И. ПИСАРЕВ
О.О. НОВИКОВ
Г.В. ВАСИЛЬЕВ
М.Ю. НОВИКОВА
Е.Т. ЖИЛЯКОВА

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

В статье приводятся результаты разработки методики количественного определения органических соединений методом масс-спектрометрии в варианте матрично-активированной лазерной десорбционной ионизации (MALDI) на примере *транс*-резвератрола. Для количественного определения использован принцип внутренней стандартизации. Возможность использования метода MALDI для количественного определения продемонстрирована при оценке прямолинейной зависимости между концентрацией и интенсивностью исследуемого пика компонента, которая оказалась таковой. В результате проведённых исследований доказана перспективность указанного метода для целей количественного определения органических соединений.

Ключевые слова: транс-резвератрол, матрично-активированная лазерная десорбционная ионизация, количественное определение, внутренняя стандартизация

В настоящее время для анализа биологически активных соединений используются физико-химические методы анализа, наиболее перспективными из которых считаются так называемые гибридные – ВЭЖХ, ГЖХ в сочетании с электроспрейной масс-спектрометрией и ионизацией электронным ударом. Основное достоинство данных методов – возможность определять индивидуальные компоненты в составе сложной смеси. Это особенно важно при анализе биологически активных веществ природного происхождения в растительных объектах в составе сложных комплексов, включающих десятки и сотни соединений. Основной проблемой при анализе таких многокомпонентных составов является необходимость не только обеспечить идентификацию и дать их количественную оценку, но и провести анализ экспрессно с высокой чувствительностью. Несмотря на эффективность существующей инструментальной базы, дефицит экспрессных и высокочувствительных методов анализа биологически активных соединений остается актуальной проблемой, поскольку данные методы в недостаточной степени оправдывают перечисленные критерии. Это создаёт необходимость привлечения новых адаптированных к современным требованиям науки методов анализа. В этом отношении масс-спектрометрия матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI/MS) является весьма перспективным инструментальным подходом, способным в сжатые сроки без использования стандартных образцов предоставить необходимую информацию. А в сочетании с времяпролётным анализатором масс (TOF/MS) отпадает необходимость в предварительном разделении многокомпонентных составов. К тому же высокая чувствительность MALDI/MS, недостижимая никакими другими методами, простота анализа, универсальность, объем получаемой информации способны сделать его одним из самых эффективных и востребованных среди аналитических методов.

Хотя метод MALDI/TOF/MS разрабатывался для анализа высокомолекулярных соединений, его с успехом используют и для низкомолекулярных структур, в том числе природного происхождения. Основным недостатком метода MALDI/TOF/MS при анализе низкомолекулярных соединений является неспособность определять изомеры, что делает его пригодным в основном для групповой характеристики анализируемой смеси. Поэтому в литературе часто метод MALDI/TOF/MS рассматривается с позиции дополняющего ВЭЖХ.

Масс-спектрометрия это физический метод измерения отношения массы заряженных частиц (ионов) к их заряду (m/z), установлению атомов, составляющих молекулу, их молекулярной массы, а также структуры их расположения. На сегодняшний момент масс-спектрометрия является самым высокочувствительным физико-химическим методом анализа

широчайшего спектра соединений. Интерпретация масс-спектрометрических данных не требует глубоких знаний в данной области. Однако данный метод используется исключительно в целях идентификации определяемых соединений.

Вероятность использования MALDI/TOF/MS для целей количественного определения потенциально возможна.

Опубликованное к настоящему времени значительное число работ, посвященных данной теме, не адаптировано для фармацевтических объектов, кроме того, требует методологического обеспечения и подтверждения.

Использование метода внутреннего стандарта, на наш взгляд, позволит существенно расширить возможности масс-спектроскопии с лазерной десорбцией/ионизацией.

Метод внутреннего стандарта очень широко применяется в практике количественного анализа смеси с помощью газо-жидкостной и высокоэффективной жидкостной хроматографии, особенно в тех случаях, когда колебания приборных факторов регулируются недостаточно тщательно. В масс-спектрометрии этот метод применяется ограниченно – в варианте масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой .

Метод внутреннего стандарта основан на введении в анализируемую смесь определенного количества стандартного вещества. Калибровочный график представляет собой зависимость между весовым количеством или процентным содержанием компонента и отношением высот (интенсивностей или площадей) пиков этого компонента и стандартного вещества. Калибровка производится путем добавления постоянного количества стандартного вещества к определенному объему различных смесей, содержащих переменные, но известные количества анализируемых компонентов. Составленные таким образом смеси анализируются.

Преимущества метода внутреннего стандарта:

1) При использовании метода внутреннего стандарта объем вводимой пробы и точность ее дозирования не влияют на точность количественного анализа. Отношение площадей пиков аналита и внутреннего стандарта остается постоянным.

2) Метод внутреннего стандарта очень удобен при проведении групповых определений.

3) Возможность в каждом проводимом определении контролировать потери аналитов в процессе подготовки пробы, причем на любой ее стадии. Для каждой такой стадии нужен еще один внутренний стандарт.

4) В методе внутреннего стандарта погрешность прибора оказывает наименьшее влияние на погрешность результата.

Таким образом, целью данного исследования явилась разработка способа количественного определения органических соединений с помощью метода масс-спектроскопии с лазерной десорбцией/ионизацией.

Предлагаемый способ отработан на методике количественное определение резвератрола методом MALDI.

Материалы и методы.

В работе использован метод MALDI (matrix assisted laser desorption/ionization) – лазерная десорбция и ионизация в присутствии вспомогательного вещества – матрицы. Данный метод используется для исследований как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных веществ. В этом методе ионизации подвергается непосредственно твёрдая или жидкая проба без её предварительного испарения. Масс-спектры крайне просты и в предельном случае состоят только из молекулярного пика. Для ионизации используют УФ-лазер с длиной волны 337 нм. При анализе используют матрицу, играющую роль переносчика энергии.

Для количественного определения методом масс-спектрометрии необходимо выбрать некоторый пик, принадлежащий определенному компоненту, и измерить его интенсивность. Для исключения влияния условий эксперимента нужно использовать внутренний стандарт.

Для количественного определения методом масс-спектрометрии в качестве аналита использована субстанция природного биологически активного вещества стильбеновой структуры – резвератрола (производство “DSM Nutritional Products Europe Ltd” (Швейцария), зарегистрирована в РФ как сырье для БАД (свидетельство № 77.99.26.9.4.4087.4.09 от 30.04.2009 г.). В качестве внутреннего стандарта применено вещество, производное бензо-γ-пирона – кверцетин. Данные вещества друг с другом не взаимодействуют, имеют чётко различающиеся молекулярные массы. Пик резвератрола (m/z = 228) не накладывается на пик кверцетина (m/z = 303), что видно на приведенном рис. 1.

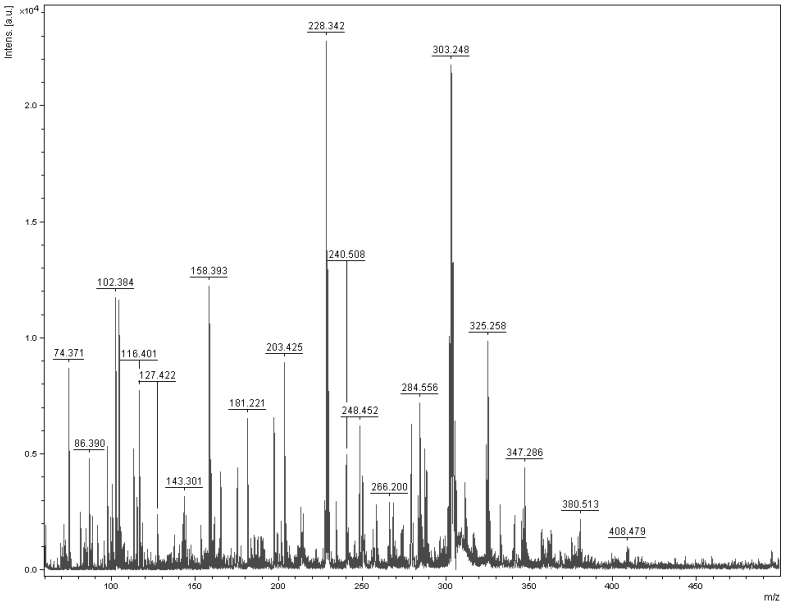


Рис. 1. Масс-спектр резвератрола и кверцетина при совместном присутствии

Методика определения: 0,1 г (аналитическая навеска) субстанции резвератрола помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляли 10 мл спирта этилового 96%-ного, тщательно взбалтывали до полного растворения и доводили до метки этим же растворителем (раствор А). Параллельно в аналогичных условиях готовили раствор внутреннего стандарта, в качестве которого был выбран стандартный образец кверцетина.

Из полученного раствора А далее готовили серию разведений, состоящую из 6 растворов. Для этого 6 мерных колб вместимостью по 25 мл помещали по 3 мл аликвоты раствора А аналита и раствора внутреннего стандарта кверцетина в объемах: 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 и 6,0 мл, содержимое колб тщательно перемешивали и доводили спиртом этиловым 96%-ным до метки (растворы Б).

Из каждого раствора Б микропипеткой отбирали по 0,05 мл аликвоты, помещали в пробирки градуированные емкостью 1,5 мл и разводили в два раза ацетонитрилом для удобства нанесения на мишень (растворы В).

Таким образом, пробы растворов В №1-6 в количестве по 0,5 µl с помощью дозатора наносили на мишень «MTP 384 targen plate matt steel TF» в шесть лунок, высушивали и сверху наносили каплю матрицы.

Полученные концентрации внутреннего стандарта приведены в таблице 1. Регистрацию масс-спектров проб №1-6 проводили на приборе масс – спектрометр «Autoflex II» «MALDI TOF/TOF» фирмы Bruker Daltonics. В качестве матрицы использовали α-цианокоричную кислоту, регистрацию спектров вели с помощью программы «Flex Control», обработку данных осуществляли в программе «Flex Analis» в режиме Reflex Positive.

Результаты исследования.

В результате измерений получены объединенные спектры, на которых наблюдаются интенсивные пики ионов аналита – резвератрола с зарядом иона m/z = 228,3 и пики внутреннего стандарта – кверцетина с зарядом иона m/z = 303,2 (рис. 2).

Из данных табл. 1 и на приведенном рис. 2 видно, что интенсивность пика иона аналита резвератрола плавно уменьшается, а внутреннего стандарта кверцетина увеличивается по мере нарастания его концентрации.

Каждую пробу регистрировали 3-х кратно и вычисляли среднее значение их интенсивности (I).

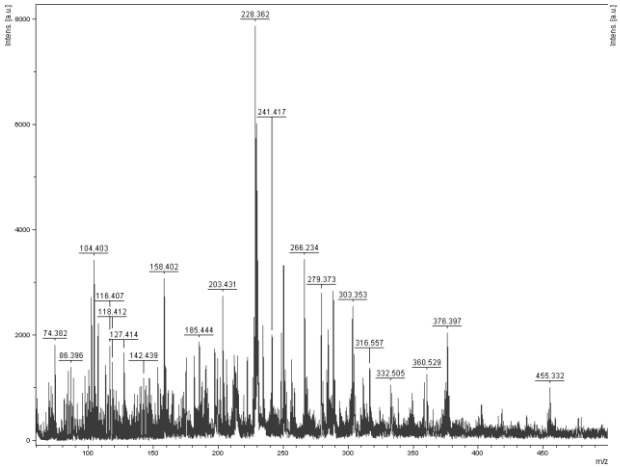
Интенсивности (I) пиков ионов аналита (I_{an}) и внутреннего стандарта (I_{st}), а также их отношения приведены в табл. 1.

Для оценки прямолинейности зависимости концентрации внутреннего стандарта от отношения интенсивностей внутреннего стандарта и аналита построен калибровочный график в координатах $C_{стандарта}$, мкг/мл – I_{st}/I_{an}. (рис. 3).

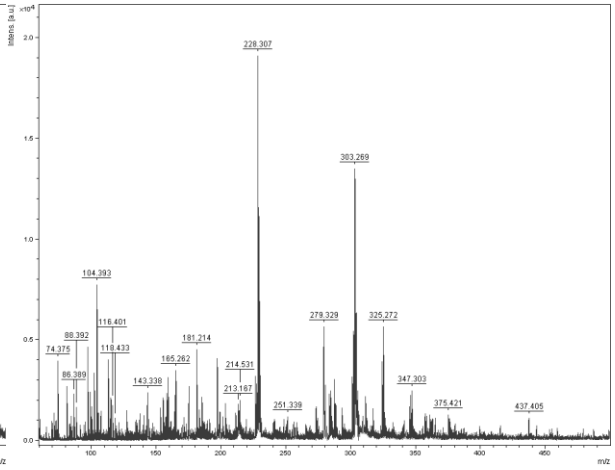
Таблица 1

Интенсивности пиков ионов аналита и внутреннего стандарта и их отношения

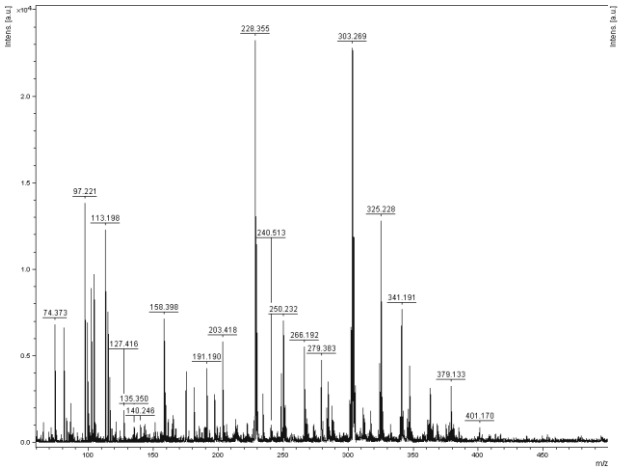
$C_{Стандарта}$, мкг/мл	№ пробы					
	1	2	3	4	5	6
	0,04	0,08	0,12	0,16	0,20	0,24
I_{st}, Интенсивность пика стандарта кверцетина, m/z 303,2	478,8 1670,02 538,3 $\overline{X}$ = 896	20380,98 10408,1 12969,04 $\overline{X}$ = 14586	22633,89 22338,93 23483,18 $\overline{X}$ = 22819	26680,09 22343,26 23465,31 $\overline{X}$ = 24163	9381,65 2440,07 8722,74 $\overline{X}$ = 6848	6681,26 9548,16 8912,63 $\overline{X}$ = 8381
I_{an}, Интенсивность пика аналита резвератрола, m/z 228,3	244,85 2027,0 7056,21 $\overline{X}$ = 3109	22067,7 19635,47 20491,97 $\overline{X}$ = 20732	23090,95 23051,73 23934,41 $\overline{X}$ = 23359	24557,09 21599,47 19170,81 $\overline{X}$ = 21776	4698,78 4278,99 4183,3 $\overline{X}$ = 4387	2768,39 5337,0 5608,64 $\overline{X}$ = 4571
I_{st}/I_{an}	0,288	0,7035	0,977	1,2	1,56	1,833



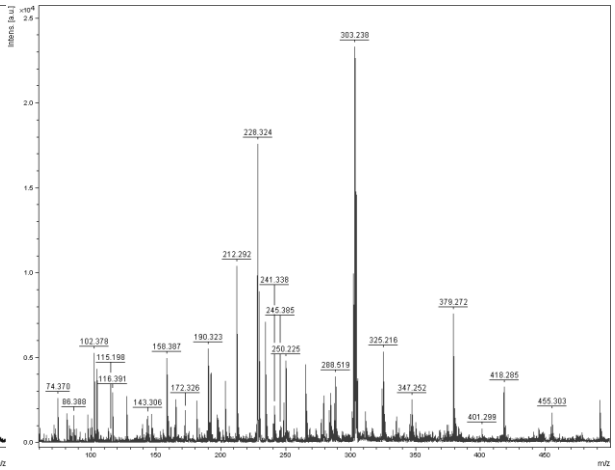
Проба №1



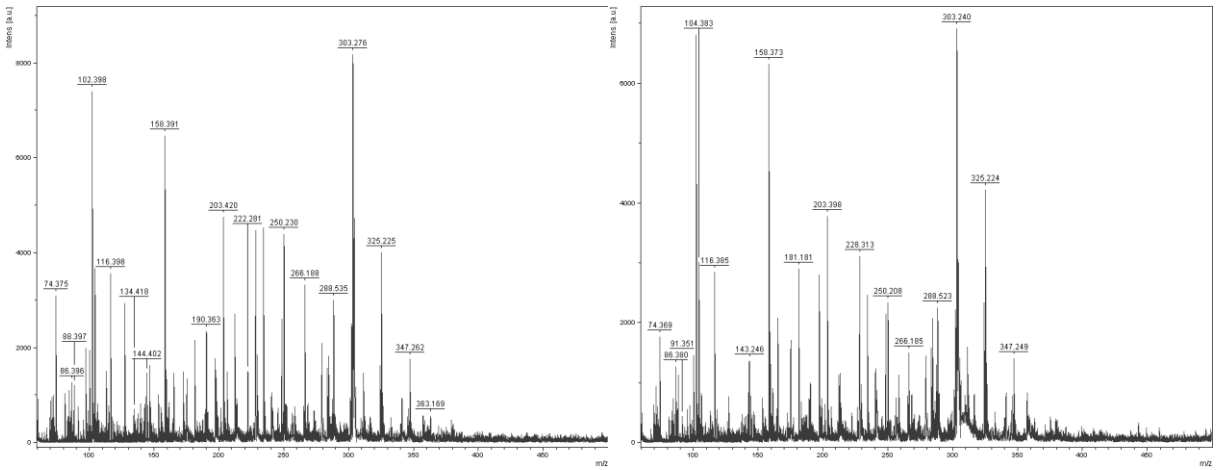
Проба №2



Проба №3



Проба № 4



Проба №5 Проба № 6

Рис. 2 – Масс-спектры анализируемой смеси

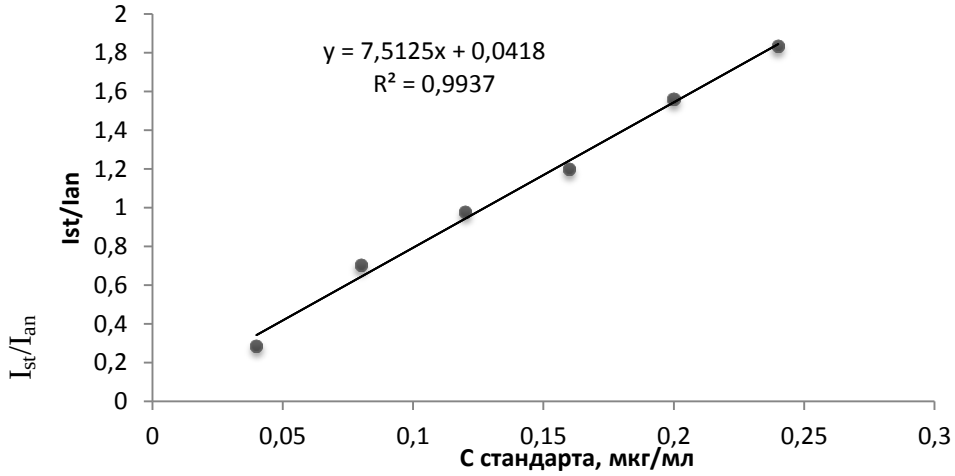


Рис. 3. Калибровочный график зависимости концентрации внутреннего стандарта от отношения интенсивностей внутреннего стандарта и аналита

Из приведенного графика следует, что отношение I_{st}/I_{an} к концентрации стандартного раствора имеет прямолинейную зависимость. Это указывает на то, что отношение площадей пиков ионов аналита и внутреннего стандарта остается постоянным.

Когда отношение I_{st}/I_{an} приближается к единице, это является свидетельством совпадения концентраций внутреннего стандарта и исследуемого вещества. Тогда содержание исследуемого вещества можно найти по приведённому калибровочному графику или вычислить по формуле:

$$C_x = C_{st}\frac{I_{an}}{I_{st}} \quad (1)$$

Из рассчитанных данных следует, что содержание аналита в пробе составило 0,1228 мкг/мл.

Относительную ошибку определяли в ходе 7 параллельных измерений разных образцов анализируемой смеси. Полученные данные обрабатывали статистически. Результаты статистической обработки определения содержания резвератрола методом масс-спектрометрии представлены в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, относительная ошибка единичного определения методики количественного определения резвератрола методом масс-спектрометрии с вероятностью 95%составляет ±3,65% и концентрацией определяемого вещества – 10^{-7} г.

Для соотнесения полученных результатов использован метод количественного определения резвератрола методом УФ-спектрофотометрии в сравнении со стандартным образцом.

Таблица 2

Результаты количественного определения резвератрола методом масс-спектрометрии

X (мкг/мл)	$\overline{X} - X_i$	$(\overline{X} - X_i)^2$	Метрологические характеристики
0,1228	0,0005	0,00000025	$\overline{X} = 0{,}1233$
0,1303	-0,007	0,000049	$\sum(\overline{X} - X)^2 = 0{,}00014$
0,1301	0,0068	0,0000462	$S_x = \sqrt{\frac{\sum(\overline{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0{,}0018$
0,1219	0,0014	0,00000196	$\Delta X = S_x \cdot t_x = 0{,}0045$
0,1194	0,0039	0,0000152	ε = 3,65 %
0,1189	0,0044	0,000019	
0,1199	0,0034	0,000011	
$\overline{X} = 0{,}1233$		$\sum(\overline{X} - X)^2 = 0{,}00014$	

Для этого около 0,1 г (точная навеска) субстанции резвератрола, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл спирта этилового 96%-ного, перемешивали, доводили объем раствора этим же растворителем до метки и перемешивали. 0,1 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем раствора спиртом этиловым 96%-ным до метки и перемешивали. Измеряли оптическую плотность полученного раствора на УФ-спектрофотометре СФ-56, при длине волны 306 нм, относительно спирта этилового. Параллельно в аналогичных условиях готовили раствор стандартного образца резвератрола.

Было проведено 7 параллельных измерений. Результаты статистической обработки определения содержания резвератрола в субстанции представлены в табл. 3.

Таблица 3

Результаты количественного определения резвератрола в субстанции

X (мкг/мл)	$\overline{X} - X_i$	$(\overline{X} - X_i)^2$	Метрологические характеристики
4,1	-0,18	0,0324	$\overline{X} = 3{,}92$
3,72	0,2	0,04	$\sum(\overline{X} - X)^2 = 0{,}1789$
3,85	0,07	0,0049	$S_x = \sqrt{\frac{\sum(\overline{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0{,}065$
3,94	-0,02	0,0004	$\Delta X = S_x \cdot t_x = 0{,}163$
3,78	0,14	0,0196	ε = 4,16%
3,86	0,06	0,0036	
4,2	-0,28	0,078	
$\overline{X} = 3{,}92$		$\sum(\overline{X} - X)^2 = 0{,}1789$	

Как видно из данных табл. 3, относительная ошибка единичного определения методики количественного определения резвератрола в субстанции с применением метода УФ-спектрофотометрии с 95% вероятностью составляет ±4,16% и концентрацией определяемого вещества – 10^{-6} г.

Если соотнести результаты количественного определения резвератрола методом масс-спектроскопии и УФ-спектрофотометрии приведённые в таблицах 2 и 3, то можно утверждать, что масс-спектрометрическое определение имеет более высокую чувствительность – более чем 30 раз, с меньшей погрешностью.

Выводы.

Таким образом, доказана в эксперименте возможность количественного определения биологически активных соединений различной природы методом MALDI/TOF/MS с использованием принципа внутренней стандартизации.

Разработан высокочувствительный способ количественного определения методом

MALDI/TOF/MS, пригодный для целей анализа органических соединений в объектах различного происхождения, что наглядно проиллюстрировано примером исследования субстанции *транс*-резвератрола.

Литература

1. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: В 2 т: пер. с англ. / Под ред. Р. Кёльнера, Ж.-М. Мериме, М. Отто, М. Видмера. – М.: «Мир»: ООО «Издательство АСТ», 2004. – Т. 2. – 728 с.; Отто М. Современные методы аналитической химии. – 2-е испр. изд. – М.: Техносфера, 2006. – 416 с.

2. Сакодынский К.И. Аналитическая хроматография / К.И. Сакодынский, В.В. Бражников, В.Ю. Зельвенский, Э.С. Ганкина, В.Д. Шац. М.: Химия,1993. – 464 с.;

3. Сакодынский К.И. Аналитическая хроматография / К.И. Сакодынский, В.В. Бражников, В.Ю. Зельвенский, Э.С. Ганкина, В.Д. Шац. М.: Химия,1993. – 464 с.;

4. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография: Основы теории. Методология. Применение в лекарственной химии / В.Д. Шатц, О.В. Сахартова. – Рига: Зинатне, 1988. – 390 с.

5. Отто М. Современные методы аналитической химии. – 2-е испр. изд. – М.: Техносфера, 2006. – 416 с.

A METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF ORGANIC COMPOUNDS BY MASS SPECTROSCOPY, LASER DESORPTION / IONIZATION ON THE EXAMPLE OF THE ANALYSIS OF RESVERATROL

D.I. PISAREV
O.O. NOVIKOV
G.V. VASILIEV
M.U. NOVIKOV
E.T. ZHILYAKOVA

Belgorod National Research University

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

The article presents the results of development of methods of quantitative determination of organic compounds by mass spectrometry in the form of matrix- assisted laser desorption ionization (MALDI) on an example of trans- resveratrol . Used for the quantitative determination principle of internal standardization. The possibility of using the method for quantifying MALDI demonstrated by assessing the linear relationship between concentration and intensity of the test component peak , which was itself. The studies proved this method promising for the quantitative determination of organic compounds.

Key words: trans-rezveratrorl, matrix-assisted laser desorption ionization, quantification, internal standardization.

УДК 581.9:470.325

РЕДКИЕ РАСТЕНИЯ ЮГО-ЗАПАДА СРЕДНЕРУССКОЙ ВОЗВЫШЕННОСТИ В КОЛЛЕКЦИИ БОТАНИЧЕСКОГО САДА НИУ «БелГУ» И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

Н. А. МАРТЫНОВА
В. К. ТОХТАРЬ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА
О.О. НОВИКОВ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

На основании многолетних исследований, проведенных в коллекции раритетных видов Ботанического сада НИУ «БелГУ», определен видовой состав растений природной флоры, которые успешно произрастают в условиях культуры на юго-западе Среднерусской возвышенности, проходят все онтогенетические и фенологические стадии развития, легко размножаются в условиях юго-запада Среднерусской возвышенности. Проанализированы данные о возможном использовании 76 видов растений флоры юго-запада Среднерусской возвышенности, нуждающихся в охране из коллекции раритетных видов Ботанического сада НИУ БелГУ. 63% изученных растений приходится на группу видов, использующихся преимущественно как декоративные растения, и 37% – в качестве лекарственных. Однако потенциально не менее 20% видов могут быть отнесены к обоим группам видов.

Ключевые слова: ботанические сады, коллекция, раритетные виды, природная флора, возможности использования растений.

Введение.

Ботанические сады являются связующими звеньями в комплексном сохранении растений в степных и лесостепных условиях. Кроме того, именно эти структуры разрабатывают методологические подходы к охране растений как в виде коллекций живых культур (*ex situ*) так и в природных популяциях (*in situ*), путем создания рекомендаций по их охране. Выращивание редких и исчезающих видов растений в условиях культуры является одним из способов сохранения биологического разнообразия, частью стратегии ботанических садов всего мира, и в том числе России [1].

Целью исследования было определение видового состава редких растений юго-запада Среднерусской возвышенности, успешно культивируемых в коллекции Ботанического сада Белгородского государственного национального исследовательского университета (НИУ «БелГУ») и анализ возможностей их применения.

Численность редких растений, обладающих декоративными и лекарственными свойствами, сокращается не только в связи с резким сокращением природных местообитаний, но и в результате сбора и заготовки этих растений для продажи на букеты, переноса в сады и огороды.

На базе коллекции Ботанического сада НИУ «БелГУ» ведётся работа по реинтродукции раритетных видов растений в места их природного обитания [2] для восстановления популяций в естественных условиях. С этой целью были созданы специальные коллекции редких и исчезающих видов. В ней были изучены эколого-биологические свойства растений и выделена группа видов, в наибольшей степени устойчивая к успешному культивированию. В настоящее время она насчитывает 76 видов. Установлено, что эти виды проходят все онтогенетические и фенологические стадии развития, легко воспроизводятся и размножаются в условиях культуры на юго-западе Среднерусской возвышенности. Вместе с тем, в силу своей устойчивости в культуре, они являются важными и перспективными источниками получения лекарственных препаратов в регионе, а также могут быть использованы в качестве декоративных растений для озеленения даже в условиях антропогенно нарушенных территорий. В таблице приведен список видов коллекции редких и исчезающих видов растений, успешно культивируемых в Ботаническом саду НИУ «БелГУ», которые охраняются на федеральном уровне [3], а также приведены данные по возможностям их использования.

Среди жителей Белгородской области,из перечисленных в таблице растений наибольшим спросом пользуются 17 видов: горицвет весенний – *Adonis vernalis*, ветреница лесная – *Anemone sylvestris*, живучка Лаксмана – *Ajuga laxmannii*, иссоп меловой – *Hyssopus cretaceous*, иссоп лекарственный – *Hyssopus officinalis*, первоцвет весенний – *Primula veris*, кошачья лапка двудомная – *Antennaria dioica,* касатик безлистный – *Iris aphylla*, касатик карликовый – *Iris pumila*, касатик сибирский – *Iris sibirica*, очиток большой – *Sedum maximum*, молодило русское – *Sempervivum ruthenicum*, ковыль опушённолистный – *Stipa dasyphylla,* ковыль Лессинга –

Stipa lessingiana, ковыль перистый – *Stipa pennata*, ковыль Залесского – *Stipa zalesskii*. Реализация растений, выращенных в Ботаническом саду, населению можно рассматривать как один из способов повышения биоразнообразия ценных раритетных видов растений и одно из направлений, которое опосредованно способствует повышению реинтродукционного потенциала редких и исчезающих видов. Деятельность ботанических садов способствует введению этих растений в культуру и их распространению в регионе.

Таблица

Редкие и исчезающие виды растений коллекции Ботанического сада НИУ «БелГУ», произрастающие на юго-западе Среднерусской возвышенности

	Вид	Использование и применение
1	2	3
	Лютиковые – Ranunculaceae Adans	
1	Горицвет весенний – *Adonis vernalis* L.	Лекарственное растение. Настой травы и очищенный препарат адонизид применяется при хронической сердечно-сосудистой недостаточности, неврозах сердца и эмфиземе лёгких, оказывает успокаивающее действие. Фармацевтическая промышленность выпускает таблетки «Адонисбром». Адонизид является составной частью комплексного препарата кардиовалена. Населением уничтожается для использования в лекарственных целях, на продажу в виде букетов, для высаживания в садах и огородах.
2	Горицвет волжский – *Adonis wolgensis* Stev. ex DC.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается на продажу в виде букетов, для переноски в сады.
3	Пион тонколистный – *Paeonia tenuifolia* L.	Лекарственное растение. В народной медицине водный настой травы в небольших дозах пьют при болезнях сердца. Водный настой шишек корней применяют при малокровии, кашле и для отрезвления пьяных. Как декоративное растение используется в культуре с 1765 года. Населением уничтожается в лекарственных целях, на продажу в виде букетов, для переноски в садах.
4	Ломонос цельнолистный – *Clematis integrifolia* L.	Преимущественно декоративный. Представитель группы «интегрифолия». В культуре с 1573 года. Выкапывается для переноса в сады как декоративное растение.
5	Прострел раскрытый-*Pulsatilla patens* (L.) Mill.	Лекарственное растение. В народной медицине прострел считается сильным средством для лечения функциональных заболеваний нервной системы, средством для лечения невралгии, мигреней, бессонницы, неврастении. Принимают как успокаивающее и снотворное в виде холодного настоя. Сон-трава обладает седативным действием. Седативные успокаивающие средства в повышенных дозах являются снотворным. Выкапывается для переноса в сады как декоративное растение.
6	Прострел луговой-*Pulsatilla pratensis* (L.) Mill.	Преимущественно декоративный. Выкапывается для переноса в сады как декоративное растение.
7	Лютик иллирийский – *Ranunculus illyricus* L.	Преимущественно декоративный. Выкапывается для переноса в сады как декоративное растение.
8	Ветреница дубравная – *Anemone nemorosa* L.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается для букетов, для переноски в сады.
9	Ветреница лесная – *Anemone sylvestris* L.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается на продажу в виде букетов, для переноски в сады.
10	Купальница европейская – *Trollius europaeus* L.	Премущественно декоративный. Как декоративное растение используется в культуре с 16 века. Населением выкапывается для посадки в садах.
	Эфедровые – Ephedraceae Dumort	
11	Хвойник двухколосковый – *Ephedra distachya* L.	Лекарственное растение. В медицинской практике применяют гидрохлорид эфедрина при бронхиальной астме, крапивнице и других аллергических заболеваниях, ринитах, отравлениях снотворным, в офтальмологической и оториноларингологической практике для расширения зрачка и сужения сосудов. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья.
	Губоцветные – Lamiaceae Lindl	
12	Живучка Лаксмана – *Ajuga laxmannii* Benth.	Лекарственное растение. Собранная в период цветения и высушенная трава используется в качестве лекарственного сырья, входящего в состав сбора для приготовления микстуры по прописи М. Н. Здренко. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья.

Продолжение табл.

1	2	3
13	Иссоп меловой – *Hyssopus cretaceus* Dubjan.	Лекарственное растение. Эфиромасличное, медоносное лекарственное растение. Населением уничтожается при заготовке лекарственного сырья и как декоративное, для посадки в садах.
14	Иссоп лекарственный – *Hyssopus officinalis* L.	Лекарственное растение. Водный настой иссопа применяют в народной медицине как отхаркивающее средство при кашле, хронических бронхитах, при бронхиальной астме, а также при хронических воспалительных желудочно-кишечных заболеваниях. Наружно настой используют в качестве ранозаживляющего средства для примочек и промывания ран и язв и в виде полоскании при воспалительных заболеваниях полости рта, глотки и гортани. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья и как декоративное, для посадки в садах.
15	Черноголовка крупноцветковая – *Prunella grandiflora* (L.) Scholl.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное растение при выкопке для посадки в садах.
16	Шалфей эфиопский – *Salvia aethiopis* L.	Трава используется в качестве лекарственного сырья, входящего в состав сбора для приготовления микстуры по прописи М. Н. Здренко. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья.
17	Дубровник беловойлочный – *Teucrium polium* L.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное растение при выкопке для посадки в садах.
18	Тимьян меловой – *Thymus cretaceus* Klok. et Shost. [*Th. calcareus* Klok. et Shost.]	Эфирно-масличное растение. Нуждается в охране.
Амариллисовые – Amaryllidaceae St.-Hill		
19	*Galanthus caucasicus* (Baker) Grossh. – Подснежник кавказский	Преимущественно декоративный. Нуждается в охране.
20	Лук желтеющий – *Allium flavescens* Bess.	Преимущественно декоративный. Нуждается в охране.
Лилейные – Liliaceae Juss		
21	Бельвалия сарматская – *Bellevalia sarmatica* (Pall. Ex Georgi) Woronov	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное растение при выкопке для посадки в садах.
22	Рябчик русский – *Fritillaria ruthenica* Wikstr.	Лекарственное растение. Отвар луковиц растения применяется как жаропонижающее, отхаркивающее, при сухости горла, кашле с небольшим количеством мокроты, при скрофулезе, абсцессе лёгких, при заболеваниях щитовидной железы. Спиртовая настойка луковиц облегчает лихорадочные состояния, снижает кровяное давление, благодаря пеимину и пеиминину стимулирующее воздействует на работу сердечной мыщцы. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья и как декоративное для посадки в садах.
23	Пролеска двулистная- *Scilla bifolia* L.	Преимущественно декоративный. В культуре как декоративное растение применяется с 1568 года. Населением уничтожается при заготовке на букеты для продажи, при выкопке для переноса в сады.
24	Тюльпан Бибирштейна- *Tulipa bibersteiniana* Schult. et Schult	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается при заготовке на букеты для продажи, при выкопке для переноса в сады.
25	Чемерица Лобеля – *Veratrum lobelianum* Bernh.	Лекарственное растение. Порошок или отвар корневищ употребляют как инсектицид против вшей, блох, тараканов. В ветеринарии как рвотное средство и для заживления ран. В народной медицине при кожных заболеваниях. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья и как декоративное для посадки в садах.
26	Чемерица чёрная – *Veratrum nigrum* L.	Лекарственное растение. Настой корневищ – хорошее средство для заживления ссадин и ран. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья и как декоративное для посадки в садах.
27	Мускари незамеченный – *Muscari neglectum* Guss.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное при выкопке для посадки в садах.
28	Гиацинтик беловатый – *Hyacinthella leucophaea* (C. Koch) Schur	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное при выкопке для посадки в садах.

Продолжение табл.

1	2	3
29	Гусиный лук жёлтый – *Gagea lutea* Ker-Gawl.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное при выкопке для посадки в садах.
30	Птицемлечник Коха – *Ornithogalum kochii* Parl.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное при выкопке для посадки в садах.
31	Брандушка разноцветная – *Bulbocodium versicolor* (Ker-Gawl.) Spreng.	Преимущественно декоративный. Населением уничтожается как декоративное при выкопке для посадки в садах.
	Розоцветные – Rosaceae Juss	
32	Миндаль низкий – *Amygdalus nana* L.	Преимущественно декоративный. Как декоративное растение используется в культуре с 1683 года. Населением уничтожается как декоративное при выкопке для посадки в садах.
33	Лапчатка белая – *Potentlla alba* L.	Лекарственное растение. Настойка применяется для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы, снижения холестерина, восстановления здоровья после курсов химио- и лучевой терапии. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья и как декоративное для посадки в садах.
34	Кровохлебка малая – *Sanguisorba minor* Scop. [*Poterium sanguisorba* L.]	Декоративный и лекарственный вид. Нуждается в охране.
	Первоцветные-Primulaceae Vent.	
35	Первоцвет весенний – *Primula veris* L.	Лекарственное растение. Препараты из листьев и корневищ первоцвета обладают отхаркивающим, потогонным и мочегонным действием. Отвар корней применяют при бронхитах, воспалении лёгких, коклюше, как болеутоляющее средство (при болях в суставах), при хронических запорах, головных болях, всех болезнях мочеполовых путей и почек. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья и как декоративное для посадки в садах.
36	Проломник мохнатый – *Androsace villosa* L. [*A. koso- poljanskii* Ovcz.]	Преимущественно декоративный. Используется в цветниках, клумбах, на альпийских горках и в рокариях.
	Астровые – Asteraceae Dumort	
37	Кошачья лапка двудомная – *Antennaria dioica (*L.) Gaertn.	Лекарственное растение. Траву применяют при болезнях горла, туберкулёзе лёгких, гипертонии, холециститах, гепатитах, а также как успокаивающее средство. Наружно применяют при детских экземах, нарывах, туберкулёзе кожи, порошком из травы присыпают раны. В ветеринарии отваром травы лечат овец от поноса. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья и как декоративное для посадки в садах.
38	Солонечник льновидный-*Galatella linosyris* (L.) Reichenb. fit.	Лекарственное растение. Настой травы принимают при кашле, грудной и зубной боли, болезнях дыхательных органов. Наружно применяют в виде припарок при ревматических болях. Населением уничтожается при заготвке лекарственного сырья.
39	Козелец пурпуровый-*Scorconera purpurea* L.	Может использоваться как декоративный вид в озеленении. Нуждается в охране.
40	Полынь беловойлочная-*Artemisia hololeuca* Bieb. ex Bess.	Может использоваться как декоративный вид в озеленении. Редкое краснокнижное растение юга России. Нуждается в охране.
41	Василёк восточный-*Centaurea orientalis* L.	Преимущественно декоративный. Как декоративное растение используется в культуре с 1759 года. Населением уничтожается при выкопке для посадки в садах.
42	Василек русский-*Centaurea ruthenica* Lam.	Преимущественно декоративный. Как декоративное растение используется в культуре с 1783 года. Населением уничтожается при выкопке для посадки в садах.
43	Василек Талиева – *Centaurea taliewii* Kleop.	Преимущественно декоративный. Используется в цветниках и клумбах. Нуждается в охране.
44	Сухоцвет однолетний – *Xeranthemum annum* L.	Как декоративное растение используется в культуре с 1570 года. Входит в состав сбора М. Н. Здренко. Населением уничтожается при заготовке лекарственного сырья и при заготовке букетов для продажи.

Продолжение табл.

1	2	3
	Мареновые – Rubiaceae Juss	
45	Ясменник сероплодный – *Asperula tephrocarpa* Czern. ex M. Pop. et Chrshan. [*A. creticola* Klok.]	Может использоваться для оформления букетов и составления сухих цветочных композиций. Нуждается в охране.
	Бобовые – Fabaceae Lindl	
46	Астрагал белостебельный – *Astragalus albicaulis* DC.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
47	Астрагал шерстистоцветковый – *Astragalus dasyanthus* Pall.	Лекарственное растение. Сироп можно использовать и для профилактики, и для лечения практически всех заболеваний, начиная от простуд, и заканчивая онкологией. Уничтожается населением при заготовке лекарственного сырья.
48	Астрагал опушенноцветковый – *Astragalus pubiflorus* DC.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
49	Копеечник крупноцветковый – *Hedysarum grandiflorum* Pall.	Может использоваться для декоративных целей.
	Зонтичные – Umbelliferae Lindl	
50	Володушка многожилковая – *Bupleurum multinerve* DC.	Лекарственное растение. Препараты володушки обладают свойством уменьшать проницаемость и ломкость мелких кровеносных сосудов. Уничтожается населением при заготовке лекарственного сырья.
	Ворсянковые – Dipssacaceae Juss	
51	Головчатка уральская – *Cephalaria uralensis* (Murr.) Schrad. ex Roem. et Schult.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
	Маковые – Papaveraceae Adans	
52	Хохлатка Маршала – *Corydalis marschalliana (*Pall. ex Willd.) Pers.	Может использоваться для декоративных целей.
53	Мачок жёлтый – *Glaucium flavum Crantz.*	Лекарственное растение. Из мачка выделен глауцин в 1839 году, а в чистом виде получен в 1901 году. Глауцин разрешён к применению в нашей стране как эффективное средство против кашля. Он угнетает кашлевый центр, не оказывает влияние на дыхание, причём не вызывает привыкания. Уничтожается населением при заготовке лекарственного сырья.
	Касатиковые – Iridaceae Juss	
54	Шафран сетчатый – *Crocus reticulatus* L.	Может использоваться для декоративных целей.
55	Шпажник черепитчатый – *Gladiolus imbricatus* L. [*G. tenuis* Bieb.]	Может использоваться для декоративных целей.
56	Касатик безлистный – *Iris aphylla* L.	Как декоративное растение в культуре с 1588 года. Страдает от пересадки в сады и при заготовке букетов для продажи.
57	Касатик карликовый – *Iris pumila* L.	Как декоративное растение в культуре с 1588 года. Страдает от пересадки в сады и при заготовке букетов для продажи.
	Рутовые – Rutaceae Juss	
58	Ясенец голостолбиковый – *Dictamnus gimnostylis* Stev. [*D. albus* auct.]	Лекарственное растение. Гомеопатическое средство готовят из свежих листьев, которые собирают незадолго до начала цветения. Его дают при желудочно-кишечных заболеваниях с метеоризмом и плохо пахнущим стулом, но преимущественно при нерегулярной менструации в разведении от D1 до D6. Уничтожается населением при пересадке в сады и при заготовке лекарственного сырья.
	Горечавковые – Gentianaceae Juss	
59	Горечавка крестовидная – *Gentiana cruciata* L.	Лекарственное растение. Препараты оказывают благотворное воздействие на сокоотделение в желудке и пищеварение в кишечнике. Уничтожается населением при заготовке лекарственного сырья.
	Ладанниковые – istaceae Juss	
60	Солнцецвет монетолистный – *Helianthemum nummularium* (L.) Mill.	Лекарственное растение. Настой листьев применяют как вяжущее, ранозаживляющее, при дизентерии, колитах. Уничтожается населением при пересадке в сады и при заготовке лекарственного сырья.

Окончание табл.

1	2	3
Льновые – Linaceae S. F. Gray		
61	Лён жёлтый – *Linum flavum* L.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
62	Лён многолетний – *Linum perenne* L.	Как декоративное растение используется в культуре с 1686 года. Уничтожается населением при пересадке в сады.
63	Лён украинский-*Linum ucrainicum* (Griseb. ex Planch.) Czern	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
Капустные – Brassicaceae Burnett		
64	Левкой душистый – *Matthiola fragrans* Bunge	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
Норичниковые – Scrophulariaceae Juss		
65	Коровяк фиолетовый-*Verbascum phoeniceum* L.	Как декоративное растение используется в культуре с 1597 года. Исчезающий двулетний сорняк, нуждающийся в охране.
Толстянковые – Crassulaceae J. St.-Hill		
66	Очиток большой – *Sedum maximum* (L.) Hoffm. s.l. [Hylotelephium stepposum (Boriss.) Tzvel.]	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
67	Молодило русское – *Sempervivum ruthenicum* (W. D. J. Koch) Schnittsp. et C. B. Lehm.	Лекарственное растение. Настой листьев принимают при лихорадке, кровавом поносе, язве желудка, болезнях органов дыхания с большим отделением мокроты, при болезненных менструациях, эпилепсии. Наружно применяются мелко измельчённые свежие листья при геморрое, мозолях, бородавках, веснушках, ранах, ожогах и при укусах насекомых. Уничтожается населением при пересадке в сады и при заготовке лекарственного сырья.
Гвоздичные – Caryophyllaceae Juss		
68	Смолевка приземистая – *Silene supina* Bieb.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
Кутровые – Apocynaceae Lindl		
69	Барвинок травянистый – *Vinca herbacea* Waldst. et Kit.	Используется как декоративный вид.
Осоковые-Carexaceae Juss		
70	Осока низкая – *Carex humilis* Leyss.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
Злаковые – Poaceae (R. Br.) Barnhart		
71	Ковыль опушённолистный – *Stipa dasyphylla* (Czern ex I mdem) Trautv	Лекарственное растение. В народной медицине ковыль используется для лечения многих заболеваний, но особо следует отметить эффективность его применения при заболеваниях щитовидной железы, параличе и ревматизме. Нуждается в охране.
72	Ковыль Лессинга – *Stipa lessingiana* Trin. et Rupr.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
73	Ковыль перистый – *Stipa pennata* L.	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
74	Ковыль Залесского – *Stipa zalesskii* Wilensky	Может использоваться для декоративных целей. Нуждается в охране.
Асфоделовые – Asphodelaceae Juss		
75	Эремурус замечательный (ширяш) – *Eremurus spectabilis* M. Bieb.	Обладает высокой декоративностью. Нуждается в охране.
Дымянковые – Fumariaceae DC		
76	Хохлатка Маршала – *Corydalis marschalliana (*Pall. ex Willd.) Pers.	Используется в цветниках и клумбах.

Таким образом, на основании многолетних исследований, проведенных в коллекции раритетных видов Ботанического сада НИУ «БелГУ», определен видовой состав растений при-

родной флоры, которые успешно произрастают в условиях культуры на юго-западе Среднерусской возвышенности, проходят все онтогенетические и фенологические стадии развития, легко размножаются в условиях юго-запада Среднерусской возвышенности. Проанализированы данные о возможном использовании 76 видов растений флоры юго-запада Среднерусской возвышенности, нуждающихся в охране, из коллекции раритетных видов Ботанического сада НИУ «БелГУ». 63 % изученных растений приходится на группу видов, использующихся преимущественно как декоративные растения и 37 % – в качестве лекарственных. Однако потенциально не менее 20 % видов могут быть отнесены к обоим группам видов.

Исследования выполнены в рамках реализации государственного задания Министерства образования и науки РФ Белгородским государственным национальным исследовательским университетом на 2013 год (№ проекта 5.2614.2011).

Литература

1. Глобальная стратегия сохранения растений. Текст на русском языке. – BGCI: Richmond, U.K., 2002. – 16 с.
2. Тихонова, В.Л. Интродукция и реинтродукция растений как один из путей сохранения компонентов редких растительных сообществ / В.Л. Тихонова // Охрана редких растительных сообществ / ВНИИ охраны природы. – М., 1982. – С. 60-67.
3. Красная книга Российской Федерации. – М.: КМК, 2008. – 854 с.

RARE PLANTS OF THE SOUTH-WEST OF THE CENTRAL RUSSIAN UPLAND IN THE COLLECTION OF THE BOTANICAL GARDEN NIU BSU AND THEIR POSSIBLE APPLICATIONS

N.A. MARTYNOV
V.K. TOKHTAR
E.T. ZHILYAKOVA
O.O. NOVIKOV

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

Based on years of research conducted in the collection of rare species of Botanical Garden NIU BSU, was determined the plant species composition of the natural flora that grow successfully in culture in the south- west of the Central Russian Upland, all developmental and phenological stage of development, are easily propagated under the south-west Central Russian Upland. The data on the possible use of 76 species of flora Southwest Central Russian Upland in need of protection from the collection of rare species Botanical Garden NIU BSU. 63% of the studied plant species falls on the group, used mainly as ornamental plants and 37 % – as drugs. However , the potential of at least 20 % of the species can be assigned to both types of groups.

Key words: botanical gardens, collection , rare species, natural flora, the possibility of using plants.

УДК 15.00.02

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТОДОВ АНАЛИЗА АЦИКЛОВИРА

Е.Т. ЖИЛЯКОВА[1]
А.В. БАСКАКОВА[2]
М.Ю. НОВИКОВА[1]
О. А. КУЗЬМИЧЕВА[1]

[1)] Белгородский государственный национальный исследовательский университет
[2)] ОАО «Верофарм»

e-mail: haitelle@gmail.com

В статье изложены данные о сравнении методов анализа ацикловира в ведущих мировых фармакопеях. Установлено, что ведущим методом количественного анализа ацикловира является ВЭЖХ, требования к которому вариабельны в зависимости от вида лекарственной формы.

Ключевые слова: глазные капли, ацикловир, вирусные конъюнктивиты, УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ

В последнее время диагностике и лечению вирусных офтальмологических патологий как у нас в стране, так и за рубежом уделяется большое внимание. По данным статистики Министерства здравоохранения и социального развития РФ, болезнями глаз и глазного аппарата страдают около 4,7 млн человек в России [1][1]. На долю вирусных конъюнктивитов приходится около трети всех офтальмологических патологий, при этом по результатам проведенного маркетингового анализа установлено, что одной из наиболее эффективных противовирусных субстанций на российском рынке является ацикловир. Поэтому весьма важной является разработка методики анализа ацикловира в водных растворах на основании современных требований, предъявляемых к методам анализа ацикловира.

Возможности методов идентификации и количественного определения ацикловира определяются его принадлежностью к производным пуриновых нуклеозидов. Однако поиски и разработка новых модифицированных методов анализа данного вещества не теряют своей актуальности и по сей день. В научной литературе широко представлены методики количественного определения содержания ацикловира в различных лекарственных формах, поэтому **целью** работы является обзор методов анализа субстанции ацикловира.

Методы исследования: ВЭЖХ, ТСХ, УФ-спектрофотометрия.

Результаты. Ввиду своей широкой распространенности, ацикловир, как активная фармацевтическая субстанция, представлен в основных фармакопеях мира. Результаты обзора представлены в табл. 1.

Таблица 1

Сравнительная характеристика распространенности методов анализа ацикловира в основных мировых фармакопеях

Фармакопеи, страна	Методы определения ацикловира				
	ВЭЖХ	ТСХ	УФ	Потенциометрический	Вид ЛФ в фармакопее
1	2	3	4	5	6
ГФ XII	+	+	-	+	субстанция
УФ (украинская фармакопея)	+	+	-	+	субстанция
БФ (белорусская фармакопея)	+	+	-	+	субстанция
BP 2009 (британская фармакопея)	+	+	-	+	Субстанция, ацикловира крем, ацикловира глазная мазь, ацикловира инъекционный для инфузий, ацикловира оральная суспензия, таблетки ацикловира, дисперсные таблетки ацикловира

[1] Жилякова Е.Т., Новикова М.Ю., Новиков О.О., Баскакова А. В. (Ткачева А.С.), Придачина Д.В. Изучение ассортимента противовирусных глазных лекарственных форм // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1 . – С. 179-183;

Окончание табл. 1

1	2	3	4	5	6
USP 29 (американская фармакопея)	+	-	-	-	Субстанция; ацикловира капсулы, ацикловира мазь, ацикловира суспензия для орального употребления
JP 16 (японская фармакопея)	+	-	+	-	Субстанция; Сироп с ацикловиром; Ацикловир для инъекций
EPh 2010	+	-	-	+	субстанция

Как видно из табл. 1, основным методом анализа ацикловира в различных лекарственных формах в общемировой практике является высокоэффективная жидкостная хроматография. При этом требования к проведению анализа несколько отличаются в нормативной документации различных стран. Так, ГФ XII [2][2] предлагает метод обращенно-фазовой ВЭЖХ для субстанции ацикловира, от него не отличаются методики, представленные в Украинской фармакопее (УФ) [3][3], Белорусской фармакопее (БФ) [4][4], Британской фармакопее (BP) [5][5]. При этом в БФ и BP приведено описание возможных примесей в субстанции ацикловира, как и в Японской (JP) [6][6][7] и Американской (USP) [7] фармакопеях.

Сравнительная характеристика методов анализа ацикловира методом высокоэффективной жидкостной хроматографии представлены в табл. 2.

Таблица 2

Сравнительная характеристика методов анализа ацикловира способом ВЭЖХ в различных фармакопеях мира

Фармакопеи, страна	Условия хроматографирования						
	Подвижная фаза	Колонка	Скорость потока, объем пробы	Детектор, длина волны	Количество примесей	Время хроматографирования	Число теоретических тарелок
1	2	3	4	5	6	7	8
ГФ XII	6,0 натрия дигидрофосфата, 1,0 натрия дисульфоната до pH 3+/-1 кислотой фосфорной, 40 мл ацетонитрила и до 1000 мл воды	Длина 0,10 м внутренний диаметр 4,6 мм Октадецильный силикагель 3 мкм для хроматографии	2 мл/мин, проба 20 мкл	Спектрофотометрический, 254 нм	Не более 0,7% гуанина Не более 0,5% любой другой примеси	7-кратное удерживание время ацикловира	
УФ (украинская фармакопея)	Не отличается от ГФ XII						
БФ (белорусская фармакопея)	Не отличается от ГФ XII						

[2] XII Государственная фармакопея РФ. Ч. 1, Ацикловир ФС 42-0221-07. – С. 513.

[3] Государственная Фармакопея Украины. 1-изд., «Ацикловир - 1.1». – С. 329.

[4] Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. – Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009. – Ацикловир. – С.179.

[5] British Pharmacopoeia Volume III, Formulated Preparations: Specific Monographs. – Aciclovir Eye Ointment.

[6] Japan Pharmacopoeia 16 Aciclovir.

[7] USP 29. Volume 1. Aciclovir. – P. 1998.

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8
BP 2009 (британская фармакопея)	Не отличается от ГФ XII						
USP 29 (американская фармакопея)	Раствор уксусной кислоты профильтрованный и дегазированный (1:1000)	Длина 0,25 м Внутренний диаметр 4,6 мм Сорбент типа L1 (для капсул внутренний диаметр 4,2 мм)	3 мл/мин. Проба 20 мкл (в инъекционном растворе 1 мл/мин.) для капсул 1,5 мл/мин.,	Спектрофотометрический, 254 нм	Гуанина не более 0,7%	Время хроматографирования 56 минут	Не указано
JP 16 (японская фармакопея)	Мобильная фаза А: ацетонитрил R, фосфатный буфер раствора с pH 2,5	Длина колонки 0,15 м, внутренний диаметр 4,6 мм Сорбент – октадецильный силикагель для хроматографии	3 мл/мин. Объем пробы 5 мл	Спектрофотометрический, 254 нм	Гуанина не более 0,7%	Время удержания 7 минут	Не указано
EPh 2010	Смесь растворителей: ДМСО R, R вода (20:80 V / V).Фосфатный буферный раствор pH 2,5. 3,48 г дикалия гидрофосфата R в 1000 мл воды R pH до 2,5 с фосфорной кислотой до pH 3,1.	Длина колонки 0.25 м, внутренний диаметр 4,6 мм Сорбент – октадецильный силикагель для хроматографии, 5 мкм	1 мл/мин. Объем пробы 10 мкл	Спектрофотометрический, 254 нм	Гуанина не более 0,7%	Время удержания 7 минут	Не указано

Как видно из табл. 2, в силу распространения ацикловира в различных лекарственных формах в этих странах требования к проведению анализа методом ВЭЖХ несколько разнятся. Европейская фармакопея 2010 (EPh) [8][8] предлагает использование колонки 25×0,46 см против требований в ГФ XII 10×0,46 см, отличается также скорость потока в минуту: 1мл против 2 мл соотвественно, отличается и объем пробы, составляющий 10 мкл раствора для EPh и 20 мкл для ГФ XII. При этом в ГФ XII в качестве одного из компонентов подвижной фазы предложено ис-

[8] EPh5 Aciclovir.

пользование натрия фосфата в ацетонитриле против калия дигидрофосфата в диметилсульфоксиде и ацетонитриле. Требования к ВЭЖХ между собой ГФ XII и BP 2009 не отличаются.

Несколько отличаются между собой методики ГФ XII и USP 29, в первую очередь, длиной хроматографической колонки, что объединяет требования USP 29 и EPh, однако скорость подачи потока, согласно требованиям USP 29, составляет 3 мл в минуту, что отличает эту методику от прочих. При этом скорость потока для различных лекарственных форм вариабельна в силу химических и технологических особенностей приготовления. Так, малая скорость подачи потока сольвента для инъекционного раствора ацикловира характеризуется необходимостью особенно высокой точности разделения пиков на хроматограмме, что возможно удлиняет время хроматографирования.

Второе место по распространенности среди методов анализа ацикловира занимает потенциометрическое титрование, которое не предусматривают USP 29 и JP 16. Требования к нему не отличаются среди приведенных государственных фармакопей: в качестве титранта выступает 0,1 М хлорная кислота, при растворении навески субстанции в ледяной уксусной кислоте.

Третью позицию занимает метод тонкослойной хроматографии, который распространен лишь в странах СНГ и BP 2009. Требования к нему едины: субстанция растворяется в диметилсульфоксиде, в качестве системы растворителей применяется раствор аммиака концентрированный 25%-метанол-метиленхлорид (1:10:40). Хроматографируют восходящим методом при проявлении в УФ-свете при 254 нм. Пятно посторонней примеси не должно превышать пятно на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5%).

УФ-спектроскопия для ацикловира описана только в JP16, для ацикловира для инъекций и ацикловира в сиропе. Ацикловир в количестве, эквивалентном 25 мг, растворяется в 0,5 М хлорной кислоте, максимум наблюдается между 254 и 258 нм.

Выводы.

Установлено, что наиболее распространенными методами анализа ацикловира являются ВЭЖХ и потенциометрическое , что является актуальным для разработки методики обращенно-фазовой ВЭЖХ при анализе ацикловира в разрабатываемых составах пролонгированных глазных капель.

При анализе ацикловира в растворах, согласно JP 16, используется метод УФ-спектроскопии, что также обусловливает необходимость разработки метода анализа ацикловира в модельных смесях глазных противовирусных капель.

Литература

1. Жилякова, Е.Т. Изучение ассортимента противовирусных глазных лекарственных форм / Е.Т. Жилякова, М.Ю. Новикова, О.О. Новиков, А.В. Баскакова (А.С. Ткачева), Д.В. Придачина // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 179-183.
2. XII Государственная фармакопея РФ. Ч. 1, Ацикловир ФС 42-0221-07. – С. 513.
3. Государственная Фармакопея Украины, 1-е изд. «Ацикловир – 1.1». – С. 329.
4. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009. – Ацикловир. – С.179.
5. British Pharmacopoeia Volume III, Formulated Preparations: Specific Monographs, -Aciclovir Eye Ointment
6. USP Pharmacopeia; edition 29.
7. JP 16, Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, Shin-Kasumigaseki Building, 3-3-2 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-0013 Japan.
8. European Pharmacopoeia 5.0: Vol-2. Author, Council of Europe. Edition, 5. Publisher, Council of Europe, 2004. Length, 2727 pages.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE METHODS OF ANALYSIS OF ACICLOVIR

E.T. ZHILYAKOVA[1], A.B. BASKAKOVA[2]
M.U. NOVIKOVA[3], O.A. KUSMICHEVA[4]

[1] Belgorod National Research University

[2] LLC «Veropharm»

[3] Belgorod National Research University

[4] Belgorod National Research University

e-mail: haitelle@gmail.com

The article presents data on the comparison of methods of analysis of aciclovir in the the world leading pharmacopoeias. It is established that HPLC is the leading quantitative analysis of aciclovir, the requirements for which are variable depending on the dosage form.

Key words: eye drops , aciclovir , viral conjunctivitis , UV- spectrophotometry.

УДК 615.322

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИФЕНОЛЬНОГО СОСТАВА И РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ТРАВЫ РЕПЕШКА ОБЫКНОВЕННОГО

Н.А. ПИСАРЕВА
Д.И. ПИСАРЕВ
О.О. НОВИКОВ
И.А. СЕВРУК
О.А. ВАНХИН

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

Статья посвящена химическому изучению полифенолов репешка обыкновенного. Авторами использованы современные инструментальные методы определения полифенолов, а именно высокоэффективная жидкостная хроматография и метод масс-спектрометрии в варианте *MALDI/TOF/MS*. В результате установлено, что в состав полифенолов репешка обыкновенного входят гликозиды кверцетина, лютеолина, апигенина и кемпферола. Оксикоричные кислоты представлены п-кумаровой и кофейной кислотами. Характерно присутствие значительного количества кислоты эллаговой. Методом *MALDI/TOF/MS* кроме указанных флавоноидов удалось обнаружить проантоцианидины. На основании установленного состава полифенолов репешка обыкновенного предложено их количественное определение в сырье с использованием абсолютной градуировки методом ОФ ВЭЖХ в пересчёте на гиперозид и лютеолин-7-глюкозид.

Ключевые слова: репешок обыкновенный, ОФ ВЭЖХ, *MALDI/TOF/MS*, полифенолы, флавоноиды, оксикоричные кислоты.

Несмотря на широкое распространение флавоноидов в природе, для изготовления лекарственных препаратов круг наиболее ценных растений невелик, поэтому выявление перспективных источников флавоноидов представляет несомненную актуальность [1].

Одним из таких перспективных объектов является репешок обыкновенный.

Репешок обыкновенный – *Agrimonia eupatoria* – в настоящее время не является официнальным растительным сырьем в нашей стране, хотя успешно применяется в нетрадиционных лечебных практиках.

По последним данным зарубежных исследователей у репешка обыкновенного выявлен ряд совершенно уникальных фармакологических свойств. В первую очередь следует подчеркнуть влияние полифенольных соединений репешка на ингибирование вируса гепатита В, герпеса, гриппа и вируса Ауески. Также в эксперименте у спиртовых извлечений выявлено противодиабетическое, антиоксидантное и противовоспалительное действие [2].

Вышеперечисленные фармакологические эффекты определяют несомненную актуальность всестороннего изучения данного растения, в том числе с позиции химического состава. В связи с этим нахождение оптимальных путей установления химического состава и стандартизации суммарного фитокомплекса на основе репешка обыкновенного представляется весьма целесообразным.

Целью настоящего исследования явилось химическое изучение полифенолов репешка обыкновенного для стандартизации его сырья.

Для анализа биологически активных веществ репешка обыкновенного использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию. Предварительно комплекс полифенолов репешка обыкновенного экстрагировали спиртом этиловым 70%-ным.

Хроматографические исследования проводили на хроматографическом приборе фирмы «*Agilent Technologies 1200 Infinity*».

Для регистрации и обработки спектральных данных и хроматограмм использовали программное обеспечение «*Agilent ChemStation*».

Качественное определение флавоноидов и оксикоричных кислот выполняли методом ОФ ВЭЖХ.

Испытания проводили с использованием стальных хроматографических колонок, наиболее подходящей из которых оказалась: *Reprosil-Pur C18-AQ 150 мм×2 мм*, с размером частиц 3 μм.

Сумму полифенолов репешка подвергали хроматографическому разделению в следующих условиях: подвижная фаза: (А) – 4% водный раствор кислоты фосфорной, (Б) – ацетонитрил в градиентном режиме элюирования; скорость подвижной фазы – 0,25 мл/мин.; температура колонки +35 °С; объём вводимой пробы 5 μl.

Состав подвижной фазы представлен в табл. 1.

Таблица 1

Условия градиентного элюирования полифенолов репешка обыкновенного

Время, мин.	А, %	Б, %
0	90	10
10	80	20
20	70	30
30	50	50
40	10	90

Детектирование осуществляли для флавонов и флавонолов при 360 нм, для оксикоричных кислот при 325 нм.

Относительное содержание индивидуальных флавоноидов и оксикоричных кислот определяли как отношение площади хроматографического пика и суммы площадей пиков всех идентифицированных флавоноидов и оксикоричных кислот по формуле 1:

$$Xi = \frac{Si \times 100}{\sum S} \quad (1),$$

где Si – среднее значение площади пика компонента на хроматограммах суммы;

∑S – среднее значение суммы всех площадей пиков на хроматограммах.

При хроматографировании полифенолов репешка обыкновенного методом ОФ ВЭЖХ установлено, что основными флавоноидами являются гликозиды кверцетина – кверцетин-3-галактозид (гиперозид), лютеолина – лютеолин-7-глюкозид, апигенина – апигенин-7-глюкозид, кемпферола – кемпферол-3-глюкозид, а также дигидрокверцетин и кверцетин (рис. 1, 2).

