

№ 22 (117) 2011

Выпуск 16/2

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

Учредитель:

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

Издатель:

НИУ «БелГУ»,
Издательско-полиграфический комплекс НИУ «БелГУ»

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

Л.Я. Дятченко
ректор НИУ «БелГУ», доктор социологических наук, профессор

Зам. главного редактора

В.В. Сокорев
проректор по научной работе НИУ «БелГУ», кандидат педагогических наук

Ответственные секретари

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

Е.Н. Кролевецкая
кандидат педагогических наук, доцент кафедры педагогики НИУ «БелГУ»

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ СЕРИИ ЖУРНАЛА

Главный редактор

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

Заместитель главного редактора

А.А. Должиков
доктор медицинских наук, профессор (НИУ «БелГУ»)

Ответственный секретарь

О.П. Лебедева
кандидат медицинских наук, доцент (НИУ «БелГУ»)

Члены редколлегии

А.П. Григоренко
доктор медицинских наук, профессор (НИУ «БелГУ»)

Н.И. Жернакова
доктор медицинских наук, профессор (НИУ «БелГУ»)

В.Ф. Куликовский
доктор медицинских наук, профессор (НИУ «БелГУ»)

НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ

Белгородского государственного университета

Медицина Фармация

Belgorod State University

Scientific bulletin

Medicine Pharmacy

СОДЕРЖАНИЕ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Изучение противоишемической активности в ряду производных 3-(2, 2-триметилгидразиний) пропионата при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда. **Л.М. Даниленко, М.В. Покровский, О.В. Харитоновна, Г.Н. Ключкова, С.Я. Скачилова, О.Г. Кесарев, К.А. Беляев, А.В. Хаванский** 5

Остеопротективное действие эналаприла, лозартана и резвератрола при экспериментальном остеопорозе. **О.С. Гудырев, А.В. Файтельсон, М.В. Покровский, А.В. Иванов, Н.Ю. Коклина, Н.В. Стабровская, А.Ш. Ванян, Р.А. Нарыков, Д.С.Р. Раджжумар** 9

Изучение эффектов фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке при моделировании L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции. **А.В. Бабко, Е.Г. Терехова, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, М.В. Корокин, Н.В. Авдеева** 16

Роль сочетанного применения ингибитора аргиназы L-норвалина и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке в коррекции L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. **А.В. Бабко, Е.Г. Терехова, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, М.В. Корокин** 22

Изучение безопасности применения наружных лекарственных форм с димебоном. **К.Н. Корянова, А.В. Майорова, Э.Ф. Степанова, И.А. Савенко** 28

Исследование влияния раствора винпоцетина и суспензии из микрокапсул с винпоцетином на динамику изменения объемной скорости мозгового кровотока в норме у лабораторных животных. **Э.Ф. Степанова, Ю.А. Полковникова, К.О. Ганзюк, А.В. Арльт** 32

Применение свечей «Тамбуил» у крыс с интерстициальным простатитом (экспериментальное исследование). **Э.Ф. Степанова, М.М. Евсеева, Х.Г. Карагулов** 35

Антиаритмическая активность анилоканна при хлоридбариевой аритмии. **Т.А. Скоробогатова, В.И. Панцуркин, М.Н. Ивашев** 39

Эндотелиопротективные эффекты сочетанного применения ингибитора аргиназы L-норвалина и фиксированной комбинации амлодипина и лозартана в одной таблетке. **Е.Г. Терехова, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, А.В. Бабко, М.В. Корокин, О.С. Гудырев, Н.В. Юдина** 42

Изучение эффектов сочетанного применения эналаприла и лозартана с милдронатом при L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции. **Н.В. Юдина, М.В. Покровский, Т.А. Дронова, М.В. Корокин, Т.Г. Покровская, О.С. Гудырев, О.А. Старосельцева, Е.Г. Терехова, Н.Л. Костина** 46

Изменение фармакокинетики симвастатина при экспериментальном гипотиреозе. **Е.Н. Якушева, Н.М. Попова** 53

Эндотелиопротекторное действие милдроната и его производных при моделировании L-NAME индуцированного дефицита оксида азота. **Л.М. Даниленко, О.В. Харитоновна, М.В. Покровский, О.А. Старосельцева, С.Я. Скачилова, О.Г. Кесарев** 58

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ МАРКЕТИНГ

Исследование степени физико-химического подобия молекул лекарственных веществ и структурных элементов материала контактных линз. **В.В. Аكوпова, А.В. Погребняк, Л.В. Погребняк, Е.Т. Жилиякова** 63

Изучение физико-химических и технологических характеристик комбинированного пролонгатора натрий карбоксиметилцеллюлозы и поливинилового спирта с целью создания пролонгированных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой. **Е.Т. Жилиякова, Н.Н. Попов, М.Ю. Новикова, О.О. Новиков, Д.А. Фадеева** 69

Получение лабораторного образца субмикронной и/или наноструктурированной субстанции парацетамола и экспериментальное подтверждение изменения его структуры. **М.Ю. Новикова, О.О. Новиков, Е.Т. Жилиякова, Д.А. Фадеева, Н.Н. Попов, М.А. Халикова, В.С. Казакова** 80

Фармакотехнологические исследования мазей с верапамилом и мазей, содержащих фитокомпозицию с чабрецом, предлагаемых к использованию в качестве дерматопротекторов. **Т.А. Володина, Ю.Ю. Жидкова, А.В. Майорова, Э.Ф. Степанова** 88

В.Д. Луценко
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

О.О. Новиков
доктор фармацевтических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

В.С. Орлова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

Т.В. Павлова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

И.П. Парфенов
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

С.П. Пахомов
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

К.И. Процаев
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

Ф.А. Пятакович
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

Т.А. Романова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

И.В. Стичак
доктор фармацевтических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

Б.В. Трифонов
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

Ж.Ю. Чефранова
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

М.И. Чурносоев
доктор медицинских наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

А.А. Шапошников
доктор биологических наук, профессор
(НИУ «БелГУ»)

Оригинал-макет О.А. Ефремова, И.В. Берлина
E-mail: efremova.bgu@gmail.com,
doctor_ol@bk.ru

Подписано в печать 23.12.2011
Формат 60×84/8
Гарнитура Georgia, Impact
Усл. п. л. 29,52
Тираж 1000 экз.
Заказ 380

Подписные индексы в каталоге агентства
«Роспечать» – 81468

Оригинал-макет подготовлен и тиражирован
в ИПК НИУ «БелГУ»
Адрес: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

Получение субмикро- и/или наноструктурированной субстанции карнозина и экспериментальное подтверждение изменения ее структуры. **М.А. Халикова, Д.А. Фадеева, Н.Н. Попов, Е.Т. Жилиякова, О.О. Новиков, О.А. Ванхин 95**
Получение субмикро- и/или наноструктурированной субстанции таурина и экспериментальное подтверждение изменения ее структуры. **Е.Т. Жилиякова, М.Ю. Новикова, Д.А. Фадеева, О.О. Новиков, Н.Н. Попов 104**
Изучение процессов сорбции и десорбции мирамистина в офтальмо-терапевтической системе. **В.В. Аكوпова, Е.Т. Жилиякова, Н.В. Благоразумная 114**
Разработка технологии и валидационная оценка методик анализа суппозиторий с кислотой глютаминовой **Э.Ф. Степанова, А.Ю. Саенко, А.Ю. Петров, И.Я. Куль 117**
Исследования по установлению сроков годности пролонгированных глазных капель с бишофитом. **Б. Б. Сысоев, И. Ю. Митрофанова, Э.Ф. Степанова 121**
Суммарные фитопрепараты подорожника большого – возможности совершенствования технологии. **З.В. Бадалян, Э.Ф. Степанова, А.М. Темирбулатова, И.Н. Зилфикаров 125**
Разработка сиропов композиционного состава с фитоконпонентами адаптогенного действия. **Э.Ф. Степанова, А.М. Темирбулатова, Л.С. Воронова, И.Н. Зилфикаров 131**
Изучение технологических характеристик модельных смесей гранул лоратадина для детей. **Е.Т. Жилиякова, Н.Н. Сабельникова, О.О. Новиков, М.Ю. Новикова, Д.И. Писарев, Д.В. Придачина, А.С. Ткачева 138**
Разработка состава и технологии пленок с нафталановой эмульсией. **Н.В. Автина, В.И. Кочкаров, Т.А. Панкрушева, О.В. Харитонова, Д.И. Писарев 142**
Современные концепции развития ассортимента снотворных средств на российском и региональном рынках. **И.Н. Совершенный, Н.Б. Дремова 147**
Изучение ассортимента противовирусных глазных лекарственных форм. **Е.Т. Жилиякова, О.О. Новиков, М.Ю. Новикова, А.С. Ткачева, Н.Н. Попов 155**
Использование лецитина в мягких лекарственных формах. **М.А. Огай, Э.Ф. Степанова, В.В. Малявина 159**

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ И ФАРМАКОГНОЗИЯ

Элементный состав некоторых растений семейства *Asteraceae*. **А.Ю. Ботов, А.П. Северин, В.Я. Яцок, Л.Е. Сипливая 164**
Изучение состава антоцианов ирги ольхидистой - *Amelanchier alnifolia* Nutt с использованием матрично-активированной лазерной десорбционной ионизации (MALDI). **Д.И. Писарев, О.О. Новиков, Н.А. Писарева, Н.В. Автина, М.Д. Безменова, А.В. Степанова 167**
Изучение элементного состава наземной части рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.). **И.А. Сафонова, В.Я. Яцок, Н.В. Костебелов 173**
Способ выделения и идентификации тилианина. **Д.И. Писарев, О.О. Новиков, О.С. Воронкова, Н.А. Писарева 176**
Использование хромато-масс-спектрометрии для обнаружения резвератрола в объектах растительного происхождения. **О.О. Новиков, Д.И. Писарев, М.Ю. Новикова, Г.В. Васильев, О.А. Ванхин 182**
Изучение состава антоцианов смородины чёрной – *Ribes nigrum* L. с использованием матрично-активированной лазерной десорбционной ионизации (MALDI). **Д.И. Писарев, О.О. Новиков, Н.А. Писарева, М.Д. Безменова, Н.В. Автина, В.Н. Сорокопудов 185**
Плоды *Rosa spinosissima* – ценный материал для получения напитков с высоким антиоксидантным потенциалом. **С.Л. Макаревич, А.Н. Чулков, В.И. Дейнека, М.Ю. Третьяков, Л.А. Дейнека, В.И. Шатровская 188**
Получение и свойства комплексов включения дизиров лютеина с β-циклодекстрином. **М.С. Лапинова, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, А.А. Тихова 193**
Разработка хроматографической методики анализа азитромицина и ее использование при оценке качества и стабильности лекарственных форм локального действия. **Т.А. Бредихина, Т.А. Панкрушева 198**
Изучение фенольных соединений тимьяна мелового (*Thymus cretaceus* Klok. *Et schost.*). **В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Старчак 203**
Состав и фармакологическая активность полисахаридного комплекса, выделенного из травы шалфея блестящего. **В.Н. Бубенчикова, Ю.А. Кондратова 206**

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

Анализ заболеваемости, смертности и состояния онкологической помощи больным раком молочной железы в Белгородской области в 2004-2009 гг. **Н.В. Павлова, И.В. Сухотерин, Т.П. Голивец, Б.С. Коваленко 210**
Медико-биологические закономерности развития злокачественных новообразований на популяционном уровне: обоснование популяционной концепции канцерогенеза. **Т.П. Голивец, Б.С. Коваленко, Е.М. Паришков, В.А. Соколов 214**

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Роль лапароскопии в диагностике аппендицита. **А.А. Копылов, Б.С. Коваленко, Ю.В. Корниенко, Д.В. Волков, Д.В. Маслов 226**

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

Разработка устройства для формирования слизисто-надкостничного лоскута при дентальной имплантации. **О.О. Новиков, В.П. Чуев, Е.Т. Жилиякова, В.С. Казакова, М.А. Трубицын, Д.А. Фадеева 230**

РЕКОМЕНДАЦИИ

Химиотерапия опухолей женской репродуктивной системы: определения и методологические аспекты. **В.Н. Дмитриев, Т.П. Голивец, И.В. Сухотерин, Б.С. Коваленко, И.И. Зыбенко 234**

Сведения об авторах 245

Информация для авторов 251

**№ 22 (117) 2011
Issue 16/2**

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 publishing key results of the theses for Doktor and Kandidat degree-seekers

Founder:

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

Publisher:

Belgorod National Research University, Belgorod National Research University Press

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

Chief editor

L.J. Djatchenko

Rector of Belgorod National Research University, doctor of sociological sciences, professor

Deputy of chief editor

V.V. Sokorev

Vice-rector for scientific research of Belgorod National Research University, candidate of pedagogical sciences

Assistant Editor

V.M. Moskovkin,

Doctor of geographical sciences, Professor of world economy department Belgorod National Research University

E.N. Krolevetskaya,

Candidate of pedagogical sciences, associate professor of Pedagogics department of Belgorod National Research University

EDITORIAL BOARD OF JOURNAL SERIES

Chief editor

O.A. Efremova

Doctor of Medicine, Professor (Belgorod National Research University)

Deputy of chief editor

A.A. Dolzhikov

Doctor of Medical Science, Professor (Belgorod National Research University)

Responsible secretary

O.P. Lebedeva

Candidate of Medical Science (Belgorod National Research University)

Members of editorial board

A.P. Grigorenko

Doctor of of Medical Science, Professor (Belgorod National Research University)

**Belgorod State University
Scientific bulletin
Medicine Pharmacy**

**НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ
Белгородского государственного университета**

Медицина Фармация

CONTENTS

EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY

Study activity in row antiischemic of 3 - (2, 2, 2-trimethylhidraziny) propionate at modeling coronary occlusion myocardial infarction. **L.M. Danilenko, M.V. Pokrovskii, O.V. Kharitonova, G.N. Klochkova, S.Y. Skachilova, O.G. Kesarev, K.A. Belyaev, A.V. Havanskiy 5**

Osteoprotective action of enalapril, losartan and resveratrol in experimental osteoporosis **O.S. Gudyrev, A.V. Faitelson, M.V. Pokrovskiy, A.V. Ivanov, N.U. Koklina, N.V. Stabrovskaya, A.S. Vanyan, R.A. Narykov, D.S.R. Rajkumar 9**

Studying of effects of fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet at modelling l-name-induced endothelial dysfunction **A.V. Babko, E.G. Terehova, M.V. Pokrovskii, T.G. Pokrovskia, M.V. Korokin, N.V. Avdeeva 16**
The role of combined use of arginase inhibitor L-norvaline and the fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet in correction of L-NAME-induced deficiency of nitric oxide **A.V. Babko, E.G. Terehova, M.V. Pokrovskii, T.G. Pokrovskia, M.V. Korokin 22**

Research of possibility of application of external medicinal forms with dimebon **K.N. Koryanova, A.V. Majorova, E.F. Stepanova, I.A. Savenko 28**
Investigation of the effect of solution and suspension of vinpocetine microcapsules on dynamics of change volume rate of cerebral blood flow in normal in laboratory animals. **E.F. Stepanova, Y.A. Polkovnikova, K.O. Ganzuk, A.V. Arlt 32**

Application of suppositories of "thambuil" on rats with interstitial prostatitis (experimental research) **E.F. Stepanova, M.M. Evseeva, H.G. Karagulov 35**
A nilocain antiarrhythmic activity on the batium chloride arrhythmia model. **T.A. Scorobogatova, V.I. Pantsurkin, M.N. Ivashev 39**

Endothelioprotective effects of arginase inhibitor L-norvaline and fixed combination of losartan and amlodipine **E.G. Terekhova, M.V. Pokrovskiy, T.G. Pokrovskaya, A.V. Babko, M.V. Korokin, O.S. Gudyrev, N.V. Yudina 42**

Study of the effects of combined enalapril and losartan with in l-name-induced endothelial dysfunction modeling **N.V. Yudina, M.V. Pokrovskiy, T.A. Dronova, M.V. Korokin, T.G. Pokrovskaya, O.S. Gudyrev, O.A. Staroseltseva, E.G. Terehova, N.L. Kostina 46**

Pharmacokinetic changes of simvastatin at experimental hypothyroidism **E.N. Yakusheva, N.V. Popova 53**

Endothelioprotective action of mildronate and its derivatives in modeling L-NAME induced deficiency of nitric oxide. **L.M. Danilenko, O.V. Kharitonova, M.V. Pokrovskii, O.A. Staroseltseva, S.Y. Skachilova, O.G. Kesarev 58**

PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY AND PHARMACEUTICAL MARKETING

Investigation of the degree of physical and chemical similarity of molecular drugs and structural elements of the material contact lenses **V.V. Akopova, A.V. Pogrebnyak, L.V. Pogrebnyak, E.T. Zhilyakova 63**

Study of physico-chemical and technological characteristics of combined prolongator with Na-carboxymethylcellulose and polyvinyl alcohol in order to create prolonged dosage forms with liquid dispersion medium. **E.T. Zhilyakova, N.N. Popov, M.Yu. Novikova, O.O. Novikov, D.A. Fadeeva 69**

Getting the laboratory sample of submicro- and/or nanostructured substance of paracetamol and experimental confirmation of changes its structure **M.Yu. Novikova, O.O. Novikov, E.T. Zhilyakova, D.A. Fadeeva, N.N. Popov, M.A. Khalikova, V.S. Kazakova 80**

Pharmacotechnological research ointments with verapamil and ointments containing phytocomposition with thyme, intended for use as a dermatoprotectors. **T.A. Volodina, U.U. Zhidkova, A.V. Majorova, E.F. Stepanova 88**

Getting the laboratory sample of submicro- and/or nanostructured substance of carnosine and experimental confirmation of changes its structure. **M.A. Khalikova, D.A. Fadeeva, N.N. Popov, E.T. Zhilyakova, O.O. Novikov, O.A. Vankhin 95**

Getting the laboratory sample of submicro- and/or nanostructured substance of taurine and experimental confirmation of changes its structure. **E.T. Zhilyakova, M.Yu. Novikova, D.A. Fadeeva, O.O. Novikov, N.N. Popov 104**

N.I. Zhernakova

Doctor of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

V.F. Kulikovskiy

Doctor of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

V.D. Lutsenko

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

O.O. Novikov

Doctor of Pharmacy, Professor
(Belgorod National Research University)

V.S. Orlova

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

T.V. Pavlova

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

I. P. Parfenov

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

S.P. Pachomov

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

K.I. Proshchaev

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

F.A. Pjatakovich

Doctor of of Medical Science,
Professor (Belgorod National Research
University)

T.A. Romanova

Doctor of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

I.V. Spichak

Doctor of Pharmacy, Professor
(Belgorod National Research University)

B.V. Triphonov

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

Z.Y. Chephranova

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

M.I. Churnosov

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

A.A. Shaposhnikov

Doctor of of Medical Science, Professor
(Belgorod National Research University)

Dummy layout by O.A. Efremova,
N.A. Gaponenko
e-mail: efremova.bgu@gmail.com,
doctor_ol@bk.ru

Passed for printing 23.12.2011
Format 60×84/8
Typeface Georgia, Impact
Printer's sheets 29,52
Circulation 1000 copies
Order 380

Subscription reference in Rospechat' agency
catalogue – 81468

Dummy layout is replicated at Belgorod National
Research University Publishing House
Address: 85, Pobedy str., Belgorod, Russia,
308015

Study of the process of sorption and desorption miramistin of ophtalmic therapeutic system. **V.V. Akopova, E.T. Zhilyakova, N.V. Blagorazumnaya 114**
Working out of technology and validation the estimation of techniques of analysis suppositories with glutaminic acid. **E.F. Stepanova, A.Y. Saenko, A.U. Petrov, I.J. Kool 117**

Prolonged bishofite eyedrops' expiration date determination research. **B. B.Sysuev, I. U. Mitrofanova, E.F. Stepanova 121**

Total phytopreparations plantain - possibility of improving the technology.

Z. B. Badalian, E.F. Stepanova, A.M. Temirbulatova, I.N. Zilfikarov 125
Development of composite syrup with phytochemical adaptogenic effect.

E.F. Stepanova, A.M. Temirbulatova, L.S. Voronova, I.N. Zilfikarov 131
Study on technological characteristics of model mixtures of granules with loratadine for children. **E.T. Zhilyakova, N.N. Sabel'nikova, O.O. Novikov, M.Yu. Novikova, D.I. Pisarev, D.V. Pridachina, A.S. Tkachewa 138**

Development of technology and films with naftalan emulsions. **N.V. Avtina,**

V.I. Kochkarov, T.A. Pankrusheva, O.V. Haritonova, D.I. Pisarev 142

Modern concepts of the evolution of assortment of hypnotics in Russian and regional pharmaceutical markets. **I.N. Sovershenny, N.B. Dremova 147**

Study of assortment of antiviral eye medical forms. **E.T. Zhilyakova, O.O. Novikov, M.Y. Novikova, A.S. Tkachewa, N.N. Popov 155**

Using lecithin in soft medical forms. **M.A. Ogai, E.Ph. Stepanova, V.V. Maljavina 159**

PHARMACEUTICAL CHEMISTRY AND PHARMACOLOGY

Elemental composition of some plants of Asteraceae. **A.Y. Botov, A.P. Severin, V.Y. Yatsuk, L.E. Siplivaya 164**

Study of anthocyanins of *Amelanchier Alnifolia* nutt using matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI). **D.I. Pisarev, O.O. Novikov, N.A. Pisareva, N.V. Avtina, M.D. Bezmenova, A.V. Stepanova 167**

Study of elemental composition of *Sorbus Aucuparia* (L.) aboveground part.

I. A. Safonova, V.Y. Yatsuk, N.V. Kostebelov 173

Method of selection and identification of tilianin. **D.I. Pisarev, O.O. Novikov, O.S. Voronkova, N.A. Pisareva 176**

Use of chromatography-mass spectrometry in finding of resveratrol in objects of vegetable origin. **O.O. Novikov, D.I. Pisarev, M.Yu. Novikova, G.V. Vasil'ev, O.A. Vankhin 182**

Study of a black currant (*Ribes Nigrum* L.) anthocyanins using matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI). **D.I. Pisarev, O.O. Novikov, N.A. Pisareva, M.D. Bezmenova, N.V. Avtina, V.N. Sorokopudov 185**

Rosa Spinosissima fruits – valuable material for preparation of soft drinks with high antioxidant potential. **S.L. Makarevitch, A.N. Chulkov, V.I. Deineka, M.Yu. Tre'akov, L.A. Deineka, V.I. Shatrovskaya 188**

Reception and properties of inclusion complexes of lutein diesters and B-cyclodextrin.

M.S. Lapshova, V.I. Deineka, L.A. Deineka, A.A. Tichova 193

The development of chromatographic method of azithromycin analysis and its use in the assessment of quality and stabilization of local action medicinal forms.

T.A. Bredikhina, T.A. Pankrusheva 198

The study of phenolic compounds of *Thymus Cretaceus* klok. Et Schost. **V.N. Bubenchicova, Yu. A. Starchak 203**

The composition and pharmacological activity of polysaccharide complexes of *Salvia Splendens Sellow ex roem. Et schultes* above-ground part. **V. N. Bubenchicova, Yu. A. Kondratova 206**

HEALTH ORGANIZATION

The analysis of incidence, mortality and level of oncological service for breast cancer patients in 2004-2009 years in Belgorod region. **N.V. Pavlova, I.V. Sukhoterin, T.P. Golivets, B.S. Kovalenko 210**

Medical-biological regularities of the development of malignant neoplasms on the population level: rationale the population of the concept of carcinogenesis.

T.P. Golivets, B.S. Kovalenko, E.M. Parshkov, V.A. Sokolov 214

CLINICAL MEDICINE

Laparoscopy's role in appendicitis diagnostics. **A.A. Kopylov, B.S. Kovalenko, U.V. Kornienko, D.V. Volkov, D.V. Maslov 226**

NEW TECHNOLOGIES

Development of device for formation of mucoperiosteum flap in dental implantation. **O.O. Novikov, V.P. Chuev, E.T. Zhilyakova, V.S. Kazakova, M.A. Trubitsyn, D.A. Fadeeva 230**

RECOMMENDATIONS

Chemotherapy of women reproductive system oncology: definitions and methodological aspects. **V.N. Dmitriev, T.P. Golivets, I.V. Sukhoterin, B.S. Kovalenko, I.I. Zybenko 234**

Information about Authors 245

Information for Authors 251

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 615-03:616.127-005.8

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОИШЕМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В РЯДУ ПРОИЗВОДНЫХ 3-(2, 2, 2-ТРИМЕТИЛГИДРАЗИНИЙ) ПРОПИОНАТА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ КОРОНАРООККЛЮЗИОННОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

**Л.М. ДАНИЛЕНКО¹, М.В. ПОКРОВСКИЙ¹
О.В. ХАРИТОНОВА¹, Г.Н. КЛОЧКОВА²
С.Я. СКАЧИЛОВА³, О.Г. КЕСАРЕВ³
К.А. БЕЛЯЕВ¹, А.В. ХАВАНСКИЙ¹**

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет

² Областная клиническая больница Святителя Иоасафа, г. Белгород

³ Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ, п. Старая Кулашна

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

В настоящей работе проведено экспериментальное исследование влияния 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата и его производных: СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К, на площадь некротизированного миокарда левого желудочка при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда. Показано, что фармакологическое прекондиционирование 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионатом и его производными может рассматриваться как превенция синдрома ишемии/реперфузионного повреждения при инфаркте миокарда.

Ключевые слова: 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионат, прекондиционирование, инфаркт.

Введение. Согласно современным представлениям, устойчивость сердца к ишемии может повышаться в результате прекондиционирования, вызванного короткими эпизодами ишемии/реперфузии или гипоксии, кратковременной гипотермией и другими умеренными стрессовыми воздействиями, способными активировать эндогенные защитные механизмы [6].

При этом помимо ишемического прекондиционирования существует фармакологическое, которое с клинической точки зрения выглядит предпочтительнее, так как технологически проще и лишено потенциальной опасности ишемических эпизодов для измененного миокарда. В связи с феноменом фармакологической тренировки упоминается хорошо известный миокардиальный цитопротектор – Милдронат (3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионат), являющийся ведущим представителем вышеупомянутого класса [7, 8]. При блокировании эндотелиальной, индуцибельной NO-синтазы, АТФ-зависимых калиевых каналов противоишемические эффекты Милдроната нивелируются [3].

Препарат эффективен в лечении ишемических состояний: он вызывает в клетках эффект прекондиционирования, оказывая выраженный защитный эффект при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда, способствуя повышению эффективности утилизации кислорода миокардиальной тканью [4]. Его антиоксидантный эффект позволяет уменьшить образование в крови и тканях активных форм кислорода и перекисных радикалов, предотвращая повреждение клеточных структур [1]. Выявлено, что Милдронат, сам не обладающий свойствами антиоксиданта, повышает в организме концентрацию ГББ, так как



под влиянием Милдроната он медленнее окисляется до карнитина. В свою очередь, ГББ способен индуцировать образование NO, который является одним из триггеров ишемического прекодиционирования и действует как один из эффективных природных агентов, связывающих свободные радикалы в организме, что обуславливает такие эффекты Милдроната, как снижение периферического сопротивления сосудов, уменьшение вызванных норадреналином или берproductive1 спазмов кровеносных сосудов, торможение агрегации тромбоцитов и увеличение эластичности мембран эритроцитов.

Общеизвестно, что введение в молекулу лекарственного вещества дополнительных функциональных групп приводит к расширению спектра его фармакологической активности. При этом важно, чтобы дополнительные свойства не приводили к снижению эффективности препарата, а наоборот способствовали усилению его основного эффекта.