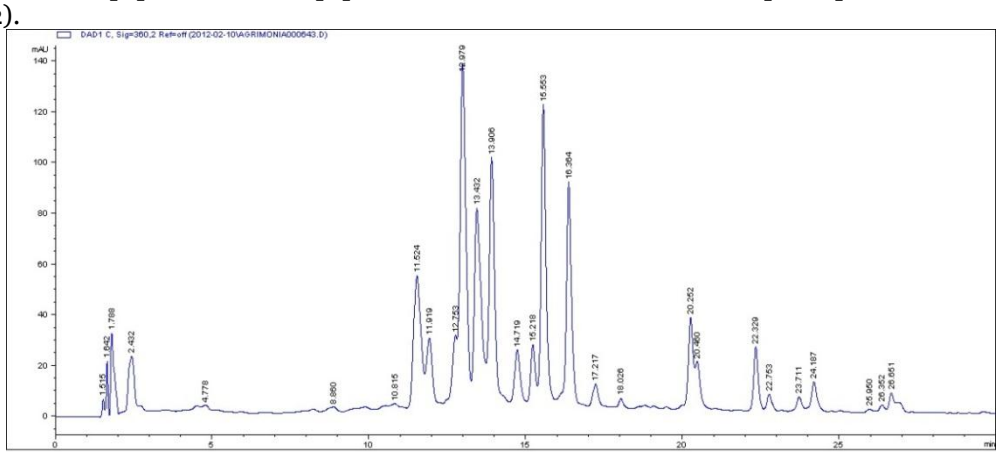


Рис. 1. Хроматограмма разделения флавоноидов травы репешка обыкновенного (детекция диодно-матричная λ = 360 нм)

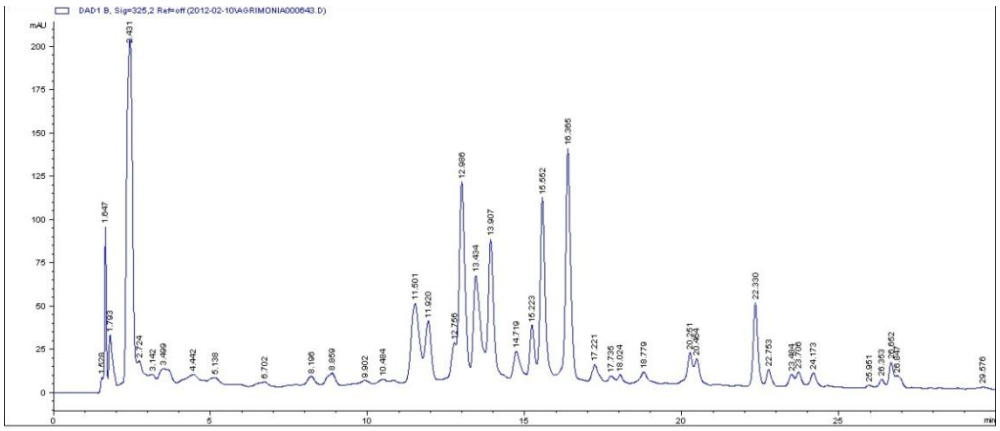
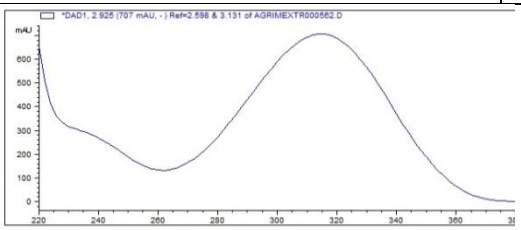
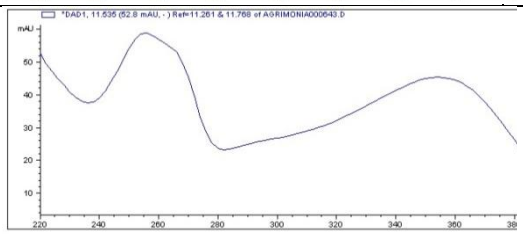
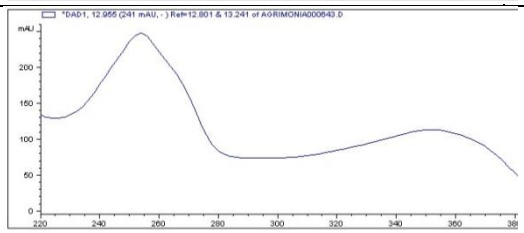
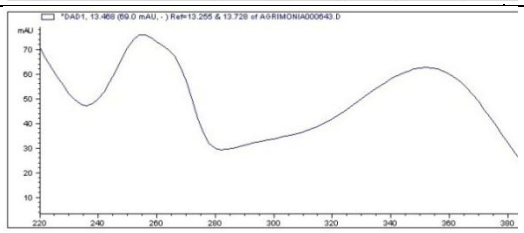
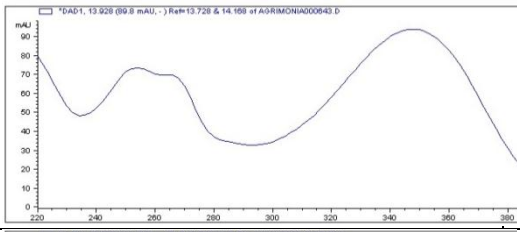
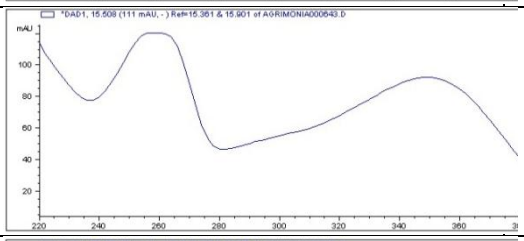
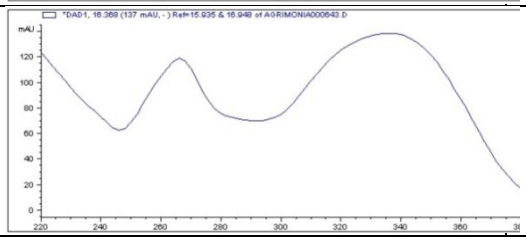


Рис. 2. Хроматограмма разделения флавоноидов травы репешка обыкновенного (детекция диодно-матричная λ = 325 нм)

Из оксикоричных кислот наибольшее количество приходится на кислоту кофейную. Фенолокислоты представлены кислотой эллаговой. Компонентный состав полифенолов репешка обыкновенного представлен в табл. 2.

Таблица 2

Компонентный состав полифенолов травы репешка обыкновенного

Время удерживания, мин	УФ-спектр	Содержание внутри группы,%	Относительное содержание в сумме, %	Идентифицированный компонент
2,43		61,1	27,0	П-кумаровая кислота
11,53		13,2	7,4	Гликозид кверцетина
12,955		29,6	13,0	Эллаговая кислота
13,468		17,0	9,5	Кверцетин-3-галактозид (гиперозид)
13,928		18,0	10,1	Лютеолин-7-глюкозид
15,5		23,6	13,2	Кемпферол-3-галактозид
16,36		19,6	11,0	Апигенин-7-глюкозид

Общее процентное распределение полифенолов травы репешка обыкновенного представлено на рис. 3.

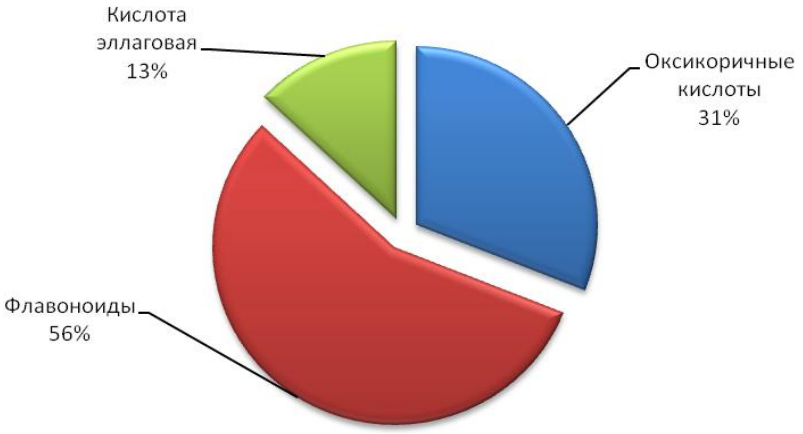


Рис. 3. Процентное распределение полифенолов травы репешка обыкновенного

Из диаграммы следует, что доминирующими полифенолами в траве репешка обыкновенного являются флавоноиды (56,0% в сумме), также примечательно достаточно высокое содержание эллаговой кислоты (13,0%).

Процентное распределение флавоноидов в траве репешка обыкновенного представлено на рис. 4.

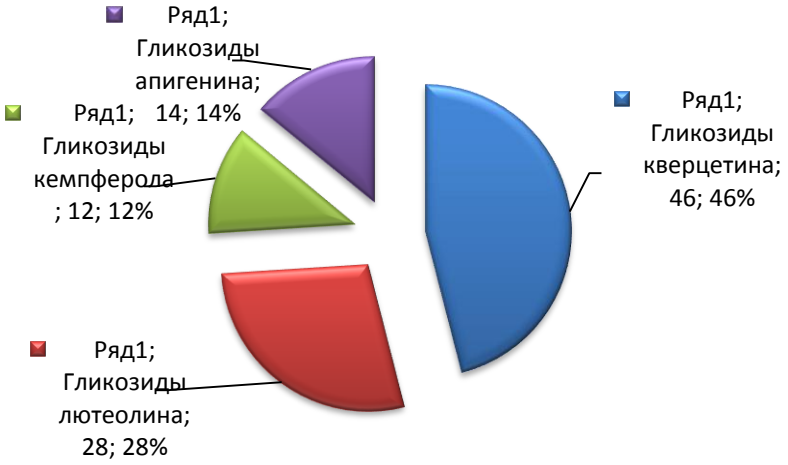


Рис. 4. Процентное распределение флавоноидов в траве репешка обыкновенного

Таким образом, данные представленные в табл. 2 и рис. 4, свидетельствуют, что основными флавоноидами репешка обыкновенного являются гликозиды кверцетина, кемпферола, лютеолина и апигенина.

Однако метод ВЭЖХ не всегда удобен из-за его низкой пропускной способности и большой продолжительности исследований. Поэтому дополнительно использовали масс-спектрометрический метод анализа.

Регистрацию масс-спектров проводили на приборе масс-спектрометр «*Autoflex II*» «*MALDI TOF/TOF*» фирмы *Bruker Daltonics* производства Германии. Предварительно анализируемый раствор в количестве по 0,5 µl наносили на мишень «*MTP 384 target plate matt steel TF*», высушивали и сверху наносили каплю матрицы. В качестве матрицы использовали α-цианокоричную кислоту, регистрацию спектров вели с помощью программы «*Flex Control*», обработку данных осуществляли в программе «*Flex Analis*», в отражённом режиме при положительной поляризации (*reflective positive)*.

В масс-спектре полифенольного комплекса наблюдаются интенсивные пики молекулярных ионов с m/z = 433,299; 449,248 и 487,221, принадлежащие гликозидным формам флавоноидов в монозидной форме, что наблюдается по характерной фрагментации с образованием молекулярных пиков ионов агликонов с m/z = 271,350; 287,320 и 303,291, принадлежащих апигенину, лютеолину/кемпферолу и кверцетину (рис. 5).

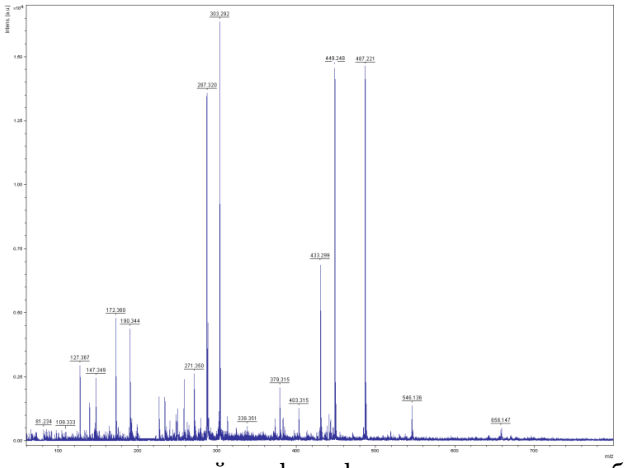


Рис. 5. Масс-спектрометрический профиль флавоноидов репешка обыкновенного

Помимо молекулярных пиков флавоноидов с помощью *MALDI/TOF/MS* удалось обнаружить присутствие проантоцианидинов по их типичным молекулярным массам с m/z = 593,291 и 607,443 с характерной фрагментацией [67] (рис. 6).

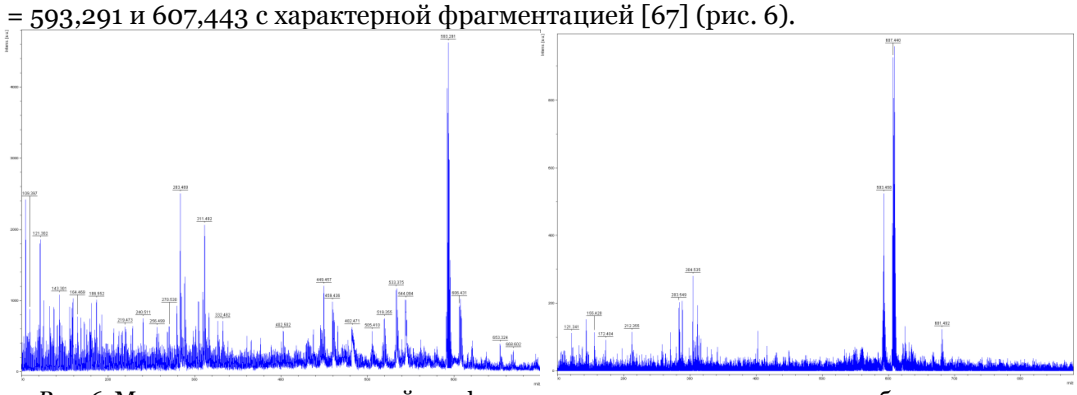


Рис. 6. Масс-спектрометрический профиль проантоцианидинов репешка обыкновенного

Таким образом, с помощью метода *MALDI/TOF/MS* удалось подтвердить наличие флавоноидов, детектированных с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Кроме того, *MALDI/TOF/MS* оказался более чувствительным к проантоцианидинам, которых на хроматограммах, полученных методом ОФ ВЭЖХ, не наблюдалось.

Количественное определение флавоноидов проводили методом абсолютной градуировки (внешнего стандарта). В качестве стандартных образцов веществ свидетелей (СОВС) использовали гиперозид и лютеолин-7-глюкозид, как основные компоненты фитокомплекса.

Далее у анализируемых компонентов измеряли площади пика и на основании градуировочных графиков рассчитывали их количество по формуле 2:

$$x = \frac{C_{ст} \times W \times 100}{m \times (100 - B)}, \qquad (2)$$

где $C_{ст}$ – количество суммы флавоноидов, найденных по калибровочному графику, %

m – масса навески образца;

W – разведение образца;

B – потеря в массе при высушивании образца.

Результаты количественного определения травы репешка обыкновенного представлены в табл. 3-4.

Таблица 3

Результаты количественного определения гиперозида в траве репешка обыкновенного

№ п/п	Масса навески сырья, г	Содержание гиперозида (X), %	S	$\overline{\Delta X}$	ε, %
1	2	3	4	5	6
1	1,05	3,12	0,013	0,032	1,03
2	1,09	3,15			
3	1,12	3,14			

Окончание табл. 3

1	2	3	4	5	6
4	1,10	3,16			
5	1,11	3,18			
6	1,16	3,23			
7	1,12	3,17			
		$\overline{X}$ = 3,16			

Таблица 4

Результаты количественного определения лютеолин-7-глюкозида в траве репешка обыкновенного

№ п/п	Масса навески сырья, г	Содержание лютеолин-7-глюкозида (X), %	S	$\overline{\Delta X}$	ε, %
1	1,05	1,32	0,02	0,05	3,7
2	1,09	1,26			
3	1,12	1,29			
4	1,10	1,41			
5	1,11	1,37			
6	1,16	1,39			
7	1,12	1,34			
		$\overline{X}$ = 1,34			

Из данных табл. 3-4 следует, что содержание гиперозида в траве репешка обыкновенного составило 3,16±0,032%, лютеолин-7-глюкозида – 1,34±0,005%. Ошибка единичного определения при погрешности Р, 95% во всех случаях не превышала 5,0%, что укладывается в диапазон, рекомендуемый ГФ.

Таким образом, в ходе настоящего исследования установлен химический состав травы репешка обыкновенного, предложена его стандартизация по содержанию гиперозида и лютеолин-7-глюкозида.

Литература

1. Георгиевский, В. П. Физико-химические и аналитические характеристики флавоноидных соединений / В. П. Георгиевский, А. И. Рыбаченко, А. Л. Казаков ; отв. ред. Н. Ф. Комисаренко ; Сев.-Кавказ. науч. центр. высш. шк. – Ростов н/Д : Изд-во Ростов. ун-та, 1988. – 144 с.

2. Дикорастущие полезные растения России : [справ.] / Ботан. ин-т Рос. акад. наук [и др.] ; отв. ред. А. Л. Буданцев, Е. Е. Лесиовская. – СПб. : Изд-во СПХФА, 2001. – 663 с.

THE STUDY OF THE POLYPHENOL COMPOSITION AND WORKING METHODS OF ASSESSING THE QUALITY OF GRASS OF REPESHKO ORDINARY

N.A. PISAREVA
D.I. PISAREV
O.O. NOVIKOV
I.A. SEVRUK
O.A. VANHIN

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

Article is devoted to the study of chemical polyphenols of Repeshko usual. The authors used modern instrumental methods for determining the polyphenols , namely the high performance liquid chromatography and mass spectrometry method in embodiment MALDI / TOF / MS. As a result, it was found that the polyphenols in the ordinary Repeshko includes quercetin glycosides, luteolin, apigenin, and kaempferol. Hydroxycinnamic acid presented p-coumaric and caffeic acids. Characterized by the presence of significant amounts of ellagic acid . Method MALDI / TOF / MS except as indicated flavonoids have found proanthocyanidins . Based on the set of polyphenols Repeshko proposed ordinary quantification of their raw materials using absolute calibration by RP HPLC calculated as hyperoside and luteolin -7- glucoside.

Keywords: agrimony ordinary RP-HPLC, MALDI / TOF / MS, polyphenols , flavonoids, hydroxycinnamic acid.

УДК 615.32:54

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА *MALDI/TOF/MS* ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПОНЕНТОВ ЖИРНЫХ МАСЕЛ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

О.О. НОВИКОВ
Д.И. ПИСАРЕВ
О.А. ВАНКИН

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

В статье представлены результаты изучения липофильных компонентов жирных масел, а именно триглицеридов и каротиноидов методом *MALDI/TOF/MS*. В результате авторами установлено, что используя метод *MALDI/TOF/MS* можно получить объём информации, позволяющий сделать объективный вывод о составе жирных масел и каротиноидов жирных масел. Кроме того, с помощью *MALDI/TOF/MS* удалось проконтролировать результаты гидролиза триглицеридов и определить состав жирных кислот, формирующих жирные масла.

Ключевые слова: жирные масла, триацилглицериды, каротиноиды, *MALDI/TOF/MS*.

Липиды формируют вместе с углеводами и белками главную массу органических веществ живой материи. Они присутствуют в организмах различного происхождения: растительных, животных, бактериальных. В высокой концентрации липиды (особенно фосфолипиды) обнаружены в различных органах животных и человека: головном и спинном мозге, крови, печени, сердце. Особенно велико содержание липидов в нервных тканях (20-25%). Липиды входят в состав всех структурных элементов клетки, в первую очередь, клеточных мембран и мембран субклеточных частиц. С участием липидов протекают такие важнейшие биохимические процессы, как передача нервного импульса, активный перенос через мембраны, транспорт жиров в плазме крови, синтез белка и другие ферментативные процессы, особенно связанные с цепью переноса электронов и окислительным фосфорилированием [1].

Растительные масла являются одними из наиболее часто употребляемых продуктов в пищевом рационе. Известно, что потребление растительных масел оказывает огромное влияние на физиологию человека, в том числе на липидный обмен, развитие хронических заболеваний и общее здоровье.

Жиры растительного происхождения являются источником эссенциальных жирных кислот. К эссенциальным относят линолевую, линоленовую, арахидоновую и некоторые другие полиненасыщенные жирные кислоты.

Из гамма-линоленовой и линолевой кислот образуются эйкозапентаеновая и деказагексаеновая кислоты. Эти кислоты участвуют в регуляции метаболических процессов, синтезе простагландинов, в построении клеточных мембран. Они способствуют образованию митохондрий в клетках, понижают уровень холестерина и триглицеридов, уменьшают риск тромбообразования, нормализуют работу желез внутренней секреции, регулируют менструальный цикл, помогают при климаксе, оказывают противовоспалительное действие, снижают артериальное давление [1, 3].

При отсутствии или недостатке таких кислот в организме холестерин образует с насыщенными жирными кислотами сложные эфиры, очень трудно окисляющиеся при обмене веществ. Вследствие химической стойкости они накапливаются в крови и откладываются на стенках артерий. При достаточном количестве эссенциальных жирных кислот в организме они образуют с холестерином сложные эфиры, которые при обмене веществ окисляются до низкомолекулярных соединений и легко выводятся из организма.

Для анализа триацилглицеридов применяются различные методы. Классические хроматографические методы являются наиболее часто используемыми. В их числе ГЖХ, ВЭЖХ, ТСХ и сверхкритическая жидкостная хроматография. Но, несмотря на их широкое распространение, они имеют ряд недостатков. Например, трудности с элюированием триацилглицеридов из колонок ВЭЖХ и ГЖХ, факторы отклика детектора, необходимые особенно для количественной оценки. Таким образом, для достижения полной аналитической картины используются сочетания хроматографических методов, требующих длительной пробоподготовки и собственно хроматографирования. Кроме того, эти виды анализа не позволяют выявить фактические триацилглицериды, а только общий процент индивидуальных жирных кислот. В этих методах определяются не сами жирные масла, а их метиловые эфиры, поскольку они менее по-

лярны, чем соответствующие жирные кислоты, и поэтому лучше совместимы с различными хроматографическими системами.

При анализе «профиля липидов» масел достаточно широко используются как газовая хроматография (ГХ), так и жидкостная – ВЭЖХ [4, 9]. Разделение липидов методом ВЭЖХ можно проводить и без предварительной пробоподготовки и омыления липидов, используя вариант с обращенными фазами (ОФ ВЭЖХ) и неполярным растворителем. Единственным затруднением этого метода является то, что для идентификации пиков приходится использовать неселективные детекторы, в частности, испарительный детектор светорассеяния (*ELSD*). Такой детектор не обладает линейностью отклика, и с целью устранения этого недостатка используются добавки в образец холестерина, образующего молекулярные ассоциаты с триглицеридами, а также нитрата серебра для повышения чувствительности анализа [7].

Известно и применение масс-спектрометрических детекторов с той же целью. Например, в работе [8] исследован состав липидов рисового масла комплексной жидкостной хроматографией, включающей различные механизмы разделения (взаимодействие с ионом серебра и неводную ОФ ВЭЖХ). В качестве детектора использовался масс-спектрометр с химической ионизацией при атмосферном давлении (*APCI/MS*).

Установлено, что *MALDI/TOF/MS* можно использовать в анализе жирных кислот. Количественный анализ жирных кислот из пяти триацилглицеролов кокосового, пальмового масел, сала и масла какао проводился с использованием двух методов анализа: *MALDI/TOF/MS* и газовой хроматографии. Для газохроматографического анализа было использовано метилирование продуктов, в то время как для *MALDI/TOF/MS* анализа применяли омыление. При *MALDI/TOF/MS* условиях кислоты были обнаружены как аддукты с ионом натрия $[RCOONa\ Na\ +]^{(+)}$. Количественным анализом газовой хроматографией соответствующих метиловых эфиров триацилглицеридов получены данные, которые коррелировали с *MALDI/TOF/MS* данными. Кроме того, способность *MALDI/TOF/MS* для обнаружения низких концентраций жирных кислот делает ее более чувствительной, чем классическая газовая хроматография [5].

Затруднения при исследовании состава жирных кислот методом ГХ вызваны тем обстоятельством, что последние плохо разделяются на капиллярных колонках с неполярной неподвижной фазой. Наибольшими возможностями по разделению ненасыщенных жирных кислот обладают углеграфитовые колонки [6].

Другой важной группой липидов являются каротиноиды. Из всех классов природных пигментов каротиноиды, по-видимому, наиболее широко распространены и, несомненно, принадлежат к числу наиболее важных соединений. Они обнаружены у всех представителей растительного царства, а также часто встречаются у микроорганизмов. Каротиноиды и их производные имеют большое значение для животных, поскольку являются основой зрительных пигментов, ответственных за восприятие света и различение цветов [2].

Для идентификации каротиноидов в растительном сырье используют физико-химические методы, в первую очередь, УФ-спектроскопию.

MALDI/TOF/MS первоначально использовался в основном для анализа белков и пептидов, синтетических полимеров и полисахаридов.

Таким образом, целью настоящего исследования является подтверждение использования метода *MALDI/TOF/MS* как легкого, быстрого и надежного способа идентификации триацилглицеридов и каротиноидов в растительных объектах.

Для установления возможности идентификации триацилглицеридов методом *MALDI/TOF/MS* использованы образцы широко используемых жирных масел облепихи крушиновидной – *Hippophae rhamnoides,* и шиповника – *Rosa canina*.

Указанные жирные масла в количестве по 0,5 μl помещали в пробирки градуированные ёмкостью 1,5 мл, прибавляли по 1 мл смеси 0,1%-ного раствора кислоты трифторуксусной и ацетонитрила в соотношениях 7:1 и встряхивали на шейкере. Полученные растворы наносили на мишень «*MTP 384 target plate matt steel TF*» и после высыхания сверху наносили каплю матрицы – α-цианокоричной кислоты. После высушивания проб мишень помещали в масс-спектрометр и регистрировали масс-спектры испытуемых образцов в диапазоне 400-1200 *Da*. Молекулярные массы сложных эфиров глицерина и высших жирных кислот должны находиться в диапазоне 800-1000 *Da*/ а также каротиноидов, которыми богаты испытуемые масла. Каротиноиды обнаруживаются в диапазоне 460-600 *Da*.

Полученные спектры представлены на рис. 1-2.

На представленных рисунках присутствуют пики молекулярных ионов в диапазоне от m/z = 901 до 907 *Da*, хотя молекулярные массы триацилглицеридов лежат в пределах 878-882 *Da*. Это свидетельствует о том, что анализируемые триацилглицериды находятся в виде аддуктов с ионом натрия.

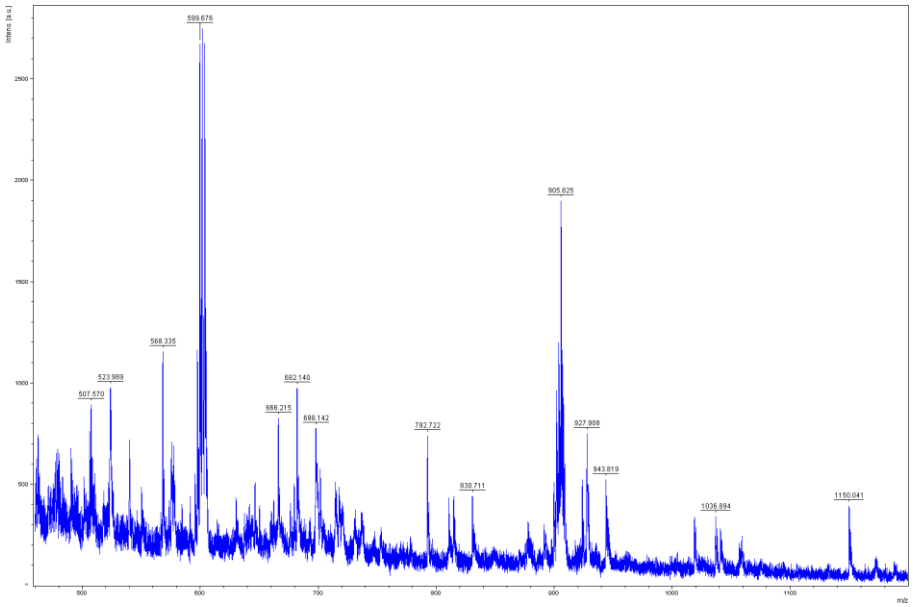


Рис. 1. Масс-спектр облепихового масла в диапазоне

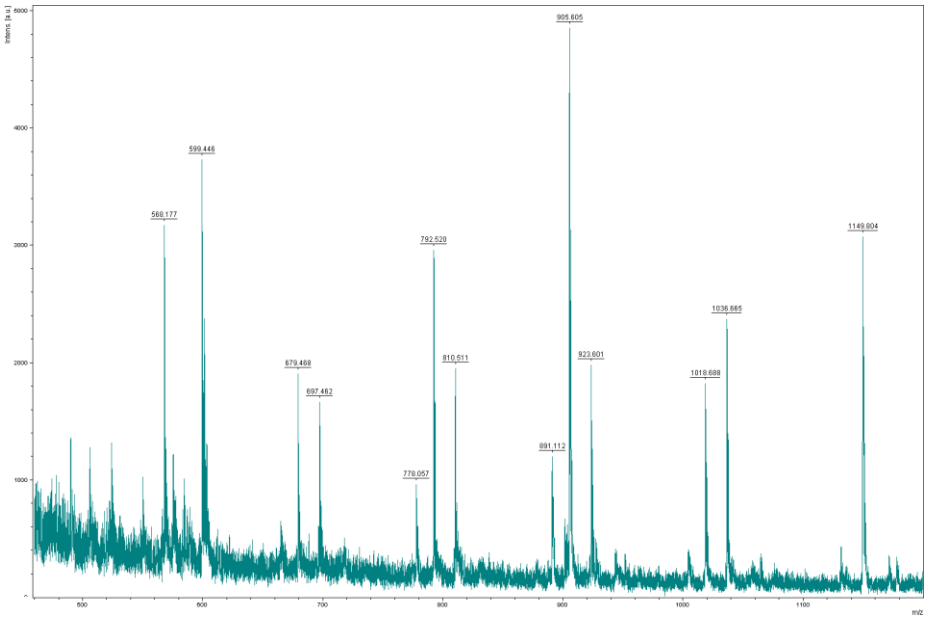


Рис. 2. Масс-спектр розового масла в диапазоне

Присутствие интенсивных пиков ионов с зарядами m/z = 536,515, соответствуют молекулярной массе изомерных форм каротинов (альфа, бета, гамма), пики молекулярных ионов с m/z = 568,219 и 599,575, отвечают кислородным производным каротинов – ксантофиллам.

По полученным молекулярным массам ионов проведена идентификация триацилглицеридов, то есть установлено, остатками каких жирных кислот этерифицирован глицерин. Результаты идентификации представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты идентификации ТАГ в исследуемых объектах

m/z	Формула триацилглицерида	Жирные кислоты, входящие в состав триацилглицерида	Число атомов углерода и двойных связей
877	ЛПЛ	Линолевая, пальмитиновая	55:5
901	ЛЛЛ	Линолевая	57:6
903	ЛОЛ	Линолевая, олеиновая	57:5
905	ООЛ	Олеиновая, линолевая	57:4
907	ООО	Олеиновая	57:3

Л – линолевая кислота (18:2), О – олеиновая кислота (18:1), П – пальмитиновая кислота (16:0).

Полученные данные свидетельствуют о присутствии во всех изученных ТАГ остатков

ненасыщенных жирных кислот – линолевой и олеиновой.

Чтобы установить состав жирных масел в проанализированных извлечениях, был проведён щелочной гидролиз триацилглицеридов. Продукты гидролиза подвергали масс-спектрометрированию. На полученных спектрах можно обнаружить присутствие жирных кислот в виде аддуктов с ионом натрия. Масс-спектрометрический профиль продуктов гидролиза во всех случаях оказался однотипным, поэтому на рис. 3 представлен унифицированный спектр жирных кислот, обнаруженных во всех образцах.

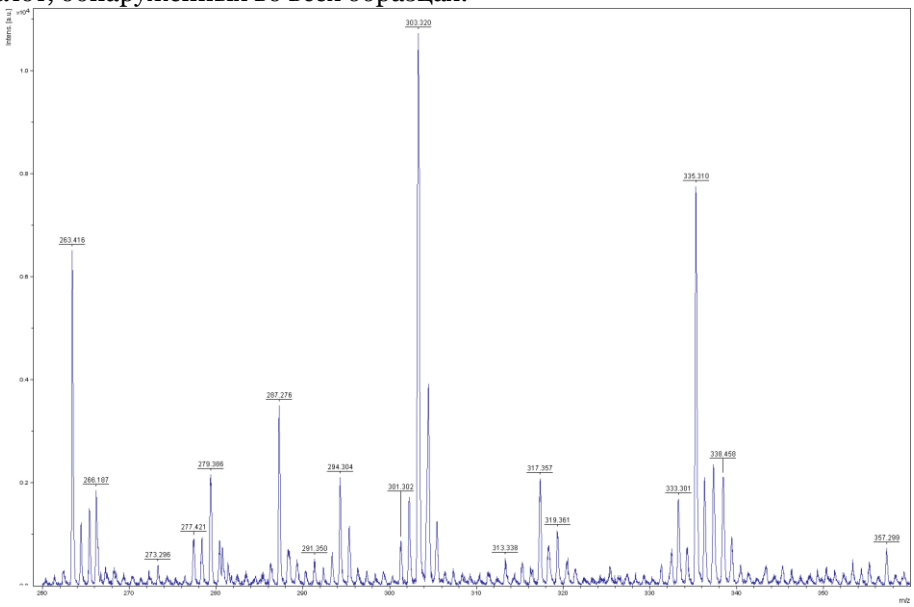


Рис. 3. Масс-спектр жирных кислот исследуемых триацилглицеридов

Состав жирных кислот, установленных в ходе масс-спектрометрического изучения, представлен в табл. 2.

Таблица 2

Результаты идентификации жирных кислот, полученных методом масс-спектрометрии

m/z	Жирные кислоты, входящие в состав триацилглицерида	Число атомов углерода и двойных связей
279	Пальмитиновая	16:0
301	Линоленовая	18:3
303	Линолевая	18:2
305	Олеиновая	18:1
335	Арахиновая	20:0

Согласно приведённым в табл. 2 результатам, во всех образцах установлено присутствие 5 жирных кислот как насыщенного ряда (пальмитиновая, арахиновая), так и ненасыщенного (олеиновая, линолевая, линоленовая).

Таким образом, в ходе настоящего исследования нами установлено, что, используя метод *MALDI/TOF/MS*, можно получить объём информации, позволяющий сделать объективный вывод о составе жирных масел и каротиноидов жирных масел. Кроме того, с помощью *MALDI/TOF/MS* удалось проконтролировать результаты гидролиза триглицеридов и определить состав жирных кислот, формирующих жирные масла.

Литература

1. Биохимия : учебник / Т. Л. Алейникова, Л. В. Авдеева, Л. Е. Андрианова [и др.] ; под ред. Е. С. Северина. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 784 с. – (XXI век).

2. Бриттон, Г. Биохимия природных пигментов / Г. Бриттон ; пер. с англ. В. Д. Цыдендамбаева ; под ред. М. Н. Запрометова. – М. : Мир, 1986. – 422 с.

3. Сравнительное экспериментальное изучение влияния масел семян ослинника, календулы, эхинацеи, лопуха на репаративные процессы в коже и слизистой оболочке желудка животных / А. И. Багинская, В. К. Колхир, Т. Е. Лескова [и др.] // Сборник научных трудов / Рос. акад. с.-х. наук, Всерос. науч.-исслед. ин-т лекарств. и аромат. растений (ВИЛАР) ; под общ. ред. В. А. Быкова. – М., 2006. –

Т. 17 : Химия, технология, медицина : материалы междунар. конф., посвящ. 75-летию образования Всерос. науч.-исслед. ин-та лекарств. и аромат. растений. – С. 437-443.

4. Buchgraber, M. Cluster Analysis for the Systematic Grouping of Genuine Cocoa Butter and Cocoa Butter Equivalent Samples Based on Triglyceride Patterns / M. Buchgraber, F. Ulberth, E. Anklam // J. Agric. Food Chemi. – 2004. – Vol. 52, № 12. – P. 3855-3860.

5. Comparative quantitative fatty acid analysis of triacylglycerols using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry and gas chromatography / C. Hlongwane, I. G. Delves, L. W. Wan [et al.] // Rapid. Commun. Mass. Spectrom. – 2001. – Vol. 15, № 21. – P. 2027-2034.

6. Gaudin, K. Retention behavior of unsaturated fatty acid methyl esters on porous graphitic carbon / K. Gaudin, P. Chaminade, A. Baillet // J. Sep. Sci. – 2004. – Vol. 27, № 1-2. – P. 41-46.

7. Héron, S. Post-column addition as a method of controlling triacylglycerol response coefficient of an evaporative light scattering detector in liquid chromatography-evaporative light-scattering detection / S. Héron, M. Dreux, A. Tchapla // J. Chromatogr. A. – 2004. – Vol. 1035, № 2. – P. 221-225.

8. Silver-ion reversed-phase comprehensive two-dimensional liquid chromatography combined with mass spectrometric detection in lipidic food analysis / L. Mondelloa, P. Q. Tranchidaa, V. Stanekb [et al.] // J. Chromatogr. A. – 2005. – Vol. 1086, № 1-2. – P. 91-98.

9. Triacylglycerol profiling by using chromatographic techniques / M. Buchgraber, F. Ulberth, H. Emons [et al.] // European Journal of Lipid Science and Technology. – 2004. – Vol. 106, № 9. – P. 621-648.

THE USE OF MALDI / TOF / MS FOR RESEARCH OF FATTY OILS COMPONENTS OF VEGETABLE ORIGIN

O.O. NOVIKOV
D.I. PISAREV

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

The article presents the results of a study of lipophilic components of fatty oils, namely triglycerides and carotenoids by MALDI / TOF / MS. As a result, the authors found that the method using MALDI / TOF / MS can get the amount of information that allows you to draw objective conclusions about the composition of fatty oils, fatty oils and carotenoids. Furthermore, using MALDI / TOF / MS results under controlled hydrolysis of triglycerides and fatty acids to determine the composition , forming a fatty oil.

Key words : fatty oils, triacylglycerides , carotenoids , MALDI / TOF / MS.

УДК 615.22:543

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕТОДОВ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ НИКОРАНДИЛА

Д.И. ПИСАРЕВ
О.О. НОВИКОВ
Л.М. ДАНИЛЕНКО

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

Настоящая работа посвящена разработке аналитических подходов, обеспечивающих адекватную оценку качества никорандила. Для этого авторами использованы методы ОФ ВЭЖХ и УФ-спектроскопии с помощью которых разработаны методы качественного и количественного определения никорандила. Сравнительный анализ показал сопоставимость использованных методов в оценке качества никорандила по критериям экспрессности и воспроизводимости. По критерию чувствительности метод ОФ ВЭЖХ оказался более подходящим для никорандила.

Ключевые слова: никорандил, ОФ ВЭЖХ, УФ-спектроскопия.

Модуляторы калиевых каналов – группа химически разнообразных веществ со сходными фармакодинамическими характеристиками, имеющих широкий диапазон клинических эффектов, проявляющихся в первую очередь в бронхолитическом, сосудорасширяющем, кардиопротекторном эффектах [1].

Одним из наиболее перспективных препаратов данной группы является производное амида никотиновой кислоты – никорандил. Наличие активной, мобильной нитрогруппы и остатка амида никотиновой кислоты определяет два механизма его спазмолитического эффекта на основании объединения свойств органических нитратов и модуляторов калиевых каналов. Следствием этого являются периферическая вазодилатация, коронарорасширяющее действие, снижение артериального давления [2, 3].

Для российского фармацевтического рынка данный препарат является относительно новым, поэтому его аналитические характеристики, обеспечивающие качество, разработаны недостаточно. Учитывая вышесказанное, **целью** настоящего исследования явилась разработка аналитических подходов, обеспечивающих качество никорандила в соответствии с международными стандартами.

Для реализации поставленной цели разработан спектр методик анализа, включающих использование спектральных и хроматографических характеристик исследуемого объекта. В качестве объекта анализа взяты таблетки никорандила.

Хроматографические исследования проводили на хроматографическом приборе фирмы «*Agilent Technologies 1200 Infinity*», с автоматическим пробоотборником *Agilent 1200*, вакуумным микродегазатором, градиентным насосом и термостатом той же серии. Регистрацию полученных данных осуществляли с помощью спектрофотометрического детектора с диодной матрицей серии *Agilent 1200* (диапазон длин волн от 190 до 950 нм, кювета с длиной оптического пути 10 мм; объемом 13 мкл), шаг сканирования – 2 нм.

Для регистрации и обработки спектральных данных и хроматограмм использовали программное обеспечение «*Agilent ChemStation*».

Испытания проводили с использованием стальных хроматографических колонок, наиболее подходящей из которых оказалась: *Reprosil-Pur C18-AQ 150 мм×2 мм*, с размером частиц 3 μм.

Для приготовления подвижных фаз использовали растворители: воду сверхчистую (*HPLC*), ацетонитрил (*HPLC*), ортофосфорную кислоту (х.ч.).

Определение никорандила осуществляли в изократическом режиме элюирования в следующих условиях: подвижная фаза – 4% водный раствор кислоты фосфорной – ацетонитрил (15 : 85), скорость потока 0,25 мл/мин., температура колонки 35°С, давление 168 bar, детекция 261 нм, объём вводимой пробы 5 μл.

Расчет количественного содержания никорандила проводили по площади полученного пика, которая должна соответствовать площади пика его стандарта по формуле 1.

$$X = \frac{S_x \times C_{ст} \times W_1 \times W_2 \times 100}{S_{ст} \times m \times V_a} \qquad [1]$$

где, S_x – площадь пика исследуемого вещества;
$S_{ст}$ – площадь пика стандарта;
W, W_2 – разведения, мл;
m – масса навески, г;
V_a – объем аликвоты, мл.

Количественное определение препарата проводили методом абсолютной градуировки. Для этого строили градуировочный график зависимости концентрации от площади пика. График представлен на рис. 1.

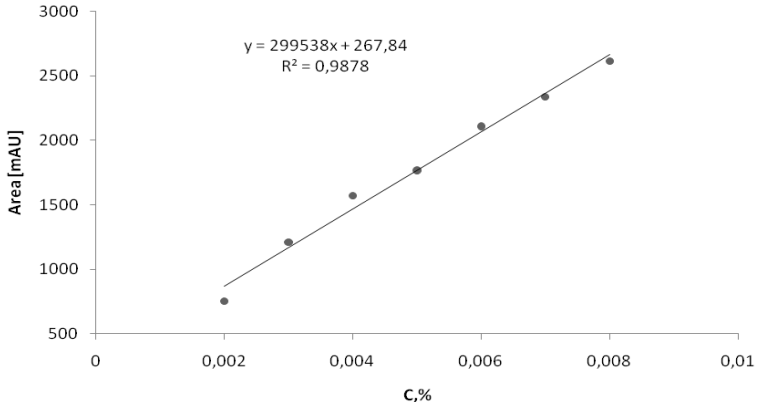


Рис. 1. Градуировочная кривая зависимости площади пика никорандила от концентрации

Как видно из рис. 1 существует прямолинейная зависимость концентрации от площади пика, что свидетельствует о корректности полученных результатов.

Хроматограмма никорандила представлена на рис. 2.

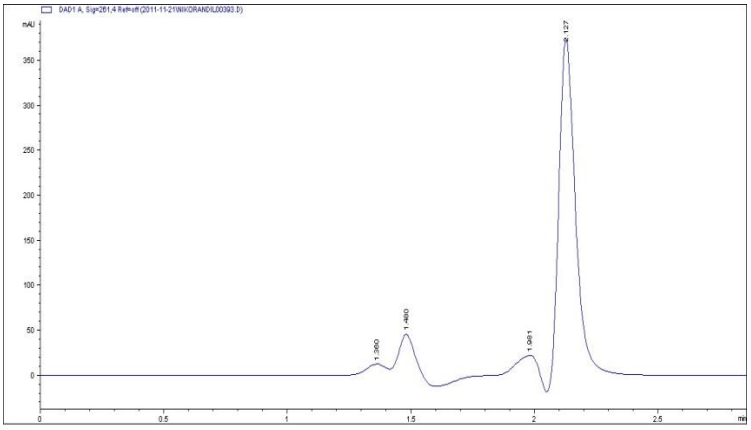


Рис. 2. Спектр поглощения никорандила

УФ-спектр никорандила представлен на рис. 3.

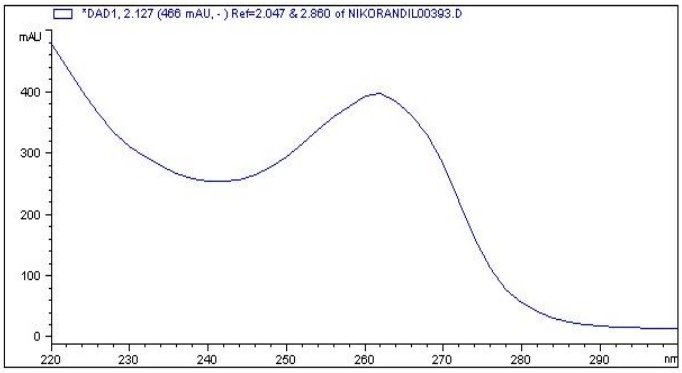


Рис. 3. УФ-спектр поглощения никорандила

Было проведено 7 параллельных измерений. Полученные данные обрабатывали статистически. Результаты исследования количественного определения никорандила в таблетках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии представлены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты количественного определения никорандила в таблетках методом ВЭЖХ

№ п/п	Масса навески, г	Содержание никорандила (X), %	S	$\overline{\Delta X}$	ε, %
1	0,0100	100	1,47	3,6	3,5
2	0,0102	102			
3	0,0105	105			
4	0,0098	98			
5	0,0099	99			
6	0,0109	109			
7	0,0100	100			
		$\overline{X}$ = 101,86 %			

Как видно из данных таблицы, содержание никорандила в таблетках составило 101,86±3,6%, ошибка единичного определения с 95,0%-ной вероятностью находилась в пределах 3,5%, что не превышает установленного в ГФ критерия погрешности.

Для сравнения нами также был разработан метод количественного определения никорандила методом УФ-спектрофотометрии по собственному поглощению. Для анализа никорандила методом УФ-спектрофотометрии использовали 0,005%-ный раствор препарата в 0,1 М растворе кислоты хлористоводородной. Для этого около 0,01 г (точная навеска) таблеток никорандила помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 10 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной, перемешивали, доводили объём раствора этим же растворителем до метки и перемешивали.

1,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объём 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной до метки и перемешивали.

Спектр поглощения полученного раствора в области от 240 до 340 нм должен иметь максимум поглощения при 261 нм.

Количественное содержание никорандила определяли с использованием стандартного образца *(СО)* по формуле 2:

$$X = \frac{D_x \times C_{cm} \times W_1 \times W_2}{D_{cm} \times m \times V_a}, \qquad [2]$$

где: D_x – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_{cm} – оптическая плотность раствора СО резвератрола;

m_o – масса навески стандартного образца никорандила, г.

Регистрировали УФ-спектры никорандила в концентрациях от 0,002 до 0,008 . По результатам определения оптической плотности строили калибровочный график зависимости оптической плотности от концентрации (рис. 4).

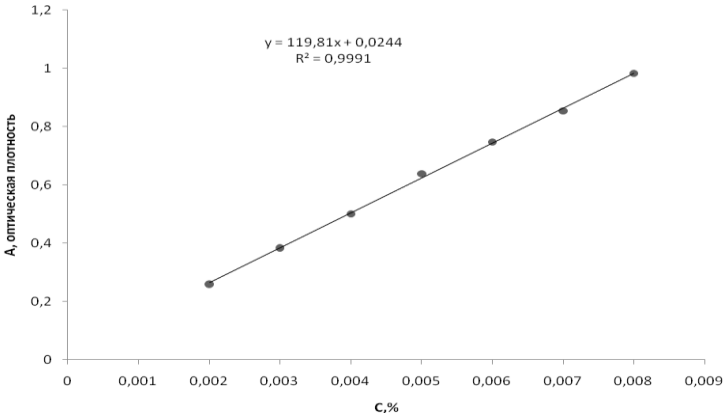


Рис. 4. Градуировочная кривая зависимости оптической плотности никорандила от концентрации

Как видно из рис. 4, существует прямолинейная зависимость концентрации от оптической плотности растворов, что свидетельствует о корректности полученных результатов.

Было проведено 7 параллельных измерений. Результаты статистической обработки определения содержания никорандила в субстанции представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты количественного определения никорандила методом УФ-спектрофотометрии

№ п/п	Масса навески, г	Содержание никорандила (X), %	S	$\overline{\Delta X}$	ε, %
1	0,011	110	1,63	3,99	3,9
2	0,010	100			
3	0,0099	99			
4	0,0097	97			
5	0,0101	101			
6	0,0102	102			
7	0,0098	98			
		$\overline{X}$ = 101 %			

Как видно из данных табл., содержание никорандила в таблетках составило 101±3,99 %, относительная ошибка единичного определения с 95,0%-ной вероятностью находилась в пределах ±3,9 %, что укладывается в критерий погрешности регламентируемый ГФ.

Сравнительную оценку полученных результатов количественного определения никорандила вышеприведёнными методами проводили по критериям экспрессности, чувствительности и погрешности (воспроизводимости). Полученные результаты приведены в табл. 3.

Таблица 3

Сравнительная оценка методов количественного определения никорандила

Метод анализа	Время выполнения единичного анализа, мин	Чувствительность анализа, мг/мл	Погрешность определения
УФ-спектрофотометрия	2-4	4×10^{-3}	3,05
ОФ ВЭЖХ	3	$1,5\times10^{-4}$	3,18

Результаты, приведённые в табл. 3 показывают, что по критерию чувствительности – преимущество имеет метод ВЭЖХ. Критерии экспрессности и погрешности метода УФ-спектрофотометрии сопоставимы с методом ВЭЖХ.

Для установления адекватности методов УФ-спектрофотометрии и ВЭЖХ использовали сравнительный анализ по формуле 3:

$$t_{экс} = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{\left[(n_x - 1)\times S_x^2 + (n_y - 1)\times S_y^2\right]\times(n_x - n_y)}{(n_x + n_y - 2)\times n_x \times n_y}}} \quad [3]$$

Число степеней свободы f рассчитывали по формуле 4:

$$f = n_x + n_y - 2 \quad [4]$$

Результаты сравнительного анализа УФ-спектрофотометрии с ВЭЖХ приведены в табл. 4.

Таблица 4

Результаты сравнительной оценки методов анализа никорандила

Сравниваемые методы	Экспериментальный t критерий	Табличный t критерий, P, 95%	Число степеней свободы, f
ОФ ВЭЖХ: УФ-спектрофотометрия	1,04	2,23 – 2,13	12

Как видно из приведённых данных табл. 4, экспериментальный t критерий не превышает такового табличного, что свидетельствует о том, что различия между методами анализа незначительны и методы адекватны друг другу.

Литература

1. Hirose, M. Mechanisms of preventive effect of nicorandil on ischaemia-induced ventricular tachyarrhythmiain isolated arterially perfused canine left ventricular wedges / M.Hirose, M. Hirose, N. Tsujino, T. Nakada .et al // Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. – 2008. – Vol. 102, №6. – P.504-14.
2. Holzmann S. Cyclic GM Pas possible mediator of coronary arterial relaxation by nicorandil (SG-75) / S. Holzmann // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1983. – Vol. 5, № 3. – P. 364-70.
3. Holzmann S. Pharmacological interaction experiments differentiate between glibenclamide-sensitive K+ channels and cyclic GMP as components of vasodilation by nicorandil / S. Holzmann, W.R. Kukovetz, C. Braida et al. // Eur.J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 215, №1. – P.1-7.
4. Kukovetz, W.R. Dual mechanism of the relaxing effect of nicorandil by stimulation of cyclic GMP formation and by hyperpolarization / W.R.Kukovetz, S. C. Holzmann,. Braida. et al // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2001. – Vol.17, №4. – P.627-33.

COMPARATIVE ANALYSIS OF METHODS FOR QUANTIFYING NICORANDIL

D.I. PISAREV
O.O. NOVIKOV
L.M. DANILENKO

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

This paper deals with the development of analytical approaches , providing an adequate assessment of the quality of nicorandil. For this purpose, the authors used the methods of RP-HPLC and UV spectoroscopy that helped develop methods for the qualitative and quantitative determination of nicorandil. Comparative analysis showed the comparability of methods used to assess the quality of nicorandil on criteria of rapidity and reproducibility. By RP-HPLC method sensitivity was more suitable for nicorandil .

Key words: nicorandil , RP-HPLC , UV spectoscopy.

УДК 615.322

АНАЛИЗ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ *MOMORDICA CHARANTIA* (CUCURBITACEAE) РАЗЛИЧНОГО ГЕОГРАФИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

ДОАН ХОАНГ ЖАНГ
В.К. ТОХТАРЬ
Л.А.ТОХТАРЬ
О.О. НОВИКОВ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

Momordica charantia L. (Cucurbitaceae) является палеотропическим видом, используемым в качестве лекарственного растения во многих странах. В статье рассматриваются морфологические изменения образцов *Momordica charantia* различного географического происхождения. Полученные результаты свидетельствуют о том, что природно-климатические условия влияют на размер листа, массу и размеры плода, а также указывают на существенные различия для изученных признаков цветка: размера цветоножки и прицветника. Расположение прицветника было одинаковым у всех образцов, но у женских цветков прицветник всегда располагается ближе к основанию цветоножки, чем у мужских.

Ключевые слова: *Momordica charantia*, морфологические признаки, статистический анализ, фенологический анализ.

Введение.

Momordica charantia является перспективным источником ликопина и других каротиноидов. Дикорастущие растения *M. charantia* распространены в регионах Южной Азии и Тропической Африки. В настоящее время растения приобретают все большую популярность у садоводов-любителей и фермеров в Германии, Румынии, США, Японии благодаря использованию растений в качестве лекарственного сырья. Изучение изменчивости этих ценных видов растений и выявление изменчивости морфологических признаков при их интродукции является основой для создания высокопродуктивных интродукционных популяций. С этой точки зрения несомненный интерес представляет исследование морфологических различий у растений *M. charantia*, выращиваемых в условиях Белгородской области (г. Белгород).

Методика эксперимента.

Для сравнительного изучения морфологических признаков были отобраны 3 образца *Momordica charantia* (1 – Вьетнам, TN 166; 2 – Россия, неизвестное происхождение, получен от садоводов г. Белгорода; 3 – Германия, из Берлинского ботанического сада, Berlin-Dahlem).

Исследовали 18 морфометрических признаков у каждого растения (табл. 1). (WILLIAMS & NG, 1976). Параметры плодов и семян измеряли только на зрелых плодах. Число боковых ветвей, размеры листа определяли в начале плодоношения.

Таблица 1

Изученные морфологические признаки у растений *Momordica charantia* L.

	Описание признаков	Сокращения
Вегетативные	Длина пластины листа (мм)	дл
	Ширина пластины листа (мм)	шл
	Число боковых ветвей	чбв
Генеративные	Длина мужского прицветника (мм)	дмпр
	Ширина мужского прицветника (мм)	шмпр
	Длина женского прицветника (мм)	джпр
	Ширина женского прицветника (мм)	шжпр
	Длина мужской цветоножки (мм)	дмцвн
	Длина женской цветоножки (мм)	джцвн
	Расстояние от мужского прицветника до основания цветоножки (мм)	рмпр
	Расстояние женского прицветника (мм) до основания цветоножки (мм)	ржпр
Плод	Масса плода (г)	мпл
	Длина плода (см)	дпл
	Диаметр плода (см)	шпл
	Кол-во семян в одном плоде	чсм
Семя	Длина семени (мм)	дсм
	Ширина семени (мм)	шсм
	Толщина семени (мм)	тсм

Все данные были проанализированы с помощью программы Statistica 8 (STATSOFT). Рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение для каждого морфологического признака. Одномерный дисперсионный анализ (ANOVA) был выполнен для сравнения признаков образцов из различных фитогеографических регионов (HILL & LEWICKI, 2006).
Для сравнения признаков между мужскими и женскими цветами был выполнен парный Т-тест. Независимый Т-тест был использован для сравнения двух независимых групп. Исследование корреляций Пирсона позволило измерить степень связи между признаками (SOKAL & ROHLF, 1995) в случае, если она существует.
Анализ главных компонент (PCA) был проведен для того, чтобы описать изменение некоррелированных морфологических переменных, каждое из которых является линейной комбинацией исходных данных (EVERITT & DUNN, 2001). Для этого анализа мы использовали корреляционную матрицу, чтобы придать равные значения признакам (STUESSY, 1990).

Результаты.

Изменчивость морфологических признаков плодов и семян.

Средние значения и диапазоны варьирования признаков плода и семени представлены в табл. 2 в соответствии с различным географическим местоположением. Одномерный дисперсионный анализ указывает существенные различия почти для всех признаков. Так, например, масса плода колеблется в пределах от 49,87 до 253,1 г. в соответствии с изученными образцами. Средняя масса одного плода *M. charantia* составляет 102,24 г ± 72,44. Установлена существенная разница между образцами из различных фитогеографических регионов ($p < 0,001$). Размеры плодов в среднем были 11.5 мм ± 7.1 в длину с диаметром 5.8 мм ± 1,4. Их этих двух признаков только длина плода варьирует от одного региона к другому в соответствии с данными одномерного дисперсионного анализа ($p < 0,001$). Плод содержит в среднем 24 семени. Количество семян в одном плоде также изменяется в зависимости от географического происхождения изученных образцов со значительной разницей ($p = 0,006$). Толщина семени у растений в среднем составляет 3,78 мм ± 0,45 и имеет, в целом, сходные значения у образцов (0,14). С другой стороны, длина (12,9 мм ± 1,1) и ширина (7,41 мм ± 0,55) семени значительно больше у образцов из Вьетнама, где они достигают 14.00 мм ± 0,79 и 7,77 мм ± 0,47 соответственно ($p < 0,001$). Величина этого изменения однако низкая и, следовательно, может не учитываться.

Таблица 2

Средние значения признаков плода и семени у растений *Momordica charantia* L.

	Вьетнам n = 15	Россия n = 10	Германия n = 10
Масса плода (г)	189,28 ± 74,15 (100,3-253,1)	62,68 ± 12,79 (49,87-86,78)	66,22 ± 15,41 (52,92-86,6)
Длина плода (см)	20,32 ± 2,17 (16-23)	7,93 ± 1,18 (6,5-9,5)	5,36 ± 0,79 (4,3-6,5)
Диаметр плода (см)	6,59 ±1,21 (4,3-7,6)	5,71 ±1,08 (4,0-7,7)	5,04 ±1,05 (4,8-6,9)
Кол-во семян в одном плоде	36,6 ± 7,4 (31-49)	25,25 ± 6,01 (18-34)	12,62 ± 1,59 (10-15)
Длина семени (мм)	14,00 ± 0,79 (11,5-15)	12,51 ± 0,55 (11,3-13,5)	12,49 ± 0,88 (10,8-14,1)
Ширина семени (мм)	7,77 ± 0,47 (7,1-8,8)	7,28 ± 0,41 (6,5-8,3)	6,93 ± 0,43 (6-7,9)
Толщина семени (мм)	4,00 ± 0,47 (3-4,8)	3,84 ± 0,3 (3,3-4,4)	3,85 ± 0,45 (2,8-4,5)

Фенетическое отношение на основе признаков плодов и семян.

Анализ отношений между признаками свидетельствует о наличии нескольких положительных высоких корреляций (табл. 3). Размеры плодов и семян варьируют в одном направлении. Так, длина плода положительно коррелирует с другими признаками. Масса плода, наоборот, имеет низкие коэффициенты корреляции с большинством изученных признаков и значительную отрицательную корреляцию с числом семян в плоде.

При проведении PCA-анализа на 35 растениях из 3 фитогеографических регионов первый компонент объясняет 51,31 % изменчивости, а второй – 20,75 % изменчивости (рисунок). Первая ось тесно связана с размером плодов и семян. В то время как, вторая ось характеризует различия между массой плодов и числом семян в плоде.

Таблица 3

Корреляционная матрица признаков плода и семени у изученных растений *Momordica charantia* L.

	мпл	дпл	шпл	чсм	дсм	шсм	тсм
мпл	1						
дпл	0,13	1					
шпл	0,42	0,24	1				
чсм	-0,11	0,90	0,03	1			
дсм	0,12	0,86	-0,02	0,75	1		
шсм	-0,08	0,78	0,47	0,70	0,67	1	
тсм	0,02	0,32	0,20	0,29	0,30	0,48	1

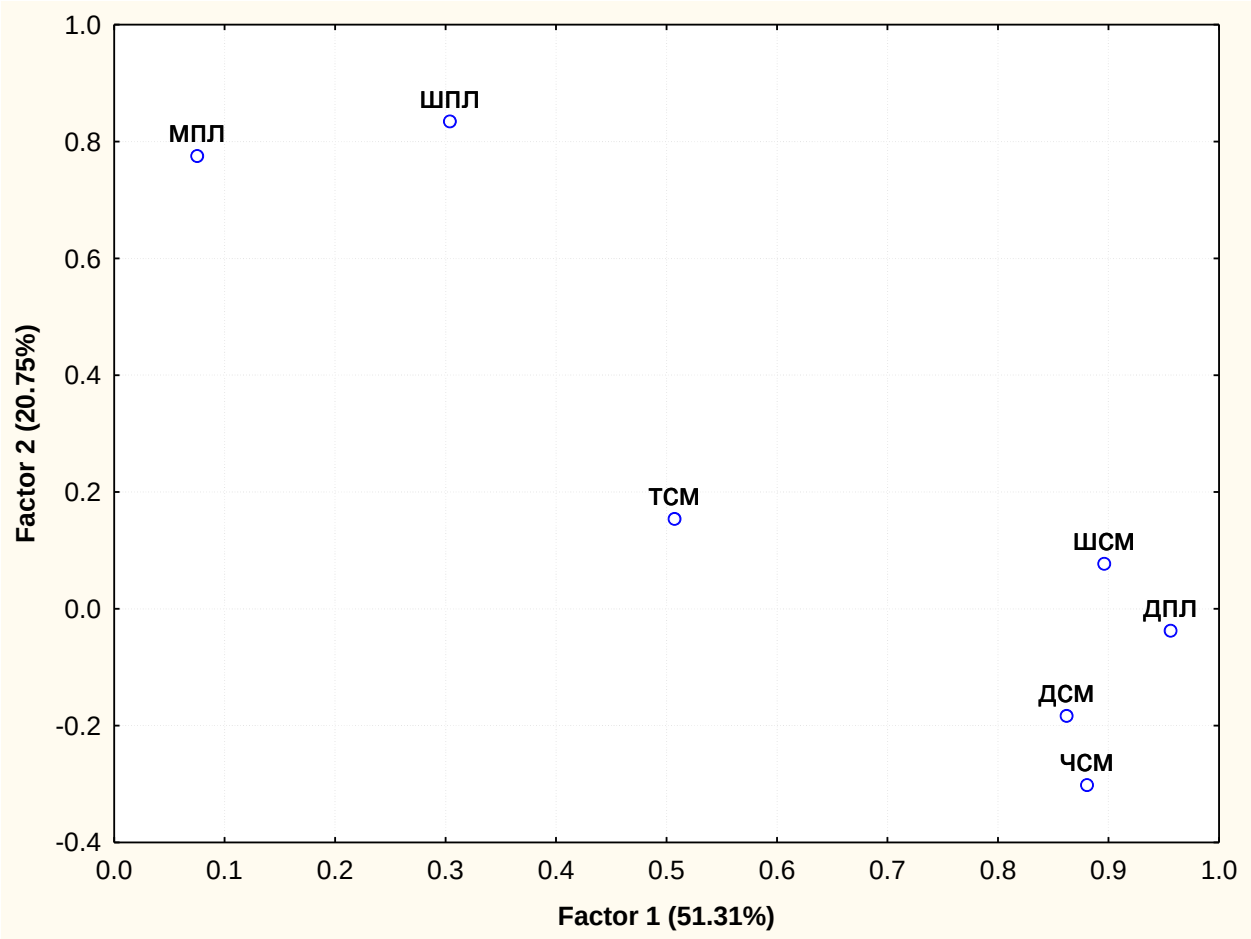


Рис. 1. Факторный анализ признаков плода и семени растений *Momordica charantia* L. (выделенные факторы объясняют 72,1% общей вариации признаков)

Изменчивость признаков листьев, стебля и цветков.

Изучение значений признаков листьев и цветков свидетельствует об их существенной изменчивости. В табл. 4 представлены средние значения и диапазон варьирования признаков листьев, стебля и цветка у растений различного географического происхождения. Длина листовой пластины в некоторых случаях достигает 140 мм, но в среднем имеет более низкие значения (84,11 ± 17,13 мм). Результаты, полученные с помощью одномерного дисперсионного анализа свидетельствуют о том, что такая величина не одинакова у различных образцов. Растения из Вьетнама имеют листья с большей длиной (102,14 мм ± 18,84). Средняя величина ширины листовой пластины у всех исследованных растений была 61.97 мм. Она изменяется в зависимости от происхождения образцов ($p < 0,01$). Самая маленькая ширина листовой пластинки отмечена у образцов из Белгорода (51,23 мм ± 10,68), а наибольшая величина зарегистрирована у образцов из Вьетнама (78,76 мм ± 14,72).

Таблица 4

Средние значения признаков листа и цветка у растений *Momordica charantia* L.

	Вьетнам n = 15	Белгород n = 10	Германия n = 10
Длина пластинки (мм)	102,14 ± 18,84 (76-137)	74,76 ± 10,94 (59-99)	79,55 ± 18,35 (49-105)
Ширина пластинки (мм)	78,76 ± 14,72 (37-101)	51,23 ± 10,68 (35-76)	58,02 ± 9,97 (41-89)
Длина главной плети (см)	174,48 ± 32,59 (129,4-223,5)	195,7 ± 25,9 (166,5-232)	119,0 ± 34,7 (91,5-158)
Число боковых ветвей	12,83 ± 1,94 (10-16)	16,4 ± 6,65 (10-25)	9,4 ± 4,5 (6-17)
Длина мужского прицветника (мм)	8,37 ± 1,5 (6,6-12,7)	6,57 ± 0,81 (5,6-8,1)	7,21 ± 1,92 (4,3-11)
Ширина мужского прицветника (мм)	10,15 ± 2,15 (7,3-16,5)	7,92 ± 1,52 (5,5-10)	8,71 ± 2,93 (4,9-16)
Длина женского прицветника (мм)	7,38 ± 2,11 (4,7-12,9)	7,58 ± 1,85 (4,8-10,6)	7,13 ± 2,29 (3,5-11)
Ширина женского прицветника (мм)	9,01 ± 2,56 (5,7-16,4)	8,43 ± 2,06 (6 -11,9)	8,53 ± 3,14 (3,8-14)
Длина мужской цветоножки (мм)	55,33 ± 9,32 (44-70)	49 ± 7,78 (38-59)	69,25 ± 21,42 (33-102)
Длина женской цветоножки (мм)	67,4 ± 18,1 (46-109)	60,57 ± 11,6 (43-74)	75,86 ± 14,24 (60-99)

Исследование признаков цветка позволило установить, сто средняя длина мужской цветоножки составляет 65,9 мм ± 23,96, но для некоторых растений образцов, полученных из Германии, такая величина была выше 100 мм ($p < 0,01$). Длина женской цветоножки значительно варьирует между образцами различного географического происхождения ($p = 0,02$). Небольшая длина отмечена у женской цветоножки на растениях из Белгорода (60,57 мм ± 11,6), а наибольшая характерна для растений из Германии (75,86 мм ± 14,24). Никаких существенных изменений не наблюдается между мужской и женской цветоножками (парный Т-тест, $p = 0,36$). Положение прицветника определяется расстоянием от него до основания цветоножки. Среднее расстояние было 21,17 мм для мужского цветка и 10,96 мм для женского цветка. И тот и другой признак не отличался значимо у разных образцов ($p = 0,59$ и 0,35 для мужского и женского цветков соответственно). Однако, в пределах одного образца, расстояние мужского прицветника до основания плодоножки почти всегда больше, чем у женского ($p < 0.01$) как показал парный Т-тест.

Изменчивость морфологических признаков листа и цветка.

Анализ степени связанности между признаками указывает на положительную и отрицательную высокую корреляции у изученных растений (табл. 5). Длина листа свидетельствует о значительной высокой, положительной корреляции с шириной пластины и длиной мужской цветоножки. Корреляция между длиной листа и длиной женской цветоножки также значительная ($r = 0.32$, $p = 0.001$). Мужская и женская цветоножки развиваются в одном и том же направлении и их величины тесно связаны ($r = 0.51$, $p < 0.01$). Однако эти признаки слабо коррелируют с размерами прицветника. Положение прицветника не коррелирует с длиной цветоножки у мужского цветка ($r = 0.16$), но коррелируют с длиной цветоножки женского цветка ($r = 0.56$, $p < 0.01$).

Таблица 5

Корреляционная матрица признаков листа и цветка у растений из 3 мест происхождения

	дл		шл		дмцвн	рмпр	дмпр	шмпр	джпр	шжпр	ржпр	джцвн
дл	1											
шл	0,78		1									
дмцвн	0,68		0,56		1							
рмпр	0,07		-0,15		0,16	1						
дмпр	-0,15		-0,09		-0,13	0,21	1					
шмпр	0,03		0,02		0,06	0,31	0,9	1				
джпр	-0,2		-0,21		-0,22	-0,06	0,63	0,51	1			
шжпр	-0,09		-0,14		-0,05	0,13	0,61	0,62	0,86	1		
ржпр	0,08		-0,06		0,14	0,47	-0,01	0,06	0,02	0,24	1	
джцвн	0,32		0,24		0,51	0,3	0,07	0,18	-0,03	0,15	0,56	1

Заключение.

Анализ количественных морфологических признаков у образцов *M. Charantia* различного географического происхождения позволяет установить степень сходства и различия между ними в одинаковых условиях культуры на юго-западе Среднерусской возвышенности, а также выявить особенности их морфологической структуры. Установлено, что размеры и масса плода значительно варьируют у изученных растений и, наоборот, параметры семян изменяются незначительно. У исследованных образцов не наблюдается корреляции между массой плода и количеством семян растений. Растения из Вьетнама характеризуются наличием в три раза большей массы плодов в сравнении с остальными, однако количество семян в одном плоде у них больше только в 1.5 раза. Несмотря на то, что длина и ширина семян варьируют в зависимости от географического происхождения образцов, необходимо отметить, что величина этих изменений низкая, визуально не воспринимаемая. Результаты исследования позволяют говорить о том, что большие листья имеют растения, выращенные из семян, полученных из Вьетнама, хотя длина цветоножки варьирует в зависимости от географического происхождения растений. Расположение прицветников одинаковое у всех образцов, однако у женских цветков прицветник всегда расположен ближе к основанию цветоножки, чем у мужских.

Литература

1. EVERITT, B. S. Applied multivariate data analysis. Ed 2. Arnold, 2001.
2. HILL, T. & P. LEWICKI. Statistics: methods and applications. A comprehensive reference for science, industry, and data mining. StatSoft, 2006.
3. MARR, K. L., YONG-MEI& X., BHATTARAI K. N. Allozyme, morphological and nutritional analysis bearing on the domestication of Momordica charantia L. (Cucurbitaceae). Econ. Bot. 58: 435-455, 2004.
4. NJOROGE, G. N. Momordica charantia L. In: GRUBBEN, G. J. H. & O. A. DENTON(ed.), Vegetables: 385-390. Backhuys Publishers and CTA, 2004.
5. SOKAL, R. R. & F. J. ROHLF. Biometry. Ed. 3. W.H. Freeman and Company, 2005.
6. STUESSY, T. F. Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data. Columbia Univesity Press, 1990.
7. WILLIAMS, J. T. & N. O. NG. Variation within Momordica charantia L., the bitter gourd (Cucurbitaceae). Ann. Bogor.6: 11-123, 1976.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF MORPHOLOGICAL FEATURES OF MOMORDICA CHARANTIA HERBS (CUCURBITACEAE) OF DIFFERENT GEOGRAFICAL ORIGIN

DOAN HOANG GIANG
V.K. TOKHTAR
L.A. TOKHTAR
O.O. NOVIKOV

Belgorod National Research University

e-mail:novikov@bsu.edu.ru

Momordica charantia L. (Cucurbitaceae) paleotropic view is used as a medicinal plant in many countries. The article discusses the morphological changes of samples *Momordica charantia* of different geographical origin. The results suggest that climatic conditions influence the sheet size, weight and size of the fetus, and also indicate significant differences for the traits studied flower: pedicel and bract size. Location of bract was similar in all samples, but in the female flowers thre ract is located closer to the base of the peduncle than in males.

Key words: *Momordica charantia,* morphological characteristics, statistical analysis, phenological analysis.

УДК 581.9:470.325

АНАЛИЗ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВИДОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ БОТАНИЧЕСКОГО САДА НИУ «БелГУ»

Н.А. МАРТЫНОВА
В.К. ТОХТАРЬ
Л.А. ТОХТАРЬ
О.О. НОВИКОВ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: tokhtar@bsu.esu.ru

Статья посвящена критическому анализу современного состоянии коллекции лекарственных растений Ботанического сада НИУ «БелГУ», изучению и выявлению перспективных для использования видов этой коллекции. Авторами выделены группы растений в зависимости от возможностей их применения.

Ключевые слова: коллекция, интродукция, лекарственные растения, ботанический сад

Введение.

Одной из наиболее важных коллекций Ботанического сада НИУ «БелГУ» является коллекция лекарственных трав, созданная в 2001 году. Она была создана для изучения перспективных лекарственных и ароматических растений в условиях Белгородской области и исследования возможностей их применения.

Материалы и методы.

Закладка коллекций, учет и наблюдения за растениями проводились по общепринятой методике Всероссийского института лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР) [1, 2, 3], а также согласно положениям проекта общесоюзной программы исследований по интродукции лекарственных растений [4]. Показателями устойчивости растений и их перспективности служит наличие регулярного цветения и плодоношения, способность к семенному и вегетативному размножению, зимостойкость и засухоустойчивость.

При отборе растений учитывались сведения об их химическом составе и фармакологическом действии. Основными источниками пополнения коллекций были экспедиционные сборы внутри региона и за его пределами, а также обмен растениями между ботаническими садами России и ближнего зарубежья.

Результаты и их обсуждение.

Критический анализ растений, произрастающих в коллекции лекарственных растений, свидетельствует о том, что она включает 175 видов, 133 рода, 41 семейство. В ней содержатся как широко известные, применяемые в медицине растения: *Bergenia crassifolia*, *Astragalus dasyanthus, Astragalus glycyphyllos* и др.), так и малоизученные, перспективные для выращивания в культуре: *Coronilla varia, Anchusa officinalis, Helleborus caucasicus*.

Критический анализ видов лекарственных растений, проведенный нами, свидетельствует о том, что виды распределены по семействам неравномерно: Asteraceae Dumort. (25 видов), Rosaceae Juss. (11 видов), Fabaceae Lindl. (12 видов), Ranunculaceae Juss. (11 видов), Lamiaceae Lindl. (27 видов); с наименьшим количеством – Ephedraceae Dumort., Dryopteridaceae Ching, Polemoniaceae Juss., Cyperaceae Juss., Linaceae DC., Aristolochiaceae Juss., Iridaceae Juss., Cactaceae Juss., Dioscoreaceae R.Br., Hypericaceae Juss., Cannabaceae Endlicher (по 1 виду).

Подавляющее большинство коллекционных растений успешно культивируется, обладает высокой устойчивостью к местным условиям, к вредителям и болезням. У 70% интродуцентов отмечен жизнеспособный самосев, что дает основание считать надежным их сохранение в условиях культуры. Нами установлено, что в условиях Белгородской области ценное лекарственное, эфирномасличное и медоносное растение *Echinacea purpurea* проходит все фазы развития, цветет и плодоносит, образует полноценные семена, имеет хорошие показатели семенной репродукции, дает жизнеспособный самосев. Результаты изучения эхинацеи пурпурной, а также расторопши пятнистой позволяют говорить о перспективности их использования в регионе на плантационном уровне, для заготовки лекарственного сырья. К таким же видам относятся и *Macleya cordata*, *Lavandula spicata, Asclepias syriaca,* поскольку они прекрасно растут, зимуют и возобновляются в коллекции лекарственных растений Ботанического сада НИУ «БелГУ».

Особый интерес вызывают редкие для Белгородской области растения. К ним относятся средиземноморские виды растений, такие как *Helleborus caucasicus* и кактус, *Opuntia humifusa*. Результаты нашего исследования свидетельствуют о том, что в условиях Ботанического сада они могут успешно цвести и плодоносить, однако в настоящее время все еще требуют дальнейшего изучения в культуре.

На долю пищевых растений лекарственных растений коллекции приходится 58%, технических 15%, медоносов 69% от общего их количества. На долю высокодекоративных растений приходится 57% от общего состава растений коллекции. Такие растения как *Sedum acre*, *Solidago virgaurea, Inula helenium* и др. могут использоваться не только в виде аптекарских огородов, но и в виде различных форм озеленения – клумб, миксбордеров, альпийских горок, групп.

Большое значение имеют эфирномасличные и пряноароматические виды растений, успешно произрастающие в условиях ЦЧЗ и выделенные в коллекции в отдельную группу. Такие растения как *Hyssopus officinalis, Nepeta transcaucasica, Mentha arvensis* используются в ароматерапии, а также для создания чайных напитков и ароматических смесей. В коллекции насчитывается 24 вида из этой группы.

Особое положение в коллекции занимают редкие виды природной флоры: *Adonis vernalis*, *Asperula tephrocarpa, Astragalus dasyanthus, Delphinium elatum*, *Ephedra distachya, Paeonia tenuifolia,* Potentilla alba, *Pulsatilla patens, Sanguisorba minor, Teucrium polium, Thymus cretaceous, Trollius europaeus, Vinca herbacea, Primula veris*, которые занесены в Красную книгу Белгородской области и Российской Федерации. Несмотря на то, что численность растений в популяциях этих видов в природе неуклонно сокращается, – в условиях Ботанического сада НИУ «БелГУ» эти виды чувствуют себя хорошо, успешно воспроизводятся вегетативным и генеративным способами. Это позволяет рассматривать их в качестве перспективных лекарственных растений для проведения мероприятий по реинтродукции в регионе ЦЧЗ.

Заключение.

Таким образом, изучение постоянно пополняемой коллекции лекарственных видов растений Ботанического сада НИУ «БелГУ» позволило не только провести ее критический анализ, но и провести оценку перспективности растений для широкомасштабного культивирования и проведения мероприятий по их реинтродукции. Установлено, что в коллекции успешно произрастают представители семейств: Asteraceae Dumort. (25 видов), Rosaceae Juss. (11 видов), Fabaceae Lindl. (12 видов), Ranunculaceae Juss. (11 видов), Lamiaceae Lindl. (27 видов); в наименьшем числе– Ephedraceae Dumort., Dryopteridaceae Ching, Polemoniaceae Juss., Cyperaceae Juss., Linaceae DC., Aristolochiaceae Juss., Iridaceae Juss., Cactaceae Juss., Dioscoreaceae R.Br., Hypericaceae Juss., Cannabaceae Endlicher (по 1 виду). Результаты изучения лекарственных растений позволили выделить перспективные виды для широкого культивирования в условиях ЦЧЗ (*Echinacea purpurea, Silybum marianum, Macleya cordata, Lavandula spicata, Asclepias syriaca).* Они достаточно хорошо растут, зимуют и возобновляются в коллекции лекарственных растений Ботанического сада НИУ «БелГУ». На основе проведенного исследования выделены также высокодекоративные растения: *Sedum acre*, *Solidago virgaurea, Inula helenium,* которые также неприхотливы и могут успешно культивироваться. Наиболее перспективными для выращивания в условиях ЦЧЗ из эфирномасличных и пряноароматических видов растений являются *Hyssopus officinalis, Nepeta transcaucasica, Mentha arvensis*, которые могут успешно применяться в ароматерапии, для создания чайных напитков, ароматических смесей. В группе редких природных лекарственных видов, перспективных для культивирования и решения задач реинтродукции, по результатам исследования выделены *Adonis vernalis*, *Asperula tephrocarpa, Astragalus dasyanthus, Delphinium elatum*, *Ephedra distachya, Paeonia tenuifolia, Potentilla alba*, *Pulsatilla patens, Sanguisorba minor, Teucrium polium, Thymus cretaceous, Trollius europaeus, Vinca herbacea, Primula veris*. Несмотря на то, что численность растений в популяциях этих видов в природе неуклонно сокращается, в условиях Ботанического сада НИУ «БелГУ» эти виды чувствуют себя хорошо, успешно воспроизводятся вегетативным и генеративным способами.

Литература

1. Рабинович А.М., Штерер Г.К. Изучение лекарственных растений в условиях культуры. – М.: ВИЛАР, 1999. – 60 с.

2. Рабинович А.М., Штерер Г.К. Проведение полевых опытов над лекарственными культурами – М.: ВИЛАР, 1999. – 30 с.

3. Майсурадзе Н.И. Методикаисследований приинтродукции лекарственных растений / Н.И. Майсурадзе, В.П. Киселев, О.А. Черкасов и др. // Лекарственное растениеводство. – М., 1984. – Вып. 3. – 33 с.

4. Сацыперова И.Ф., Рабинович А.М. Проект общесоюзнойпрограммы исследований по интродукции лекарственных растений // Растительные ресурсы, 1990. Т. 26, вып. 4. – С. 587-597.

ANALYSIS OF PERSPECTIVE TYPES OF HERBS OF THE BOTANICAL GARDEN NRU «BELSU»

N.A. MARTYNOVA
V.K. TOKHTAR
L.A. TOKHTAR
O.O. NOVIKOV

Belgorod National Research University

e-mail: tokhtar@bsu.esu.ru

Article is devoted to the critical analysis of modern state of medicinal plant collection in the Botanical garden of the NIU "BELGU", studying and identification of perspective species of this collection for use. Authors allocated groups of plants depending on opportunities of their application.

Key words: collection, introduction, medicinal plants, botanical garden.

УДК 615.252.349.7:543.862.28:54.061

РАЗРАБОТКА И СТАНДАРТИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ОБНАРУЖЕНИЯ МЕТФОРМИНА ДЛЯ СУДЕБНО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

В.Ю. МОСКАЛЕНКО
С.И. МЕРЗЛИКИН

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

e-mail: lercha87@mail.ru

В статье изложены данные по разработке и стандартизации методов обнаружения метформина для судебно-токсикологических исследований, основанные на применении осадительных и хромогенных реактивов. Изучены чувствительность и специфичность приемлемых для данных целей реакций.

Ключевые слова: метформин, обнаружение, химико-токсикологический анализ, осадительные реактивы, хромогенные реактивы.

Введение.

Известный антидиабетический препарат Метформин (Сиофор, Глюкофаг, Diformin, Diguanid и др.) является основой современной фармакотерапевтической схемы лечения сахарного диабета 2 типа, поскольку основной механизм его фармакологического действия связан со снижением инсулинорезистентности [1]. Его назначают в индивидуальном виде и в комбинации с другими антидиабетическими средствами, повышающими секрецию эндогенного инсулина [2-7].

Пожизненное применение, побочные действия, доступность в аптечной сети, постоянно растущее количество пациентов с диабетом 2 типа (около 260 млн в мире) – факторы токсикологической опасности его неконтролируемого использования, о чём свидетельствует проведенный информационный обзор острых отравлений метформином [8], а также случай отравления препаратом в практике Республиканского бюро судебно-медицинской экспертизы МЗ РТ, г. Казань [9]. Вместе с тем, в доступной нам литературе отсутствуют описанные систематические судебно-токсикологические исследования на метформин, включающие методы его изолирования из биологических объектов, обнаружения и идентификации на разных этапах химико-токсикологического анализа (ХТА), а также количественного определения в экстрактах из биоматериала.

Целью нашего исследования является разработка и стандартизация химических методов обнаружения метформина для судебно-токсикологических исследований на токсикант неизвестной природы и аналитической диагностики острых отравлений препаратом.

Материалы и методы исследования.

В качестве объектов исследования использовали рабочий стандартный образец (РСО) метформина г/х (субстанция, монография EP 01/2005:0931, производитель Harman Finochem Ltd., серия № 051121), таблетки Сиофор (метформина г/х и вспомогательные вещества) и метформина основание.

Реактивы: Бушарда, Вагнера, Драгендорфа, Драгендорфа (модификация по Мунье), Зонненшейна, Шейблера, 0,5% раствор пикриновой кислоты, 10% раствор рейнеката аммония, H_2SO_4 конц., HNO_3 конц., реактив Марки, реактив Фреде, реактив Манделина, реактив Либермана, реактив Эрдмана, 0,5% раствор нитрата кобальта, 0,5% раствор роданида кобальта, 12,5% раствор сульфата меди, 10% раствор нитропруссида натрия+10 % раствор феррицианида калия+10 М NaOH (1:1:1), 10% раствор нитропруссида натрия +10 М NaOH (1:1); реактив Сакагучи, 10% раствор $FeCl_3$, 57% раствор хлорной кислоты+0,5% раствор нитрита натрия (97:3), 0,5% раствор нингидрина в HCl развед.+ацетон (1:10). Реактивы готовили согласно методикам [10, 11].

Методика приготовления раствора РСО метформина. 1,0 г метформина г/х растворяют в 10 мл воды дистиллированной и доводят объём раствора тем же растворителем до 100 мл (раствор 1; 10 мкг/мкл).

Методика проведения осадительных реакций с метформина г/х. 1-2 капли испытуемого раствора 1 помещают на предметное стекло, рядом наносят 1 каплю соответствующего свежеприготовленного реактива. С помощью стеклянной палочки капли соединяют. Параллельно проводят контрольный опыт.

Методика получения метформина основания из метформина г/х. 25,5 г анионита Amberlite IRA 402 Cl растворяют в 510 мл воды деминерализованной, помещают в колонку и промывают 102 мл раствором NaOH (40 г/л). Колонку промывают водой деминерализованной

до нейтрального pH элюента и 102 мл метанола. Через колонку пропускают готовый раствор метформина г/х в метаноле (3,66 г/0,1 л) со скоростью 2 мл/мин и промывают 61,2 мл метанола. Содержание хлоридов проверяют реакцией с серебра нитратом. Элюаты объединяют, упаривают в потоке холодного воздуха до сухого остатка. Кристаллизуют из метанола.

Методика проведения осадительных реакций с метформина основанием. 1,0 г метформина основания помещают в мерную колбу, добавляют 10 мл воды дистиллированной и доводят объём раствора тем же растворителем до 100 мл (раствор 2; 10 мкг/мл).

1-2 капли испытуемого раствора 2 помещают на предметное стекло, рядом наносят 1 каплю соответствующего свежеприготовленного реактива. С помощью стеклянной палочки капли соединяют. Параллельно проводят контрольный опыт.

Методика проведения хромогенных реакций. К сухому остатку метформина основания или метформина г/х на специальном планшете с углублениями прибавляют 1 каплю соответствующего свежеприготовленного реактива. Параллельно проводят контрольный опыт.

Методика приготовления растворов РСО метформина для определения чувствительности. 1 мл испытуемого раствора 1 помещают в мерную колбу, добавляют 10 мл воды дистиллированной и объём раствора доводят тем же растворителем до 50 мл (раствор 3; 1 мкг/5 мкл). 1 мл испытуемого раствора 3 помещают в мерную колбу, добавляют 10 мл воды дистиллированной и объём раствора доводят тем же растворителем до 50 мл (раствор 4; 0,5 мкг/5 мкл).

Методика изолирования метформина основания из модельного образца мочи. 5,0 мл модельного образца мочи, содержащего 0,125 мг метформина г/х, помещают в делительную колбу, добавляют 5 мл 5 М NaOH до pH13 и трижды (по 5 мл) экстрагируют смесью изоамиловый спирт-бутанол (1:1). Полученные извлечения объединяют и упаривают в потоке холодного воздуха до сухого остатка.

Методика изолирования метформина г/х из таблеток Сиофор. 1 таблетку препарата Сиофор, содержащую 1,0 г метформина г/х, растирают в фарфоровой ступке, добавляют 5 мл воды дистиллированной, перемешивают и фильтруют через фильтр «синяя лента». Полученный фильтрат упаривают в потоке холодного воздуха до сухого остатка.

Результаты и их обсуждение.

Высокие гидрофильные свойства метформина, обусловленные наличием в структуре молекулы NH-групп, создают сложности его изолирования из биологических объектов общими методами – подкисленной водой и подкисленным спиртом (по Стасу-Отто), включающих жидкость-жидкостную экстракцию токсикантов хлороформом или эфиром. Кроме этого, в источниках литературы отсутствуют данные по физико-химическим свойствам основания метформина, в том числе данные по растворимости в воде и указанных органических растворителях.

Основание метформина нами получено из РСО метформина г/х методом ионнообменной хроматографии и представляет собой аморфный желтоватый порошок с характерным запахом, $T_{пл.}$ 120-121°С, хорошо растворимый в воде, спирте изоамиловом, мало растворимый в метаноле, этаноле, пропаноле, бутаноле, гексане, очень мало растворимый в хлороформе, практически нерастворимый в ацетоне, ацетонитриле, диэтиловом эфире.

Результаты по растворимости основания метформина были использованы для разработки условий его изолирования методом жидкость-жидкостной экстракции из модельного образца мочи смесью изоамиловый спирт-гексан (1:1) при pH13, что способствовало увеличению практического выхода метформина с 10% до 80%, в сравнении с результатами его экстрагирования хлороформом при pH9 по известной методике [9].

Исходя из анализа случаев отравлений метформином, кроме биологического материала, объектами ХТА могут быть вещественные доказательства – таблетки и порошок препарата. Поэтому для разработки и стандартизации методов его обнаружения стандартизированы образцы метформина г/х в соответствии с аналитической нормативной документацией [12] – РСО метформина г/х и полученного основания метформина – РСО основания метформина, которые были использованы в параллельных опытах с образцами данных веществ, изолированных из объектов ХТА.

Для обнаружения метформина химическими методами применяли общепринятые в практике ХТА лекарственных и психоактивных веществ осадительные и хромогенные реактивы. Осадительные реакции с соответствующими реагентами выполняли по стандартным методикам. Результаты реакций приведены в табл. 1.

Установлено, что метформина г/х и основание метформина образуют различные осадки с реактивами 1, 2, 5, 7 и 8 (табл. 1). В связи с относительно низкой чувствительностью эти реакции могут быть использованы в качестве предварительных испытаний для обнаружения препарата в различных объектах ХТА. Вместе с тем, в отличие от большинства лекарственных и психоактивных веществ, метформин не образует осадка с реактивами Драгендорфа и Шейблера (реактивы 3, 4 и 6; табл. 1). Отсутствие осадка с данными реактивами имеет судебно-

токсикологическое значение как результат, исключающий присутствие препарата в объекте исследования при ХТА на токсикант неизвестной природы.

Таблица 1

Результаты реакций обнаружения метформина общеосадительными реактивами

№ п/п	Реактив	Метформина г/х		Метформина основание	
		осадок/цвет	предел обнаружения, мкг	осадок/цвет	предел обнаружения, мкг
1	Бушарда	аморфный/коричневый	300	аморфный/коричневый	300
2	Вагнера	аморфный/коричневый	300	аморфный/коричневый	300
3	Драгендорфа	–	–	–	-
4	Драгендорфа (модификация по Мунье)	–	–	–	–
5	Зонненшейна	творожистый/жёлтый	500	творожистый/жёлтый	500
6	Шейблера	–	–	–	–
7	0,5% раствор пикриновой кислоты	аморфный/жёлтый	500	кристаллический (иголки)/оранжевый	500
8	10% раствор рейнеката аммония	аморфный/розовый	500	аморфный/розовый→ фиолетовый	500

Примечание: «–» – отсутствие осадка,
«→» – переход окрашивания осадка.

В табл. 2 приведены результаты реакций метформина г/х и основания метформина с хромогенными реактивами.

Таблица 2

Результаты реакций обнаружения метформина хромогенными реактивами

№ п/п	Реактив	Метформина г/х		Метформина основание	
		окрашивание	предел обнаружения, мкг	окрашивание	предел обнаружения, мкг
1	H_2SO_4 конц.	–	–	–	–
2	HNO_3 конц.	–	–	–	–
3	Марки	–	–	–	–
4	Фреде	–	–	–	–
5	Манделина	–	–	–	–
6	Либермана	–	–	–	–
7	Эрдмана	–	–	–	–
8	0,5% раствор нитрата кобальта	–	–	розовое	10
9	0,5% раствор роданида кобальта	розовое	10	розовое	10
10	12,5% раствор $CuSO_4$+10 М NaOH	фиолетовое →розовое	10	фиолетовое →розовое	10
11	10% раствор нитропруссида натрия+10% раствор феррицианид калия+10% раствор NaOH	красное	5	красное	5
12	10% раствор нитропруссида натрия+10% раствор NaOH	розовое	5	розовое	5
13	Сакагучи	розовое	1	розовое	1
14	10% раствор $FeCl_3$	–	–	–	–
15	57% раствор $HClO_4$+0,5% раствор нитрита натрия (97:3)	–	–	–	–
16	0,5% раствор нингидрина в HCl развед.+ацетон (1:10)	–	–	–	–

Примечание: «–» – отсутствие окрашивания,
«→» – переход окрашивания.

Установлено, что с общими хромогенными реактивами 1-7, 14-16 (табл. 2), которые применяют для обнаружения большинства лекарственных и психоактивных веществ, препарат не дает окрашенных продуктов реакции. Отрицательный результат этих реакций также имеет судебно-токсикологическое значение при ХТА на токсикант неизвестной природы. Вместе с тем, метформина г/х и основание метформина дают окрашенные продукты реакции с реактивами 9-13. Наиболее чувствительными среди них выявлены реактивы 11-13, а специфическими – реактивы 11 и 13, которые могут быть использованы для обнаружения препарата в различных объектах ХТА. Следует отметить, что реактив 8 дает окрашивание только с основанием метформина. Это может быть использовано только для обнаружения препарата в экстрактах из биологического материала.

Для подтверждения результатов обнаружения метформина в объектах ХТА осадительными и хромогенными реактивами использованы инструментальные методы анализа: УФ-спектроскопия и ВЭЖХ. Исследуемые образцы препарата имеют λмакс. 232±2 нм в соответствии с данными [11]. Время удерживания исследуемых образцов метформина в условиях метода ВЭЖХ составляет 2,4 мин. [13].

Выводы.

Методом ионно-обменной хроматографии получено основание метформина и изучены его физико-химические свойства. Предложены условия изолирования метформина в виде основания из биологических объектов методом жидкость-жидкостной экстракции, обеспечивающих практический выход токсиканта до 80%. Стандартизированы образцы метформина г/х и метформина основания. Разработаны химические методы обнаружения метформина, выделенного из объектов ХТА различной природы. Выявлены реактивы, имеющие судебно-токсикологическое значение при отрицательном результате реакции.

Литература

1. Кондратьева Л. В. Метформин – испытание временем / Л. В. Кондратьева // Русский медицинский журнал. Эндокринология. – 2007. – Т. 15, № 27. – С. 2098.

2. Смирнова О.М. Преимущества комбинированной терапии в лечении сахарного диабета 2 типа / О.М. Смирнова // Фарматека. – 2008. – № 3. – С. 48-51.

3. Аметов А.С. Эффективность и безопасность перевода больных сахарным диабетом 2 типа, неполностью контролируемых монотерапией метформином, на комбинированную терапию метформином и Диабетоном МВ / А.С. Аметов, Л.Н. Богданова // Сахарный диабет. – 2009. – № 4. – С. 68-71.

4. Metformin-glibenclamide versus metformin plus rosglitazone in patients with type 2 diabetes inadequately controlled on metformin monoterapy / Garber A., Klein E., Bruce S. at. al // Diabetes Obesity Metabolism. – 2006. – № 8. – P. 156-163.

5. Carbonell B., Schernthaner G., Brunetti P. Et al. Long-term efficacy and tolerability of add-on pioglitazone therapy to falling monoterapy compared with addition of gliclazide or metformin in patients with type 2 diabetes // Diabetologia. – 2005. – № 48. – P. 1093-1094.

6. Belsey J. Glycaemic control and adverse events in patients with type 2 diabetes treated with metformin + sulfonylure: a meta-analysis / J. Belsey, G. Krishnarajah // Diabetes Obesity Metabolism. – 2008. – Vol. 10, suppl. 1. – P. 1-7.

7. Scheen A.J. Drug interactions of clinical importance with antihyperglicaemic agents: an update / A.J. Scheen // Drug Safety. – 2005. – № 28. – P. 601-631.

8. Мерзлікін С. І. Інформаційний огляд щодо обґрунтування хіміко-токсикологічного дослідження на метформін / С. І. Мерзлікін, В. Ю. Москаленко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – № 1-2 (14-15). – С. 3-10.

9. Изолирование метформина из биологического материала и его идентификация / Р.Г. Мансурова, Н.В. Кубасова, З.А. Газизова // Судебно-медицинский журнал. – 2010. – № 1. – С. 5.

10. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 1 вид. – Харків: Рирег, 2001. – 531 с.

11. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: 3-d edition. – London: Pharmaceutical Press, electronic version, 2005.

12. British Pharmacopoeia, 2009 / Her Majesty's Stationary Office, London. – 2009. – V. 1 & 2. – P. 3813-3816.

13. Москаленко В.Ю. Розробка умов рідинної хроматографії для хіміко-токсикологічного аналізу метформіну / В.Ю. Москаленко, С.І. Мерзлікін // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т. 13, № 3. – С. 86-88.

THE DEVELOPMENT AND STANDARDISATION OF DETERMINATION METHODS OF METFORMIN FOR FORENSIC TOXICOLOGICAL RESEARCH

V.Yu. MOSKALENKO
S.I. MERZLIKIN

The National University of Pharmacy, Kharkiv

e-mail: lercha87@mail.ru

This article presents the data on the development and standardization of determination methods of metformin for forensic toxicological research, based on the application of settling and chromogenic reagents. Sensitivity and specificity, acceptable for aim of reactions, were studied.

Key words: metformin, identification, chemical-toxicological analysis, settling reagents, chromogenic reagents.

УДК: 615.28:542.951.1:661:185.222.13:547.853.3:547.732

СИНТЕЗ И ПРОТИВОМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ 2-АЛКИЛТИО-3-N-ЗАМЕЩЕННЫХ ТИЕНО[3,2-*d*]ПИРИМИДИН-4(3*H*)-ОНОВ

Е.В. ТКАЧЕНКО
С.В. ВЛАСОВ
И.А. ЖУРАВЕЛЬ
С.Н. КОВАЛЕНКО
В.П. ЧЕРНЫХ

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков,Украина

E-mail: nauka@ukrfa.kharkov.ua

Было исследовано два подхода к синтезу новых 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов. Путем алкилирования полученных полупродуктов были синтезированы 2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-d]пиримидин-4(3*H*)-оны и проведен скрининг противомикробной активности полученных веществ. В результате установлено, что все из исследованных соединений активны по отношению к Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis. Установлено, что наиболее высоким противомикробным действием по отношению к Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis и Escherichia coli обладает соединение, которое содержит втор-бутильный заместитель в положении 3 и о-метилбензильный фрагмент при атоме серы в положении 2 тиено[3,2-d]пиримидиновой циклической системы.

Ключевые слова: тиофен, пиримидин, ароматические соединения, амиды, противомикробные средства

Введение.

Эффективным направлением создания новых перспективных молекул для прикладных исследований в фармацевтической, агрохимической и других отраслях остается химическая модификация аналогов природных соединений. Особого внимания заслуживают тиофеновые аналоги биологически активных метаболитов обмена веществ, поскольку, согласно концепции биоизостеризма, они имеют широкие возможности для проявления разнообразного биологического действия. Кроме того, введение в структуру БАВ атома серы в большинстве случаев приводит к изменению путей биотрансформации соединений, что отражается на их токсичности и изменяет их фармакологический профиль. В литературе имеется лишь несколько ссылок на работы, в которых производные 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов были исследованы как ингибиторы фосфодиэстеразы (PDE) для лечения ряда заболеваний человека, в основном иммунологических нарушений, таких как рассеянный склероз, а также расстройств ЦНС, депрессия, болезнь Альцгеймера [1], как анальгезирующие, противовоспалительные [2] и противогрибковые [3] средства. Поэтому исследования, связанные с разработкой синтетических путей получения и модификации 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-d]пиримидин-4-онов, с изучением их биологических свойств, представляют несомненный научный и практический интерес.

Материалы и методы исследования.

В работе использовались методы органического синтеза, физические и физико-химические методы анализа органических соединений (^{1}H ЯМР-, хромато-масс-спектрометрия, хроматография в тонком слое сорбента, элементный анализ).

Температуры плавления (Т.пл.) определены на приборе фирмы «Buchi», модель B-520. Элементный анализ (N) осуществляли на приборе Euro EA-3000 фирмы EuroVector.

^{1}H ЯМР-спектры были записаны на Bruker AMX-400 спектрометре в ДМСО -d_6 (внутренний стандарт TMS). Химические сдвиги приведены в шкале δ (м.д.).

LC/MS спектр был записан в PE SCIEX API 150EX жидкостном хроматографе, оснащенным УФ-детектором (λmax 215 и 254 нм) и с использованием колонки C18 (100×4 мм). Элюирование началось водой и завершилось смесью ацетонитрил/вода (95:5, V/V), использовался линейный градиент на расход 0,15 мл / мин и анализ цикла 25 мин.

Все растворители и реагенты были получены из коммерческих источников и использовались без очистки. Метиловый эфир 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты 1 был приобретен в «Sigma-Aldrich» (США).

Общая методика синтеза 3-N-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-d]пиримидин-4(1*H*)*-онов.*

1. **Способ А.** Соответствующий изотиоцианат (50 ммоль) медленно добавляли в раствор метилового эфира 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты **1.** (50 ммоль) в пропаноле-2 (30 мл). Смесь нагревали в течение 2-2,5 часов с обратным холодильником. Далее реакцию охлаждали, разбавляли водой и отфильтровывали осадок образовавшейся несимметричной тиомочевины **2**. К смеси тиомочевины 2 и 50 мл 2-пропанола добавляли 50% водный раствор KOH (6 мл) и

нагревали реакцию в течение 2-2,5 часов с обратным холодильником. Смесь охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (100 мл), подкисляли уксусной кислотой до нейтральной реакции среды. Сформированный осадок соединения **3** отфильтровывали из горячей реакционной смеси, промывали водой и высушивали. Аналитические образцы получали в результате кристаллизации из смеси пропанол-2/ДМФА с выходом **3***{1-8}* – 10-72%.

2. **Способ Б.** Соответствующий амин (55 ммоль) постепенно добавляли к нагретому раствору **4** (50 ммоль) в пропаноле-2 (40 мл) и затем, после перемешивания и охлаждения до комнатной температуры, прибавляли 50% KOH (6 мл). Реакционную смесь нагревали с обратным холодильником 30 минут. Смесь охлаждали до комнатной температуры, выливали в воду (100 мл) и подкисляли уксусной кислотой до нейтральной реакции среды. Сформированный отфильтрованный осадок кристаллизовали из смеси этанол/DMF (1:1) с выходом продукта **3***{1-8}* — 72-88%.

Общая методика синтеза 2-алкилтио-3-N-алкил/бензилтиено[3,2-d]пиримидин-4(3*H*)*-онов.* К раствору 0,5 ммоль соответствующего 3-*N*-алкил/бензил-2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-она **3***{5, 7, 8}* в диметилформамиде добавляли 1,5 ммоль триэтиламина и необходимое галогенпроизводное (в реакции использовали: бензилхлориды, α-бромацетофеноны, α-хлорацетамиды, хлоруксусную кислоту) (0,6 ммоль). Реакционную массу выдерживали при 60°С и постоянном перемешивании в течение 1-2 часов. Охлаждали до комнатной температуры. Разбавляли водой (30 мл), Сформированный отфильтрованный осадок кристаллизовали из смеси этанол/DMF (1:1) с выходом продукта **5***{1-10}* — 80-95%.

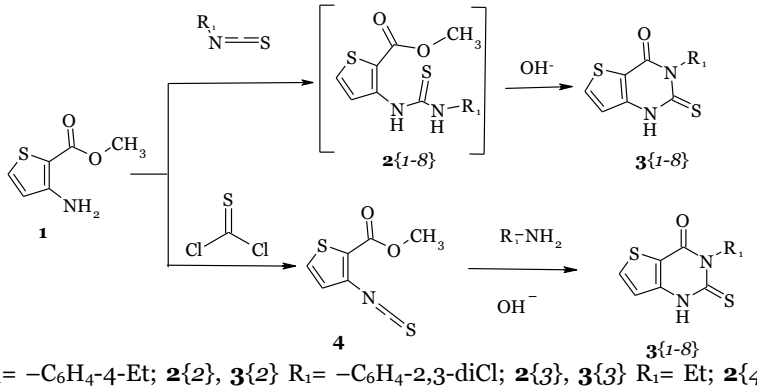
Изучение антимикробной активности. В соответствии с рекомендациями ВОЗ [4, 5] для оценки активности тестируемых соединений использовали тест-штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 653/ 885. Микробная нагрузка составляла 10^7 микробных клеток на 1 мл среды и устанавливалась по стандарту McFarland. Культуры выдерживали в течение 18-24 часов при 36°С±1°С. Для исследований использовали агар Мюллера-Хинтона (Дагестанский НИИ питательных сред). Соединения вводили методом диффузии в агар (колодцами) в виде раствора в ДМСО в концентрации 100 мкг/мл в объеме 0,3 мл.

Результаты и их обсуждение.

Нами были исследованы два пути синтеза 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2, 3-дигидротиено[3,2-d]пиримидин-4(1*H*)-онов. Первый из них базируется на реакции метилового эфира 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты с изотиоцианатами с образованием в качестве интермедиатов N,N'-дизамещеных тиомочевин и их дальнейшей циклизации щелочью. Второй способ — взаимодействие метилового эфира 3-изотиоцианатотиофен-2-карбоновой кислоты с рядом алифатических аминов. Оба подхода имеют специфические ограничения, связанные либо с наличием изотиоцанатов, либо реакционной способностью реагентов. В целом, вторая стратегия является более гибкой и удобной для задач медицинской химии: обеспечивает более широкое разнообразие на основе одной базовой структуры.

Согласно первому варианту синтеза (способ А, схема 1) при взаимодействии арилизотиоцианатов с метиловым эфиром 3-аминотиофен-2-карбоновой кислоты **1** в пропаноле-2 в качестве промежуточных соединений образуются *N, N'*-дизамещенные тиомочевины **2***{1-8}*, некоторые из которых были выделены как индивидуальные соединения.

Схема 1



2*{1}*, **3***{1}* R_1= –C_6H_4-4-Et; **2***{2}*, **3***{2}* R_1= –C_6H_4-2,3-diCl; **2***{3}*, **3***{3}* R_1= Et; **2***{4}*, **3***{4}* R_1= *n*-butyl; **2***{5}*, **3***{5}* R_1= *sec*-butyl; **2***{6}*, **3***{6}* R_1= isobutyl; **2***{7}*, **3***{8}* R_1= Bn; **2***{8}*, **3***{8}* R_1= 4-Me-$C_6H_4CH_2$

В ^{1}H ЯМР-спектрах N,N'-дизамещенных тиомочевин **2***{1-8}* зарегистрированы два синглетных сигнала NH-групп в диапазоне δ 10,10-10,52 м.д. и сигналы протонов ароматического

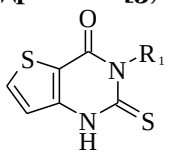
заместителя в области δ 6,90-7,40 м.д. Характерным является положение α-H (δ 8,40-8,45 м.д.) и β -H (δ 7,80 м.д.) протонов тиофена.

Тиенилтиомочевины **2***{1-8}* при нагревании в щелочной среде циклизуются в соответствующие 3-*N*-замещенные 2-тиоксотиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-оны **3***{1-8}* (схема 1, табл. 1). Проведение циклизации без выделения промежуточных тиомочевин позволило повысить выходы реакции до 65-72% в случае использования арилизотиоцианатов. Следует отметить низкие выходы конечных продуктов **3** в случае использования алкилизотиоцианатов (около 10 %) по способу А, что можно считать ограничением данного метода при применении его при наработке библиотек.

Альтернативный способ синтеза (способ Б, схема 1) заключается во взаимодействии метилового эфира 3-изотиоцианатотиофен-2-карбоновой кислоты **4** с первичными аминами. Исходный эфир **4** получали обработкой аминоэфира **1** тиофосгеном в двухфазной системе хлороформ — вода при комнатной температуре. Избыток хлороводорода, образовавшегося в реакции, нейтрализовали водным раствором калий карбоната. Полученный метиловый эфир 3-изотиоцианатотиофен-2-карбоновой кислоты **4** использовали в дальнейших синтезах без дополнительной очистки. Образование продукта реакции контролировали методом ТСХ. При кипячении реакционной смеси изотиоцианата **4** с алифатическими и ароматическими аминами в среде пропанола-2 в присутствии 50% водного раствора KOH получали соответствующие 3-*N*-замещенные 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-оны **3**{1-8} (табл. 1).

Таблица 1

Характеристики
3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов 3



№ вещества	R_1	Молекулярная формула М.м.	N, % Расч./ Эксп.	$T_{пл.}$, °C	Выход,% Способ А/Б
3{*1*}	$-C_6H_4$-4-Et	$C_{14}H_{12}N_2OS_2$ 288,39	9,71 / 9,73	216-218	67/80
3{*2*}	$-C_6H_4$-2,3-диCl	$C_{12}H_6Cl_2N_2OS_2$ 329,23	8,51 / 8,52	232-234	65/80
3{*3*}	Et	$C_8H_8N_2OS_2$ 212,29	13,20 / 13,21	156-158	12/72
3{*4*}	*n*-butyl	$C_{10}H_{12}N_2OS_2$ 240,35	11,66 / 11,68	160-162	10/75
3{*5*}	*sec*-butyl	$C_{10}H_{12}N_2OS_2$ 240,35	11,66 / 11,67	174-176	10/80
3{*6*}	isobutyl	$C_{11}H_{14}N_2OS_2$ 254,38	11,01 / 11,13	178-180	12/82
3{*7*}	Bn	$C_{13}H_{10}N_2OS_2$ 274,37	10,21 / 10,22	180-182	12/88
3{*8*}	4-Me-$C_6H_4CH_2$	$C_{14}H_{12}N_2OS_2$ 288,39	9,71 / 9,74	184-186	10/85

Способ Б позволяет значительно расширить число синтетически доступных веществ за счет проведения циклизации с участием алкиламинов, уменьшить количество опасных стадий (получение одного изотиоцианата вместо нескольких) и несколько повысить выходы конечных продуктов (до 65-88 %). Контроль образования продуктов реакции осуществляли методом ТСХ.

Протоны H6 и H7 тиофенового фрагмента в ^{1}H ЯМР-спектрах производных тиено[3,2-d]пиримидина **3***{1-8}* иногда скрывают другие сигналы, но, как правило, четко определяются в виде дублетных сигналов в диапазоне δ 8,10-8,20 м.ч. (H6) и при δ 6,90-7,05 м.д. (H7). Сигнал протона NH в виде уширеного синглета проявляется при δ 13,20-13,81 м.д. Также в спектрах присутствуют сигналы алифатических и ароматических заместителей соответствующей мультиплетности (табл. 2).

Таблица 2

Данные ^{1}H ЯМР-спектров
3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов 3

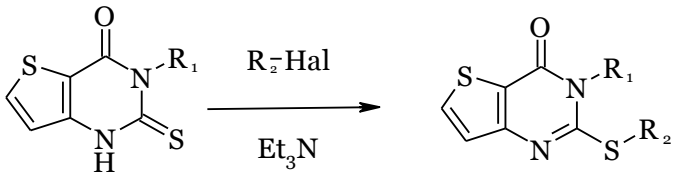
№	Химический сдвиг, δ, м.д.		
	NH(с.)	Алифатические протоны	Ароматические протоны
3{*1*}	13,30	3,10-3,14 кв.(2H, CH_2); 1,20 т. (3H, CH_3)	8,15 д. (1H, H6); 7,10-7,20 м. (4H, Ar-H); 7,05 д. (1H, H7)
3{*2*}	-	-	8,20 д. (1H, H6); 7,75-7.78 м. (1H, Ar-H); 7,50-7,54 м. (2H, Ar-H); 7,02 д. (1H, H7)
3{*3*}	13,52	1 4,40-4,42 м. (2H, CH_2); ,12-1,16 м. (3H, CH_3)	8,12 д. (1H, H6); 7,02 д. (1H, H7)
3{*4*}	13,20	4,30-4,34 м. (2H, CH_2); 1,60-1,62 м. (2H, CH_2); 1,21-1,24 м. (2H, CH_2); 0,90 т. (3H, CH_3)	8,11 д. (1H, H6); 6,90 д. (1H, H7)
3{*5*}	13,21	5,90-5,92 м.(1H, CH); 2,12-2,14 м. (1H, CH_2); 1,80-1,82 м. (1H, CH_2); 1,40-1,43 м. (3H, CH_3); 0,82 т. (3H, CH_3)	8,12 д. (1H, H6); 7,02 д. (1H, H7)
3{*6*}	13,20	4,40 т. (2H, CH_2); 1,55-1,57 м. (3H, CH_2 CH); 0,92-0,96 м. (6H, $2CH_3$)	8,02 д. (1H, H6); 6,95 д. (1H, H7)
3{*7*}	13,40	5,15 с. (2H, CH_2)	8,15 д. (1H, H6); 7,30-7,34 м. (5H, Ar-H); 7,05 д. (1H, H7)
3{*8*}	13,51	5,51 с. (2H, CH_2); 2,10 с. (3H, CH_3)	8,15 д. (1H, H6); 7,20 д (2H, Ar-H); 7,02-7,06 м. (3H, Ar-H)

В LC/MS-спектре 3-(2,3-дихлорфенил)-2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-она присутствуют сигналы ионов с m/z 293, 295, 297 (M-Cl) и m/z 264, 265, 267, что соответствует фрагментации дихлорзамещённого продукта.

Наличие в структуре синтезированных нами соединений тиоамидного фрагмента предоставляло возможность проведения серии химических превращений с участием атома серы. В частности, мы остановили свое внимание на реакции алкилирования. На сегодняшний день разработаны эффективные методики алкилирования циклических тиоамидов [3, 6, 7, 8], которые обеспечивают достаточно высокие выходы конечных продуктов. Направленность данного процесса также не вызывает никакого сомнения, поскольку, эти вопросы не раз обсуждались в литературе [3, 7]. Перед нами встала задача адаптировать методики *S*-алкилирования 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов для условий комбинаторного синтеза.

С целью обеспечения максимального разнообразия структур и с учетом ADMET-ограничений для биологического скрининга нами было спланирован эксперимент и проведен синтез систематических рядов *S*-алкилированных производных 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов. В частности, было проведено реакции соединений **3***{5, 7, 8}* с алкилгалогенидами, α-бромкетонами, хлоруксусной кислотой, амидами хлоруксусной кислоты (схема 2) .

Схема 2



3{*5,7,8*} **5**{*1-10*}

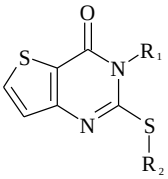
5{*1*} R_1= *sec*-butyl R_2= $-CH_2CONH(4\text{-}EtO\text{-}C_6H_4)$; **5**{*2*} R_1= *sec*-butyl R_2= $-CH_2(2\text{-}Me\text{-}C_6H_4)$; **5**{*3*} R_1= *sec*-butyl R_2= $-CH_2CO(4\text{-}Br\text{-}C_6H_4)$; **5**{*4*} R_1= Bn R_2= $-CH_2COPh$; **5**{*5*} R_1= Bn R_2= $-CH_2(2\text{-}Cl\text{-}C_6H_4)$; **5**{*6*} R_1= Bn R_2= $-CH_2COOH$; **5**{*7*} R_1= Bn R_2= $-CH_2CONHBn$; **5**{*8*} R_1= $-CH_2(4\text{-}Me\text{-}C_6H_4)$ R_2= $-CH_2COPh$; **5**{*9*} R_1= $-CH_2(4\text{-}Me\text{-}C_6H_4)$ R_2= $-CH_2CONH(2\text{-}MeO\text{-}C_6H_4)$; **5**{*10*} R_1= $-CH_2(4\text{-}Me\text{-}C_6H_4)$ R_2= $-CH_2(2\text{-}Me\text{-}C_6H_4)$

Изменяя условия алкилирования, мы изучили несколько методик проведения реакций. Классический способ алкилирования α-галогенкарбоксамидами в водно-спиртовом растворе щелочи [7, 8] наряду с образованием *S*-алкилированных производных давал частичный щелочной гидролиз амидной группы, что приводило к загрязнению и уменьшению выхода продуктов реакции.

Алкилирование 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4(1*H*)-онов в безводном ДМФА в присутствии триэтиламина при 60°С в течение 1-2 часов привело к синтезу продуктов **5** с высокими выходами (85-90 %) и удовлетворительной степенью чистоты (90-98 %) (табл. 3). Алкилированные соединения выделяли из реакционной смеси разбавлением водой и очищали кристаллизацией из пропанола-2 (в случае реакции с алкилгалогенидами, α-бромкетонами, хлоруксусной кислотой) и кристаллизацией из смеси пропанол-2/ДМФА (1:1) (в случае алкилирования α-хлорацетамидами). Контроль образования и чистоты продуктов реакции осуществляли методами ТСХ и ^{1}Н ЯМР-спектроскопии.

Таблица 3

Характеристики
2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-*d*]пиримидин-4(3*H*)-онов 5



№	R_1	R_2	Молекулярная формула М.м.	N, % Расч./ Эксп.	$T_{пл.}$, °С	Выход, %
5{*1*}	*sec*-butyl	$-CH_2CONH(4\text{-}EtO\text{-}C_6H_4)$	$C_{20}H_{23}N_3O_3S_2$ 417,55	10.06 / 10.08	169-170	80
5{*2*}	*sec*-butyl	$-CH_2(2\text{-}Me\text{-}C_6H_4)$	$C_{18}H_{20}N_2OS_2$ 344,50	8,13 / 8,17	110-112	75
5{*3*}	*sec*-butyl	$-CH_2CO(4\text{-}Br\text{-}C_6H_4)$	$C_{18}H_{17}BrN_2O_2S_2$ 437,38	6,40 / 6,44	120-122	78
5{*4*}	Bn	$-CH_2COPh$	$C_{21}H_{16}N_2O_2S_2$ 392,50	7,14 / 7,16	171-173	76
5{*5*}	Bn	$-CH_2(2\text{-}Cl\text{-}C_6H_4)$	$C_{20}H_{15}ClN_2OS_2$ 398,94	7,02 / 7,08	130-132	80
5{*6*}	Bn	$-CH_2COOH$	$C_{15}H_{12}N_2O_3S_2$ 332,40	8,43 / 8,47	150-152	68
5{*7*}	Bn	$-CH_2CONHBn$	$C_{22}H_{19}N_3O_2S_2$ 421,54	9,97 / 9,94	190-192	85
5{*8*}	$4\text{-}Me\text{-}C_6H_4CH_2$	$-CH_2COPh$	$C_{22}H_{18}N_2O_2S_2$ 406,53	6,89 / 6,93	160-162	74
5{*9*}	$4\text{-}Me\text{-}C_6H_4CH_2$	$-CH_2CONH(2\text{-}MeO\text{-}C_6H_4)$	$C_{23}H_{21}N_3O_3S_2$ 451,57	9,31 / 9,34	185-187	90
5{*10*}	$4\text{-}Me\text{-}C_6H_4CH_2$	$-CH_2(2\text{-}Me\text{-}C_6H_4)$	$C_{22}H_{20}N_2OS_2$ 392,55	7,14 / 7,18	110-112	70

^{1}Н ЯМР-спектры веществ серии **5** характеризуются наличием сигналов протонов тиофенового цикла в виде двух дублетных сигналов протонов Н-6 (δ 8,15-8,20 м.д.) и Н-7 (δ 6,90-7,20 м.д.) Для соединения **5***{6}*, алкилированного хлоруксусной кислотой, характерен уширенный синглетный сигнал протона карбоксильной группы в области δ 3,25-3,30 м.д. (протон в дейтерообмене). Расположение сигнала протонов метиленовой группы в более сильном поле (δ 4,01-4,85 м.д.) по сравнению с сигналами, присущими NCH_2-группе (около δ 5,00 м.д.), подтверждает региоселективность алкилирования. Мультиплетность и расположения сигналов протонов других заместителей подтверждает предложенную структуру (табл. 4).

С целью поиска биологически активных веществ в ряду 2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-*d*]пиримидин-4(*3H*)-онов проведено изучение противомикробного действия ряда синтезированных соединений.

Противомикробную активность соединений **5***{1-5, 7-10}* изучали методом диффузии в агар. Антибактериальную активность оценивали путем измерения зон задержки роста соответствующего микроорганизма [4, 5]. При оценке противомикробной активности полученных соединений, а также при исследовании антибиотико-резистентных штаммов применяли следующие критерии: отсутствие зоны задержки роста микроорганизма, а также задержка зоны, не превышающая 10 мм, указывают на отсутствие чувствительности микроорганизма к соединению или недостаточную его концентрацию; зона задержки роста диаметром 10-15 мм указывает на малую чувствительность культуры микроорганизма к исследуемой концентрации вещества; зона задержки роста диаметром 15-25 мм расценивается как показатель чувствительности микроорганизма к исследуемому веществу, диаметр зоны задержки роста, который превышает

25 мм, свидетельствует о высокой чувствительности микроорганизмов к рассматриваемым веществам. Данные результатов исследования противомикробной активности исследуемых образцов приведены в табл. 5 .

Таблица 4

Данные ^{1}H ЯМР-спектров 2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-*d*]пиримидин-4(*3H*)-онов 5

№	Химический сдвиг, δ, м.д.		
	NH OH	Алифатические протоны	Ароматические протоны
5{*1*}	10,20 с. (1H, NH)	4,50-4,54 м. (1H, CH); 4,21 с. (2H, с., CH_2); 3,88-3,92 м. (2H, CH_2); 1,80-2,20 м. (2H, CH_2); 1,52-1,56 м. (3H, CH_3); 1,40-1,45 м. (3H, м., CH_3); 0,80-0,87 м. (3H, CH_3)	8,15 д. (1H, H6); 7,42 д. (2H, Ar-H); 7,12 д. (1H, H7); 6,82 д. (2H, Ar-H)
5{*2*}	-	4,50 с. (2H, CH_2); 4,30-4,34 м. (1H, CH); 2,30 с. (3H, CH_3); 1,52-2,20 м. (2H, CH_2); 1,40 т. (3H, CH_3); 0,80 т. (3H, CH_3)	8,15 д. (1H, H6); 7,42-7,46 м. (2H, Ar-H); 7,30 д. (1H, H7); 7,12-7,20 м. (2H, Ar-H)
5{*3*}	-	4,70 с. (2H, CH_2); 4,40-4,45 м. (1H, CH); 2,30-2,34 м. (1H, CH_2); 1,70-1,75 м. (1H, CH_2); 1,50 т. (3H, CH_3); 0,75 т. (3H, CH_3)	8,10 д. (1H, H6); 8,01 д. (2H, Ar-H); 7,70 д. (2H, Ar-H); 6,72 д. (1H, H7)
5{*4*}	-	5,15 с. (2H, CH_2); 4,85 с. (2H, CH_2)	8,15 д. (1H, H6); 7,51-8,10 м. (5H, Ar-H); 7,22-7,50 м. (5H, Ar-H); 6,90 д. (1H, H7)
5{*5*}	-	5,15 с. (2H, CH_2); 4,85 с. (2H, CH_2)	8,20 д. (1H, H6); 7,11-7,70 (9H, Ar-H); 7,10 д. (1H, H7)
5{*6*}	3,25-3,30 с. (1H, OH)	5.20 с. (2H, CH_2); 4.01 с. (2H, CH_2)	8.15 д. (1H, H6); 7.20-7.40 м. (6H, Ar-H)
5{*7*}	8,65 т. (1H, NH)	5,20 с. (2H, CH_2); 4,20 д. (2H, CH_2); 4,01 с. (2H, CH_2)	8,20 д. (1H, H6); 7,12-7,40 м. (10H, м., Ar-H); 7,10 д. (1H, H7)
5{*8*}	-	5,50 с. (2H, CH_2); 4,20 с. (2H, CH_2); 2,10 (3H, с., CH_3)	8,10-8,15 м. (3H, Ar-H); 7,52 -7,70 м. (5H, Ar-H); 7,10-6,90 м. (3H, Ar-H)
5{*9*}	9,50 с. (1H, NH)	5,30 с. (2H, CH_2); 4,20 с. (2H, CH_2); 3,60 с. (3H, CH_3); 2,20 с. (3H, CH_3)	8,20 д. (1H, H6); 7,88-7,91 м. (3H, Ar-H); 7,22 д. (1H, H7); 7,16-7,20 м. (3H, Ar-H) ; 7,01 -6,86 м. (2H, Ar-H)
5{*10*}	-	5,20 с. (2H, CH_2); 4,50 с. (2H, CH_2); 2,20 с. (3H, CH_3); 2,10 с. (3H, CH_3)	8,20 д. (1H, H6) 7,25 д. (1H, H7); 7,06-7,20 м. (8H, Ar-H)

Таблица 5

Противомикробная активность 2-алкилтио-3-*N*-алкил/бензилтиено[3,2-*d*]пиримидин-4(*3H*)-онов 5

Вещества	Диаметры зон задержки роста в мм количество повторений исследований n=2					
	Staphylococcus aureus ATCC 25923	*Escherichia coli* ATCC 25922	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853	*Proteus vulgaris* ATCC 4636	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	*Candida albicans* ATCC 653/885
5{*1*}	++	++	++	–	++	+
5{*2*}	+++	+++	++	–	+++	+
5{*3*}	++	++	++	–	++	+
5{*4*}	++	–	–	–	++	+
5{*5*}	++	–	–	–	++	+
5{*7*}	++	+	–	–	++	–
5{*8*}	++	–	–	–	++	+
5{*9*}	++	++	++	–	++	+
5{*10*}	++	++	++	–	++	+
ДМСО	+	–	–	–	+	–

*– – Диаметр зоны задержки роста до 10 мм; + – диаметр зоны задержки роста – 10-15 мм; ++ – диаметр зоны задержки роста – 15-25 мм; +++ – диаметр зоны задержки роста – более 25 мм.

Соединения **5**{*1-5, 7-10*} проявили активность по отношению к штаммам *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*. Наиболее активное противомикробное действие среди исследованных соединений относительно *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* показало соединение **5**{*2*}, которое содержит *втор*-бутильный заместитель в положении 3 и *о*-

метилбензильный фрагмент в положении 2. Ни одно из исследованных соединений **5** не выявило противомикробного действия по отношению к *Proteus vulgaris*. Показатели противогрибковой активности к штаммам *Candida albicans* и противомикробной активности к штаммам *Pseudomonas aeruginosa* и *Escherichia coli* исследованных образцов оказались низкими (табл. 5) .

Выводы.

Осуществлен синтез новых 3-*N*-замещенных 2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4-онов и 2-*S*-алкил-3-*N*-алкил/бензил-2-тиоксо-2,3-дигидротиено[3,2-*d*]пиримидин-4-онов и проведен скрининг противомикробной активности полученных веществ. В результате установлено, что все из исследованных соединений активны по отношению к *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis*. Наиболее активное противомикробное действие среди исследованных соединений относительно *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* показало соединение **5***{2},* которое содержит *втор*-бутиловый заместитель в положении 3 и *о*-метилбензильный фрагмент в положении 2.

Литература

1. CODES, a novel procedure for ligand-based virtual screening: PDE7 inhibitors as an application example / Castro A., Jerez M. J., Gil C et al. // Eur. J. Med. Chem. — 2008. — Vol. 43. — P. 1349-1359.
2. Pat. WO 2005/049613 A1 WIPO, C07D 471/04, 495/04, 513/04, 473/22.A61K 31/522, A61P 25/04. Bicyclic pyrimidin-4-(3h)-ones and analogues and derivatives there of which modulate the function of the Vanilloid-1 receptor (VR1) / Hollingworth G. J., Jones A. B., Sparey T. J.; заявитель и патентообладатель Merk Sharp and Dohme Limited.; заявл. 11.12.2004; опубл. 06.02.2005.
3. Pat. US 6,262,058 B1 USA, A01N 43/54, C07D 495/04. Pyrimidin-4-one derivatives as pesticide / H. Walter.; заявитель и патентообладатель Syngenta Crop Protection Inc.; заявл. 25.08.1998; опубл. 17.07.2001.
4. Бактеріологічний контроль поживних середовищ. Информационное письмо МЗ Украины №05.4.1/1670. – К., 2001.
5. Методические рекомендации «Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів». – К., 2004. – 38 с.
6. Kidwai, M. A novel synthesis of thieno-pyrimidines using inorganic solid support / M. Kidwai, A. D. Bull // Bull. Kor. Chem. Soc. — 2003. — Vol. 24, № 7. — P. 1038-1040.
7. Pat. US5753664 A USA, C07D 239/95, C07D 239/00, C07D 239/70. Heterocyclic compounds, their production and use / Tetsuya A., Fumio I., Shogo M. et al.; заявитель и патентообладатель Takeda Chemical Industries Ltd.; заявл. 13.03.1996; опубл. 19.05.1998.
8. Ivachtchenko, A.V. Synthesis of substituted 4-oxo-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydroquinazolines and 4-oxo-3,4-dihydroquinazoline-2-thioles / A. V. Ivachtchenko, S. M. Kovalenko, O. G. Drushlyak // J. Comb. Chem. — 2003. — Vol. 5, № 7. — P. 775-788.

SYNTHESIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF 2-S-ALKYLTHIO-3-N-SUBSTITUTED THIENO[3,2-*D*]PYRIMIDIN-4(3*H*)-ONES

E.V. TKACHENKO
S.V. VLASOV
I.A. ZHURAVEL
S.N. KOVALENKO
V.P. CHERNYKH

University of Pharmacy, KharkovUkraine

e-mail: nauka@ukrfa.kharkov.ua

Two approaches to the synthesis of novel 3-*N*-substituted 2-thioxo-2,3-dihydrothieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(1*H*)-ones were investigated. By the alkylation of these intermediates 2-alkylthio-3-*N*-alkyl/benzyl-thieno[3,2-*d*]pyrimidin-4(3*H*)-ones were obtained, which were further screened for antimicrobial activity. It was found that all of the compounds are active against the strains of *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. The highest activity against *Staphylococcus aureus, Basillus subtilis* and *Escherichia coli* strains has been shown by the compound with *sec*-butyl substituent in position 3 and *o*-methylbenzyl substituent attached to the sulfur atom in position 2 of thieno[3,2-*d*]pyrimidine ring system.

Key words: thiophene, pyrimidine, aromatic compounds, amides, antimicrobial agents.

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 611.14:611.715

КРАНИОТОПОГРАФИЯ ПЕРЕДНИХ И ЗАДНИХ ВИСОЧНЫХ ДИПЛОИЧЕСКИХ ВЕН

И.В. АНДРЕЕВА[1]
А.А. ВИНОГРАДОВ[2]
Е.И. ОРЗУЛОВА[2]

[1] ГЗ «Луганский государственный медицинский университет»

[2] ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» Украина

e-mail: alexanvin@yandex.ru

Изучение диплоических вен – актуальное направление для понимания механизма оттока крови из черепа. Краниотопография диплоических вен имеет важное значение для возможного их дренирования при развитии отека-набухания мозга, а также при наложении трепанационного отверстия в плоскости теменной кости. Работа выполнена на 100 человеческих сводах черепа, взятых из свежих мужских и женских трупов людей с возрастом 21–90 лет. Через диплоические каналы изолированных сводов черепа было введено рентгенконтрастное вещество с последующей рентгенографией. Определена краниотопография главных магистралей диплоических вен. В проекции теменной кости есть две пары диплоических систем – передние и задние височные вены. Их ветви проецировались на лобные, теменные и затылочные кости с образованием обширной сети диплоических венозных коллатералей, которая зависела от формы черепа.

Ключевые слова: диплоические вены, краниотопография.

Диплоические вены, с одной стороны, являются буферной системой синусов твердой мозговой оболочки, а с другой – соединяют интра- и экстракраниальные венозные системы [2, 6, 8, 10, 12, 14, 15, 17, 18, 19, 20]. При изучении краниотопографии диплоических вен необходимо принять во внимание возможность их шунтирования у пациентов с внутричерепной сосудистой патологией [1, 7, 21], а также при лечении остеомиелита костей свода черепа [9, 17].

Вероятность развития отека-набухания головного мозга была меньше при сохранении саморегуляции мозгового кровообращения и оттока крови из черепа. Нарушение циркуляции крови в диплоических венах в условиях внутричерепной сосудистой патологии является причиной отека-набухания головного мозга [2, 3 ,4, 5, 11]. Однако вопросы анатомической изменчивости диплоических вен костей свода черепа и их анастомозов с учетом формы черепа, возрастных и половых особенностей изучены недостаточно полно. В частности, это относится к краниотопографии передних и задних височных вен.

Цель исследования.

Изучить краниотопографию передних и задних височных вен с учетом формы черепа, возрастных и половых особенностей. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» под номером государственной регистрации 0198U002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материалы и методы исследования.

Исследование выполнено на 100 мужских и женских сводах черепа от трупов людей с возрастом от 21 до 90 лет, у которых в анамнезе не было внутричерепной патологии.

Весь материал был распределен по полу и возрасту и в соответствии с формой черепа.

Своды черепа с черепным индексом 74,9% и менее были отнесены к долихокранам, с индексом 75,0-79,0% – мезокранам и с индексом 80,0% и более – брахикранам [16].

После фиксации в 10% растворе формалина в течение 24 часов своды черепа промывали в проточной воде в течение 24 часов и высушены в термостате при температуре 50°С в течение 12 часов. В диплоические каналы был введен рентгеноконтрастный раствор (50% билигност). Затем проводили рентгенографию сводов черепа [1, 13].

На рентгенограммах измеряли длину и диаметр диплоических вен, углы слияния и занимаемая ими площадь [3]. Цифровые данные были обработаны методами вариационной статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Microsoft Excel. Определяли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), коэффициент корреляции (R), ошибку коэффициента корреляции (r) и достоверность полученных результатов по Стьюденту.

Работу с трупным материалом выполняли с соблюдением биоэтики, рекомендованной «Европейской конвенции о защите прав человека».

Результаты исследования и их обсуждение.

Из четырех систем диплоических каналов свода черепа нами были изучены две – передняя и задняя височные диплоические вены.

Передние височные диплоические вены. Выявлено от 1 до 5 магистралей передних височных диплоических вен (ПВДВ). Одна из них была главной и имела наибольший диаметр. Магистрали проектировались в области соединения височной, клиновидной, теменной и лобной костей. Главную магистраль образовывала коммуникация из 1-2 лобных вен и 2-3 теменных. Они проходили параллельно венечному шву на расстоянии 5-15 mm кпереди или сзади него.

Магистрали ПВДВ и их ветви 1-го порядка занимали определенную область чешуйчатый шов и часть линии, проведенной от vertex до пересечения на границе верхней и средней трети венечного шва, сзади – часть линии, проведенной от bregma до пересечения с серединой чешуйчатого шва; внизу – передняя половина чешуйчатого шва. Эта область имела форму треугольника с выпуклыми боковыми гранями и занимала площадь у мужчин 38-55 cm², у женщин – 36-48 cm². Размеры этой области зависели от пола и формы черепа (табл.). У мужчинах и женщин – долихокранов область теменной кости, занимаемая стволами ПВДВ и их ветвями 1-го, была на 4,4-27,6% больше, чем площадь, занимаемая этими венами, у брахи- и мезокранов. У женщин она была на 10-15% меньше, чем у мужчин (табл.). Конфигурация площади, занимаемой ПВДВ на теменной кости, зависела от формы черепа. У брахикранов она была с узким основанием, а у долихокранов – с широким.

Таблица

Площадь теменной кости, занимаемой височными диплоическими венами (мм²)

Пол	Брахикраны	Мезокраны	Долихокраны
Передние височные диплоические вены			
Мужчины	*49,81±5,34**	*41 17±4,29**	*52,31±5,47**
Женщины	*44,42±3,72***	*44,88±3,63***	*46,37±4,78**
Задние височные диплоические вены			
Мужчины	38,12±3,72*	31,74±4,22*	31,22±4,36*
Женщины	36,87±3,91*	35,11±3,17**	32,64±3,54*

* – p<0,01, ** – p<0,001.

У брахикранов можно было выделить от 2 до 5 ПВДВ. Они анастомозировали с диплоическими венами височной, клиновидной и лобной костей. Обычно они имели рассыпной тип строения и ориентировались позади венечного шва и ниже стреловидного. Площадь, занимаемая ПВДВ, у брахикранов-мужчин составляла 33,69–40,15 cm², а у женщин – 40,44-45,89 cm² (табл.). В области пахионовых ямок была выявлена сеть мелких диплоических вен, которые анастомозировали с ветвями 1-го и 2-го порядка ПВДВ.

У мезокранов краниотопография магистральных стволов ПВДВ предшествующих и ветвей 1-го порядка имела смешанный тип строения. Рассыпной тип встречался редко в основном в черепах с черепным индексом, приближающимся к 80%. Мезокраны имели от 1 до 3 магистральных вен, чаще 2. Более крупная магистраль проходила параллельно венечному шву и сзади от него на расстоянии 5-15 mm. Другие магистрали под углом 30-50° отклонялись кзади

от венечного шва. Площадь, занимаемая ПВДВ у мезокранов-мужчин составляла 49,71-55,27 cm², а у женщин – 43,09-49,98 cm² (табл.).

У долихокранов чаще наблюдалась магистральная форма строения ПВДВ. В черепах с черепным индексом, приближающимся к 75%, выявлялся смешанный тип с 1-2 магистральными диплоическими венами. Площадь, занимаемая ПВДВ, у долихикранов-мужчин составляла 33,69-40,15 cm², а у женщин – 40,44-45,89 cm² (табл.).

Задние височные диплоические вены. Установлено, что задние височные диплоические вены (ЗВДВ) представлены 1-2 магистралями, которые были ориентированы сзади чешуйчатого шва. Типичной особенностью для этих вен было отсутствие крупных магистралей диплоических вен в области angulus mastoideus.

Магистральные стволы и ветви первого порядка ЗВДВ занимали площадь теменной кости между чешуйчатым и лямбдовидным швами. К стреловидному шву она сужалась, что придавало ей вид треугольника с высотой 50-60 mm и вершиной, обращенной к стреловидному шву.

У брахикранов было до 2-4 крупных ветвей первого порядка, которые ориентировались между чешуйчатым швом и затылочной костью. Определена густая сеть анастомозов между ветвями ПВДВ и ЗВДВ, которая придавала им рассыпную форму строения (рисунок). Площадь, занимаемая ЗВДВ, у брахикранов-мужчин составляла 33,69-40,15 cm², а у женщин – 34,87-37,82 cm² (таблица). Площадь теменной кости, занимаемая анастомотической сетью диплоических вен из системы передних и задних височных диплоических вен у брахикранов, составляла от 28 до 49 cm². Парасагитальную область занимали ветви 2-го и 3-го порядков ПВДВ и ЗВДВ.

У мезокранов краниотопография ЗВДВ имела смешанную форму строения. В черепах с индексом, близким к 80%, в отдельных случаях встречалась и магистральная форма строения ЗВДВ. В центральных отделах в средней и верхней трети теменной кости определены анастомозы между ветвями 1-го и 2-го порядков ПВДВ и ЗВДВ (рис. 2). Площадь, занимаемая ЗВДВ, у мезокранов-мужчин составляла 30,55-32,62 cm², а у женщин – 34,85-36,31 cm² (табл.). Площадь теменной кости, занимаемая анастомотической сетью диплоических вен из системы передних и задних височных диплоических вен у мезокранов, составляла от 27 до 46 cm². В парасагиттальной области были ориентированы ветви 2-го и 3-го порядков ПВДВ и ЗВДВ.