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение противоишемической активности 3- (2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата и его производных (лабораторные шифры СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К), синтезированных в ВНИЦ БАВ, при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

Материалы и методы. Изучение выживаемости ишемизированного миокарда было проведено на 36 лабораторных кроликах массой 2-2,5 кг. Исследуемые соединения: 3- (2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата (Милдронат® производства «GRINDEX», Латвия) и его производные СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К в дозе, рассчитанной по молярной массе от дозы Милдроната (90 мг/кг), предварительно растворяли в стерильном физиологическом растворе и вводили наркотизированным (хлоралгидратат 300 мг/кг) животным в маргинальную вену уха кролика, находящегося на управляемом дыхании, за 30 минут до перевязки левой нисходящей коронарной артерии. После 30 минут коронарной окклюзии осуществляли снятие лигатуры и осуществляли реперфузию миокарда в течение 90 мин. Затем проводили забор крови из правого желудочка в одноразовую вакуумную пробирку с антикоагулянтом для определения специфического маркера сердечной мышцы Troponin I (TnI). Уровень тропонина определяли на иммунофлуоресцентном приборе Triage MeterPro (Biosite, США). Размеры зоны некроза миокарда определяли через 2 ч. Поперечные срезы миокарда производили через каждые 0,8 см, начиная с уровня 0,8 см ниже места наложенной лигатуры. Срезы миокарда помещали в емкость, содержащую фосфатный буфер (pH 7,4) и 1 мг/мл трифенилтетразолия хлорид. Соотношение масс участков ткани и буфера составляло 1:9. Бюксы помещали в термостат и инкубировали при 37С ° в течение 15 минут до образования красного формазана. Подсчет площадей интактного и некротизированного миокарда левого желудочка производили на каждом из четырех срезов с помощью попиксельного анализа в программе Adobe Photoshop 9.0.

Результаты исследования и их обсуждение. Наложение лигатуры на нисходящую ветвь левой коронарной артерии у кроликов в контрольной группе животных приводило к развитию некроза миокарда, размер которого составил 27,3±1,2 % от общей площади миокарда. Соответственно, размер интактного миокарда составлял 72,7±1,2 %. Введение перед моделированием коронароокклюзии эталонного препарата Милдроната® в дозе 90 мг/кг, приводило к уменьшению площади некротизированного миокарда до 20,2±1,0%. Наибольшая протективная активность обнаружена у вещества СТК-735 (199 мг/кг), введение которого привело к достоверному уменьшению площади некротизированного миокарда в 2 раза, до 13,1±1,4%. Введение всех остальных соединений также привело к достоверному снижению размера зоны некроза (табл. 1).

Являясь специфическим маркером инфаркта миокарда тропонина I, (TnI) обнаруживается в сыворотке крови спустя несколько минут после инфаркта миокарда и коррелирует с его размером. При определении концентрации TnI в нашем эксперименте наименьшая концентрация обнаружена у соединения СТК-735 - 6,04±1,6 нг/мл. У всех остальных она сопоставима с размером инфаркта данной группы (табл.).

Таблица

**Влияние Милдроната и его производных
на величину зоны некроза и концентрацию Тропонин I
при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда (M±m, n=6)**

Группа	% некроза	% интактного миокарда	Уровень тропонина I (нг/мл)
Контроль(инфаркта миокарда)	27,3±1,2	72,7±1,2	16,26±1,9
ИМ+ милдронат (90 мг/ кг)	20,2±1,0*	79,8 ± 0,5	12,2±1,1*
ИМ + СТК-733(189 мг/ кг)	17,9±1,3*	82,1±0,7	10,95±1,8*
ИМ+ СТК-734 (237 мг/кг)	16,0±0,8*	84,0±1,2	7,7±1,5*
ИМ+ СТК-735(199 мг/ кг)	13,1±1,4*	86,9±1,3	6,04±1,6*
ИМ + СТК-61-К (159 мг/ кг)	17,2±1,4*	82,8±1,1	10,15±1,1*

Примечание: * - p<0,05 при сравнении с контрольной группой.

Определение зоны некроза миокарда является информативным показателем в определении противоишемического действия препарата. Установлено, что профилактическое введение соединений производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К в соответствующих дозах приводит к уменьшению зоны некроза. Зона некроза миокарда в контроле составляет 27,3±1,2%, предварительное введение субстанций снижает размер некроза до 17,9±1,3%, 16,0±0,8%, 13,1±1,4%, 17,2±1,4% соответственно. Результаты экспериментов с введением исследуемых соединений указывают на их выраженную противоишемическую активность, большую, чем у препарата сравнения.

При введении в молекулу 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата новой функциональной группы предполагает выявление новых свойств и усиление противоишемического эффекта, однако закономерно, что в зависимости от вводимой компоненты диапазон активности полученных субстанций может варьировать.

Несмотря на многочисленные эксперименты и клинические исследования, фармакотерапия ишемической болезни сердца нуждается в изыскании и внедрении в практику новых препаратов [2, 5].

Данные, полученные в наших экспериментах, подтверждают перспективность дальнейшего углубленного изучения производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата как потенциальных кардиофармакологических препаратов.

Выводы:

1. Введение 3- (2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата (Милдронат® производства «GRINDEX», Латвия) в дозе 90 мг/кг относительно контрольной группы животных уменьшало площадь зоны некроза миокарда левого желудочка при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда.

2. Производные 3- (2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата: СТК-733, СТК-734, СТК-735 и СТК-61-К – оказали выраженный противоишемический эффект. Данный показатель варьирует в зависимости от введенной в структуру молекулы функциональной группы, максимально проявляясь у вещества СТК-735 .

3. Производные 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия способны оказывать наиболее выраженный противоишемический эффект, в отличие от препарата сравнения Милдронат, что позволяет предположить их использование для наиболее эффективного лечения при ишемии/реперфузионных повреждениях миокарда и продолжить их дальнейшее изучение.

Литература

1. Акимов, А.Г. Перспективы применения миокардиальных цитопротекторов в кардиологической практике / А.Г. Акимов, В.Ю. Полумисков // Terra Medica. – 2005. – Кардиология. – №4. – С. 21-23.



2. Голиков, А.П. Свободнорадикальное окисление и сердечно-сосудистая патология: коррекция антиоксидантами/А.П. Голиков, С. А. Бойцов, В.П. Михин и др.//Лечащий врач. – 2003. – №4. – С.70-74.

3. Покровский, М.В. Влияние индуцибельной, эндотелиальной NO-синтазы и АТФ-зависимых калиевых каналов на эффекты 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата и дистантного preconditionирования при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда / М.В.Покровский, Л.М. Даниленко, О.В. Харитоновна и др. // Вестник ВолгГМУ: приложение. Материалы III Всероссийского научно-практического семинара для молодых ученых «Методологические аспекты экспериментальной и клинической фармакологии». – 2011. – С.24-25.

4. Ланкин, В.З. Моделирование каскада ферментных реакции в липосомах, включающих свободнорадикальное окисление, восстановление и гидролиз полиеновых анилов фосфолипидов для исследования влияния этих процессов на структурно-динамические параметры мембраны NO синтазы / В.З.Ланкин, А.К. Тихадзе, Ю.Г. Осис //Биохимия. – 2002. – №5. – С.679-689.

5. Лукьянова, Л. Д. Новые подходы к созданию антигипоксантов метаболического действия / Л. Д. Лукьянова // Вестник Российской академии медицинских наук. – 1999. – N 3. – С. 18-25.

6. Манухина, Е.Б. Роль свободного и депонированного оксида азота в адаптации к гипоксии сердечно-сосудистой системы/ Е.Б. Манухина, С.Ю. Машина, М.А. Власова // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2004. – № 3(11). – С. 4-11.

7. Sesti, C. Mildronate, a novel fatty acid oxidation inhibitor and antianginal agent, reduces myocardial infarct size without affecting hemodynamics / C. Sesti, B.Z. Simkhovich, I. Kalvinsh et al / J Cardiovasc Pharmacol. -2006.- Vol. 47(3). – P.493-499.

8. Sjakste, N. Endothelium- and nitric oxide-dependent vasorelaxing activities of gamma-butyrobetaine esters: possible link to the antiischemic activities of mildronate / N. Sjakste, A.L.Kleschyov, I.Kalvinsh et al // Eur J Pharmacol.- 2004- Vol. 495(1)- P.67-73.

STUDY ACTIVITY IN ROW ANTIISCHEMIC OF 3-(2, 2, 2-TRIMETILGIDRAZINY) PROPIONATE AT MODELING CORONARY OCCLUSION MYOCARDIAL INFARCTION

**L.M. DANILENKO¹, M.V. POKROVSKII¹
O.V. KHARITONOVA¹, G.N. KLOCHKOVA²
S.Y. SKACHILOVA³, O.G. KESAREV³
K.A. BELYAEV¹, A.V. HAVANSKIY¹**

¹ *Belgorod National Research University*

² *Region Clinical Hospital of St. Joasaph, Belgorod*

³ *Allrussian Scientific center of safety of biological active compounds, Settl. Staraya Kupavna*

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

An experimental study of the influence of using 3-(2, 2, 2-trimetilgidraziny) propionate potassium and its derivatives STK-733, STK-734, STK-735, STK-61K, to the area of necrotic myocardium of the left ventricle in the simulation coronarocclusion myocardial infarction. Shown, that the distant and pharmacological preconditioning of 3-(2, 2, 2-trimetilgidraziny) propionate and its derivatives can be considered as prevention syndrome, ischemia / reperfusion injury.

Key words: 3 - (2,2,2-trimetilgidraziny) propionate, preconditioning, infarction

ОСТЕОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЭНАЛАПРИЛА, ЛОЗАРТАНА И РЕЗВЕРАТРОЛА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТЕОПОРОЗЕ

**О.С. ГУДЫРЕВ¹, А.В. ФАЙТЕЛЬСОН¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ², А.В. ИВАНОВ¹
Н.Ю. КОКЛИНА¹, Н.В. СТАБРОВСКАЯ¹
А.Ш. ВАНЯН¹, Р.А. НАРЫКОВ¹
Д.С.Р. РАДЖКУМАР¹**

¹Курский государственный
медицинский университет

²Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: gudyrev@mail.ru

В результате исследования было продемонстрировано, что через восемь недель после проведения овариэктомии у самок белых крыс линии Вистар развивается нарушение функции эндотелия сосудов микроциркуляторного русла костной ткани и ухудшение регионарного кровотока в кости, приводящее к возникновению генерализованного остеопороза.

Эналаприл, лозартан и резвератрол, обладая эндотелиопротективным действием, эффективно предотвращали снижение уровня регионарной микроциркуляции в костной ткани, сохраняя его на уровне интактных крыс. Это позволило поддерживать на адекватном уровне процессы костного ремоделирования, что проявилось в замедлении истончения костных трабекул и предотвращении возникновения в них микропереломов.

Ключевые слова: остеопороз, микроциркуляция, эндотелиальная дисфункция, эналаприл, лозартан, резвератрол.

Остеопороз (ОП) – системное заболевание скелета, характеризующееся снижением массы кости в единице объема и нарушением микроархитектоники костной ткани, приводящими к увеличению хрупкости костей и высокому риску их переломов. В основе развития ОП лежит дисбаланс между двумя основными процессами костного ремоделирования: костной резорбцией и костеобразованием [1].

Важным звеном в патогенезе ОП является снижение кровоснабжения костной ткани [10], приводящее к торможению активности остеобластов, а также к усиленной деятельности остеокластов. В ходе исследований нами было обнаружено существование тесной взаимозависимости величины микроциркуляции в костной ткани и «качества» кости, выражающегося в толщине костных трабекул, а также устойчивости костной ткани к внешним воздействиям [8].

Как известно, строение микроциркуляторного русла костной ткани существенно отличается от морфологии сосудистого русла остальных тканей организма. Костные микрососуды имеют только эндотелий, который, следовательно, и опосредует всю гуморальную регуляцию обмена между клетками костной ткани и кровью. В то же время в доступной литературе отсутствуют сведения о том, чтобы кто-либо использовал эндотелий сосудов костной ткани в качестве мишени для целенаправленного фармакологического воздействия при остеопоротических изменениях.

В ходе ранее проведенных исследований нами также было продемонстрировано, что генерализованный гипоэстрогениндуцированный ОП у самок крыс линии Вистар сопровождается признаками развития эндотелиальной дисфункции (ЭД), что ведет к ухудшению регионарного кровоснабжения и может приводить к нарушению процессов остеогенеза и остеорепарации, вызывая ОП.

В современной патогенетической терапии ОП не уделяется должного внимания препаратам, обладающим эндотелиопротективными свойствами и, следовательно, положительным влиянием на кровоснабжение костной ткани. Это указывает на актуальность изучения остеопротективного действия препаратов с доказанным положительным эндотелиотропным эффектом: эналаприла, лозартана и резвератрола, в чем и заключалась цель данного исследования.

Материалы и методы. Опыты проводили на 162 самках белых крыс линии Вистар массой 250±50 г. Для моделирования системного ОП у крыс, наркотизировав их внутрибрюшинным введением раствора хлоралгидрата в дозе 300 мг/кг, проводили операцию билатеральной овариэктомии [5]. Развитие генерализованного ОП оценивали через восемь недель (на 57 день) после проведения операции.



Уровень микроциркуляции оценивали в ткани проксимального метафиза бедренной кости. Для этого после фиксации животного на столике для хирургических манипуляций [7] и засверливания в бедре монокортикального отверстия в него с целью стабилизации датчика, используемого для измерения микроциркуляции в кости, вводили стержень-кондуктор [6]. Для получения данных микроциркуляции в кости использовали оборудование компании Viopac systems: полиграф MP100 с модулем лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) LDF100C и датчиком TSD144. Регистрация результатов ЛДФ производилась в программе AcqKnowledge версии 3.8.1., значения микроциркуляции выражались в перфузионных единицах (ПЕ).

Развитие гипозстрогениндуцированной ЭД оценивали после измерения внутрикостного уровня микроциркуляции, для чего проводили пробы на эндотелийзависимую вазодилатацию (ЭЗВД) в ответ на болюсное внутривенное введение раствора ацетилхолина в дозе 40 мкг/кг [16] и эндотелийнезависимую вазодилатацию (ЭНВД) в ответ на болюсное введение раствора нитропруссид натрия в дозе 30 мкг/кг [2]. Для объективной оценки развития нарушения функции эндотелия при генерализованном ОП рассчитывали коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) на основе данных ЛДФ в кости. Для этого определяли площади прямоугольных треугольников над кривыми восстановления микроциркуляции после проведения реакций ЭЗВД и ЭНВД. При этом за один из катетов треугольника принимали абсолютную величину падения уровня микроциркуляции, за другой – время восстановления и стабилизации показателя микроциркуляции. КЭД рассчитывался как отношение площади треугольника над кривой восстановления микроциркуляции в ответ на введение нитропруссид к площади треугольника над кривой восстановления микроциркуляции в ответ на введение ацетилхолина [4].

Для подтверждения развития ОП и в комплексной оценке эффективности исследуемых препаратов проводили морфологическое исследование проксимальных метафизов бедренных костей. Предметные стекла с гистологическими препаратами подвергали световой микроскопии (увеличение $\times 100$: объектив $\times 10$, окуляр $\times 10$), и фотографировали костные балки путем сопоставления объектива фотокамеры и окуляра микроскопа.

Для проведения гистоморфометрии костной ткани использовали программу ImageJ версии 1.39, предварительно откалиброванную следующим образом. Используя то же оборудование, что и для получения фотографий костных трабекул, сфотографировали «линейку» длиной 1 мм. Измерив в программе ImageJ «линейку» в пикселях, приняли расстояние в 1425 пикселей равным 1 мм. В дальнейшем программно измеряли ширину костных трабекул и выражали ее в микрометрах.

Для изучения остеопротективного действия нами были выбраны препараты, эндотелиопротективное действие которых было доказано в ходе ранее проведенных исследований в лаборатории кардиофармакологии НИИ Экологической медицины КГМУ: эналаприла малеат, лозартан калия и резвератрол. Ингибитор АПФ эналаприла малеат и блокатор АТ₁-рецепторов лозартан калия («Рениприл» и «Блоктран» производства ОАО «Фармстандарт-Лексредства») вводили внутривенно в дозах 0,5 мг/кг и 6 мг/кг соответственно, резвератрол («Greensyn», Guangzhou Ltd.) вводили внутривенно в дозе 2 мг/кг ежедневно однократно в сутки в течение восьми недель, что соответствует данным доступной литературы и выявляет эффективное эндотелиопротективное действие данных препаратов в экспериментах, ранее проведенных в нашей лаборатории [9].

Группой контроля являлась группа животных с экспериментальным ОП, не получавших фармакологической коррекции. В группу интактных крыс входили ложнопериоперированные животные (ложная операция овариэктомии без удаления яичников).

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Результаты исследования. Результаты ЛДФ позволили констатировать достоверно более низкий уровень микроциркуляции в костной ткани у крыс через восемь недель после овариэктомии ($61,5 \pm 3,7$ ПЕ; $n=42$) по сравнению с интактными животными ($100,5 \pm 4,4$ ПЕ; $n=30$).

В ответ на системное введение ацетилхолина и нитропрусида наблюдали снижение микроциркуляции с последующей нормализацией показателей кровотока. Так, уменьшение уровня микроциркуляции при проведении пробы ЭЗВД в группе интактных животных в среднем составило $46,7 \pm 3,8\%$ от исходных показателей, в группе крыс с экспериментальным ОП – $38,9 \pm 3,8\%$. При проведении реакции ЭНВД уровень микроциркуляции в группе интактных крыс снизился в среднем на $29,0 \pm 3,5\%$ от исходного значения, в группе контрольных животных – на $27,3 \pm 5,3\%$.

В группе интактных животных получили $KЭД=1,3 \pm 0,2$, в группе крыс с экспериментальным ОП $KЭД$ был статистически значимо больше и составлял $2,4 \pm 0,2$.

Генерализованные остеопоротические изменения в костях скелета были гистологически подтверждены у всех крыс через восемь недель после овариэктомии: наблюдалось истончение костных трабекул и расширение межтрабекулярного пространства (рис. 1). Кроме того, в отдельных гистологических препаратах отмечались микропереломы костных трабекул. О прижизненном возникновении микропереломов судили по прорастанию соединительной ткани в месте перелома трабекулы.

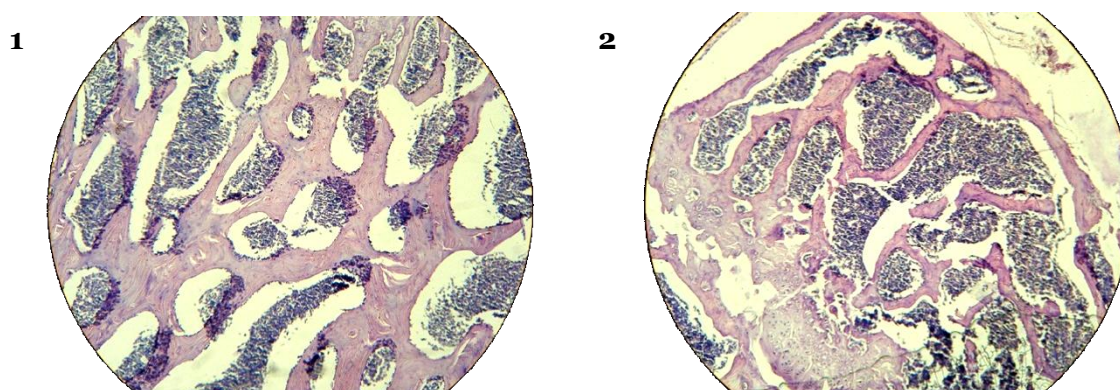


Рис. 1. Морфологическая картина срезов проксимальных метафизов бедренных костей крыс (окр. Гематоксилин-эозином, ув. 100)

Примечание: 1 – срез у интактной крысы; 2 – срез у крысы с остеопорозом

Объективной мерой оценки развития ОП через восемь недель после билатеральной овариэктомии стало достоверное уменьшение средней ширины костных трабекул в изучаемой локализации. Так, средняя ширина костных трабекул в проксимальном метафизе бедра у крыс с экспериментальным ОП ($61,7 \pm 1,2$ мкм) была меньше показателя интактных животных ($97,7 \pm 1$ мкм) на $36,8\%$.

При анализе активности изучаемых препаратов было обнаружено, что эналаприл $0,5$ мг/кг, лозартан 6 мг/кг и резвератрол 2 мг/кг эффективно предотвращали снижение уровня регионарного кровотока в костной ткани бедра, сохраняя значения микроциркуляции на уровне интактных крыс: результаты ЛДФ в группах крыс, получавших эналаприл ($93,3 \pm 4,4$ ПЕ; $n=35$), лозартан ($100,0 \pm 2,3$ ПЕ; $n=35$) и резвератрол ($91,0 \pm 12,8$ ПЕ, $n=20$), не отличались от таковых у интактных животных ($p > 0,1$) и не различались между собой ($p > 0,1$), а также достоверно отличались от показателей в контрольной группе ($p < 0,05$).

Было выявлено, что эналаприл, лозартан и резвератрол приводили пропорции между площадями треугольников над кривыми восстановления уровня микроциркуляции в кости в ответ на введение нитропрусида и ацетилхолина к таковым у интактных животных. Тем самым изучаемые препараты статистически значимо снижали $KЭД$ до значений $1,6 \pm 0,1$, $1,5 \pm 0,2$ и $1,3 \pm 0,2$ соответственно.

При световой микроскопии срезов костей скелета у крыс, получавших лечение, обнаружили сохранение структуры костной ткани и большую ширину костных трабекул, чем у крыс с ОП, не получавших лечения. Выявили, что эналаприл, лозартан и резвератрол препятствовали снижению средней ширины костных трабекул до уровня животных с экспериментальным ОП, однако средняя ширина трабекул не достигала значения интактных крыс (рис. 2). Эналаприл, лозартан и резвератрол оказывали статистически значимое влияние на среднюю ширину костных трабекул: эналаприл увеличивал ширину

трабекул в среднем на 22,7%, лозартан – на 37,4%, резвератрол – на 45,9% по сравнению с крысами, страдающими ОП.

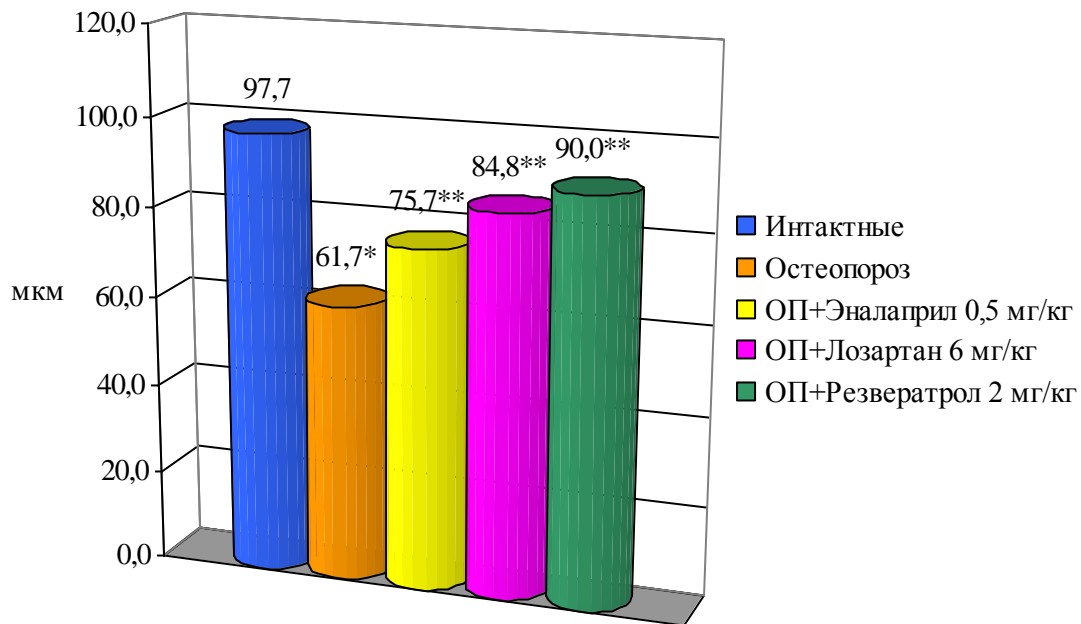


Рис. 2. Влияние эналаприла, лозартана и резвератрола на среднюю ширину костных трабекул проксимального метафиза бедренной кости через 8 недель после билатеральной овариэктомии

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с группой интактных животных;
** – $p < 0,05$ по сравнению с группой крыс с остеопорозом

Обсуждение результатов. Для поддержания гомеостаза кости чрезвычайно важны развитие функционально полноценного микроциркуляторного русла и общее состояние регионарной микроциркуляции в костной ткани. Ухудшение кровоснабжения костной ткани может приводить к развитию таких патологий опорно-двигательного аппарата, как остеонекроз [12], остеомиелит [17] или остеопороз [11, 18].

Эндотелий в зрелой сосудистой сети играет центральную регуляторную роль, обеспечивая связь с остальными слоями стенки сосуда и адекватно отвечая на их потребности выделением медиаторов [3]. Таким образом, по нашему мнению, эндотелий сосудов костной ткани, являясь неотъемлемой частью кости, во многом определяет состояние регионарной микроциркуляции, а также тем самым отвечает за поддержание гомеостаза в кости.

Данное положение подтверждается работами ряда авторов, утверждающих, например, что VEGF (ключевой регулятор каскада событий, приводящих к формированию и развитию сосудистой системы) играет значительную роль в процессах ремоделирования [13] и репарации повреждений [14] костной ткани. Так, было продемонстрировано, что ингибирование VEGF приводит к увеличению ширины феморальной и тиббиальной ростковых зон, снижению интенсивности ангиогенеза в ростковых зонах, потере кровеносных сосудов в метафизарной зоне, а также уменьшению образования трабекулярной структуры кости [13] и интенсификации резорбции губчатой костной ткани [15].

В настоящее время ведется активное изучение препаратов, обладающих эндотелиопротективными свойствами, а также формулируются возможные патогенетические механизмы их воздействия на сосудистый эндотелий.

В частности, один из возможных путей протективного влияния ингибиторов АПФ на эндотелиальную дисфункцию связан с восстановлением метаболизма брадикинина: блокада тканевого АПФ приводит не только к уменьшению синтеза АТ-2, но и замедлению деградации брадикинина. Также под действием данных препаратов возможно снижение базальной и инсулин-индуцированной секреции эндотелина-1 и увеличение продукции NO.

Эндотелиопротективное влияние антагонистов ангиотензиновых рецепторов

реализуется, по-видимому, за счет блокады АТ1-рецепторов, что ведет к уменьшению продукции супероксидных радикалов, снижению степени связывания NO и его накоплению. Так как стимуляция АТ1-рецепторов способствует образованию супероксидов, инактивирующих NO, а стимуляция АТ2-рецепторов приводит к вазодилатации и усилению натрийуреза за счет активации системы брадикинина, NO и цГМФ, то эффект АТ-2 (усиление синтеза или инактивация NO) зависит от того, с какими рецепторами он преимущественно взаимодействует. Поэтому очевидно, что на фоне блокады АТ1-рецепторов создаются благоприятные условия для интенсифицированного функционирования свободных АТ2-рецепторов, что приводит к накоплению NO.

Представитель группы фитоалексинов резвератрол вызывает эндотелийзависимое расслабление кровеносных сосудов посредством усиления выработки оксида азота и последующего увеличения уровня цГМФ. Вместе с тем данные эффекты ослабляются при введении конкурентных ингибиторов NO-синтазы N^G-мометил-L-аргинина и N^G-нитро-L-аргинина. Известно, что краткосрочное воздействие на эндотелиоциты резвератрола в невысоких концентрациях (1-10 μM) увеличивает количество производимого оксида азота, что объясняется краткосрочным повышением активности eNOS и сокращением продукции супероксидов в эндотелии. Резвератрол стимулирует в хронологическом порядке экспрессию eNOS и VEGF. Напротив, ингибирование выработки NO ингибиторами eNOS существенным образом снижает митогенные и ангиогенные эффекты, стимулируемые VEGF.

Определенный вклад при гипозэстрогениндуцированной эндотелиальной дисфункции вносят эстрогенные свойства резвератрола. Резвератрол связывается с рецепторами эстрогена, активируя тем самым процесс матричного синтеза чувствительных к эстрогену генов-репортеров. У крыс с удаленными яичниками резвератрол действует как агонист рецептора эстрогена. Кроме того, резвератрол усиливает степень сосудистой релаксации, зависящей от эндотелина (в ответ на ацетилхолин) и подобно эстрадиолу предотвращает возможность снижения прочности костной ткани.

На основании изложенного нами была сформулирована гипотеза, согласно которой качество процессов ремоделирования и репаративной регенерации костной ткани находится в прямой зависимости от качества функционирования эндотелия сосудов, определяющего уровень регионарной микроциркуляции в костной ткани. Этой концепции мы придерживались в ходе выполнения наших исследований.

Комплекс патологических изменений, обнаруженный через восемь недель после билатеральной овариэктомии у самок крыс линии Вистар, подтверждает предложенную нами теорию развития остеопороза: эндотелиальная дисфункция сосудов микроциркуляторного русла костной ткани, ухудшая кровоснабжение кости, принимает участие в разобщении процессов костного ремоделирования и, как следствие, развитию генерализованного остеопороза.

В подтверждение предложенной теории эналаприл, лозартан и резвератрол, усиливая эндотелийзависимое расслабление сосудов костной ткани, нормализовали показатели КЭД, приводя их к значениям интактных животных. Изучаемые препараты повышали уровень микроциркуляции в проксимальном метафизе бедра до значений, достоверно не отличающихся от таковых у интактных крыс. Препараты также оказывали статистически значимое влияние на среднюю ширину костных трабекул по сравнению с крысами, страдающими остеопорозом.

Таким образом, ингибитор АПФ эналаприл, блокатор АТ1-рецепторов лозартан, а также представитель группы фитоалексинов резвератрол, оказывая эндотелиопротективное воздействие на эндотелий микроциркуляторного русла костной ткани, эффективно предотвращают снижение регионарного кровоснабжения в костной ткани при экспериментальном остеопорозе и обладают остеопротективным действием, заключающимся в положительном влиянии указанных препаратов на процессы костного ремоделирования и остеорепарации.

Из этого следует, что спектр плейотропного действия препаратов с доказанной эндотелиопротективной активностью может быть расширен за счет добавления остеопротективного элемента, что, однако, требует проведения дополнительных исследований.



Выводы

1. Через восемь недель после билатеральной овариэктомии у самок крыс линии Вистар развивается нарушение функции эндотелия сосудов микроциркуляторного русла костной ткани, свидетельством чего является увеличение коэффициента эндотелиальной дисфункции, рассчитанного по результатам лазерной доплеровской флоуметрии в костной ткани, до $2,4 \pm 0,2$ по сравнению с $1,3 \pm 0,2$ у интактных животных. Значительно ухудшается регионарный кровоток в костной ткани ($61,5 \pm 3,7$ ПЕ по сравнению с $100,5 \pm 4,4$ ПЕ у интактных крыс), что приводит к развитию генерализованного остеопороза, сопровождающегося истончением костных трабекул в среднем на 36,8% и возникновением в них микропереломов.

2. Эналаприл в дозе 0,5 мг/кг на модели билатеральной овариэктомии имеет выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до $1,6 \pm 0,1$, предотвращает снижение уровня микроциркуляции в костной ткани бедра, удерживая его на значениях, не отличающихся от интактных крыс ($93,3 \pm 4,5$ ПЕ), а также, увеличивая ширину костных трабекул в среднем на 22,7% по сравнению с группой крыс с остеопорозом и предотвращая возникновение микропереломов, обладает остеопротективным действием.

3. Лозартан в дозе 6 мг/кг после билатеральной овариэктомии, обладая выраженным эндотелиопротективным действием, снижает коэффициент эндотелиальной дисфункции до $1,5 \pm 0,2$; препарат эффективно предотвращает снижение показателей кровотока в костной ткани бедра, удерживая его на уровне интактных животных ($100,0 \pm 2,3$ ПЕ), и имеет выраженное остеопротективное действие, увеличивая ширину костных трабекул в среднем на 37,4%.

4. Резвератрол в дозе 2 мг/кг на выбранной модели патологии имеет выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до $1,3 \pm 0,2$, предотвращает снижение уровня микроциркуляции в костной ткани бедра, удерживая его на уровне интактных крыс ($91,0 \pm 12,8$ ПЕ), а также, увеличивая ширину костных трабекул в среднем на 45,9% по сравнению с группой крыс с остеопорозом и предотвращая возникновение микропереломов, обладает остеопротективным действием.

Литература

1. Беневоленская, Л. И. Руководство по остеопорозу / Л.И. Беневоленская. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2003. – 524 с.
2. Галаган, М. Е., Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников / М.Е. Галаган, А. В. Широколова, А. Ф. Ванин // *Вопр. мед. химии.* – 1991. – Т. 37, № 1. – С. 67-70.
3. Марков, Х.М. Оксидантный стресс и дисфункция эндотелия / Х.М. Марков // *Патол. Физиология и эксперим. Терапия.* – 2005. – № 4. – С. 5-9.
4. Покровский, М.В. и др. Пат. 2301015 Российская Федерация, МПК⁷ А61В 5/02. Способ оценки эндотелиальной дисфункции / заявители и патентообладатели Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. – № 2005113243/14; заявл. 04.05.2005; опубл. 20.06.07, Бюл. № 17. – 7 с.: ил.
5. Способы экспериментального моделирования эндотелиальной дисфункции / М.В. Корочкин, М.В. Покровский, Е.Б. Артюшкова и др. // *Аллергология и иммунология.* – 2008. – Т. 9., № 3. – С. 327.
6. Файтельсон, А. В. И др. Пат. 62505 Российская Федерация, МПК⁷ А61В 17/68. Канюлированный стержень-кондуктор для проведения экспериментальных измерений / заявители и патентообладатели Файтельсон А.В., Гудырев О.С. – № 2006144474/22; заявл. 13.12.06; опубл. 27.04.07, Бюл. № 12. – 3 с.: ил.
7. Файтельсон, А. В. И др. Пат. 62512 Российская Федерация, МПК⁷ А61В 3/00. Стол для хирургических манипуляций на мелких лабораторных животных / заявители и патентообладатели Файтельсон А.В., Гудырев О.С. – № 2006144475/22; заявл. 13.12.06; опубл. 27.04.07, Бюл. № 12. – 4 с.: ил.
8. Эндотелий костных сосудов как мишень фармакологического воздействия при экспериментальном остеопорозе // А.В. Файтельсон, О.С. Гудырев, М.В. Покровский и др. // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2009. – № 5 (110). – С. 116-121.
9. Эндотелиопротективные эффекты резвератрола и его комбинаций с эналаприлом и лозартаном при экспериментальном моделировании дефицита оксида азота / В.И. Кочкаров, М.В. Покровский, М.М. Корнеев и др. // *Кубанский научный медицинский вестник.* – 2006. – № 9 (90). – С. 150-152.

10. Alagiakrishnan, K. Role of vascular factors in osteoporosis / K. Alagiakrishnan, A. Juby, D. Hanley et al. // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* – 2003. – Vol. 58. – P. 362-366.
11. Changes in trabecular bone, hematopoiesis and bone marrow vessels in aplastic anemia, primary osteoporosis, and old age: a comparative histomorphometric study / R. Burkhardt, G. Kettner, W. Bohm et al. // *Bone.* – 1987. – Vol. 8. – P. 157-164.
12. Childs, S.G. Osteonecrosis: death of bone cells / S.G. Childs // *Orthop. Nurs.* – 2005. – Vol. 24. – P. 295-301.
13. Conditional inactivation of VEGF-A in areas of collagen2a1 expression results in embryonic lethality in the heterozygous state / J.J. Haigh, H.P. Gerber, N. Ferrara, E.F. Wagner // *Development.* – 2000. – Vol. 127. – P. 1445-1453.
14. Effect of vascular endothelial growth factor in fracture healing / T.W. Chu, Z.G. Wang, P.F. Zhu et al. // *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi.* – 2002. – Vol. 16. – P. 75-78.
15. Increase of both angiogenesis and bone mass in response to exercise depends on VEGF / Z. Yao, M.H. Lafage-Proust, J. Plouet et al. // *J. Bone. Miner. Res.* – 2004. – Vol. 19. – P. 1471-1480.
16. Laursen J. B., Rajagopalan S., Galis Z. Role of superoxide in angiotensin II-induced but not catecholamine-induced hypertension // *Circulation.* – 1997. – Vol. 95. – P. 588-593.
17. Lazzarini, L. Long Bone Osteomyelitis / L. Lazzarini, F. De Lalla, J.T. Mader // *Curr. Infect. Dis. Rep.* – 2002. – Vol. 4. – P. 439-445.
18. Role of vascular factors in osteoporosis / K. Alagiakrishnan, A. Juby, D. Hanley et al. // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* – 2003. – Vol. 58. – P. 362-366.

OSTEOPROTECTIVE ACTION OF ENALAPRIL, LOSARTAN AND RESVERATROL IN EXPERIMENTAL OSTEOPOROSIS

**O.S. GUDYREV¹, A.V. FAITELSON¹
M.V. POKROVSKIY², A.V. IVANOV¹
N.U. KOKLINA¹, N.V. STABROVSKAYA¹
A.S. VANYAN¹, R.A. NARYKOV¹
D.S.R. RAJKUMAR¹**

¹ *Kursk State Medical University*

² *Belgorod National Research University*

e-mail: gudyrev@mail.ru

During an investigation it has been shown, that in eight weeks after ovariectomy at females of white Wistar rats the disturbance of an osteal tissue endothelium function and deterioration of regional blood flow in a bone develops, resulting to occurrence of a generalized osteoporosis.

Enalapril, losartan and resveratrol, possessing the endothelioprotective action, effectively prevented a regional microcirculation level depression in an osteal tissue, conserving it at level of intact rats. It has allowed to sustain at adequate level processes of an osteal remodeling, that has shown in retardation of an osteal trabecules thinning and prevention of microfractures occurrence in them.

Key words: osteoporosis, microcirculation, endothelial dysfunction, enalapril, losartan, resveratrol.



ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ ЛОЗАРТАНА И ГИДРОХЛОРОТИАЗИДА В ОДНОЙ ТАБЛЕТКЕ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

**А.В. БАБНО¹, Е.Г. ТЕРЕХОВА¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ², Т.Г. ПОКРОВСКАЯ²
М.В. КОРОКИН¹, Н.В. АВДЕЕВА¹**

¹ Курский государственный
медицинский университет

² Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: bavor@mail.ru

В лаборатории кардиофармакологии НИИ экологической медицины КГМУ проведено изучение эндотелио- и кардиопротективной активности лозартана, гидрохлоротиазида и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке в экспериментах на крысах. Полученные результаты позволили установить выраженную коррекцию эндотелиальной дисфункции при применении фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, L-NAME, фиксированная комбинация лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке.

Эндотелиальная дисфункция (ЭД), сопряженная с нарушением продукции оксида азота (NO), является одним из начальных нарушений метаболизма в развитии сердечно-сосудистых заболеваний. Дефицит сигнального пути, связанного с продукцией и транспортом NO, постепенно приводит к развитию артериальной гипертензии (АГ), ишемической болезни сердца (ИБС) и сердечной недостаточности. Снижение эндотелий-зависимой вазодилатации, связанной с этим сигнальным путем, отмечается при прогрессировании атеросклероза [6].

ЭД – достаточно многогранный процесс, основные проявления которого следующие: нарушение биодоступности NO (подавление экспрессии/инактивация эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и снижение синтеза NO; уменьшение на поверхности эндотелиальных клеток плотности рецепторов (в частности, мускариновых), раздражение которых в норме приводит к образованию NO; повышение дегградации NO), повышение активности АПФ на поверхности эндотелиальных клеток, повышение выработки клетками эндотелия эндотелина-1 (ЕТ-1) и других вазоконстрикторных субстанций, нарушение целостности эндотелия при тяжелом его поражении и появление участков интимы, лишенных эндотелиальной выстилки (деэндотелизация) [5].

Хроническая гиперактивация ренин-ангиотензин альдостероновой системы (РААС) является важнейшим фактором, ведущим к формированию ЭД [10].

Активной формой этой системы является АТ II – октапептид, вызывающий генерализованную и очень сильную (в 50 раз сильнее адреналина) реакцию. В больших дозах АТ II способствует возникновению окислительного (оксидантного) стресса, так как, во-первых, угнетает инактивацию норадреналина легкими; во-вторых, увеличивает активность НАД- и НАДФ-зависимой оксидазы и превращает NO в супероксид азота – один из основных окислителей липопротеидов низкой плотности (ЛПНП); в-третьих, уменьшает синтез NO, разрушая брадикинин, сильный стимулятор образования NO; в-четвертых, стимулирует окисление ЛПНП макрофагами [9].

Благоприятное действие на ЭД антагонистов ангиотензиновых рецепторов реализуется, по-видимому, за счет блокады АТ 1-рецепторов, что приводит к снижению продукции супероксидных радикалов, уменьшению связывания NO и его накоплению. Так как стимуляция АТ 1-рецепторов способствует образованию супероксидов, инактивирующих NO, а стимуляция АТ 2-рецепторов приводит к вазодилатации и натрийурезу за счет активации системы брадикинина, NO и цГМФ, то эффект АТ II (усиление синтеза или инактивация NO) зависит от того, с какими рецепторами он преимущественно взаимодействует. Поэтому очевидно, что на фоне блокады АТ 1-рецепторов создаются условия для усиленного функционирования незаблокированных АТ 2-рецепторов, что приводит к накоплению NO [10].

Большое внимание в последнее время уделяется фиксированной комбинации блокатора рецепторов ангиотензина (БРА) лозартана и тиазидного диуретика

гидрохлоротиазида в одной таблетке, эффективность и безопасность которой доказана в исследованиях у пациентов с АГ различной степени. Однако работы по изучению влияния данного сочетания препаратов на ЭД немногочисленны.

В этой связи целью настоящего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективных эффектов фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке в условиях моделирования L-NAME- индуцированной ЭД.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 50 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250-300 г.

Моделирование дефицита NO осуществляли внутрибрюшинным введением L-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг крысам в течение 7 суток. Одновременно в течение 7 дней в группах животных проводили фармакологическую коррекцию дефицита NO введением лозартана в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке внутривенно, через 30 минут после внутрибрюшинного введения L-NAME.

На 8-й день эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) на первом этапе вводили катетер в левую сонную артерию и регистрировали систолическое и диастолическое 17героудальное давление (АД), частоту сердечных сокращений (ЧСС); на втором этапе вводили иглу в полость левого желудочка через верхушку сердца для регистрации частоты сердечных сокращений, левожелудочкового давления (ЛЖД), максимальной скорости сокращения (+dp/dt) и расслабления (-dp/dt). Измерения производились и обрабатывались посредством датчика P213ID («Gould», США), АЦП L-154 и компьютерной программы «Viorack».

Эндотелийзависимая (ЭЗР) и эндотелийнезависимая (ЭНЗР) сосудистые реакции оценивались посредством проведения функциональных сосудистых проб с внутривенным введением ацетилхолина (40 мкг/кг) и нитропруссид натрия (30 мкг/кг) [3]. Степень ЭД у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемым препаратом оценивали по расчетному коэффициенту ЭД (КЭД) [11].

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных, находящихся на управляемом дыхании, катетеризировали полость левого желудочка и проводили нагрузочные пробы в представленной последовательности: проба на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида 1,10-5 моль/л, из расчета 0,1 мл на 100 г), нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 с) [11]. После проведения данной пробы рассчитывался показатель истощения миокардиального резерва (выраженный в процентах), равный отношению прироста ЛЖД на 5-й секунде пережатия аорты к приросту ЛЖД на 25-й секунде пережатия аорты.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Результаты исследования. Ежедневное в течение 7 суток внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг привело к стойкому повышению АД до значений САД $190,3 \pm 6,7$ мм рт.ст. и ДАД $145,0 \pm 3,9$ мм рт.ст. по сравнению с группой интактных животных, где САД $137,7 \pm 3,7$ мм рт.ст. и ДАД $101,9 \pm 4,3$ мм рт.ст.

Введение лозартана в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг приводило к снижению артериального давления у крыс, и значения САД и ДАД составляли соответственно: САД $138,7 \pm 8,4$ мм рт.ст., ДАД $106,0 \pm 6,5$ мм рт.ст. и САД $161,0 \pm 4,0$ мм рт.ст., ДАД $119,9 \pm 5,9$ мм рт.ст. Введение фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке приводило к более выраженному снижению артериального давления: САД $124,6 \pm 4,0$ мм рт.ст., ДАД $90,8 \pm 7,6$ мм рт.ст.

Результаты проведения функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME-индуцированной патологией на фоне лечения исследуемыми препаратами позволили установить, что лозартан, гидрохлоротиазид, фиксированная комбинация



лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке достоверно снижали КЭД по сравнению с группой животных, не получавших лечения, причем КЭД в группе фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке был наиболее приближен к значению КЭД интактных животных (табл. 1).

При переводе животных на управляемое дыхание обнаружено, что исходные показатели сократимости левого желудочка у животных, получавших L-NAME, на фоне введения лозартана 8 мг/кг и гидрохлоротиазида 2 мг/кг, оказались достоверно меньше, чем в контрольной группе. Наиболее выраженное гиподинамическое действие оказывала фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке, значения ЛЖД которой не отличались от группы интактных животных (табл. 2).

Проба на адренореактивность характеризовалась выраженным приростом абсолютных значений ЛЖД. В группе животных, получавших L-NAME в дозе 25 мг/кг, максимальное повышение ЛЖД в ответ на внутривенное введение адреналина составило $247,3 \pm 4,8$ мм рт.ст. Максимальное ЛЖД при проведении пробы на адренореактивность в контрольной группе животных составило $199,2 \pm 8,3$ мм рт.ст. Лозартан в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазид в дозе 2 мг/кг и фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке предотвращали повышение адренореактивности, вызванное L-NAME-индуцированной патологией, и снижали максимальное ЛЖД в ответ на в/в введение адреналина соответственно до $209,6 \pm 4,0$ мм рт.ст., $216,9 \pm 6,8$ мм рт.ст., $190,4 \pm 6,8$ мм рт.ст. (табл. 3)

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением исследуемые препараты предотвращали истощение миокардиального резерва. Так, на 25-й секунде проведения пробы данный показатель в контрольной группе животных составил $83,6 \pm 4,6\%$. В группе животных, получавших L-NAME, – $66,0 \pm 4,3\%$. Тогда как результаты у животных, получавших лозартан в дозе 8 мг/кг, гидрохлоротиазид в дозе 2 мг/кг и фиксированную комбинацию лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке, составили соответственно $79,2 \pm 5,0\%$, $77,7 \pm 3,5\%$, $80,2 \pm 3,9\%$ (табл. 3).

Таким образом, результаты исследования функционального состояния миокарда при проведении нагрузочных проб выявили отчетливое кардиопротективное действие фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида 2 мг/кг в одной таблетке, выражающееся в предотвращении увеличения адренореактивности и падения ЛЖД при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с животными, у которых моделировали L-NAME-индуцированный дефицит NO.

Таблица 1

Влияние лозартана, гидрохлоротиазида и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутрибрюшинно ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	Функциональная проба	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст	S сосудистой реакции при проведении ЭЗВД с АХ и ЭНВД с НП, усл. ед.	КЭД, усл.ед.
1	2	3	4	5	6
Интактные	Исходные	$137,7 \pm 3,7$	$101,9 \pm 4,3$		$1,1 \pm 0,1$
	АХ	$88,0 \pm 4,6$	$39,9 \pm 6,5$	$1268,0 \pm 74,8$	
	НП	$87,0 \pm 8,6$	$42,2 \pm 9,0$	$1375,3 \pm 93,7$	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	$190,3 \pm 6,7^*$	$145,0 \pm 3,9^*$		$5,4 \pm 0,6^*$
	АХ	$110,6 \pm 8,1^*$	$82,8 \pm 8,0^*$	$984,0 \pm 78,0^*$	
	НП	$88,7 \pm 4,7$	$50,8 \pm 4,2$	$3322,7 \pm 116,7^*$	
L-NAME (25 мг/кг)+лозартан (8 мг/кг)	Исходные	$138,7 \pm 8,4^{**}$	$106,0 \pm 6,5^{**}$		$2,1 \pm 0,2^{**}$
	АХ	$83,4 \pm 4,9^{**}$	$50,7 \pm 4,0^{**}$	$1119,5 \pm 93,1$	
	НП	$83,9 \pm 5,1$	$43,2 \pm 7,4$	$2300,7 \pm 247,0^{**}$	

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
L-NAME (25 мг/кг) + гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	Исходные	161,0 ± 4,0**	119,9 ± 5,9**		2,5 ± 0,3**
	АХ	91,3 ± 4,1**	53,4 ± 3,0**	1311,0 ± 127,1**	
	НП	102,3 ± 5,6	53,4 ± 3,0	3206,2 ± 381,7	
L-NAME (25 мг/кг)+ фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	Исходные	124,6 ± 4,0**	90,8 ± 7,6**		1,4 ± 0,1**
	АХ	78,6 ± 5,6**	40,9 ± 3,6**	1413,1 ± 332,0**	
	НП	86,3 ± 6,1	38,8 ± 4,4**	1825,9 ± 310,7**	

Примечание: * - $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, S – площадь над кривой восстановления артериального давления при проведении фармакологических проб, КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции.

Таблица 2

Влияние лозартана, гидрохлоротиазид и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазид в одной таблетке на показатели сократимости левого желудочка сердца крыс при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутривенно (M±m, n=10)

Группы животных	ЛЖД	+dp/dt _{max}	-dp/dt _{max}	ЧСС
Интактные	108,6±4,3	6208,1±703,2	3973,9±391,5	390,4±17,0
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	167,8±5,6*	7682,9±419,9*	5576,8±216,4*	383,3±9,8
L-NAME(25 мг/кг)+лозартан (8 мг/кг)	121,1±2,8**	6387,7±959,7	4706,5±417,1**	368,2±10,8
L-NAME (25 мг/кг)+гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	150,9±3,8**	7299,0±323,8	5400,0±298,5	371,2±3,3
L-NAME (25 мг/кг)+фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	106,1±4,6**	5642,2±671,5**	4078,7±313,4**	376,8±6,3

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ в сравнении с L-NAME, ЛЖД – левожелудочковое давление, +dp/dt_{max} – максимальная скорость нарастания левожелудочкового давления, dp/dt_{max} – максимальная скорость снижения левожелудочкового давления, ЧСС – частота сердечных сокращений.

Таблица 3

Влияние лозартана, гидрохлоротиазид и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазид в одной таблетке на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутривенно (M±m, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (ЛЖД, мм рт. ст.)	Исчерпание миокардиального резерва, %
Интактные	199,2±8,3	83,6±4,6
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	247,3±4,8*	66,0±4,3*
L-NAME(25 мг/кг)+лозартан (8 мг/кг)	209,6±4,0**	79,2±5,0**
L-NAME (25 мг/кг)+гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	216,9±6,8**	77,7±3,5**
L-NAME (25 мг/кг)+фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазид (2 мг/кг)	190,4±6,8**	80,2±3,9**

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ в сравнении с L-NAME.



Обсуждение результатов. На сегодняшний день известно о положительном влиянии на функциональное состояние эндотелия препаратов различных фармакологических групп. Их действие, в общем, можно объяснить следующими механизмами:

- прямое воздействие на рецепторы сосудистого эндотелия;
- влияние на активность eNOS;
- восполнение дефицита эндотелиальных факторов;
- предотвращение действия медиаторов, вызывающих дисфункцию эндотелия;
- опосредованный эффект через влияние на факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний [4].

Результаты проведенных нами экспериментов свидетельствуют о эндотелиопротективном действии фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида, выражающемся в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении КЭД до уровня интактных животных.

По совокупности функциональных показателей также доказано кардиопротективное действие исследуемых препаратов: введение фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке способствовало предотвращению повышения адренореактивности и истощения миокардиального резерва на фоне моделирования L-NAME-индуцированного дефицита NO в эксперименте.

Усиление эндотелио- и кардиопротективных свойств данной комбинации по сравнению с монотерапией лозартаном или гидрохлоротиазидом возможно связано с различием точек приложения данных препаратов. Благоприятное воздействие лозартана на сосуды объясняется реализацией механизмов его действия: ослаблением ремоделирования гладкомышечных клеток сосудистой стенки, уменьшением пролиферации неоинтимы. Тиазидные диуретики, в частности, гидрохлоротиазид оказывают прямое вазодилатирующее действие на уровне артериол [1, 2, 8]. Имеются данные, что использование тиазидных диуретиков приводит к повышению nNOS в maculae densa и eNOS в почечных сосудах в экспериментальной модели DOCA-солевой АГ у крыс, вызванной введением дезоксикортикостерона и хлорида натрия [7].

Выводы

1. Длительное (в течение 7 дней) внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов крыс линии Вистар нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышении значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.
2. Фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке оказывает выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений АД.
3. Фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке проявляет выраженное кардиопротективное действие, выражающееся в предотвращении увеличения адренореактивности и падения ЛЖД при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с животными, у которых моделировали L-NAME-индуцированный дефицит NO.

Литература

1. Андрущишина, Т. Б. Кардиопротективные свойства блокаторов рецепторов ангиотензина II: фокус на лозартан / Т. Б. Андрущишина, Т. Е. Морозова // Справочник поликлинического врача. – 2010. – № 4. – С. 36-39.
2. Булдакова, Н. Г. Атагонисты рецепторов ангиотензина в клинической практике // Н. Г. Булдакова // Русский медицинский журнал. – 2008. – № 11. – С. 1567-1570.
3. Галаган, М. Е. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников / М. Е. Галаган, А. В. Широколова, А.Ф. Ванин // Вопр. Мед. химии. – 1991. – Т. 37, № 1. – С. 67-70.
4. Галенко, А. С. Способы немедикаментозной и фармакологической коррекции 2oepродуктальной дисфункции / А. С. Галенко, С. Н. Шуленин // ФАРМиндекс-Практик. – 2006. – № 10. – С. 2 – 10.