У долихокранов краниотопография ЗВДВ имела магистральную форму строения. В черепах с индексом, близким к 75%, в единичных случаях встречалась смешанная форма строения ЗВДВ. Определена относительно редкая сеть анастомозов между ветвями ПВДВ и ЗВДВ (рис. 3). Площадь, занимаемая ЗВДВ, у долихокранов-мужчин составляла 30,25–32,36 cm², а у женщин – 31,12-4,36 cm² (табл.). Площадь теменной кости, занимаемая анастомотической сетью диплоических вен из системы передних и задних височных диплоических вен у долихокранов, составляла от 25 до 40 cm². В парасагиттальной области ориентировались ветви 2-го и 3-го порядков.

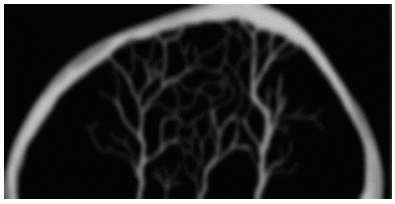


Рис. 1

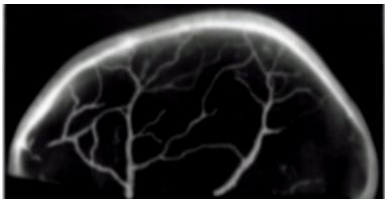


Рис. 2

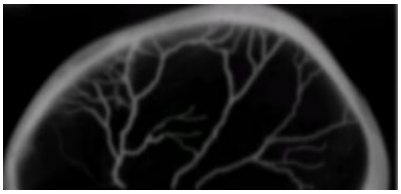


Рис. 3

Заключение.

ПВДВ и ЗВДВ объединяли в единую систему диплоические вены свода черепа за счет многочисленных анастомозов между собой и диплоическими венами лобной и затылочной костей. Площадь, занимаемая ПВДВ и ЗВДВ, у брахи-, мезо- и долихокранов имела форму треугольника, а ее размеры зависели от формы черепа. Коэффициент корреляции (R) и его ошибки (r) указывали на прямую, сильную и достоверную связь изменения размеров этой площади в зависимости от формы черепа. При сопоставлении размеров площадей занимаемых ПВДВ у брахикранов с мезокранами R±r=0,903±0,072 (p<0,001), а между мезо- и долихокранами – 0,894±0,075 (p<0,001). При аналогичном сопоставлении размеров площадей ЗВДВ – 0,967±0,042 (p<0,001) и 0,725±0,115 (p<0,05) соответственно.

В плоскости теменной кости выявлены участки без магистральных диплоических вен. Эти участки можно рекомендовать для наложения трепанационных отверстий. Такой подход позволит избежать профузных кровотечений из диплоических вен во время операции и сохранить внутрикостную сосудистую систему для нормализации внутричерепной гемодинамики в постоперационный период.

Выводы.

1. Передние и задние височные диплоические вены объединяют диплоические вены свода черепа в целостную сосудистую систему за счет хорошо развитой сети анастомозов.

2. Краниотопография, калибр и площадь теменной кости, занимаемая передними и задними височными диплоическими венами находятся в прямой зависимости от формы черепа и пола.

3. В центральных отделах верхней и средней трети теменной кости отсутствуют крупные магистральные диплоические вены, что предполагает использование этих отделов для наложения трепанационного отверстия.

Литература

1. Абрамов С.И. Рентгенологическое исследование внутреннего рельефа мозгового черепа на изолированных костях и на живом человеке / С.И. Абрамов // Труды каф. норм. анат. Ташкентск. мед. ин-та. –Ташкент : Изд-во АНУзССР, 1953. – С. 114-141.
2. Беков Д.Б. Атлас венозной системы головного мозга человека / Д.Б. Беков. – Москва : Медицина, 1965 – 358 с.
3. Беков Д.Б. Анатомо–экспериментальное исследование адаптационно-компенсаторных возможностей венозного русла черепа и головного мозга / Д.Б. Беков, В.С. Будаков, Н.А. Данилюк // Морфология. – Вып. 8. – Киев, 1982. – С. 19-23.
4. Виноградов А.А. Случай лечения острой стадии отека–набухания головного мозга активным венозным шунтированием / А.А. Виноградов // Анестезиология и реаниматология. – 2002. – № 3. – С. 73-74.
5. Виноградов А.А. Качественно-количественные показатели морфофункциональных изменений при развитии и устранении острой стадии отека-набухания головного мозга / А.А. Виноградов // Вісник Луганського національного педагогічного університету імені Тараса Шевченка. – 2004. –№6 (74). – С. 10-17.
6. Вотинцев В.Л. Диплоические вены / В.Л. Вотинцев, Е.М. Герасимов, А.А. Коноплев // Функцюнальная и прикладная анатомия вен центральной нервной системы – Оренбург, 1975. – С. 66-69.
7. Вовк Ю.Н. Анатомо-експериментальне обгрунтування коллатерального судинного шунтування інтракрашальної судинної патології / Ю.Н. Вовк, А.А. Виноградов // Матеріали III республиканської учбово-методичної та наукової конференції завідуючих кафедрами загальної хірургії. – Вінниця, 1994. – С 48-49.
8. Герасимов Е.М. Вены свода черепа и лица / Е.М. Герасимов // Функциональная и прикладная анатомия вен центральной нервной системы – Оренбург, 1975. – С. 78-91.
9. Гусев Е.И. Сосудистые заболевания головного мозга / Е.И. Гусев, Н.Н. Боголепов, Г. С. Бурд. – М., 1979. – 143 с.
10. Зозуля Ю.А. Определение перспективности восстановления нарушенных функций после реваскуляризации зоны церебральной ишемии / Ю.А. Зозуля, О.А. Тсимейко // Нейрохирургия. – Киев : Здоровья, 1991. – № 24. – С. 29-36.
11. Квитницкий-Рыжов Ю.Н. Современное учение об отеке и набухании головного мозга / Ю.Н. Квитницкий-Рыжов. – Киев : Здоровья, 1988. – 184 с.
12. Комплексное лечение ишемических поражений головного мозга с наложением экстра–интракраниального микроанастомоза / [В.А. Крайко, С.В. Медведев, Е.Б. Лысков и др.] // Вопр. нейрохир. – 1991.– № 5. – С. 8-12.
13. Копылов М.Б. Рентгенологические представления о механических факторах кровообращения черепа и мозга / М.Б. Копылов // Труды института нейрохир. им. Н.И. Бурденко. – М., 1948. – № 1. – С. 45-63.
14. Ромоданов А.П. Что за 10 лет изменилось в наших взглядах на диагностику и лечение при злокачественных глиомах головного мозга? / А.П. Ромоданов // Нейрохир. – Киев : Здоровья, 1992. – № 25. – С. 3-9.
15. Рубашова А.Е. Каналы v. diploicae на секционном материале / А.Е. Рубашова // Вестник рентгенологии и радиологии. – 1936. – Т. 16, № 4. – С. 301-319.
16. Сперанский В.С. Форма и конструкция черепа / В.С. Сперанский, А.И. Зайченко. – М. : Медицина, 1980. – 280 с.
17. Сресели М.Л. Анатомо–хирургическая характеристика вен головы // Развитие, морфология и пластичность венозного русла в условиях нормы, патологии и эксперимента / М.Л. Сресели, О.П. Большаков – Москва : Медицина. – С. 148 – 149.
18. Andreeva I. V. The morphological peculiarities of diploic canals of skull vault bones / I. V. Andreeva // Annals of anatomy. – 1999. – Bd. 181, Suppl. – P. 235-236.
19. Complex arteriovenous fistula of the brain in an infant. Case report / [G. Talamonti, P. P Versan, G. D'Aliberti et al.] // J.Neurosurg. Sci. – 1997. – Vol. 41 (4). – P. 337-341.
20. Sato M. Primary malignant lymphoma of the skull presenting a huge mass lesion: case report / M. Sato, T. Saito, K. Yamaguchi // No Shinkei Geka. – 1993. – Vol. 21 (11). – P. 1061-1064.
21. Tumor–related venous obstruction and development of peritumoral brain edema in meningiomas / M. Biter, H. Topka, M. Morgalla // Neurosurgery. – 1998.– Vol. 42 (4). – P. 730-737.

CRANIOTOPOGRAPHY OF ANTERIOR AND POSTERIOR TEMPORAL VEINS

I.V. ANDREEVA[1]
A.A. VINOGRADOV[2]
E.V. ORZULOVA[2]

[1] Lugansk State Medical University, Ukraine

[2] Lugansk Taras Shevchenko National University, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

The studying of diploic veins is an interesting direction for the understanding of mechanism of blood outflow from the cranial cavity. The craniotopography of diploic veins is important for the future research of possibilities of its catheterization during the brain oedema. The work was carried out on 100 human skull vaults taken from fresh male and female cadavers of 21 – 90 years old. Roentgencontrast substances were injected through diploic canals. Roentgenography of skull vaults was made after that. The definite craniotopography of main trunks of diploic veins was established. There are four main pairs of diploic systems in skull vault. They are anterior and posterior temporal systems. Usually the anterior temporal diploic veins had 1–5 trunks. They were projected into the place of connection of temporal, sphenoidal, parietal and frontal bones. The posterior temporal diploic veins began in the area of vertex and place in the area of connection of tile temporal, the parietal and the occipital bones.

Key words: diploic veins, craniotopography.

УДК 616.714+616.716

ИЗМЕНЕНИЯ В ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОМ СУСТАВЕ ПРИ ЕГО ДИСФУНКЦИИ ПО ДАННЫМ ОРТОПАНТОМОГРАФИИ

И.В. АНДРЕЕВА
О.М. СЕДЫХ

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», Украина

e-mail: prof.andreeva.irina.2012 @yandex.ru

Проведен анализ изменений на ортопантомограммах у 33 пациентов с дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава. Патологические изменения в суставе выявлены у 72,73% больных, 66,67% из них составляли женщины. Подвывих сустава был выявлен у 12,5%, у остальных больных наблюдались деструктивные костные изменения головок нижней челюсти. Из изолированных костных изменений наиболее часто встречалось уплощение головок нижней челюсти (16,67%); реже выявляли склеротические изменения (12,5%), остеофиты (8,33%) и остеопороз (4,17%). У остальных 58,33% пациентов выявлены сочетания нескольких видов поражения кости. Различные варианты нарушений окклюзии обнаружены у 29,17% пациентов с дисфункцией сустава.

Ключевые слова: височно-нижнечелюстной сустав, дисфункция, ортопантомография.

Аномалии зубочелюстной системы, в частности дистальный и глубокий прикус, занимают важное место в этиологии и патогенезе заболеваний височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) [10, 11].

Патология ВНЧС весьма разнообразна и включает различные формы проявлений (дисфункциональные нарушения, артриты, артрозы, анкилозы и др.) [12]. Болевой синдром при заболеваниях и дисфункциях ВНЧС сходен с таковым при другой патологии: невралгиях и невритах чувствительных нервов, ганглионитах, гайморитах, пульпитах, периодонтитах, шейном остеохондрозе [2, 4]. Большинство авторов возникновение заболеваний ВНЧС связывают с изменением прикуса [7].

Для исследования ВНЧС предложено большое число методов. Рутинные и специальные рентгенологические методы выявляют заболевания ВНЧС уже в далеко зашедшей стадии. Артрографические и артроскопические методы являются инвазивными и тяжело переносятся больными [2]. Внедрение в клиническую практику компьютерной томографии (КТ) способствовало расширению возможностей лучевого исследования ВНЧС [3, 8]. КТ позволяет детально выявлять патологические изменения в костных структурах сустава, жевательных мышцах, однако достоверная визуализация мягкотканных элементов сустава при КТ оказалась невозможной [1]. Спиральная КТ имеет ограниченное применение в стоматологии в связи с высокой стоимостью и большой лучевой нагрузкой [5, 6].

Кроме того, в клинической практике далеко не всегда можно использовать компьютерную и магниторезонансную томографию ВНЧС. Более доступным методом является ортопантомография (ОПТГ). Наряду с достоинствами ОПТГ имеет и недостатки. К ним относятся проекционное искажение изображения, что связано с вариабельностью величины и формы головы, и недостаточно четкое отображение структуры костной ткани. Метод также не позволяет правильно измерить суставной бугорок [9].

Однако, несмотря на недостатки, ОПТГ рекомендуется как метод обследования больных с целью диагностики зубочелюстных аномалий, изучения вариантов строения лицевого отдела черепа при нормальном развитии прикуса и его отклонениях. Метод имеет значение для диагностики зубочелюстных аномалий, выбора плана лечения, определения его прогноза, а также оценки изменений, происходящих в процессе лечения. Но при этом изменения в ВНЧС на ОПТГ, особенно у пациентов с патологией окклюзии, исследованы недостаточно.

Поэтому целью исследования было проведение анализа результатов ОПТГ у пациентов с дисфункцией ВНЧС.

Материал и методы исследования.

Проведен анализ изменений ВНЧС у 33 пациентов с его дисфункцией по данным ОПТГ. Из них было 12 мужчин и 21 женщина. Возраст больных колебался от 18 до 79 лет. Распределение пациентов по возрасту было проведено в соответствии с возрастной периодизацией онтогенеза человека, принятой на VII Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии и биохимии АМН СССР (Москва, 1965).

ОПТГ произведена в условиях рентгенкабинета кафедры стоматологии ФПО ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» на цифровом панорамном рентгенаппарате конусно-лучевого компьютерного томографа VATECH ECT–12 (Южная Корея) со стандартной установкой головы. Использовали программное обеспечение Ez3D2009 соответственно протоколу сканирования зубочелюстной системы. Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики. По ОПТГ изучали форму и размеры ВНЧС, их взаимосвязь с полом, возрастом и стороной головы, оценивали положение головок нижней челюсти (НЧ) относительно суставных ямок, а также состояние костной структуры головок НЧ.

Результаты исследования и их обсуждение.

Из 33 пациентов с дисфункцией ВНЧС у 9 человек нами не выявлено деструктивных костных изменений сустава на ОПТГ, что составило 27,27%. Из них мужчин было 4 (44,44%), женщин – 5 (55,56%). Распределение этих пациентов по возрасту было следующим: больные юношеского возраста – 1 (11,11%), I периода зрелого возраста – 3 (33,33%), II периода зрелого возраста – 5 (55,56%) человек. Пациентов пожилого и старческого возраста не было. У всех пациентов без деструктивных изменений ВНЧС на ОПТГ обнаружены рентгенологические признаки перенесенных заболеваний зубов. У этих пациентов не было полной адентии, протезирования. У 1 больного дисфункция ВНЧС сочеталась с кистами НЧ.

Деструктивные костные изменения ВНЧС выявлены у 24 (72,73%) больных. Из них мужчин было 8 (33,33%), женщин – 16 (66,67%). Распределение пациентов по возрасту было следующим: больные юношеского возраста – 2 (8,33%), I периода зрелого возраста – 2 (8,33%), II периода зрелого возраста – 10 (41,68%), пожилого возраста – 8 (33,33%), старческого – 2 (8,33%) человека. У пациентов с деструктивными костными изменениями ВНЧС на ОПТГ обнаружены рентгенологические признаки частичной и полной адентии обеих челюстей, протезирования. Различные варианты нарушений окклюзии выявлены у 7 (29,17%) пациентов.

На ОПТГ обнаружены различные варианты патологии ВНЧС (табл.). Подвывих ВНЧС без деструктивных костных изменений ВНЧС выявлен у 12,5% (табл. 1). Из них мужчин было 2 (66,67%), женщин – 1 (33,33%). Распределение пациентов по возрасту было следующим: больные I периода зрелого возраста – 1 (33,33%), II периода зрелого возраста – 1 (33,33%), старческого – 1 (33,33%) человека. Пациентов юношеского и пожилого возраста не было. У больных наблюдали рентгенологические признаки остеопороза челюстей в сочетании с перенесенными заболеваниями зубов (1), нарушение окклюзии (1), заболевания зубов, частичная адентия, нарушения окклюзии (1). На ОПТГ подвывих ВНЧС выявлен с одной (рис. 1, 2) и с обеих сторон.

Уплощение головок НЧ на ОПТГ обнаружено у 4 (16,67%) (табл.). Из них мужчин было 2 (50%), женщин – 2 (50%). Распределение пациентов по возрасту было следующим: больные юношеского возраста – 1 (25%), I периода зрелого возраста – 1 (25%), II периода зрелого возраста – 1 (25%), пожилого возраста – 1 (25%). Больных старческого возраста не было. У больных наблюдали рентгенологические признаки частичной адентии челюстей и протезирование (2), нарушение окклюзии (1), сочетание частичной адентии и нарушений окклюзии (1). На ОПТГ уплощение головок НЧ выявлено с одной (рис. 3) и обеих сторон, при дистальном прикусе (рис. 4).

Таблица

Частота встречаемости патологии височно-нижнечелюстного сустава при его дисфункции на ортопантомограммах

Вид патологии ВНЧС	Частота встречаемости, %
Подвывих ВНЧС	12,5
Уплощение головок НЧ	16,67
Склероз головок НЧ	12,5
Остеофиты головок НЧ	8,33
Остеопороз головок НЧ	4,17
Сочетание остеофитов и уплощения головок НЧ	8,33
Сочетание склероза головок НЧ и подвывиха ВНЧС	4,17
Сочетание остеофитов и остеопороза головок НЧ	8,33
Сочетание остеофитов и эрозии головки НЧ	4,17
Сочетание уплощения и остеопороза головок НЧ	8,33
Сочетание уплощения, остеофитов и остеопороза головок НЧ	8,33
Сочетание уплощения, остеофитов головок НЧ и подвывиха ВНЧС	4,17
Всего	100

Рис. 1.
Односторонний подвывих ВНЧС с левой стороны у мужчины 44 лет

Рис. 2.
Односторонний подвывих ВНЧС с правой стороны у мужчины 78 лет

Рис. 3.
Умеренное уплощение правой головки НЧ у женщины 64 лет

Рис. 4.
Уплощение левой головки НЧ у юноши 18 лет с дистальным прикусом

Склеротические изменения головок НЧ наблюдали у 3 (12,5%) (табл.). Из них мужчин не было, женщин было 2 (100%). Среди них больных II периода зрелого возраста было 2 (66,67%), пожилого возраста – 1 (33,33%). Больных юношеского и I периода зрелого возраста не было. Среди этих пациентов наблюдали рентгенологические признаки частичной адентии челюстей, протезирования и остеопороза верхней челюсти (2), сочетание частичной адентии и нарушений окклюзии (1). На ОПТГ склеротические изменения в головках НЧ выявлены с одной (рис. 5-6) и с обеих сторон.

Сочетание склеротических изменений головок НЧ и подвывиха ВНЧС выявлено у 1 (4,17%) женщины старческого возраста (табл.). У этой пациентки наблюдали рентгенологические признаки частичной адентии и протезирования обеих челюстей.

Изолированный остеопороз головок НЧ обнаружен у 1 (4,17%) женщины 55 лет (II периода зрелого возраста) (табл. 1, рис. 7-8).

Рис. 5.

Рис. 6.

Склеротические изменения правой головки НЧ у женщины 70 лет

Рис. 7.

Рис. 8.

Остеопороз головок НЧ у женщины 55 лет

Остеофиты головок НЧ выявлены у 2 (8,33%) пациентов (табл.). Из них мужчин не было, женщин было 2 (100%). Среди них больных I периода зрелого возраста был 1 (50%), пожилого возраста – 1 (50%). Больных юношеского и II периода зрелого возраста не было. У этих пациенток наблюдали рентгенологические признаки частичной адентии челюстей. На ОПТГ остеофиты в головках НЧ выявлены с обеих сторон (рис. 9).

Сочетание остеофитов и уплощения головок НЧ обнаружено у 2 (8,33%) пациентов (табл.). Из них мужчин было 1 (50%), женщин – 1 (50%). Обоих больных относили ко II периоду зрелого возраста. На ОПТГ остеофиты в головках НЧ выявлены с обеих сторон (рис. 10).

Сочетание остеофитов и остеопороза головок НЧ наблюдали у 2 (8,33%) пациентов (табл.). Оба больных были мужчинами пожилого возраста. На ОПТГ остеофиты и остеопороз в головках НЧ выявлены с обеих сторон (рис. 11).

Сочетание остеофитов и эрозии головки НЧ выявлено у 1 (4,17%) женщины 57 лет (пожилой возраст) (табл., рис. 12).

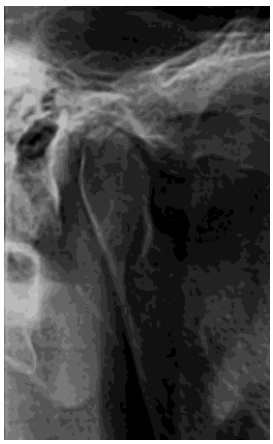


Рис. 9. Остеофиты правой головки НЧ у женщины 60 лет

Рис. 10. Сочетание остеофитов и уплощения правой головки НЧ у женщины 48 лет

Рис. 11. Сочетание остеофитов и остеопороза правой головки НЧ у мужчины 69 лет

Рис. 12. Сочетание остеофитов и эрозии левой головки НЧ у женщины 57 лет

Сочетание уплощения и остеопороза головок НЧ обнаружено у 2 (8,33%) женщин (табл.). Одну из них (50%) относили ко II периоду зрелого возраста, вторую (50%) – к пожилому возрасту. На ОПТГ изменения, характеризующие уплощения и остеофиты в головках НЧ, выявлены с обеих сторон.

Сочетание уплощения, остеофитов и остеопороза головок НЧ выявлено у 2 (8,33%) человек (табл.). Из них был 1 (50%) мужчина и 1 (50%) женщина. Обоих пациентов относили ко II периоду зрелого возраста. Сочетание нескольких вариантов деструктивных костных изменений ВНЧС было характерно для пациентов с полной адентией.

Сочетание уплощения, остеофитов головок НЧ и подвывиха ВНЧС наблюдали у 1 (4,17%) женщины пожилого возраста (табл. 1).

Таким образом, из 33 больных с дисфункцией ВНЧС патологические изменения в суставе по данным ОПТГ наблюдали у 24, что составило 72,73%. 2/3 больных, или 66,67%, составляли женщины. Из пациентов с обнаруженными изменениями в суставе подвывих ВНЧС был выявлен у 3 (12,5%) человек, у остальных 21 больных наблюдались деструктивные костные изменения головок НЧ, что составило 63,64%. Из изолированных костных изменений наиболее часто встречалось уплощение головок НЧ – 4 (16,67%); реже выявляли склеротические изменения – 3 (12,5%), остеофиты – 2 (8,33%) и остеопороз – 1 (4,17%). Всего изолированные костные изменения обнаружены у 10 (41,67%). У остальных 14 (58,33%) пациентов выявлены сочетания нескольких видов поражения кости. Различные варианты нарушений окклюзии выявлены у 7 (29,17%) пациентов с дисфункцией ВНЧС.

По данным А. Ю. Васильева (2010), в связи с анатомическими особенностями ВНЧС и его суставного хряща патологические изменения в костных структурах сустава чаще локализуются в судхондральных отделах передне-верхней поверхности головки НЧ и заднего ската суставного бугорка. Однако исследование тонких срезов ВНЧС возможно только при КТ, что требует дальнейшего изучения.

В перспективе дальнейших исследований целесообразно провести комплексное изучение ВНЧС различными методами при нейтральном и дистальном прикусах.

Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры хирургии с основами торакальной, кардиоваскулярной и пластической хирургии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Индивидуальная анатомическая изменчивость сосудистой системы головы и шеи и ее связь с костями черепа» (номер государственной регистрации 0110U000655). О.М. Седых является исполнителем раздела «Морфологические предпосылки формирования нарушений окклюзии» (номер государственной регистрации 0112U008028).

Литература

1. Лучевая диагностика в стоматологии : нац. рук-во / Гл. ред. тома А. Ю. Васильев. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 288 с.
2. Хватова В. А. Опыт применения метода радионуклидной визуализации скелета в диагностике заболеваний височно-нижнечелюстного сустава / В. А. Хватова, Е. А. Белова, И. Л. Хватов // Стоматология. – 1989. – № 5. – С. 72-74.
3. Association between condylar position, joint morphology and craniofacial morphology in orthodontic patients without temporomandibular joint disorders. [K. Kikuchi, S. Takeuchi, E. Tanaka et al.] // J. Oral Rehabil. – 2003. – Vol. 30. – P. 1070-1075].
4. Fushima K. Dental asymmetry in temporomandibular disorders / K. Fushima, M. Inui, S. Sato // J. Oral Rehabil. – 1999. – Vol. 26 (9). – P. 752-756.
5. Hintze H. Cone beam CT and conventional tomography for the detection of morphological temporomandibular joint changes / H. Hintze, M. Wiese, A. Wenzel // Dentomaxillofac. Radiol. – 2007. – Vol. 36. – P. 192-197.
6. Katsavrias E. G. Changes in articular eminence inclination during the craniofacial growth period / E. G. Katsavrias //Angle Orthod. – 2002. – Vol. 72. – P. 258-264.
7. Kusayama M. Relationship between transverse dental anomalies and skeletal asymmetry / M. Kusayama, N. Motohashi, T. Kuroda // Am. J. Orthod. Dentofacial Orthop. – 2003. – Vol. 123 (3). – P. 329-329.
8. Morphology of the articular eminence in temporomandibular joints and condylar bone change / [K. Yamada, A. Tsuruta, K. Hanada, T. Hayashi] // J. Oral Rehabil. – 2004. – Vol. 31. – P. 438-444.
9. Morphology of the mandibular fossa and inclination of the articular eminence in patients with internal derangement and in symptom-free volunteers / [T. Sülün, T. Cemgil, J. M. Duc et al.] // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2001. – Vol. 92. – P. 98-107.
10. Orientation of craniofacial planes and temporomandibular disorder in young adults with normal occlusion / [R. Ciancaglini, G. Colombo-Bolla, E. F. Gherlone, G. Radaelli] //. J. Oral Rehabil. – 2003. – Vol. 30. – P. 878-886.
11. Sonnesen L. Temporomandibular disorders and psychological status in adult patients with a deep bite / L. Sonnesen, P. Svensson // Eur. J. Orthod. – 2008. – Vol. 30. – P. 621-629.
12. Weffort S. Y. Condylar displacement between centric relation and maximum intercuspation in symptomatic and asymptomatic individuals / S. Y. Weffort, de S. M. Fantini // Angle Orthod. – 2010. – Vol. 80 (5). – P. 835-842.

CHANGES IN THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT IN ITS DYSFUNCTION ON ORTHOPANTOMOGRAPHY DATA

I.V. ANDREEVA
O.M. SEDYKH

Lugansk State Medical University, Ukrain

e-mail: prof.andreeva.irina.2012 @yandex.ru

An analysis of changes at orthopantomography of 33 patients with the temporomandibular joint dysfunction is spent. The pathological changes in the joint are revealed in 72.73% cases, women compose 66.67 of them. Dislocation of the joint is found in 12.5%, the other patients have destructive bone changes in the capitilum mandibulae. The flattening of the capitilum mandibulae wae met more often (16.67%) among isolated bone changes. There were sclerosis (12.5%), osteophytes (8.33%) and osteoporosis (4.17%) the capitilum mandibulae. The others had combination of some types of bone damage. The different variants of occlusion disturbances are found in 29.17% patients with the temporomandibular joint dysfunction.

Key words: temporomandibular joint, dysfunction, orthopantomography.

УДК 611.316:611.13/.16

ОСОБЕННОСТИ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ АНАТОМИИ ОКОЛОУШНОЙ СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ

И. В. АНДРЕЕВА
А. Г. ЯРЕМЧУК

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», Украина

e-mail: prof.andreeva.irina.2012 @yandex.ru

Проведен анализ ультразвуковых исследований околоушной слюнной железы у 50 здоровых лиц в возрасте от 18 до 52 лет на ультразвуковом сканере Sonosite Titan (США) датчиком 5-10 МГц. Установлено, что ультразвуковое исследование позволяет выявлять особенности индивидуальной и возрастной изменчивости железы, определять ее форму, размеры, эхоструктуру. Максимальный вертикальный размер железы в среднем составил 6,13±0,58 см, горизонтальный – 3,75±0,44 см. Толщина железы в среднем составила 1,72±0,11 см. В целом, ультразвуковое исследование является адекватным методом для изучения индивидуальной анатомической изменчивости околоушной слюнной железы, особенностей ее топографии. Однако для научных целей необходима аппаратура для ультразвукового сканирования высокого и экспертного класса с наличием высокочастотного датчика. В перспективе дальнейших исследований целесообразна разработка стандартов при определении размеров железы.

Ключевые слова: околоушная слюнная железа, ультразвуковое исследование.

Одним из актуальных вопросов современной медицины является исследование особенностей индивидуальной анатомической изменчивости строения околоушной слюнной железы (ОУСЖ). В последние годы количество заболеваний ОУСЖ возросло. Это связано не только с абсолютным ростом заболеваемости, но и с улучшением качества визуализации органа [2]. Знания топографических взаимоотношений ОУСЖ с сосудами, нервами и другими анатомическими структурами особенно важны во время оперативных вмешательств при реконструктивных операциях в области челюстей и лица [7].

Отмечается большая вариабельность размеров нормальной ОУСЖ. У жителей Северной Африки размеры слюнных желез больше, чем у жителей других регионов [1]. Согласно данным Л. А. Юдина и др. (1995), размеры ОУСЖ составляют (54±3,4)×(21±3,6) мм. Одностороннее увеличение размеров желез отмечается после удаления одной из желез. Двустороннее увеличение размеров желез может быть следствием алкоголизма, сахарного диабета, заболеваний щитовидной железы и уремии. Гипертрофия слюнных желез характеризуется при ультразвуковом исследовании (УЗИ) увеличением размеров без изменения эхоструктуры и эхогенности [1].

Нередкой находкой являются дополнительные ОУСЖ [12]. Частота их обнаружения при сиалографии достигает 68% [8]. В большинстве случаев дополнительные ОУСЖ подвергаются малигнизации [4].

Для визуализации ОУСЖ используют современные методы – УЗИ, компьютерную и магниторезонансную томографию [6]. При этом УЗИ является методом первой и в ряде случаев последней линии диагностики [13]. Метод является безопасным, позволяет проводить эхоконтролируемые вмешательства и сиалографию [3, 5].

Несмотря на отсутствие специфических ультразвуковых критериев дифференциальной диагностики опухолевых образований ОУСЖ, УЗИ с высокой точностью выявляет очаговые образования и осуществляет контроль за качеством лечения [11].

УЗИ предоставляет большие возможности в диагностике и влияет на выбор метода лечения больных с бактериальными и вирусными абсцессами ОУСЖ [14]. Поперечное и продольное сканирование над углом нижней челюсти позволяет визуализировать преартикулярные, интра- и ретроартикулярные области, а также шею. Метод представляет возможности для обследования ОУСЖ с двух сторон как для сравнения, так и при ее двустороннем поражении [9].

В настоящее время УЗИ ОУСЖ продолжает развиваться. В процессе исследования находятся возможности диагностики заболеваний ОУСЖ с помощью ультразвуковой эластографии [15]. Новой технологией в визуализации ОУСЖ является УЗИ с контрастным усилением. Метод позволяет анализировать параметры внутриопухолевой микроваскуляризации [10]. Однако в нашей стране УЗИ мягких тканей и органов шеи применяется недостаточно широко. Кроме того, вопросы индивидуальной изменчивости ультразвуковой анатомии ОУСЖ и семиотики ее заболеваний не разработаны.

Цель настоящего исследования – анализ возможностей изучения индивидуальной анатомической изменчивости ОУСЖ, ее положения и взаимоотношений с анатомическими структурами головы и шеи при УЗИ. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры хирургии с основами торакальной, кардиоваскулярной и пластической хирургии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Индивидуальная анатомическая изменчивость сосудистой системы головы и шеи и ее связь с костями черепа» (номер государственной регистрации 0110U000655). А. Г. Яремчук является исполнителем раздела «Индивидуальная анатомическая изменчивость околоушной слюнной железы» (номер государственной регистрации 0113U007528).

Материал и методы исследования.

Проведен анализ УЗИ ОУСЖ 50 здоровых лиц в возрасте от 18 до 52 лет на ультразвуковом сканере Sonosite Titan (США) датчиком 5–10 МГц. Определяли максимальный вертикальный и максимальный горизонтальный размеры ОУСЖ, а также измеряли ее толщину на различных уровнях. Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики.

Результаты исследования и их обсуждение.

Установлено, что качество визуализации ОУСЖ зависело от используемого ультразвукового сканера и частоты датчика. При сканировании высокочастотным датчиком качество визуализации самой железы и ее взаимоотношений с окружающими органами и тканями было значительно лучше, чем при использовании датчика с частотой 5–10 МГц (рис. 1, 2).

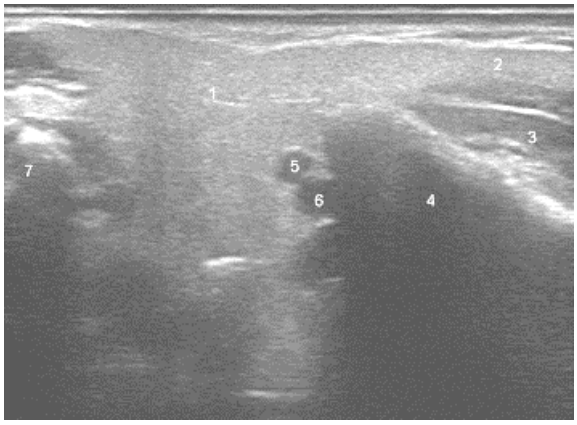


Рис. 1.

Поперечное сечение правой ОУСЖ. 1 – поверхностная доля, 2 – жевательное расширение ОУСЖ, 3 – жевательная мышца, 4 – ветвь нижней челюсти, 5 – ретромандибулярная вена, 6 – наружная сонная артерия, 7 – вершина сосцевидного отростка. Датчик 10–13 МГц. Сонограмма из коллекции A. Gervasio et al. (2011) [13]

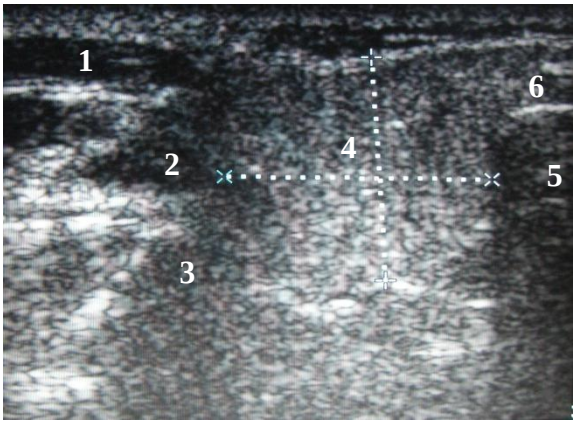


Рис. 2.

Поперечное сканирование под правой ушной раковиной. 1 – грудиноключичнососцевидная мышца, 2 – двубрюшная мышца, 3 – наружная сонная артерия, 4 – глубокая доля правой ОУСЖ, 5 – ветвь нижней челюсти, 6 – поверхностная доля правой ОУСЖ

Кожа в проекции ОУСЖ визуализировалась в виде двух параллельных гипо- или гиперэхогенных линий, подкожная жировая клетчатка – в виде ячеистой структуры пониженной эхогенности. Поверхностная фасция шеи в ультразвуковом изображении лоцировалась как гиперэхогенная полоса (рис. 2-6).

Эхоструктура ОУСЖ у всех обследованных была гомогенной, эхогенность – средней, сходной с эхогенностью щитовидной железы. Степень затухания ультразвука в ткани железы была высокой (рис. 2-6). В 60% случаев в паренхиме ОУСЖ определяли нормальные лимфоузлы, которые выглядели в виде овальных образований с гипоэхогенной периферией и гиперэхогенной центральной частью.

При УЗИ ОУСЖ разделялась на поверхностную и глубокую доли в плоскости, проходящей на уровне лицевого нерва (рис. 5). Последний при УЗИ не визуализировался, но предполагать его позицию можно, так как он располагался латеральнее главных внутрижелезистых сосудов, которые четко лоцировались. Внутрижелезистые протоки и главный проток ОУСЖ не визуализировались.

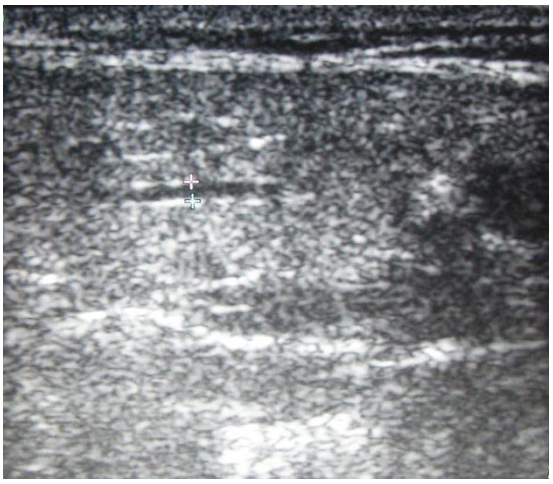


Рис. 3.
Поперечное сканирование позади ветви правой нижней челюсти

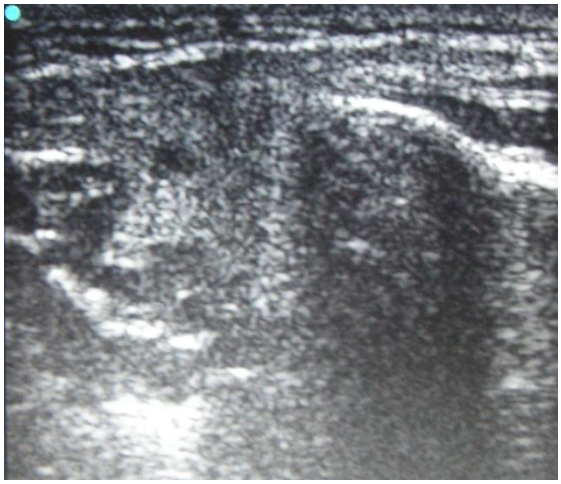


Рис. 4.
Поперечное сканирование через ветвь правой нижней челюсти

Ретромандибулярная вена визуализирована во всех случаях в виде трубчатого образования пониженной эхогенности. При цветовом допплеровском картировании кровотока просвет вены равномерно заполнялся цветом (рис. 6). Лучшее картирование получено в режиме энергетического допплеровского картирования. Вена пересекала по всей длине поверхностную долю железы.

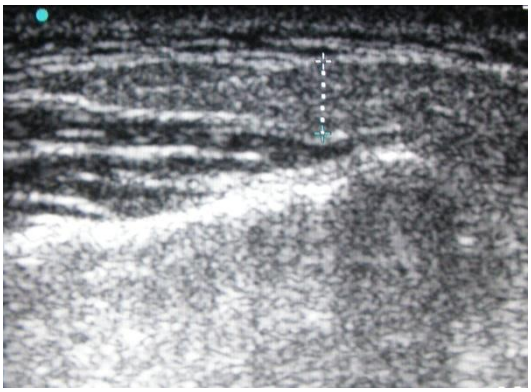


Рис. 5.
Поверхностная доля левой околоушной слюнной железы

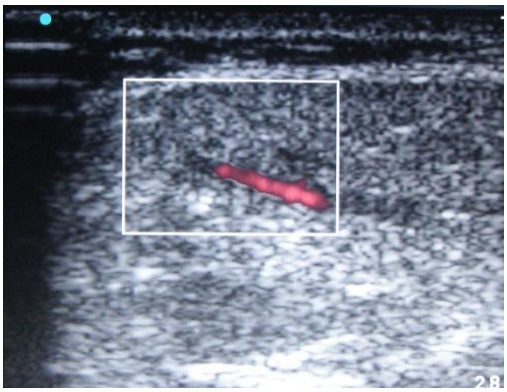


Рис. 6.
Окрашивание просвета правой ретромандибулярной вены в режиме энергетического допплеровского картирования при сканировании параллельно ветви нижней челюсти

При определении размеров железы установлена значительная вариабельность величин. Максимальный вертикальный размер ОУСЖ в среднем составил 6,13±0,58 см, горизонтальный – 3,75±0,44 см. Толщина железы в среднем составила 1,72±0,11 см. При этом в центральных участках ОУСЖ показатели ее были наибольшими (2,23±0,52 см), в области верхнего и нижнего полюсов они были ниже и колебались в пределах 1,66±0,31 см. Толщина органа по переднему и заднему краям в среднем равна 1,42±0,16 см и 1,49±0,18 см. Вариабельность размеров мы объясняем тем, что орган имеет неправильную форму, в связи с чем необходима стандартизация при измерении показателей.

Обнаружена зависимость эхогенности и эхоструктуры ОУСЖ от возраста. В пожилом возрасте эхогенность железы увеличивалась, звукопроводимость снижалась, эхоструктура становилась менее гомогенной.

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что ультразвуковое исследование позволяет выявлять особенности индивидуальной и возрастной изменчивости ОУСЖ, определять ее форму, размеры, эхоструктуру. Оценка эхогенности и эхоструктуры железы косвенно указывает на возраст обследованного. Оценку внутрижелезистых образований (протоковой системы, сосудов и нервов) целесообразно проводить высокочастотными датчиками.

Выводы.

УЗИ ОУСЖ является адекватным методом для изучения индивидуальной анатомической изменчивости органа, особенностей ее топографии. Однако для научных целей необходима аппаратура для ультразвукового сканирования высокого и экспертного класса с наличием высокочастотного датчика. В перспективе дальнейших исследований целесообразна разработка стандартов при определении размеров ОУСЖ.

Литература

1. Митьков В. В. Руководство по ультразвуковой диагностике / В. В. Митьков. – Т. 1. – Москва : Видар, 2003. – 543 с.
2. 3D-FIESTA MRI at 3 T demonstrating branches of the intraparotid facial nerve, parotid ducts and relation with benign parotid tumors // [C. Li, Y. Li, D. Zhang et al.] // Clin. Radiol. – 2012. – Vol. 67 (11). – P. 1078-1082.
3. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of fine-needle aspiration cytology for parotid gland lesions / [R. L. Schmidt, B. J. Hall, A. R. Wilson, L. J. Layfield] // Am. J. Clin. Pathol. – 2011. – Vol. 136 (1). P. 45-49.
4. Accessory parotid gland tumors: 24 years of clinical experience / [I. Lukšić, P. Suton, M. Rogić, S. Dokuzović] // Int. J. Oral Maxillofac. Surg. – 2012. – Vol. 41 (12). – P. 1453-1457.
5. Accessory parotid gland with ectopic fistulous duct-Diagnosis by ultrasonography, digital fistulography, digital sialography and CT fistulography. A case report and review of current literature / [C. D. Kulkarni, S. K. Mittal, V. Katiyar et al.] // J. Radiol. Case Rep. – 2011. – Vol. 5 (7). – P. 7-14.
6. CT and MR Imaging of the Buccal Space: Normal Anatomy and Abnormalities / [H.-C. Kim, M. H. Han, M. H. Moon et al.] // Korean J. Radiol. – 2005. – Vol. 6 (1). – P. 22-30.
7. Du Toit D. F., Nortjé C. Salivary glands: applied anatomy and clinical correlates / D. F. du Toit , C. Nortjé // SADJ. – 2004. – Vol. 59 (2). – P. 65-74.
8. Horsburgh A., Massoud T. F. The salivary ducts of Wharton and Stenson: analysis of normal variant sialographic morphometry and a historical review // A. Horsburgh, T. F. Massoud // Ann. Anat. – 2013. – Vol. 195 (3). – P. 238-242.
9. Parotid abscess: mini-pictorial essay / [G. Viselner, G. van der Byl, A. Maira et al.] // J. Ultrasound. – 2013. – Vol. 16 (1). – P. 11 – 15.
10. Perfusion characteristics of parotid gland tumors evaluated by contrast-enhanced ultrasound / [L. V. Klotz, R. Gürkov, M. E. Eichhorn et al.] // Eur. J. Radiol. – 2013. – Vol. 8. – P. 34-37.
11. Role of ultrasound in the assessment of benignity and malignancy of parotid masses / [S. Wu, G. Liu, R. Chen, Y. Guan] // Dentomaxillofac. Radiol. – 2012. – Vol. 41 (2). – P. 131-135.
12. Salivary duct carcinoma of the accessory parotid gland / [J. L. Funamura, R. K. Aouad, R. Ramsamooj, P. J. Donald] // Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2013. – Vol. 149 (2). – P. 347-348.
13. Sonographic anatomy of the neck: The suprahyoid region / [A. Gervasio, G. D'Orta, I. Mujahed, A. Biasio] // J. Ultrasound. – 2011. – Vol. 14 (3). – P. 130-135.
14. Tan V. E., Goh B. S. Parotis abscess: a five-year review – clinical presentation, diagnosis and management / V. E. Tan, B. S. Goh // J. Laryngol. Otol. – 2007. – Vol. 121. – P. 872-879.
15. Ultrasonographic and sonoelastographic features of pleomorphic adenomas of the salivary glands / [D. Dumitriu, S. M. Dudea, C. Botar-Jid, G. Băciuţ] // Med. Ultrason. – 2010. – Vol. 12 (3). – P. 175-183.

PECULIARITIES OF ULTRASOUND ANATOMY OF PAROTID GLAND

I. V. ANDREEVA
A. G. YAREMCHUCK

Lugansk State Medical University, Ukraine

e-mail: prof.andreeva.irina.2012@yandex.ru

An analysis of ultrasound of parotid gland is spent in 50 healthy persons from 18 to 52 years old with the help of Sonosite Titan (USA) ultrasound scanner, 5–10 MHt linear probe. It is established that ultrasound examination allows to value some peculiarities of an individual and age variability of parotid gland, to determine its shape, sizes and echostructure. Maximal vertical size of the gland composed 6.13±0.58 cm, horizontal size – 3.75±0.44 cm. A thickness of the gland composed 1.72±0.11 см. In a whole, sonography is adequate method for studying of individual anatomic variability of parotid gland, peculiarities of its topography. However for scientific researches the special ultrasound in high resolution scanner is necessary. An elaboration of ultrasound standards for sizes of parotid gland determination is perspective.

Key words: parotid gland, ultrasound.

УДК 616.711-007.5

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ ДЕТЕЙ ПОДРОСТКОВОГО ВОЗРАСТА НАЧАЛА XX И XXI ВЕКОВ

М.А. БЕЗАТЯН
А.А. ВИНОГРАДОВ

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail: alexanvin@yandex.ru

Исследование проведено на 672 здоровых детях подросткового возраста, которые постоянно проживают в г. Луганск (Украина). Группа девочек составила 371 детей, группа мальчиков – 301 детей. При исследовании установлено, что антропометрические показатели (масса тела, рост стоя, окружность грудной клетки) у детей подросткового периода начала XXI века были повышены как у девочек, так и у мальчиков в сравнении с данными детей начала XX века. У мальчиков вышеперечисленные антропометрические показатели были больше, чем у девочек.

Ключевые слова: подростковый возраст, физическое развитие.

Физическое развитие – это важнейший критерий здоровья детей в целом. Дети представляют будущее страны. В настоящее время вопросам физического развития детей уделяется недостаточное внимание, имеется тенденция ухудшения основных показателей здоровья детей [4]. Показатели физического развития детей и подростков отражают влияние социально-экономических и экологических факторов на процессы роста и развития детей. Поэтому исследования физического развития особенно актуальны в нынешней ситуации. Кроме того, показатели физического развития требуют новых научных исследований и пересмотра для составления новых региональных стандартов физического развития [1].

Цель исследования – изучение морфометрических показателей физического развития детей подросткового возраста, постоянно проживающих в г. Луганске в начале XXI века, для проведения сравнительного анализа возрастных и половых особенностей с физическим развитием детей начала XX века. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» под номером государственной регистрации 0198U002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материалы и методы исследования.

Антропометрические показатели были изучены у 672 здоровых детей подросткового периода, постоянно проживающих в г. Луганске (Украина). Группа девочек составила 371 человек, группа мальчиков – 301 (табл. 1). Возрастные группы формировались согласно возрастной периодизации, принятой на VII Всесоюзной конференции по проблемам возрастной морфологии, физиологии, биохимии АМН СССР (Москва, 1965).

Программа антропометрических исследований включала измерение: роста стоя (стандартный ростомер ГОСТ 16371-93, 19917-93 по методике В. А. Еренкова [2]), массы тела (взвешивание на медицинских весах ТУ 9441-004-00226425-2005), окружность грудной клетки (сантиметровой лентой ГОСТ Р 50444-92).

Таблица 1

Распределение детей по возрасту и полу

Возраст	Общее количество	Девочки	Мальчики
12 лет	82	82	-
13 лет	197	89	108
14 лет	197	90	107
15 лет	196	110	86
Всего	672	371	301

При работе с подростками были соблюдены принципы биоэтики, которые регламентированы Конвенцией совета Европы по правам человека и биомедицины и основных законов Украины [5].

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с применением лицензионной компьютерной программы Microsoft Office Excel.

Результаты исследования и их обсуждение.

У мальчиков начала XXI века масса тела была в пределах от 28,0 до 96,0 кг (51,2±10,47 кг при p<0,05). Изменение массы тела зависело от возраста ребенка: у 13-летних она была в пределах от 28,0 до 84,5 кг, у 14-летних –33,0-96,0 кг, а у 15-летних – 38,0-84,2 кг. Сравнительный анализ усредненных значений массы тела мальчиков во всех возрастных группах показал, что у детей начала XXI века масса тела была больше, чем у детей начала XX века. У 13-летних мальчиков начала XXI века масса тела была больше в 1,37±0,29 раза, у 14-летних – в 1,41±0,27 раза, а у 15-летних – в 1,37±0,22 раза. Оказалось, что масса тела у мальчиков начала XXI века была больше в 1,38±0,20 раза, чем у мальчиков начала XX века (табл. 2).

У мальчиков начала XXI века рост стоя был в пределах от 127,0 см до 196,0 см (163,66±9,69 см при p<0,001), причем в каждой выделенной группе он был неодинаковым и зависел от возраста. У 13-летних мальчиков рост стоя колебался от 127,0 см до 174,0 см, у 14-летних – от 142,5 см до 182,0 см и у 15-летних – от 145,0 см до 196,0 см. Сравнительный анализ усредненных значений роста стоя у мальчиков во всех выделенных группах в соответствии с возрастом показал, что дети начала XXI века были выше ростом детей начала XX века. 13-летние мальчики начала XXI века были выше ростом мальчиков начала XX века в 1,06±0,05 раза, 14-летние – в 1,05±0,05 раза и 15-летние – в 1,06±0,05 раза. В общем массиве мальчики начала XXI века были выше ростом в 1,06±0,03 раза детей начала XX века (см. табл. 3).

Таблица 2

Средняя масса тела мальчиков начала XX и XXI вв., кг

Возраст	Гундобин Н. П. [3]	XXI век
13 лет	33,88	46,4±9,88*
14 лет	37,0	52,5±10,22*
15 лет	40,34	55,5±9,15**
M±m	37,1±3,23	51,5±4,64***

* – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001.

Таблица 3

Рост стоя мальчиков начала XX и XXI вв., см

Возраст	Карницкий А. О. [3]	Гундобин Н. П. [3]	XX век	XXI век
13 лет	141,5-163,5	141,8	148,9±12,61	157,7±8,13
14 лет	147,5-173,5	146,0	155,7±15,46	164,5±8,11
15 лет	151,5-179,5	150,8	160,6±16,37	170,2±8,71
M±m	159,5±15,12	146,2±4,50	155,2±5,85	164,1±6,30

p<0,001.

У мальчиков начала XXI века окружность грудной клетки была 56,0-104,0 см (76,79±6,71 см при p<0,001). У 13-летних мальчиков этот показатель составлял 56,0-100,0 см, у 14-летних – 66,0–104,0 см и у 15-летних – 68,5–96,0 см. Сравнительный анализ усредненных значений окружности грудной клетки во всех возрастных группах показал, что у мальчиков начала XXI века окружность грудной клетки была больше, чем у мальчиков начала XX века. У 13-летних мальчиков она была больше в 1,09±0,10 раза, у 14-летних – в 1,07±0,08 раза и у 15-летних – в 1,08±0,07 раза. Оказалось, окружность грудной клетки у мальчиков начала XXI века была больше в 1,08±0,06 раза, чем у мальчиков начала XX века (табл. 4).

Таблица 4

Окружность грудной клетки мальчиков начала XX и XXI вв., см

Возраст	Исраэлян Л. Г.[3]	Гундобин Н. П. [3]	XX век	XXI век
13 лет	66,5-72,0	66,5	68,3±3,17	74,7±7,14
14 лет	71,0-76,0	67,6	71,5±4,22	76,6±6,38
15 лет	70,5-79,0	70,5	73,3±4,90	79,7±5,44
M±m	72,5±4,40	68,2±2,06	71,1±2,53	77,0±2,56

p<0,001.

У девочек начала XXI века масса тела была в пределах от 26,4 до 84,2 кг (46,41±9,47 кг при p<0,05). У 12-летних девочек масса тела была в пределах от 27,0 до 78,8 кг, у 13-летних – 26,4–67,9 кг, у 14-летних – 29,1-68,0 кг, у 15-летних – 34,5-84,2 кг. Сравнительный анализ усредненных значений массы тела девочек во всех возрастных группах показал, что у детей

начала XXI века масса тела была больше, чем у детей XX века. У 12-летних девочек масса тела была больше в 1,28±0,27 раза, у 13-летних – в 1,20±0,26 раза, у 14-летних – в 1,16±0,20 раза, у 15-летних – в 1,13±0,16 раза. Оказалось, что в общем массиве масса тела у девочек начала XXI века была больше в 1,18±0,12 раза, чем у девочек XX века (табл. 5).

У девочек начала XXI века рост стоя был 136,0-176,5 см (159,23±8,45 см при p<0,001). У 12-летних девочек рост стоя составлял от 136,0 до 169,0 см, у 13-летних – от 138,0 до 171,0 см, у 14-летних – от 145,0 до 174,0 см и у 15-летних – от 150,0 до 176,5 см.

Сравнительный анализ усредненных значений роста стоя у девочек во всех выделенных группах в соответствии с возрастом показал, что дети начала XXI века были выше ростом детей начала XX века. 12-летние девочки XXI века были выше ростом девочек начала XX века в 1,05±0,05 раза, 13-летние – в 1,04±0,05 раза, 14-летние – в 1,03±0,03 раза и 15-летние – в 1,04±0,04 раза. Девочки начала XXI века были выше ростом в 1,04±0,03 раза детей начала XX века (табл. 6).

Таблица 5

Средняя масса тела девочек начала XX и XXI вв., кг

Возраст	Гундобин Н. П. [3]	XXI век
12 лет	31,28	40,1±8,45*
13 лет	37,2	44,8±10,02*
14 лет	41,2	48,0±8,56*
15 лет	45,0	51,2±7,26**
M±m	38,7±5,88	46,0±4,74**

* – p<0,05, ** – p<0,01.

Таблица 6

Рост стоя девочек начала XX и XXI вв (см)

Возраст	Карницкий А. О. [3]	Гундобин Н. П. [3]	XX век	XXI век
12 лет	138-160	136,9	145,0±13,03	152,2±7,50
13 лет	145-165	142,3	150,8±12,40	157,6±8,56
14 лет	150-170	145,1	155,0±13,19	160,0±6,05
15 лет	150-175	151,0	158,7±14,15	165,1±6,03
M±m	156,6±12,91	143,8±5,87	152,4±5,89	158,7±5,35

p<0,001.

У девочек начала XXI века окружность грудной клетки была 57,0-99,5 см (72,03±6,93 см при p<0,001). У 12-летних девочек этот показатель составлял 57,5–99,5 см, у 13-летних – 57,0-93,0 см, у 14-летних – 61,0-94,0 и у 15-летних – 65,0-92,0 см. Сравнительный анализ усредненных значений окружности грудной клетки у девочек во всех возрастных группах начала XXI века и начала XX века показал, что у 12-, 13- и 14-летних девочек начала XXI века окружность грудной клетки была больше в 1,06±0,10 раза, 1,04±0,11 раза и 1,006±0,08 раза соответственно, а у 15-летних – меньше в 1,02±0,08 раза. В общем массиве окружность грудной клетки у девочек начала XXI века была больше в 1,01±0,05 раза, чем у девочек начала XX века (табл. 7).

Таблица 7

Окружность грудной клетки девочек начала XX и XXI вв (см)

Возраст	Исраэлян Л. Г. [3]	Гундобин Н. П. [3]	XX век	XXI век
12 лет	64,0-68,0	64,0	65,3±2,30	69,4±6,76*
13 лет	66,5-72,0	67,5	68,7±2,92	72,1±7,63**
14 лет	71,0-76,0	71,0	72,7±2,88	73,1±6,10*
15 лет	70,5-79,0	73,8	74,4±4,28	73,1±6,68*
M±m	70,9±4,90	69,1±4,25	70,3±4,08	72,0±1,73*

* – p<0,001, ** – p<0,01.

Выводы.

При исследовании установлено, что антропометрические показатели (масса тела, рост стоя, окружность грудной клетки) у детей подросткового периода начала XXI века были повышены как у девочек, так и у мальчиков в сравнении с данными детей начала XX века. У мальчи-

ков вышеперечисленные антропометрические показатели были больше, чем у девочек. Полученные данные являются базой для пересмотра и составления новых возрастных стандартов.

Литература

1. Джуринська, С. М. Антропометричні показники дітей – киян дошкільного віку за 1912-2005 роки / С. М. Джуринська // Перинатология и педиатрия. – 2006. – № 2. – С. 98-100.
2. Еренков, В. А. Клиническое исследование ребенка / В. А. Еренков. – Киев : Здоров'я, 1984. – 336 с.
3. Исраэлян, Л. Г. Анатомо-физиологические даты детского возраста (справочник) / Л. Г. Исраэлян. – Москва : Медгиз, 1959. – С. 30-61.
4. Коренев, М. М. Состояние здоровья подростков Украины / М. М. Коренев, О. А. Немирова // Проблемы медицинской науки та освіти. – 2005. – № 4. С. 5-8.
5. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

THE ANALYSIS OF THE INDEXES OF PHYSICAL DEVELOPMENT OF TEENAGERS AT THE BEGINNING OF THE XX AND XXI CENTURIES.

M.A. BEZATYAN
A.A. VINOGRADOV

Lugansk national university, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

The research was done on the 672 of the healthy children of theen's age, who are living in Lugansk permanently (Ukraine). The group of girls composed 371 children, the group of boys – 301 children. During the research we found out, that the anthropometric indexes (mass of body, growth standing, growth sitting, circumference of thorax) of teenagers of the beginning XXI century were increased for girls and boys in comparison with children at the beginning of XX century. The boys' all anthropometric indexes were higher, than the girls'.

Key words : period of adolescence, physical development.

УДК 611.133.28:611.716.4:616.314

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ КРОВОСНАБЖЕНИЯ ЧЕЛЮСТЕЙ ПРИ ВНУТРИАРТЕРИАЛЬНОЙ КАРОТИДНОЙ АНГИОГРАФИИ

И.В. АНДРЕЕВА[1]
В.В. ВОЛИКОВ[1]
М.М. ОНОПРИЕНКО[1]
Н.А. ШАПОВАЛОВ[2]
Д.А. НЕКРАСОВ[2]

[1)] ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», Украина

[2)] Луганская областная клиническая больница, Украина

e-mail: prof.andreeva.irina.2012 @yandex.ru

Проведен анализ внутриартериальной каротидной ангиографии 39 пациентов. Установлено, что во всех случаях были адекватно визуализированы общая, наружная и внутренняя сонные артерии. Из ветвей наружной сонной артерии в большинстве случаев были удовлетворительно контрастированы верхняя щитовидная, язычная, лицевая, затылочная и задняя ушная артерии. Верхнечелюстная артерия и ее ветви определялись в единичных случаях. Качество визуализации крупных и мелких сосудов зависело от экспозиции исследования. Таким образом, внутриартериальная ангиография является адекватным методом оценки артерий, кровоснабжающих верхнюю и нижнюю челюсти, при заранее планируемой необходимости исследования мелких сосудов челюстно-лицевой области и корректном подборе специалистом-рентгенологом соответствующей методики.

Ключевые слова: внутриартериальная каротидная ангиография, кровоснабжение челюстных костей.

Исследование вопросов кровоснабжения челюстных костей и мягких тканей лица является актуальным направлением современной стоматологии и челюстно-лицевой хирургии. Это связано с ростом стоматологических вмешательств при дентальной имплантации [2, 8]. Последняя, по данным J. Choi, H. S. Park (2003), B. Ella et al. (2008), может сопровождаться повреждением кровеносных сосудов с развитием массивного кровотечения и летального исхода [3, 9]. Кроме того, знание особенностей ангиоархитектоники верхней (ВЧ) и нижней челюстей (НЧ) необходимо в онкологии при планировании объема оперативного вмешательства на лице и шее [6]. В реконструктивной челюстно-лицевой хирургии широко разрабатываются операции по пластике дефектов костей и мягких тканей с формированием васкуляризированного лоскута [4, 5].

Однако кровоснабжение челюстей отличается выраженной индивидуальной анатомической изменчивостью, которая изучена недостаточно. Так, в связи с развитием современных методов визуализации (компьютерная и магниторезонансная томография с ангиографией) стало возможным исследование сосудов челюстно-лицевой области до операции. Однако сведения о сосудах, кровоснабжающих эти анатомические отделы, противоречивы [1, 3, 7, 8, 9].

Одним из возможных вариантов решения этого вопроса является исследование особенностей индивидуальной анатомической изменчивости ангиоархитектоники челюстей с помощью внутриартериальной ангиографии.

Цель исследования – анализ возможностей внутриартериальной ангиографии для исследования индивидуальной анатомической изменчивости кровоснабжения челюстей. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры хирургии с основами торакальной, кардиоваскулярной и пластической хирургии ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» «Индивидуальная анатомическая изменчивость сосудистой системы головы и шеи и ее связь с костями черепа» (номер государственной регистрации 0110U000655).

Материал и методы исследования.

Проведен анализ внутриартериальной ангиографии сонных артерий 39 пациентов. Ангиография была выполнена пациентам по поводу диагностики различных заболеваний в отделениях интервенционной радиологии Луганской областной клинической больницы и Луганского обласного онкологического диспансера.

Из 39 больных было 20 (51,28%) мужчин и 19 (48,72%) женщин. Возраст больных соответствовал зрелому, пожилому и старческому возрастным периодам. Исследование проводили на ангиографе Allura SV20 (Philips). Под общей и местной анестезией в правую бедренную артерию устанавливали интрадуктор, через который с помощью АГ-катетеров катетеризировали левую и правую общие сонные артерии (ОСА). Всего правая ОСА была обследована у 26 (66,67%) пациентов, левая – у 12 (30,77%), обе ОСА – у 1 (2,56%) больного.

Из всех обследованных пациентов стенозы ОСА и ее ветвей встречались у 16 (41,03%), у остальных 23 (58,97%) больных гемодинамически значимых стено-окклюзирующих процессов в басейнах ОСА не выявлено. Распределение больных со стенозами было следующим: изолированные стенозы ОСА – 5 (31,25%), из них 3 случая слева и 2 случая справа; изолированные стенозы ВСА – 5 (31,25%), из них 2 случая слева и 3 случая справа; стенозы ОСА в сочетании со стенозами внутренней сонной артерии (ВСА) – 3 (18,75%), из них 2 случая слева и 1 случай справа; сочетание стенозов ОСА, ВСА и наружной сонной артерии (НСА) – 1 (6,25%); стенозы ОСА с обеих сторон – 1 (6,25%); окклюзия правой ВСА – 1 (6,25%) человек. Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью компьютера в программе Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждение.

Выявлено, что у всех пациентов ОСА с обеих сторон начинались на уровне грудиноключичных суставов. В проекции поперечных отростков шейных позвонков правая и левая ОСА шли параллельно друг другу и разделялись на НСА и ВСА на уровне С2 – С5. При этом бифуркация правой ОСА находилась на уровне С3 в 19 (73,08%) случаях, на уровне С4 – в 5 (19,23%), на уровне С5 – в 2 (7,69%) случаях. Диаметр ОСА колебался от 4 до 7 мм, составляя в среднем 4,68±0,36 мм справа и 4,72±0,33 мм слева.

НСА была визуализирована у всех пациентов, у 1 из них наблюдался стеноз в области бифуркации ОСА с переходом на устье правых ВСА и НСА. Диаметр НСА колебался от 2 до 5 мм, составляя в среднем 3,15±0,24 мм справа и 3,18±0,26 мм слева.

В боковой проекции НСА проходила вверх кпереди от ВСА. На отрезке до угла НЧ контрастировались ее передние и средние ветви, задние ветви отходили выше угла НЧ (рис. 1-3). Из ветвей НСА чаще и качественнее были контрастированы артерии передней группы. Самостоятельное начало верхней щитовидной, язычной и лицевой артерий выявлено в 38 (97,44%) случаях, причем качество визуализации крупных и мелких сосудов зависело от экспозиции исследования (рис. 1 – 3). Общий щитовидноязычный ствол обнаружен у 1 (2,56%) пациента (рис. 4).

Рис. 1. *Рис. 2.* *Рис. 3.*

Этапы контрастирования ветвей правой НСА при внутривенной каротидной ангиографии в правой полубоковой проекции у мужчины 55 лет на 8-й, 11-й и 13-й с исследования. Улучшение визуализации мелких ветвей при ухудшении контрастирования крупных сосудов связано с увеличением экспозиции исследования

Из передней группы ветвей НСА верхнюю щитовидную артерию визуализировали у 13 (33,33%) пациентов, из них в 4 случаях слева и в 9 случаях справа; язычную – в 17 (43,59%), из них в 4 случаях слева и в 13 случаях справа; лицевую артерию – в 20 (51,28%), из них в 7 случаях слева и в 13 случаях справа.

Верхняя щитовидная артерия отходила от НСА на уровне подъязычной кости, резко поворачивала вниз, разделяясь на ветви (рис. 5). Однако в большинстве случаев ее ветви не контрастировались.

Язычная артерия во всех случаях начиналась выше верхней щитовидной артерии, направлялась кпереди (рис. 2, 4, 5). Ее ветвь к подъязычной кости (a. suprahyoideus) была контрастирована только в единичных случаях, она проходила параллельно верхней щитовидной артерии (рис. 4). A. sublinqualis проходила параллельно язычной артерии у нижнего края тела НЧ. Глубокая артерия языка и дорсальные ветви артерии языка направлялись косо вверх и кпереди, пересекая тело НЧ (рис. 4, 6). Ветви язычной артерии определялись на ангиограммах только у 2 (5,12%) пациентов.

Рис. 4.
Визуализация передних, задних и конечных ветвей правой НСА при внутривенной каротидной ангиографии в боковой проекции у женщины 65 лет. Общий щитовидноязычный ствол. Удовлетворительное контрастирование ветвей верхней щитовидной и язычной артерий

Рис. 5.
Визуализация передних, средних, задних и конечных ветвей правой НСА при внутривенной каротидной ангиографии в боковой проекции у женщины 58 лет. Удовлетворительное контрастирование ветвей верхней щитовидной артерии

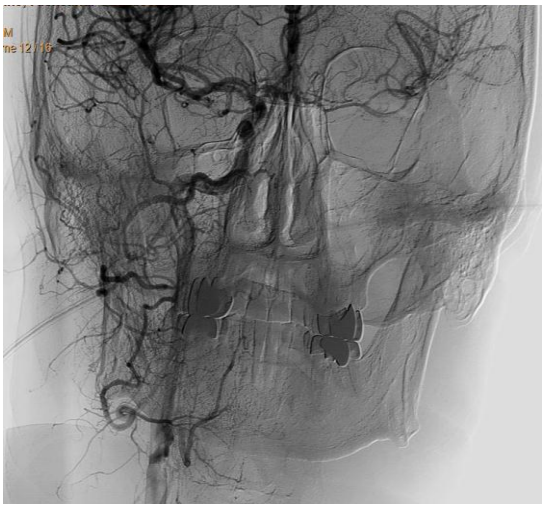


Рис. 6.
Визуализация мелких ветвей правой НСА при внутривенной каротидной ангиографии в прямой проекции у мужчины 51 года. Контрастирование глубокой артерии языка

Лицевая артерия на боковых снимках начиналась от передней поверхности НСА выше язычной артерии, в большинстве случаев на уровне угла НЧ. Она отличалась извитостью, обходила тело НЧ и поднималась кпереди и вверх по направлению к медиальному углу глаза. Однако ни на одном снимке лицевая артерия не доходила до медиального угла глаза. В большинстве случаев контрастирование ее заканчивалось на уровне нижних или верхних зубов (рис. 3, 5). У 11 (28,21%) пациентов лицевая артерия образовывала петли (рис. 1–4).