5. Дисфункция эндотелия у больных гипертонической болезнью / А. И. Мартынов, Н. Г. Аветян, Е. В. Акатова и др. // Кардиология. – 2005. – Т. 45, № 10. – С. 101 – 104.
6. Жлоба, А. А. Роль АДМА в качестве эндогенного ингибитора eNOS и одного из медиаторов развития вазомоторной эндотелиальной дисфункции / А. А. Жлоба // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2007. – Т. 6, № 3 (23). – С. 4 – 14.
7. Задионченко, В. С. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия: терапевтические возможности / В. С. Задионченко, Т. В. Адашева, А. П. Сандомирская // Русский медицинский журнал. – 2002. – № 1. – С.11-15.
8. Кляшев, С. М. Эффективность комбинированного препарата Гизаар у больных артериальной гипертензией с сопутствующими цереброваскулярными нарушениями / С. М. Кляшев, С. А. Столбова // Медицинская наука и образование Урала. – 2008. – № 4 (54). – С. 11 – 14.
9. Лупинская, З. А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока / З. А. Лупинская // Вестник КРСУ. – 2003. – № 7. – С. 43-56.
10. Перспективы медикаментозного лечения эндотелиальной дисфункции / Г. А. Романовская, Е. В. Акатова, Г. Н. Гороховская и др. // Фарматека. – 2005. – № 9 (104). Неврология, Психиатрия, Педиатрия. – С. 31 – 34.
11. Покровский, М. В. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте/ М. В. Покровский, В. И. Кочкаров, Т. Г. Покровская // Рос. Журн. Иммунологии. – 2006. – Т. 96. – С. 60–61.

STUDYING OF EFFECTS OF FIXED COMBINATION OF LOSARTAN AND HYDROCHLOROTHIAZIDE IN A TABLET AT MODELLING L-NAME-INDUCED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

A.V. BABKO¹
E.G. TEREHOVA¹
M.V. POKROVSKII²
T.G. POKROVSKIA²
M.V. KOROKIN¹
N.V. AVDEEVA¹

¹ *Kursk State Medical University*

² *Belgorod National Research University*

e-mail: bavor@mail.ru

Studying of endothelio- and cardioprotective activity of losartan, hydrochlorothiazide and fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet was made in the laboratories of cardiofarmacology scientific research institute of Ecological medicine in experiments on rats. The received results have allowed to determine the expressed correction of endothelial dysfunction in application of the fixed combination of losartan 8 mg/kg and hydrochlorothiazide 2 mg/kg in a tablet.

Key words: endothelial dysfunction, L-NAME, fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet.



РОЛЬ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРА АРГИНАЗЫ L-НОРВАЛИНА И ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ ЛОЗАРТАНА И ГИДРОХЛОРОТИАЗИДА В ОДНОЙ ТАБЛЕТКЕ В КОРРЕКЦИИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

**А.В. БАБКО¹, Е.Г. ТЕРЕХОВА¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ², Т.Г. ПОКРОВСКАЯ²
М.В. КОРОКИН¹**

¹ Курский государственный
медицинский университет

² Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: bavor@mail.ru

Проведено исследование эндотелио- и кардиопротективных эффектов L-норвалина, фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке и сочетанного использования L-норвалина и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота. Полученные результаты позволили установить выраженную коррекцию эндотелиальной дисфункции, предотвращение повышения адренореактивности и снижения миокардиального резерва в эксперименте при сочетанном применении L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, L-NAME, L-норвалин, фиксированная комбинация лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке.

В развитии и прогрессировании заболеваний сосудов ключевым моментом является регуляция NOS (синтазы оксида азота) и биодоступность субстратов или кофакторов. Местная доступность L-аргинина в качестве субстрата для NOS может быть снижена вследствие активности аргиназы, утилизирующей L-аргинин для производства мочевины и орнитина и таким образом конкурирующей с NOS за доступность субстрата. Различные исследования свидетельствуют, что индукция или активация аргиназы I или аргиназы II ведет к нарушению продукции оксида азота (NO) и, как следствие, развитию эндотелиальной дисфункции (ЭД) [2].

Отдельное место в регуляции сосудистого тонуса и пролиферативной активности клеток меди сосудов принадлежит нейрогуморальной ренин-ангиотензиновой системе. Главным эффектором системы является ангиотензин II (АТ II), образующийся из ангиотензина I под действием ангиотензин-превращающего фермента (АПФ). Видимо, этот фермент присутствует в эндотелиальных клетках, что обеспечивает образование АТ II на поверхности эндотелия. Рецепторы к АТ II имеют клетки различных тканей, в т.ч. эндотелий и гладкие миоциты [1, 3, 9]. Обнаружено два основных подтипа рецепторов А II: АТ 1 и АТ 2. К числу негативных эффектов А II, реализуемых через АТ 1-рецепторы, относятся вазоконстрикция, увеличение секреции эндотелина, стимуляция образования перекисных радикалов, гипертрофия гладкомышечных клеток, увеличение активности ингибитора тканевого активатора плазминогена 1 типа. Многие из этих эффектов являются атерогенными [10, 11].

С другой стороны, воздействие ангиотензина II на АТ 2-рецепторы вызывает вазодилатацию, натрийурез, торможение гипертрофии кардиомиоцитов и пролиферации фибробластов в миокарде, а также пролиферации и миграции эндотелиальных, гладкомышечных и мезангиальных клеток. Стимуляция АТ 2-рецепторов приводит к активации кининогена, что способствует образованию брадикинина в сосудистой стенке, а следовательно, усилению высвобождения NO, простаглицина и эндотелиального фактора гиперполяризации [12].

Одним из перспективных путей коррекции ЭД в настоящее время считают использование ингибиторов аргиназы. Наименее изученным среди них является L-норвалин. L-норвалин – неспецифический ингибитор аргиназы. Он воздействует на орнитинтранскарбамилазу, которая катализирует образование L-цитруллина и ортофосфата из L-орнитина (являющегося важным промежуточным продуктом на пути синтеза аргинина) и карбамоилфосфата [15, 16, 17].

Исходя из вышеизложенного, существует необходимость исследования потенциальной роли и перспективности терапии ингибиторами аргиназы как дополнение к существующим парадигмам коррекции дефицита NO при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелио- и кардиопротективной активности совместного использования L-норвалина и фиксированной

комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 50 половозрелых самцах крыс линии Wistar массой 250-300 г.

Моделирование дефицита NO осуществляли внутрибрюшинным введением L-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг крысам в течение 7 суток. Одновременно в течение 7 дней в группах животных проводили фармакологическую коррекцию дефицита NO введением фиксированной комбинации лозартана 8 мг/кг и гидрохлоротиазида 2 мг/кг в одной таблетке внутрижелудочно и сочетанным введением L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана 8 мг/кг и гидрохлоротиазида 2 мг/кг в одной таблетке внутрижелудочно, через 30 минут после внутрибрюшинного введения L-NAME [13].

Исследование показателей артериального давления в группах животных проводили под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) посредством катетеризации сонной артерии. Показатели гемодинамики – систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) – измеряли на крысах с помощью датчика P23ГО «Gould» США, АЦП L-154 и компьютерной программы «Viorack», а также на фоне ряда функциональных проб, проводимых в представленной последовательности: 1. Проба на эндотелийзависимое расслабление сосудов (внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100г). 2. Проба на эндотелийнезависимое расслабление сосудов (внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г) [4]. Для объективизации оценки коррекции эндотелиальной дисфункции, возникающей при моделировании дефицита NO введением L-NAME, нами использован коэффициент ЭД (КЭД), характеризующий степень ЭД и отражающий соотношение площади над реакцией восстановления АД в ответ на введение нитропруссид натрия к площади над реакцией восстановления АД в ответ на введение ацетилхолина [13].

Для оценки функциональных возможностей миокарда у животных, находящихся на управляемом дыхании, катетеризировали полость левого желудочка и проводили нагрузочные пробы в представленной последовательности: проба на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида 1,10⁻⁵ моль/л, из расчета 0,1 мл на 100 г), нагрузка сопротивлением (пережатие восходящей аорты на 30 с) [13]. После проведения данной пробы рассчитывался показатель истощения миокардиального резерва (выраженный в процентах), равный отношению прироста ЛЖД на 5-й секунде пережатия аорты к приросту ЛЖД на 25 секунде пережатия аорты.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Результаты. Ежедневное в течение 7 суток внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг привело к стойкому повышению АД до значений САД 190,3±6,7 мм рт.ст. и ДАД 145,0±3,9 мм рт.ст. по сравнению с группой интактных животных, где САД 137,7±3,7 мм рт.ст. и ДАД 101,9±4,3 мм рт.ст.

Введение L-норвалина в дозе 10 мг/кг достоверно не снижало АД (САД 180,0±4,7 мм рт.ст., ДАД 144,6±5,1 мм рт.ст.). Введение фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке приводило к снижению АД у крыс, и значения САД и ДАД составляли: САД 138,7±8,4 мм рт.ст., ДАД 106,0±6,5 мм рт.ст. Сочетанное введение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке также вызывало снижение АД: САД 124,6±4,0 мм рт.ст., ДАД 90,8±7,6 мм рт.ст.

Результаты проведения функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME-индуцированной патологией на фоне лечения исследуемыми препаратами позволили установить достоверное снижение КЭД по сравнению с группой животных, не получавших лечения. Наиболее выраженное эндотелиопротективное действие оказывало сочетание L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке, КЭД которой был наиболее близок к группе интактных животных (табл. 1).

При переводе животных на управляемое дыхание обнаружено, что исходные показатели сократимости левого желудочка у животных, получавших L-NAME, на фоне введения



L-норвалина в дозе 10 мг/кг, фиксированной комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке и сочетанного использования L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке оказались достоверно меньше, чем в контрольной группе (табл. 2).

Проба на адренореактивность характеризовалась выраженным приростом абсолютных значений ЛЖД. В группе животных, получавших L-NAME в дозе 25 мг/кг, максимальное повышение ЛЖД в ответ на внутривенное введение адреналина составило $247,3 \pm 4,8$ мм рт.ст. Максимальное ЛЖД при проведении пробы на адренореактивность в контрольной группе животных составило $199,2 \pm 8,3$ мм рт.ст. L-норвалин в дозе 10 мг/кг, фиксированная комбинация лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке и сочетанное введение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке предотвращали повышение адренореактивности, вызванное L-NAME-индуцированной патологией, и снижали максимальное ЛЖД в ответ на в/в введение адреналина соответственно до $239,6 \pm 2,2$ мм рт.ст., $190,4 \pm 6,8$ мм рт.ст., $191,7 \pm 8,8$ мм рт.ст. (табл. 3)

При проведении пробы на нагрузку сопротивлением исследуемые препараты предотвращали истощение миокардиального резерва. Так, на 25-й секунде проведения пробы данный показатель в контрольной группе животных составил $83,6 \pm 4,6\%$. В группе животных, получавших L-NAME, – $66,0 \pm 4,3\%$. Тогда как результаты у животных, получавших L-норвалин, фиксированную комбинацию лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке, составили соответственно $87,6 \pm 4,4\%$ и $80,2 \pm 3,9\%$, а у животных с сочетанным введением L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке – $81,4 \pm 3,2\%$ (табл. 3), что подтверждает более выраженное кардиотропное действие сочетанного применения L-норвалина и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке.

Таким образом, результаты исследования функционального состояния миокарда при проведении нагрузочных проб выявили отчетливое кардиопротективное действие сочетанного использования L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида 2 мг/кг в одной таблетке, выражающееся в предотвращении увеличения адренореактивности и падения ЛЖД при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с животными, у которых моделировали L-NAME-индуцированный дефицит NO.

Таблица 1

Влияние L-норвалина, фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке и сочетанного использования L-норвалина и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутрибрюшинно ($M \pm m$, $n=10$)

Группы животных	Функциональная проба	САД, мм рт. ст.	ДАД, мм рт. ст.	S сосудистой реакции при проведении ЭЗВД с АХ и ЭНВД с НП, усл. ед.	КЭД, усл. ед.
1	2	3	4	5	6
Интактные	Исходные	$137,7 \pm 3,7$	$101,9 \pm 4,3$		$1,1 \pm 0,1$
	АХ	$88,0 \pm 4,6$	$39,9 \pm 6,5$	$1268,0 \pm 74,8$	
	НП	$87,0 \pm 8,6$	$42,2 \pm 9,0$	$1375,3 \pm 93,7$	
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	Исходные	$190,3 \pm 6,7^*$	$145,0 \pm 3,9^*$		$5,4 \pm 0,6^*$
	АХ	$110,6 \pm 8,1^*$	$82,8 \pm 8,0^*$	$984,0 \pm 78,0^*$	
	НП	$88,7 \pm 4,7$	$50,8 \pm 4,2$	$3322,7 \pm 116,7^*$	
L-норвалин (10 мг/кг)	Исходные	$180,0 \pm 4,7$	$144,6 \pm 5,1$		$2,1 \pm 0,2^{**}$
	АХ	$106,7 \pm 4,9$	$56,1 \pm 1,8^{**}$	$1360,6 \pm 126,9^{**}$	
	НП	$129,3 \pm 5,1^{**}$	$64,6 \pm 2,5^{**}$	$2827,2 \pm 429,1$	

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
L-NAME (25 мг/кг) + фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	Исходные	124,6 ± 4,0**	90,8 ± 7,6**		1,4 ± 0,1**
	АХ	78,6 ± 5,6**	40,9 ± 3,6**	1413,1 ± 332,0**	
	НП	86,3 ± 6,1	38,8 ± 4,4**	1825,9 ± 310,7**	
L-NAME (25 мг/кг)+ L-норвалин (10 мг/кг) +фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	Исходные	122,8 ± 2,2**	95,0 ± 2,1**		1,2 ± 0,1**
	АХ	79,1 ± 3,0**	40,4 ± 1,8**	1459,5 ± 92,1**	
	НП	53,3 ± 1,9**	70,8 ± 5,8**	1766,5 ± 168,9**	

Примечание: * - p < 0,05 в сравнении с интактными, ** - p < 0,05 в сравнении с L-NAME, САД – систолическое артериальное давление, ДАД – диастолическое артериальное давление, S – площадь над кривой восстановления артериального давления при проведении фармакологических проб, КЭД – коэффициент эндотелиальной дисфункции.

Таблица 2

Влияние L-норвалина, фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке и сочетанного использования L-норвалина и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке на показатели сократимости левого желудочка сердца крыс при моделировании L-NAME-индуцированного дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутривенно (M±m, n=10)

Группы животных	ЛЖД	+dp/dt _{max}	-dp/dt _{max}	ЧСС
Интактные	108,6±4,3	6208,1±703,2	3973,9±391,5	390,4±17,0
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	167,8±5,6*	7682,9±419,9*	5576,8±216,4*	383,3±9,8
L-норвалин (10 мг/кг)	147,8±4,1	8063,3±499,3	5209,2±322,5	371,7±5,0
L-NAME (25 мг/кг)+ фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	106,1±4,6**	5642,2±671,5**	4078,7±313,4**	376,8±6,3
L-NAME (25 мг/кг)+ L-норвалин (10 мг/кг) + фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	103,4±3,0**	5512,7±495,0**	3830,5±376,4**	373,6±5,7

Примечание: * - p < 0,05 в сравнении с интактными, ** - p < 0,05 в сравнении с L-NAME, ЛЖД – левожелудочковое давление, +dp/dt_{max} – максимальная скорость нарастания левожелудочкового давления, dp/dt_{max} – максимальная скорость снижения левожелудочкового давления, ЧСС – частота сердечных сокращений.



Влияние L-норвалина, фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке и сочетанного использования L-норвалина и фиксированной комбинации лозартана и гидрохлоротиазида в одной таблетке на функциональные возможности миокарда при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования дефицита оксида азота введением L-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг внутривнутрибрюшинно (M±m, n=10)

Группа животных	Адренореактивность (ЛЖД, мм 26е. ст.)	Исчерпание миокардиального резерва, %
Интактные	199,2±8,3	83,6±4,6
Получавшие L-NAME (25 мг/кг)	247,3±4,8*	66,0±4,3*
L-норвалин (10 мг/кг)	239,6±2,2	87,6±4,4
L-NAME (25 мг/кг)+фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	190,4±6,8**	80,2±3,9**
L-NAME (25 мг/кг)+L-норвалин (10 мг/кг)+фиксированная комбинация лозартана (8 мг/кг) и гидрохлоротиазида (2 мг/кг)	191,7±8,8	81,4±3,2

Примечание: * - $p < 0,05$ в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ в сравнении с L-NAME.

Обсуждение результатов. В настоящее время не существует препаратов для специфической коррекции ЭД. Воздействия, направленные на улучшение функции эндотелия, сфокусированы на одном или более сердечно-сосудистых факторах риска, способных ее вызывать: АГ (ингибиторы АПФ, антагонисты кальция, БРА); гиперхолестеринемии (статины, ЛПНПаферез); курении (отказ от него); окислении (антиоксидантные витамины С и Е); дефиците эстрогенов у женщин (заместительная терапия эстрогенами). Положительно на функцию эндотелия воздействуют физическая нагрузка, снижение уровня холестерина в сыворотке крови, добавление L-аргинина и фолиевой кислоты [5, 8].

Механизм действия БРА лозартана при эндотелиальной дисфункции косвенный, связанный со стимуляцией АГ 2 подтипа рецепторов АГ II и реализующийся вследствие брадикининзависимого пути эндотелиопротекции, в то время как одним из главных факторов развития данного патофизиологического состояния, особенно при эссенциальной АГ, является повреждение в системе L-аргинин-NO, приводящее к нарушению продукции NO, активность которой при применении только лозартана остаётся недостаточно компенсированной [1, 3, 7]. Использование тиазидных диуретиков приводит к повышению pNOS в maculae densa и eNOS в почечных сосудах в экспериментальной модели ДОСА-солевой АГ у крыс, вызванной введением дезоксикортикостерона и хлорида натрия [6].

Поэтому результаты коррекции эндотелиальной дисфункции при повреждении в системе L-аргинин-NO, которое связано в основном с недостаточностью eNOS, с помощью только лозартана и гидрохлоротиазида неудовлетворительны.

С целью активизации коррекции эндотелиальной дисфункции нами предложено добавление к препаратам с доказанной эндотелиотропной активностью ингибитора аргиназы L-норвалина, механизм действия которого связан с угнетением активности аргиназы и, следовательно, снижением гидролиза донатора NO – L-аргинина.

Выводы

1. Длительное (в течение 7 дней) внутривнутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов крыс линии Вистар нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышении значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.

2. Сочетанное применение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке проявляет выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений артериального давления.

3. Сочетанное применение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и гидрохлоротиазида в дозе 2 мг/кг в одной таблетке оказывает выраженное кардиопротективное действие, выражающееся в предотвращении увеличения адренореактивности и падения ЛЖД при проведении пробы на нагрузку сопротивлением по сравнению с животными, у которых моделировали L-NAME-индуцированный дефицит NO.

Литература

1. Андрущишина, Т. Б. Кардиопротективные свойства блокаторов рецепторов ангиотензина II: фокус на лозартан / Т. Б. Андрущишина, Т. Е. Морозова // Справочник поликлинического врача, 2010. – № 4. – С.36-39.
2. Бабушкина, А. В. L-аргинин с точки зрения доказательной медицины / А. В. Бабушкина // Укр. Мед. Часопис. – 2009. – № 6 (74). – С. 43 – 48.
3. Булдакова, Н. Г. Атагонисты рецепторов ангиотензина в клинической практике // Н. Г. Булдакова // Русский медицинский журнал. – 2008. - № 11. – С.1567-1570.
4. Галаган, М. Е. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо- и эндогенных источников / М. Е. Галаган, А. В. Широколова, А.Ф. Ванин // Вопр. Мед. химии. – 1991. – Т. 37, № 1. – С. 67–70.
5. Галенко, А. С. Способы немедикаментозной и фармакологической коррекции эндотелиальной дисфункции / А. С. Галенко, С. Н. Шуленин // ФАРМиндекс-Практик. – 2006. – № 10. – С. 2 – 10.
6. Задионченко, В. С. Дисфункция эндотелия и артериальная гипертензия: терапевтические возможности / В. С. Задионченко, Т. В. Адашева, А. П. Сандомирская // Русский медицинский журнал. – 2002. – № 1. – С.11-15.
7. Кляшев, С. М. Эффективность комбинированного препарата Гизаар у больных артериальной гипертензией с сопутствующими цереброваскулярными нарушениями / С. М. Кляшев, С. А. Столбова // Медицинская наука и образование Урала. – 2008. – № 4 (54). – С. 11 – 14.
8. Корж, А. Н. Фармакотерапевтические подходы к восстановлению эндотелиальной функции / А. Н. Корж // Международный медицинский журнал. – 2003. - № 4. – С.123 – 127.
9. Лупинская, З. А. Эндотелий сосудов – основной регулятор местного кровотока / З. А. Лупинская // Вестник КРСУ. – 2003. – № 7. – С. 43-56.
10. Место блокаторов ангиотензина в терапии артериальной гипертензии у пациентов с полипатией / А. Л. Верткин, Е. В. Алдонова, Е. И. Звягинцева и др. // Русский медицинский журнал. – 2009. – № 8. – С.589-594.
11. Небиеридзе, Д. В. Новости в лечении артериальной гипертензии в свете последних европейских рекомендаций / Д. В. Небиеридзе // Рус. мед. журн. – 2007. – № 15. – С. 1476-1480.
12. Перепеч, Н. Б. Антагонисты рецепторов ангиотензина II в поисках «фармакологической ниши» / Н. Б. Перепеч // Consilium medicum. – 2007. – № 5. – С. 36 – 44.
13. Покровский, М. В. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте/ М. В. Покровский, В. И. Кочкаров, Т. Г. Покровская // Рос. Журн. Иммунологии. – 2006. – Т. 96. – С. 60–61.
14. Crystal structure of human ornithine transcarbamylase complexed with carbamoyl phosphate and L-norvaline at 1.9 Å resolution / D. Shi, H. Morizono, M. Aoyagi et al. // Proteins. – 2000. – № 39(4). – P. 271-7.
15. Morris, Jr. S. M. Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases / Jr. S. M. Morris // British Journal of Pharmacology. – 2009. – № 157. – P. 922 – 930.
16. The vascular effects of different arginase inhibitors in rat isolated aorta and mesenteric arteries / N. N. Huynh, E. E. Harris, J. F. P. Chin-Dusting, K. L. Andrews // British Journal of Pharmacology. – 2009. – № 156. – P. 84 – 93.

THE ROLE OF COMBINED USE OF ARGINASE INHIBITOR L-NORVALINE AND THE FIXED COMBINATION OF LOSARTAN AND HYDROCHLOROTHIAZIDE IN A TABLET IN CORRECTION OF L-NAME-INDUCED DEFICIENCY OF NITRIC OXIDE

A.V. BABKO¹
E.G. TEREHOVA¹
M.V. POKROVSKII²
T.G. POKROVSKIA²
M.V. KOROKIN¹

¹ *Kursk State Medical University*

² *Belgorod National Research University*

e-mail: bavor@mail.ru

The study endothelial and cardioprotective effects of L-norvaline, fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet and combined use of L-norvaline and the fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet in modeling L-NAME-induced deficiency of nitric oxide. The results obtained allowed to establish express endothelial dysfunction and prevention adrenoactivity increase and decrease of myocardial reserve in the experiment with the combined use of L-norvaline 8 mg/kg and the fixed combination of losartan 8 mg/kg and hydrochlorothiazide 2 mg/kg in a tablet.

Key words: endothelial dysfunction, antioxidants, L-NAME, L-norvaline, fixed combination of losartan and hydrochlorothiazide in a tablet.



УДК 615.218'454.1.015.06.099:616-092.9

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НАРУЖНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ДИМЕБОНОМ

К.Н. КОРЯНОВА¹, А.В. МАЙОРОВА²
З.Ф. СТЕПАНОВА¹, И.А. САВЕНКО¹

¹Пятигорская государственная
фармацевтическая академия

²Российский университет дружбы
народов, г. Москва

e-mail: kskor-16@mail.ru

Приводится обзор результатов исследования возможности применения крема с димебоном для последующего изучения специфической (антиаллергической) активности разработанных лекарственных форм. Проведена оценка раздражающего действия *in situ* и *in vivo*, также изучена острая токсичность по оценке выживаемости мышей с учетом рассчитанной LD₅₀.

Ключевые слова: димебон крем, аллергия, токсическое действие, раздражающая активность.

Введение. На сегодняшний день аллергические заболевания имеют широкую клиническую картину. При их лечении применяется комплексный подход. Местное лечение предполагает наличие широкого диапазона наружных лекарственных форм, которые могут снять или смягчить те или иные аллергические проявления. Ранее нами был разработан крем с димебоном, фармакологическое действие которого обусловлено блокированием H₁-гистаминовых рецепторов [10]. Димебон, как правило, применяется для симптоматического лечения аллергических реакций, вызванных различными внешними факторами [3, 5].

Цель данных исследований – фармакологическое изучение возможности применения наружных лекарственных форм с димебоном, их безопасности, а также определение раздражающей активности и острой токсичности крема с димебоном.

Материалы. Раздражающее действие крема оценивали *in situ* на 18 куриных эмбрионах белых кур породы Leggorn возраста 9-10 суток и *in vivo* на переднем сегменте глаза морских свинок. Опыты *in vivo* проводились на 9 морских свинках массой 350-400г [8]. Острая токсичность изучалась на мышах массой 20±1,0 г [13].

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых рядов. Результаты опытов сравнивали с исходными показателями, с животными, не получившими лечения [14]. Расчёты результатов проводились в пакете компьютерной программы Microsoft Excel 2000 [7]. Изменения исследуемых показателей считались статистически значимыми при p<0,05 [2, 6, 7, 11].

Методы.

1. Оценка раздражающего действия

Тест на хорион-аллантоисной оболочке куриного эмбриона (НЕТ – CAMtest) [12, 15]. Вещество тестировали в 18 повторностях (12 – опыт, 6 – контроль). Результаты эксперимента наблюдали с помощью бинокулярного микроскопа и фиксировали при использовании цифрового фото на основе компьютерной программы Intel® Play© QX3© Computer Microscope.

Испытания раздражающего действия на животных. Проводили по схеме, используемой в настоящее время в Германии. Крем испытывали на слизистой оболочке глаза морских свинок, нанося на передний сегмент глаза, после чего делали окончательное заключение [12]. Индекс раздражающего действия оценивали интегрально: суммировали степень отека и покраснения (гиперемии). Результаты раздражения конъюнктивы млекопитающих регистрировали в баллах по 5-балльной шкале [8].

2. Оценка острой токсичности. Крем вводили наружно при кожном применении. Определение острой токсичности проводили по методу Кербера [1, 9, 12].

Проведено 9 серий экспериментов (3 серии на мышах – крем в разных дозах, 3 серии на мышах – крем с микрокапсулами в разных дозах, 3 серии – мазевая основа в разных дозах). Рассчитывали острую токсичность, соблюдая рекомендации государственного фармакологического комитета по изучению общетоксического действия биологически активных веществ [4, 14].

Результаты и обсуждение.

1. Раздражающее действие образцов крема сравнивали с контрольной группой тканей и животных, получавших мазевую основу. Проведено изучение раздражающего действия для определения степени разведения крема, не оказывающего раздражающего действия на эпителий млекопитающих.

1.1. *Раздражающая активность in situ* на хорион-аллантаической оболочке. Для исследования раздражающего действия на хорион-аллантаическую оболочку куриного эмбриона экстенпорально было приготовлено 2 образца крема по 0,3 г и подогрето в термостате до 37°C. При нанесении на хорион-аллантаическую оболочку куриного эмбриона крема с димебоном в трех случаях из шести не наблюдалось никаких изменений хорион-аллантаической оболочки, а в трех случаях наблюдалось сужение сосудов с временной остановкой кровообращения в отдельных капиллярах. Это соответствует 2 классу по степени раздражения, коэффициент раздражающего воздействия $1,5 \pm 0,548$. При исследовании крема с микрокапсулами димебона и мазевой основы получены аналогичные результаты, что соответствует по степени раздражения 2 классу, коэффициент раздражающего воздействия $1,5 \pm 0,548$.

Превентивно результаты свидетельствуют о том, что тестируемое вещество в соответствующей концентрации может не обладать выраженным токсическим и раздражающим действием на слизистые оболочки млекопитающих и может быть допущено к дальнейшим исследованиям на теплокровных животных по схеме Spielmann и соавт. (1996).

Следует отметить, что наличие незначительного раздражающего действия обусловлено свойствами мазевой основы.

1.2. *Раздражающая активность in vivo на переднем сегменте глаза морских свинок.* Значение раздражающего действия крема с димебоном было получено в опыте №1, 2, 3: отек составлял через 30 секунд (на 1-й минуте) $0,33 \pm 0,577$ балла, гиперемия также $0,33 \pm 0,577$ балла, в сумме 0,66 балла на 30-й секунде, что соответствует параметрам слабого раздражающего действия. Через 2 минуты раздражающее действие составило: отек $1,0 \pm 0,0$ и гиперемия $1,0 \pm 0,0$; в сумме этот показатель равен 2 баллам, что соответствует слабому раздражающему действию (табл. 1).

Таблица 1

Оценка раздражающей активности образцов крема с димебоном и мазевой основы на переднем сегменте глаза морских свинок

Действие № Опыта	ОТЕК		ГИПЕРЕМИЯ	
	30 секунд	2 минуты	30 секунд	2 минуты
Крем с димебоном				
1	1	1	1	1
2	0	1	0	1
3	0	1	0	1
Среднее значение	0,33	1,0	0,33	1,0
Стандартное отклонение	0,577	0,0	0,577	0,0
Крем с микрокапсулами димебона				
1	1	2	1	2
2	1	2	1	3
3	1	2	1	2
Среднее значение	1,0	2,0	1,0	2,33
Стандартное отклонение	0,0	0,0	0,0	0,577
Мазевая основа				
1	0	1	0	1
2	1	1	1	1
3	0	1	0	1
Среднее значение	0,33	1,0	0,33	1,0
Стандартное отклонение	0,577	0,0	0,577	0,0

Примечание: 0-2 балла – слабое раздражающее действие; 3-5 баллов – умеренное раздражающее действие; 6-8 баллов – сильное раздражающее действие. Опыт 1, 2, 3 – крем с димебоном: 30 сек $0,33+0,33=0,66$ баллов – слабое раздражающее действие, 2 мин $1,0+1,0=2,0$ балла – слабое раздражающее действие. Опыт 4, 5, 6 – крем с микрокапсулами димебона: 30 сек $1,0+1,0=2,0$ балла – слабое раздражающее действие, 2 мин $2,0+2,33 = 4,33$ балла – умеренное раздражающее действие. Опыт 7, 8, 9 – мазевая основа: 30 сек $0,33+0,33=0,66$ баллов – слабое раздражающее действие, 2 мин $1,0+1,0=2,0$ балла – слабое раздражающее действие.



Значение раздражающего действия крема с микрокапсулами димебона было получено в опыте №4, 5, 6: отек составлял через 30 секунд (на 1-й минуте) $1,0 \pm 0,0$ балла, гиперемия также $1,0 \pm 0,0$ балла, в сумме 2,0 балла на 30-й секунде, что соответствует параметрам слабого раздражающего действия. Через 2 минуты раздражающее действие составило: отек $2,0 \pm 0,0$ и гиперемия $2,33 \pm 0,577$, в сумме этот показатель равен 4,33 баллов, что соответствует умеренному раздражающему действию.

Значение раздражающего действия мазевой основы было получено в опыте №7, 8, 9: отек составлял через 30 секунд (на 1-й минуте) $0,33 \pm 0,577$ балла, гиперемия также $0,33 \pm 0,577$ балла, в сумме 0,66 балла на 30-й секунде, что соответствует параметрам слабого раздражающего действия. Через 2 минуты раздражающее действие составило: отек $1,0 \pm 0,0$ и гиперемия $1,0 \pm 0,0$, в сумме этот показатель равен 2 балла, что соответствует слабому раздражающему действию.

Таким образом, экспериментальные данные позволили сделать вывод о том, что крем с димебоном и мазевая основа при применении на слизистую оболочку обладает слабым раздражающим действием. Крем с микрокапсулами димебона обладает умеренным раздражающим действием. Увеличение раздражающей активности крема с микрокапсулами димебона, по-видимому, можно объяснить механическим раздражением конъюнктивы глаза присутствующими в нем частицами.

2. Острую токсичность определяли по оценке выживаемости мышей и по рассчитанной среднесмертельной дозе.

2.1. Оценка выживаемости мышей

Острую токсичность образцов крема сравнивали с контрольной группой животных, получавших мазевую основу в эквивалентном объеме.

В группе животных, получивших образцы крема с димебоном и мазевой основы наружно, гибели отмечено не было.

2.2. Расчет среднесмертельной дозы

Среднесмертельная доза (LD_{50}) рассчитывалась путем оценки смертности животных в течение последующих 48 часов, причем первые 6 часов после нанесения образцов крема проводилось непрерывно. Регулярно фиксировалось общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, тонус скелетных мышц, положение хвоста, потребление корма и воды.

Результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Определение острой токсичности крема димебона, крема с микрокапсулами димебона и мазевой основы на мышах-самцах (накожное нанесение)

Результат	Крем с димебоном			Крем димебона с микрокапсулами			Мазевая основа		
	Объем введения 0,1 г на животное весом 250г								
	0,025 г	0,05 г	0,1 г	0,025 г	0,05 г	0,1 г	0,025 г	0,05 г	0,1 г
Количество животных	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Выжило	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Z	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	0,025 г	0,05 г	0,025 г	0,05 г	0,025 г	0,05 г	0,025 г	0,05 г	
DZ	0	0	0	0	0	0	0	0	0

$$n=6 \sum (dZ) = 0 \quad LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum (dZ)}{n} > 5000 \text{ мг/кг}$$

Примечание: Z – показатель разницы между количеством погибших животных при использовании двух соседних доз; D – показатель разницы между количеством вещества двух соседних доз.

Обсуждая результаты полученных экспериментальных данных, следует отметить, что токсичность образцов крема при накожном применении отсутствует. Это следует из результатов, представленных в таблицах. Летальная доза, обеспечивающая гибель всех экспериментальных животных при данном способе введения, не установлена. По таблице

К.К. Сидорова при накожном способе введения крем соответствует IV классу – малоопасное средство.

Выводы. По результатам раздражающего действия на хорион-аллантоисную оболочку и на передний сегмент глаза морских свинок установлено, что образцы крема с димебоном можно отнести к средствам с незначительным раздражающим действием. Крем с димебоном малоопасен для млекопитающих: LD₅₀ (при накожном способе введения) > 5000 мг/кг.

Литература

1. Березовская, И.В. Актуальные проблемы безопасности дженериков / И.В. Березовская, В.М. Иванова // Бюллетень ВНИЦ БАВ. – 2002. – С.37-52.
2. Боровиков, В.П. Statistica: искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб.: Питер, 2001. – 239 с.
3. Галенко-Ярошевский, П. А. Противоаллергические свойства димебона, фенкарола и кетотифена при сенсibilизации пылью амброзии полыннолистной / П. А. Галенко-Ярошевский, К. С. Шадурский и др. // Фармакология и токсикология. – 1984. – №3. – С. 75-78.
4. Гуськова, Т.А. Оценка безопасности лекарственных средств на стадии доклинического изучения / Т.А. Гуськова // Химико-фармацевтический журнал. – 1990. – №7. – С. 10-15.
5. Ильюченко, Т. И. Димебон – новый антигистаминный препарат / Т. И. Ильюченко, И. А. Матвеева // Новые лек. Препараты. – 1989. – №4. – С.12 – 14.
6. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / под ред В.В. Меньшикова. – М.: Медицина. 1987. – 365с.
7. Макарова, Н.В. Статистика в Excel / Н.В. Макарова, В.Я. Трофимец. – М.: Финансы и статистика, 2002. – 368 с.
8. Медицинская косметика. Пер. с болг. / под ред. П. Михайлова. – М.: Медицина, 1985. – 208 с.
9. Общая токсикология / под ред. Б.А. Курляндского и В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – С. 606.
10. Разработка дерматологических лекарственных форм с димебоном // Корянова К.Н., Майорова А. В., Степанова Э. Ф. И др. / Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции – 2011. – Вып. 66. – С. 276-278.
11. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.
12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. В.П. Фисенко. – М., 2000. – 398 с.
13. Сернов, Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М., 2000. – 351 с.
14. Сидоров, К.К. Методы определения острой токсичности и опасности химических веществ. (Токсикология) / К.К. Сидоров. – М.: Медицина, 1970. – 171 с.
15. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – 458 с.

RESEARCH OF POSSIBILITY OF APPLICATION OF EXTERNAL MEDICINAL FORMS WITH DIMEBON

K.N. KORYANOVA¹

A.V. MAJOROVA²

E.F. STEPANOVA¹

I.A. SAVENKO¹

¹*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

²*Russian University of People's Friendship, Moscow*

e-mail: kskor-16@mail.ru

The review of results of research of possibility of application of cream with Dimebon for the subsequent studying of specific (antiallergic) activity of the developed medicinal forms is resulted. The estimation of irritating action is spent in situ and in vivo, high toxicity also is studied according to survival rate of mice taking into account calculated LD₅₀.

Key words: dimebon , allergy, toxicity action, irritating action.



УДК 615.454

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАСТВОРА ВИНПОЦЕТИНА И СУСПЕНЗИИ ИЗ МИКРОКАПСУЛ С ВИНПОЦЕТИНОМ НА ДИНАМИКУ ИЗМЕНЕНИЯ ОБЪЕМНОЙ СКОРОСТИ МОЗГОВОГО КРОВОТОКА В НОРМЕ У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

**Э.Ф. СТЕПАНОВА, Ю.А. ПОЛКОВНИКОВА
К.О. ГАНЗЮК, А.В. АРЛЫТ**

*Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: E.F.Stepanova@mail.ru

Статья посвящена фармакологическим исследованиям микрокапсул с винпоцетином. В качестве предварительного скрининга нами была использована вариация методики сравнительного определения пролонгированного эффекта на модели двух лекарственных форм.

Ключевые слова: микрокапсулы, винпоцетин, пролонгированный эффект.

Введение. Фармакотерапия сосудистых заболеваний мозга является одной из наиболее актуальных и сложных проблем современной медицины.

Широкое распространение, высокая смертность и инвалидизация населения вследствие цереброваскулярных заболеваний и наиболее их тяжелого проявления – инсультов – ставят профилактику и лечение этих болезней в один ряд с самыми актуальными медико-социальными проблемами. В современной концепции лечения больного с ишемическим инсультом одним из факторов является улучшение перфузии и оксигенации ткани мозга. Этот компонент комплексной терапии достигается назначением вазоактивных препаратов. К группе вазоактивных препаратов относится кавинтон (винпоцетин). Винпоцетин избирательно усиливает мозговой кровоток, повышает уровень усвоения кислорода тканями мозга, усиливает венозный отток из полости черепа, за счёт чего уменьшается отёк мозга. Он обладает также антиагрегантным действием, вызывает значительную гипокоагуляцию. А также, что немаловажно, обладает низкой токсичностью и применяется в малых дозах [1].

На кафедре технологии лекарств Пятигорской государственной фармацевтической академии разработана новая лекарственная форма винпоцетина – микрокапсулы [2].

Цель исследования: определение влияния лекарственных препаратов – раствора винпоцетина и пролонгированной формы – микрокапсул с винпоцетином – на динамику изменений объёмной скорости мозгового кровотока в сравнении с контрольными опытами.

Материалы и методы. Опыты проведены на белых крысах массой 280-320 г.

Исследование мозгового кровотока проводилось на белых крысах (самцах), массой 280,0-320,0 г, выращенных в питомнике Пятигорской государственной фармацевтической академии, прошедших 2-недельный карантин. Животные содержались в стационарных условиях вивария, получали стандартный корм и воду без ограничения. Эксперименты проведены на 18 белых крысах серии Wistar. Объёмную скорость мозгового кровотока регистрировали методом водородного клиренса. Измерения динамики объёмной скорости мозгового кровотока проводили с помощью платинового электрода в стоке венозных синусов. Электродом сравнения служил хлорсеребряный электрод, помещённый на заднюю лапку животного.

Данные, приведенные в таблице, получены в отношении относительно абсолютных значений, полученных на самописце (с помощью полярографа) после записи исходных показателей. В качестве индифферентного газа использовали индифферентный газ – водород, полученный с помощью генератора водорода. Животным под наркозом – хлоралгидрат (300 мг/кг) – делали разрез в области трахеи, в который вставляли трахеотомическую трубочку. При пропускании через трубочку порции водорода (на 2-3 вдоха) получали кривую на ленте самописца и рассчитывали кривую по периоду полувыведения водорода, что показывало скорость мозгового кровотока. Метод основан на регистрации скорости вымывания предварительно введенного водорода из мозговой ткани и позволяет определить объёмную скорость мозгового кровотока. Принципы метода были основаны и разработаны И.Т. Демченко [3, 4, 5].

В дальнейшем метод модифицирован профессором Пятигорского государственного

фармацевтического института М.Д. Гаевым [6]. Положительными сторонами метода являются: отсутствие травматичности сосудов мозга, стабильности показателей, индифферентность используемого газа. Результаты оценивались по кривой изменения напряжения водорода на электроде полярографическим способом и рассчитывались по формуле:

$$\text{ОСМК} = 0,693X_{100}/1/2T,$$

где $1/2T$ – период полувыведения водорода.

Полученные в результате экспериментов данные обрабатывали статистически. Результаты в таблице представлены в виде средних величин с доверительным интервалом ($M \pm m$) или среднеквадратичным отклонением.

Время проведения экспериментов – апрель 2011 г.

Место проведения – кафедра фармакологии ГБОУ ВПО Пятигорской ГФА Минздравсоцразвития России. Контролем служили животные, которым внутривенно вводили физиологический раствор в эквивалентном объёме. Результаты исследований представлены в таблице. Статистическую обработку результатов экспериментов проводили в программе Statistica ver. 7.0. в среде Windows. Вычисление достоверности различий между группами производилось с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между группами считались достоверными при уровне значимости $P < 0,05$. Для обработки результатов экспериментов использовали статистические методы с нахождением средней арифметической (M), средней ошибки средней арифметической и вероятности ошибки по таблицам Стьюдента.

Достоверность различий двух совокупностей оценивали по критерию t.

Обсуждение результатов. В контрольных опытах исходные значения ОСМК были соответственно равны $190,3 \pm 14,3$ мл/100г/мин. В течение исследуемого периода на протяжении 180 мин ОСМК незначительно снижался с максимальным значением на 11,1% (данные недостоверны), что возможно объяснить влиянием наркоза (табл.).

Таблица

Динамика изменений объёмной скорости мозгового кровотока (ОСМК) у белых крыс при введении (1мл, в/б) раствора винпоцетина, суспензии из микрокапсул с винпоцетином, в сравнении с контрольными опытами, ($M \pm m$, $n=8$).

Время после введения	Контроль (физ. р-р) 1 мл в/б	Раствор винпоцетина ОСМК мл/100г/мин 10 мг/кг	Суспензия винпоцетина ОСМК мл/100г/мин 10 мг/кг
Исход	$190,3 \pm 14,3$	$202,8 \pm 14,3$	$137,3 \pm 5,4$
Через 5 мин	$-4,5 \pm 5,1$	$10,7 \pm 2,6$	$2,2 \pm 7,6$
15 мин	$-1,2 \pm 4,9$	$20,7 \pm 6,2$	$4,8 \pm 6,8$
30 мин	$-9,7 \pm 4,2$	$23,4 \pm 7,7\#$	$9,2 \pm 6,4\#$
45 мин	$-10,7 \pm 4,8$	$20,0 \pm 13,4\#$	$9,5 \pm 7,2\#$
60 мин	$-10,1 \pm 4,6$	$19,1 \pm 11,7\#$	$8,1 \pm 7,3\#$
90 мин	$-10,2 \pm 1,8$	$4,3 \pm 7,4$	$14,3 \pm 8,1\#$
120 мин	$-11,1 \pm 3,3$	$-4,9 \pm 7,8$	$14,3 \pm 7,3\#^*$
150 мин	$-8,3 \pm 3,4$	$-8,8 \pm 7,2$	$19,5 \pm 9,4\#^*$
180 мин	$-9,2 \pm 3,1$	$-8,4 \pm 5,2$	$31,3 \pm 8,5\#^*$

#-достоверно относительно контрольных значений; $P < 0,05$;

* - достоверно относительно препарата сравнения; $P < 0,05$;

Выбранная эффективная доза винпоцетина использована согласно проведенным ранее



опытам с кавинтоном, по данным профессора М.Н. Ивашева (1994). Введение раствора винпоцетина произведено в дозе 10 мг/кг. Исходные данные: $202,8 \pm 14,3$ мл/100г/мин. С 5 по 60-ю мин показания ОСМК возрастали с максимумом на 45 мин: $20,0 \pm 13,4$ достоверно относительно контрольных значений. С 90-й мин эксперимента наблюдали снижение ОСМК к концу опыта. Исходные данные до введения суспензии из микрокапсул составили $137,3 \pm 5,4$. С 5 мин эксперимента по 90-ю мин ОСМК увеличивалась в среднем на 7,2% достоверно относительно контрольных экспериментов. С 90 по 180-ю мин ОСМК увеличивалось максимально на $31,3 \pm 8,5$ достоверно препарата сравнения и контрольных опытов.

Вывод. В опытах на крысах раствор винпоцетина показал повышение ОСМК в течение 60 минут.

Суспензия из микрокапсул показала стабильное пролонгированное повышение ОСМК с 90 по 180-ю мин серии экспериментов в сравнении с контрольными результатами и с винпоцетином.

Литература

1. Андреев, Б.В. Ноотропные средства / Б.В.Андреев // Мир медицины. 2001. – № 8. – С. 25-28.
2. Полковникова, Ю.А. Разработка пролонгированной пероральной лекарственной формы для композиции винпоцетина с ретинола ацетатом / Ю.А. Полковникова, К. О. Ганзюк / Пути и формы совершенствования фармацевтического образования: материалы 4-й Всерос. науч. конф. «Фармобразование-2010». – Воронеж, 2010. – С. 303-305.
3. Демченко, И.Т. Непрерывная количественная регистрация локального мозгового кровотока с помощью водородного клиренса и ЭПГ / И.Т. Демченко, С.В. Буров // Физиол. Журн. СССР. – 1971. – Т.57, № 10. – С. 1553-1555.
4. Демченко, И.Т. Методы изучения мозгового кровообращения / И.Т.Демченко // Методы исследования мозгового кровообращения. – Л., 1976. – С. 104-123.
5. Демченко, И.Т. Измерение органного мозгового кровотока с помощью водородного клиренса / И.Т.Демченко // Физиол. журн. СССР. – 1981. – Т.67, № 1. – С.178-183.
6. Гаевый, М.Д. Фармакология мозгового кровообращения /М.Д. Гаевый. – М.: Медицина, 1980. – 190 с.

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF SOLUTION AND SUSPENSION OF VINPOCETINE MICROCAPSULES ON DYNAMICS OF CHANGE VOLUME RATE OF CEREBRAL BLOOD FLOW IN NORMAL IN LABORATORY ANIMALS

E.PH. STEPANOVA
Y.A. POLKOVNIKOVA
K.O. GANZUK
A.V. ARLT

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

e-mail: E.F.Stepanova@mail.ru

The article deals with the pharmacological research of vinpocetine microcapsules. As a preliminary screening, we used a variation of the comparative method of determining the prolonged effect on the model of 2 dosage forms.

Key words: microcapsules, vinpocetin, prolong effect.

ПРИМЕНЕНИЕ СВЕЧЕЙ «ТАМБУИЛ» У КРЫС С ИНТЕРСТИЦИАЛЬНЫМ ПРОСТАТИТОМ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Э.Ф. СТЕПАНОВА¹

М.М. ЕВСЕЕВА²

Х.Г. КАРАГУЛОВ³

*¹Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

*² Научный центр акушерства,
гинекологии и перинатологии
им. акад. В.И. Кулакова,
г. Москва*

³ООО «Бивитекс», г. Нальчик

e-mail: evseevamm@gmail.com

В статье изложены экспериментальные данные по изучению противовоспалительной активности свечей «Тамбуил» на модели интерстициального простатита у крыс *in vivo*. Установлено, что ректальное использование лекарственного препарата подавляет воспаление в предстательной железе самцов крыс, причем выраженность полученного эффекта зависит от дозы. Проведенные исследования свидетельствуют о перспективе использования свечей «Тамбуил» в клинической практике.

Ключевые слова: экспериментальный простатит у крыс, свечи «Тамбуил», противовоспалительный эффект.

Эффективность лечения воспалительных заболеваний органов репродуктивной системы с помощью тамбуканских пелоидов не вызывает сомнений ни у медиков, ни у пациентов. Однако рост частоты этих заболеваний, а также высокие требования страховой и частной медицины диктуют необходимость создания более удобных, эстетичных, богатых по разнообразию и готовых к применению форм пелоидов, обладающих всеми полезными свойствами знаменитых грязей, обеспечивая их широкое использование как на курортах, так и во внекурортных условиях [1, 4]. На протяжении многих лет ученые Пятигорской фармацевтической академии и научно-производственной фирмы «Бивитекс» ведут поиск новых удобных лекарственных форм на основе лечебных пелоидов знаменитого озера Тамбукан. В результате совместной деятельности созданы свечи, простота и доступность применения которых открывает широкие перспективы для внекурортного и даже домашнего грязелечения. Действующими веществами лекарственного препарата являются высокоактивные компоненты иловой грязи [2], обладающие известной противовоспалительной, антиканцерогенной, антиоксидантной, иммуномодулирующей и противовирусной активностью: хлорофиллы, каротиноиды и фосфолипиды сине-зеленых водорослей, ненасыщенные жирные кислоты (олеиновая, линолевая и линоленовая). Можно предположить, что благодаря указанным лечебным свойствам свечи «Тамбуил» займут достойное место в профилактике и лечении воспалительных заболеваний предстательной железы у мужчин. Однако внедрению в клиническую практику тех или иных новых лекарственных препаратов всегда предшествуют доклинические научные исследования, для чего используют различные модели экспериментального заболевания у тех или иных животных [5, 6]. В частности, при изучении противовоспалительного эффекта лекарственных средств, созданных для лечения простатита, ученые широко используют экспериментальную модель интерстициального (небактериального) простатита самцов крыс, так как лишь 5–10% случаев хронический простатит имеет бактериальную природу, а 60–65% составляет небактериальный простатит [3]. Преимуществом и достоинством такой экспериментальной модели является индукция воспалительного процесса, имеющего наибольшее сходство с патологическими изменениями в предстательной железе при простатите у мужчин [6].

Цель работы: изучить противовоспалительную активность свечей «Тамбуил» на модели острого интерстициального простатита у крыс *in vivo*.

Материал и методы. В эксперименте участвовали 59 половозрелых самцов белых крыс линии Вистар массой 180–200 граммов. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде, согласно регламенту Руководства по содержанию лабораторных животных в питомниках и экспериментально-биологических клиниках (вивариях), а также нормативным документам.

Для своих исследований мы использовали экспериментальную модель



интерстициального (небактериального) простатита по методике M.D. Lang и соавторов. По мнению авторов этой теории, наибольшие патологические изменения достигаются в слизистых железах, играющих ведущую роль в возникновении отека, гиперплазии и воспалительных изменений предстательной железы [6].

Индукцировали воспаление предстательной железы у самцов крыс раствором динитробензосульфоновой кислоты (ДНБС) 100 мг/мл в 50% этаноле в фосфатном буфере, для чего крысам под легким эфирным наркозом вставляли в мочеиспускательный канал стерильный полиэтиленовый катетер (PE 10) и через него производили инстилляцию 0,2 мл ДНБС в 50% этаноле. Глубину введения катетера и его позицию отработывали в предварительных экспериментах с помощью красителя – метиленового синего для того, чтобы при инстиляции ДНБС раствор достигал непосредственно вентральной простаты. По данным M.D. Lang и соавторов (2000), максимальные патологические изменения в простате выявляются через 48 часов после индукции воспаления, поэтому этот срок был использован нами для завершения эксперимента [6]. Эвтаназию крыс проводили с помощью фторотана, после чего извлекали вентральные простаты, взвешивали их и исследовали макро- и микроскопически. Эффективность «Тамбуила» оценивали по разнице массы вентральной простаты контрольных и леченных животных. Для макроскопического исследования простаты использовали 3-балльную шкалу, где +++ максимальная выраженность простатита; ++ умеренная выраженность простатита; + минимальные изменения; 0 – норма. При гистологическом исследовании простаты фиксировали в 10% нейтральном формалине, заключали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином и эозином, результаты оценивали по выраженности отека, инфильтрации лейкоцитами и геморрагии.

Результаты исследований были обработаны с помощью методов вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента.

Дизайн исследования. Из лабораторных животных, участвующих в эксперименте, было сформировано 4 группы. 1-я группа – контрольная (n=9); 2-я группа – модель (n=10), то есть крысы с индуцированным простатитом без лечения; 3-я группа – основная (n=30), животные с индуцированным простатитом, получавшие лечение свечами «Тамбуил»; 4 группа – плацебо (n=10), этим животным с индуцированным простатитом вводили свечи, состоявшие только из основы (без действующего компонента). В свою очередь, крысы третьей группы, в зависимости от дозы лечебного препарата, были подразделены на 2 подгруппы: 3А (n=15) – однократная доза 20 мг/кг и 3Б (n=15) – однократная доза 10 мг/кг. Лечение крыс 3-й и 4-й групп начинали одновременно с индукцией простатита и осуществляли в течение двух дней. Свечу предварительно размягчали с помощью водяной бани и вводили ректально в 3 приема. Через 48 часов после индукции простатита и лечения всех крыс выводили из эксперимента эвтаназией.

Результаты исследования и их обсуждение. При лечении экспериментальных крыс (группы 3А и 3Б) свечами «Тамбуил» в дозах 20 мг/кг и 10 мг/кг статистически значимо снижалась масса вентральной простаты по сравнению с моделью. Так, средняя масса простаты в 3А группе составила $278 \pm 4,7$ мг/кг, в 3Б группе ее величина была $303 \pm 5,6$ мг/кг, что достоверно меньше простаты у животных 2 группы (табл. 3). Полученные данные свидетельствовали об уменьшении отека воспаленной предстательной железы у самцов крыс под влиянием проводимой терапии.

Результаты изучения влияния лекарственного препарата «Тамбуил» (ректальные свечи) на массу вентральной простаты экспериментальных крыс представлены в табл. 1.

Таблица 1

Средняя масса вентральной простаты экспериментальных крыс

Средняя масса вентральной простаты, мг				
1 группа Интактный контроль (n=9)	2 группа Модель (простатит) (n=10)	3А группа Тамбуил 20 мг/кг (n=15)	3Б группа Тамбуил 10 мг/кг (n=15)	4 группа Плацебо (n=10)
248±8,1	437±6,2	278±4,7**	303±5,6*	404±8,2

Примечание: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; (по сравнению с моделью)

Как видно из табл. 1, наиболее выраженные макроскопические признаки воспаления вентральной простаты были выявлены у крыс 2 группы (модель). Свечи «Тамбуил» в дозе 20 мг/кг существенно снижали выраженность воспаления, а в дозе 10 мг/кг их терапевтическое влияние было менее заметным.