Из ветвей лицевой артерии контрастировались подбородочная у 3 (7,69%) (рис. 7) и восходящая небная – у 2 (5,13%) пациентов (рис. 8). Восходящая небная артерия была контрастирована только в 1 (2,56%) случае. Она проходила впереди НСА медиально, затем направлялась косо вверх, проекция ее находилась медиальнее от идущей кверху лицевой артерии (рис. 6). Контрастирование других ветвей лицевой артерии было сомнительным.

Из задней группы ветвей НСА затылочную артерию визуализировали у 13 (33,33%) пациентов, из них в 5 случаях слева и в 8 случаях справа; заднюю ушную – в 6 (43,59%), по 3 случая с каждой стороны (рис. 2–5). Задние ветви четко контрастировались только в боковой проекции, их начало в прямой проекции не определялось. При этом на ангиограммах в боковой проекции затылочная артерия находилась на медиальной стороне верхушки сосцевидного отростка, а задняя ушная артерия – на латеральной. У ряда пациентов ветви затылочной артерии были хорошо видны в проекции теменной, затылочной костей и мягких тканей шеи (рис. 3, 4).

Из средней группы ветвей НСА восходящую глоточную артерию на боковых снимках визуализировали у 5 (12,82%), из них в 1 случае слева и в 4 случаях справа. В прямой проекции устье восходящей глоточной артерии не визуализировалось, так как наслаивалось на проекцию ВСА.

Из конечных ветвей НСА поверхностную височную артерию в боковой проекции визуализировали у 5 (10,26%) больных, в 3 случаях справа и 2 случаях слева; верхнечелюстную артерию (ВЧА) – у 14 (35,90%) пациентов, в 5 случаях слева и в 9 – справа (рис. 2, 4, 5).

Рис. 7.
Визуализация передних, средних, задних и конечных ветвей правой НСА при внутривенной каротидной ангиографии в боковой проекции у женщины 65 лет. Контрастирование ветвей лицевой (подбородочная) и язычной (подъязычная) артерий

Рис. 8.
Визуализация мелких ветвей правой НСА при внутривенной каротидной ангиографии в полубоковой проекции у мужчины 58 лет. Контрастирование восходящей небной ветви лицевой артерии

В боковой проекции поверхностная височная артерия проходила позади височно-нижнечелюстного сустава, затем в проекции височной кости поднималась косо вверх (рис. 2-5). Поперечная лицевая и скулоглазничная артерии направлялись косо вперед и немного кверху. Из ветвей ВЧА визуализировали только 3 сосуда: нижнюю альвеолярную артерию – у 4 (10,26%) пациентов, из них по 2 случая слева и справа, среднюю менингеальную артерию – у 3 (7,69%) пациентов, из них в 1 случае слева и в 2 случаях справа; a. masseterica – у 3 (7,69%) пациентов, из них в 1 случае слева и в 2 случаях справа. Конечные ветви ВЧА не были контрастированы (задняя верхняя альвеолярная артерия, подглазничная артерия). Нисходящая небная артерия и клинонебная артерия на ангиограммах также не определялась.

Выводы.

В результате проведенного исследования можно заключить, что внутриартериальная ангиография является адекватным методом оценки артерий, кровоснабжающих верхнюю и нижнюю челюсти, при заранее планируемой необходимости исследования мелких сосудов челюстно-лицевой области и корректном подборе специалистом-рентгенологом соответствующей методики.

В перспективе дальнейших исследований целесообразно провести сравнение возможностей визуализации ветвей наружной сонной артерии при внутриартериальной ангиографии и компьютерной томографии с ангиографией.

Литература

1. Arterial blood supply of the maxillary sinus / [H. Traxler, A. Windisch, U. Geyerhofer et al.] // Clin. Anat. – 1999. – Vol. 12 (6). – P. 417-421.
2. Blood supply to the maxillary sinus relevant to sinus floor elevation procedures / [P. Solar, U. Geyerhofer, H. Traxler et al.] // Clin. Oral Implants Res. – 1999. – Vol. 10 (1). – P. 34-44.
3. Choi J. The clinical anatomy of the maxillary artery in the pterygopalatine fossa / J. Choi, H. S. Park // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2003. – Vol. 61 (1). – P. 72-78.
4. Maxilla allograft for transplantation: an anatomical study / [I. Yazici, T. Cavusoglu, A. Comert et al.] // Ann. Plast. Surg. – 2008. – Vol. 61 (1). – P. 105-113.
5. Maxillary functional reconstruction using a reverse facial artery-submental artery mandibular osteomuscular flap with dental implants / [W. L. Chen, M. Zhou, J. T. Ye et al.] // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2011. – Vol. 69 (11). – P. 2909-2914.
6. McCarthy C. M. Microvascular reconstruction of oncologic defects of the midface / C. M. McCarthy, P. G. Cordeiro // Plast. Reconstr. Surg. – 2010. – Vol. 126 (6). – P. 1947-1959.
7. Otake I. Clinical anatomy of the maxillary artery / I. Otake, I. Kageyama, I. Mataga // Okajimas Folia Anat. Jpn. – 2011. – Vol. 87 (4). – P. 155-164.
8. Prevalence, diameter and course of the maxillary intraosseous vascular canal with relation to sinus augmentation procedure: a radiographic study. / [O. Mardinger, M. Abba, A. Hirshberg, D. Schwartz-Arad] // Int. J. Oral Maxillofac. Surg. – 2007. – Vol. 36 (8). – P. 735-738.

9. Vascular connections of the lateral wall of the sinus: surgical effect in sinus augmentation / [B. Ella, C. Sédarat, C. Noble et al.] // Int. J. Oral Maxillofac. Implants. – 2008. – Vol. 23 (6). – P. 1047-1052.

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF BLOOD SUPPLY OF JAWS AT INTRAARTERIAL CAROTID ANGIOGRAPHY

I.V. ANDREEVA[1], V.V. VOLIKOV[1]
M.M. ONOPRIENKO[1], N.A. SHAPOVALOV[2]
D.A. NEKRASOV[2]

[1)] Lugansk State Medical University, Ukraine

[2)] Lugansk Regional Clinical Hospital, Ukraine

e-mail: prof.andreeva.irina.2012@yandex.ru

The analysis of intraarterial carotid angiography of 39 patients is spent. It is established that the common, external and internal carotid arteries were adequate visualized in all the cases. In common cases the superior thyroid, lingual, facial, occipital and posterior auricular branches of the external carotid artery had satisfactory contrast view. The maxillary artery and its branches were found in some cases. A quality of visualization of large and small vessels depends on exposition of angiography. Therefore the intraarterial angiography is an adequate method to value the arteries supplied the maxilla and mandibula in condition of planned necessity of visualization of small vessels and correct choose of parameters of angiography by radiologist.

Key words: intraarterial carotid angiography, blood supply of jaws.

УДК 611.01 – 053.5 (477.61

ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ И СОСТОЯНИЕ ОСАНКИ У ДЕТЕЙ ПЕРИОДА ВТОРОГО ДЕТСТВА

М.Е. КРИВОРУЧКО

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail: **alexanvin@yandex.ru**

Дети периода второго детства отличаются большими показателями продольных размеров тела и меньшей массивностью телосложения по сравнению с детьми начала XX века. Эти явления сопряжены с неудовлетворительным состоянием осанки у современных детей. Дети с нарушением осанки и деформацией позвоночного столба достоверно чаще имеют большие показатели длины тела и конечностей. Этот факт свидетельствует об ускорении ростовых процессов у детей с патологией позвоночного столба. Из периода первого детства переходит 42,5% мальчиков и 35,2% девочек с нарушением осанки и деформацией позвоночного столба. Общее количество детей с НО и ДПС в возрасте второго детства достигает 69,7%. Это указывает на значительное увеличение количества детей с данной патологией за период второго детства, что связано, по-видимому, с инициацией ростовых процессов.

Ключевые слова: антропометрия, второе детство, осанка.

Процесс развития подрастающего поколения активно изучался на протяжении XX столетия специалистами различных отраслей науки. Современный интерес к теме возрастного развития связан с низким уровнем здоровья подрастающего поколения, о чем свидетельствуют следующие данные. Так, по информации Министерства здравоохранения Украины, только 30% школьников способны выполнить нормативные показатели на уроках физического воспитания без риска для здоровья, а процесс восстановления функционального состояния организма происходит благоприятно лишь у 18-24% детей [6]. В структуре заболеваемости детей и подростков патологические состояния опорно-двигательной системы занимают одно из первых мест по уровню распространенности [1]. В донбасском регионе распространенность деформаций позвоночного столба среди детей периода первого детства составляет 35% [2].

Вторым аспектом, подчеркивающим актуальность изучения процессов роста и развития детей, являются противоречивые сведения о современных тенденциях развития детей, полученные в антропологических исследованиях [3, 7, 8, 9].

Сегодняшний подход к преодолению проблем физического здоровья человека, базирующийся на принципах интегративной антропологии, предполагает изучение различных аспектов здоровья человека в тесном единстве с изучением его биологических особенностей [5]. С этих позиций представляется актуальным изучение связи современных тенденций физического развития детей и подростков и состояния их осанки.

Цель исследования.

Изучение физического развития детей периода второго детства, проживающих в г. Луганске. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГЗ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» под номером государственной регистрации 0198U002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материал и методы исследования.

Было исследовано 670 школьников периода второго детства, среди них 356 мальчиков и 314 девочек. Антропометрия включала измерение продольных размеров тела ребенка, окружностей головы и грудной клетки. Вычислялся ряд относительных показателей – индексы Пейзара (отношение роста сидя к длине тела), Бругша (отношение окружности грудной клетки к длине тела), а также отношение длины конечностей к длине тела. Данные о физическом развитии детей начала XXI века сравнивались с данными начала XX века, полученными из специализированных литературных источников [4].

Одновременно с измерением тотальных и парциальных размеров тела ребенка было проведено исследование осанки, позволившее выделить в каждой группе детей здоровых, а также имевших нарушения осанки (НО) или деформацию позвоночного столба (ДПС) I–III степени. Давность этих изменений осанки устанавливалась путем изучения анамнеза.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась с помощью программы STATISTICA 6.0. Использованы методы описательной и непараметрической статистики (тест Манна-Уитни для сравнения независимых выборок).

При работе с детьми соблюдались принципы биоэтики, регламентированные Конвенцией Совета Европы по правам человека и биомедицине.

Результаты исследования и их обсуждение.

В общем числе детей периода второго детства здоровых было 30,3%, с НО – 33,4% и с ДПС – 36,3%. На протяжении всего периода отмечалась тенденция к уменьшению числа здоровых детей и увеличению числа детей с НО и ДПС. Из периода первого детства переходит 42,5% мальчиков и 35,2% девочек с нарушением осанки и деформацией позвоночного столба. Это указывает на значительное увеличение количества детей с данной патологией за период второго детства, что связано, по-видимому, с инициацией ростовых процессов.

При сравнении антропо- и морфометрических показателей детей периода второго детства начала XXI века с детьми начала XX века установлено, что увеличение абсолютных показателей продольных размеров тела и его сегментов, массы тела, окружности грудной клетки, размерных показателей головы сопровождалось снижением относительных показателей (отношения окружности грудной клетки к длине тела, абсолютной высоты головы к длине тела, роста сидя к длине тела). Такие эпохальные изменения говорят о тенденции физического развития современных детей к грацилизации (уменьшению массивности телосложения). В процентном отношении наибольшее увеличение наблюдалось при сравнении показателей массы тела, абсолютной высоты головы и ее поперечного размера, длины сегментов свободных конечностей (табл.).

Таблица

Сравнительная характеристика антропо- и морфометрических показателей детей периода второго детства начала XXI века и показателей детей начала XX века (изменение в процентах)

Показатели	Мальчики				Девочки		
	Возраст (лет)				Возраст (лет)		
	8	9	10	11	8	9	10
Масса тела	28,1	25,3	28,8	33,6	29,7	28,3	35,9
Абсолютная высота головы	17,8	19,8	19,2	17,5	10,9	10,7	11,9
Длина плеча	22,2	19,8	19,8	22,2	18,4	20,5	17,8
Длина бедра	21,4	19,9	17,0	16,4	23,2	21,0	16,0

В периоде второго детства статистически значимые различия антропо- и морфометрических показателей здоровых детей и детей с НО и ДПС были выявлены только в отдельных группах. Так, в возрасте 8 лет у мальчиков различия не являлись статистически значимыми почти по всем показателям, за исключением длины голени. В 9 лет у мальчиков с НО отмечались большие значения показателей высоты головы и отношения высоты головы к длине тела. 9-летние мальчики с ДПС имели большие, чем здоровые дети, окружность головы, длину плеча. В 10 лет у мальчиков с НО отмечено опережение здоровых сверстников по длине предплечья, свободной нижней конечности, бедра, отношению длины нижней конечности к длине тела. 10-летние мальчики с ДПС отличались от здоровых детей большими значениями показателей длины тела, продольного диаметра головы, длины свободной нижней конечности, предплечья, кисти, свободной нижней конечности. 11-летних мальчиков с НО отличали от здоровых сверстников большие значения высоты головы. Мальчики 11 лет с ДПС имели большие значения поперечного диаметра головы. Индекс Пейзара у здоровых мальчиков был большим в группах 9-летних детей с ДПС, 10-летних детей с ДПС и НО, 11-летних детей с ДПС. Таким образом, статистический анализ показывает практически полное отсутствие различий в антропо- и морфометрических показателях здоровых детей и детей с НО и ДПС в 8 и 11 лет. В 9-10 лет, с учетом доказанных статистических различий, дети с НО и ДПС имеют большую длину тела, длину верхней конечности и ее сегментов, длину нижней конечности, а также меньший индекс Пейзара, что косвенно говорит об относительной длинноногости детей с НО и ДПС.

У 8-летних девочек с НО отмечено статистически значимое преимущество перед здоровыми сверстницами по показателю отношения длины верхней конечности к длине тела, у 9-летних девочек с НО – по величине индекса Brugsch, у 9-летних с ДПС – по длине голени. 10-летние девочки с НО в сравнении со здоровыми детьми имели большие длину свободной верхней конечности, плеча, кисти, бедра, а также меньший показатель отношения высоты головы к длине тела. 10-летние девочки с ДПС отличались от здоровых сверстниц большими показателями длины свободной верхней конечности, плеча, кисти, голени. В 8 и 10 лет девочки с ДПС были склонны к меньшей окружности грудной клетки в сравнении со здоровыми сверстница-

ми. Таким образом, на протяжении периода второго детства статистически значимые различия отмечались у девочек с НО и ДПС в 10 лет, и заключались в большей длине свободной верхней конечности и ее сегментов, а также в большей длине сегментов нижней конечности.

Признаки полового диморфизма у детей периода второго детства проявили себя в том, что на протяжении всего периода размерные показатели головы у мальчиков оставались большими, чем у девочек, независимо от состояния осанки. Масса, длина тела, рост сидя у мальчиков больше в 8 лет, а в 9–10 лет половые отличия стирались. Не отмечались различия у мальчиков и девочек по показателю окружности грудной клетки, но прослеживалась тенденция к большим значениям этого показателя у мальчиков с ДПС. Длина верхней конечности у мальчиков была большей, чем у девочек, в 8-9 лет, а в 10 лет различия исчезали. Различия в длине свободной нижней конечности не имели статистической значимости, однако в 10 лет у девочек всех групп отмечалась тенденция к большей длине голени.

Выводы.

Дети периода второго детства отличаются большими показателями продольных размеров тела и меньшей массивностью телосложения по сравнению с детьми начала XX века. Эти явления сопряжены с неудовлетворительным состоянием осанки у современных детей.

На протяжении периода второго детства отмечается уменьшение количества детей с нормальной осанкой, увеличение числа детей с НО и ДПС, причем отмечается рост числа детей с ДПС II и III степени. Общее количество детей с НО и ДПС в возрасте второго детства достигало 69,7%.

Дети с НО и ДПС достоверно чаще имеют большие показатели длины тела и конечностей. Этот факт свидетельствует об ускорении ростовых процессов у детей с патологией позвоночного столба.

Литература

1. Басанець, Л. М. Фізичний розвиток юнаків допризовного віку / Л. М. Басанець, О. І. Іванова // Довкілля та здоров'я. – 2008. – № 4 (47). – С. 50-53.
2. Гаврелюк С. В. Нарушения развития осевого скелета у детей дошкольного и раннего школьного возраста / С. В. Гаврелюк, А. А. Виноградов // Український медичний альманах. – 2007. – Т. 5, № 1. – С. 10-12.
3. Година, Е. З. Секулярный тренд: история и перспективы / Е. З. Година // Физиология человека – 2009. – №6. – С. 16.
4. Исраэлян, Л. Г. Анатомо-физиологические даты детского возраста / Л. Г. Исраэлян. – Москва: Медгиз, 1959. – С. 30-59.
5. Корнетов, Н. А. Концепция клинической антропологии в медицине / Н. А. Корнетов // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – № 1. – С. 7-30.
6. Моісеєнко, Р. О. Частота та структура захворюваності дітей в Україні та шляхи її зниження / Р. О. Моісеєнко // Сучасна педіатрія. – 2009. – С. 10-14.
7. Фізичний розвиток дітей різних регіонів України (випуск II, міські школярі) / [під заг. ред. І. Р. Бариляка і Н. С. Польки] – Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. – 208 с.
8. Ямпольская, Ю. А. Физическое развитие учащихся начальной школы в гендерном аспекте / Ю. А. Ямпольская, И. З. Мустафина, Н. С. Жигарева // Педиатрия им. Г. Н. Сперанского, 2009. – Т. 88, № 6. – С. 61-64.
9. Zellner K. Height, weight and BMI of schoolchildren in Jena, Germany – are the secular changes leveling off? / K. Zellner, U. Jaeger, K. Kromeyer –Hauschild // Econ. Hum. Biol., 2004. – № 2 (2). – P. 281-294.

PHYSICAL DEVELOPMENT AND POSTURE OF CHILDREN OF THE SECOND CHILDHOOD PERIOD

M.E. KRIVORUCHKO

Lugansk Taras Shevchenko National University, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

Children of the second childhood period are of good indicators of longitudinal sizes of the body and the massiveness of the lesser physique in comparison with children of the early twentieth century. These phenomena are associated with the poor condition of carriage for the modern children. Children with disorder posture and deformation of the spinal column have anthropo- and morphometric indices different from healthy children. Children with disorder posture and deformation of the spinal column significantly more likely to have high rates of length of a body and limbs. This fact signifies the acceleration of the growth processes in children with disorders of the spine. From the period of the first childhood passes 42.5% of boys and 35.2% of girls with posture and deformation of the spinal column. The total number of children with disorder posture and deformation of the spinal column in the age of the second childhood reaches to 69.7%. This indicates a significant increase in the number of children with this pathology during the second childhood, that is connected, apparently, with the initiation of growth processes.

Key words: anthropometry, the second childhood, posture.

УДК: 612.129+615.099:616-092.4

ПОКАЗАТЕЛИ ПИГМЕНТООБРАЗУЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ

А.С. ЛЫСЕНКО
В.В. ОСАДЧИЙ
А.А. ВИНОГРАДОВ

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail: alexanvin@yandex.ru

На крысах изучены показатели пигментообразующей функции печени при токсическом гепатите. Установлено, что изменение уровня общего билирубина происходило неравномерно, а соотношение между его прямой и непрямой фракцией было относительно постоянным. На 5-е и 25-е сутки эксперимента отмечалось увеличение его уровня. Это свидетельствовало о нарушении оттока желчи, как отображении билиарных проявлений интоксикации

Ключевые слова: токсический гепатит, билирубин.

В последнее время в большинстве развитых стран регистрируется увеличение заболеваний органов и систем организма человека, вызванных действием ксенобиотиков. В частности, это относится к поражениям печени и поджелудочной железы. Это связано с тем, что большинство ксенобиотиков имеют высокую гепатотоксичность. К ним относят производственные токсиканты, природные соединения и лекарственные средства [7]. По данным А. И. Арчакова и И.И. Карузиной (1998), около 80000 ксенобиотиков и более 200 лекарственных препаратов способны вызывать гепатотоксические эффекты [3]. Ежегодно более 1 млн человек страдают от побочных эффектов фармакотерапии. Около 180 тысяч из них умирают от осложнений, связанных с развитием печеночной недостаточности или острого панкреатита с исходом в панкреонекроз [11].

В этой связи исследования, направленные на изучение механизмов адаптации печени и поджелудочной железы к действию ксенобиотиков, являются актуальной проблемой практической и теоретической медицин [14, 15]. В большинстве научных исследований в качестве аналога ксенобиотиков в последнее время широко используется хлороформ [5, 9, 13]. Хлороформ обладает выраженными гепатотоксическими свойствами [1] и при попадании в организм, в первую очередь, вызывает нарушение всех видов обмена в печени.

Важность роли печени в пигментном обмене также трудно переоценить. Она участвует в: образовании конъюгации и экскреции билирубина, который образуется в клетках ретикулоэндотелиальной системы печени в результате катаболизма геминовой части гемоглобина и других гемсодержащих белков [4].

При поражениях печени в гепатоцитах нарушается процесс конъюгации билирубина с глюкуроновой кислотой, сопровождающийся регургитацией желчи обратно в синусоиды. Это связано с некрозом печеночных клеток, закупоркой внутрипеченочных желчных канальцев густой желчью в результате деструкции и воспаления, а также нарушением их проницаемости. Такая ситуация ведет к повышению уровня связанного билирубина в крови. Последний может подавлять внутриклеточные процессы биологического окисления, в основе которых лежит угнетение тканевого дыхания митохондрий и сопряженного с ним окислительного фосфорилирования, ингибирующий эффект билирубина нарастает параллельно повышению его содержания [8].

На сегодняшний день эти вопросы остаются актуальными и требующими дополнительного изучения механизмов адаптации печени к действию ксенобиотиков, в частности в условиях острой и хронической хлороформной интоксикации.

Цель исследования.

Изучение пигментоОбразующей функции печени при хлороформной интоксикации. Данная работа является частью научно-исследовательской работы Луганского национального педагогического университета имени Тараса Шевченко под номером государственной регистрации 01980002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материал и методы исследования.

Настоящее исследование выполнено на 35 белых беспородных половозрелых крысах-самцах массой 280-320 г в осенне-зимний период. В контрольную группу вошло 5 интактных животных. У животных опытной группы моделировали токсический гепатит с экспозицией 5, 10, 15, 20 и 25 суток.

Токсический гепатит моделировали путем одноразового перегревания животных в течение 20 мин в воздушном термостате с искусственной вентиляцией при температуре воздуха 45°С [6]. После перегревания животным в течение 20 суток 2 раза в неделю подкожно вводили хлороформ на оливковом масле из расчета 0,3 мл 80% раствора на 100 граммов массы животного.

Животные содержались в условиях вивария кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» на стандартном рационе. Уход за животными (включая анестезию и эвтаназию) осуществляли с соблюдением биоэтики согласно имеющимся приказам, которые регламентируют организацию работы с использованием экспериментальных животных. Были соблюдены принципы «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) [10], а также положения «Общих принципов экспериментов на животных», одобренные «Первым национальным конгрессом по биоэтике» (Киев, 2001).

Определение уровня билирубина проводили методом Йендрашика [13] в модификации Московского НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана [12]. Использовали готовый биохимический набор.

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с применением компьютерной программы Excel.

Результаты исследования и их обсуждение. До начала эксперимента исходный уровень общего билирубина составлял 7,1±1,65 мкмоль/л, прямого билирубина – 0,5±0,10 мкмоль/л, а непрямого билирубина – 5,9±0,90 мкмоль/л.

На 5-е сутки эксперимента уровень общего билирубина повышался в сравнении с исходным показателем в 2,272±0,086 раза при p<0,05. Уровень прямого билирубина повышался в 4,012±0,122 раза при p<0,01, а уровень непрямого билирубина – в 2,316±0,127 раза при p<0,01 (табл.).

Таблица

Показатели пигментообразующей функции печени при токсическом гепатите (мкмоль/л)

	Общий билирубин	Прямой билирубин	Непрямой билирубин
Интактные	7,1±1,65	0,5±0,10	5,9±0,90***
5 сутки	16,5±2,90***	2,3±0,30***	14,2±2,60**
10 сутки	7,9±1,15***	0,9±0,40**	6,9±0,90***
15 сутки	8,1±2,85**	1,0±0,55*	7,1±2,30**
20 сутки	6,5±1,60**	2,0±0,30**	4,4±1,55**
25 сутки	17,9±1,95***	3,3±0,85**	14,6±1,60***

* – p<0,1; ** – p<0,05; *** – p<0,01.

После 10-суточной экспозиции эксперимента уровень общего билирубина повышался относительно исходного показателя в 1,096±0,032 раза при p<0,01, но понижался в сравнении с 5-суточным показателем в 1,820±0,112 раза при p<0,05. Уровень прямого билирубина повышался в сравнении с исходным показателем в 1,792±0,122 раза при p<0,01, а в сравнении с предыдущим показателем – понижался в 2,465±0,106 раза при p<0,05. Уровень непрямого билирубина по отношению к исходным данным повышался в 1,154±0,079 раза при p<0,01 и понижался в сравнении с 5-суточным показателем в 2,023±0,024 раза при p<0,01 (табл.).

Через 15 суток от начала эксперимента уровень общего билирубина повышался относительно исходного показателя в 1,131±0,044 раза при p<0,05, а в сравнении с 10-суточным показателем – в 1,021±0,007 раза при p<0,05. Уровень прямого билирубина превышал исходный показатель в 1,978±0,522 раза при p<0,1, а предыдущий показатель – в 1,092±0,086 раза при p<0,1. Уровень непрямого билирубина по отношению к исходным данным повышался в 1,189±0,054 раза при p<0,05, а в сравнении с 10-суточным показателем – в 1,021±0,007 раза при p<0,05 (табл.).

После 20-суточной экспозиции эксперимента уровень общего билирубина относительно исходного показателя понижал в 1,084±0,027 раза при p<0,05, а в сравнении с 15-суточным показателем – в 1,233±0,071 раза при p<0,05. Уровень прямого билирубина повышался в сравнении с исходным показателем в 3,967±1,085 раза при p<0,01, а в сравнении с предыдущим показателем – в 1,944±0,237 раза при p<0,05. Уровень непрямого билирубина понижался в сравнении к исходными данными в 1,307±0,099 раза при p<0,05, а в сравнении с 15-суточным показателем – в 1,598±0,145 раза при p<0,05 (табл.).

На 25-е сутки от начала эксперимента уровень общего билирубина повышался относительно исходного показателя в 2,347±0,965 раза при p<0,05, а в сравнении с 20-суточным показателем – в 2,732±0,587 раза при p<0,001. Уровень прямого билирубина повышался в сравнении с исходным в 6,452±2,075 раза при p<0,05, а в сравнении с предыдущим показателем – в 1,622±0,132 раза при p<0,05. Уровень непрямого билирубина в сравнении с исходными данны-

ми повышался в 2,475±0,891 раза при p<0,001, а в сравнении с 20-суточным показателем – в 3,302±0,977 раза при p<0,001 (табл.).

Изменение уровня общего билирубина происходило неравномерно, а отношение между его прямой и непрямой фракцией было относительно постоянным: у животных контрольной группы 14,21±2,34 и 1,20±0,35, а в опытной группе животных – 6,54±1,77 и 1,13±0,05 соответственно. Коэффициент корреляции (R_{xy}) и его ошибка (r) указывали на обратную, сильную и достоверную связь изменения уровня прямого и непрямого билирубина от динамики уровня общего билирубина – R_{xy}±r=-0,929±0,079 при p<0,001.

Выводы.

В условиях токсического гепатита происходили грубые изменения пигментообразующей функции печени. Уровень общего билирубина повышался на 5-е и 25-е сутки эксперимента, но на 10, 15 и 20-е сутки он резко понижался. При этом отношение к уровню прямого и непрямого билирубина было ниже, чем у животных контрольной группы, что указывало на дестабилизацию пигментообразующей функции печени.

В перспективе дальнейших исследований целесообразно сопоставить полученные данные с другими показателями, отражающими функциональное состояние печени (определение активности антиоксидантной системы, показателей биохимических маркёров печеночной патологии, проведение гистологических исследований и определение параметров портальной гемодинамики).

Литература

1. Абдуллаев, Н. Х. Печень при интоксикациях гепатропными ядами / Н. Х. Абдуллаев, Х. Я. Каримов, – Ташкент : Медицина, 1989. – 96 с.
2. Акинчиц, М. А. Модификация унифицированного метода определения билирубина в сыворотке крови / М. А. Акинчиц, Н. А. Павловская // Лабораторное дело. – 1986. – № 12. – С. 727 – 730.
3. Арчаков, А. И. Окисление чужеродных соединений и проблемы токсикологии / А. И. Арчаков, И. И. Карузина // Вестн. АМН СССР. – 1988. – № 1. – С. 14-24.
4. Белокуров, Ю. И. Клиника и лечение острой печеночной недостаточности / Ю. И. Белокуров, В.В. Рыбачков. – Ярославль, 1982. – 95с.
5. Губский, Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губский. – Киев : Здоровье 1989. – 166 с.
6. Дрель, В. Ф. Спосіб моделювання цирозу печінки в лабораторних тваринах / В. Ф. Дрель // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2012. – № 8 (243). – С. 45-49.
7. Куцепко, С. А. Военная токсикология, радиобиология и медицинская защита: Учебник / [С. А. Куценко, Н. В. Бутомо, А. Н. Гребенюк]. – СПб : Фолиант, 2004. – 528 с.
8. Михайлов, В.В. Основы патологической физиологии: Руководство для врачей / В.В. Михайлов. – Москва : Медицина, 2001. – 704 с.
9. Мышкин, В. А. Экспериментальная коррекция постинтоксикационных нарушений / В. А. Мышкин, Д. А. Еникеев. – Уфа, 2005. – 349 с.
10. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
11. Holland, E. G. Drug-induced disorders / E. G. Holland, F. V. Degruy // Am. Fam. Physician. – 1997. – Vol. 56 (7). – P. 1781-1792.
12. Jendrassik, L. Photometrische Methoden zur Bestimmung des Blubilirubins / L. Jendrassik, P. Grof. // Biochem. Z. – 1938. – Vol. 297. – P. 81-89.
13. Kaplowitz, M. D. Biochemical and cellular mechanisms of toxic liver injury // Semin. Liver Dis. – 2002 (4). – P. 137-144.
14. Lewis, J. H. Drug-induced liver disease / J. H. Lewis, H. J. Zimmerman // Med. Clin. North. Am. – 1989. – Vol. 73 (4). – P. 775-792.
15. Zimmerman, H. J. Toxic and drug-induced hepatitis Text / H. J. Zimmerman, W. C. Maddrey // Diseases of the liver. – 1993. – P. 707-783.

CHOLOGENICINDICATORS OF LIVER FUNCTION AT TOXICALLY HEPATITIS

A.S. LYSENKO, V.V. OSADCHYI
A.A. VINOGZADOV

Lugansk Taras Shevchenko national university, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

Chologenic indicators of liver function at toxically hepatitiswere studied in rats. It was found that the change of the total bilirubin level was uneven, and the ratio between its direct and indirect fraction was relatively constant. On the 5th and 25th day of the experiment an increase was shown in the levels of total bilirubin; this may indicate some violation of the outflow of bile, as the mapping of biliary symptoms of intoxication.

Key words: toxically hepatitis, bilirubin.

УДК 616.61:615.099

АКТИВНОСТЬ МОЧЕВИНЫ И КРЕАТИНИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ХЛОРОФОРМНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ БЕЗ И НА ФОНЕ ВВЕДЕНИЯ АЛКИЛСЕЛЕНОНАФТИРИДИНА

Р.А. КОМНАЦКИ
А.А. ВИНОГРАДОВ

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail: alexanvin@yandex.ru

Проведено исследование на крысах с целью изучения влияния алкилселенонафтиридина (АСНР) на активность мочевины и креатинина сыворотки крови крыс в условиях хлороформной интоксикации. Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии АСНР на формирование адаптации почек к токсическому поражению ксенобиотиком. В результате исследования отмечалось, что механизмы адаптации развивались пропорционально экспозиции эксперимента. Выявлено позитивное влияние АСНР на адаптацию почек при хлороформной интоксикации. Это позволяет сделать вывод об антиоксидантном влиянии АСНР на механизмы адаптации организма к ксенобиотику.

Ключевые слова: почка, хлороформная интоксикация, алкилселенонафтиридин.

В связи с широкой распространенностью ксенобиотиков в природе и бытовой жизни человека исследование их токсического воздействия на организм является актуальной проблемой биологии и медицины [4, 9]. Это проблема диктует направленность исследований, связанных с изучением действия ксенобиотиков на органы и системы организма человека и животных, ранней диагностикой, лечением и разработкой профилактических мероприятий [8, 9].

Ряд ксенобиотиков обладает выраженной нефротоксичностью [4, 13]. Нефротоксичность может проявляться как вследствие прямого воздействия ксенобиотиков и их метаболитов на почки, так и опосредованно, что связано с изменением центральной и внутриорганной гемодинамики, кислотно-щелочного равновесия внутренней среды и образованием продуктов токсического разрушения клеточных элементов – гистотоксической гипоксии [4, 5, 13].

В настоящее время при моделировании острой и хронической интоксикации как аналог ксенобиотиков широко применяется хлороформ [1]. Однако вопросы, связанные с действием этого ксенобиотика, как и других нефротоксичных веществ, на функцию почек изучены недостаточно полно. Известно, что такие состояния инициируют оксидативный стресс [2, 5]. Однако практически нет данных о роли селенсодержащих веществ как антиоксидантов при токсическом поражении почек. В этой связи актуальным является превентивное экзогенное введение антиоксидантов, содержащих селен, например АСНР [6, 11].

Цель исследования.

Изучение влияния АСНР на активность мочевины и креатинина в сыворотке крови при хлороформной интоксикации. Данная работа является частью научно-исследовательской темы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ «Луганский национальный университета имени Тараса Шевченко» «Механизмы адаптации к действию окружающей среды (номер государственной регистрации 0198U002641).

Материал и методы исследования.

Исследование проведено на 50 белых крысах-самцах массой 220-290 г в осенне-зимний период. Контрольную группу составилИ 10 животных. Животных опытной группы разделили на две подгруппы. У животных первой подгруппы (1-ОГ) моделировали хлороформную интоксикацию [10]. У животных второй подгруппы (2-ОГ) моделировали хлороформную интоксикацию на фоне введения АСНР. Определяли активность мочевины и креатинина в сыворотке крови до начала эксперимента, через сутки, а затем на 5, 10, 15, 20, 25 и 30-е сутки [3,7]. Животных контрольной и опытной групп выводили из эксперимента на 30-е сутки.

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Microsoft Excel. Определяли среднюю арифметическую выборки (M); ошибку средней арифметической выборки (±m); вероятность ошибки (p<); коэффициент корреляции (R_{xy}); ошибку коэффициента корреляции (±r_{xy}).

Содержание животных и уход за ними осуществляли с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных», которые используются для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986) [11] и решений «Первого национального конгресса о биоэтике» (Киев, 2001).

Результаты исследования и их обсуждение. У животных контрольной группы в начале эксперимента активность мочевины была 5,3±0,44 ммоль/л (при $p<0,001$), а к концу эксперимента – 5,1±0,6 ммоль/л (при $p<0,01$).

Исходный показатель у животных опытной группы был 5,4±0,75 ммоль/л (при $p<0,01$) (рис. 1).

Через сутки после начала эксперимента активность мочевины у животных 1-ОГ повышалась в 1,65±0,121 раза ($R_{1\text{-ОГ/Исх}}$±r=0,867±0,087 при $p<0,01$) в сравнении с исходным показателем и составляла 8,82±0,72 ммоль/л (при $p<0,001$). Во 2-ОГ активность мочевины была 8,7±0,38 ммоль/л (при $p<0,001$), что было выше исходного показателя в 1,64±0,153 раза ($R_{2\text{-ОГ/Исх}}$±r=0,877±0,081 при $p<0,001$), но ниже, чем у животных 1-ОГ в 1,049±0,034 раза ($R_{2\text{-ОГ/1-ОГ.}}$±r=0,959±0,028 при $p<0,001$).

На 5-е сутки активность мочевины в 1-ОГ возрастала до 9,84±0,69 ммоль/л (при $p<0,001$), превышая показатель 2-х суток в 1,112±0,035 раза ($R_{1\text{-ОГ}5/2}$±r=0,954±0,031 при $p<0,001$), а исходный показатель – в 1,85±0,136 раза ($R_{1\text{-ОГ}5\text{/Исх}}$±r=0,898±0,068 при $p<0,001$). Во 2-ОГ данный показатель также возрастал до 9,29±1,32 ммоль/л (при $p<0,01$), что превышало показатель предыдущих суток в 1,06±0,105 раза ($R_{2\text{-ОГ}5/2}$±r=0,947±0,036 при $p<0,001$), было выше исходного значения в 1,73±0,074 раза ($R_{2\text{-ОГ}5\text{/Исх}}$±r=0,898±0,068 при $p<0,001$) и меньше, чем в 1-ОГ, в 1,096±0,056 раза ($R_{2\text{-ОГ/1-ОГ.}}$±r=0,917±0,056 при $p<0,001$).

Через 10 суток эксперимента активность мочевины у животных 1-ОГ составляла 24,41±3,71 ммоль/л (при $p<0,01$), превышала показатель 5-х суток в 2,49±0,12 раза ($R_{1\text{-ОГ}10/5}$±r=0,924±0,051 при $p<0,001$) и исходный показатель – в 4,61±0,473 раза ($R_{1\text{-ОГ}10\text{/Исх}}$±r=0,93±0,048 при $p<0,001$). У крыс 2-ОГ данный показатель составлял 12,02±1,15 ммоль/л (при $p<0,001$), что было выше 5-суточного показателя в 1,3±0,061 раза ($R_{2\text{-ОГ}10/5}$±r=0,938±0,042 при $p<0,001$) и исходного показателя – в 2,24±0,094 раза ($R_{2\text{-ОГ}10\text{/Исх}}$±r=0,948±0,036 при $p<0,001$). Это было меньше, чем в 1-ОГ, в 2,05±0,141 раза ($R_{2\text{-ОГ/1-ОГ.}}$±r=0,950±0,034 при $p<0,001$).

Через 15 дней активность мочевины в 1-ОГ продолжала повышаться относительно 10-дневного показателя в 3,69±0,061 раза ($R_{1\text{-ОГ}15/10}$±r=0,914±0,058 при $p<0,001$) и составляла 89,91±1,21 ммоль/л (при $p<0,001$). Это было выше исходного значения в 17,02±1,949 раза ($R_{1\text{-ОГ}15\text{/Исх}}$±r=0,913±0,058 при $p<0,001$). У крыс 2-ОГ активность мочевины была 56,51±3,15 ммоль/л (при $p<0,001$), что было выше показателя 10-х суток в 4,75±0,359 ($R_{2\text{-ОГ}15/10}$±r=0,946±0,037 при $p<0,001$) раза и исходного показателя – в 10,69±1,189 раза ($R_{2\text{-ОГ}15\text{/Исх}}$±r=0,889±0,074 при $p<0,001$). Это было меньше относительно 1-ОГ в 1,59±0,014 раза ($R_{2\text{-ОГ/1-ОГ.}}$±r=0,922±0,053 при $p<0,001$).

К 20-м суткам эксперимента активность мочевины в сыворотке крови крыс 1-ОГ достигала максимального уровня – 112,29±2,03 ммоль/л (при $p<0,001$), была выше предыдущих данных в 1,25±0,08 раза ($R_{1\text{-ОГ}20/15}$±r=0,972±0,019 при $p<0,001$) и превышала исходные данные в 21,3±2,4 раза ($R_{1\text{-ОГ}20\text{/Исх}}$±r=0,908±0,062 при $p<0,001$). Во 2-ОГ активность мочевины была выше 15-суточной экспозиции в 1,63±0,017 раза ($R_{2\text{-ОГ}20/15}$±r=0,972±0,019 при $p<0,001$), превышала исходное значение в 17,36±1,822 раза ($R_{2\text{-ОГ}20\text{/Исх}}$±r=0,935±0,044 при $p<0,001$) и была 91,92±2,88 ммоль/л (при $p<0,001$). Это было меньше, чем у животных 1-ОГ, в 1,225±0,018 раза ($R_{2\text{-ОГ/1-ОГ.}}$±r=0,932±0,046 при $p<0,001$).

Через 25 суток от начала эксперимента активность мочевины в сыворотке крови животных 1-ОГ стала понижаться в среднем до 87,57±2,35 (при $p<0,001$) ммоль/л, что было ниже данных 20-х суток в 1,29±0,02 раза ($R_{1\text{-ОГ}25/20}$±r=0,982±0,014 при $p<0,001$), но оставалось выше исходного показателя в 16,54±1,83 раза ($R_{1\text{-ОГ}25\text{/Исх}}$±r=0,862±0,091 при $p<0,01$). Во 2-ОГ также наблюдалось снижение активности мочевины до 81,55±1,8 ммоль/л (при $p<0,001$), что было ниже показателя 20-х суток в 1,13±0,013 раза ($R_{2\text{-ОГ}25/20}$±r=0,929±0,048 при $p<0,001$), но также выше исходного значения в 15,41±1,649 раза ($R_{2\text{-ОГ}25\text{/Исх}}$±r=0,931±0,046 при $p<0,001$). Это было ниже, чем в 1-ОГ, в 1,073±0,006 раза ($R_{2\text{-ОГ/1-ОГ.}}$±r=0,962±0,026 при $p<0,001$).

На 30-е сутки активность мочевины у крыс 1-ОГ продолжала снижаться и была 23,98±3,14 ммоль/л (при $p<0,01$), что было меньше предыдущего показателя в 3,66±0,098 раза ($R_{1\text{-ОГ}30/25}$±r=0,934±0,045 при $p<0,001$) и превышало исходное значение в 4,51±0,389 раза ($R_{1\text{-ОГ}30\text{/Исх}}$±r=0,913±0,058 при $p<0,001$). У животных 2-ОГ активность мочевины в сыворотке крови в последние сутки эксперимента составляла в среднем 18,93±1,02 ммоль/л (при $p<0,001$), что было ниже показателя 25-суточной экспозиции в 4,32±0,141 раза ($R_{2\text{-ОГ}30/25}$±r=0,973±0,019 при $p<0,001$) и выше исходного показателя в 3,56±0,293 раза ($R_{2\text{-ОГ}30\text{/Исх}}$±r=0,907±0,062 при

p<0,001). Это было меньше, чем у крыс 1-ОГ в 1,267±0,013 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,969±0,021 при p<0,001).

В контрольной группе крыс активность креатинина в сыворотке крови в начале наблюдения была в среднем 41,5±1,35 мкмоль/л (при p<0,001). Через 30 суток активность креатинина составляла 44,3±2,42 мкмоль/л (при p<0,001).

Исходный показатель составлял в среднем 40,4±2,14 мкмоль/л (при p<0,001) (рис. 2).

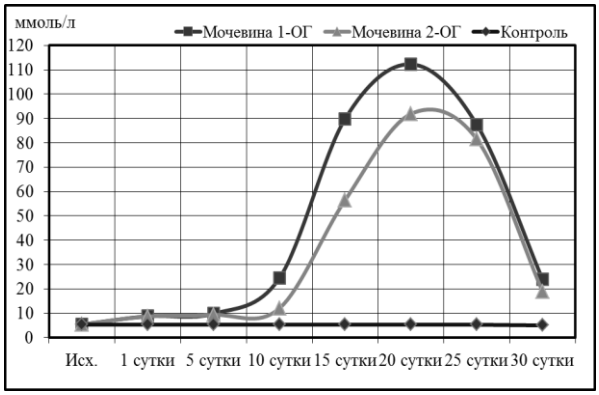


Рис. 1.
Динамика активности мочевины в сыворотке крови животных контрольной и опытных групп в зависимости от вида и экспозиции эксперимента

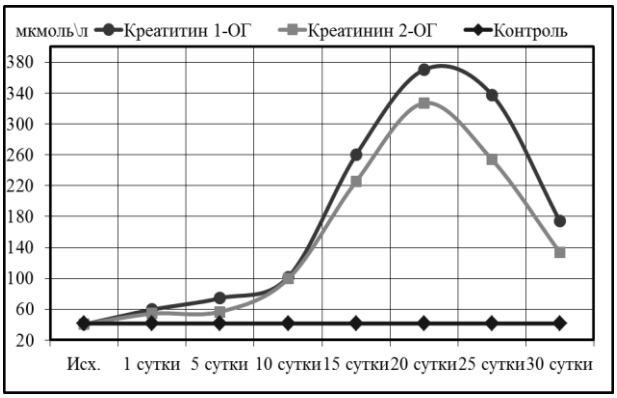


Рис. 2.
Динамика активности креатинина в сыворотке крови животных контрольной и опытных групп в зависимости от вида и экспозиции эксперимента

У животных 1-ОГ через сутки после начала эксперимента активность креатинина в сыворотке крови составляла 59,48±2,47 мкмоль/л (при p<0,001), что превышало исходный показатель в 1,47±0,036 раза ($R_{1\text{-ОГ}/\text{Исх}}$±r=0,905±0,064 при p<0,001). Во 2-ОГ активность креатинина ко 2-м суткам была 54,21±2,2 мкмоль/л (при p<0,001) и превышала исходный показатель в 1,34±0,027 раза ($R_{2\text{-ОГ}/\text{Исх}}$=0,931±0,047 при p<0,001). Это было ниже, чем у крыс 1-ОГ, в 1,097±0,015 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,945±0,038 при p<0,001).

На пятые сутки в 1-ОГ активность креатинина в сыворотке крови повышалась до 74,32±2,47 мкмоль/л (при p<0,001), что превышало данные предыдущих суток в 1,25±0,027 раза ($R_{1\text{-ОГ}5/2}$±r=0,893±0,071 при p<0,001), и исходный показатель в 1,84±0,05 раза ($R_{1\text{-ОГ}5/\text{Исх}}$±r=0,891±0,073 при p<0,001). У животных 2-ОГ активность креатинина на 5-е сутки эксперимента составляла 56,73±2,0 мкмоль/л (при p<0,001), была в 1,05±0,009 раза ($R_{2\text{-ОГ}5/2}$±r=0,983±0,012 при p<0,001) выше, чем предыдущий показатель и выше исходного показателя в 1,41±0,035 раза ($R_{2\text{-ОГ}5/\text{Исх}}$±r=0,906±0,063 при p<0,001). Это было меньше, чем в 1-ОГ, в 1,31±0,012 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,955±0,031 при p<0,001).

Через 10 дней эксперимента активность креатинина у крыс 1-ОГ продолжала повышаться до 101,47±3,12 мкмоль/л (при p<0,001), что превышало показатель 5-х суток в 1,37±0,028 раза ($R_{1\text{-ОГ}10/5}$±r=0,794±0,131 при p<0,01) и исходный показатель в 2,52±0,069 раза ($R_{1\text{-ОГ}10/\text{Исх}}$±r=0,947±0,036 при p<0,001). Во 2-ОГ на 10-е сутки также отмечалось повышение до 98,27±5,04 мкмоль/л (при p<0,001), что было выше 5-суточного показателя в 1,73±0,039 раза ($R_{2\text{-ОГ}10/5}$±r=0,902±0,065 при p<0,01) и превышало исходный показатель в 2,44±0,056 раза ($R_{2\text{-ОГ}10/\text{Исх}}$±r=0,913±0,059 при p<0,001). Это было меньше относительно данного показателя в 1-ОГ в 1,035±0,025 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,881±0,079 при p<0,001).

Спустя 15 суток эксперимента активность креатинина у крыс 1-ОГ превышала показатель 10-тых суток в 2,56±0,044 раза ($R_{1\text{-ОГ}15/10}$±r=0,884±0,077 при p<0,001) и исходное значение в 6,46±0,252 раза ($R_{1\text{-ОГ}15/\text{Исх}}$±r=0,933±0,046 при p<0,001) и была 259,97±8,52 мкмоль/л (при p<0,001). У крыс 2-ОГ активность креатинина составляла в среднем 225,3±5,62 мкмоль/л (при p<0,001), что было выше данного показателя за 10 суток в 2,3±0,06 раза ($R_{2\text{-ОГ}15/10}$±r=0,991±0,006 при p<0,001) и выше исходного показателя в 5,59±0,193 раза ($R_{2\text{-ОГ}15/\text{Исх}}$±r=0,872±0,094 при p<0,01). Это было ниже данного показателя в 1-ОГ, в 1,154±0,013 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,949±0,035 при p<0,001).

К 20-м суткам эксперимента активность креатинина в 1-ОГ достигала максимального значения – 370,16±4,53 мкмоль/л (при p<0,001), превышала показатель 15-х суток в 1,42±0,005 раза ($R_{1\text{-ОГ}20/15}$±r=0,962±0,026 при p<0,001) и исходное значение в 9,2±0,372 раза ($R_{1\text{-ОГ}20/\text{Исх}}$±r=0,972±0,019 при p<0,001). Во 2-ОГ данный показатель достигал 327,65±9,51 мкмоль/л (при p<0,001), был в 1,45±0,020 раза ($R_{2\text{-ОГ}20/15}$±r=0,897±0,069 при p<0,01), был выше

показателя 15-х суток и выше исходного показателя в 8,13±0,225 раза ($R_{2\text{-ОГ}20/\text{Исх}}$±r=0,910±0,060 при p<0,001), а также меньше, чем в 1-ОГ, в 1,13±0,02 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,947±0,036 при p<0,001).

На 25-е сутки от начала эксперимента активность креатинина в сыворотке крови животных 1-ОГ снижалась до 337,75±7,00 мкмоль/л (при p<0,001), что было ниже показателя 20-х суток в 1,1±0,009 раза ($R_{1\text{-ОГ}25/20}$±r=0,955±0,031 при p<0,001) и выше исходного показателя в 8,39±0,289 раза ($R_{1\text{-ОГ}25/\text{Исх}}$±r=0,929±0,048 при p<0,001). Во 2-ОГ данный показатель в среднем составлял 253,85±4,79 мкмоль/л (при p<0,001), что было ниже показателя 20-суточной экспозиции в 1,3±0,015 раза ($R_{2\text{-ОГ}25/20}$±r=0,970±0,021 при p<0,001) и превышало исходное значение в 6,3±0,221 раза ($R_{2\text{-ОГ}25/\text{Исх}}$±r=0,965±0,024 при p<0,001). Это было меньше, чем у крыс 1-ОГ в 1,33±0,006 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,963±0,025 при p<0,001).

Через 30 суток активность креатинина в сыворотке крови крыс 1-ОГ продолжала снижаться относительно показателя предыдущих суток в 1,94±0,013 раза ($R_{1\text{-ОГ}30/25}$±r=0,931±0,047 при p<0,001) и составляла174,08±2,82 мкмоль/л (при p<0,001). Однако это оставалось выше исходного показателя в 4,32±0,166 раза ($R_{1\text{-ОГ}30/\text{Исх}}$±r=0,924±0,051 при p<0,001). У животных 2-ОГ активность креатинина на 30-й день эксперимента составляла в среднем 133,51±4,48 мкмоль/л (при p<0,001), понижалась относительно показателя 25-х суток в 1,9±0,029 раза ($R_{2\text{-ОГ}30/25}$±r=0,956±0,03 при p<0,001), но также оставалась выше исходного показателя в 3,31±0,084 раза ($R_{2\text{-ОГ}30/\text{Исх}}$±r=0,940±0,041 при p<0,001). Это было меньше, чем у животных 1-ОГ, в 1,304±0,024 раза ($R_{2\text{-ОГ}/1\text{-ОГ.}}$±r=0,916±0,057 при p<0,001).

Заключение.

В процессе проведенного исследования было установлено, что хлороформная интоксикация оказывала влияние на сывороточные показатели мочевины и креатинина в зависимости от экспозиции эксперимента. Оказалось, что с увеличением экспозиции подключались механизмы адаптации почки к хронической интоксикации, что отражалось понижением активности конечных продуктов белкового обмена [3, 7]. Полученные данные позволяют предположить развитие адаптации почек к токсическому поражению ксенобиотиком. Выявлено позитивное влияние АСНР на адаптацию почек при хлороформной интоксикации. Однако эти вопросы требуют дальнейшего комплексного исследования.

Выводы:

1. При хлороформной интоксикации вплоть до 20 суток эксперимента нарушается экскреторная функция почек, что проявляется повышением активности мочевины и креатинина.

2. Введение АСНР инициирует механизмы адаптации организма, и в частности почек, к хлороформной интоксикации, что проявлялось понижением сывороточных концентраций обоих метаболитов у животных после введения АСНР.

Литература

1. Андреева, И. В. Изменение гидратации паренхимы печени крыс при интоксикации хлороформом / И. В. Андреева, А. А. Виноградов, Т. Н. Абросимова // Наукові праці V Міжрегіональної наукової конференції «Актуальні питання біології та медицини». – Луганськ: Альма-матер, 2007. – С. 13-15.

2. Аруин, Л. И. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций / Л. И. Аруин, А. Г. Бабаева В. Б. Гельфанд. – М. : Медицина. – 1997. – С. 445.

3. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М.: МЕДПресс-информ, 2004. – 920 с.

4. К сравнительной оценке токсичности ксенобиотиков / [В. Б. Долгосабуров, Н. П. Подосиновикова, В. В. Петров, и др.] // Токсикологический вестник. – 2008. – № 1. – С. 34-36.

5. Кулинский, В.И. Обезвреживание ксенобиотиков / И. В. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. – 1999 – № 1. – С. 8-12.

6. Лобко, С. А. Влияние селена на адаптацию сердца и головного мозга к хлороформной интоксикации по данным активности каталазы / С. А. Лобко, А. А. Панкратьев // Наукові праці VIII Міжрегіональної наукової конференції «Актуальні питання біології ти медицини». – Луганськ, 28 травня 2010 р. – Луганськ : ДЗ «ЛНУ імені Тараса Шевченка», 2010. – С. 43-45.

7. Маршалл, В. Дж. Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл. – М. : СПб.: «БИНОМ-Невский диалект», 2000. – 368 с.

8. Орфологические особенности реакции печени крыс на хроническое воздействие ксенобиотиками / [Х. Я. Каримов, Ф. Ш. Иноятов, Ш. Н. Дадажанов, Р. И. Исраилов] // Морфология. – 2002. – Т. 122, № 5. – С. 25-27;

9. Мухамбетова, Л. Х. Разработка биохимических подходов к оценке влияния на организм ксенобиотиков /Л. Х. Мухамбетова // Гигиена и санитария. – 2004. – №6. – С. 24-26;

10. Патент 7218 Украины A61D 7/00. Спосіб моделювання цирозу печінки / Виноградов О. А., Андреева І. В., Дрель В. Ф.; ДЗ «Луганський національний університет імені Тараса Шевченка» – Бюл. промислової власності. – 10.08.2012. – № 15;
11. Эстренюк, Г. М. Влияние селена на некоторые метаболические процессы при кадмиевой интоксикации / Г. М. Эстренюк // Врачебное дело. – 2004. – № 2. – С. 65-67;
12. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.;
13. Mechanism of chloroform-induced renal toxicity: Non-involvement of hepatic cytochrome P450-dependent metabolism. / [Cheng Fang, Melissa Behr, Fang Xie, Shijun Lu] Toxicol Appl Pharmacol. – 2008. – 227(1). – P. 48-55.

ACTIVITY OF UREA AND KREATININE IN THE BLOOD SERUMCHLOROFORM INTOXICATION WITHOUT AND ON A BACKGROUND INTRODUCTION OF ALKILSELENONAPHTIRIDIN

R.A. KOMNATSKI
A.A. VINOGRADOV

Lugansk Taras Shevchenko National University, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

We performed the investigation on rats to study the influence of alkilselenonaphtiridin (ASNR) on the dynamics activity of urea and creatinine in the blood serum of rats with chloroform intoxication. The data obtained indicate the positive influence of ASNR on the formation of the renal adaptation to the toxic damage of xenobiotic. The result of research determined that mechanisms of adaptation have developed in proportion to the exposure of experiment. We revealed a positive effect of ASNR on the adaptation of kidneys in chloroform intoxication. It allows to make conclusions about the antioxidant effect of ASNR on the mechanisms of the adaptation to xenobiotics.

Key words: kidney, chloroform intoxication, alkilselenonaphtiridin.

УДК 616.36:615.849.1

ВЛИЯНИЕ ТЕЛЕГАММАТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ МАРКЕРОВ ПЕЧЕНОЧНОЙ ПАТОЛОГИИ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ОБЛУЧЕНИИ ПЕЧЕНИ КРЫС

А.А. ВИНОГРАДОВ
Д.А. СТРЮКОВ

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail: alexanvin@yandex.ru

В статье описываются результаты исследования по изучению влияния телегамматерапии на показатели маркеров печеночной патологии в сыворотке крови крыс. Установлено, что при локальном облучении области печени наблюдаются выраженные нарушения в обмене веществ, которые проявляются увеличением активности сывороточных ферментов, связанных с деятельностью печени, угнетаются процессы в желчеобразовании. Кроме этого в печени изменяются белковый, жировой и углеводный обмены. Сделан вывод, что изменения показателей маркеров печеночной патологии в сыворотке крови определяются функциональным участием гепатоцитов в ответе на лучевое воздействие.

Ключевые слова: телегамматерапия, печень, биохимические исследования.

Лечение опухолей печени относится к наиболее сложному разделу клинической онкологии. По данным экспертов ВОЗ в мире ежегодно умирает более 1 млн. человек от рака печени. Первичный рак печени стоит на восьмом месте в ряду наиболее распространённых опухолей в мире. Более 90% всех злокачественных новообразований печени составляют вторичные или метастатические злокачественные опухоли. В печень метастазируют все виды злокачественных опухолей, за исключением первичных опухолей мозга. По локализации метастатического рака печень занимает первое место среди всех органов. При аутопсии метастазы в печени выявляются у 30–50% всех онкологических больных. Считается, что общее число больных с метастазами в печень составляет одну треть от количества всех онкологических больных [9], и если учесть в целом плохой прогноз, то метастатический рак печени – чрезвычайно значимая и актуальная медицинская проблема.

Все виды лечения метастатических опухолей печени, известные в настоящее время, малоэффективны. Поэтому многие врачи общей практики и даже многие онкологи относятся к пациентам с вторичным опухолевым поражением печени как к изначально инкурабельным больным, которым проводят только симптоматическую терапию. Крайне изредка удаётся хирургическим путём удалить крупные солитарные метастазы. Химиоэмболизация, регионарная химиотерапия, чрезкожная деструкция метастазов этанолом – тоже всего лишь паллиативные методы. С учётом изложенного выше, становится понятным актуальность исследований, направленных на увеличение эффективности лечения злокачественных опухолей печени [4, 6, 7,18].

На сегодняшний день дистанционная лучевая терапия является наиболее доступным и простым, в техническом плане, методом, который даже при множественных метастазах в печень у ряда больных позволяет получить определенный положительный эффект в виде не только уменьшения выраженности симптомов заболевания, но и увеличения продолжительности жизни [2]. Но до сих пор нет единого мнения о целесообразности использования лучевой терапии при лечении таких пациентов.

При анализе литературы, обращает внимание большое количество разногласий на данную проблему. Есть мнение, что лучевая терапия, как правило, неэффективна и может быть использована лишь в послеоперационном периоде [7,14]. Противоположное мнение опирается на данных об успешном применении лучевой терапии у больных с метастазами опухоли в печень [4,13] . Сегодня широкому использованию дистанционной лучевой терапии в лечении метастазов опухоли в печень препятствует опасение вызвать лучевое повреждение печени. Тем не менее, практически нет данных о биохимических нарушениях в ранних сроках после облучения.

Цель исследования.

Изучить влияния телегамматерапии (ТГТ) на показатели маркеров печеночной патологии в сыворотке крови при локальном облучении печени крыс. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ

«Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» под номером государственной регистрации 0198U002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материал и методы исследования.

Исследования проводились на 15 половозрелых крысах-самцах линии Вистар с массой 220-280 г, содержавшихся на стандартном рационе вивария с естественной сменой дня и ночи. Животные были разделены на две группы (контрольная – 5 животных и опытная – 10 животных). При проведении экспериментов ежедневно наблюдали за общим состоянием животных, потреблением корма и воды; один раз в неделю определяли массу тела.

Животные опытной группы прошли курс локальной лучевой терапии на область печени под аппаратом «Луч-1» (СОД 30 Гр. за 10 фракций).

Условия облучения: облучение области печени выполняли с одного переднего прямого поля 4х4 см, угол 0°, РИП 75 см, 1 раз в день, 5 дней в неделю.

Общий срок наблюдения за животными составил 20 дней, в течение которых у всех подопытных и контрольных крыс клиническое состояние не выходило за пределы физиологической нормы, потребление корма и воды также соответствовали нормальным потребностям.

На пятые сутки после последней фракции облучения опытной группы крысы обеих групп были выведены из эксперимента с соблюдением правил биоэтики. Забор крови у животных для биохимического анализа производился при помощи шприца из сердца в объеме 5 мл. В соответствии с заданием нашей работы исследовались критерии токсичности гепатоцитов: уровень общего белка, альбумина и церулоплазмина (ЦП), общего и прямого билирубина, мочевины, креатинина, мочевой кислоты, общего холестерина и триглицеридов (ТГ), липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП); активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочная фосфатазы (ЩФ) и лактатдегидрогеназы (ЛД), гамма-глютамилтрансферазы (ГГТ) и панкреатической α-амилазы. Анализы крови выполняли на автоматическом клиническом анализаторе «Sapphire» (Япония – фирма «Tokyo Boeki ltd») с использованием стандартного набора реактивов польской фирмы «Cormay».

Содержание крыс и уход за ними (включая анестезиологическое обеспечение и эвтаназию) осуществляли с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных», которые используются для экспериментальных и других научных целей [15].

Статистическую обработку результатов исследований проводили методом вариационной статистики с помощью пакета прикладных программ «Statlab» и «Microsoft Exel».

Результаты исследования и их обсуждение.

Полученные результаты свидетельствовали о сравнительно небольшом уменьшении (на 4,9% по отношению к контрольной группе) количества общего белка, увеличении количества альбуминов на 7,3% у животных опытной группы. Уровень церулоплазмина в сыворотке крови значительно повышался – на 40,8% в сравнении с контролем (табл. 1).

Таблица 1

Динамика уровня общего белка и его фракций после телегамматерапии

Группа животных	Общий белок (г/л)	Альбумин (г/л)	Церулоплазмин (мг/дл)
Контрольная	77,0±3,22	36,1±0,89	54,5±2,27
Опытная	73,2±2,12	38,8±0,85	75,7±4,87

После облучения у животных повышался уровень общего и прямого билирубина в сыворотке крови на 305,9% и 8,4% соответственно (табл. 2).

Таблица 2

Динамика уровня общего и прямого билирубина после телегамматерапии

Группа животных	Общий билирубин (мкмоль/л)	Прямой билирубин (мкмоль/л)
Контрольная	26,7±1,80	6,5±0,09
Опытная	81,4±25,71	46,3±24,73*

Примечание. * – не достоверные показатели.

В процессе исследования выявлено изменение показателей азотистого обмена. Уровень мочевины у животных опытной группы понижался на 15% в сравнении с контролем, а креатинина и мочевой кислоты – повышался на 10,8%. и 377% соответственно (табл. 3).

Таблица 3

Динамика показателей маркеров азотистого обмена после телегамматерапии

Группа животных	Мочевина (ммоль/л)	Креатинин (мкмоль/л)	Мочевая кислота (мкмоль/л)
Контрольная	9,2±0,55	60,3±0,41	76,4±5,91
Опытная	7,8±0,79	66,8±6,69	364,7±66,14

После телегамматерапии в сыворотке крови были выявлены изменения уровня маркеров липидного обмена. Уровень общего холестерина понижался на 26% по сравнению с контролем, а триглицеридов – на 285%. Уровень фракций липопротеинов изменялся неоднозначно: уровень ЛПВП понижался на 58%, а ЛПНП и ЛПОНП – повышался на 19,5% и 285% соответственно (табл. 4).

Таблица 4

Динамика показателей маркеров липидного обмена после телегамматерапии

Группа животных	ОХ (ммоль/л)	ТГ (ммоль/л)	ЛПВП (ммоль/л)	ЛПНП (ммоль/л)	ЛПОНП (ммоль/л)
Контрольная	1,96±0,159	0,89±0,127	0,99±0,05	0,42±0,016	0,31±0,023
Опытная	1,45±0,404	3,42±2,862	0,42±0,146	0,50±0,174	0,91±0,625

Исследование ферментной активности в сыворотке крови выявило у животных опытной группы повышение активности всех изучаемых ферментов. Активность АЛТ и АСТ повышалась на 135% и 33,6% в сравнении с контролем, а ГГТ – на 327%. Активность ЩФ, ЛДГ и α-амилазы повышалась на 52,8%, 62% и 46% соответственно (табл. 5).

Таблица 5

Динамика показателей маркеров ферментной активности после телегамматерапии

Группа животных	АЛТ (Ед/л)	АСТ (Ед/л)	ЩФ (Ед/л)
Контрольная	123,4 ±13,31	287,7 ±13,02	135,1 ±7,13
Опытная	290,3 ±17,47	384,3 ±87,11	206,3 ±104,99
Группа животных	ЛДГ (Ед/л)	ГГТ (Ед/л)	α-амилаза (Ед/л)
Контрольная	1305,2 ±25,82	28,6 ±0,80	526,1 ±24,48
Опытная	2112,0 ±513,01	122,0 ±38,54	767,8 ±130,38

Заключение.

В процессе исследования установлено, что после курса телегамматерапии на область печени происходили существенные изменения биохимических показателей в сыворотке крови, которые были характерны для печеночной патологии. Мы поддерживаем мнение ряда исследователей, которые указывают на необратимые изменения паренхимы печени при локальном ее облучении (поглощенная доза 40 Гр и более) [3, 11].

Одним из важных показателей функционального состояния печени является динамика уровня общего белка сыворотки крови и отдельных его фракций [8]. При патологических состояниях отмечается увеличение альбуминов и ЦП вследствие изменения их синтеза в печени [9]. Кроме этого, оказывает влияние и антиоксидантная активность ЦП, которая, по-видимому, объясняет его активизацию, связанную с образованием свободных радикалов и активных форм кислорода под действием ионизирующего облучения [1, 8]. По-видимому, данный белок участвует в запуске механизмов повышения радиорезистентности организма, и в частности печени, к ионизирующему облучению. Но решение этот вопроса требует направленных исследований.

После облучения у животных повышался уровень общего и прямого билирубина в сыворотке крови. Это могло быть связано с повышением катаболизма гемоглобина, превышающе-

го способность печени экскретировать билирубин, или с повреждением печени, которое вело к нарушению секреции билирубина в желчь [16, 17]. Увеличение количества билирубина в группе могло быть связано и с нарушением билирубин-выделительной функцией печени.

Понижение уровня мочевины в плазме можно трактовать как нарушение функции обезвреживания аммиака в печени. Мочевина синтезируется в печени при реакции дезаминирования аминокислот и понижение ее уровня после телегамматерапии можно связать с нарушением синтетической функции печени, обусловленной гибелью гепатоцитов [10].

Печень – центральный орган метаболизма липидов, клетки которого обладают хорошо выраженной сетью мембран и набором органелл. В печени утилизируется до 60% всех жирных кислот. Она участвует в синтезе и распаде фосфолипидов, синтезе ТГ и холестерина [5]. Понижение уровня общего холестерина после телегамматерапии связано с понижением уровня ЛПВП, которые ответственны за метаболизм липидов. Показатели липопротеинового спектра сыворотки крови указывают на наличие взаимосвязи между увеличением уровня ЛПОНП, которые являются главной транспортной формой эндогенных ТГ, и увеличением содержания триглицеридов в сыворотке крови облученных животных. Повышение уровня ЛПНП в сыворотке крови облученных животных указывает на развитие холестаза, который вызван лучевым поражением печени. Полученные в процессе исследования данные указывали на изменение липидного обмена под действием радиационного облучения печени. Дислипидемия проявлялась понижением содержания общего холестерина и ЛПВП на фоне повышения уровня ТГ, ЛПНП и ЛПОНП в сыворотке крови животных опытной группы, что является признаками гибели гепатоцитов.

Аминотрасферазы участвуют в метаболизме аминокислот. Изменение их активности указывает на грубые изменения в печени. Изменение активности АЛТ является достоверным признаком поражения печени [1, 5, 8]. У животных опытной группы активность аминотрансферазных ферментов повышалась с выраженным акцентом на повышение активности АЛТ.

Повышение активности ЩФ и ГГТ связано с развитием воспалительного процесса в гепатоцитах [6,12] под действием телегамматерапии, а повышение активности α-амилаза – с изменениями в поджелудочной железе и воспалительными процессами в брюшной полости.

Выводы.

После телегамматерапии изменение биохимических показателей сыворотки крови связаны с нарушением обмена веществ инициируемого грубым поражением печени.