Выраженность макроскопических признаков воспаления предстательной железы у крыс по группам представлена в табл. 2.

Таблица 2

Влияние свечей «Тамбуил» на макроскопические признаки воспаления предстательной железы у экспериментальных крыс

1 группа Интактный контроль	2 группа Модель (простатит)	3А группа Тамбуил 20 мг/кг	3Б группа Тамбуил 10 мг/кг	4 группа Плацебо
0	+++	+	++	+++

+++ максимальная выраженность простатита; ++ умеренная выраженность простатита; + минимальные изменения; 0 – норма

При исследовании вентральных простат животных 1 группы гистологическая картина соответствовала норме.

У крыс 2 группы в просвете уретры мы наблюдали десквамацию эпителия, при этом в стенке уретры патологических изменений выявлено не было. В соединительной ткани простаты отмечалась выраженная диффузно-очаговая инфильтрация нейтрофилами. Отек стромы был резко выражен, отмечалось полнокровие, а также полиморфизм желез по размерам и форме. В просвете 70% желез определялся эозинофильный секрет. Железистая ткань в целом (84%) и ацинусы с секретом (42,8%) у крыс 2 группы превалировали, тогда, как объем стромы был существенно меньше, чем в 1 группе (табл. 3). В отдельных железах имелись многочисленные геморрагии и диффузное рассеяние нейтрофилов. В большинстве вентральных простат крыс этой группы мы наблюдали значительную инфильтрацию стромы нейтрофилами с резко выраженной деформацией желез, неравномерное заполнение ее секретом. В некоторых железах мы наблюдали скопление распадающихся нейтрофилов.

Показатели объемной плотности вентральных простат наглядно представлены в табл. 3.

Таблица 3

Показатели объемной плотности вентральной простаты у экспериментальных крыс

Группы	Объемная плотность, %			
	Железы	Строма	Ацинусы с секретом	Ацинусы без секрета
1 группа (интактный контроль)	75,0 ±1,6	25,0 ±1,6	30,5 ±2,6	21,1 ±2,0
2 группа (модель)	84,0 ±1,0	15,9 ±1,0	42,8 ±5,1	19,4 ±4,0
3А группа (Тамбуил 20 мг/кг)	71,3 ±2,1	28,6 ±2,1	15,3 ±3,1	38,1 ±2,7
3Б группа (Тамбуил 10 мг/кг)	77,2 ±9,2	22,8 ±9,2	33,0 ±2,2	25,1 ±1,7
4 группа (плацебо)	83,3±1,2	16,0±0,9	40,3±3,0	19,7±2,1

В большинстве случаев у животных 3А группы отек простаты был незначительно выражен, нейтрофилы отсутствовали. Процентное соотношение желез и стромы (по показателю объемной плотности) в простате не отличалось от такового в 1 группе (табл. 3).



Секрет желез простаты был гомогенный, а их форма более однородная в сравнении со 2 группой (модель).

У 72% крыс 3Б группы определялся отек стромы предстательной железы, лимфоидно-гистиоцитарная инфильтрация, встречались участки нейтрофильной и макрофагальной инфильтрации со скоплениями распадающихся нейтрофилов. Однако указанные изменения были выражены в меньшей степени, чем во 2 группе (модель). Показатели объемной плотности существенно не отличались от 2 группы, но статистически достоверно отличались от показателей 3 группы, получавшей в 2 раза большую дозу лечебного препарата (табл. 3).

Патологические изменения в предстательных железах крыс 4 группы (плацебо) были практически идентичны тем, которые выявлены во 2 группе (модель).

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют заключить, что использование лечебного препарата «Тамбуил» (ректальные свечи) у крыс *in vivo* в условиях экспериментального интерстициального простатита вызывает подавление воспалительной активности в предстательной железе и нормализует ее структуру. Кроме того, применение большей дозы (20 мг/кг) оказывает более выраженное противовоспалительное действие на ткани железы, то есть изучаемый лечебный препарат проявляет дозозависимый эффект. Полученные данные позволяют прогнозировать эффективность использования свечей «Тамбуил» в клинической практике.

Литература

1. Евсева, М.М. Тамбуканская лечебная грязь в комплексном лечении женщин с тазовыми перитонеальными спайками и ретродевиацией матки / М.М.Евсева, Х.Г. Карагулов // Всероссийский Конгресс с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая практика: проблемы и перспективы». – М., 2011. – С. 342–343.
2. Карагулов, Х.Г. Разработка малоотходной технологии лекарственных препаратов пелоидов Тамбуканского озера, их исследование и стандартизация: автореф. дис. ... канд. фарм. наук / Х.Г. Карагулов. – Пятигорск, 2002. – 21 с.
3. Попков В.М. Применение мелатонина в комплексном лечении хронического простатита / В.М. Попков. – М.: Человек и лекарство, 2010. – С. 222–223.
4. Степанова, Э.Ф. Применение лечебной грязи во внекурортной терапии хронического воспаления органов малого таза / Э.Ф. Степанова, М.М.Евсева, Х.Г. Карагулов // Медицинский конгресс «Здравоохранение Северного Кавказа». – Кисловодск, 2010. – С.160–161.
5. Karlovsky, M.E. Theories of prostatitis etiology / M.E. Karlovsky, M.A. Pontary // Current Urology Reports. – 2002. – Vol. 3. – P. 307– 312.
6. Rat model of experimentally induced a bacterial prostatitis/ M.D. Lang, J.C. Nickel, E. Olson Merle et al. // The Prostate. – 2000. – Vol. 45. – P.201– 206.

APPLICATION OF SUPPOSITORIES OF “THAMBUIL” ON RATS WITH INTERSTITIAL PROSTATITIS (Experimental research)

E.F. STEPANOVA¹
M.M. EVSEVA²
H.G. KARAGULOV³

¹*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

²*Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow*

³*LLC “Bivitex”, Nalchik*

e-mail: evseevamm@gmail.com

There are experimental findings on the anti-inflammatory activity of candles of “Thambuil” on a model of interstitial prostatitis in rats (*in vivo*) which are presented in this article. Experiment established that the rectal use of the medicinal drug “Thambuil” suppresses inflammation of the prostate gland in male rats. In addition the severity of the resulting effect depends on the dose. Based on these findings perspective of using suppositories of “Thambuil” in clinic practice is proved.

Key words: experimental rat’s prostate gland, suppositories of “Thambuil”, anti-inflammatory effect

АНТИАРИТМИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ АНИЛОКАИНА ПРИ ХЛОРИДБАРИЕВОЙ АРИТМИИ

Т.А. СКОРОБОГАТОВА¹

В.И. ПАНЦУРКИН²

М.Н. ИВАШЕВ¹

¹ *Пятигорская
государственная
фармацевтическая академия*

² *Пермская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: ivashev@bk.ru

В статье приведены результаты сравнительного экспериментального исследования антиаритмической активности анилокаина и лидокаина на модели хлоридбариевой аритмии. Выявлено, что исследуемые препараты восстанавливают показатели нормального функционирования сердечно-сосудистой системы при аритмии, вызванной хлоридом бария.

Ключевые слова: анилокаин, белые крысы, частота сердечных сокращений, хлоридбариевая аритмия.

Введение. В опытах на наркотизированных крысах показано, что местные анестетики амидной группы анилокаин (2-броманилид-3-диэтиламинопропановой кислоты гидрохлорид) и лидокаин (2,6-диметил-N,N-диэтиламиноацетанилида гидрохлорид) проявляют при моделировании аритмий, индуцированных химическими веществами, выраженную антиаритмическую активность, развивающуюся в результате снижения частоты сердечных сокращений [1, 3, 6, 7]. Известно, что бария хлорид способен угнетать калиевую проводимость. Модель аритмии с использованием хлорида бария считают адекватной для выявления веществ со свойствами класса III антиаритмического действия [5].

Цель. Изучить антиаритмическое действие анилокаина и лидокаина на частоту сердечных сокращений на фоне аритмии, вызванной хлоридом бария.

Материалы и методы. Эксперименты с моделированием хлоридбариевой аритмии проводились на наркотизированных хлоралгидратом (300 мг/кг, внутривенно) крысах (n=24) обоего пола линии Wistar. Частоту сердечных сокращений (ЧСС) регистрировали с использованием электрокардиографа ЭКГ04. Электрокардиограмму регистрировали во II стандартном отведении. Исследуемые препараты вводили внутривенно (в яремную вену) в дозах, составляющих 1/25, 1/100 от среднесмертельной дозы (ЛД₅₀) через 1 минуту после введения 0,1% раствора бария хлорида в дозе 4 мг/кг. Контрольной группе животных внутривенно (в яремную вену) вводили изотонический раствор хлорида натрия в эквивалентных количествах через 1 минуту после инфузии аритмогенного агента. В контрольной группе животных хлорид натрия не вызывал существенных изменений ЧСС при данном виде нарушений ритма сердечных сокращений.

За критерий антиаритмического эффекта анилокаина и лидокаина принимали процентное уменьшение ЧСС и числа тахикардий после введения аритмогенного агента с последующим терапевтическим введением местных анестетиков [3, 4, 6, 7].

Статистическая обработка опытов проведена с использованием t-критерия Стьюдента для независимых рядов при $p < 0,05$ в пакете компьютерной программы Microsoft Excel 2000, version 7.0 [2, 5].

Результаты. При хлоридбариевой аритмии результаты экспериментов показали существенное изменение ЧСС у наркотизированных животных.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о достоверном изменении анилокаином (исследуемый препарат) и лидокаином (препарат сравнения) в дозе 1/100 от LD₅₀ изучаемого показателя на 1-20-й минуте эксперимента. Анилокаин в отличие от лидокаина оказывал более выраженный антиаритмический эффект относительно исходных данных на 1,10-15-й минуте, не вызывая существенного повышения ЧСС по сравнению с опытной группой, которая получала только хлорид бария (табл. 1).

При сравнительном изучении антиаритмического действия препаратов в дозе 1/25 от LD₅₀ на протяжении всего эксперимента наблюдали неоднозначное изменение частоты



сердечных сокращений (табл. 2), хотя достоверных данных повышения ЧСС не было зафиксировано. На 1-3-й минуте эксперимента лидокаин значительно понижал ЧСС, вызывая у животных брадикардию (на 22% и 8,3% соответственно), что свидетельствует о наличии у лидокаина свойств антиаритмических препаратов III класса.

Обсуждение результатов. Следует отметить, что как исследуемый препарат, так и препарат сравнения на данной модели тахиаритмии проявили выраженный дозозависимый эффект. Возможно, механизм действия данных препаратов включает блокаду калиевых каналов и снижение скорости реполяризации мембран кардиомиоцитов в проводящей системе сердца и в рабочем миокарде.

Выводы. Анилокаин и лидокаин способствуют нормализации сердечного ритма, восстанавливая функции сердечно-сосудистой системы у экспериментальных животных на фоне хлоридбариевой аритмии.

Таблица 1

Влияние анилокаина и лидокаина в дозе 1/100 от LD₅₀ на частоту сердечных сокращений (уд/мин) при хлоридбариевой аритмии (M±m, n=6, Δ%)

Время после введения	Хлорид бария	Лидокаин	Анилокаин
Исходные данные	370,0±24,1	370,0±10,0	370,0±24,1
1 мин	18,5*±7,4	17,2*£±7,0	16,5*&±5,3
2 мин	23,2*±5,3	16,7*£±6,0	23,2*&±5,3
3 мин	23,5*±6,8	16,8*£±4,3	20,8*&±6,5
5 мин	18,5*±7,4	19,5*±5,0	16,2±8,0
10 мин	16,2*±8,0	19,8*±7,5	15,2*±6,1
15 мин	16,2*±8,0	19,5*±5,0	18,5*±7,4
20 мин	11,5±10,1	11,8*±5,2	18,5*±7,4
30 мин	13,8±9,2	11,3*±3,6	3,8±5,8
40 мин	4,3±7,5	8,5±3,8	10,0±6,8
50 мин	4,8±6,7	5,7±3,6	7,7±7,8
60 мин	2,0±6,2	8,5±3,8	7,7±7,8

*Примечание:** – P<0,05 – достоверно относительно исходных данных; £– P<0,05 – достоверно относительно низкой и средней доз лидокаина; &– P<0,05 – достоверно относительно низкой и средней доз анилокаина.

Таблица 2

Влияние анилокаина и лидокаина в дозе 1/25 от LD₅₀ на частоту сердечных сокращений (уд/мин) при хлоридбариевой аритмии (M±m, n=6, Δ%)

Время после введения	Хлорид бария	Лидокаин	Анилокаин
1	2	3	4
Исходные данные	370,0±24,1	360,0±15,5	370,0±24,1
1 мин	18,5*±7,4	-22,0*£±5,2	-7,5&±6,2
2 мин	23,2*±5,3	-8,3\$£±7,2	-5,2&±6,1

Продолжение табл. 2

1	2	3	4
3 мин	23,5*±6,8	-8,3\$£±7,2	0,0&±5,2
5 мин	18,5*±7,4	3,5±8,2	12,8±6,6
10 мин	16,2*±8,0	9,0±4,1	12,8±6,6
15 мин	16,2*±8,0	9,0±4,1	12,8±6,6
20 мин	11,5±10,1	9,0±4,1	12,8±6,6
30 мин	13,8±9,2	3,3±3,3	6,2±3,9
40 мин	4,3±7,5	1,0±4,4	6,7±4,2
50 мин	4,8±6,7	1,0±4,4	6,7±4,2
60 мин	2,0±6,2	3,8±5,2	6,7±4,2

Примечание: * – $P < 0,05$ – достоверно относительно исходных данных; \$ – $P < 0,05$ – достоверно относительно кальция хлорида; £ – $P < 0,05$ – достоверно относительно низкой и средней доз лидокаина; & – $P < 0,05$ – достоверно относительно низкой и средней доз анилокаина.

Литература

1. Антиаритмическая эффективность анилокаина при моделировании желудочковых нарушений сердечного ритма / С.К. Богус, Т.А. Петропавловская, В.Н. Столярук, И.Л. Чередник // Успехи современного естествознания. – 2009. – №7. – С.22-23.
2. Ивашев, М.Н. Моделирование строфантиновой аритмии на наркотизированных крысах / М.Н. Ивашев, Т.А. Скоробогатова, В.И. Панцуркин // Биомедицина. – 2010. – №5. – С.92-93.
3. Панцуркин, В.И. Анилокаин. Опыт применения инъекционных форм в медицинской практике / В.И. Панцуркин // Фармация. – 2003. – №3. – С.42-45.
4. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева – М.: Медицина, 2005. – С. 421-427.
5. Скоробогатова, Т.А. Влияние анилокаина на центральную гемодинамику / Т.А. Скоробогатова, В.И. Панцуркин, М.Н. Ивашев // Клиническая фармакология и терапия. – 2009. – №6. – С. 299.
6. Скоробогатова, Т.А. Биологические эффекты анилокаина и лидокаина / Т.А. Скоробогатова, В.И. Панцуркин, М.Н. Ивашев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – М., 2010. – Приложение. – С. 81.
7. Скоробогатова, Т.А. Сравнительное изучение антиаритмического действия местных анестетиков амидной группы / Т.А. Скоробогатова, М.Н. Ивашев // Фармация. – 2011. – №2. – С.38-40.

ANILOCAIN ANTIARRHYTHMIC ACTIVITY ON THE BARIUM CHLORIDE ARRHYTHMIA MODEL

T.A. SCOROBOGATOVA¹

V.I. PANTSURKIN²

M.N. IVASHEV¹

¹*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

²*Perm State Pharmaceutical Academy*

e-mail: ivashev@bk.ru

In the review the results of comparative experimental research of antiarrhythmic activity anilocain and lidocain on the model barium chloride arrhythmia is spent. It is revealed that investigated preparations restore indicators of normal functioning of cardiovascular system at an arrhythmia caused by barium chloride.

Key words: anilocain, albino rats, heart rate, barium chloride arrhythmia.



УДК 615.225.2 : 616.018.74.008.6 – 092.4

ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТИВНЫЕ ЭФФЕКТЫ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРА АРГИНАЗЫ L-НОРВАЛИНА И ФИКСИРОВАННОЙ КОМБИНАЦИИ АМЛОДИПИНА И ЛОЗАРТАНА В ОДНОЙ ТАБЛЕТКЕ

**Е.Г. ТЕРЕХОВА¹, М.В. ПОКРОВСКИЙ²
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ², А.В. БАБКО¹
М.В. КОРОКИН², О.С. ГУДЫРЕВ²
Н.В. ЮДИНА¹**

¹Курский государственный
медицинский университет

²Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: alena171211@rambler.ru

В результате исследования было показано, что фиксированная комбинация (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) оказывает выраженное эндотелиопротективное действие на модели L-NAME-индуцированного дефицита NO, что выражалось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Сочетанное применение фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) и L-норвалина позволило обнаружить положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в снижении КЭД до уровня интактных животных и достижении целевых значений артериального давления.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, L-норвалин, амлодипин, лозартан.

В последние годы публикуется много экспериментальных и клинических работ, посвященных роли эндотелиальной дисфункции (ЭД) в возникновении и прогрессировании ряда заболеваний сердечно-сосудистой системы (атеросклероз, ГБ, ишемическая болезнь сердца (ИБС), инфаркт миокарда (ИМ) и др.) [3, 6, 7]. Проявления дисфункции эндотелия некоторые исследователи связывают с недостатком продукции или биодоступности оксида азота (NO) в стенке артерий [11]. Другие – с дисбалансом между продукцией вазодилатирующих, ангиопротективных, антипролиферативных факторов, с одной стороны, и вазоконстрикторных, протромботических, пролиферативных факторов – с другой [2]. Основную роль в механизме развития ЭД играют окислительный стресс, продукция мощных вазоконстрикторов (эндопероксиды, эндотелины, АТII), а также цитокинов и фактора некроза опухоли, которые подавляют продукцию NO [9, 10]. В организме источником оксида азота служит L-аргинин. В цикле мочевины метаболизм L-аргинина протекает по двум путям. Первый путь катализирует фермент аргиназа, под действием которого L-аргинин гидролизуется в орнитин и мочевины. Другой путь превращения L-аргинина в оксид азота и цитрулин катализируется NO-синтазой. Оба фермента конкурируют между собой за общий субстрат L-аргинин. По данным современных исследований, аргиназа по своей активности в тысячу раз превышает NO-синтазу. Таким образом, L-аргинин расходуется на синтез орнитина и мочевины, и лишь небольшая часть – на синтез NO [4, 5]. Возможность блокады аргиназы позволила бы в значительной мере увеличить биодоступность оксида азота. С этой целью в настоящее время изучается группа веществ – ингибиторы аргиназы. Целью настоящего исследования явилось изучение эндотелиопротективного действия ингибитора аргиназы L-норвалина в сочетании с кардиотропными препаратами с доказанной эндотелиотропной активностью – лозартаном и амлодипином, в условиях L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы. Опыты проводили на самцах белых крыс линии Вистар массой 230-280 г. Для моделирования эндотелиальной дисфункции внутрибрюшинно вводился блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) в дозе 25 мг/кг/сут в течение 7 дней. На 8-й день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД). Болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) – измеряют непрерывно посредством датчика и компьютерной программы “Віорас”. Помимо измерения АД проводили ряд функциональных тестов с последующей оценкой изменения параметров гемодинамики (САД, ДАД, ЧСС) в ответ на внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного

(ЭЗВД), а также изменения параметров гемодинамики в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭНВД). Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (ЭНВД) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (ЭЗВД). Экспериментальные животные были разделены на группы (n=10): I – интактные; II – с введением L-NAME; III – с введением на фоне L-NAME L-норвалина внутрижелудочно в дозе 10 мг/кг; IV – с введением на фоне L-NAME фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) внутрижелудочно однократно в сутки в течение 7 дней; V – с введением на фоне L-NAME фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) L-норвалина в дозе 10 мг/кг внутрижелудочно однократно в сутки в течение 7 дней. Результаты подвергали статистической обработке путем расчета средней арифметической (M), ошибки средней арифметической ($\pm m$) и оценки достоверности различий сравниваемых параметров с использованием t-test для групп с равной дисперсией, уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования. Ежедневное в течение 7 суток внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг привело к стойкому повышению АД до значений САД $190,3 \pm 6,7$ мм рт. ст. и ДАД $145,0 \pm 3,9$ мм рт. ст. по сравнению с группой интактных животных, где САД – $137,7 \pm 3,7$ мм рт. ст. и ДАД – $101,9 \pm 4,3$ мм рт. ст. Введение L-норвалина в дозе 10 мг/кг достоверно не снижало АД (САД $180 \pm 4,7$ мм рт. ст., ДАД $144,6 \pm 10,2$ мм рт. ст.). Введение фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и амлодипина в дозе 0,8 мг/кг в одной таблетке приводило к снижению АД у крыс, и значения САД и ДАД составляли: САД – $133,7 \pm 3,9$ мм рт. ст., ДАД – $106,5 \pm 3,6$ мм рт. ст. Сочетанное введение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и амлодипина в дозе 0,8 мг/кг в одной таблетке также вызывало снижение АД: САД – $132,5 \pm 1,6$ мм рт. ст., ДАД – $104,5 \pm 2,5$ мм рт. ст. Результаты проведения функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME-индуцированной патологией на фоне лечения исследуемыми препаратами позволили установить достоверное снижение КЭД по сравнению с группой животных, не получавших лечения. Наиболее выраженное эндотелиопротективное действие оказывало сочетание L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана в дозе 8 мг/кг и амлодипина в дозе 0,8 мг/кг в одной таблетке, КЭД которой был наиболее близок к группе интактных животных (таблица).

Таблица

Влияние фиксированной комбинации амлодипина и лозартана и сочетанного применения данной комбинации с L-норвалином на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME – индуцированного дефицита оксида азота ($M \pm m$, n=10)

Группы животных	Функциональная проба	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст.	ЧСС, уд/мин	S сосудистой реакции при проведении ЭЗВД с АХ и ЭНВД с НП, усл. ед.	КЭД, усл. ед.
1	2	3	4	5	6	7
Интактные	Исходные	$137,7 \pm 3,7$	$101,9 \pm 4,3$	$389,1 \pm 21,9$		$1,1 \pm 0,1$
	АХ	$84,3 \pm 4,5$	$38,7 \pm 2,8$	$371,4 \pm 18,2$	$1268,0 \pm 74,8$	
	НП	$83,0 \pm 3,7$	$42,1 \pm 4,4$	$384,5 \pm 14,1$	$1375,3 \pm 93,7$	
L-NAME 25 мг/кг	Исходные	$190,3 \pm 6,7^*$	$145,0 \pm 3,9^*$	$379,9 \pm 14,8$		$5,4 \pm 0,6^*$
	АХ	$110,6 \pm 5,2^*$	$82,8 \pm 6,6^*$	$374,8 \pm 21,3$	$695,3 \pm 87,6^*$	
	НП	$88,7 \pm 4,7$	$50,8 \pm 4,2$	$389,7 \pm 19,1$	$3322,7 \pm 116,7^*$	

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7
L-NAME 25 мг/кг + L-норвалин 10 мг/кг	Исходные	180 ± 4,7	144,6±10,2	371,4 ± 11		2,1±0,2**
	АХ	106,7 ± 4,9	56,1 ± 1,8**	344,2 ± 15	1360,6±126**	
	НП	129,3 ± 5,1**	64,6 ± 2,5**	358,3 ± 12	2827,2±99,1**	
L-NAME 25 мг/кг + лозартан калия 8 мг + амлодипин 0,8 мг/кг	Исходные	133,7 ± 3,9**	106,5± 3,6**	348,0 ± 11,0		1,9±0,1**
	АХ	94,4 ± 1,8**	62,5 ± 2,0**	368,3 ± 11,9	798,6±101,0	
	НП	85,5 ±4,9	52,5 ± 3,0	385,3 ± 14,3	1416,0±60,6**	
L-NAME 25 мг/кг+ L-норвалин 10 мг/кг + лозартан калия 8 мг + амлодипин 0,8 мг/кг)	Исходные	132,5±1,6**	104,5±2,5**	376,4±8,9		1,5±0,1**
	АХ	81,9±3,3**	48,8±3,3**	381,5±9,3	1250,1±81,7**	
	НП	86,4±3,2	49,5±2,1	366,9±12,1	1838,9±197,0**	

Примечание: * - $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** - $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME.

Обсуждение результатов. В современной фармакологии и клинической практике отсутствуют препараты целенаправленного эндотелиопротективного действия, а в большинстве случаев используются эндотелиотропные эффекты препаратов основных групп: ингибиторов АПФ, антагонистов кальция, антагонистов рецепторов ангиотензина, бета-адреноблокаторов, статинов и др.

Большое внимание в последнее время уделяется фиксированной комбинации блокатора рецептора ангиотензина и дигидропиридинового антагониста кальция, эффективность и безопасность которой доказана в исследованиях у пациентов с АГ разной степени. Однако работы по изучению влияния данного сочетания препаратов на ЭД немногочисленны.

Механизм действия БРА лозартана при эндотелиальной дисфункции косвенный, связанный со стимуляцией АТ₂-подтипа рецепторов ангиотензина II и реализующийся вследствие брадикининзависимого пути эндотелиопротекции, в то время как одним из главных факторов развития данного патофизиологического состояния, особенно при эссенциальной АГ, является повреждение в системе L-аргинин-NO, приводящее к нарушениям продукции NO [1].

Антагонисты кальция дигидропиридинового ряда, в частности амлодипин, в эксперименте и в клинических исследованиях улучшают эндотелийзависимую вазодилатацию за счет увеличения уровня NO. Основными механизмами повышения уровня NO являются антиоксидантное действие АК, увеличение активности супероксиддисмутазы, повышение биодоступности NO [8].

С целью активации коррекции эндотелиальной дисфункции нами предложено добавление к препаратам с доказанной эндотелиотропной активностью ингибитора аргиназы L-норвалина, механизм действия которого связан с угнетением активности аргиназы и, следовательно, снижением гидролиза донатора NO – L-аргинина [4].

Таким образом, сочетанное применение L-норвалина в дозе 10 мг/кг и фиксированной комбинации лозартана калия 8 мг/кг и амлодипина 0,8 мг/кг позволило обнаружить положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в снижении КЭД до уровня интактных животных и достижении целевых значений артериального давления. Отмеченный эффект связан со способностью препаратов разными, патогенетически обоснованными механизмами, влиять на метаболизм оксида азота.

Выводы.

1. Длительное (в течение 7 дней) внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов крыс линии Вистар нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышении значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.

2. Фиксированная комбинация (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) оказывает выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений артериального давления.

3. При сочетанном применении фиксированной комбинации (лозартан калия 8 мг/кг+амлодипин 0,8 мг/кг) и L-норвалина в дозе 10 мг/кг обнаружено положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в достижении целевых значений артериального давления и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до уровня интактных животных.

Литература

1. Андрущишина, Т.Б. Кардиопротективные свойства блокаторов ангиотензина II: фокус на лозартан / Т.Б. Андрущишина, Т.Е. Морозова //Справочник поликлинического врача. – 2010. – № 4. – С.36-39.
2. Затейщикова, А.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение / А.А. Затейщикова, Д.А. Затейщиков // Кардиология. – 1998. – Т. 38, № 9. – С. 68-80.
3. Коркушко, О.В. Эндотелиальная дисфункция / О.В. Коркушко, В.Ю. Лишневская // Кровообіг та гемостаз. – 2003. – № 2. – С. 4-15.
4. Bonthu, S. Atherosclerosis, Vascular Remodeling, and Impairment of Endothelium-Dependent Relaxation in Genetically Altered Hyperlipidemic Mice / S. Bonthu, D. Heistad, D. Chappel et al. // Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. – 1997. – Vol. 17. – P. 2333-2340.
5. Chicoine, L.G. Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells / L.G. Chicoine, M.L. Paffet, T.L. Young, L.D. Nelin // Am J Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol. – 2004. – Vol.287. – P.60-68.
6. Cosentino, F. Tetrahydrobiopterin alters superoxide and nitric oxide release in prehypertensive rats / F. Cosentino, S. Patton, L.V. d'Uscio et al. // J. Clin. Invest. – 1998. – Vol. 191. – P. 1530-1537.
7. Nakayama, N. Effects of the new long-acting dihydropyridine calcium antagonist pranidipine on the endothelium-dependent relaxation in isolated rat aorta in vitro / N. Nakayama, K. Ikezono, M. Ohura et al. // Arzneimittelforschung. – 1993. – Vol. 43. – P. 1266-1270.
10. Galle, J. Angiotensin II and oxidized LDL: an unholy alliance creating oxidative stress / J. Galle, K. Heermeier // Nephrol. Dial. Transplant. – 1999. – Vol. 14. – P. 2585-2589.
8. Harrison, D.G. Endothelial function and oxidant stress / D.G. Harrison // Clin. Cardiol. – 1997. – Vol. 20. – P. 11-17.
9. Luscher, T.F. Endotheliale dysfunction und stickstoffmonoxid (NO; Nitric Oxide) / T.F. Luscher, M.R. Tschudi, R.R. Wenzel, G. Noll // Internist. – 1997. – Vol. 38. – P. 14-16
10. Santhanam, L. Arginase and vascular aging / L. Santhanam, D.W. Christianson, D. Nyhan, D. E. Berkowitz // J Appl. Physiology. – 2008. – Vol.105. – P.1632-1642.

ENDOTHELIOPROTECTIVE EFFECTS OF ARGINASE INHIBITOR L-NORVALINE AND FIXED COMBINATION OF LOSARTAN AND AMLODIPINE

E.G. TEREKHOVA¹, M.V. POKROVSKIY²
T.G. POKROVSKAYA², A.V. BABKO¹
M.V. KOROKIN², O.S. GUDYREV²
N.V. YUDINA¹

¹*Kursk State Medical University*

²*Belgorod National Research University*

e-mail: alena171211@rambler.ru

As a result of research it has been shown, that fixed combination of losartan 8 mg/kg and amlodipine 0,8 mg/kg render expressed endothelioprotective action on model of L-NAME-induced deficiency NO that was expressed in prevalence endothelium dependent relaxations of vessels and factor decrease of endothelial dysfunction. Combined application of the fixed combination of losartan 8 mg/kg and amlodipine 0,8 mg/kg with L-norvaline has allowed to find out positive pharmacological interaction expressed in decrease CED to level intact of animals and achievement of target values of arterial pressure.

Key words: endothelial dysfunction, L-norvaline, amlodipine, losartan.



УДК 616.018.74–008.6–085.22

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТОВ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ЭНАЛАПРИЛА И ЛОЗАРТАНА С МИЛДРОНАТОМ ПРИ L-NAME-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

Н.В. ЮДИНА¹, М.В. ПОКРОВСКИЙ²
Т.А. ДРОНОВА¹, М.В. КОРОКИН²
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ², О.С. ГУДЫРЕВ²
О.А. СТАРОСЕЛЬЦЕВА¹, Е.Г. ТЕРЕХОВА¹
Н.Л. КОСТИНА¹

¹ Курский государственный
медицинский университет

² Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

e-mail: natalio46@yandex.ru

В результате проведенных исследований было продемонстрировано, что через десять дней после ежедневного введения N-нитро-L-аргинин метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг у самцов белых крыс линии Вистар развивается нарушение функционирования сосудистого эндотелия и изменение параметров кардиогемодинамики.

Эналаприл, лозартан и милдронат в качестве монотерапии, а также в комбинации, обладая эндотелиопротективным действием, эффективно предотвращали повышение коэффициента эндотелиальной дисфункции, снижали артериальное давление и положительно влияли на результаты проведения функциональных проб при оценке кардиогемодинамики. Наилучшие результаты были получены при использовании комбинации милдронат + лозартан.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, кардиогемодинамика, эналаприл, лозартан, милдронат.

Многочисленные экспериментальные и клинические работы показали, что гемодинамический фактор при артериальной гипертензии (АГ) независимо от структурных изменений в сосудистых стенках приводит к развитию дисфункции эндотелия. Однако предположение о нормализации эндотелиальной функции (ЭД) на фоне гипотензивной терапии независимо от препарата не нашло подтверждения в ряде экспериментальных и клинических работ [16]. Было обнаружено, что центральным механизмом дисфункции эндотелия всё-таки является снижение биологической активности оксида азота (NO) и/или его биосинтеза [14]. ЭД вследствие АГ характеризуется нарушением доступности NO, обусловленной, в большей степени, расщеплением его на фоне оксидативного стресса [1]. Поэтому использование препарата, способного восстанавливать активность NO и тем самым эндотелиальную функцию, может стать важным средством для профилактики неблагоприятных исходов при АГ [13, 15]. Следовательно, для коррекции дисфункции сосудистого эндотелия милдронат может служить препаратом выбора, так как при его применении, наряду с активацией митохондриального аэробного окисления глюкозы, происходит подавление синтеза карнитина, что обуславливает накопление γ -бутиробетаина, способного стимулировать рецепторы к ацетилхолину. В результате активизируется синтез оксида азота, обеспечивающий вазопротективный эффект милдроната [3, 7, 8, 9, 13]. Нами были изучены эндотелио- и кардиопротективные эффекты милдроната, эналаприла, лозартана и их комбинации при L-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы. Исследование проводилось на самцах белых крыс линии Вистар массой 260–320 г. Животные прошли карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета. В ходе эксперимента животные содержались в условиях стандартной экспериментальной биологически чистой комнаты, температура воздуха составляла 22–24°C, освещение – 12 ч/12 ч светлый/темный цикл, все особи получали гранулированный корм и фильтрованную водопроводную воду.

Для моделирования эндотелиальной дисфункции внутрибрюшинно вводился неселективный блокатор NO-синтазы – L – NAME в дозе 25 мг/кг/сут в течение 10 дней. На 11-й день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД). Болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Показатели гемодинамики – систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) – измеряли непрерывно посредством датчика и компьютерной программы “Віорас”. Использовался ряд функциональных тестов с последующей оценкой изменения параметров гемодинамики

(САД, ДАД, ЧСС) в ответ на внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (эндотелийзависимая вазодилатация (ЭЗВД)) [14], а также изменения параметров гемодинамики в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (эндотелийнезависимая вазодилатация (ЭНВД)) [2]. Степень ЭД у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (ЭНВД) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (ЭЗВД) [10].

Исследование сократимости миокарда после моделирования патологии проводили у наркотизированных крыс, находящихся на управляемом дыхании. Полость левого желудочка зондировали иглой через верхушку сердца и посредством датчика Р23ID «Gould», США, АЦП L-154 и компьютерной программы «Bioshell» регистрировали показатели кардиогемодинамики (левожелудочковое давление (ЛЖД), максимальную скорость сокращения (+dp/dt max), максимальную скорость расслабления (-dp/dt max), частоту сердечных сокращений (ЧСС) и интенсивность функционирования структур (ИФС) (произведение частоты сердечных сокращений и давления, развиваемого левым желудочком (мм 47е. ст. x уд./ мин) [4].

Функциональные возможности миокарда у животных, находившихся на управляемом дыхании, определяли после катетеризации полости левого желудочка с помощью следующих нагрузочных проб:

1. Проба на адренореактивность (внутривенное одномоментное введение раствора адреналина гидрохлорида из расчёта 0,1 мл на 100 г). При проведении данной пробы проводилась оценка максимального подъёма левожелудочкового давления (ЛЖД) в ответ на введение адреналина.

2. Нагрузка сопротивлением (пережатие аорты на 30 сек) [5]. После данной пробы рассчитывали в процентах показатель истощения миокардиального резерва (ПИМР), равный отношению прироста ЛЖД на 5-й секунде пережатия аорты к приросту ЛЖД на 25-й секунде пережатия аорты.

Для определения биохимических маркеров ЭД использовалась модификация метода определения стабильных метаболитов NO, позволяющая после депротеинизации сыворотки крови проводить одноэтапное количественное определение суммарных нитратов и нитритов [6].

Животные в эксперименте делились на несколько групп (n=10): I – интактные; II – с введением L-NAME; III – с введением на фоне L-NAME эналаприла («Берлиприл» пр-ва «Берлин –Хеми») в дозе 1,7 мг/кг внутрижелудочно однократно в сутки в течение 10 дней; IV – с введением на фоне L-NAME лозартана («Блоктран» пр-ва ОАО «Фармстандарт-Лексредства») в дозе 8,6 мг/кг внутрижелудочно однократно в сутки в течение 10 дней, V – с введением на фоне L-NAME милдроната («Милдронат» пр-ва АО «Гриндекс») в дозе 90 мг/кг, внутрижелудочно однократно в сутки в течение 10 дней; VI – с введением на фоне L-NAME комбинации эналаприла и милдроната в указанных выше дозах, VII – с введением на фоне L-NAME комбинации лозартана и милдроната в указанных выше дозах.

С помощью программы Microsoft Excel версии 10.0 осуществляли статистический анализ полученных данных. Находили среднее значение (M), ошибку среднего (m). Для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними использовали «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями». Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Результаты. За целевые цифры артериального давления были приняты значения САД и ДАД у интактных животных (САД= 138,0±3,7мм рт. ст, ДАД=102,7±1,8 мм рт.ст). У особей второй группы после введения L-NAME цифры давления достоверно свидетельствовали о развившейся АГ (САД=191,1±6,2 мм рт.ст, ДАД= 146,4±4,2 мм рт.ст, $p < 0,05$). Милдронат в дозе 90 мг/кг не оказывал статистически значимого влияния на цифры АД (САД = 165,2±6,9 мм рт.ст, ДАД=114,8±4,8 мм рт.ст). В группах животных, получавших эналаприл (1,7 мг/кг) и лозартан (8,6 мг/кг), значения САД и ДАД достоверно не отличались от соответствующих значений интактных животных и составили при введении эналаприла 146,2±11,4 и 109,1±8,1 мм рт.ст., при введении лозартана 140,6±9,5 и 108,7±8,5 мм рт.ст. соответственно ($p < 0,05$). Сочетанное применение препаратов

обнаружило положительное фармакодинамическое взаимодействие. Значения показателей артериального давления достигали целевых уровней. Так, в группе, получавшей комбинацию милдронат + эналаприл, САД снизилось до $137,0 \pm 5,2$ мм рт.ст, ДАД было равно $92,0 \pm 3,8$ мм рт.ст. Комбинация милдроната с лозартаном в абсолютных значениях дала ещё лучшие результаты: $130,1 \pm 2,6$ мм рт. ст и $82,8 \pm 2,5$ мм рт. ст. соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Динамика показателей артериального давления при моделировании L-NAME-эндотелиальной дисфункции при использовании милдроната, эналаприла, лозартана и их комбинации

Группы животных	САД (мм рт.ст.)	ДАД (мм рт.ст.)
Интактные	$138,0 \pm 3,7$	$102,7 \pm 1,8$
Получавшие L-NAME	$191,1 \pm 6,2^*$	$146,4 \pm 4,2^*$
Получавшие L-NAME + эналаприл	$146,2 \pm 11,4^{**}$	$109,1 \pm 8,1^{**}$
Получавшие L-NAME + лозартан	$140,6 \pm 9,5^{**}$	$108,7 \pm 8,5^{**}$
Получавшие L-NAME + милдронат	$165,2 \pm 6,9$	$114,8 \pm 4,8$
Получавшие L-NAME + милдронат + эналаприл	$137,0 \pm 5,2^{**}$	$92,0 \pm 3,8^{**}$
Получавшие L-NAME + милдронат + лозартан	$130,1 \pm 2,6^{**}$	$82,8 \pm 2,5^{**}$

Примечание: * – $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** – $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME

Проведенные функциональные пробы на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME-индуцированной патологией на фоне лечения эналаприлом, лозартаном, милдронатом и их комбинацией позволили установить, что только при сочетанном применении исследуемых препаратов коэффициент эндотелиальной дисфункции (КЭД) снижался максимально и приближался к группе интактных животных. Так, в группе, получавшей L-NAME, КЭД был увеличен в 4,5 раза ($5,3 \pm 0,5$ усл. ед.) по сравнению с интактными животными (КЭД= $1,2 \pm 0,1$ усл. ед.). При применении эналаприла и лозартана он равнялся $2,1 \pm 0,1$ усл. ед. и $2,0 \pm 0,1$ усл. ед., соответственно, что в абсолютных цифрах было меньше, чем при применении милдроната (КЭД= $1,7 \pm 0,2$ усл. ед.). Наилучшие результаты, как и при достижении целевых цифр АД, достигались у особей, получавших комбинированную терапию милдронатом с эналаприлом (КЭД= $1,4 \pm 0,1$ усл. ед.) или милдронатом с лозартаном (КЭД= $1,1 \pm 0,1$ усл. ед.) Достоверных различий между последними получено не было, хотя абсолютные значения были лучше в группе милдронат + лозартан (рис. 1).

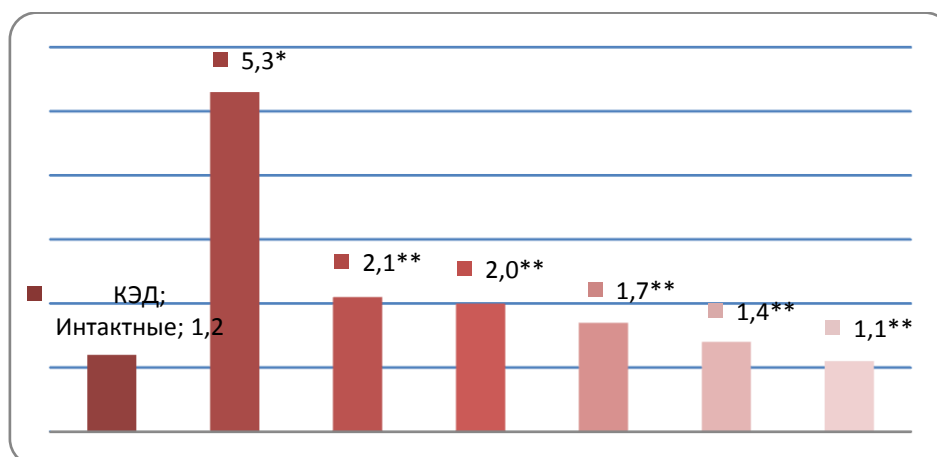


Рис. 1. Влияние эналаприла, лозартана, милдроната и их комбинации на КЭД

Примечание: * – $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** – $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME, Э – эналаприл, Л – лозартан, М – милдронат

При переводе животных на управляемое дыхание проводилось исследование изменений параметров кардиогемодинамики. Было установлено, что исходные показатели сократимости левого желудочка (ЛЖД, $+dp/dt$, $-dp/dt$, ИФС) у животных, получавших милдронат, эналаприл, лозартан в монотерапии, достоверно ниже, чем в контрольной группе получавшей L-NAME ($p < 0,05$). Лучшие результаты получены у особей, получавших милдронат с эналаприлом: (ЛЖД = $117,9 \pm 7,1$; $+dp/dt_{max} = 7161 \pm 898$; $-dp/dt_{max} = 3732 \pm 311$, ИФС = 42362 ± 1357) – и милдронат с лозартаном (ЛЖД = $106,6 \pm 3,4$; $+dp/dt_{max} = 5732 \pm 582$; $-dp/dt_{max} = 3801 \pm 454$, ИФС = 41155 ± 1380), что достоверно приближалось к цифрам интактных животных ($p < 0,05$) (табл.2).

Таблица 2

Влияние эналаприла, лозартана, милдроната и комбинации милдронат+ эналаприл, милдронат + лозартан на показатели сократимости левого желудочка сердца крыс при проведении нагрузочных проб на фоне моделирования эндотелиальной дисфункции введением L-NAME

Серия	ЛЖД мм рт.ст.	$+dp/dt_{max}$ мм рт.ст./с	$-dp/dt_{max}$ мм рт.ст./с	ЧСС уд./мин	ИФС мм рт.ст.уд/мин
Адренореактивность					
Интактные животные	198,4±9,7	10934±741	547±701	367±12	73788±5642
L-NAME	249,4±7,0 *	12641±319*	7156±302*	375±14	93625±4174*
L-NAME+ эналаприл	212,8±6,1 **	11709±709	6118±598	380±7	81015±2805 **
L-NAME + лозартан	210,2±4,3 **	10513±523 **	5400±493 **	366±9	77218±2766 **
L-NAME + милдронат	215,4±6,6 **	12049±518	7504±480	381±9	82046±3131 **
L-NAME + милдронат +эналаприл	207,9±5,4 **	11957±691	6715±371	374±8	77875±2835 **
L-NAME + милдронат + лозартан	202,8±9,4 **	10592±440 **	6176±317 **	371±8	75145±3381 **
Пережатие аорты 5-я секунда					
Интактные животные	237,3±13	240±461	595±201	319±21	74603±5208
L-NAME	269,5±7,1 *	10642±470 *	4156±172*	330±17*	88539±4098*
L-NAME+ эналаприл	214,7±5,5 **	8283±675 **	4308±245	320±12	68641±2705**
L-NAME + лозартан	214,7±4,9 **	8391±398 **	3523±236**	329±10	70770±3108**
L-NAME + милдронат	230,8±6,3 **	9635±826	4493±207	326±11	75484±3696**
L-NAME + милдронат +эналаприл	212,0±8,9 **	7157±497 **	3874±480	305±14	64274±3478 **
L-NAME + милдронат + лозартан	215,2±7,0 **	7492±684 **	3635±229	306±8	66326±3458 **
Пережатие аорты 25-я секунда					
Интактные животные	208,4±10,7	6866±464	3213±288	276±22	56918±4617
L-NAME	226,2±7,4	6741±423	2871±256	242±27	54825±6991
L-NAME+ эналаприл	195,3±4,4 **	6753±895	4336±250 **	294±13	57228±2267
L-NAME + лозартан	195,9±5,9 **	6354±277	2758±119	267±13	52357±3038
L-NAME + милдронат	213,0±5,3	7050±423	3384±172	315±12 **	67125±2516
L-NAME + милдронат +эналаприл	194,6±7,6 **	6625±547	3424±343	277±21	54296±5090
L-NAME + милдронат + лозартан	201,8±7,3 **	6695±383	3025±234	309±10	61830±1539

Примечание: * – $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** – $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME

Проба на нагрузку сопротивлением показала, что у интактных животных ПИМР на 25-й секунде проведения пробы составил 84,3% от величины на 5-й секунде (что принято за 100%). В группе с моделированием L-NAME-индуцированного дефицита NO данный показатель был меньше на 26,1% и составил 58,2% ($p < 0,05$, в сравнении с интактными). После десятидневного введения исследуемых препаратов в организм животных только в группах сочетанного применения милдроната с эналаприлом или лозартаном по окончании эксперимента значения ПИМР достоверно не отличались от интактных и составили соответственно 82,2% и 84,1%. При монотерапии данный параметр был ниже и достоверно от группы контроля не отличался (эналаприл – 78,3%, лозартан – 79,6%, милдронат –

75,3%). Полученные результаты комбинированной терапии указывают на сохранение значительного сократительного резерва сердца у экспериментальных животных данных групп.

NO-продуцирующая функция эндотелия исследовалась на основании данных содержания нитрит-ионов (Nox) в мкМоль (рис.2).

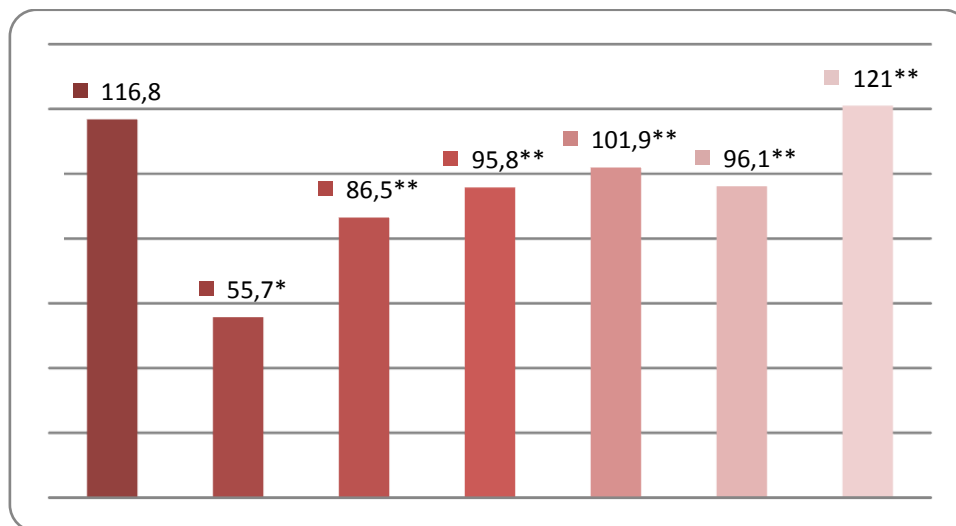


Рис.2. Влияние эналаприла, лозартана, милдроната и их комбинации на уровень Nox

Примечание: * – $p < 0,05$ – в сравнении с интактными, ** – $p < 0,05$ – в сравнении с L-NAME, L-NAME – нитро-L-аргинин метиловый эфир, Э – эналаприл, Л – лозартан, М – милдронат

Обнаружено, что концентрация Nox под влиянием монотерапии изучаемыми препаратами достоверно увеличивается, однако не достигает цифр интактных животных, (116,8 мкМоль). Концентрация Nox в плазме крови экспериментальных животных, получавших лозартан, в абсолютных цифрах выше, чем в группе животных, получавших эналаприл (95,8 мкМоль и 86,5 мкМоль соответственно), но ниже, чем в группе, получавшей милдронат (101,9 мкМоль). При комбинации исследуемых соединений был получен аддитивный эффект, проявившийся в увеличении Nox. В группе милдронат + эналаприл данный показатель составил 96,1 мкМоль, в группе милдронат + лозартан был равен 121,0 мкМоль, что достоверно лучше результата первой комбинации ($p < 0,05$).

Обсуждение результатов. Одним из наиболее изучаемых факторов сердечно-сосудистых заболеваний является эндотелиальная дисфункция. В этой связи большой практический интерес представляет поиск оптимальных фармакологических агентов, способных, наряду с кардиопротективным эффектом, уменьшать выраженность и по возможности способствовать обратному развитию ЭД.

Приведенные выше данные свидетельствуют о наличии выраженных эндотелиопротективных свойств у изучаемых препаратов. Во всех функциональных пробах комбинация милдроната с эналаприлом или лозартаном была достоверно лучше, чем применение данных препаратов по отдельности. Это связано не только с простым суммированием их положительных эффектов, но и способностью милдроната влиять на процессы оксидативного стресса, который является одним из основных факторов, приводящих к ЭД. В абсолютных цифрах комбинация милдронат+ лозартан показала лучшие результаты и явилась абсолютным фаворитом по способности повышать уровень Nox. Эти эффекты обусловлены способностью данных препаратов разными патогенетическими механизмами влиять на метаболизм оксида азота. Благоприятное влияние лозартана на ЭД связывают не только с блокадой АТ1–рецепторов, которые опосредуют прооксидантное действие ангиотензина II, но и с косвенной стимуляцией АТ2- и А1х-рецепторов, которые опосредуют активацию кининогена и образование NO и простаглицлина [11]. Милдронат конкурирует за рецепторы гамма-бутиробетаингидроксилазы, в результате чего на 40% снижается уровень карнитина и в

десятки раз возрастает концентрация гамма-бутиробетаина. Сходство последнего с ацетилхолином приводит к активации эндотелиальных ацетилхолиновых рецепторов, индукции синтеза NO, а соответственно и нормализации тонуса сосудов [3, 9, 12].

Таким образом, изучение плейотропных свойств цитопротекторов метаболического действия и их комбинаций с препаратами, традиционно используемыми для лечения заболеваний сердца и сосудов, позволило раскрыть перспективу их использования в качестве дополнения к существующим методам лечения сердечно-сосудистых заболеваний.

Выводы:

1. Длительное (в течение 10 дней) внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов крыс линии Вистар нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышении значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.

2. Эналаприл в дозе 1,7 мг/кг, лозартан в дозе 8,6 мг/кг и милдронат в дозе 90 мг/кг оказывают выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции и значений артериального давления.

3. При сочетанном применении эналаприла и лозартана с милдронатом, обнаружено положительное фармакодинамическое взаимодействие, выразившееся в достижении целевых значений артериального давления, снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции до уровня интактных животных, улучшении параметров кардиогемодинамики, повышении концентрации нитрит-ионов.

4. Лучшие результаты были получены при применении комбинации милдронат + лозартан, что является патогенетически оправданным и требует дальнейшего клинического изучения.

Литература

1. Беленков, Ю.Н. Оксидативный стресс при хронической сердечной недостаточности. Возможности фармакологической коррекции / Ю.Н.Беленков, Е.В. Привалова, Ю.А. Данилоторская и др. // Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия. – 2009. – № 6. – С. 4 – 9.
2. Галаган, М. Е. Гипотензивное действие оксида азота, продуцируемого из экзо – и эндогенных источников / М. Е. Галаган, А. В. Широколова, А. Ф. Ванин // Вопросы медицинской химии. – 1991. – Т. 37, № 1. – С. 67–70.
3. Калвиньш И.Я. Милдронат и триметазидин: сходство и различие в их действии / И.Я. Калвиньш. – Рига.: ПАО «Grindex», 2001. – 5 с.
4. Корокин, М.В. Сравнительное исследование эндотелио-кардиопротективных свойств фураностаноловых гликозидов из культуры клеток растения *Dioscorea clethroides* и 17 β -эстрадиола / М.В. Корокин, А.М. Носов, М.В. Покровский и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2006. – № 9 (90). – С. 137–140.
5. Корокин, М.В. Эндотелиопротективные, кардиопротективные и коронаролитические эффекты производных 3-окспирридина / М.В. Корокин, Е.Н. Пашин, М.В. Покровский и др. // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2009. – № 4. – С. 11–19.
6. Метельская, В.А. Возможности лабораторной оценки NO-продуцирующей функции эндотелия / В.А. Метельская // Клинич. И лаб. Диагностика. – 2004. – №9. – С. 86
7. Минко, А. И. Применение цитопротектора милдроната в комплексной терапии алкогольной зависимости / А. И. Минко, А. В. Бараненко // Український вісник психоневрології. – 2006. – №14, вип.2. – С.99 – 103.
8. Михин, В.П. Роль кардиоцитопротекторов в терапии хронической сердечной недостаточности ишемического генеза / В.П. Михин, В.В. Савельева // Российский кардиологический журнал. – 2009. – № 1. – С. 49 – 56.
9. Мкртчян, В.Р. Клиническая фармакология средств, улучшающих энергетический метаболизм миокарда: учебное пособие / В.Р. Мкртчян. – М.: МЗ России, 2003. – 24 с.
10. Пат. 2301015 Российская Федерация, МПК⁷ А61В 5/02. Способ оценки эндотелиальной дисфункции / Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. и др.; заявители и патентообладатели Покровский М.В., Покровская Т.Г., Кочкаров В.И. – № 2005113243/14; заявл. 04.05.2005; опубл. 20.06.07, Бюл. № 17.
11. Сидоренко, Б.А. Блокаторы АТ1-ангиотензиновых рецепторов / Б.А. Сидоренко, Д.В. Преображенский. – М.: ЗАО «Информатик», 2001. – 200 с.