Литература

1. Комаров, Ф. И. Биохимические показатели в клинике внутренних болезней / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин. – М. : «МЕДпресс-информ». – 2002. – С. 134-136.
2. Лазаревич, Н. В. Радиобиология: курс лекций: в 4 ч. – Ч. 3. Радиобиология животных и человека / Н. В. Лазаревич, И. И. Сергеева, С. С. Лазаревич. – Горки : БГСХА, 2012. – 103 с.
3. Лекции по клинической онкологии: учеб. пособие/ [Г. В. Бондарь, С. В. Антипова, А. Ю. Попович и др.] – Луганск : Луганская областная типография, 2009. – 586 с.
4. Литвиненко, А. А. Лечение метастатических опухолей печени / А. А. Литвиненко, С. А. Лялькин // Проблемы медицины. – 2000. – № 4. – С. 12-15.
5. Некоторые аспекты биологического действия малых доз радиации / [В. Я. Готлиб, И. И. Пелевина, Е. Ф.Конопля и др.] // Радиобиология. – 1991. – Т. 31, № 3. – С. 318-325.
6. Семикоз, Н. Г. Метастатическое поражение печени: варианты комбинированного лечения / Н. Г. Семикоз, М. Л. Тараненко, Н. Г. Куква // УРЖ. – 2007. – № 2 – С. 185-186.
7. Современные подходы к лечению больных с метастатическими опухолями печени / [С. А. Шалимов, А. А. Литвиненко, С. А. Лялькин и др.] // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2001. – №3 (11). – С. 8-19.
8. Физиология человека / под ред. В. М. Покровского, Г. Ф. Коротько. 2-е изд., перераб. и доп. – Москва, 2003. – 656 с.
9. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули. – Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 864 с.
10. Яралова, П. В. Роль печени в патогенезе острой лучевой болезни / П. В. Яралова, Л. Б. Пинчук // Радиобиология. – 1976. – Т. 16., № 2. – С. 245-248.
11. Ярмоненко, С. П. Радиобиология человека и животных: учеб. пособие / С. П. Ярмоненко. – М.: Высш. шк., 2004. – 549 с.
12. A prospective study of the causes of notably raised aspartate aminotransferase of liver origin / [M. W. Whitehead, N. D. Hawkes, I. Hainsworth, J. G. Kingham // Gut. – 1999. – Vol. 45. – P. 129-133.
13. Biochemical and cellular mechanism of low-dose effects / [L. E. Feinendegen, V. P. Bond, J. Booz et al.] // Intern. Radiat. Biol. – 1988. – Vol. 53 (1). – P. 23-37.
14. Gopal, D. V. Abnormal findings on liver function tests. Interpreting results to narrow the diagnosis and establish a prognosis / D. V. Gopal, H. R. Rosen // Postgrad Med. – 2000. – Vol. 107. – P. 100-114.

15. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
16. Johnston, D. E. Special considerations in interpreting liver function tests / D. E. Johnston // Am. Fam. Phys. – 1999. – Vol. 59. – P. 2223-2230.
17. Kamath, P. S. Clinical approach to the patient with abnormal liver test results / P. S. Kamath // Mayo. Clin. Proc. – 1996. – Vol. 71. – P. 1089-1095.
18. Pratt, D. S. Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients / D. S. Pratt, M. M. Kaplan // N Engl. J. Med. – 2000. – Vol. 342. – P. 1266-1271.

INFLUENCE OF KILOCURITHERAPY ON THE INDEXES OF MARKERS OF HEPATIC PATHOLOGY IN THE WHEY OF BLOOD AT THE LOCAL IRRADIATION OF LIVER OF RATS

A.A. VINOGRADOV
D. A. STRYUKOV

Lugansk Taras Shevchenko national university, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

The paper describes the results of a study on the impact on the performance radiotherapy markers of liver disease in the blood serum of rats. We found that when the local radiation on the liver, there are marked disturbances in metabolism that manifest increase in the activity of serum enzymes associated with the activity of the liver, bile production processes are inhibited. In this modified protein, lipid and carbohydrate metabolism in the liver. It was concluded that changes in indicators of liver disease markers in blood serum determined functional participation of hepatocytes in response to radiation exposure.

Key words: local irradiation, liver biochemical parameters.

УДК 612.08+616.074:612.766+616.36-002

ПОКАЗАТЕЛИ ПЕЧЕНОЧНЫХ МАРКЕРОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ ДО И ПОСЛЕ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ

В.Ф. ДРЕЛЬ
А.А. ВИНОГРАДОВ

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail: alexanvin@yandex.ru

Изучены сывороточные маркеры печеночной патологии до и после физической нагрузки на фоне токсического поражения печени путем хлороформной интоксикации. Динамика биохимических показателей после физической нагрузки на фоне гепатита, с одной стороны, указывала на развитие токсического гепатита, а с другой – на дистрофические поражения вследствие чрезмерного физического перенапряжения на фоне уже имеющихся патологических изменений в печени. Установлено, что в ранние сроки наблюдения более выражены были изменения в печени. В поздние – выявлены изменения в сердце, которые характеризовались ишемическим поражением миокарда. После 30-суточного моделирования физической нагрузки на фоне гепатита в печени развивались грубые деструктивные изменения, характерные для жировой дистрофии.

Ключевые слова: физическая нагрузка, гепатит.

Во время физической нагрузки (ФН) у спортсменов при патологических изменениях в печени может развивать хронический печеночный болевой синдром [11, 15]. Тем не менее, ряд авторов считает, что ФН для больным хронических и острым гепатитом полезна и должна дозироваться с учетом естественных пределов пациента ФН [20]. Однако на сегодняшний день нет достаточно полных клинических и экспериментальных данных о влиянии ФН на биохимические печеночные маркеры [18].

Дозированная ФН на фоне печеночной патологии может применяться как тест функциональной деятельности печени и сердечно-сосудистой системы в клинике и при экспериментальных исследованиях. Она способствует выявлению первичных патобиохимических изменений [5, 7]. Однако этот вопрос не изучен достаточно полно.

Цель исследования.

Изучить биохимические сывороточные маркеры печеночной патологии после ФН на фоне экспериментального гепатита. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» под номером государственной регистрации 0198U002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материал и методы исследования.

Исследование проведено на белых крысах самцах в осенне-зимний период. Контрольную группу составили 10 интактных животных. Экспериментальный токсический гепатит (ЭГ) моделировали на 60 крысах с применением одноразового перегревания животных в течение 20 мин в воздушном термостате с искусственной вентиляцией при температуре воздуха 45° С [2]. Потом животным в течение 30 суток 2 раза в неделю подкожно вводили хлороформ на оливковом масле из расчета 0,3 мл 80% раствора на 100 граммов массы животного. Физическую нагрузку (ФН) моделировали принудительным бегом. Животных ежедневно подвергали 90-минутному утомлению беговой нагрузкой во вращающемся барабане с начальной скоростью вращения 23 об/мин. Постепенно скорость вращения барабана доводили до 42-45 об / мин [3].

В сыворотке крови определяли: уровень общего и прямого билирубина; активность аминотрансаминаз, гаммаглютаминтрансферазы (ГГТ), щелочной фосфатазы (ЩФ); уровень общего белка, альбуминов, лактатдегидрогеназы (ЛД), общего холестерина (ОХ), триглицеридов (ТГ), липопротеидов [8]. Кровь, печень и миокард желудочков сердца брали на исследование в начале наблюдения, через 24 часа, 5, 10, 15, 20 и 30 суток. Препараты печени окрашивали гематоксилин-эозином и пикрофуксином по ван Гизону [10], а миокард желудочков сердца – гематоксилин-основным фуксином-пикриновой кислотой (ГОФП) [9].

Полученные данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью лицензионной компьютерной программы Microsoft Excel 2007.

Содержание крыс и уход за ними (включая анестезиологическое обеспечение и эвтаназию) осуществляли с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных», которые используются для экспериментальных и других научных целей [13].

Результаты исследования и их обсуждение. Проведенный анализ биохимических показателей в сыворотке крови, определенных до и после физической нагрузки (ФН) на фоне экспериментального гепатита (ЭГ), показал, что в зависимости от экспозиции эксперимента были выявлены более или менее выраженные изменения печеночных функций. В процессе 30-суточного эксперимента, который включал ФН на фоне ЭГ, было выявлено повышение уровня общего и прямого билирубина (рис. 1 и 2).

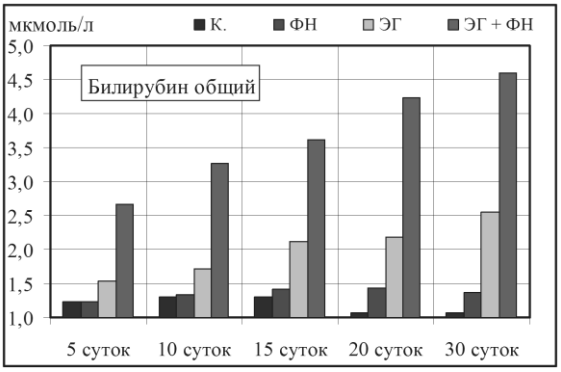


Рис. 1. Уровень общего билирубина в сыворотке крови в ходе 30-суточного эксперимента. К. – контроль; ФН – физическая нагрузка; ЭГ – экспериментальный гепатит; ЭГ + ФН – физическая нагрузка на фоне экспериментального гепатита.

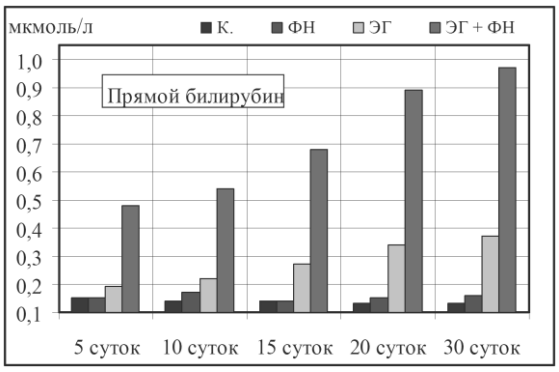


Рис. 2. Уровень прямого билирубина в сыворотке крови в ходе 30-суточного эксперимента (обозначения, рис. 1).

Установлено, что после ФН на фоне ЭГ активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) повышалась. Повышение активности АЛТ и АСТ являлось достоверным маркером повреждения печени. Однако повышение активности АЛТ считается более специфичным для поражения печени. АСТ кроме печени содержится практически во всех органах и, в частности, в сердце, вследствие этого повышение этой аминотрансферазы не всегда специфично для поражения печени [13]. Поэтому клиническое значение имеет соотношение АСТ/АЛТ (коэффициент де Ритиса). В нашем исследовании до 15-суточной экспозиции эксперимента коэффициент де Ритиса понижался, что указывало на грубые трансформации гепатоцитов (рис. 3). Повышение коэффициента де Ритиса вместе с повышением активности аминотрансфераз указывало на изменения не только в печени, но и в миокарде желудочков сердца.

На поражение миокарда желудочков сердца указывала динамика активности лактатдегидрогеназы (ЛД) – фермента, выявляющего тканевое повреждение с высокой специфической активностью при поражении печени и миокарда [12, 19]. На ранних стадиях эксперимента после ФН на фоне ЭГ активность ЛД была выше контроля и показателя, определенного после ФН без моделирования гепатита. Однако в сравнении с показателем, определенным после моделирования гепатита без ФН, активность ЛД была ниже. В поздние сроки наблюдения активность ЛГ во всех случаях была выше контроля, а также показателей, определенных после ФН без моделирования гепатита и при моделировании гепатита без ФН (рис. 4). Такая динамика активности ЛГ указывает на преимущественное поражение печени в ранние сроки наблюдения и поражение печени и сердца в поздние сроки наблюдения, что подтверждено гистологическими исследованиями сердца.

На гистологических срезах миокарда желудочков сердца, окрашенных гематоксилином-основным фуксин-пикриновой кислотой, были выявлены фуксинофильные очаги, которые свидетельствовали об ишемии миокарда с нарушением метаболизма мышечного волокна.

Установлено, что повышение активности щелочной фосфатазы в сочетании с изменениями показателей печеночных маркеров указывает на поражение печени [15]. В наших исследованиях во всех случаях после ФН на фоне ЭГ активность ЩФ была выше контроля, а также показателей, определенных после моделирования гепатита без ФН и физической

нагрузки без моделирования гепатита.

При повреждении гепатоцитов уровень общего холестерина (ОХ) и триглицеридов (ТГ) в сыворотке повышается в связи с накоплением липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), которые богаты ТГ. Наряду с увеличением содержания ТГ повышается уровень липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП), что ведет к развитию жировой дистрофии печени (рис. 6) [3]. Анализ исследований метаболизма липидов после ФН на фоне ЭГ указывал на повреждение гепатоцитов как в ранние, так и в поздние сроки эксперимента, что проявлялось повышение уровня ОХ, ТГ, ЛПВП, ЛПНП и ЛПОНП.

Выводы.

Динамика биохимических показателей после ФН на фоне ЭГ, с одной стороны, указывала на развитие токсического гепатита, а с другой – на дистрофические поражения вследствие чрезмерного физического перенапряжения на фоне уже имеющихся патологических изменений в печени [15].

Проведенное исследование наряду с решением вопроса о динамике биохимических показателей после ФН на фоне ЭГ задает ряд вопросов, связанных с изменениями портальной гемодинамики. Эти вопросы будут обсуждены в последующих наших исследованиях.

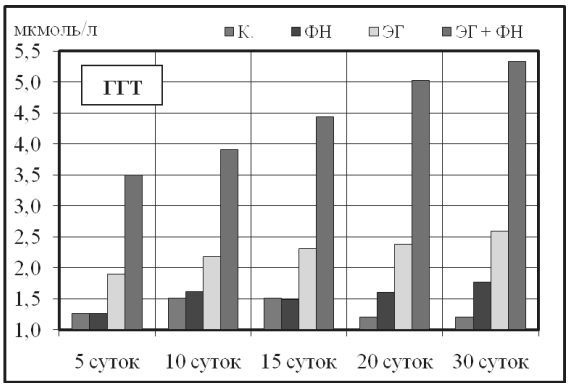


Рис. 5. Активность гаммаглютамилтрансферазы в сыворотке крови в ходе 30-суточного эксперимента (обозначения, рис. 5.1).

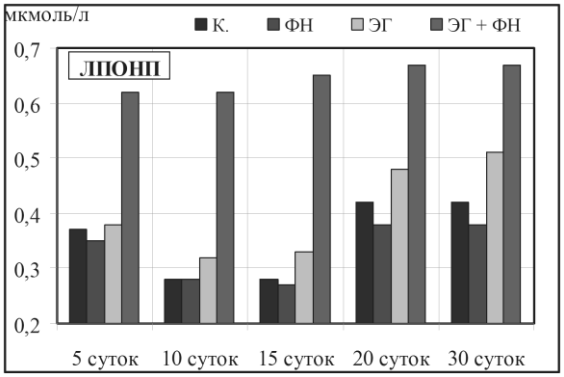


Рис. 6. Уровень липопротеидов очень низкой плотности в ходе эксперимента (обозначения, рис. 1).

Литература

1. Блюгер, А. Ф. Практическая гематология / А. Ф. Блюгер, И. Н. Новицкий. – Рига : Звайгзне, 1984. – 405 с.

2. Дрель, В. Ф. Спосіб моделювання цирозу печінки в лабораторних тваринах / В. Ф. Дрель // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка. – 2012. – № 8 (243). – С. 45-49.

3. Дрель, В. Ф. Морфофункциональные изменения в печени при физической нагрузке на фоне токсического гепатита / В. Ф. Дрель, А. А. Виноградов // Український морфологічний альманах. – 2011. – Т. 9, № 3. – С. 96-99.

4. Кишкун, А. А. Руководство по лабораторным методам диагностики / А. А. Кишкун. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 780 с.

5. Комаров, Ф. И. Биохимические исследования в клиник / Ф. И. Комаров, Б. Ф. Коровкин, В. В. Меньшиков. – Элиста : Джангар, 2001.– 216 с.

6. Маршал, В. Д. Клиническая биохимия / В. Д. Маршал. – М. : Медицина, 2002. – С. 96-110.

7. Меерсон, Ф. З. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова. – М. : Медицина, 1988. – 256 с.

8. Общие и специальные методы исследования крови птиц промышленных кроссов / [Н. В. Садовников, Н. Д. Придыбайло, Н. А. Верещак, А. С. Заслонов. – Екатеринбург; СПб. : Уральская ГСХА, НПП «АВИВАК», 2009. – С. 37-39.

9. Применение окраски гематоксилином-основным фуксином-пикриновой кислотой (ГОФП) для выявления повреждений миокарда различного генеза / Р. А. Серов, Г. А. Чекарева, К. К. Рагузин, Г. А. Шмырева // Арх. пат. – 1977. – № 5. – С. 70-74.

10. Ромейс Гистологическая техника / Б. Ромейс. – Москва : Иностранная литература, 1953. – С. 158-159 и 169.

11. Рубцова, М. А. Состояние печеночной гемодинамики у спортсменов высшей квалификации / М. А. Рубцова // Теор. и практ. физ. культ. – 1997. –№ 4. – С. 15-18.

12. Специфичность изоферментных спектров ЛДГ у норок окраски белая-хедлюнд / [А. Р. Унжаков, Л. К. Кожевникова, В. А. Илюхаи др.] // Вестник ВОГиС. – 2007. – Т. 11, № 1. – С. 139 – 143.
13. Страсбург, 1986. [European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
14. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули Москва : ГЭОТАР, 1999. – С. 23-44.
15. Школьник Н. М. Особенности кровообращения печени у квалифицированных спортсменов / Н. М. Школьник // Теор. и практ. физ. культ. – 1985. – № 9. – С. 20-21.
16. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / пер. с англ.; под ред. Н. Тица. – Москва : Лабинформ, 1997. – 942 с.
17. Giboney, P. I. Интерпритация незначительно повышенных уровней печеночных трансаминаз у бессимптомного пациента / P. I. Giboney // Fam. Physician. – 2005. – Vol. 71. – P. 1105-1110.
18. Peternelj T. T. Exercise and oxidative stress: Is antioxidant supplementation beneficial? / T. T. Peternelj, J. S. Coombes // Sport Health. – 2009. – Vol. 27 (2). – P. 25-28.
19. Relative mRNA expression of the lactate dehydrogenase A and B subunits as determined by simultaneous amplification and single strand conformation polymorphism. Relation with subunit enzyme activity / [Ze-Jun Liu, Wei-Cong Peng, Xin Yang et al.] // Journal of Chromatography B. – 2003. – Vol. 793. – P. 405-412.
20. Ritland S. Physical activity in liver disease and liver function in sportsmen / S. Ritland, N. E. Foss, E. Gjone // Scand. J. Soc. Med. Suppl. – 1982. – Vol. 29. – P. 221-226.

THE DYNAMICS OF BIOCHEMICAL INDEXES IN THE WHEY OF BLOOD AFTER THE PHYSICAL LOADING ON A BACKGROUND EXPERIMENTAL HEPATITIS

V.F. DRELL
A.A. VINOGRADOV

Lugansk Taras Shevchenko national university, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

The serum markers of liver pathology before and after physical activity on the background of toxic affection of the liver by chloroform intoxication were studied. The dynamics of biochemical parameters after physical load on the background of hepatitis, on the one hand, point to the development of hepatotoxicity, and dystrophic lesions due to excessive physical strain on the background of already existing pathological changes in the liver. It is established that in the early period of observation were more pronounced changes in the liver. In the later period the changes in the heart were discovered, which were characterized by ischemic myocardial damage. After the 30-day simulation exercise on the background of hepatitis b liver developed rough destructive changes, characteristic for a fat dystrophy.

Key words: physical activity, hepatitis.

УДК 615.322:615.454.2:616.65

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СУППОЗИТОРИЕВ С ФИТОЭКСТРАКТАМИ НА МОДЕЛИ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС

А.В. ЗАЙЧЕНКО
Е.А. СОЛДАТОВА
В.И. ГРИЦЕНКО

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

e-mail: vita.gritsenko@mail.ru

Исследована фармакотерапевтическая активность суппозиториев с фитоэкстрактами на жировой и полиэтиленоксидной основах в дозе 600 мг/кг (по сумме экстрактов) на модели сульпирид – индуцированной гиперплазии предстательной железы у крыс.

Установлено, что введение обоих образцов суппозиториев вызывает практически равнозначный терапевтический эффект, проявляющийся отсутствием гипертрофии простаты и воспалительной реакции, угнетением процессов ПОЛ и восстановлением антиоксидантной защиты организма, нормализацией гормонального дисбаланса и функционального состояния простаты, повышением подвижности сперматозоидов. По эффективности исследуемые суппозитории не уступают препарату сравнения простапланту форте в дозе 35 мг/кг.

Ключевые слова: предстательная железа, доброкачественная гиперплазия простаты, суппозитории с фитоэкстрактами, крысы.

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является наиболее широко распространенным заболеванием у мужчин с возрастной тенденцией к прогрессирующему росту: если до 60 лет ДГПЖ наблюдается у 13-50% мужчин, то к 90-летнему возрасту приблизительно у 90% мужчин есть морфологические изменения, свойственные для ДГПЖ. В среднем у 25% больных развиваются клинические симптомы, которые требуют лечения [1].

На современном этапе на ранних стадиях ДГПЖ рекомендуется длительная комплексная медикаментозная терапия, которая включает фитопрепараты, комплексы БАВ которых обеспечивают широкий диапазон терапевтического действия, высокую биодоступность, относительную безопасность. Так, в европейских странах свыше 60% больных ДГПЖ лечат растительными экстрактами, среди которых наиболее популярными являются препараты на основе экстрактов плодов пальмы Сабаль (Sabal serrulata или Serenoa repens) [2]. В Германии широко используют экстракты карликовой сливы, ромашки, корня крапивы, семян тыквы и другие [3, 4].

Среди лекарственных средств для лечения ДГПЖ в нашей стране доминируют продукты производства иностранных фармпроизводителей, поэтому разработка эффективных, безопасных и доступных отечественных препаратов с комплексным терапевтическим действием остается актуальной проблемой. С целью создания нового отечественного простатопротектора в Национальном фармацевтическом университете были разработаны ректальные суппозитории, которые содержат фитокомпозицию из экстрактов плодов пальмы Сабаль, корня крапивы, семян тыквы, введенную в полиэтиленоксидную (ПЭО) и жировую основы.

Целью данной работы стало сравнительное исследование эффективности новых суппозиториев с фитоэкстрактами на различных суппозиторных основах в условиях сульпирид-индуцированной гиперплазии предстательной железы у крыс.

Материалы и методы.

Объектом исследований стали образцы суппозиториев следующего состава: сухой экстракт плодов пальмы сабаль 0,25 г; сухой экстракт корня крапивы 0,25 г; сухой экстракт семян тыквы 0,25 г; основа – твердый жир или ПЭО (в соотношении 9:1) до получения суппозитория массой 2,8 г.

Опыты проводили согласно методическим рекомендациям [5]. В эксперименте использовано 40 белых нелинейных крыс-самцов массой 320-350 г. Доброкачественную гиперплазию предстательной железы (ДГПЖ) вызывали внутрибрюшинным введением сульпирида (Эглонил, серия 0Y018, 0Y019, № UA/3818/03/01, Sanofi Aventis, Украина) в дозе 40 мг/кг массы тела

крыс в течение 30 дней. У животных развивается гиперплазия латеральных частей железы по аналогии с патологическими изменениями предстательной железы у человека.

Исследуемые препараты применяли в лечебном режиме с 30-го по 51-й день эксперимента. В качестве препарата сравнения был выбран аналог по действию простаплант форте. Суппозитории с фитоэкстрактами на ПЭО или жировой основах вводили ректально в дозе (по сумме экстрактов) 600 мг/кг; препарат сравнения простаплант форте вводили внутрижелудочно в дозе 35 мг/кг, которая была пересчитана с учетом коэффициента видовой устойчивости, исходя из суточных доз для человека [6]. Полученные результаты сравнивали с результатами интактных животных (интактный контроль) и животных с нелеченой патологией (положительный контроль). Каждая экспериментальная группа насчитывала по 8 крыс.

Оценку развития патологии и эффективности препаратов проводили на 52-е сутки сутки опыта с учетом патогенеза ДГПЖ по следующим показателям: в сыворотке крови и гомогенате простаты определяли активность кислой фосфатазы (КФ) методом Боданского [7], интесивность ПОЛ по содержанию ТБК-активных продуктов и диеновых коньюгатов (ДК) [8], уровень восстановленного глютатиона по реакции с тиобарбитуровой кислотой [9]; в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью стандартных коммерческих иммуноферментных наборов определяли уровень половых гормонов (тестостерона, дигидротестостерона, эстрадиола) и интерлейкина-1β (IL-1β) – важного маркера воспаления в ДГПЖ. Измерения проводили с помощью иммуноферментного анализатора (АИФ М/340, 1999). Кроме того, оценивали влияние исследуемых препаратов в условиях патологии на функциональное состояние сперматозоидов (характер и длительность движения, относительное количество патологических и подвижных форм, концентрацию) [10], концентрацию фруктозы в семенных пузырьках [11] и относительную массу простаты.

Полученные цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики с помощью стандартного пакета статистических программ «Statistica, v. 6,0» [12]. Для получения статистических выводов при сравнении выборок экспериментальных данных применяли критерий Стьюдента с поправкой Бонферони или непараметрический критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферони. Отличия между контрольными и опытными группами считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение.

Полученные результаты свидетельствуют, что длительное введение сульпирида вызывает повышение проницаемости мембран ацинусов и выход простатоспецифического фермента в кровь: в группе положительного контроля наблюдается достоверное повышение активности КФ в сыворотке крови в 2,2 раза с одновременным снижением ее активности в гомогенате простаты в 1,9 раза (табл.1). Развитие патологического процесса также характеризовалось усилением ПОЛ и снижением антиоксидантной защиты : у нелеченых животных уровень ТБК и ДК соответственно в 5,4-4,6 раза (сыворотка крови) и в 2,2-2,6 (простата) выше, чем у интактных ($p<0,05$), а содержимое ВГ в сыворотке крови и гомогенате простаты снизилось соответственно в 1,7-1,6 раз (табл. 2). Это подтверждает важную роль оксидативного стресса в патогенезе ДГПЖ.

Введение на фоне патологии обоих образцов суппозиториев с фитоэкстрактами и препарата сравнения простапланта способствовало возобновлению нормальной активности кислой фосфатазы в сыворотке крови и гомогенате простаты (достоверные отличия показателей относительно интактного контроля отсутствуют), что свидетельствует о способности исследуемых препаратов стабилизировать мембраны простатических ацинусов (табл. 1). Под воздействием суппозиториев с фитоэкстрактами и простапланта в значительной степени тормозились процессы ПОЛ: содержание ТБК-продуктов и ДК как в сыворотке крови, так и в гомогенате простаты было достоверно ниже показателей положительного контроля (табл. 2).

Применение суппозиториев с фитоэкстрактами и простапланта увеличивало антиоксидантную защиту. Так, уровень возобновленного глютатиона в сыворотке крови по сравнению с контрольной патологией увеличился на 31% (суппозитории на жировой основе), на 24% (суппозитории на ПЭО-основе) и на 58% (простаплант), однако достоверный характер эти изменения имеют лишь при применении препарата сравнения. В гомогенате простаты уровень ВГ под воздействием обоих опытных образцов суппозиториев и простапланта практически равнозначно увеличился до показателя интактного контроля (табл. 2).

Таблица 1

Влияние суппозиториев с фитоэкстрактами на активность кислой фосфатазы в сыворотке крови и гомогенате простаты крыс в условиях сульпирид-индуцированной ДГПЖ, $\overline{X} \pm S_X$

Экспериментальные группы	Активность кислой фосфатазы	
	сыворотка крови, мкмоль/л*мин	гомогенат простаты, мкмоль/г*мин
Интактный контроль	20,10 ± 1,96	18,9 ± 0,95
Положительный контроль	44,7 ± 2,45 *	10,1 ± 0,33 *
Суппозитории с фитоэкстрактами (на жировой основе)	20,6 ± 1,25 **	18,2 ± 0,74 **
Суппозитории с фитоэкстрактами (на ПЭО основе)	20,5 ± 2,36 **	17,9 ± 0,52 **
Простаплант-форте, 35мг/кг	25,9 ± 3,03**	18,2 ± 0,23 **

Примечания:
1. * – отклонение достоверно относительно интактного контроля, P < 0,05;
2. ** – отклонение достоверно относительно положительного контроля, P < 0,05.

Исследования последних лет свидетельствуют, что в развитии ДГПЖ важную роль играет воспаление, в котором центральное место отводится провоспалительному цитокину IL-17 [13, 14]. Он стимулирует эпителиальные, эндотелиальные и фибробластные клетки к выработке других провоспалительных цитокинов, в частности IL-1β. Последний считают неспецифическим показателем патологического процесса преимущественно воспалительного характера, в том числе, важным маркером воспаления в ткани простаты при ДГПЖ. По повышению концентрации IL – 1β можно судить об активности этого процесса [15].

Полученные нами данные показали рост концентрации IL-1β в 3,2 раза (p<0,05) в сыворотке крови нелеченых животных с ДГПЖ по сравнению с показателем интактных животных, что свидетельствует о значительной интенсивности воспаления в простате. Введение обоих образцов суппозиториев с фитоэкстрактами и препарата сравнения достоверно снизило концентрацию IL-1β практически до уровня интактного контроля (табл. 2).

Длительное введение сульпирида вызывало у крыс достоверное увеличение коэффициента массы предстательной железы почти на 68%, что указывает на развитие гипертрофии (табл. 3).

Таблица 2

Влияние суппозиториев с фитоэкстрактами на показатели прооксидантно/оксидантного балланса и уровень интерлейкина – 1β у крыс в условиях сульпирид-индуцированной ДГПЖ, $\overline{X} \pm S_X$

Экспериментальные группы	Сыворотка крови			
	ТБК, ммоль/л	ДК, ммоль/л	ВГ, мкмоль/л	ИЛ-1β, пг/мл
Интактный контроль	0,09±0,02	0,05±0,01	23,5±1,16	11,2±1,60
Положительный контроль	0,53±0,11*	0,23±0,02*	14,0±0,77*	35,9±1,43*
Суппозиории с фитоэкстрактами (на жировой основе)	0,30±0,09**	0,19±0,02*	18,4±2,64	16,5±2,08**
Суппозиории с фитоэкстрактами (на ПЭО основе)	0,29±0,03**	0,11±0,02*/**	17,3±2,33*	14,0±1,07**
Простаплант форте, 35 мг/кг	0,24±0,02**	0,16±0,04*/**	22,1±0,93**	17,2±1,96**
	Гомогенат простаты			
		ТБК, ммоль/г	ДК, ммоль/г	ВГ, мкмоль/г
Интактный контроль		30,9±2,28	0,97±0,08	22,1±1,24
Положительный контроль		68,6±1,65*	2,54±0,21*	13,7±0,84*
Суппозиории с фитоэкстрактами (на жировой основе)		28,7±1,84**	1,00±0,08**	20,7±0,83**
Суппозиории с фитоэкстрактами (на ПЭО основе)		31,5±1,71**	0,88±0,07**	22,8±0,96**
Простаплант форте, 35 мг/кг		32,1±2,71**	0,94±0,09**	23,3±0,73**

Примечания:
1. * – отклонение достоверно относительно интактного контроля, P < 0,05;
2. ** – отклонение достоверно относительно положительного контроля, P < 0,05.

Под воздействием исследуемых суппозиториев с фитоэкстрактами и препарата сравнения отмечалось уменьшение коэффициента массы предстательной железы до значения интактных животных (табл. 3). В группе животных положительного контроля наряду с увеличением коэффициента массы простаты наблюдалось достоверное снижение уровня фруктозы в семенных пузырьках почти в 2,3 раза по сравнению с показателем интактного контроля (табл. 3), что является свидетельством снижения андрогенной насыщенности и фертильности самцов. Применение суппозиториев с фитоэкстрактами на жировой и ПЭО-основе, как и препарата сравнения, достоверно повышало уровень фруктозы (соответственно в 1,7, 1,8 и 1,95 раза). При этом, под воздействием суппозиториев на ПЭО – основе и простапланта показатель не имел статистических отличий от интактных значений (табл. 3).

Таблица 3

Влияние суппозиториев с фитоэкстрактами на массовый коэффициент простаты (МКП) крыс и концентрацию фруктозы в семенных пузырьках в условиях сульпирид-индуцированной ДГПЖ, $\overline{X} \pm S_X$

Экспериментальные группы	МКП	Фруктоза, ммоль/л
Интактный контроль	0,37 ±0,02	3,40±0,33
Положительный контроль	0,62 ± 0,04*	1,48±0,14*
Суппозиории с фитоэкстрактами (на жировой основе)	0,40±0,02**	2,50±0,18*/**|***
Суппозиории с фитоэкстрактами (на ПЭО основе)	0,38±0,03**	2,70±0,25**
Простаплант-форте, 35мг/кг	0,35 ± 0,02**	2,97±0,10**

Примечания:
1. * – отклонение достоверно относительно интактного контроля, P < 0,05;
2. ** – отклонение достоверно относительно положительного контроля, P < 0,05;
3. *** – отклонение достоверно относительно референтного препарата, P < 0,05.

Предстательная железа является гормонально-зависимым органом, поэтому изменение гормональных соотношений в организме является исходным пунктом в патогенезе ДГПЖ, а ее возникновение рассматривается как следствие нарушения механизмов регуляции в функциональной системе гипоталамус – гипофиз – гонады – простата [1]. Известно, что при длительном введении блокаторов дофаминовых рецепторов, в частности сульпирида, увеличивается уровень пролактина. Согдасно современным представлениям, пролактин стимулирует пролиферацию и действует как андроген-независимый супрессор апоптоза простатического эпителия, который приводит к гиперплазии простаты [16]. Кроме того, повышение содержания пролактина активизирует ароматазу, в результате чего ускоряется превращение тестостерона в эстрадиол. Последний способствует активизации фибробластов, выработке фибропластического фактора роста и пролиферации соединительной ткани в предстательной железе [17].

Полученные нами результаты полностью совпадают с вышеприведенными данными. Так, введение сульпирида в течение 30 суток способствовало снижению (на 64%) уровня тестостерона и повышению уровня дигидротестостерона и эстрадиола (на 106 % и 68% соответственно) в сыворотке крови животных положительного контроля (p<0,05), что закономерно приводило к достоверному увеличению соотношения эстрадиол/тестостерон и дигидротестостерон/тестостерон. Введение на фоне патологии обоих образцов суппозиториев с фитоэкстрактами и препарата сравнения полностью нормализовало гормональный дисбаланс: все показатели не имели отличий от показателей интактных животных (табл. 4).

Таблица 4

Влияние суппозиториев с фитоэкстрактами на уровень тестостерона (Тс), эстрадиола (Е2), дигидротестостерона (ДГТ) в сыворотке крови крыс и их соотношение в условиях сульпирид-индуцированной ДГПЖ, $\overline{X} \pm S_X$

Экспериментальные группы	Тс, нмоль/л	Е2, нмоль/л	ДГТ, пкмоль/л	Е2/ Тс	ДГТ/Тс
1	2	3	4	5	6
Интактный контроль	27,6 ± 3,14	0,22±0,01	604,3±91,2	0,008	0,022

Окончание табл. 4

1	2	3	4	5	
Положительный контроль	9,9 ± 1,4*	0,37±0,022*	1247,0±137,5*	0,34	0,125
Суппозитории с фитоэкстрактами (на жировой основе)	25,0±1,62**	0,25±0,01**	681,8±75,7**	0,01	0,027
Суппозитории с фитоэкстрактами (на ПЭО основе)	26,6±2,74**	0,24±0,02**	643,5±50,6**	0,009	0,024
Простаплант форте, 35 мг/кг	24,6±2,90**	0,23±0,01**	672,0±40,8**	0,009	0,027

Примечания:
1. * – отклонение достоверно относительно интактного контроля, P < 0,05;
2. ** – отклонение достоверно относительно положительного контроля, P < 0,05.

Интенсификация процессов ПОЛ и снижение андрогенной насыщенности организма в условиях ДГПЖ вызывали статистически достоверное ухудшение функционального состояния зрелых сперматозоидов без существенного влияния на их концентрацию (табл. 5). Так, у животных положительного контроля наблюдали уменьшение времени сохранения подвижности сперматозоидов (в 1,6 раза) и количества их подвижных форм (в 1,9 раза), увеличение количества патологических форм сперматозоидов. Применение суппозиториев с фитоэкстрактами и препарата сравнения приводило к увеличению времени сохранения подвижности сперматозоидов и увеличению числа их активно подвижных форм (p<0,05). При этом, количество патологических форм сперматозоидов в этих группах животных практически не уменьшалось относительно показателя положительного контроля (табл. 5).

Таблица 5

Изменения показателей функционального состояния сперматозоидов крыс в условиях сульпирид-индуцированной ДГПЖ, $\overline{X} \pm S_X$

Экспериментальные группы	Показатели			
	Время сохранения подвижности сперматозоидов, мин	Концентрация сперматозоидов, млн/мл	Активно-подвижные формы, %	Патологические формы, %
Интактный контроль	287,5 ± 15,0	38,9 ± 3,83	78,8 ± 1,83	23,8 ± 2,03
Положительный контроль	184,4 ± 12,4*	38,8 ± 3,97	40,6 ± 4,84*	32,4 ± 1,44*
Суппозитории с фитоэкстрактами (на жировой основе)	260,0 ± 22,1**	43,1 ± 2,34	70,0 ± 2,32*/**	31,0 ± 1,83*
Суппозитории с фитоэкстрактами (на ПЭО основе)	235,6 ± 18,5**	41,1 ± 2,72	64,4 ± 3,20*/**	30,8 ± 2,23*
Простаплант форте, 35 мг/кг	236,9 ± 19,1**	38,6 ± 3,83	62,5 ± 2,50*/**	28,0 ± 1,93

Примечания:
1. * – отклонение достоверно относительно интактного контроля, P < 0,05;
2. ** – отклонение достоверно относительно положительного контроля, P < 0,05.

Таким образом, приведенные результаты свидетельствуют, что на модели сульпирид-индуцированной ДГПЖ суппозитории с фитоэкстрактами на жировой и полиэтиленоксидной основах проявляют выраженный терапевтический эффект, который обеспечивается комплексными эффектами БАВ экстрактов растений, входящих в состав суппозиториев (противовоспалительным, антиоксидантным, мембраностабилизирующим действием, способностью нормализовать гормональный дисбаланс).

Выводы.

На модели доброкачественной гиперплазии простаты, вызванной внутрибрюшинным введением сульпирида крысам, суппозитории с фитоэкстрактами на жировой и ПЭО-основе в дозе (по экстрактам) 600 мг/кг проявляют практически равнозначную простатопротекторную активность.

1. Терапевтическое действие препарата характеризуется предотвращением гиперплазии простаты, отсутствием воспалительной реакции, снижением интенсивности ПОЛ и возобновлением антиоксидантной защиты организма, нормализацией гормонального дисбаланса и функционального состояния простаты, повышением подвижности сперматозоидов.

2. Действие суппозиториев с фитоэкстрактами не уступает действию препарата сравнения простаплант форте.

Литература

1. Тиктинский, О.Л. Андрология / О.Л. Тиктинский, С.Н. Калинина, В.В. Михайличенко. – М.: Медицинское информационное агентство, 2010. – 576 с.

2. Пасечников, С.П. Метаанализ современных исследований фармакологического действия и клинической эффективности экстракта Serenoa repens при лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы. / С.П.Пасечников, О.Д. Никитин. // Здоровье мужчины. – 2006. – № 1 (16). – С. 89-94.

3. Практическая урология. Руководство для врачей /под ред. П.В.Глыбочко, Ю.Г.Аляева. – М.: Медфорум, 2012. – 352 с.

4. Berges, R.R., Pientka L., Hifner K. Male lower urinary tract symptoms and related health care seeking in Germany/ R.R.Berges, L.Pientka, K.Hifner. – Eur. Urol. 2001. – № 39. –682.

5. Экспериментальные модели для изучения средств лечения гиперплазии предстательной железы: метод. рекоменд. — К.: МЗ Украины, ГЦФ, 2003. – 24 с.

6. Рыболовлев, Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев,Р.С. Рыболовлев //Докл. АН СССР. – 1979. – Т.247, №6. – С.1513-1516.

7. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2-х т. Т.1. – Минск: Беларусь, 2000. – 495 с.

8. Стальная, И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д.Стальная, Т.Г. Гариашвили //Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С.66-68.

9. Арутюнян, А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: методические рекомендации / А.В.Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. – СПб.:Фолиант, 2000. – 104 с.

10. Вивчення гонадотоксичної дії нових лікарських засобів та їх впливу на репродуктивну функцію тварин: методичні рекомендації. – Київ, 2000. – 24 с.

11. Лабораторная диагностика мужского бесплодия/ В.В.Долгов, С.А. Луговская, Н.Д. Фанченко и др. – М.; Тверь: Триада, 2006. – 145 с.

12. Боровиков, В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере: Для профессионалов. 2-е изд. / В. Боровиков. – СПб.: Питер, 2003. – 688 с.

13. Inflammation, apoptosis and BPH: What is the evidens?/Novara G.,Galfano A.,Boscolo Berto R. et al. //Eur. Urol. Suppl. – 2006. – №5. – P. 401-409.

14. Intermediate cells in human prostatic epithelium are enriched in proliferative inflammatory atrophy//Van Leenders G.J., Gage W.,R., Hicks J.L et al.//Am. J. Pathol. – 2003. – №162. – P. 1529-1537.

15. Базарный, В.А. Определение содержания интерлейкина-1 в биологических жидкостях / В.А.Базарный, Н.К. Левчик, М.М.Кохан и др. //Клин. лаборат. диагностика. – 1999. – № 11. – С.28.

16. Bolyakov A. // Curr. Opin. Urol. – 2011. – Nov., Vol. 21 (6). – P. 527-534.

17. Scerwood, E. Basic fibroblast growth factor: a potential mediator of stromal growth in the human prostate / E. Scerwood, C.Fong, C.Lee. // Endocrinology. – 1992. – № 130. – P. 2955–2963.

RESEARCH OF PHARMACOTHERAPEUTIC ACTIVITY OF SUPPOSITORIES WITH PHYTOEXTRACTS ON MODEL OF PROSTATE GLAND HYPERPLASIA FOR RATS

A.V. ZAJCHENKO
E.A. SOLDATOVA
V.I. GRITSENKO

National university of Pharmacy, Kharkiv

e-mail: vita.gritsenko@mail.ru

Pharmacotherapeutic activity suppository with phytoextracts on fat and polyethyleneoxide basis at a dose of 600 mg / kg (total extracts) on the model of sulpiride - induced prostatic hyperplasia in rats was investigated.

We found that the introduction of the two samples of suppositories is almost equivalent therapeutic effect which gives the absence of hypertrophy of the prostate, and the inflammatory response, and restore antioxidant defense, the normalization of hormonal imbalances and functional state of the prostate, increase sperm motility. On the effectiveness of the studied suppositories are not inferior to the reference drug prostaplant forte dose of 35 mg/kg.

Key words: prostate gland, benign prostatic hyperplasia, suppositories with phytoextracts, rats.

УДК 616-08:616-008

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ АДАПТАЦИЯ МИОКАРДА К ХЛОРОФОРМНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

С. А. ЛОБКО
А. А. ВИНОГРАДОВ

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail: alexanvin@yandex.ru

Исследование проведено на крысах, у которых моделировали 30-суточную хлороформную интоксикацию. Установлено, что при моделировании хлороформной интоксикации масса миокарда желудочков сердца изменялась неодинаково. В первые 15 суток она повышалась, а к 30-м суткам – понижалась. В миокарде желудочков сердца происходили гистотоксические изменения, которые характеризовались как нарушение метаболизма в мышечном волокне. В большинстве случаев фуксинофильные очаги были распределены диффузно. В отдельных случаях эти очаги могли сливаться, образуя довольно большой участок токсического поражения. Было установлено, что выраженность локализации токсического поражения миокарда зависела от экспозиции эксперимента. Определено усиление сосудистого рисунка с венозным полнокровием и порозностью сосудистой стенки, которая являлась причиной геморрагической инфильтрации.

Ключевые слова: хлороформная интоксикация, миокард желудочков сердца.

Одной из актуальных проблем является увеличение заболеваемости и случаев заболеваний наиболее социально значимыми болезнями сердечно-сосудистой системы – атеросклерозом, гипертензией, ишемической болезни сердца (ИБС) [1]. Поэтому в настоящее время актуальной задачей практической и теоретической медицины является разработка эффективных методов профилактики, лечения и постинфарктной реабилитации одного из тяжелейших осложнений ИБС – инфаркта миокарда [6]. В развитии инфаркта миокарда участвуют много факторов, которые на фоне ишемии миокарда могут сочетаться или же выделяется один – ведущий. При этом нельзя исключить влияние ксенобиотиков на организм и особенно на сердечно-сосудистую систему, что является одной из актуальных медико-биологических проблем. Одним из наиболее распространенных ксенобиотиков является хлороформ. Хлороформная интоксикация приводит к структурно-функциональным поражениям печени [1, 5, 13]. Это обусловлено ее ответственностью за метаболизм, который сопровождается образованием высокореактивных промежуточных продуктов, инициируемых свободнорадикальным процессом [3, 4]. Метаболизм хлороформа сопровождается повышением гидратации тканей, которая как компенсаторно-приспособительный процесс ведет к понижению активности и токсичности хлороформа [5, 8]. Происходит связывание и выведение его из клеток и организма [4].

При хлороформной интоксикации изменяется функциональное состояние тканей с нарушением проницаемости клеточных мембран [1, 2]. Могут развиваться: цитотоксическое поражение центральной нервной системы (ЦНС) с острым отеком-набуханием головного мозга, отек и кровоизлияние в легких, аритмия и острый паралич сердца [10, 11]. Но имеются и противоположные мнения, которые указывают на отсутствие изменений в этих органах при хлороформной интоксикации [12]. Противоречивые данные о влиянии хлороформной интоксикации на кардиомиоциты дают основу проведения комплексного исследования, направленного на морфофункциональную адаптацию сердца на разных стадиях хлороформной интоксикации.

Цель работы.

Изучить механизмы морфологической адаптации миокарда правого и левого желудочков сердца к хлороформной интоксикации. Настоящая публикация является частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» под номером государственной регистрации 0198U002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материал и методы исследования.

Исследование проведено на 35 белых крысах линии Wistar в период декабрь-февраль месяцы. Животные были распределены в две группы – контрольную (5 крыс) и опытную (30 крыс). У животных опытной группы моделировали хлороформную интоксикацию с экспозицией 5, 10, 15, 20, 25 и 30 суток (по 5 животных в каждой подгруппе). Методика включала подкожное введение чистого хлороформа на оливковом масле из расчета 0,3 мл на 100 г массы животного 3 раза в неделю [9].

У животных контрольной и опытной групп проводили раздельное взвешивание правого (ПЖ) и левого желудочков сердца (ЛЖ) в перерасчете на 100 г массы животного (ПЖ-100 и ЛЖ-100), а также гистологические исследование – окраску срезов гемотоксилином-основным фуксином-пикриновой кислотой (ГОФП) [7].

Цифровые данные обрабатывали методами вариационной статистики на компьютере в программе Microsoft Excel. Определяли: среднюю арифметическую выборки (**M**); ошибку средней арифметической выборки (**±m**); вероятность ошибки (**P<**); коэффициент корреляции (**Rxy**); ошибку коэффициента корреляции (**±r**).

Содержание и уход за животными (включая эвтаназию) осуществляли с соблюдением принципов «Европейской конвенции о защите позвоночных животных», которые используются для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1985), а также решения «Первого национального конгресса о биоэтике» (Киев, 2001).

Результаты и их обсуждение.

У животных контрольной группы в перерасчете на 100 г массы тела масса ПЖ-100 была 0,046-0,055 г (0,050±0,004 г), а масса ЛЖ-100 – 0,230-0,256 г (0,245±0,012), что в 4,9 раза больше массы ПЖ-100 ($R_{К-лж/пж}$±r=0,943±0,118 при p<0,01). Максимальный показатель ПЖ-100 был в 1,2 раза больше минимального, а ЛЖ-100 – в 1,11 раза (рис. 1).

На 5 и 10-е сутки масса тела крыс повышалась на 1,57±0,61% (p<0,05) и 2,53±0,82% (p<0,05) соответственно. К 15-, 20- 25- и 30-суточной экспозиции эксперимента происходило понижение массы животных на 7,64±3,72% (p<0,1), 10,03±2,11% (p<0,05), 12,8±1,4% (p<0,01) и 15,66±3,59% (p<0,05) соответственно (рис. 2).

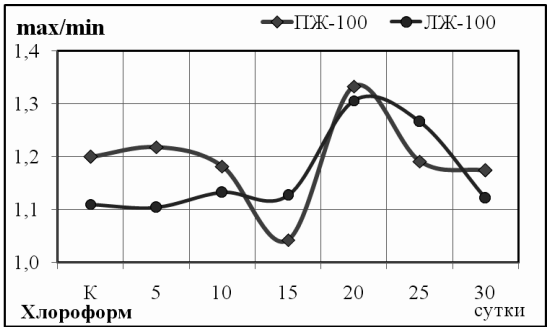


Рис.1. Соотношение между максимальным и минимальным (max/min) значениями массы правого (ПЖ-100) и левого (ЛЖ-100) желудочков сердца животных контрольной и опытной групп

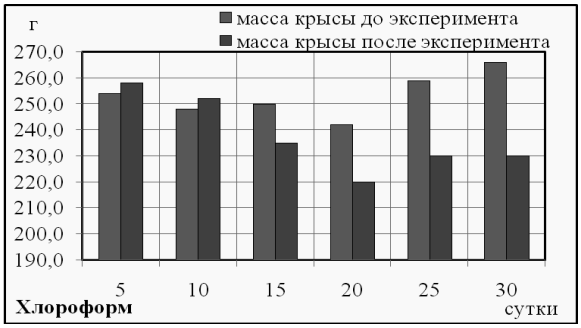


Рис. 2. Масса тела животных при хлороформной интоксикации в зависимости от экспозиции эксперимента

На 5-е сутки эксперимента масса ПЖ-100 составляла 0,055 – 0,067 г (0,062±0,005 г при p<0,001) и была в 1,24 раза больше контрольного показателя ($R_{5ПЖ/К}$±r=0,903±0,152 при p<0,05) (табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ПЖ-100 был в 1,22 раза больше минимального (см. рис. 1). Масса ЛЖ-100 была в пределах 0,269 – 0,297 г (0,283±0,013 г при p<0,001), что в 1,16 раза было больше контроля ($R_{5ЛЖ/К}$±r=0,937±0,124 при p<0,01) (см. рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ЛЖ-100 был в 1,1 раза больше минимального (см. рис. 1).

Масса ЛЖ-100 была в 4,57 раза больше массы ПЖ-100 ($R_{5-лж/пж}$±r=0,928±0,132 при p<0,01), что в сравнении с контролем указывало на изменение соотношения массы желудочков сердца с большими изменениями в ПЖ.

Таблица 1

Масса миокарда желудочков сердца животных контрольной и опытной групп при хлороформной интоксикации (г)

Желудочки сердца		Контроль	Экспозиция эксперимента (сутки)					
			5	10	15	20	25	30
ПЖ-100	M	0,050	0,062	0,071	0,074	0,073	0,073	0,073
	±m	0,004	0,005	0,005	0,006	0,008	0,005	0,005
ЛЖ-100	M	0,245	0,283	0,339	0,382	0,364	0,361	0,362
	±m	0,012	0,013	0,019	0,059	0,035	0,031	0,016

После 10-суточной экспозиции эксперимента масса ПЖ-100 повышалась в сравнении с контролем в 1,42 раза и составляла 0,066 – 0,078 г (0,071±0,005 г при p<0,001) ($R_{10ПЖ/К}$±r=0,990±0,050 при p<0,001) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ПЖ-100 был в 1,18 раза больше минимального (см. рис. 1).

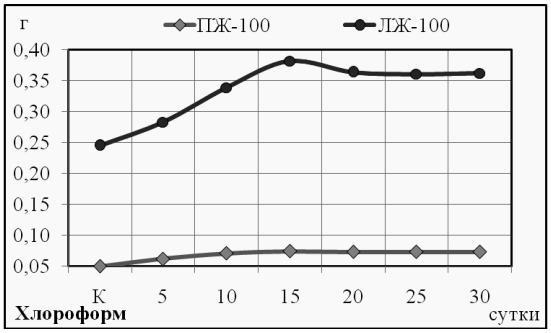


Рис.3. Масса миокарда правого (ПЖ-100) и левого (ЛЖ-100) желудочков сердца животных контрольной (К) и опытной групп в зависимости от экспозиции эксперимента

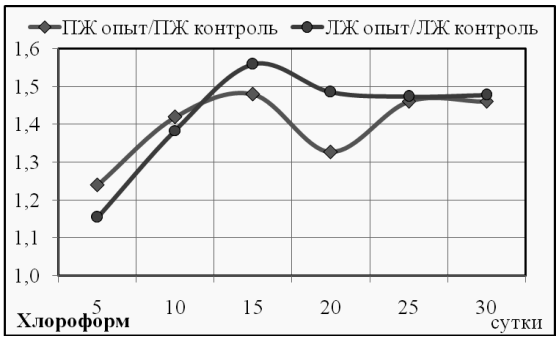


Рис. 4. Изменение массы миокарда правого (ПЖ-100) и левого (ЛЖ-100) желудочков сердца животных опытной группы относительно контроля (К) в процессе эксперимента

В сравнении с показателем массы ПЖ-100, определенным после 5 суток экспериментального воздействия, при 10-суточной экспозиции эксперимента масса ПЖ-100 повышалась в 1,15 раза ($R_{10ПЖ/5ПЖ}$±r=0,939±0,122 при p<0,01).

К 10-м суткам экспозиции эксперимента масса ЛЖ-100 была в пределах 0,318 – 0,360 г (0,339±0,019 г при p<0,001), что в 1,38 раза больше контроля ($R_{10ЛЖ/К}$±r=0,982±0,067 при p<0,001) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ЛЖ-100 был в 1,13 раза больше минимального (см. рис. 1). Выявленное небольшое повышение показателя может быть связано с разным уровнем функционального состояния взятых в опыт животных.

Масса ЛЖ-100 была в 4,78 раза больше массы ПЖ-100 ($R_{10-ЛЖ/ПЖ}$±r=0,978±0,074 при p<0,001), что в сравнении с контролем указывало на большие изменения в ПЖ. Однако в сравнении с показателем, определенным после 5-суточной экспозиции эксперимента, масса ЛЖ-100 повысилась в 1,2 раза, что понизило роль ПЖ-100 в сравниваемых величинах ($R_{10ЛЖ/5ЛЖ}$±r=0,972±0,083 при p<0,001).

После 15-суточной экспозиции эксперимента масса ПЖ-100 составляла 0,068-0,081 г (0,074±0,006 г при p<0,001) и повышалась в сравнении с контрольным показателем в 1,48 раза ($R_{15ПЖ/К}$±r=0,987±0,057 при p<0,001) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ПЖ-100 был в 1,19 раза больше минимального (см. рис. 1). В сравнении с 10-суточной экспозицией эксперимента к 15-м суткам эксперимента масса ПЖ-100 повышалась в 1,04 раза ($R_{15ПЖ/10ПЖ}$±r=0,992±0,045 при p<0,001).

На 15-е сутки масса ЛЖ-100 повысилась до 0,320-0,472 г (0,382±0,059 г при p<0,05), что в 1,56 раза было больше контроля ($R_{15ЛЖ/К}$±r=0,879±0,169 при p<0,05) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ЛЖ-100 был в 1,48 раза больше минимального (см. рис. 1). Выявленное значительное повышение показателя может свидетельствовать о срыве компенсаторно-приспособительных процессов у части животных опытной группы после 15-

суточной хлороформной интоксикации.

Масса ЛЖ-100 была в 5,16 раза больше массы ПЖ-100 ($R_{15-\text{лж/пж}}$±r=0,958±0,101 при p<0,01), что в сравнении с контролем указывало на изменение соотношения массы желудочков сердца с большими изменениями в ЛЖ. В сравнении с показателем, определенным после 10-суточной экспозиции эксперимента, масса ЛЖ-100 повысилась в 1,13 раза, что также понизило роль ПЖ-100 (масса которого была меньше в 1,04 раза) в сравниваемых величинах ($R_{10\text{лж}/15\text{лж}}$±r=0,933±0,127 при p<0,01).

После 20-суточной экспозиции эксперимента масса ПЖ-100 составляла 0,063-0,084 г (0,073±0,008 г при p<0,01) и повышалась в сравнении с контрольным показателем в 1,46 раза ($R_{20\text{пж}/\text{к}}$±r=0,858±0,182 при p<0,05) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ПЖ-100 был в 1,33 раза больше минимального (см. рис. 1). Масса ПЖ-100 в сравнении с показателем, определенным после 15-суточной экспозиции эксперимента, к 20-м суткам эксперимента понижалась в 1,01 раза ($R_{20\text{пж}/15\text{пж}}$±r=0,902±0,153 при p<0,05).

На 2-е сутки эксперимента масса ЛЖ-100 была 0,307-0,401 г (0,364±0,035 г при p<0,001), что в 1,49 раза больше контроля ($R_{20\text{лж}/\text{к}}$±r=0,837±0,194 при p<0,05) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ЛЖ-100 был в 1,31 раза больше минимального (см. рис. 1). Масса ЛЖ-100 была в 4,99 раза больше массы ПЖ-100 ($R_{20-\text{лж/пж}}$±r=0,945±0,116 при p<0,01), что в сравнении с контролем указывало на изменение соотношения массы желудочков сердца с большими изменениями в ЛЖ. В сравнении с показателем, определенным после 15-суточной экспозиции эксперимента, масса ЛЖ-100 уменьшилась в 1,13 раза, что также повысило роль ПЖ-100 (масса которого понизилась лишь в 1,01 раза) в сравниваемых величинах ($R_{15\text{лж}/20\text{лж}}$±r=0,855±0,183 при p<0,05).

После 25-суточной экспозиции эксперимента масса ПЖ-100 повышалась в сравнении с контролем в 1,42 раза и составляла 0,066-0,078 г (0,073±0,005 г при p<0,001 – $R_{25\text{пж}/\text{к}}$±r=0,910±0,147 при p<0,05) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ПЖ-100 был в 1,19 раза больше минимального (см. рис. 1).

В сравнении с показателем массы ПЖ-100, определенным после 20-ти суток экспериментального воздействия, при 25-суточной экспозиции эксперимента масса ПЖ-100 практически не изменялась ($R_{25\text{пж}/20\text{пж}}$±r=0,951±0,109 при p<0,01).

К 25-м суткам экспозиции эксперимента масса ЛЖ-100 была в пределах 0,312-0,395 г (0,361±0,031 г при p<0,001), что в 1,47 раза было больше контроля ($R_{25\text{лж}/\text{к}}$±r=0,889±0,162 при p<0,05) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ЛЖ-100 был в 1,27 раза больше минимального (см. рис. 1).

Масса ЛЖ-100 была в 4,95 раза больше массы ПЖ-100 ($R_{25-\text{лж/пж}}$±r=0,849±0,187 при p<0,051), что в сравнении с контролем указывало на изменение соотношения массы желудочков сердца с большими изменениями в ПЖ. Однако в сравнении с показателем, определенным после 20-суточной экспозиции эксперимента, масса ЛЖ-100 понизилась лишь в 1,01 раза ($R_{20\text{лж}/25\text{лж}}$±r=0,994±0,039 при p<0,001), а масса ПЖ-100 оставалась практически неизмененной.

После 30-суточной экспозиции эксперимента масса ПЖ-100 составляла 0,069-0,081 г (0,073±0,005 г при p<0,001) и повышалась в сравнении с контролем в 1,46 раза ($R_{30\text{пж}/\text{к}}$±r=0,918±0,140 при p<0,05) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ПЖ-100 был в 1,17 раза больше минимального (см. рис. 1). Масса ПЖ-100 в сравнении с показателем, определенным после 25-суточной экспозиции эксперимента, к 30-м суткам эксперимента оставалась неизмененной ($R_{30\text{пж}/25\text{пж}}$±r=0,996±0,032 при p<0,001).

На 30-е сутки эксперимента масса ЛЖ-100 была 0,345 – 0,387 г (0,362±0,016 г при p<0,001), что в 1,48 раза больше контроля ($R_{30\text{лж}/\text{к}}$±r=0,871±0,174 при p<0,05) (см. табл., рис. 3 и 4). Максимальный показатель массы ЛЖ-100 был в 1,17 раза больше минимального (см. рис. 1).

Масса ЛЖ-100 была в 4,96 раза больше массы ПЖ-100 ($R_{30-\text{лж/пж}}$±r=0,990±0,050 при p<0,001). В сравнении с показателем, определенным после 25-суточной экспозиции эксперимента, масса ЛЖ-100 практически не изменялась (увеличение в 1,003 раза – $R_{30\text{лж}/25\text{лж}}$±r=0,8895±0,162 при p<0,05), что указывало на стабилизацию процесса.

На гистологических препаратах после окраски срезов гематоксилином-основным фуксином-пикриновой кислотой (ГОФП) мышечные волокна миокарда желудочков сердца окрашивались в специфический желтый или желто-коричневый цвета. Границы между мышечными волокнами четко дифференцировались. Ядра окрашивались в темно-коричневый цвет (рис. 5, 6).

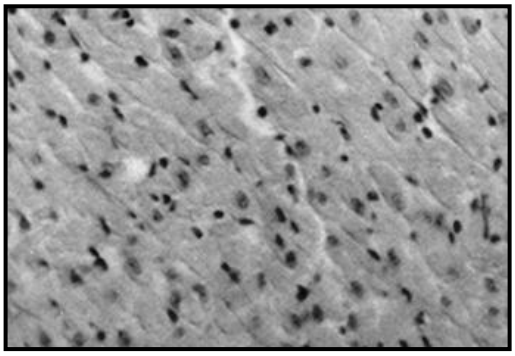


Рис. 5. Миокард правого желудочка сердца животных контрольной группы. Окраска ГОФП. Ув. об. 20, ок. 10

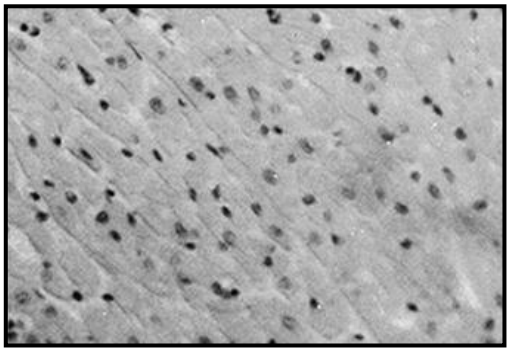


Рис. 6. Миокард левого желудочка сердца животных контрольной группы. Окраска ГОФП. Ув. об. 20, ок. 10

При хлороформной интоксикации в миокарде желудочков сердца выявлены изменения интенсивности окраски гистологических срезов ГОФП. Уже на 5-е сутки в плоскости среза были определены фуксинофильные очаги, которые свидетельствовали о ранних нарушениях метаболизма мышечного волокна. Интенсивность окраски этих очагов, их количество и размеры были неодинаковыми и зависели от места взятия ткани для исследования.

В ПЖ фуксинофильные очаги чередовались с практически неизмененными участками. Размеры и форма этих очагов были различными. Интенсивность их окраски была выражена неодинаково – большая интенсивность наблюдалась в центральных участках очага. К периферии она ослабевала и сливалась с неизмененной тканью без резких переходов. Поэтому фуксинофильные очаги не имели четких границ (рис. 7 и 8). Характерным отличием от изменений в ПЖ было плохое окрашивание ядер, что придавало волокну вид безъядерной структуры.

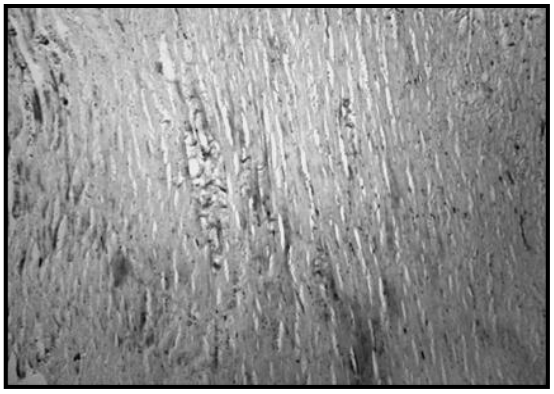


Рис. 7. Миокард правого желудочка сердца животных опытной группы после 5-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 7

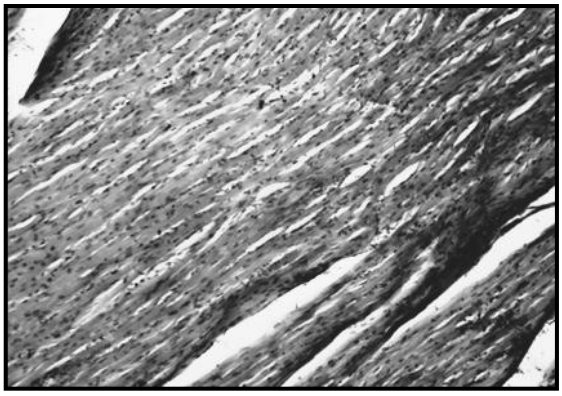


Рис. 8. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 5-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 10

Через 10 суток в миокарде желудочков сердца выявлены более грубые изменения, которые проявлялись диффузным распределением мелких фуксинофильных очагов (рис. 9) или их слиянием в крупные очаги, которые занимали до $^1/_3$ плоскости среза (рис. 10).

Большие изменения были выявлены в ЛЖ. Фуксинофильные очаги окрашивались интенсивным красным цветом и имели четкие границы. Это позволяло хорошо идентифицировать их на фоне неизмененной части мышечного волокна (см. рис. 9 и 10).

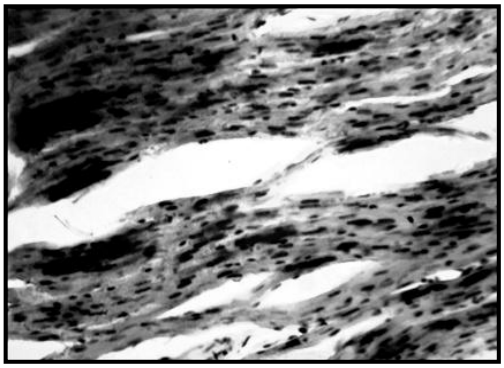


Рис. 9. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 10-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 20, ок. 10

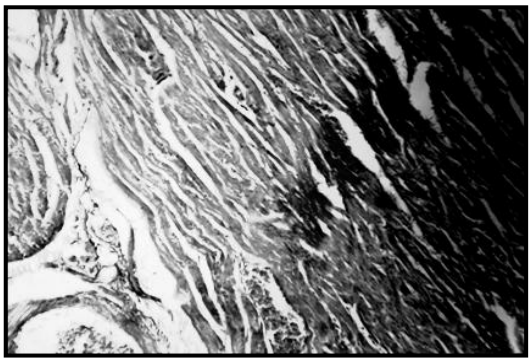


Рис. 10. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 10-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 10

После 15-суточной экспозиции эксперимента на гистологических срезах, окрашенных ГОФП, в миокарде находились многочисленные фуксинофильные очаги, которые были диффузно распределены по длине мышечного волокна или сливались, образуя крупный фуксинофильный очаг, который занимал около $^2/_3$ поля микроскопа (рис. 11 и 12).

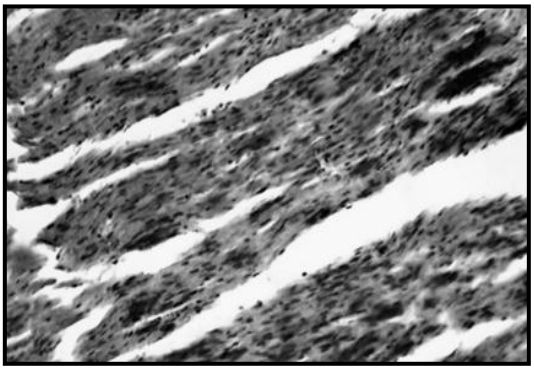


Рис. 11. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 15-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 20, ок. 10

Рис. 12. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 15-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 10

В отдельных случаях в ЛЖ были выявлены очаги геморрагии с обширной инфильтрацией (рис. 13). Диффузная геморрагическая инфильтрация была выявлена и в миокарде ПЖ (рис. 14).

Степень токсического поражения миокарда ПЖ была меньше выражена. Об этом свидетельствовал и больший показатель соотношения ЛЖ-100/ПЖ-100 (в 5,13 раза), который указывал на увеличение массы ЛЖ и относительной стабильности массы ПЖ. Выявленные фуксинофильные очаги свидетельствовали о нарушении метаболизма мышечного волокна и характеризовались как негрубые изменения, которые усугубляла геморрагическая инфильтрация с очаговым или диффузным распределением. Особенно выраженная геморрагическая инфильтрация была выявлена вокруг кровеносных сосудов, которые через 15 суток от начала эксперимента придавали сосудистому рисунку усиленный вид и были полнокровны (рис. 15 и 16).

На 20-е сутки токсические изменения в миокарде желудочков сердца продолжали прогрессировать, но уже больше в ПЖ. Здесь наряду с многочисленными фуксинофильными очагами были выявлены диффузные и очаговые геморрагии и усиление сосудистого рисунка.

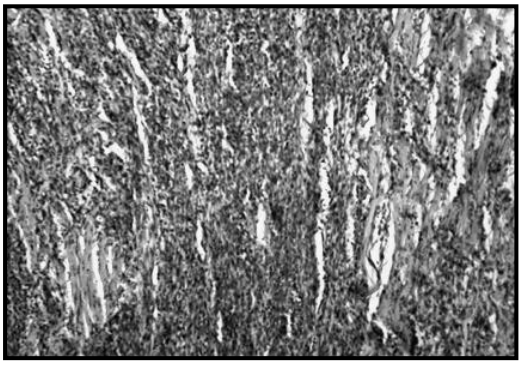


Рис. 13. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 15-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 10

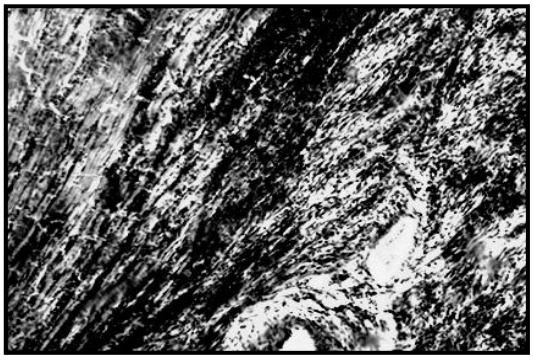


Рис. 14. Миокард правого желудочка сердца животных опытной группы после 15-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 10

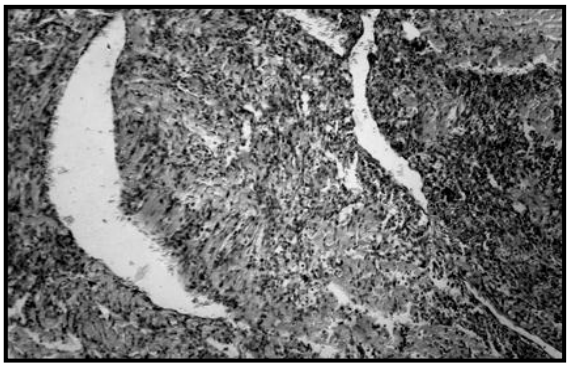


Рис. 15. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 15-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 10

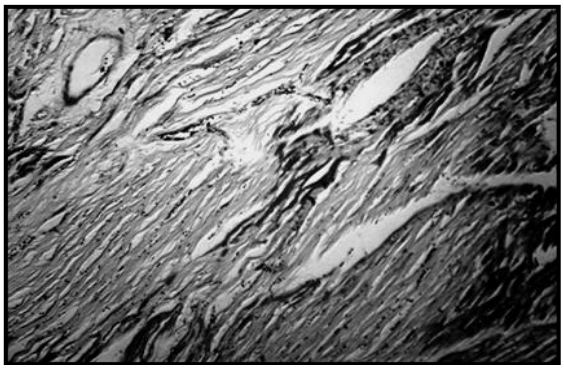


Рис. 16. Миокард левого желудочка сердца животных опытной группы после 15-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 8, ок. 10

В ЛЖ после 20-суточной экспозиции эксперимента особых изменений выявлено не было. Гистотоксические изменения имели вид определенных после 15-суточного эксперимента. Можно было бы предполагать некоторую стабилизацию процесса. Но сохраняющаяся геморрагическая инфильтрация миокарда ЛЖ указывала на токсические изменения в сердце, которые сопровождались порозностью сосудистой стенки и нарушением метаболизма мышечного волокна. Кроме этого, сохранялись усиление сосудистого рисунка и полнокровие миокарда в большей мере за счет венозного отдела сосудистого русла (рис. 17 и 18) .

На 25 – 30-е сутки от начала эксперимента особых изменений в сравнении с 20-ми сутками выявлено не было. Сохранялись нарушения метаболизма мышечного волокна и порозность сосудистой стенки. Однако уменьшилось сосудистое полнокровие.

Выводы.

При моделировании хлороформной интоксикации масса миокарда желудочков сердца изменялась неодинаково. В первые 15 суток она повышалась, а к 30-м суткам – понижалась. В миокарде желудочков сердца происходили гистотоксические изменения, которые характеризовались как нарушение метаболизма в мышечном волокне. Мы не наблюдали проявлений тотального поражения миокарда желудочков сердца. В большинстве случаев была выраженная очаговость, когда на фоне практически не измененного миокарда были диффузно распределены фуксинофильные очаги. В отдельных случаях эти очаги могли сливаться, образуя довольно большой участок токсического поражения. Было установлено, что выраженность локализации токсического поражения миокарда зависела от экспозиции эксперимента. На 5-15-е сутки в большей степени изменения были в ЛЖ, а на 20-30-е сутки – в ПЖ. Кроме перечисленного, особого внимания заслуживал факт усиления сосудистого рисунка с венозным полнокровием и порозностью сосудистой стенки, которая являлась причиной геморрагической инфильтрации.

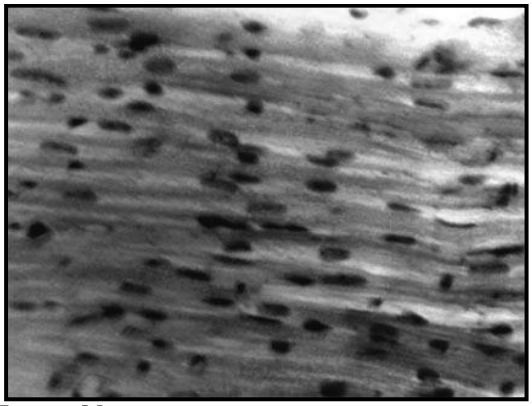


Рис. 17. Миокард правого желудочка сердца животных опытной группы после 20-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 20, ок. 10

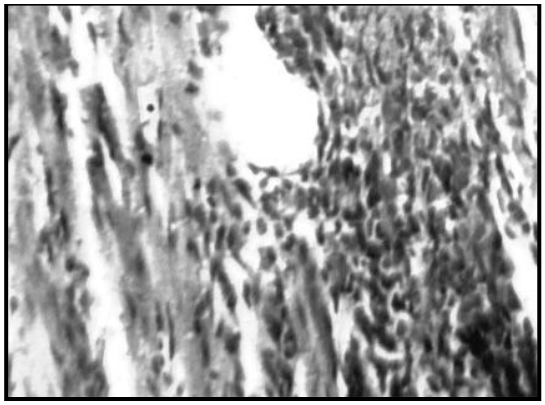


Рис. 18. Миокард правого желудочка сердца животных опытной группы после 20-суточной экспозиции эксперимента. Окраска ГОФП. Ув. об. 20, ок. 7

Литература

1. Андреєва, І. В. Механізми розвитку стравохідно-шлункових кровотеч : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.03.04 «Патологічна фізіологія» / І. В. Андреєва. – Харків, 2007. – 39 с.
2. Виноградов, А. А. Развитие и устранение острого вазогенного отека-набухания головного мозга (экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соиск. ученой степ. д-ра мед. наук. : спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / А. А. Виноградов. – Москва, 1998. – 36 с.
3. Гусев, М. В. Молекулярный кислород как фактор эволюции / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – Москва : Кафедра клеточной физиологии и иммунологии биологического факультета МГУ им. М. В. Ломоносова, 2001. – 20 с.
4. Кулинский, В. И. Обезвреживание ксенобиотиков / В. И. Кулинский. – Москва, 1999. – 56 с.
5. Морфологические особенности реакции печени крыс на хроническое воздействие ксенобиотиками / [Х Я. Каримов, Ф. Ш. Иноятов, Ш. Н. Дадажанов, Р. И. Исраилов] / Морфология. – 2002. – Т. 122, № 5. – С. 25-27.
6. Москаленко, В.Ф., Коваленко В.М. Кардіологія в Україні: реальність і перспективи // Медичні перспективи / В.Ф. Москаленко, В.М. Коваленко. – 2001. – Т.6/3, ч.2. – С. 14-18.
7. Применение окраски гематоксилином–основным фуксином–пикриновой кислотой (ГОФП) для выявления повреждений миокарда различного генеза / [Р. А. Серов, Г. А. Чекарева, К. К. Рагузин, Г. А. Шмырева] // Арх. пат. – 1977. – № 5. – С. 70-74.
8. Уровень общей воды в головном мозге и миокарде при хлороформной интоксикации / [С. А. Лобко, А. А. Панкратьев, И. В. Андреева, А. А. Виноградов] // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2009. – Т. 4, №. 3 – С. 95-100.
9. Шалимов, С. А. Руководство по опытной хирургии / С. А. Шалимов, А. П. Радзиховский, Л. В. Кейсевич. – М. : Медицина, 1989. – 272 с.
10. An autopsy case of acute chloroform intoxication after intermittent inhalation for years / [K. Harada, T. Ichiyama, H. Ikeda et al.] // Nihon Hoigaku Zasshi. – 1997. – Vol. 51(4). – P. 319-23.
11. Kim, N. Y. Two fatal cases of dichloromethane or chloroform poisoning / N. Y. Kim, S. W. Park, J. K. Suh // J. Forensic. Sci. – 1996. – Vol. 41 (3). – P. 527-529.
12. Nashelsky M. B. Homicide facilitated by inhalation of chloroform / M. B. Nashelsky, J. D. Dix, E. H. Adelstein // J. Forensic. Sci. – 1995. – Vol. 40 (1). – P. 134-138.
13. Toxicological analysis of drugs and poisons in formalin-fixed organ tissues. 2. Volatile substances / [T. Takayasu, K. Saito, J. Nishigami et al.] // Int. J. Legal. Med. – 1994. – Vol. 107 (1). – P. 7-12.

MORPHOLOGICAL ADAPTATION OF MYOCARDIUM TO CHLOROFORM INTOXICATION

S.A. LOBKO
A.A.VINOGRADOV

Lugansk Taras Shevchenko national university, Ukraine

e-mail: alexanvin@yandex.ru

The research is conducted on rats at which the 30-day's chloroform intoxication was designed. It is determined that at the design of chloroform intoxication mass of myocardium of ventricles of heart changed differently. At first it was rising during 15 days, and by the day 30 it has fallen down. In myocardium of heart ventricles there were histological changes which was characterized as violation of metabolism in a muscular fibre. In majority of cases fuxin dependent hearths were up-diffused diffusely. In separate cases these hearths could meet, forming the enough large area of toxic defeat. It was determined that the expressed localization of toxic defeat of myocardium depended on the display of experiment. Strengthening of vascular picture is certain with a venous plethora and porosity of vascular wall which was the cause of hemorragic infiltration.

Key words: chloroform intoxication, myocardium of ventricles of heart.

УДК 615.014.22

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С МАСЛОМ МОНАРДЫ

Е.Т. ЖИЛЯКОВА
О.О. НОВИКОВ
Е.Н. НАУМЕНКО
О.А. КУЗЬМИЧЕВА
К.А. БОЧАРОВА
Л.В. ТИТАРЕВА

Белгородский государственный национальный университет исследовательский

e-mail:ezhilyakova@bsu.edu.ru

В статье представлены экспериментальные данные о микробиологической и противовоспалительной эффективности масла монарды дудчатой, полученные при разработке новой лекарственной формы для проктологии. Кроме того, обосновано введение других компонентов предлагаемого состава.

Ключевые слова: фармацевтическая технология, лекарственные формы для проктологии, монарда дудчатая.

Введение.

Одной из важных проблем современной медицины является диагностика, лечение и профилактика проктологических заболеваний. В последнее время заболевания прямой кишки, в частности проктит, проктосигмоидит, геморрой получают все большее распространение и не имеют тенденции к снижению. Причиной этого является сидячий, малоподвижный образ жизни, нерациональное питание, вредные привычки, такие, как злоупотребление алкоголем, стрессы [1].

Согласно статистическим данным при скрининге проктологические заболевания выявляются у каждого четвертого здорового взрослого человека, при этом мужчины и женщины страдают этими заболеваниями примерно одинаково. Два и более заболеваний имеют около 1/3 пациентов. Среди клинически манифестирующих проктологических заболеваний первые 4 места занимают геморрой (43%), проктит и проктосигмоидит (17%), анальная трещина (10%) и опухоли толстой кишки, в основном, рак прямой кишки (9,2%) [2].

В настоящее время среди методов лечения в проктологии преобладают хирургические, однако многие формы проктита, проктосигмоидита и геморроя нуждаются в консервативной медикаментозной терапии. Комплексная терапия гормональными (кортикостероиды, производные 5-аминосалициловой кислоты) и антибактериальными ЛС (ампициллин, цефалоспорины и тетрациклины) улучшает общее состояние больных, способствуя снижению воспалительных процессов в кишечнике. Но наблюдаемые результаты лечения вышеперечисленными группами ЛС непродолжительны, а появление стойкой ремиссии – редкость. Поэтому поиск фармакотерапевтических средств, безопасных и эффективных, – актуальная задача [3, 4].

В свою очередь выбор вида лекарственной формы представляет собой немаловажный фактор в технологии препарата этой направленности действия. Для местного воздействия на очаг воспаления применяются водные извлечения лекарственных растений, растворы антисептических средств, мази, тампоны. Однако ведущая роль в фармакотерапии проктологических заболеваний принадлежит суппозиториям. Безусловно, суппозитории как лекарственная форма обладают рядом ценных и очевидных преимуществ. Кроме того, ректальный способ введения очень удобен и безопасен для гериатрических больных и для детей. Введение лекарственных веществ непосредственно *per rectum* безусловно благоприятно влияет на воспалительные процессы, позволяет облегчить местные боли, ускорить заживление разрывов и трещин [5].

При этом все большее внимание привлекают препараты растительного происхождения как наиболее безопасные и органичные для человеческого организма.

На фармацевтическом рынке России наблюдается ограниченный ассортимент суппозиториев отечественного производства, в состав которых входят растительные средства, а именно: масло семян тыквы, облепиховое масло, измельченная масса хлорофиллсодержащих водорослей, экстракт красавки. Поэтому исследования и создание суппозиториев с натуральными компонентами для лечения данного класса заболеваний в клинических и амбулаторных условиях актуальны.

Объекты и методы исследований.

Одними из перспективных для профилактики и лечения проктологических заболеваний лекарственных веществ является β-каротин микробиологический, обладающий ранозаживляющим, противовоспалительным, иммуномодулирующим действием, а также эфирное масло Монарды дудчатой, которое проявляет противогрибковые, противовоспалительные и иммуномодулирующие свойства.

Проведены исследования антимикробной активности масла Монарды в сравнении с эфирными маслами, широко используемыми в медицине, а также противовоспалительной активности масла Монарды.

Исследования антимикробной активности масла Монарды проводили методом серийных разведений 1% спиртового раствора масел в мясопептонном бульоне. Данные исследования антимикробной активности масла Монарды представлены в табл. 1.

Таблица 1

Антимикробная активность масла Монарды в сравнении с эфирными маслами, используемыми в медицине (мкг\мл)

Наименование эфирных масел	Neisseria catarralis	Streptococcus pyogenes	Staphylococcus aureus 209	Citrobacter OG	Escherichia coli o-III	Klebsiella preumoniae	Proteus vulgaris	Enterobacter cloacae	Serrabia marcescens	Pseudomonas aeruginosa
Монарда	125	125	250	500	400	400	400	400	500	1562,5
Эвкалипт	1000	-	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000	4000
Мята	500	250	4000	3125	4000	1562,5	3125	4000	3125	4000
Лаванда	500	500	3125	4000	4000	3125	3125	4000	-	-

Приведенные в таблице данные свидетельствуют о том, что масло Монарды дудчатой проявляет широкий спектр антимикробного действия и обладает высокой антимикробной активностью. Его бактерицидная доза составляет 125 мкг/мл-500 мкг/мл. Исключением является культура синегнойной палочки: бактерицидная доза- 1562,5 мкг/мл.

Исследование противовоспалительной активности масла Монарды дудчатой проводилось с использованием модели по В. Менкину. Результаты эксперимента подтвердили, что масло Монарды обладает противовоспалительным эффектом и, в частности, влияет на экссудативную фазу воспаления.

Дальнейшие исследования были посвящены разработке состава и технологии суппозиториев с БАВ. Одним из важных факторов, влияющих на эффективность действия лекарственных средств, является лекарственная форма, для которой в свою очередь значимы вспомогательные вещества, и особенно суппозиторная основа. Суппозитории на выше указанных основах готовили методом выливания. Технология была традиционной. Количество β-каротина и масла Монарды в составе готового продукта (одного суппозитория) было определено по литературным данным и на основании исследований антимикробных и противовоспалительных свойств масла Монарды.

При разработке состава и технологии суппозиториев исходили из современных требований комплексного (обезболивающего, противовоспалительного, ранозаживляющего, антимикробного) воздействия ЛС, поэтому в состав лекарственной формы одним из активных компонентов, оказывающих местноанестезирующее действие, был введен анестезин.

Оценку качества полученных суппозиториев проводили согласно требованиям ГФ XI.

Таблица 2

Органолептические и физико-химические свойства суппозиториев с β- каротином и маслом Монарды

Основа	Внешний вид	ВПД, мин.			Т пл, °С		
		После приготовления	Через 01 год хранения	Через 2 года хранения	После приготовления	Через 1 год хранения	Через 2 года хранения
Твердый жир типа А	Суппозитории торпедообразной формы, светло-оранжевого цвета, гладкие, без трещин и сколов. На срезе однородные, без механических включений	3,51 ±0,02	4,42 ±0,02	4,68 ±0,02	35,40 ±0,02	36,12 ±0,02	36,42 ±0,02
Витепсол W35	«-»	3,50± 0,02	3,82± 0,02	3,89± 0,02	35,24± 0,02	35,48± 0,02	36,12± 0,02
Суппоцир NAS50	«-»	3,92± 0,02	5,22± 0,02	5,95± 0,02	35,82± 0,02	37,14± 0,02	37,65± 0,02
Суппоцир АМ	«-»	3,78± 0,02	5,66± 0,02	6,27± 0,02	35,96± 0,02	37,24± 0,02	38,12± 0,02

Как видно из данных таблицы, внешний вид полученных суппозиториев после изготовления отвечает требованиям ГФ XI. Показатели ВПД суппозиториев с β-каротином и маслом Монарды дудчатой на всех основах отвечали требованиям ГФ XI.

Однако, температура плавления суппозиториев на основах суппоцир NAS 50 и суппоцир АМ уже после первого года хранения превысила предел требований НД (37°С). Поэтому эти основы были отклонены, а дальнейшие исследования проводились с основами твердый жир марки А и витепсол W35.

Выводы.

Таким образом, экспериментально обоснован и разработан состав и технология ректальных суппозиториев с β-каротином микробиологическим и маслом Монарды дудчатой с использованием в качестве основы твердого жира марки А.

Литература

1. Ривкин, В.Л. Актуальные вопросы колопроктологии / – Самара, 2003.1. – С. 22-23.
2. Ривкин, В. Л. Руководство по колопроктологии / В. Л. Ривкин, А. С. Бронштейн, С. Н. Файн. – М. : Медпрактика, 2001. – 300 с.
3. Овчинников, Л. К. Геморрой и принципы его лечения / Л.К. Овчинников и др. // Рос. аптеки. - 2009.-№ 8. – С.20-25.
4. Халиф, И. Л. Использование салицилатов в лечении неспецифического язвенного колита / И. Л. Халиф // Лечащий врач. – 2000. – № 5. – С. 52-54.
5. Состояние и перспективы создания суппозиторных лекарственных форм в секторе суппозиторных лекарственных форм ГП ГНЦЛС / Н. Г. Козлова [и др.] // Фармаком. – 2005. – № 2-3. – С. 25-30.

ANTIMICROBIAL AND ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF NEW FORMULATION WITH MONARDA OIL

E.T. ZHILYAKOVA
O.O. NOVIKOV
E.N. NAUMENKO
O.A. KUZMICHYOVA
K.A. BOCHAROVA
L.V.TITAREVA

Belgorod National Research University

e-mail:ezhilyakova@bsu.edu.ru

The paper presents experimental data on the effectiveness of antimicrobial and anti-inflammatory activity of Monarda fistulose oil obtained by developing a new dosage form for proctology. Furthermore, the introduction of other grounded components of the proposed composition was proved.

Keywords: Pharmaceutical Technology, dosage forms for proctology, Monarda fistulose.

УДК 615.015.32

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛЕГКИХ МОРСКИХ СВИНОК ПОСЛЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ВВЕДЕНИЯ ГОМЕОПАТИЧЕСКИХ ГРАНУЛ ЦИКЛОРИН НА ФОНЕ БРОНХООБСТРУКТИВНОГО СИНДРОМА

А.В. ЗАЙЧЕНКО,
Т.А. БРЮХАНОВА
А.Н. КОЛОС

Национальный фармацевтический университет,
г. Харьков,Украина

e-mail: zajjchenk.anna@mail.ru

Проведено экспериментальное исследование профилактического введения гомеопатического препарата циклорин на модели бронхообструктивного синдрома у морских свинок. Бронхообструктивный синдром моделировали на фоне анафилактического шока с предварительной 21-дневной сенсибилизацией нормальной лошадиной сывороткой и последующим введением разрешающей дозы антигена. Показано, что введение разрешающей дозы антигена сопровождалось выраженной бронхообструкцией, сужением просвета бронхов разного калибра, эозинофильной инфильтрацией паренхимы легких, нарушением структуры ядер гладкомышечных клеток ткани легких, сужением артериальных сосудов легких, что создавало предпосылки для развития отека легких. Профилактическое введение циклорина предупреждало развитие бронхообструктивной реакции, что подтверждалось данными морфологического исследования ткани легких. По способности предупреждать развитие бронхообструкции, циклорин не уступал препарату сравнения кетотифену.

Ключевые слова: бронхиальная астма, гомеопатический препарат, гранулы циклорин.

Бронхиальная астма (БА) – хроническое воспалительное заболевание дыхательных путей, которое характеризуется обратимой бронхиальной обструкцией и гиперреактивностью бронхов. По данным разных авторов, на сегодняшний день в мире не менее 5-7% населения страдает данным заболеванием, при этом особенно высокие темпы заболеваемости отмечают среди детей и подростков. Ежегодно БА становится причиной смерти более 2 млн человек во всем мире. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и комитета GINA (Global database on the Implementation of Nutrition Action), эффективный контроль над симптомами заболевания достигается только у 5% пациентов [1, 2].

Приведенные выше данные свидетельствуют о необходимости совершенствования существующих схем фармакологической коррекции БА, а также поиска и создания новых препаратов, позволяющих профилактировать обострение заболевания и продлевать период ремиссии. Перспективным направлением современной фармакологии является создание фито- и гомеопатических препаратов для лечения БА [2, 5]. В Национальном фармацевтическом университете был разработан гомеопатический препарат – гранулы «Циклорин» для коррекции аллергических состояний.

Целью данной работы было морфологическое изучение легких морских свинок после превентивного 21-дневного применения циклорина при бронхообструктивном синдроме (БОС).

Материалы и методы.

Для моделирования БОС использовали морских свинок, которых разделили на 4 экспериментальные группы (по 6 особей в каждой):

1). Интактный контроль (ИК);
2). Контрольная патология (КП) (животные с БОС);
3). Циклорин (БОС+циклорин);
4). Кетотифен (БОС+кетотифен).

Животных групп КП, циклорина и кетотифена в течение 21 дня сенсибилизировали нормальной лошадиной сывороткой (НЛС) при помощи трех инъекций (по 0,2 мл НЛС) по следующей схеме: 1-я инъекция – подкожно, 2-я и 3-я – внутримышечно (на 1-й, 3-й и 5-й дни соответственно). На 21-й день животным всех экспериментальных групп вводили разрешающую

дозу антигена (РДА) (1 мл НЛС) внутрибрюшинно. У сенсибилизированных животных групп КП, циклорина и кетотифена это сопровождалось развитием БОС [3, 4]. Животные групп циклорина и кетотифена в течение 21 дня получали (начиная с 1-го дня сенсибилизации) исследуемые препараты в профилактическом режиме внутрижелудочно в дозах 40 и 0,03 мг/кг соответственно. Основным методом верификации данных эксперимента стал анализ морфологической структуры легких морских свинок после введения РДА. Животных выводили из эксперимента через 1 час после введения РДА. Легкие фиксировали в 10% растворе формалина, обезвоживали в спиртах возрастающей крепости, заливали в целлоидин-парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопию препаратов осуществляли на микроскопе Micros 400 (Austria) фотографирование – фотоаппаратом Nikon Cool Pix 4500 (в системе Aver Media).

Результаты и их обсуждение.

Легкие ИК: просвет бронхов достаточно широкий, бронхи разного калибра сопровождаются ветками легочной артерии, которые продолжают ветвление до альвеолярных ходов. Просвет артериальных сосудов достаточно широкий, индекс Керногана (отношение толщины средней оболочки сосуда к диаметру просвета сосуда) равен 2:1. В мышечном слое бронхов ядра гладкомышечных клеток (ГМК) имеют овальную или несколько вытянутую форму, равномерно распределены, находятся в состоянии покоя. Альвеолярный рисунок паренхимы не нарушен, четко прослеживаются альвеолярные ходы, альвеолы. Отсутствуют признаки альвеолярного отека, пролиферативных явлений, нарушений микроциркуляции.

Легкие КП: выраженное сужение просвета бронхов, обтурация бронхиальным секретом, в просвете респираторных бронхов – массивная эозинофильная инфильтрация. Ядра ГМК бронхов характеризуются гиперхромностью, нарушением структуры, они расположены плотно или отдельными скоплениями (что является признаком бронхоспазма). Наблюдается выраженный спазм с сужением просвета артериального сосуда. В легочной паренхиме – признаки дистелектаза, утолщение межальвеолярных перегородок, интраальвеолярный отек, выраженная лимфоцитарная реакция (лимфоидные фолликулы). Данная морфологическая картина соответствует состоянию «шоковых» легких при БОС.

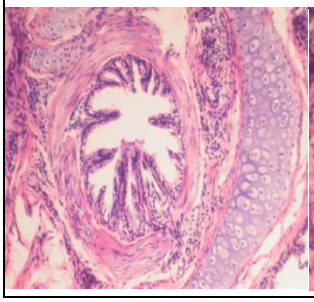
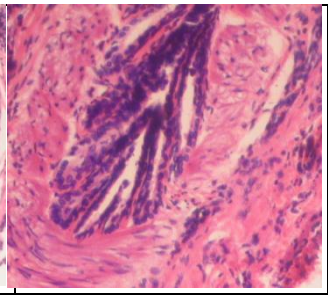
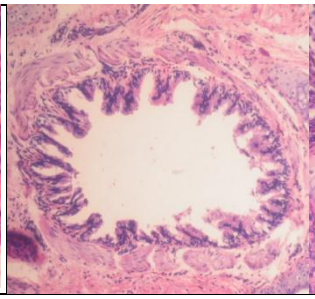
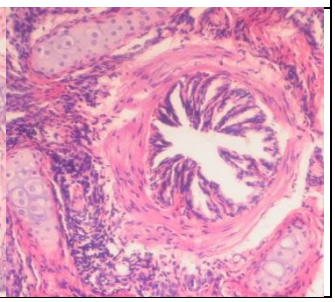
Легкие циклорин: просвет бронхов сохранялся на уровне ИК после введения РДА, состояние ядер ГМК мышечного слоя бронхов находится в пределах нормы, не выявлен спазм артериальных сосудов легких, паренхима респираторного отдела легких сохраняла типичный рисунок, лимфоцитарная реакция не повышена.

Легкие кетотифен: состояние просвета бронхов, артериальных сосудов легких, ядер ГМК схожи с описанным выше для циклорина. Однако, в паренхиме легких – уплотнение межальвеолярных перегородок, местами – признаки дистелектаза, одиночные лимфоидные фолликулы (табл.).

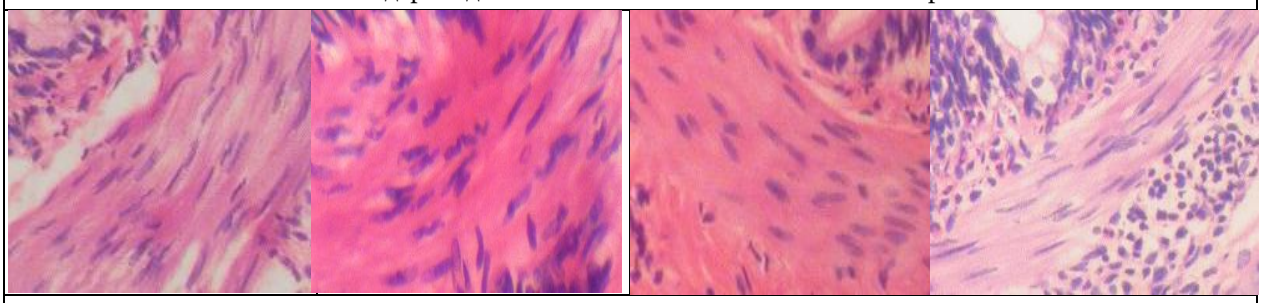
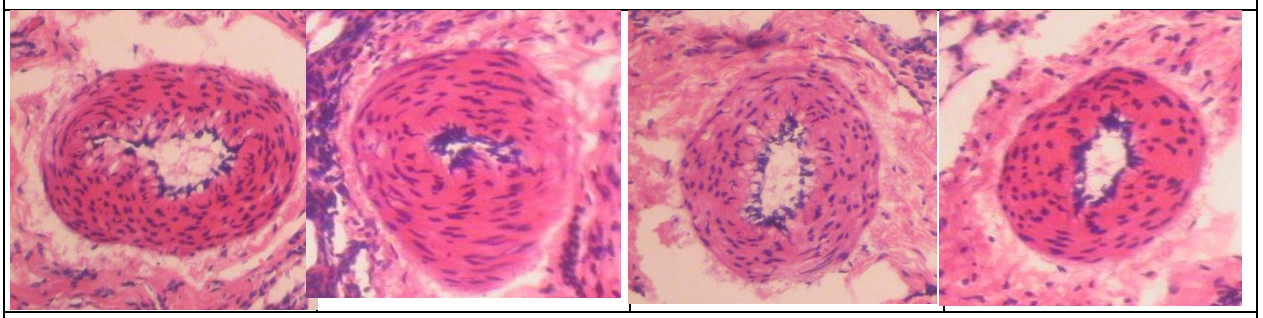
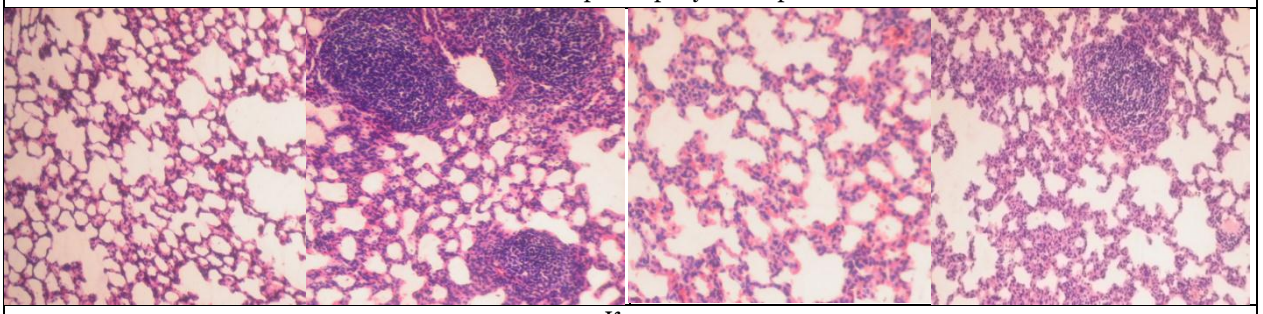
Таким образом, профилактическое 21-дневное введение циклорина эффективно препятствует развитию БОС у сенсибилизированных животных после введения РДА, что выражалось в нормализации просвета бронхов и артериальных сосудов легких, сохранении нормального альвеолярного рисунка паренхимы и снижении лимфоцитарной реакции.

Таблица

Морфологическая структура легких морских свинок с БОС

Интактный контроль	Контрольная патология	Циклорин	Кетотифен
состояние просвета бронхов			
			

Окончание табл.

состояние ядер гладкомышечных клеток мышечного слоя бронхов			
			
состояние просвета артериальных сосудов легких			
			
состояние альвеолярного рисунка паренхимы			
			
индекс Керногана			
2:1	0,5:2	2:1	1:2

Выводы.

1. На модели бронхообструктивного синдрома, вызванного 21-дневной сенсибилизацией с последующим введением разрешающей дозы антигена, гомеопатические гранулы циклорин в дозе 40 мг/кг проявляют выраженную фармакологическую активность, что проявляется в уменьшении выраженности БОС.

2. Терапевтическое действие препарата характеризуется предотвращением развития бронхообструкции, нормализации просвета бронхов и легочных артериальных сосудов, сохранении нормального рисунка паренхимы респираторного отдела легких, сохранении нормального значения индекса Керногана и состояния покоя ядер гладкомышечных клеток мышечного слоя бронхов.

3. Действие гомеопатических гранул циклорин не уступает действию препарата сравнения кетотифен.

Литература

1. Бронхиальная астма. Все, что нужно знать / Джон Эрз. — СПб, АСТ, Астрель, 2006.- 80 с.
2. Бронхиальная астма. Современный взгляд на лечение и профилактику / В. Н. Стручкова — СПб, Весь, 2008.- 160 с.
3. Доклінічне вивчення сенсибілізуючої дії лікарських засобів. Методичні рекомендації / За ред. О.В. Стефанова. – К. – 2002. – С. 5-27.
4. Лукманова, Ф.Ф. Матер. конф. «Аллергия и аутоаллергия». – Баку, 1963. – С. 78-81.
5. Пухлик, Б.М. Алергологія. Посібник для медичних вузів / Б.М. Пухлик. – Вінниця: Нова книга, 2004. – 228 с.

MORPHOLOGICAL RESEARCH OF LUNGS OF GUINEA PIGS AFTER PREVENTIVE INTRODUCTION OF HOMOEOPATHIC GRANULES OF CYCLORINE AGAINST BRONCHIAL OBSTRUCTION SYNDROME

A.V. ZAJCHENKO
T.A. BRUHANOVA
A.N. KOLOS

National university of Pharmacy, Kharkiv

e-mail: zajjchenk.anna@mail.ru

The experimental research of preventive introduction of a homeopathic medicine cyclorine on model of a bronchospasm syndrome at guinea pigs is conducted. Bronchospasm syndrome modeled against anaphylaxis with a preliminary 21-day sensitization of normal horse serum and the subsequent introduction of an allowing dose of an anti-gene. It is shown that introduction of an allowing dose of an anti-gene was accompanied by the expressed bronchospasm syndrome, narrowing of a gleam of bronchial tubes of different caliber, an eosinocyte infiltration of lungs tissue, violation of structure of nucleus of cells of tissue of lungs, narrowing of arterial vessels of lungs that created preconditions for development of edema of lungs. Preventive introduction of cyclorine prevented development of bronchospasm reaction that was confirmed by data of morphological research of tissue of lungs. On ability to prevent bronchospasm reaction development, cyclorine didn't concede to a comparison preparation of ketotifene.

Key words: bronchial astma, homeopathic drug, granules cyclorine.

УДК 616.233 + 616.241 – 002.3: 57.044: 616 – 092.9

ВЛИЯНИЕ ИОНИЗИРУЮЩЕГО ИЗЛУЧЕНИЯ И ГЛУТАМАТА НАТРИЯ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ БРОНХОВ И ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Э.А. ЯРОВАЯ

ГЗ «Луганский государственный медицинский университет», г. Луганск, Украина

e-mail: ellinochka@yahoo.com

Были изучены основные особенности морфофункциональных изменений бронхов и легких крыс после 60-дневного воздействия ионизирующего излучения и пищевой добавки глутамата натрия. На ранних сроках реадаптации установлены признаки очаговой десквамации эпителия бронхов, гиперплазии бокаловидных клеток и усиление секреции слизи бронхиальными железами с гемодинамическими изменениями в паренхиме легких. К концу периода реадаптации выявлено увеличение количества крупных лимфатических узелков, зачастую с герминативными центрами.

Ключевые слова: бронхи, легкие, морфология, ионизирующее излучение, глутамат натрия.

Одним из приоритетных направлений современной медицинской науки является изучение морфологических особенностей и функционального состояния органов дыхательной системы [2]. Это связано с ухудшением состояния здоровья населения вследствие снижения реактивности организма в целом и повышением аутоиммунной, аллергической и онкологической заболеваемости. По данным ВОЗ, к 2020 году хроническое обструктивное заболевание легких (ХОЗЛ) будет занимать 5-е место в мире по распространенности и 3-е место среди причин смерти (в настоящее время 12-е и 6-е, соответственно).

В последние десятилетия особое внимание исследователей привлечено к изучению влияния физических факторов на организм человека и животных, среди которых ионизирующее излучение имеет существенное значение [1, 3]. В последние полвека последствия различных атомных катастроф на планете неблагоприятно сказываются на состоянии здоровья населения. Кроме того, рост онкологической патологии и применяемая лучевая терапия заставляет задуматься о механизмах воздействия повышенных доз радиации на организм и механизмах его адаптации.

Наряду с этим, в конце XX века изготовление пищевых добавок стало мощной областью производства. Количество пищевых добавок, использующихся в пищевом производстве большинства стран мира, достигает 500 наименований [4]. Наиболее распространенной из них является глутамат натрия. Он используется при изготовлении блюд из бобовых, рыбы, овощей, птицы, усиливая их вкус, при производстве консервов, супов, концентратов, приправ. Однако результаты детальных и целенаправленных исследований по изучению морфореактивности органов дыхательной системы при сочетанном воздействия ионизирующего излучения и пищевых добавок на данный момент отсутствуют.

Ввиду этого, **целью нашего исследования** явилось изучение на светомикроскопическом уровне динамики морфологических изменений бронхов и легких крыс в обычных средовых условиях и при сочетанном воздействии глутамата натрия как пищевой добавки и ионизирующего излучения. Данная работа выполнена в соответствии с планом научных исследований ГЗ «Луганский государственный медицинский университет» и является частью научной темы кафедры анатомии человека «Вплив харчових домішок та іонізуючого випромінювання на морфогенез органів дихальної, імунної та ендокринної системи» (номер госрегистрации 0112U001849).

Материал и методы исследования.

Эксперимент был проведен на 36 половозрелых крысах линии Вистар с исходной массой тела 180-225 г, которые были разделены на 2 группы. Первая группа – контрольная. На крыс второй группы оказывалось сочетанное воздействие – ионизирующее излучение в четыре сеанса (в целом 4 Гр) и ежедневное добавление в пищу глутамата натрия в дозе 30 мг/кг массы животных.

Животных декапитировали через 1, 30 и 60 суток после двух месяцев содержания в условиях проводимого эксперимента. Экспериментальные исследования проводились в соответствии с «Общими этическими принципами экспериментов над животными», утвержденны-

ми I Национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001). Парафиновые серийные топографические срезы толщиной 3 мкм окрашивали гематоксилин-эозином.

Детали гистологического строения срезов бронхов и легких изучали с помощью микроскопа Olympus BX41, использовались объективы Plan 4x ∞/-, Plan 10x x/0,25, Plan 40 x x/0,65, ∞/0,17. Морфометрическое исследование объектов проводили на компьютерном комплексе, в состав которого входят: микроскоп Olympus BX 41, цифровой фотоаппарат Olympus C 5050Z с пяти мегапиксельной матрицей, который соединен с микроскопом системой адаптеров этой же фирмы. Полученные цифровые изображения загружали в оригинальную компьютерную прорамму «Morpholog» [5,6].

Результаты исследования и их обсуждение.

Светомикроскопические исследования показали, что на 1-е сутки реадаптационного периода на гистологических препаратах бронхов и легких крыс, подвергшихся сочетанному воздействию ионизирующего излучения и бензоата натрия, определялась очаговая десквамация бронхиального эпителия, гиперплазия бокаловидных клеток и усиление секреции слизи бронхиальными железами (рис. 1). В ткани легкого (перибронхиально, в межальвеолярных перегородках) очагов выявлялось диффузно-очаговое утолщение межальвеолярных перегородок за счет скопления макрофагов, пролиферации фибробластов, в просветах бронхов – десквамированный эпителий. Выявлены распространенные гемодинамические нарушения: полнокровие сосудов с сепарацией плазмы, краевым стоянием полиморфноядерных лейкоцитов и лимфоцитов и их очаговым диапедезом, набухание и очаговая десквамация эндотелиоцитов артерий и вен различного калибра.

На 30-е сутки периода реадаптации сохранялись диффузно-очаговое утолщение межальвеолярных перегородок, очаговая пролиферация альвеолоцитов (рис. 2). Выявлены изменения эпителиальной выстилки бронхов крупного и среднего калибра: гиперплазия бокаловидных клеток с гиперсекрецией слизи; очаговая пролиферация эпителия с формированием многоядерных структур. В мелких бронхах очагово определялась пролиферация эпителия, гиперплазия перибронхиальной лимфоидной ткани с формированием вторичных лимфатических узелков. Очагово периваскулярно (преимущественно вокруг вен) также располагалась лимфоидная ткань, в которой определялись макрофаги, а также значительное количество эозинофильных лейкоцитов.

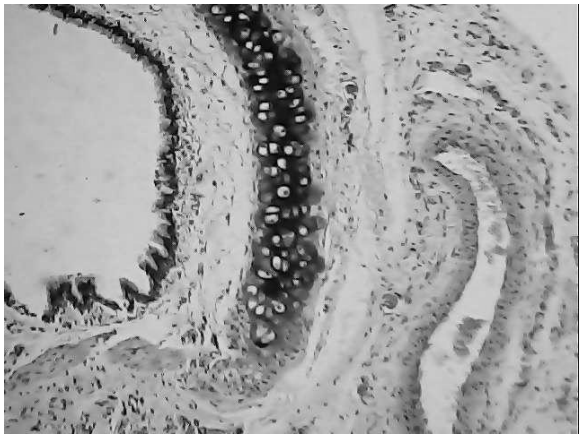


Рис. 1. Участок стенки бронха среднего калибра половозрелой крысы серии №2 на 1-е сутки реадаптации после сочетанного воздействия ионизирующего излучения и глутамата натрия. Гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan 4^{x} ∞/-

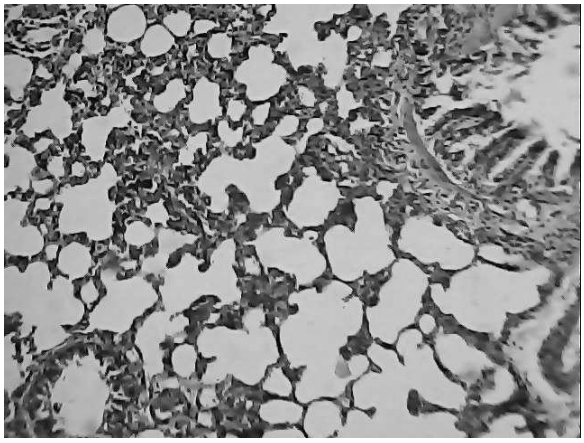


Рис. 2. Участок паренхимы легкого половозрелой крысы серии №2 на 30-е сутки реадаптации после сочетанного воздействия ионизирующего излучения и глутамата натрия. Гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan 4^{x} ∞/-

С течением времени к 60-м суткам реадаптационного периода, по данным светомикроскопического исследования сохранялись изменения эпителиальной выстилки бронхов крупного и среднего калибра. В мелких бронхах очагово определялась пролиферация эпителия. Сохранялась гиперплазия перибронхиальной лимфоидной ткани с формированием лимфоидных фолликулов со светлыми центрами. Очагово периваскулярно (преимущественно вокруг вен) также располагалась лимфоидная ткань, в которой очагово определялись макрофаги. В просветах бронхов располагались десквамированный бронхиальный эпителий, слизь. Гемодинамические нарушения были менее выражены, чем на ранних сроках реадаптационного периода.

Определялось также сужение просветов артерий мелкого калибра, вплоть до облитерации единичных сосудов. Сохранялись периваскулярные скопления макрофагов и тучных клеток.

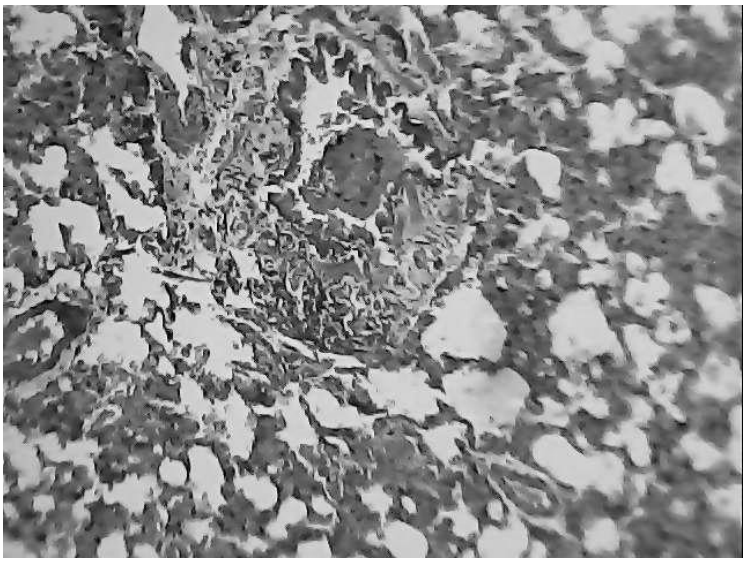


Рис. 3 . Гемодинамические изменения в легочной паренхиме половозрелой крысы серии №2 на 30-е сутки реадаптации после сочетанного воздействия ионизирующего излучения и глутамата натрия. Гематоксилин-эозин. Приближение: Zoom 162. Объектив: Plan 4^{x} ∞/-

Выводы.

Таким образом, в изучаемых нами органах дыхательной системы были выявлены стойкие структурно-функциональные перестройки как результат длительного сочетанного воздействия на организм ионизирующего излучения и приема в пищу глутамата натрия. На ранних сроках реадаптационного периода были выявлены признаки очаговой десквамации эпителия бронхов, с гиперплазией бокаловидных клеток и усилением секреции слизи бронхиальными железами с гемодинамическими изменения в паренхиме легких. К концу периода реадаптации выявлено увеличение количества крупных лимфатических узелков, зачастую с герминативными центрами.

Перспективы дальнейших исследований.

В дальнейшем нами планируется детальное изучение микроорганизации на ультрамикроскопическом уровне бронхов и легких животных в условиях вышеописанного эксперимента.

Литература

1. Голивец, Т.П. Актуальные аспекты радиационного канцерогенеза: проблема оценки эффективного воздействия «малых» доз ионизирующего излучения. Аналитический обзор / Т.П. Голивец, Б.С. Коваленко, Д.В. Волков // Научные ведомости Белгородского государственного университета. — 2012. — № 16 (135). — Вып. 19. — С.5-14.

2. Кожина, О.Ю. Морфологическое состояние легочной ткани мышей, инфицированных вирусом гриппа после введения криоконсервированной кордовой крови / О.Ю. Кожина, В.В. Волина, А.Н. Гольцев // Научные ведомости Белгородского государственного университета. — 2013. — №11 (154).-Вып. 22. — С.137-146.

3. Бердоносов, С.С. Ионизирующее излучение и окружающая среда / С.С Бердоносов. // Соросовский образовательный журнал. — 2001. — №5. — С.124-129.

4. Сарафанова, Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия./ Л.А. Сарафанова. – СПб. : Изд.-во Гиорд, 2004. — 808 с.

5. Лапач, С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев : Морион, 2001. — С. 113-114, 162-163, 187-189.

6. Овчаренко, В.В. Комп'ютерна програма для морфометричних досліджень «Morpholog» / В.В. Овчаренко, В.В. Маврич /Свідоцтво про реєстрацію авторського права на твір №9604 України, дата реєстрації 19.03.2004р.

INFLUENCE OF IONIZING RADIATION AND SODIUM GLUTAMATE ON MORPHOLOGICAL PECULIARITES OF BRONHIAL TUBES AND LUNGS IN EXPERIMENT

E.A. YAROVA

SU Lugansk State Medical University, Ukrein

e-mail: ellinochka@yahoo.com

We have studied the main morphofunctional peculiarittes of the rat's bronchs and lungs after 60-days of chronical influence of ionizing radiation and sodium glutamate.On the early terms of readaptation period the signs of hearth desquamation of epithelium of bronchial tubes, hyperplazium of wineglasslike cells and strengthening of secretion of mucous, are set by bronchial glands with haemodynamic changes in the parenchima of lungs. At the end of period of readaptation increases amount of large lymphatic nodles, frequently with germinative centers.

Key words: lung, bronches, ionizing radiation,sodium glutamate.

УДК 616.379-008.64:616.-092,9

ВЛИЯНИЕ АЛКИЛСЕЛЕНОНАФТИРИДИНА НА ДИНАМИКУ АКТИВНОСТИ А-АМИЛАЗЫ, ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗЫ И ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

Е.А. ЧЕРНЯК
А.Р. АВАД
А.А. ВИНОГРАДОВ

ГУ Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко, Украина

mail alexanvin@yandex.ru

В статье представлены изучение динамики активности α-амилазы, щелочной фосфатазы и лактатдегидрогеназы в процессе развития экспериментального сахарного диабета без и на фоне введения алкилселенонафтиридина. По результатам проведенного эксперимента были сделаны выводы, что при развитии экспериментального СД происходит нарушение активности α-амилазы, ЛДГ и ЩФ. Эти нарушения, возможно являются следствием инициации свободнорадикальных процессов. Нормализация активности α-амилазы, ЛДГ и ЩФ при экспериментальном СД на фоне введения АСНР может быть связана с антиоксидантными способностями последнего.

Ключевые слова: сахарный диабет, алкилселенонафтиридин.

Лечение сахарного диабета (СД) является одной из актуальных проблем здравоохранения во всем мире. Это обусловлено распространенностью и ростом заболевания с частыми осложнениями, особенно со стороны сердечно-сосудистой и нервной систем. У больных СД риск инфаркта миокарда и острых нарушений мозгового кровообращения увеличивается в 2-3 раза. Артериальной гипертензией страдают до 80%больных СД, а риск мозгового инсульта увеличивается в 4-7 раз в сравнении со здоровыми людьми такого же возраста [10].

Известно, что патологические процессы, вызванные эндогенной интоксикацией, сопровождаются инициацией свободнорадикальных процессов [2]. Развивается дисбаланс между оксидантами и антиоксидантами, что может привести к нейродегенеративным процессам в ЦНС [12]. Поэтому исследование влияния антиоксидантов при развитии сахарного диабета является актуальной задачей. Особый интерес представляют антиоксидантные свойства веществ, содержащих селен, например, алкилселенонафтиридина (АСНР) [6, 7, 8].

Цель исследования.

Изучение динамики активности ферментов плазмы крови в процессе развития сахарного диабета без и на фоне введения алкилселенонафтиридина. Настоящая статья является частью научно-исследовательской работы кафедры анатомии, физиологии человека и животных ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко» под номером государственной регистрации 0198U002641 «Механизмы адаптации к факторам окружающей среды».

Материал и методы исследования.

Исследование проводилось на 13 половозрелых белых крысах-самцах весом 180-250 г в осенне-зимний период. У животных моделировали СД внутрибрюшинным введения стрептозотоцина (2-дезоксиметил-нитрозомочевина-глюкозопираноза), который имеет специфическое β-цитотоксическое действие [4]. Стрептозотоцин вводили раз в неделю в течение 21 суток внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг, разведенный в 0,5 мл 0,1 М цитратного буфера [4].

Ежедневно в течение 22 суток (с 21-х суток от начала моделирования СД) животным вводили АСНР (№ 7498352, «Справочник Бейльштейна»), смешанный со шпротовым паштетом. Суточная доза АСНР в перерасчете на селен проводилась по Ansari M. A. et al. (2004) и составляла 180 мкг/100 г [11].

У животных в процессе эксперимента в 1 на 7, 14, 21, 28, 35 и 42-е сутки исследовали активность α-амилазы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ).

Цифровые данные обрабатывались методом вариационной статистики с применением лицензионной программы Microsoft Excel. Содержание и уход за животными осуществлялись согласно «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 06.04.73 [3]. Работу с животными проводили с соблюдением биоэтики регламентируемой «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях»[9].

Результаты исследования и их обсуждение. У животных до начала эксперимента активность α-амилазы была в пределах 1314-1945 МЕ/л, ЛДГ – 2895-10000 МЕ/л, ЩФ – 86,30-445,3 МЕ/л (табл.).

Таблица

Динамика активности ферментов в процессе эксперимента

Экспозиция эксперимента	α-амилаза (МЕ/л)	ЛДГ (МЕ/л)	ЩФ (МЕ/л)
контроль	1720±130***	6970±1964*	173,4±83 *
7 сутки	1986±171 ***	6065±1678*	230,2±81,5*
14 сутки	2004±558*	5299±1703*	174,9±60,3*
21 сутки	2570±579*	5769±1511*	190,7±78,3*
28 сутки	3503±450**	6487±1810*	178,6±53*
35 сутки	2629±348**	6693±1526*	174,4±41,7 *
42 сутки	2517±609*	7076±1306 *	144,8±29,6*

*p< 0,05; **p< 0,01; ***p< 0,001

Через 7 суток от начала эксперимента активность α-амилазы и ЩФ в сравнении с контролем повысилась и составляла соответственно 1708-2352 МЕ/л и 110,6 — 438,4 МЕ/л. Активность ЛДГ понизилась до 3109-8937 МЕ/л (табл.).

На 14-е сутки эксперимента активность α-амилазы повышалась как в сравнении с контролем, так и с предыдущим показателем и составляла 1087-3564 МЕ/л. Активность ЩФ относительно стабилизировалась и была в пределах 68,7-394,5 МЕ/л, а активность ЛДГ изменялась неоднозначно. Минимальный показатель составлял 2587 МЕ/л, а максимальный — 10000 МЕ/л. В среднем было выявлено понижение активности ЛДГ (табл.).

После 21-суточной экспозиции эксперимента активности α-амилазы и ЩФ повышались в сравнении с контролем и предыдущими показателями. В цифровых соотношениях показатели колебались от 1873 до 3672 МЕ/л и от 75,6 до 445,2 МЕ/л соответственно (табл.). Активность ЛДГ понижалась в сравнении с контролем, а в сравнении с предыдущим показателем – повышалась. Цифровые значения были в пределах 2735-9372 МЕ/л (табл.).

Такие колебания активности ферментов вызваны развитием экспериментального СД с выраженными метаболическими нарушениями.

После того, как (начиная с 21-х суток экспериментального воздействия) животным начали вводить АСНР, показатели активности изучаемых ферментов изменялись. На 7-е сутки (28-е сутки от начала эксперимента) выявлен пик повышения активности α-амилазы, который доходил до 2897-4551 МЕ/л. Активность ЩФ была в пределах 110,7-311,7 МЕ/л, что было выше контрольного, но ниже в сравнении с предыдущем показателем. Активность ЛДГ повышалась до 3352-9612 МЕ/ и была выше контрольного и предыдущего показателей (табл.).

Через 14 суток введения АСНР (35-е сутки от начала эксперимента) активность α-амилазы понижалась относительно предыдущего показателя, но оставалась выше контроля и составляла 1874-3376 МЕ/л. Активность ЩФ была 112,3-250,6 МЕ/л, что было выше контроля, но ниже предыдущего показателя. Активность ЛДГ имела такую же тенденцию и составляла 4070-9700 МЕ/л (табл.).

На 21-е сутки введения АСНР (42-е сутки от начала эксперимента) активность α-амилазы понижалась до1456-3265 МЕ/л и была ниже в сравнении с предыдущим показателем, но выше контрольного. Активность ЩФ была в пределах 88,7-189,7 МЕ/л, что было ниже контрольного и предыдущего показателей. Активность ЛДГ составляла 4500-9769 МЕ/л, что было выше контрольного и предыдущего показателей (табл.).

Заключение.

В процессе развития экспериментального сахарного диабета изменялись активность α-амилазы, ЩФ и ЛДГ. Установлено, что динамика активности α-амилаза была неоднозначна. В первые 7 суток эксперимента активность фермента в сравнении с контролем повышалась в 1,155±0,071 раза. На 14-е сутки – в 1,165±0,178 раза, на 21-е сутки – в 1,494±0,232 раза. По данным литературы, повышение активности α-амилазы инициировано воспалительным процессом в поджелудочной железе [5].

После 7-суточного введения АСНР был пик повышения активности α-амилазы, которая была выше контроля в 2,037±0,265 раза. Затем активность фермента понижалась, но оставалась выше контрольного показателя в 1,528±0,153 раза (на 14-е сутки введения АСНР) и в 1,463±0,334 раза (на 21-е сутки).

Наиболее интенсивное повышение активности ЩФ наблюдалось в первые 7 суток эксперимента и превышало контрольный показатель в 1,172±0,454 раза. В дальнейшем ходе эксперимента активность фермента повышалась незначительно. На 14-е сутки от начала эксперимента активность ЩФ повышалась в 1,009±0,599 раза, на 21-е сутки – в 1,100±0,787 раза. После 7-суточного введения АСНР (28 сутки от начала эксперимента) активность ЩФ была выше контроля в 1,030±0,592 раза. На 14-е сутки от начала введения АСНР активность фермента повышалась в 1,006±0,430 раза. Однако на 21 сутки экспериментального введения АСНР активность ЩФ понижалась в сравнении с контрольным показателем в 1,214±0,406 раза. После введения АСНР динамика активности ЩФ указывала на стабилизацию функции печени [5].

Активность ЛДГ имела тенденцию к понижению, относительно контрольного показателя. Более интенсивное понижения активности ЛДГ наблюдалось до начала введения АСНР. В первые 7 суток от начала эксперимента активность ЛДГ понижалась в 1,149±0,211 раза. Пик интенсивного понижения активности фермента был на 14 сутки – в 1,315±0,566 раза. К 21 суткам активность ЛДГ понижалась в 1,208±0,486 раза. Спустя 7 и 14 суток от начала введения АСНР понижение активности ЛДГ в сравнении с контролем было менее значительным (7-е сутки – в 1,074±0,491 раза, 14-е сутки – в 1,041±0,377 раза). После 21-суточного эксперимента, включающего введение АСНР, активность ЛДГ повышалась в 1,015±0,339 раза. По данным литературы, снижение активности ЛДГ может свидетельствовать о дисфункции печени [1].

Выводы.

Развитие экспериментального стрептозотоцинового сахарного диабета сопровождалось изменением активности α-амилазы, ЩФ и ЛДГ, которое указывало на формирование воспалительного процесса в поджелудочной железе. Введение АСНР оказывало позитивное влияние, что выражалось понижением активности α-амилазы, ЩФ и повышением активности ЛДГ.

Для подтверждения правильности сделанных выводов необходимы направленные исследования гистоструктуры поджелудочной железы в процессе развития сахарного диабета до и после введения АСНР.

Литература

1. Бочкарева, А. В. Изменение активности лактатдегидрогеназы печени крыс при действии гепарина в условиях in vitro / А. В. Бочкарева, Ю. В. Зимин, А. Е. Хомутов // Вестник Нижегородского университета им. Н. И. Лобачевского. – 2008. – № 5. – С. 86- 8; Гусев М. В. Молекулярный кислород как фактор эволюции / М. В. Гусев, Л. А. Минеева – М : МГУ им. М. В. Ломоносова, 2001. – 20 с.

2. Западнюк, И. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, А. Е. Захария. — Киев: Вища школа, 1983. – С. 243- 276.

3. Іванов, А. В. Вікова динаміка концентрації глюкозі в крові щурів при діабеті,індукованому стрептозотоцином / А. В. Іванов // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2011. – № 4. – С. 66-69.

4. Камышникова, В. С. Клинико-биохимическая лабораторная діагностика / В. С. Камышникова //Справочник: в 2 т. – Минск: Интерпрессервис, 2003. – 140 с.

5. Литвинов, В. П. Замещенные 7-алкилселено-1,4-дигидро-1,6-нафтиридины – новые перспективные субстраты в синтезе гетероциклов с потенциальной биологической активностью / В. П. Литвинов, С. В. Роман, В. Д. Дьяченко // Докл. АН (Россия). – 2000. – Т. 374. – № 6. – С. 780-785.

6. Лобко, С. А. Влияние алкилселенонафтиридина на морфофункциональную адаптацию сердца при хлороформной интоксикации / С. А. Лобко // Вісник Луганського національного університету імені Тараса Шевченка (медико-біологічні науки). – 2010. – № 21 (208). – С. 66-81.

7. Станішевська, Н. В. Вплив ішемічного предстану на морфофункціональну адаптацію серця до некрозу міокарда при введенні алкілселенонафтиридину (експериментальне дослідження) : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 «патологічна фізіологія» / Н. В. Станішевська. – Харків, 2008. – 16 с.

8. Страсбург, 1986) [European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

9. Jeerakathil, T. Short-Term Risk for Stroke Is Doubled in Persons With Newly Treated Type 2 Diabetes Compared With / T. Jeerakathil, J. Johnson, S. Simpson et al // PersonsWithout Diabetes Stroke. – 2007. – № 38. – P. 1739-1743

10. Selenium protects cerebral ischemia in rat brain mitochondria / Ansari M.A., Ahmad A.S., Ahmad M., Salim S., Yousuf S., Ishrat T., Islam F. // Biol. Trace. Elem. Res. – 2004. – V. 101, № 1. – P. 73 – 86.

11. Sharp, F. R. Hypoxia-inducible factor in brain / F. R. Sharp, M. Bergeron, M. Bernaudin] // Adv. Exp. Med. Biol. – 2001. – V. 502. – P. 273-291.

INFLUENCE OF ALKYLSILANES NAPHTHYRIDINE ON THE DYNAMICS OF A-AMYLASE ACTIVITY, ALKALINE PHOSPHATASE AND LACTATE DEHYDROGENASE AGAINST THE BACKGROUND OF EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

E.A. CHERNYAK
A.R. AWAD
A.A. VINOGRADOV

Lugansk National University, Ukrein

mail alexanvin@yandex.ru

The article presents the studying of the dynamics of α- amylase activity, alkaline phosphatase and lactate dehydrogenase in the process of development of experimental diabetes mellitus without and on a background infusion of alkilselenonaftiridin. According to the results of this experiment there was findings, that is ,in the development of experimental diabetes mellitus there is violation of activity of α- amylase, lactate dehydrogenase and, alkaline phosphatase. These violations may are the result of the initiation of free radical processes. Normalization activity of α-amylase, lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase experimental diabetes mellitus on a background infusion of alkilselenonaftiridin may be associated with antioxidant abilities of the latter.

Key words: saccharine diabetes, alkilselenonaftiridin.

УДК : 612.419.577.171.6: 577.15

ВЛИЯНИЕ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ДЕГИДРОГЕНАЗ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРЫС IN VITRO

Е. М. КЛИМОЧКИНА
Н.А. СУХОСТАВСКАЯ

ГУ «Луганский национальный университет имени Тараса Шевченко», Украина

e-mail:klimochkina.am@gmail.com

Целью исследования была оценка пролиферативной активности мезенхимальных стволовых клеток при различном состоянии опиатных рецепторов. В эксперимент были взяты культуры мезенхимальных стволовых клеток крыс, в качестве агонистов опиатных рецепторов были использованы даларгин и DAGO, в качестве блокатора – налоксон. Была получена зависимость состояния пролиферативной активности от типа активированных рецептов, связанная с временем культивирования клеток. Причем, как предварительная блокада рецепторов, так и применение на ее фоне дексаметазона, вызывала повышение пролиферативной активности относительно контроля во всех опытных группах, не зависимо от вида рецепторов, хотя их дополнительная неселективная стимуляция замедляла темпы роста клеток к концу эксперимента.

Ключевые слова: опиатные рецепторы, мезенхимальные стволовые клетки, митохондриальные дегидрогеназы, пролиферация.

В последние годы исследователи уделяют огромное внимание использованию стволовых клеток для лечения различных патологий [1]. Причем, наиболее перспективным является использование мезенхимальных стволовых клеток самого пациента. Как известно, мезенхимальные стволовые клетки, источником которых является костный мозг, мультипотентны, т.е. способны дифференцироваться в клетки костной, хрящевой, мышечной тканей, а также в теноциты и элементы стромы, поддерживающие гемопоэз и нейральные клетки [2, 3, 4]. Они вырабатывают некоторые гемопоэтические и негемопоэтические ростовые факторы, интерлейкины и хемокины. Подобно гемопоэтическим, мезенхимальные стволовые клетки (МСК) составляют небольшую часть клеток костного мозга, однако в определенных условиях при культивировании in vitro они активно пролиферируют, не вступая в дифференцировку [5]. Это дает возможность изучить влияние различных факторов и веществ на процессы роста, дифференцировки и гибели данных клеток, а также особенности их метаболизма. На сегодняшнем этапе исследователей интересует вопрос миграции МСК из костного мозга в поврежденные органы и ткани с последующим размножением и дифференцировкой, механизмы этих процессов, а также роль факторов модулирующих взаимоотношения пролиферации, дифференцировки и апоптоза при адаптации трансплантируемых МСК [6, 7]. Особое значение имеют исследования, связанные с углублением понимания молекулярных механизмов регуляции апоптоза и пролиферации, а также возможности использования их ингибирования или активации в лечении целого ряда заболеваний [8, 9].

При этом особый интерес вызывает влияние на пролиферативную активность клеток состояния опиатных рецепторов. Опиоидная система представляет собой обширную и разнообразную по своему влиянию на организм регуляторную систему. Она участвует в регуляции различных физиологических функций, в том числе сердечно-сосудистой системы, в модуляции боли, пролиферации и других [10, 11]. Некоторые исследователи показали важную роль состояния опиатных рецепторов в процессах пролиферации при некоторых видах рака, включая рак яичников, а также при нейрогенезе и нейропротекции [12, 13, 14]. Но для выявления основных механизмов влияния опиоидной системы в процессах пролиферации, дифференцировки и апоптоза необходимы дальнейшие исследования.

Связь работы с научными программами, темами: работа выполнялась в рамках научной программы Министерства образования и науки Украины «Исследование процессов пролиферации и дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток и их влияние на регенерацию тканей» (номер государственной регистрации 0111U002247).

Целью исследования была оценка пролиферативной активности мезенхимальных стволовых клеток при различном состоянии опиатных рецепторов.

Материалы и методы.

Для исследования брали клетки костного мозга путем промывания полости бедренной кости взрослых лабораторных крыс. Клетки культивировали в среде Игла МЭМ с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки и антибиотиков в течение 14 дней со сменой питательной среды один раз в неделю. Жизнеспособность клеток в культуре определяли по тесту с трипановым синим. В эксперимент было взято 9 опытных групп: в первой серии групп клетки культивировали с неселективным агонистом опиатных рецепторов даларгином, с селективным агонистом μ–опиатных рецепторов DAGO, с дексаметазоном, с даларгином и дексаметазоном, DAGO с дексаметазоном. Во второй серии эксперимента блокировались опиатные рецепторы с помощью налоксона, а также добавляли к налоксону дексаметазон, даларгин и DAGO. Клетки с препаратами культивировали 24 и 48 часов. Контролем служила интактная культура клеток.

Для определения уровня клеточной пролиферации нами был использован колориметрический метод, основанный на том, что дегидрогеназы митохондрий в жизнеспособных клетках, в которых высокая метаболическая активность, способны превращать добавленную в культуру водорастворимую МТТ-тетразолиевую соль желтого цвета в кристаллы нерастворимого в воде формазана лилового цвета [15]. За 100% принимали количество формазана, образовавшегося в аликвоте свежевыделенных клеток костного мозга. Статистическую обработку результатов исследования проводили на персональном компьютере Celeron 300A с применением стандартных пакетов прикладных программ [16].

Результаты и обсуждение.

Принимая за 100% количество восстановленного формазана в растущей культуре клеток, без применения каких – либо препаратов, мы получили достаточно стабильные показатели пролиферативной активности в контрольной группе в течение всего времени культивирования (рис. 1).

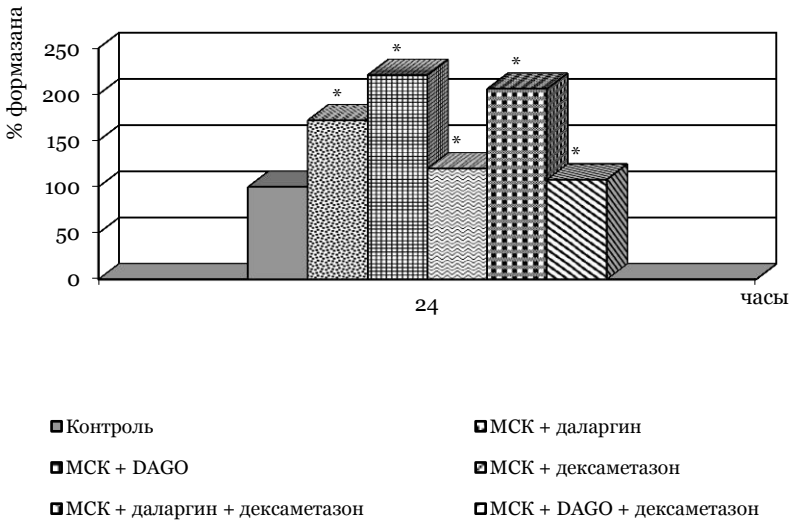


Рис. 1. Количество формазана в культуре МСК при действии агонистов опиатных рецепторов(24 часа культивирования, %), *-p<0,05, различия показателей достоверны по сравнению с контролем

При культивировании МСК с неселективным стимулятором опиатных рецепторов даларгином проходило значительное достоверное увеличение пролиферативной активности клеток в течение всего срока культивирования, которое достигало максимальной величины ко вторым суткам и превосходило контроль в 2,6 раза (p<0,05). В то время как использование селективного агониста μ–опиатных рецепторов в начале эксперимента приводило к увеличению уровня формазана в 2,21 раза (p<0,05), а к концу опыта резко понижалось в пределах опытной группы и практически не отличалось от контроля (рис. 1, рис. 2).

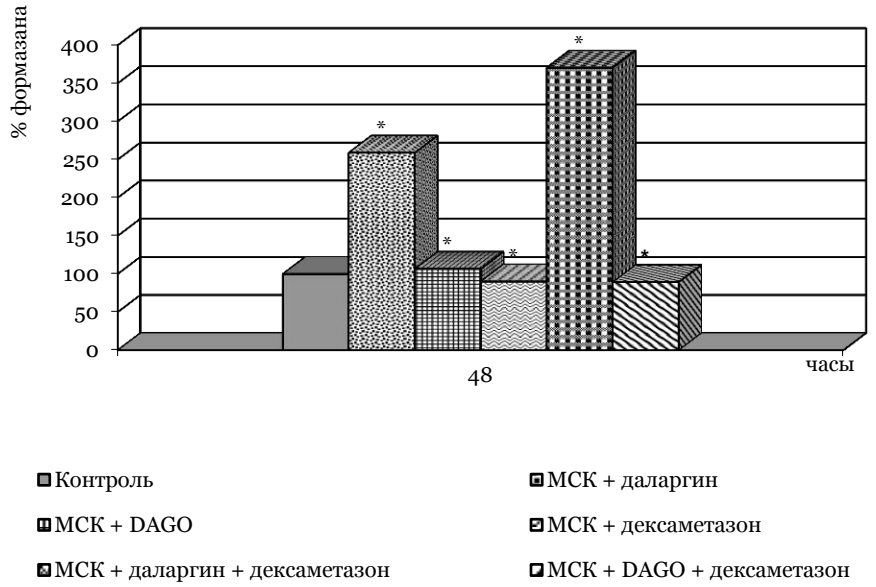


Рис. 2. Количество формазана в культуре МСК при действии агонистов опиатных рецепторов (48 часов культивирования, в %), *-р <0,05, различия показателей достоверны по сравнению с контролем

При анализе пролиферативной активности клеток нельзя обойти один из важнейших факторов роста клеточных культур – глюкокортикоидные гормоны, их действие на клетки в различных условиях культивирования. Они могут стимулировать или подавлять пролиферацию в культуре в зависимости от типа клеток и плотности их роста, а также изменять их чувствительность по отношению к другим факторам роста. Глюкокортикоиды, относящиеся к липофильным гормонам, проходят плазматическую мембрану клетки пассивно и затем связываются с внутриклеточными рецепторами с образованием гормоно-рецепторного комплекса. Данный комплекс, в свою очередь, взаимодействует со специфическими областями ДНК и активирует или инактивирует специфические гены. Связывание гормона с рецептором приводит к изменениям физико-химических свойств последнего, причем на эти процессы может влиять температурный режим культивирования, наличие АТФ и других компонентов в питательной среде. Рецепторы глюкокортикоидных гормонов отличаются высокой специфичностью и имеют достаточно сложное строение. Наряду с этим имеются данные, что стероиды вначале связываются специфическими белками мембраны клетки, которые транспортируют их к цитоплазматическому рецептору или, минуя его, непосредственно к рецепторам ядра [17]. Эффект действия стероидных гормонов проявляется не сразу, а спустя определенное время, которое необходимо для образования РНК и последующего синтеза специфического белка. При анализе пролиферативной активности культуры при действии дексаметазона учитывалась также его способность вызывать прикрепление клеток, а также индуцировать клеточную дифференцировку, причем направленность дифференцировки определяется сочетанием вводимых в состав полной питательной среды препаратов [18, 19]. При добавлении к клеткам дексаметазона в начале культивирования произошло небольшое увеличение активности клеток, которое с течением времени уменьшалось и было ниже контроля. В условиях сочетанного действия дексаметазона и даларгина пролиферативная активность в первые сутки превосходила контроль и даже продолжала расти ко вторым (в 3,7 раза выше контроля), а также превышала значения группы даларгина, хотя и сохраняла ее тенденцию (рис. 2). Тогда как применение в этих же условиях DAGO меняло картину в противоположную сторону в сравнении с группой МСК + DAGO. Сочетание DAGO и дексаметазона в начале эксперимента практически не изменяло уровень формазана, но с течением времени количество формазана уменьшалось и было ниже контрольных значений.

Интересная картина наблюдалась при действии на культуру клеток налоксона. Блокада опиатных рецепторов налоксоном приводила в первые сутки к незначительному увеличению пролиферативной активности клеток по отношению к контролю и составила 137% (рис. 3), но с течением времени шло нарастание показателя, которое к концу составило 186% (р<0,05). При первичной блокаде опиатных рецепторов и последующем добавлении даларгина, в первые сутки резко увеличивалась активность митохондриальных дегидрогеназ, превышая как контрольные значения в 2,8 раза (р<0,05), так и значения групп даларгина и налоксона. Однако на вто-

рые сутки наблюдалось замедление пролиферативных процессов и концу эксперимента составило 188,3% (p<0,05), что превышало контроль, но было достоверно ниже значений группы даларгина.

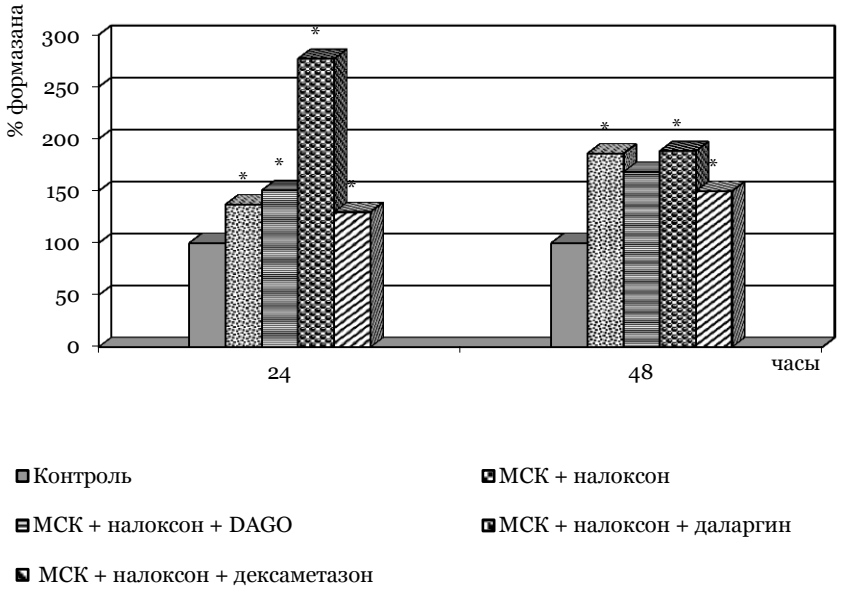


Рис.3. Количество формазана в культуре МСК при действии блокаторов опиатных рецепторов (%), *- p<0,05, различия показателей достоверны по сравнению с контролем

В группе сочетанного действия налоксона и DAGO действие последнего сдерживало активирующее влияние на пролиферативную активность клеток налаксона (Рис. 3). Рост наблюдался по отношению к контролю, но не достигал значений группы налоксона. При действии дексаметазона на фоне блокады опиатных рецепторов количество формазана нарастало в течение всего эксперимента и составило на вторые сутки 149,9% (p<0,05), что является самым низким показателем из всех опытных групп данной серии.

Полученные данные позволяют предположить зависимость пролиферативной активности клеток от типа активированных опиатных рецепторов, причем как на фоне блокады, так и в условиях применения дексаметазона.

Таким образом, оценивая влияние на пролиферативную активность МСК агонистов опиатных рецепторов, была получена зависимость ее состояния от типа активированных рецептов, зависящая от времени культивирования клеток. Причем, как предварительная блокада рецепторов, так и применение на ее фоне дексаметазона вызывало повышение пролиферативной активности относительно контроля во всех опытных группах, не зависящей от вида рецепторов, хотя их дополнительная неселективная стимуляция замедляла темпы роста клеток к концу эксперимента.

Выводы.

Неселективная активация опиатных рецепторов приводит к стимуляции пролиферативной активности клеток в первые сутки эксперимента, которое нарастает к концу эксперимента. Тогда как селективное стимулирование μ–опиатные рецепторов дает резкое повышение в первые сутки и плавное, с течением времени, снижение пролиферативной способности клеток. Предварительная блокада опиатных рецепторов с течением времени изменяет на противоположное влияние как селективных, так и неселективных их агонистов на пролиферативную активность клеток.

Литература

1. Кухарчук, А.Л. Стволовые клетки и регенеративно-пластическая медицина / А.Л. Кухарчук// Трансплантологія. – 2004. – № 3. – С.76-86.

2. Мальцев, В.В. Современные представления о биологии стволовой клетки/ В.В. Мальцев., И.М.Богданова // Архив патологии. – 2002. – №4. – С. 7-11.

3. Chamberlain, G. Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing / G. Chamberlain, J. Fox, B. Ashton // Stem Cells. – 2007. – Vol. 25, № 11. – P. 2739-2749.

4. Muller, I. Low physiologic oxygen tensions reduce proliferation and differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells / I. Muller, C. Holzwarth, M. Vaegler // BMC Cell Biol. – 2010. – P. 11.

5. Prockop, D.J. Isolation and characterization of rapidly self-renewing stem cells from cultures of human marrow stromal cells / D.J. Prockop, I. Sekiya, D.C. Colter // Cytotherapy. – 2001. – Vol. 3. – P. 393-396.

6. Mabuchi, Y. Discovering the true identity and function of Mesenchymal Stem Cells / Y. Mabuchi, D.D. Houlihan, H. Okano, Y.Matsuzaki // Inflammation and Regeneration. – 2012, Vol. 32. – P. 146-151.

7. Keating, Ar. Mesenchymal Stromal Cells: New Directions / Ar. Keating // Stem Cell. — 1012. – Vol. 10. – P. 709-716.

8. Wei-li, F.U. Proliferation and apoptosis property of mesenchymal stem cells derived from peripheral blood under the culture conditions of hypoxia and serum deprivation / J.I.A. Zhu-qing, WANG Wei-ping // Chinese Medical Journal. – 2011. – Vol. 124(23). – P. 3959-3967.

9. Bergmann, A. Apoptosis, Stem Cells, and Tissue Regeneration / A. Bergmann, H. Steller // Sci Signal. 2010 – October 26; 3(145): re8–. doi:10.1126/scisignal. 3145re8.

10. Hauser, K.F. Opioids intrinsically inghibit the genesis of mouse cerebellar granule neuron precursors in vitro: differential impact of mu and delta receptor activation on proliferation and nuerite elongation / K.F. Hauser, F.F. Houdi, C.S. Turbek // J. Neurosci. – 2000. – Vol. 12, №4. – P. 1281-1293.

11. Narita, M. Role of delta-opioid receptor function in neurogenesis and neuroprotection / M. Narita, N. Kuzumaki, M. Miyatake // J. Neurochem. – 2006. Vol. 97(5). – P. 1494-505.

12. Donahue, R.N. Cell proliferation of human ovarian cancer is regulated by the opioid growth factor-opioid growth factor receptor axis / R.N. Donahue, P.J. McLaughlin, I.S. Zagon //Am.J. Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2009. – Vol. 296(6). – P. 1716-25.

13. Avella, D.M. The opioid growth factor-opioid growth factor receptor axis regulates cell proliferation of human hepatocellular cancer / D.M. Avella, E.T. Kimchi, R.N. Donahue // Am. J. Physiol. Regul. Integ.r Comp Physiol. – 2010 Vol. 298(2). – P. 459-66.

14. Yang, L. Opioid receptor agonists reduce brain edema in stroke / L. Yang, H. Wang, K. Shah // J. Brain Res.- 2011. – P. 1383.

15. Лунева, А.Г. Показатели продукции интерлейкина–2 и пролиферативного ответа лимфоцитов в оценке взаимодействия иммуносупрессивных препаратов/ А.Г. Лунева // Лабораторная диагностика. – 2002. – №3. – С. 14-20.

16. Лапач, С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич – Киев: Морион, 2000. – 320 с.

17. Балаболкин, М.И. Эндокринология: учебник [для системы последипломного образования] / М.И. Балаболкин. – М.: Медицина, 1998. – 584 с.

18. Тепляшин, А.С. Перспективы использования мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга и жировой ткани в регуляции регенерации опорных тканей / А.С. Тепляшин, С.З. Шарифуллина. // Аллергология и иммунология. – 2006. – Т. 7, № 2. – С. 189-198.

19. Петренко, А.Ю. Стромальные клетки- предшественники жировой ткани: выделение, фенотипические и дифференцировочные свойства при монослойном культивировании / А.Ю. Петренко, Ю.А. Петренко, Н.Г. Скоробогатова // Журнал АМН України. – 2008. – Т. 14, № 2. – С. 354-365.

INFLUENCEOF OF OPIOID RECEPTORS ON THE STATE OF MITICHONDRIAL DEHYDROGENASES OF RATS MESENCHYMAL STEM CELLS IN VITRO

E.M. KLIMOCHKINA
N.A SUKHOSTAVSKAYA

Luhansk
Taras Shevchenko
National university

e-mail:klimochkina.am@gmail.com

The aim of this study was to evaluate the proliferative activity of mesenchymal stem cells depending on the state of opiate receptors. In the experiment the culture of rats mesenchymal stem cells has been used, as an agonist of opioid receptors dalargin and DAGO, as blocker -naloxone also have been used. In an experiment the dependence of the state of proliferative activity on the type of activated receptors and on time of cell cultivation was obtained. Besides , as a preliminary locking of opiate receptors and the using on its background the dexamethasone caused an increasing of proliferative activity in regard to controls in all experimental groups, independently on the type of receptors; albeit the additional non-selective it stimulation has been retarding the cell growth by the end of the experiment.

Key words: opiate receptors, mesenchymal stem cells, mitochondrial dehydrogenase, proliferationэ.

УДК 615.281:616.921.5

АНАЛИЗ ЗАКУПОК ПРОТИВОВИРУСНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В ГОСПИТАЛЬНОМ СЕГМЕНТЕ

М.Ю. КИНЕВ, А.Ю. ПЕТРОВ, О.А. МЕЛЬНИКОВА, В.Я. ПАНЮШЕВ

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет Минздрава России»

e-mail: mkinev2009@yandex.ru

В статье изложены данные об объемах, структуре и ассортименте закупаемых противовирусных лекарственных препаратах (ЛП) в городской больнице (ГБ) города Екатеринбурга.

Ключевые слова: грипп, противовирусные лекарственные препараты, госпитальный сегмент.

Введение.

Вирусные инфекции занимают важное место в общей структуре инфекционных заболеваний. Наибольший удельный вес среди вирусных инфекций приходится на грипп и острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ). Данные инфекции занимают первое место по частоте и количеству случаев заболеваний в мире и составляют до 90% всех инфекционных заболеваний [1, 2]. Для профилактики и лечения гриппа и ОРВИ применяется огромный арсенал лекарственных препаратов из разных групп [3]. Наибольшее значение для лечения гриппа и ОРВИ имеют средства этиотропной терапии, представленные противовирусными лекарственными препаратами [4]. В настоящее время представлен огромный арсенал противовирусных лекарственных препаратов, среди которых наибольший удельный вес занимают препараты для лечения гриппа и ОРВИ [5;6].

Цель исследования.

Провести анализ структуры и ассортимента закупаемых противовирусных ЛП в госпитальном сегменте в натуральном и стоимостном выражении.

Материалы и методы.

Анализ проводился в ГБ г.Екатеринбурга. Выбор данной медицинской организации (МО) в качестве базы для проведения исследования обусловлен тем, что данная организация является одной из ведущих учреждений системы здравоохранения Свердловской области, оказывающая квалифицированную медицинскую помощь пациентам с инфекционными заболеваниями, в том числе с диагнозом грипп и ОРВИ. Кроме того, данная организация имеет несколько инфекционных отделений, рассчитанных на большое количество пациентов. Объектом анализа служили: данные территориального Фонда обязательного медицинского страхования Свердловской области (ТФОМС СО) за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. В ходе проведения анализа оценивалась общая структура закупленных ЛП в стоимостном и натуральном выражении по кварталам, структура закупленных противовирусных ЛП, структура ассортимента закупленных противовирусных ЛП по кварталам. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы Microsoft Office Excel 2007.

Результаты и их обсуждение.

В результате проведенного анализа было установлено, что за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. ГБ г.Екатеринбурга было закуплено 924 099 упаковок лекарственных препаратов (ЛП) на общую сумму 48 105 367,39 рублей. Объемы закупок лекарственных препаратов (ЛП) в ГБ г. Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. представлены в табл. 1.

Таблица 1

Объемы закупок лекарственных препаратов (ЛП) в ГБ г. Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г.

Период	Объемы закупок ЛП		Объемы закупок противовирусных ЛП	
	рублей	уд.вес, %	рублей	уд.вес, %
1 квартал 2011 г.	*10 437 149,50*	*21,70*	190 000,00	20,38
2 квартал 2011 г.	7 091 387,40	14,74	4 500,00	0,48
3 квартал 2011 г.	9 966 940,41	20,72	*324 532,50*	*34,81*
4 квартал 2011 г.	*12 751 533,43*	*26,51*	*330 305,50*	*35,43*
1 квартал 2012 г.	7 858 356,65	16,33	83 038,00	8,90
Итого:	48 105 367,39	100,00	932 376,00	100,00

В результате проведенного анализа было установлено, что за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. наибольшее количество лекарственных препаратов было закуплено в 1 и 4 кварталах 2011 года. Анализ закупок противовирусных лекарственных препаратов показал, что их было закуплено 3 655 упаковок на общую сумму 932 375,50 рублей. Удельный вес закупленных противовирусных лекарственных препаратов в общем объеме лекарственных препаратов в стоимостном и натуральном выражении составил 1,94% и 0,40% соответственно. Наибольшее количество противовирусных лекарственных препаратов было закуплено в 3 и 4 кварталах 2011 года (рис. 1). Это обусловлено следствием сезонности данных заболеваний и подготовкой ГБ к новому эпидемиологическому периоду заболеваемости вирусными инфекциями.

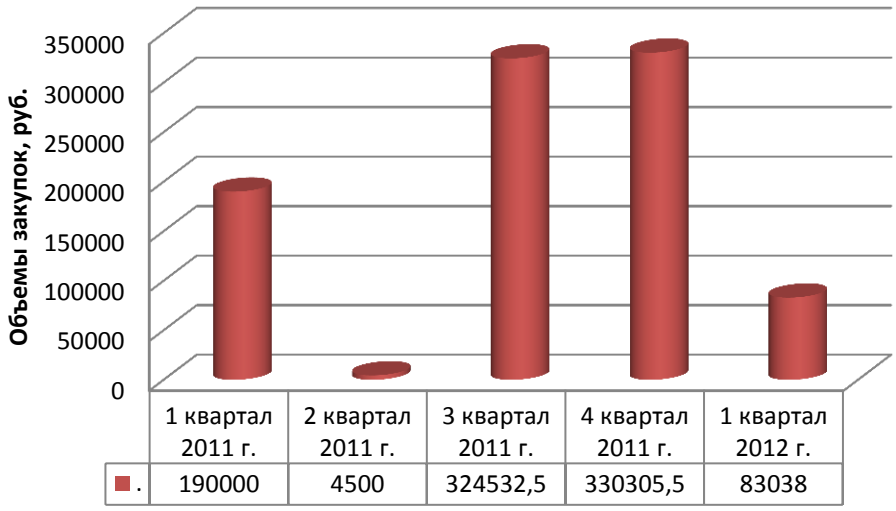


Рис. 1. Объемы закупленных противовирусных ЛП в ГБ г.Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в стоимостном выражении (в руб.)

Дальнейший анализ показал, что ассортимент закупленных противовирусных ЛП представлен 4 действующими веществами по МНН (Международным непатентованным наименованиям), 6 торговыми наименованиями (ТН), 3 Формами выпуска (ФВ), 7 фирмами-поставщиками (ФП) (табл. 2). Анализ противовирусных лекарственных препаратов по фармакологическому действию (эффекту) показал, что среди них имеются лекарственные препараты, используемые для лечения герпетических инфекций (Ацикловир), цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции (Ганцикловир), гриппа и ОРВИ (Арбидол, Осельтамивир). Также было установлено, что данные препараты входят только в 3 из 8 подгрупп группы «J05A Противовирусные препараты прямого действия»: «J05AB Нуклеозиды и нуклеотиды»; «J05AH Ингибиторы нейраминидазы»; «J05AX Прочие противовирусные препараты».

Таблица 2

Ассортимент закупленных противовирусных лекарственных препаратов в ГБ г. Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г.

МНН	Торговые наименования (ТН) (период закупок)	Форма выпуска (ФВ)	Цена за упаковку (Р), рублей	Количество упаковок (Q)	Сумма (Р*Q), рублей	Фирма – поставщик (ФП)	Местонахождение поставщика
1	2	3	4	5	6	7	8
Ацикловир	Медовир (1кв. 2011 г.)	порошок для приготовления раствора для инфузий 250 мг – флаконы (10) – пачки картонные	1900,00	100,00	190000,00	ООО «Компания «Лига 7»	Россия, Свердловская область, г.Заречный, Мира, 37
	Ацикловир (2кв. 2011 г.)	таблетки 400 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные (2) – пачки картонные	15,00	300,00	4500,00	Филиал ЗАО НПК «Катрен» в г. Екатеринбург	Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Аппаратная, 7
	Ацикловир (3кв. 2011 г.)	таблетки 200 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные (2) – пачки картонные	13,00	600,00	7800,00	Филиал ЗАО НПК «Катрен» в г. Екатеринбург	Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Аппаратная, 7
	Медовир (3кв. 2011 г.)	порошок для приготовления раствора для инфузий 250 мг – флаконы (10) – пачки картонные	2068,22	150,00	310233,00	ЗАО фирма «Центр внедрения Протек»	Россия, Свердловская область, г. Березовский, Чермянская, 2, стр 8

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8
	Ацикловир (3кв. 2011 г.)	таблетки 200 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные (2) – пачки картонные	13,00	500,00	6500,00	ООО Медицинское объединение «Новая больница»	Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, Заводская, 29
	Ацикловир (4кв. 2011 г.)	таблетки 200 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные (2) – пачки картонные	11,10	700,00	7770,00	ООО Медицинское объединение «Новая больница»	Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, Заводская, 29
	Ацикловир (4кв. 2011 г.)	таблетки 200 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные (2) – пачки картонные	11,20	400,00	4480,00	ОГУП «Областной аптечный склад»	454091, г. Челябинск, ул. Кирова, 141
	Медовир (4кв. 2011 г.)	порошок для приготовления раствора для инфузий 250 мг – флаконы (10) – пачки картонные	1743,90	45,00	78475,50	ЗАО «Империя-Фарма»	191123, г. Санкт-Петербург, ул. Шпалерная, 34 Б, пом. 20-Н
	Ацикловир (1кв. 2012 г.)	таблетки 200 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные (2) – пачки картонные	12,39	500,00	6195,00	ОГУП «Областной аптечный склад»	454091, г. Челябинск, ул. Кирова, 141
	3	2		3295 (90,15%)	615953,50 (66,06%)	6	5
Ганцикловир	Цимевен (4кв. 2011 г.)	лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 500 мг – флаконы – пачки картонные	1 565,00	40,00	62600,00	ЗАО «Р-Фарм»	123154, г. Москва, ул. Берзарина, 19, кор. 1
	Цимевен (1кв. 2012 г.)	лиофилизат для приготовления раствора для инфузий 500 мг – флаконы – пачки картонные	1500,00	20,00	30000,00	ЗАО «Р-Фарм»	123154, г. Москва, ул. Берзарина, 19, кор. 1

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8
	1	1		60,00 (1,64%)	92600,00 (9,93%)	1	1
Метилфенилтиометилдиметиламинометилгидроксиброминдол карбоновой кислоты этиловый эфир	Арбидол (4кв. 2011 г.)	капсулы 100 мг, 5 шт. – упаковки ячейковые контурные (8) – пачки картонные	643,65	200,00	128730,00	ООО Медицинское объединение «Новая больница»	Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, Заводская, 29
	1	1		200,00 (5,47%)	128730,00 (13,81%)	1	1
Осельтамивир	Тамифлю (4кв. 2011 г.)	капсулы 75 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные – пачки картонные	965,00	50,00	48250,00	ООО Медицинское объединение «Новая больница»	Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, Заводская, 29
	Тамифлю (1кв. 2012 г.)	капсулы 75 мг, 10 шт. – упаковки ячейковые контурные – пачки картонные	936,85	50,00	46842,50	Филиал ЗАО НПК «Катрен» в г. Екатеринбург	Россия, Свердловская область, г. Екатеринбург, 620137 г. Екатеринбург, ул. Аппаратная, 7
	1	1		100,00 (2,74%)	95092,50 (10,20%)	2	2
Итого:	6	3	-	3655,00 (100,00%)	932376,00 (100,00%)	7	6

Анализ показал, что лидером закупок среди противовирусных ЛП за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. является «Ацикловир», которого было закуплено 3295 упаковок на общую сумму 615953,50 рубля, что составляет 90,15% и 66,06% соответственно от всех закупленных противовирусных лекарственных препаратов. Большие объемы закупок данного лекарственного препарата ГБ говорят о том, что у пациентов в качестве сопутствующего заболевания, помимо основного выступает герпетическая инфекция.

Объемы закупленных противовирусных ЛП (по ТН (МНН) ЛП) в стоимостном и натуральном выражении приведены на рис. 2 и 3.

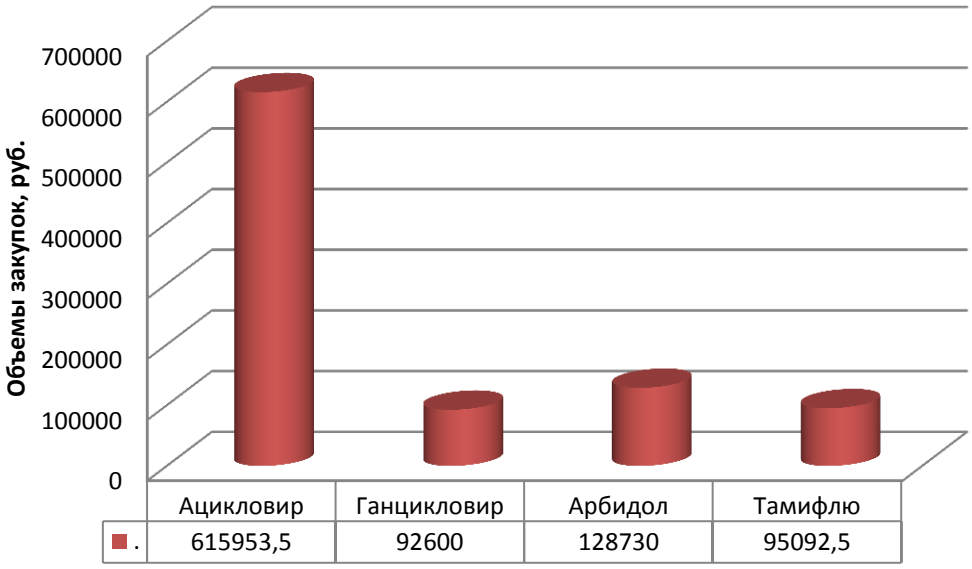


Рис. 2. Объемы закупленных противовирусных ЛП (по ТН (МНН) ЛП) в ГБ г.Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в стоимостном выражении (в руб.)

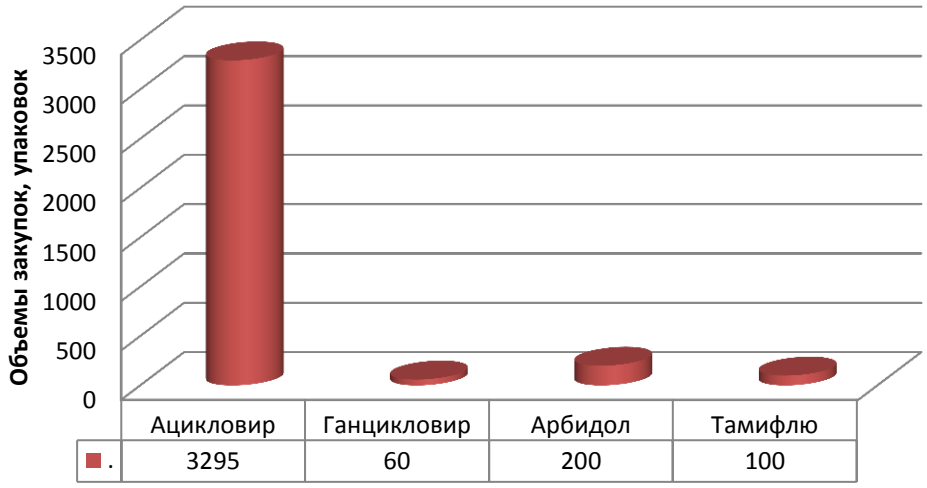


Рис. 3. Объемы закупленных противовирусных ЛП (по ТН (МНН) ЛП) в ГБ г.Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в натуральном выражении (в упаковках)

Анализ объемов закупок противовирусного ЛП (по МНН) «Ацикловир» по кварталам в стоимостном выражении показал, что наибольшее количество его было закуплено в 1, 3 и 4 кварталах 2011 г. (рис. 4), а в натуральном выражении в 3 и 4 кварталах 2011 г. (рис. 5).

Рис. 4. Объемы закупок противовирусного ЛП (по МНН) «Ацикловир» в ГБ г.Екатеринбурга (по кварталам) за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в стоимостном выражении (в руб.)

Рис. 5. Объемы закупок противовирусного ЛП (по МНН) «Ацикловир» в ГБ г.Екатеринбурга (по кварталам) за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в натуральном выражении (в упаковках)

Анализ объемов закупок противовирусного ЛП (по МНН) «Ганцикловир» по кварталам показал, что данный препарат был закуплен в 4 квартале 2011 г. в количестве 40 упаковок на общую сумму 62600,00 рублей и 1 квартале 2012 г. в количестве 20 упаковок на общую сумму 30000,00 рублей. В остальные периоды данный препарат не закупался.

Анализ объемов закупок противовирусного ЛП (по МНН) «Арбидол» по кварталам показал, что данный препарат был закуплен только в 4 квартале 2011 г. в количестве 200 упаковок на общую сумму 128730,00 рублей. В остальные периоды данный препарат не закупался.

Анализ объемов закупок противовирусного ЛП (по МНН) «Осельтамивир» по кварталам показал, что данный препарат был закуплен в 4 квартале 2011 г. в количестве 50 упаковок на общую сумму 48250,00 рублей и 1 квартале 2012 г. в количестве 50 упаковок на общую сумму 46842,50 рублей. В остальные периоды данный препарат не закупался. Большие объемы закупок противовирусных препаратов «Арбидол» «Осельтамивир» в данный период времени (4 квартал 2011 г. и 1 квартал 2012 г.) обусловлены наибольшей заболеваемостью пациентов в данный период гриппом и ОРВИ.

Анализ ассортимента закупленных противовирусных ЛП по формам выпуска (ФВ) показал, что они представлены следующими 3 формами: таблетки, лиофилизаты (порошки) для приготовления раствора для инфузий, капсулы (табл. 3).

Таблица 3

Удельный вес закупленных противовирусных лекарственных препаратов по формам выпуска (ФВ) в стоимостном и натуральном выражении

Форма выпуска (ФВ)	Количество закупленных противовирусных лекарственных препаратов			
	в стоимостном выражении		в натуральном выражении	
	рублей	уд.вес, %	упаковок	уд.вес, %
Таблетки	37 245,00	3,99	*3000,00*	*82,08*
Лиофилизаты (порошки) для приготовления раствора для инфузий	*671 308,50*	*72,00*	355,00	9,71
Капсулы	223 822,50	24,01	300,00	8,21
Итого:	932 376,00	100,00	3 655,00	100,00

Из табл. 3 видно, что наибольший удельный вес среди закупленных противовирусных лекарственных препаратов по формам выпуска (ФВ) в стоимостном выражении занимают лиофилизаты (порошки) для приготовления растворов для инфузий (72,00%) (рис.6), а в натуральном выражении таблетки (82,08%) (рис.7).

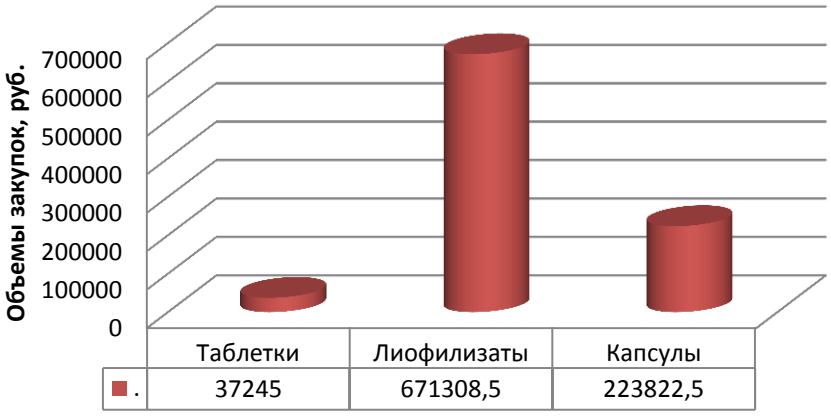


Рис. 6. Объемы закупок противовирусных ЛП (по формам выпуска) в ГБ г. Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в стоимостном выражении (в руб.)

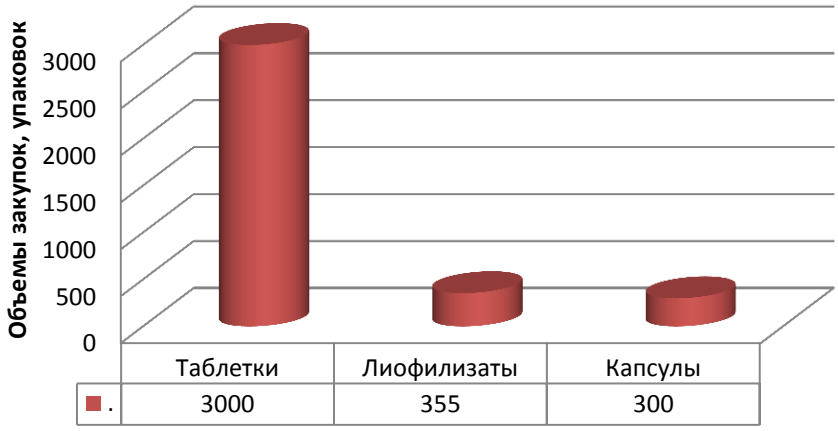


Рис. 7. Объемы закупок противовирусных ЛП (по формам выпуска) в ГБ г. Екатеринбурга за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в натуральном выражении (в упаковках)

Анализ ассортимента закупленных противовирусных лекарственных препаратов по фирмам-поставщикам показал, что они представлены 7 фирмами, расположенными в 6 городах России (табл. 4).

Таблица 4

Удельный вес фирм-поставщиков по объему поставляемых противовирусных ЛП (в стоимостном и натуральном выражении)

	Количество закупленных противовирусных лекарственных препаратов			
	в стоимостном выражении		в натуральном выражении	
	рублей	уд.вес, %	упаковок	уд.вес, %
ООО «Компания «Лига 7» (г. Заречный)	*190 000,00*	*20,38*	100,00	2,74
Филиал ЗАО НПК "Катрен" (г. Екатеринбург)	59 142,50	6,34	*950,00*	*26,00*
Закрытое акционерное общество фирма «Центр внедрения «Протек» (г. Березовский)	*310 233,00*	*33,27*	150,00	4,10
ООО Медицинское объединение «Новая больница» (г. Екатеринбург)	*191 250,00*	*20,52*	*1 450,00*	*39,67*
ОГУП «Областной аптечный склад» (г. Челябинск)	10 675,00	1,14	*900,00*	*24,62*
Закрытое акционерное общество «Империя-Фарма» (г. Санкт-Петербург)	78 475,50	8,42	45,00	1,23
Закрытое акционерное общество «Р-Фарм» (г. Москва)	92 600,00	9,93	60,00	1,64
Итого:	932 376,00	100,00	3 655,00	100,00

Наибольший удельный вес по объему поставляемых противовирусных лекарственных препаратов в стоимостном выражении занимают: ЗАО фирма «Центр внедрения «Протек» (г. Березовский) (310233,00 руб. или 33,27%), ООО Медицинское объединение «Новая больница» (г. Екатеринбург) (191250,00 руб. или 20,52%) и ООО «Компания «Лига 7» (г. Заречный) (190000,00 руб. и 20,38%) (рис.8), а в натуральном выражении занимают: ООО Медицинское объединение «Новая больница» (г. Екатеринбург) (1450 упаковок или 39,67%), Филиал ЗАО НПК «Катрен» (г. Екатеринбург) (950 упаковок или 26,00%), ОГУП «Областной аптечный склад» (г. Челябинск) (900 упаковок или 24,62%) (рис.9).

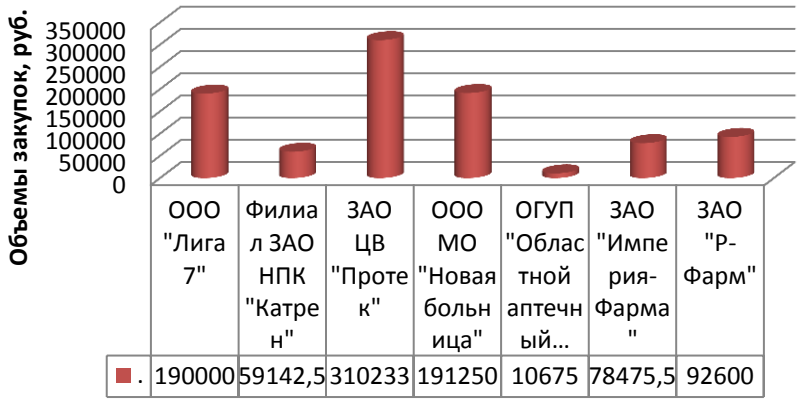


Рис. 8. Структура фирм-поставщиков, поставляющих в ГБ г.Екатеринбурга противовирусные ЛП за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в стоимостном выражении (в руб.)

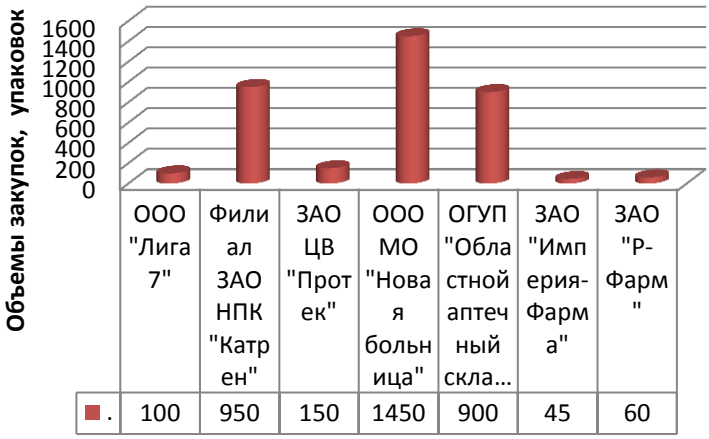


Рис. 9. Структура фирм-поставщиков, поставляющих в ГБ г.Екатеринбурга противовирусные ЛП за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в натуральном выражении (в упаковках)

Дальнейший анализ ассортимента закупленных противовирусных лекарственных препаратов по территориальному признаку фирм-поставщиков показал, что наибольший удельный вес в стоимостном выражении занимает Свердловская область (750 625,50 рублей или 80,51%), представленная 3 городами: г. Березовский (41,33%), г. Екатеринбург (33,36%), г. Заречный (25,31%) (табл. 5).

Таблица 5

Удельный вес фирм поставщиков (по территориальному признаку) по объему закупленных противовирусных лекарственных препаратов в стоимостном и натуральном выражении

Местонахождение поставщика	Количество закупленных противовирусных лекарственных препаратов			
	в стоимостном выражении		в натуральном выражении	
	рублей	уд.вес, %	упаковок	уд.вес, %
г. Заречный	*190 000,00*	*20,38*	100,00	2,74
г. Екатеринбург	*250 392,50*	*26,86*	*2 400,00*	*65,67*
г. Березовский	*310 233,00*	*33,27*	150,00	4,10
г. Челябинск	10 675,00	1,14	*900,00*	*24,62*
г. Санкт-Петербург	78 475,50	8,42	45,00	1,23
г. Москва	92 600,00	9,93	60,00	1,64
Итого:	932 376,00	100,00	3 655,00	100,00

На рис. 10 и 11 приведено распределение фирм-поставщиков по территориальному признаку по объемам поставляемых противовирусных ЛП в стоимостном и натуральном выражении.

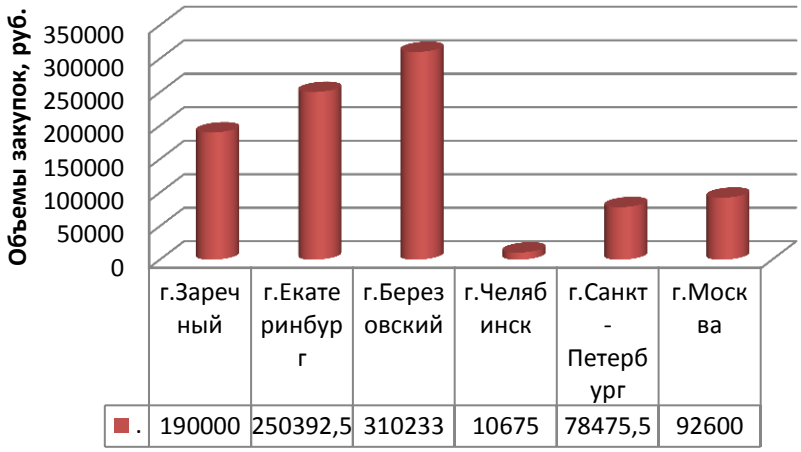


Рис. 10. Распределение фирм-поставщиков по территориальному признаку, поставляющих в ГБ г.Екатеринбурга противовирусные ЛП, за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в стоимостном выражении (в руб.)

Из рис. 10 видно, что наибольший удельный вес в стоимостном выражении занимают: г.Березовский, г.Екатеринбург и г.Заречный, т.е. города, расположенные в Свердловской области.

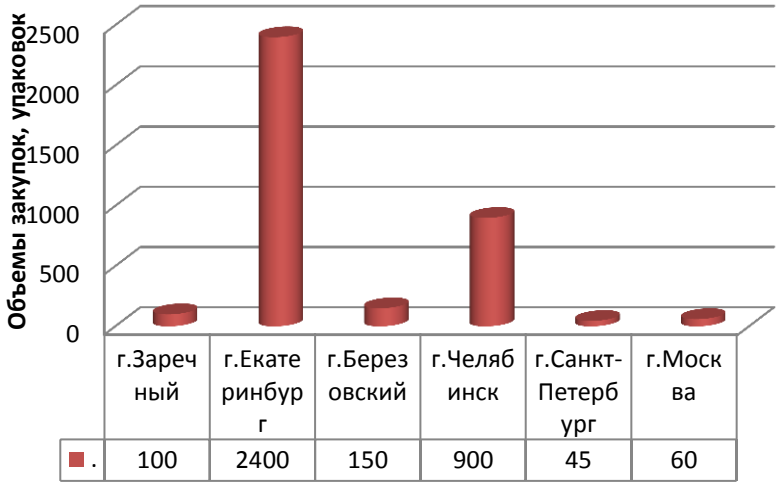


Рис. 11. Распределение фирм-поставщиков по территориальному признаку, поставляющих в ГБ г.Екатеринбурга противовирусные ЛП, за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. в натуральном выражении (в упаковках)

Из рис. 11 видно, что наибольший удельный вес среди фирм-поставщиков по количеству поставляемых упаковок противовирусных лекарственных препаратов занимают: г.Екатеринбург и г.Челябинск.

Выводы:

1. Было установлено, что за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. ГБ г.Екатеринбурга было закуплено 924 099 упаковок лекарственных препаратов на общую сумму 48 105 367,39 рублей. Наибольшее количество лекарственных препаратов закуплено в 1 и 4 кварталах 2011 года. В результате анализа установлено, что за рассматриваемый период было закуплено 3 655 упаковок противовирусных лекарственных препаратов на общую сумму 932 375,50 рублей. Наибольшее количество противовирусных лекарственных препаратов закуплено в 3 и 4 кварталах 2011 года. Лидером закупок среди противовирусных ЛП за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. является «Ацикловир», которого было закуплено 3295 упаковок на общую сумму 615953,50 рублей.

2. Анализ объемов закупок противовирусных ЛП, используемых для лечения гриппа и ОРВИ, показал, что за период 1 квартал 2011 г. – 1 квартал 2012 г. ГБ г.Екатеринбурга было закуплено 200 упаковок «Арбидола» на общую сумму 128730,00 рублей и 100 упаковок Осельта-

мивира» на общую сумму 95 092,50 рублей. Данные лекарственные препараты были закуплены в 4 квартале 2011 г. и 1 квартале 2012 г., что обусловлено наибольшей заболеваемостью пациентов гриппом и ОРВИ в данный период времени.

3. Наибольший удельный вес среди закупленных противовирусных лекарственных препаратов по формам выпуска (ФВ) в стоимостном выражении занимают лиофилизаты (порошки) для приготовления растворов для инфузий (72,00%), а в натуральном выражении таблетки (82,08%).

4. Анализ ассортимента закупленных противовирусных лекарственных препаратов по фирмам-поставщикам показал, что они представлены 7 фирмами, расположенными в 6 городах России. Наибольший удельный вес по объему поставляемых противовирусных лекарственных препаратов в стоимостном выражении занимают: ЗАО фирма «Центр внедрения «Протек» (г. Березовский), ООО Медицинское объединение «Новая больница» (г. Екатеринбург) и ООО «Компания «Лига 7» (г. Заречный). Наибольший удельный вес среди фирм-поставщиков в стоимостном выражении занимает Свердловская область, представленная 3 городами: г. Березовский , г. Екатеринбург, г. Заречный.

Литература

1. Зайцев, А. А. Лечение острых респираторных вирусных инфекций / А.А. Зайцев // Лечащий врач. – 2008. – №8. – С. 42-45.
2. Климова, Ю. А. Аденовирусная и респираторно-синцитиальная инфекции: клинико-иммунологическая характеристика / Ю. А. Климова, Томкалаев А.К., Попова С. П. и др.// Актуальные вопросы инфекционной патологии / под ред. проф. В. М. Семенова: материалы Международного Евро-Азиатского конгресса по инфекционным болезням (Витебск, 5–6 июня 2008). Витебск, 2008. – С. 92-93.
3. Насекина Е.Ю. Средства для лечения гриппа, ОРВИ и заболеваний, связанных со снижением иммунитета/ Новая аптека. – 2006. – № 1. – С.11-164.
4. Антивирусные препараты/ Ф.И. Ершов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – С.236-239
5. Государственный реестр лекарственных средств России.
6. Кинев, М.Ю. Анализ ассортимента противовирусных лекарственных средств, используемых для лечения и профилактики гриппа и/или ОРВИ в Российской Федерации/ Сборник материалов XIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – М.: ЗАО РИЦ «Человек и лекарство», 2012. – С. 512.

ANALYSIS OF PROCUREMENT OF ANTIVIRAL MEDICINES IN THE HOSPITAL SEGMENT

M.Y. KINEV, A.Y. PETROV, O.A. MELNIKOVA, V.J. PANYUSHEV

Ural State Medical University

e-mail: mkinev2009@yandex.ru

The article presents data on the volume, structure and range of purchased antiviral medications in the hospital in Yekaterinburg.

Key words: the flu, antiviral drugs.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Автина Н.В. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии НИУ «БелГУ»

Акопова В.В. – аспирант кафедры фармацевтической технологии НИУ «БелГУ»

Андреева О.А. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии, Пятигорский медико – фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России

Баскакова А.В. – сотрудник ООО «АТК»

Боева С.А. – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н.Бурденко

Бочарова К.А. – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней, факультет лечебного дела и педиатрии медицинского института НИУ «БелГУ»

Брюханова Т.А. – аспирант кафедры клинической фармакологии Института повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета г. Харьков

Бубенчикова В.Н. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии и ботаники Курского государственного медицинского университета

Будко Е.В. – доктор фармацевтических наук, кафедры общей и биоорганической химии Курского государственного медицинского университета

Буракова М.А. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ГБОУ ВПО СПХФА

Ванхин О.А – кандидат.фармацевтических наук доцент Старооскольского филиала НИУ «БелГУ»

Васильев Г.В. – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»

Власов С.В. – кандидат химических наук, доцент кафедры органической химии Национального фармацевтического университета, г. Харьков

Волков Д.В. – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры хирургических болезней №1 НИУ «БелГУ»

Голубицкий Г.Б.. – доктор химических наук, начальник ОНТ ОАО Фармстандарт-Лексредства, г. Курск

Гриценко В.И. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры заводской технологии лекарств Национального фармацевтического университета г.Харьков

Даниленко Л.М. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ

Доан Хоанг Жанг – аспирант НИУ «БелГУ»

Езерская О.И. – аспирант кафедры технологии лекарств и биофармации Львовского национального медицинского университета имени Данила Галицкого

Ельцова Н.О. – аспирант кафедры общей и биоорганической химии Курского государственного медицинского университета

Жилякова Е.Т. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии НИУ «БелГУ»

Журавель И.А. – профессор, доктор химических наук, заведующая кафедры токсикологической химии Национального фармацевтического университета г.Харьков

Зайченко А.В. – доктор медицинских наук , профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии Института повышения квалификации специалистов фармации, Национальный фармацевтический университет г. Харьков

Зинченко А.А. – старший научный сотрудник Украинского фармакопейного центра качества лекарственных средств

Изосимин О.И. – аспирант кафедры общей и биоорганической химии Курского государственного медицинского университета

Калинюк Т.Г. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий ка-федры технологии лекарств и биофармации Львовского наци-онального медицинского университета имени Данила Галицкого

Кинев М.Ю. – старший преподаватель кафедры фармации ГБОУ ВПО Уральского государственного медицинского университета Минздрава России

Кисличенко В.С. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой химии природных соединений Национального фармацевтического университета г. Харьков

Коваленко С.Н. – проректор по научной работе, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой управления качеством, заведующий Государственной научно-исследовательской лабораторией по контролю качества лекарственных средств НФаУ. г. Харьков

Комиссаров М.И. – директор ООО «АТК»

Колос А.Н. – аспирант кафедры клинической фармакологии Института повышения квалификации специалистов фармации Национального фармацевтического университета г. Харьков

Корниенко И.В. – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»

Кузнецова В.Ю. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры химии природных соединений Национального фармацевтического университета г.Харьков

Кузьмичева О.А. – старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии НИУ «БелГУ»

Куценко С.А. – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры заводской технологии лекарств Национального Фармацевтического университета г.Харьков

Левченко В.Е. – кандидат юридических наук, доцент кафедры гражданского права и процесса юридического института НИУ «БелГУ»

Мартынова Н.А. – кандидат биологических наук заведующая отделом естественной растительности НИУ «БелГУ»

Мельникова О.А. – доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармации ГБОУ ВПО Уральского государственного медицинского университета Минздрава России

Мерзликин С.И. – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры токсикологической химии Национального фармацевтического университета

Минина М.А. – доктор фармацевтических наук, профессор ГБОУ ВПО СПХФА

Москаленко В.Ю – аспирант кафедры токсикологической химии Национального фармацевтического университета

Науменко Е.Н. – преподаватель Старооскольского медицинского колледжа

Новиков О.О. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»

Новикова М.Ю. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии. НИУ «БелГУ»

Оганесян Э.Т. – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии, Пятигорский медико – фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России

Панюшев В.Я. – кандидат фармацевтических наук, заместитель начальника отдела организации контроля объемов и качества медицинской помощи в системе ОМС ТФОМС Свердловской области, г. Екатеринбург

Петров А.Ю. – доктор фармацевтических наук, заведующий кафедрой фармации ГБОУ ВПО Уральского государственного медицинского университета Минздрава России

Писарев Д.И. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ

Писарева Н.А. – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»

Пучкова Е.М. – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов ГБОУ ВПО СПХФА

Рубан Е.А. – доктор фармацевтических наук, профессор. заведующий кафедрой заводской технологии лекарств Национального Фармацевтического университета г.Харьков.

Севрук И.А. – ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии НИУ «БелГУ»

Солдатова Е.А. – соискатель кафедры клинической фармакологии Института повышения квалификации специалистов фармации, Национального фармацевтического университета г. Харьков

Сорокин В.В. – кандидат фармармацевтических наук, доцент кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии

Сущук Н.А. – аспирант кафедры химии природных соединений Национального фармацевтического университета г.Харьков

Теслев А.А. – аспирант кафедры промышленной технологии лекарственных препаратов Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии

Титарева Л.В. – старший преподаватель кафедры инфекционных болезней Курского государственного медицинского университета

Тохтарь В.К. – доктор биологических наук, директор Ботанического сада НИУ «БелГУ»

Тохтарь Л.А. – кандидат биологических наук, научный сотрудник Ботанического сада НИУ «БелГУ»

Трифонов Б.В. – доктор медицинских наук, профессор, главный врач МП «Стоматологическая поликлиника №2», руководитель Межрегионального центра стоматологических инноваций

Фадеев А.Н. – сотрудник ООО «АТК»

Черных В.П. – ректор НФаУ, член-корреспондент НАН Украины, доктор фармацевтических наук, доктор химических наук, профессор, лауреат Государственной премии Украины в области науки и техники, заслуженный деятель науки и техники Украины, заслуженный изобретатель Украины, кавалер орденов «За заслуги», кавалер ордена князя Ярослава Мудрого V степени, заведующий кафедрой органической химии, Почётный гражданин г. Харькова

ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ АВТОРОВ

Уважаемые коллеги!

Продолжается прием статей для публикации в журнале «НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ Белгородского государственного университета» серии «Медицина. Фармация», который входит в перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендуется публикация основных результатов диссертаций на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Материалы необходимо высылать в двух экземплярах:

- по адресу: Белгородский государственный университет. Медицинский факультет. Редакция серии журнала «Медицина. Фармация», ул. Победы, 85, г. Белгород, Россия, 308015;
- по e-mail: efremova.bgu@gmail.comилиdoctor_ol@bk.ru (тема – журнал).

Материалы, присланные без соблюдения настоящих требований, редколлегией не рассматриваются.

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙВ ЖУРНАЛ «НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ БелГУ» СЕРИИ«МЕДИЦИНА. ФАРМАЦИЯ»

В материалы статьи включается следующая информация:

1) УДК научной статьи;
2) аннотация статьи (не более 1200 знаков);
3) ключевые слова;
4) сведения об авторах (Ф.И.О., должность с указанием места работы (без сокращений), ученая степень, ученое звание, почтовый адрес, адрес электронной почты (если имеется), контактные телефоны);
5) внешняя рецензия доктора наук;
6) текст статьи;
7) ссылки.

Технические требования к оформлению текста статьи

1. Текст набирается в MicrosoftWord. Параметры станицы: лист А4, без переносов. Поля: правое – 2,0 см; левое – 3,0 см; нижнее – 2,0 см; верхнее – 2,0 см.

2. Шрифт: **Impact** (размер в УДК – 11 пт, в названии статьи – 14 пт, Ф.И.О авторов – 11 пт); текст – **Georgia** (размер в тексте – **11 пт**; в таблице – **9 пт**; в списке литературы – **10 пт)**.

3. Абзац: отступ 1,25 мм, выравнивание – по ширине; межстрочный интервал – одинарный.

4. Ссылки: номер ссылки размещается в квадратных скобках перед знаком препинания (перед запятой, точкой); нумерация – автоматическая, сквозная; текст сноски внизу каждой страницы; размер шрифта – 10 пт.

5. Объем статей: до **8 страниц.**

6. Статья должна иметь визу руководителя кафедры или института (на втором экземпляре). К текстовому варианту статьи прилагается версия в формате Word. На титульном листе статьи делается запись: «Текст вычитан, термины проверены», заверенная подписями всех составителей. В конце статьи сообщаются фамилии, полные имена и отчества, места работы, должности, ученые степени, научные звания, контактные адреса и номера телефонов **всех** авторов.

7. При изложении результатов оригинальных исследований рекомендуется оформлять их по следующей схеме: введение, цель, материалы и методы, результаты, обсуждение результатов, выводы, список литературы.

8. При наличии большого количества ошибок текст возвращается составителям на доработку. Повторно в редакцию представляется готовый исправленный материал на диске и на бумаге, распечатанный в одном экземпляре. Для иногородних авторов возможна пересылка статьи по электронной почте.

9. Представляемый материал должен являться оригинальным, не публикованным ранее в других печатных изданиях.

10. Все буквенные обозначения и аббревиатуры должны быть объяснены в тексте при первом использовании.

11. Указывать только международное название препаратов с маленькой буквы. Химические и математические формулы, дозировки, цитаты визируются автором. Единицы измерения приводятся в метрической системе СИ.

12. При написании десятичных чисел для обозначения разрядов использовать только запятые (0,5 или 25,45 и т.д.). Писать без пропуска: «%»(10%), «больше»—«меньше» (P>4), «±» (0,3±7). Тире между цифрами использовать без пропуска (10–20%). Сокращения года давать как: 2001 г., 1998-2005 гг.

13. Изображение графического объекта не должно выходить за пределы полей страницы и не должно превышать одной страницы.

14. Рисунки, фотографии, рентгенограммы вставляются в текст после ссылки на них, но не далее следующей страницы. Графические файлы рекомендуется сохранять в режимах TIFF, PCX, JPG; если нет возможности обработать иллюстрацию самостоятельно, следует вложить ее в текстовый оригинал с указанием номера и места в работе; она должна иметь четкое, контрастное изображение (зернистость мешает обработке и не позволяет добиться хорошего результата); обязательна последовательная нумерация иллюстраций в соответствии с расположением в тексте; рентгенограммы должны хорошо читаться на просвет и не иметь значительных повреждений в рабочей зоне.

15. Все ссылки на исследования и работы других авторов приводятся в квадратных скобках, с нумерацией согласно соответствующему документу в списке литературы.

16. Библиографический список должен содержать работы за последние 7 лет. Лишь в случае необходимости допускаются ссылки на отдельные более ранние публикации. В оригинальных статьях цитируется не более 20, а в передовых статьях и обзорах литературы – не более 40 источников. В список литературы не включаются неопубликованные работы.

17. Список литературы к статье должен соответствовать стандарту библиографического описания ГОСТ 7.1-2003 "Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления". Литературные источники необходимо перечислять в алфавитном порядке или в порядке упоминания в статье.

18. Требования к оформлению статей, таблиц, рисунков приведены в прил. 1, 2, 3.

Условия публикации. В одном номере журнала каждым автором (авторским коллективом) может быть опубликовано не более двух статей.

Приложение 1. **Оформление статьи**

УДК 616.36

ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕДИАТОРЫ СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ

А.В. ИВАНОВ[1]
Л.Н. ПЕТРОВ[2]

[1]Белгородский государственный национальный исследовательский университет

[2] МУЗ «Городская больница №2», г. Белгород

e-mail: aybolit@bk.ru

В статье изложены данные о молекулярных нарушениях при стеатозе печени и неалкогольном стеатогепатите. Синтез жирных кислот в печени регулируется инсулином и глюкозой с помощью активации липогенеза связанными с мембраной медиаторами транскрипции – белка, связывающегося с регуляторным элементом стерола-1с и белка, который связывается с карбогидрат-ответственным элементом. Третьим фактором транскрипции, причастным к развитию стеатоза печени, признан рецептор, активирующийся пролифератором пероксисом. Совокупность таких факторов можно объединить в две большие категории: факторы, которые вызывают повышение окислительного стресса, и экспрессы провоспалительных цитокинов.

Ключевые слова: стеатоз печени, стеатогепатит, окислительный стресс, цитокины, жирные кислоты, факторы транскрипции.

Далее идет текст статьи:

Инсулинорезистентность (ИР), ожирение, диабет, дислипопротеидемия и неалкогольная жировая печень – компоненты метаболического синдрома, комплексной болезни, приобретающей широкую распространенность [1, 3, 6].

TRANSCRIPTION FACTORS AND MOLECULAR MEDIATORS OF HEPATIC STEATOSIS

A.V. IVANOV[1]
L.N. PETROV[2]

[1] Belgorod National Research University

[2] Municipal hospital №2, Belgorod

e-mail: aybolit@bk.ru

In the review the data on molecular events contributing to hepatic steatosis and nonalcoholic steatohepatitis have been presented. Synthesis of fatty acids in liver isregulated independently by insulin and glucose with activation of lipogenesis of transcriptionally mediated by the membrane-bound transcription factors – sterol regulatory element-binding protein-1 c and carbohydrate response element-binding protein. The third transcription factor that participates in the development hepatic steatosis is peroxisome proliferator-activated receptors. A large number of these factors can be grouped into two big categories: factors causing an increase in oxidative stress and factors promoting expression of pro-inflammatory cytokines

Keywords: hepatic steatosis, steatohepatitis, oxidative stress, cytokines, fatty acids, transcription factors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванов Александр Васильевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней НИУ «БелГУ»
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ«БелГУ»
e-mail: aybolit@bk.ru, тел. 33-22-44

*Приложение 2.***Оформление таблиц**

1. Каждая таблица должна быть пронумерована справа, иметь заголовок в полужирном наборе, расположенный по центру вверху.
2. Таблицы не должны выходить за границы полей страницы слева и справа.
3. Если таблица располагается на двух страницах, ее столбцы должны быть пронумерованы на каждой новой странице так же, как на первой.
4. Большие горизонтальные таблицы необходимо набирать в этом же файле, выбрав альбомный параметр страницы.

Таблица 1

Рейтинговая оценка ЦФО за 1999-2004 гг., баллы

Регионы	1999 г.	2000 г.	2001 г.	2002 г.	2003 г.	2004 г.	В среднем за	
							1999-2001 гг.	2002-2004 гг.
1	2	3	4	5	6	7	8	9
РФ	1,3222	1,5091	1,3470	1,4661	1,5940	1,6954	1,3928	1,5852
ЦФО	1,5028	1,9389	1,7210	1,6149	1,6888	1,6930	1,7209	1,6656

Таблица, расположенная на первой странице.

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Белгородская область	1,2620	0,4169	2,2612	1,0176	1,2012	0,6413	1,3134	0,9534
Брянская область	0,9726	0,4817	0,5612	1,8653	0,9064	1,6898	0,6718	1,4872

Таблица, расположенная на следующей странице.

*Приложение 3.***Оформление графических объектов**

1. Изображение каждого графического объекта должно иметь номер и заголовок, расположенные по центру рисунка внизу.

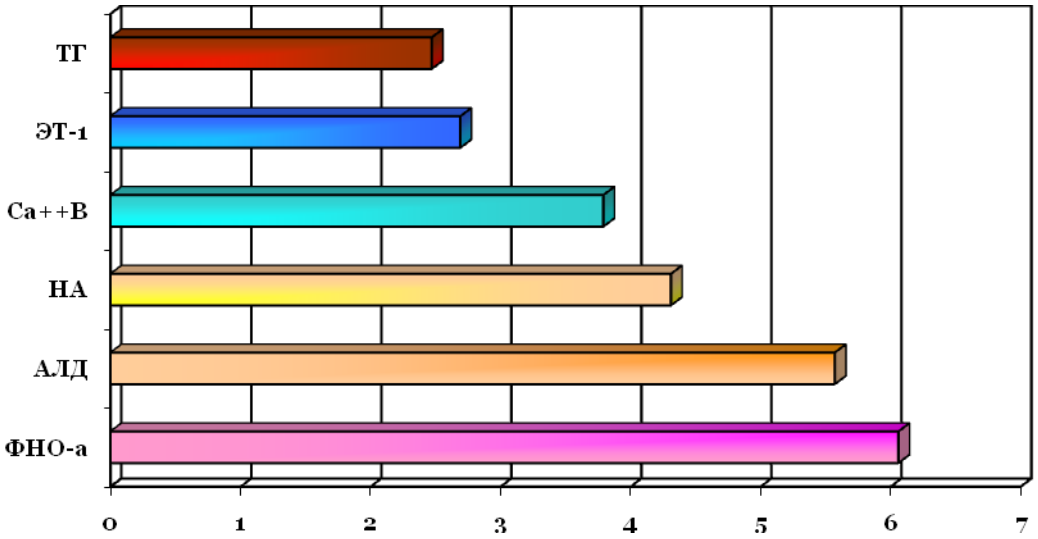


Рис. 1. Степень разницы значений гуморальных показателей между группами больныхэксцентрической и концентрической ГЛЖ

2. Изображение графического объекта должно быть в виде рисунка или сгруппированных объектов.

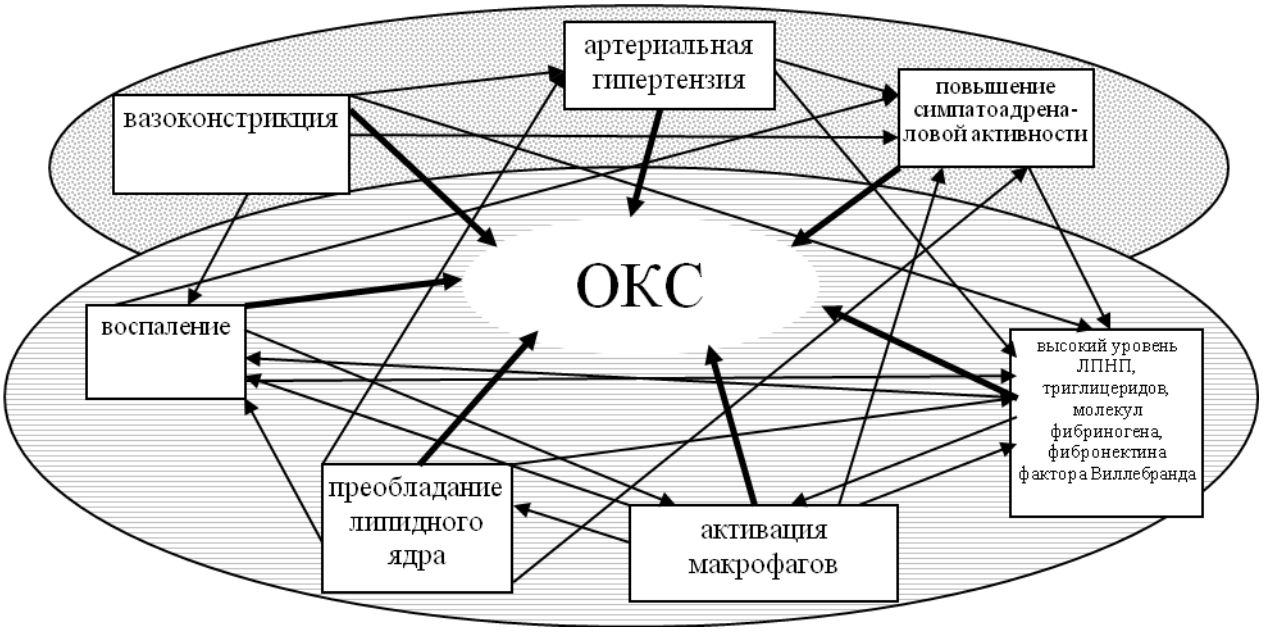


Рис. 2. Факторы, способствующие развитию ОКС

Редакция оставляет за собой право сокращения и исправления присланных статей. Статьи, отосланные авторам для доработки, должны снова поступить в редакцию не позднее, чем через 10 дней после получения. Возвращение статьи в более поздние сроки соответственно меняет и дату ее поступления в редакцию.