12. Hanaki, Y. Effect of Met -88, a gamma-butyrobetaine hydroxylase inhibitor, on tissue carnitine and lipid levels in rats / Y. Hanaki, Y. Maranaka, T. Kirimoto, et al. // *Boil Pharm Bull.* – 2000. – № 23(6) – P. 770–773.
13. Heitzer, T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary disease / T. Heitzer, T. Schlinzig, K. Krohn et al. // *Circulation.* – 2001. – Vol.104. – P.2673–2678.
14. Katusic, Z. Heart and Circulatory Physiology / Z. Katusic // *J. Physiol.* – 2001. – Vol. 281. – P. 981–986.
15. Neunteufl, T. Late prognostic value of flow-mediated dilation in the brachial artery of patients with chest pain / T. Neunteufl, S. Heher, R. Katzenschlager et al. // *J. Cardiol.* – 2000. – Vol. 86. – P. 207–210.
16. Schiffrin, E. Correction arterial structural and endothelial dysfunction in essential hypertension by the antagonist of a receptor losartan / E. Schiffrin // *Circulation.* 2000. – Vol. 101. – P. 1653–1659.

STUDY OF THE EFFECTS OF COMBINED ENALAPRIL AND LOSARTAN WITH IN L-NAME-INDUCED ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MODELING

N.V. YUDINA¹, M.V. POKROVSKIY²
T.A. DRONOVA¹, M.V. KOROKIN²
T.G. POKROVSKAIA², O.S. GUDYREV²
O.A. STAROSELTSEVA¹, E.G. TEREHOVA¹
N.I. KOSTINA¹

¹ *Kursk State Medical University*

² *Belgorod National Research University*

e-mail: natalio46@yandex.ru.ru

As a result of the spent researches it has been shown that in ten days after daily L-NAME introduction in a dose of 25 mg/kg at males of white Wistar rats the infringement of vascular endothelium functioning and change of cardiohemodynamic parameters develops.

Enalapril, losartan and mildronat as monotherapy, and also in combinations, possessing endothelioprotective action, effectively prevented the endothelium dysfunction coefficient increase, reduced an arterial pressure and positively influenced on results of functional tests carrying out at an cardiohemodynamic estimation. The best results have been received at use of mildronat + losartan combination.

Keywords: endothelial dysfunction, cardiohemodynamic, enalapril, losartan, mildronat.

ИЗМЕНЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ СИМВАСТАТИНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОТИРЕОЗЕ

Е.Н. ЯКУШЕВА
Н.М. ПОПОВА

*Рязанский государственный
медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова*

e-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru

В статье приводятся результаты исследования, посвященного изучению фармакокинетики симвастатина при экспериментальном гипотиреозе. Показаны изменения фармакокинетических параметров β -гидроксикислоты симвастатина – основного метаболита препарата, свидетельствующие о снижении его биодоступности, а также связь этих изменений с уровнем Т4.

Ключевые слова: экспериментальный гипотиреоз, β -гидроксикислота симвастатина, фармакокинетические параметры.

Введение. Гипотиреоз является одной из наиболее распространенных патологий эндокринной системы. Частота манифестного первичного гипотиреоза в популяции составляет 0,2-2,0%, а субклинический гипотиреоз диагностируется у 10 – 12% женщин и 2-3% мужчин [3]. Клиника гипотиреоза весьма разнообразна и включает гипотермически-обменный, обструктивно-гипоксемический, анемический синдромы, нарушения со стороны органов чувств, нервной, сердечно-сосудистой, пищеварительной систем, а также проявления гипотиреоидной дермопатии и синдром эктодермальных нарушений [3]. Такое многообразие симптоматики во многом обусловлено нарушением обменных процессов, связанным с дефицитом тиреоидных гормонов. Причем нарушения липидного обмена диагностируются как при явном, так и при субклиническом гипотиреозе, когда другие проявления заболевания практически отсутствуют [7]. В крови повышается уровень общего холестерина, ЛПНП, а содержание ЛПВП снижается. Кроме того, увеличивается концентрация липопротеина А, который содержит в себе молекулу апо-А, соединенную с компонентом ЛПНП апо-В100, что придает ему выраженные атерогенные и тромбогенные свойства. Как правило, при адекватной заместительной терапии тиреоидными гормонами средние значения основных показателей липидного обмена нормализуются [5, 9]. Однако в ряде исследований было показано, что применение L-тироксина не приводит к полной коррекции липидного спектра [10, 12]. Следует также отметить, что заместительная терапия субклинического гипотиреоза рекомендована только пациентам при уровне ТТГ выше 10 мЕД/л и наличии в крови антител к тиреопероксидазе [4].

Дислипидемия является основным фактором риска развития атеросклероза и ИБС, поэтому если гормонотерапия не приводит к нормализации липидного спектра или не проводится, показано назначение гиполипидемических средств [10]. Наиболее перспективной группой препаратов для коррекции липидного обмена в настоящее время являются статины. Механизм действия статинов обусловлен угнетением синтеза холестерина в печени на стадии мевалоновой кислоты вследствие ингибирования 3-гидрокси-3-метилглутарил – коэнзим А-редуктазы. В результате в плазме крови уменьшается концентрация общего холестерина, триглицеридов, ЛПНП и повышается уровень антиатерогенных ЛПВП. Необходимо подчеркнуть, что гипотиреоз является фактором риска ИБС не только из-за липидных нарушений, но и в связи с коагуляционными и микроциркуляторными отклонениями [11] из-за увеличения содержания ингибитора активатора плазминогена [8] и нарушений вазодилатирующей функции, которые обусловлены снижением концентрации предсердного натрий-уретического пептида, уменьшением образования вазодилатирующих веществ и резистентностью к ним гладких мышц сосудистой стенки [4]. Статины обладают противотромботическим действием, снижая уровень ингибитора активатора плазминогена, фибриногена и вязкость крови; восстанавливают барьерную функцию эндотелия и увеличивают выработку оксида азота, что приводит к вазодилатации [1].



Бесспорным лидером в группе статинов является симвастатин, имеющий наибольшую доказательную базу и многолетний опыт применения [2]. Препарат подвергается пресистемной элиминации и активной биотрансформации в печени, поэтому его фармакокинетика может существенно нарушаться под влиянием лекарственных средств и при различных патологических состояниях. Дисфункция щитовидной железы способна изменять практически все процессы фармакокинетики, что особенно актуально для симвастатина, который является пролекарством, имеет низкую биодоступность, интенсивно биотрансформируется в печени и в то же время применяется для коррекции гиперлипидемии при гипотиреозе.

Цель. Исследовать основные фармакокинетические параметры β -гидроксикислоты симвастатина при экспериментальном гипотиреозе.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 6 половозрелых кроликах – самках породы шиншилла массой 3,5-4,5 кг, которым моделировали гипотиреоз пероральным введением тиамазола (мерказолил, Акрихин) в крахмальной слизи в дозе 5 мг/кг массы курсом 21 день. У интактных животных, а также на 7, 14 и 21-й день отмены тиамазола забирали кровь из ушной вены для определения уровней тиреотропного гормона (ТТГ) и Т4 радиоиммунным методом. Далее однократно вводили симвастатин (КРКА) *per os* в дозе 24 мг/кг массы и ежедневно в течение 12 часов отбирали образцы крови в объеме 5 мл для количественного определения основного метаболита препарата – β -гидроксикислоты симвастатина. Для отделения плазмы пробы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 минут и хранили до анализа при температуре -29°C . Концентрации β -гидроксикислоты симвастатина определяли по оригинальной методике с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе серии «Стайер» со спектрофотометрическим детектором и применением обращеннофазной колонки «Beckman Coulter» 4,6*250 мм, зернением 5 мкм. Анализ выполняли при длине волны 238 нм и термостатировании колонки при 45°C . Подвижная фаза состояла из ацетонитрила и фосфатного буфера в соотношении 70:30 (pH=4,5). Экстрагирование метаболита симвастатина проводили методом жидкостной экстракции с использованием дихлорметана и изопропанола в соотношении 9:1. Затем пробы концентрировали под вакуумом до сухого остатка, который растворяли в подвижной фазе и наносили на колонку хроматографа. Сбор и обработку хроматографических данных осуществляли с использованием программно-аппаратного комплекса «Мультихром». Для количественного определения β -гидроксикислоты симвастатина применяли метод абсолютной калибровки по высоте пиков. Калибровочная зависимость носила линейный характер в диапазоне концентраций от 100 до 5000 нг/мл. Коэффициент экстракции метаболита симвастатина составил 82%.

Вычисление фармакокинетических параметров выполняли с помощью программы «Kinetics 5.0». Для каждого кролика рассчитывали C_{\max} – максимальную концентрацию при однократном введении, T_{\max} – время достижения максимальной концентрации, AUC_{0-t} – площадь под кривой «концентрация-время» от нуля до последнего забора крови, $AUC_{0-\infty}$ – площадь под кривой «концентрация-время» от нуля до бесконечности, MRT – среднее время удержания препарата в системном кровотоке, V_d – объем распределения, C_{\max} / AUC_{0-t} – коэффициент абсорбции.

Полученные данные обрабатывали статистически при помощи программы «Attestat» с использованием однофакторного дисперсионного анализа с повторными измерениями и *t*-критерия Стьюдента для связанных выборок. Для каждого показателя рассчитывали среднее арифметическое значение (Mean) и стандартное отклонение среднего результата (SD). Зависимость фармакокинетических показателей от уровня гормонов вычисляли методом корреляционного анализа с помощью коэффициента Пирсона.

Результаты. Усредненные фармакокинетические кривые β -гидроксикислоты симвастатина в плазме крови интактных кроликов и животных с гипотиреозом после однократного введения симвастатина представлены на рис. 1; абсолютные значения параметров фармакокинетики – в табл. 2, показатели уровней гормонов ТТГ и Т4 – в табл. 1.

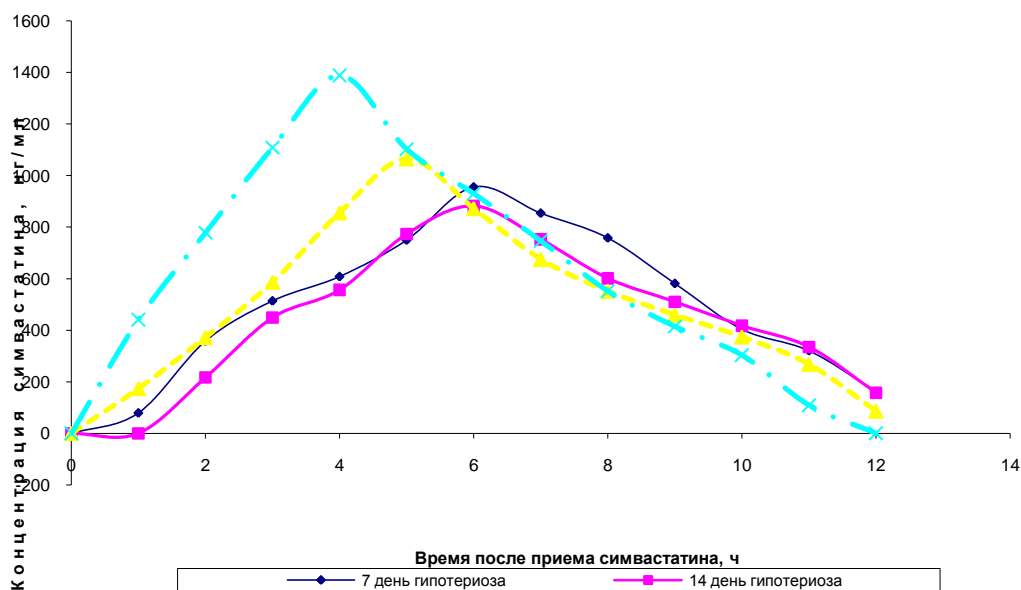


Рис. 1. Усредненные фармакокинетические кривые β-гидроксикислоты симвастатина в плазме крови кроликов после однократного введения симвастатина

Таблица 1

Уровень ТТГ и Т4 в плазме крови кроликов в норме и при экспериментальном гипотиреозе

Показатели	Интактные кролики	7-й день гипотиреоза	14-й день гипотиреоза	21-й день гипотиреоза
Т ₄ , МЕ/л	117,75±10,54	42,12±8,11*	54,99±9,58* **	77,17±8,06* ** ***
ТТГ, нмоль/л	0,13±0,01	0,38±0,12*	0,32±0,07*	0,28±0,04*

* - отмечена статистически значимая разница (p<0,05) по сравнению с контролем; ** - по сравнению с 7-м днем гипотиреоза; *** - по сравнению с 14-м днем гипотиреоза.

При моделировании гипотиреоза наблюдалось снижение уровня Т₄ на 7,14 и 21-й дни патологии по сравнению с показателями интактных животных на 64,2%*, 53,3%* и 34,4%* соответственно. На 14-й день экспериментальной патологии уровень Т₄ был на 30,6%** выше, чем на 7-й день гипотиреоза, а на 21-й день – на 40,3%*** превышал показатель животных на 14-й день патологии. Уровень ТТГ на 7, 14, 21-й дни гипотиреоза превосходил показатели интактных животных на 192,3%*, 146,1%* и 115,3%* соответственно.

Таблица 2

Фармакокинетические параметры β-гидроксикислоты симвастатина у интактных кроликов и животных с экспериментальным гипотиреозом после однократного перорального введения симвастатина

Показатели	Интактные кролики	7-й день гипотиреоза	14-й день гипотиреоза	21-й день гипотиреоза
1	2	3	4	5
С _{max} , нг/мл	1389,3±300,02	1053,10±337,53*	881,00±209,16* **	1112,43±255,47* ***
Т _{max} , ч	4±0,00	6±0,00*	6±0,00*	5,33±0,51 * ** ***
AUC _{0-t} , нг*ч/мл	7717,95±1760,6	6239,79±1921,79*	5501,86±1316,95*	6209,59±1550,03 * ***
AUC _{0-∞} , нг*ч/мл	8680,35±1511,12	6826,72±2063,60*	6892,82±2135,24*	7537,24±2083,48



1	2	3	4	5
MRT, ч	6,10±0,93	6,93±0,58	8,38±1,40*	7,03±0,65* ***
Vd, л	58,89±20,09	90,33±38,24*	102,13±23,98*	85,51±28,93* ***
C _{max} /AUC _{0-t}	0,18±0,02	0,17±0,03	0,16±0,01	0,18±0,02

* – отмечена статистически значимая разница ($p < 0,05$) по сравнению с контролем;
** – по сравнению с 7-м днем гипотиреоза; ***- по сравнению с 14-м днем гипотиреоза.

На 7-й день гипотиреоза C_{max} уменьшилась на 24,2%*, AUC_{0-t} на 19,1%*, AUC_{0-∞} на 21,3%*, T_{max} и Vd увеличились соответственно на 33,3%* и 53,3%* по сравнению с данными у интактных кроликов. На 14-й день патологии наблюдалось снижение C_{max} на 36,5%*, AUC_{0-t} на 28,7%*, AUC_{0-∞} на 20,6%*, повышение MRT на 37,4%* и Vd на 73,4%* по сравнению с параметрами фармакокинетики интактных животных. При этом C_{max} на 14-й день гипотиреоза понизилась на 16,3%** по сравнению с 7-м днем патологии, а T_{max} оставалось неизменным. На 21-й день гипотиреоза показатели C_{max} и AUC_{0-t} были ниже таковых у интактных животных на 19,9% *и 19,5%* соответственно, а T_{max}, MRT и Vd превышали параметры интактных кроликов на 33,2%*, 15,2%* и 45,2%* соответственно. На 21-й день патологии наблюдалось увеличение C_{max} на 26,2%***, AUC_{0-t} на 12,86%*** и уменьшение T_{max} на 11,1%***, MRT на 16,1%***, Vd на 16,3%*** по сравнению с 14-м днем гипотиреоза.

Для выявления зависимости между фармакокинетическими параметрами β-гидроксикислоты симвастатина и уровнем ТТГ и Т4 был проведен корреляционный анализ. Статистически значимая положительная корреляция обнаружена между содержанием Т4 и C_{max} ($r=0,55$; $p=0,005$), Т4 и AUC_{0-t} ($r=0,47$; $p=0,018$), Т4 и AUC_{0-∞} ($r=0,41$; $p=0,045$), а также уровнем ТТГ и T_{max} ($r=0,79$; $p=0,0001$). Достоверная отрицательная корреляция была отмечена между концентрацией Т4 и T_{max} ($r=-0,88$; $p=0,0001$), MRT ($r=-0,50$; $p=0,013$) и Vd ($r=-0,55$; $p=0,005$).

Обсуждение результатов. Уменьшение C_{max}, AUC_{0-t}, AUC_{0-∞} свидетельствует о снижении биодоступности β-гидроксикислоты симвастатина при экспериментальном гипотиреозе. Симвастатин представляет собой неактивный лактон-пролекарство, который подвергается интенсивной пресистемной элиминации в печени под действием карбоксиэстераз с образованием β-гидроксикислоты, которая обладает гипополипидемической активностью [6]. Фармакологические эффекты симвастатина реализуются на уровне печени, и только 5% активных метаболитов попадает в системный кровоток. Коэффициент абсорбции симвастатина, по данным нашей работы, остался неизменным, поэтому снижение биодоступности метаболита позволяет судить не об ухудшении всасывания, а об уменьшении пресистемной элиминации препарата. При этом не только уменьшается биодоступность метаболита, но увеличивается T_{max} и MRT вследствие более постепенного и замедленного поступления его в системный кровоток.

β-гидроксикислота симвастатина на 95% связывается с белками плазмы крови [6]. Однако гипофункция щитовидной железы вызывает гипоальбуминемию [3], что приводит к повышению концентрации метаболита в крови в свободной форме, и как следствие, к улучшению его проникновения в органы и ткани и увеличению Vd.

Симвастатин и его β-гидроксикислота биотрансформируются ферментами CYP3A4, а также CYP2D6 и CYP2C9 до малоактивных метаболитов, которые выводятся главным образом с желчью [6]. Считается, что при гипотиреозе снижается функционирование микросомальных ферментных систем. Однако в этом случае произошло бы увеличение концентрации β-гидроксикислоты симвастатина в крови, о чем свидетельствовало бы повышение C_{max}, AUC_{0-t}, AUC_{0-∞}. В нашем исследовании отмечалось достоверное снижение перечисленных фармакокинетических параметров, что позволяет предполагать снижение пресистемной элиминация симвастатина под действием карбоксиэстераз в большей степени, чем микросомальных оксидаз.

Экспериментальный гипотиреоз при курсовом введении тиамазола сохраняется в течение 21 дня. Низкий уровень Т4 активирует выработку гипоталамусом тиреолиберина, который в свою очередь стимулирует образование ТТГ, при этом происходит постепенное

усиление функционирования щитовидной железы. С повышением уровня тиреоидных гормонов в крови увеличивается биодоступность β -гидроксикислоты симвастатина за счет усиления пресистемной элиминации препарата, о чем свидетельствуют увеличение C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ и уменьшение T_{max} и MRT на 21-й день экспериментальной патологии.

Выводы. 1. Экспериментальный гипотиреоз, моделируемый у кроликов введением тиамазола в дозе 5 мг/кг массы, сопровождается снижением уровня T_4 и повышением уровня ТТГ на 7, 14 и 21-е сутки опыта.

2. Фармакокинетические параметры симвастатина, назначаемого внутрь однократно в дозе 24 мг/кг массы на фоне экспериментального гипотиреоза, характеризуются снижением C_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ увеличением T_{max} , MRT и V_d , что свидетельствует о снижении биодоступности β -гидроксикислоты симвастатина.

3. Основные количественные показатели фармакокинетики β -гидроксикислоты симвастатина коррелируют с уровнем T_4 в плазме крови.

Литература

1. Аронов, Д.М. Плеотропные эффекты статинов / Д.М. Аронов // Рус. Мед. журн. – 2001. – №13-14. – С. 578-582.
2. Аронов, Д.М. Симвастатин / Д.М. Аронов. – М.: Триада-Х, 2002. – 80 с.
3. Балаболкин, М.И. Диагностика и лечение гипотиреоза в работе практического врача / М.И. Балаболкин, М.Э. Тельнова, К.В. Антонова // Рус. Мед. журн. – 2008. – №15. – С. 988-993.
4. Будневский, А.В. Гипотиреоз и сердечно-сосудистая патология / А.В. Будневский, В.Т. Бурлачук, Т.И. Грекова // Мед. науч. и учеб.-метод. журн. – 2007. – №38. – С. 80-85.
5. Воронцов, В.Л. Особенности течения атеросклероза у больных, страдающих гипотиреозом / В.Л. Воронцов, О.И. Смирнова // Клинич. Вестн. – 1997. – № 2. – С. 64-67.
6. Кукес, В.Г. Современная фармакотерапия гиперлипидемий: взгляд клинического фармаколога / В.Г. Кукес, А.В. Семенов // Рус. мед. журн. – 2006. – №27. – С. 1961-1967.
7. Сыч, Ю.П. Нарушения липидного обмена при субклиническом гипотиреозе / Ю.П. Сыч, В.В. Фадеев, Г.А. Мельниченко // Пробл. эндокринологии. – 2004. – №3. – С. 48-52
8. Blood coagulation and fibrinolytic activity in hypothyroidism / Erem C. [et al.] // Int. J. Clin. Pract. – 2003. – Vol. 57, № 2. – P. 78-81.
9. Effect of L-Thyroxine Replacement on Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol in Hypothyroid Patients / M. Ito [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2006. – Vol.92. – P. 608-611.
10. Effect of thyroid substitution on hypercholesterolemia in patients with subclinical hypothyroidism: A reanalysis of intervention studies / B.C. Tanis [et al.] // Clin. Endocrinol. – 1996. – Vol. 44, № 6. – P. 643-649.
11. Impaired action of thyroid hormone associated with smoking in women with hypothyroidism / B. Muller [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1995. – Vol. 333. – P. 964-969.
12. Lipoprotein profile in subclinical hypothyroidism: response to levothyroxine replacement, a randomized placebo-controlled study / N. Caraccio [et al.] // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 2002. – Vol. 87, № 4. – P. 1533-1538.

PHARMACOKINETIC CHANGES OF SIMVASTATIN AT EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

E.N. YAKUSHEVA
N.V. POPOVA

Ryazan State Medical University

e-mail: e.yakusheva@rzgmu.ru

In article data of the research is devoted to studying of pharmacokinetic of simvastatin at experimental hypothyroidism are resulted. It is shown changes of pharmacokinetic parameters β -hydroxyacid of simvastatin – the main metabolite of the drug, which says about decrease of bioavailability and correlation of these changes with level of T_4 .

Key words: experimental hypothyroidism, β -hydroxyacid of simvastatin, pharmacokinetic parameters.



ЭНДОТЕЛИОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МИЛДРОНАТА И ЕГО ПРОИЗВОДНЫХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ L-NAME ИНДУЦИРОВАННОГО ДЕФИЦИТА ОКСИДА АЗОТА

**Л.М. ДАНИЛЕНКО¹, О.В. ХАРИТОНОВА¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ¹, О.А. СТАРОСЕЛЬЦЕВА²
С.Я. СКАЧИЛОВА³, О.Г. КЕСАРЕВ³**

¹*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

²*Курский государственный медицинский
университет*

³*Всероссийский научный центр
по безопасности биологически активных
веществ, п. Старая Купавна*

e-mail: Danilenkoljudmila@mail.ru

Изучение эндотелиопротекторных свойств в ряду производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата показало, что 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионат (милдронат) в дозе 90 мг/кг и его производные (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксиникотина, глицинат) 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия оказывают выраженное эндотелиопротекторное действие на модели L-NAME-индуцируемого дефицита оксида азота, что выражается в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции. Выявлено, что производное 5-гидроксиникотинат 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия, обладающее наиболее ярко выраженной эндотелиопротекторной активностью.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионат, L-NAME.

Введение. В настоящее время эндотелий рассматривается как самостоятельная мишень терапевтического воздействия для коррекции различных сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Исходя из этого, актуальной проблемой экспериментальной и клинической фармакологии является поиск веществ с эндотелиопротекторным действием (ЭПД) как среди известных препаратов, так и новых соединений [1].

К настоящему времени установлено ЭПД препаратов, уменьшающих влияние ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), симпатической нервной системы (СНС) на сердечно-сосудистую систему (иАПФ, β -блокаторы и т.д.); снижающих уровень ХС_{общ}, ХС_{ЛПНП}, ХС_{ЛПОНП} (особенно статины); регулирующих работу Ca²⁺ каналов (блокаторы Ca каналов), что очевидно связано как с прямыми эндотелийзависимыми механизмами действия, так и их опосредованным комплексным фармакологическим влиянием [6, 8].

Уникальное положение клеток эндотелия на границе между циркулирующей кровью и тканями делает их наиболее уязвимыми для различных патогенных факторов, находящихся в системном и тканевом кровотоке. Именно эти клетки первыми встречаются с реактивными свободными радикалами, с окисленными липопротеинами низкой плотности, с гиперхолестеринемией, с высоким гидростатическим давлением внутри выстилаемых ими сосудов (при артериальной гипертензии), с гипергликемией (при сахарном диабете). Все эти факторы приводят к повреждению эндотелия сосудов, к эндотелиальной дисфункции (ЭД) [2, 7]. Из всех факторов, синтезируемых эндотелием, основная роль принадлежит эндотелиальному фактору релаксации, или оксиду азота (NO). Именно это соединение регулирует активность и последовательность «запуска» всех остальных биологически-активных веществ, продуцируемых эндотелием.

NO, синтезируемый эндотелиальной NO-синтазой (eNOS), — один из главных регуляторов тонуса кровеносных сосудов. Для артериальной гипертензии, мощного фактора риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, характерно образование в организме избыточного количества активных форм кислорода, которые, взаимодействуя с NO, снижают его биодоступность, а окисляя NO до пероксинитрита, вызывают развитие окислительного стресса [3].

Повышенное образование РФК при сосудистых нарушениях сопровождается выраженной дисфункцией сосудистого эндотелия. Продукция какой-либо одной РФК может вызывать образование нескольких других. Все они накапливаются в клеточной мембране и могут оказывать неблагоприятное влияние на функции клетки [10].

При экспериментальном моделировании артериальной гипертензии у животных увеличение РФК приводит к эндотелиальной дисфункции, что подтверждается улучшением эндотелийзависимой релаксации при применении антиоксидантов [12].

Хроническая почечная недостаточность у животных приводит к усилению продукции РФК и снижению биодоступности NO и, как следствие, к появлению эндотелиальной дисфункции, корригируемой предварительной терапией антиоксидантами [11].

В этой связи, целью нашего исследования явилось изучение эндотелиопротекторной активности 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата (милдронат) и его производных (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксиникотина, глицинат) 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата на модели L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы. Исследовано 4 химических производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата (производные 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия), которые синтезированы во Всероссийском научном центре биологически активных веществ (ВНЦ БАВ), и препарат сравнения милдронат[®](пр-ва АО «Гриндекс»)

Изучение эндотелиопротекторной активности проводили на самцах белых крыс линии Вистар массой 250±50 г. Для моделирования эндотелиальной дисфункции внутрибрюшинно вводился неселективный блокатор NO-синтазы N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) в дозе 25 мг/кг/сут. В течение 7 дней.

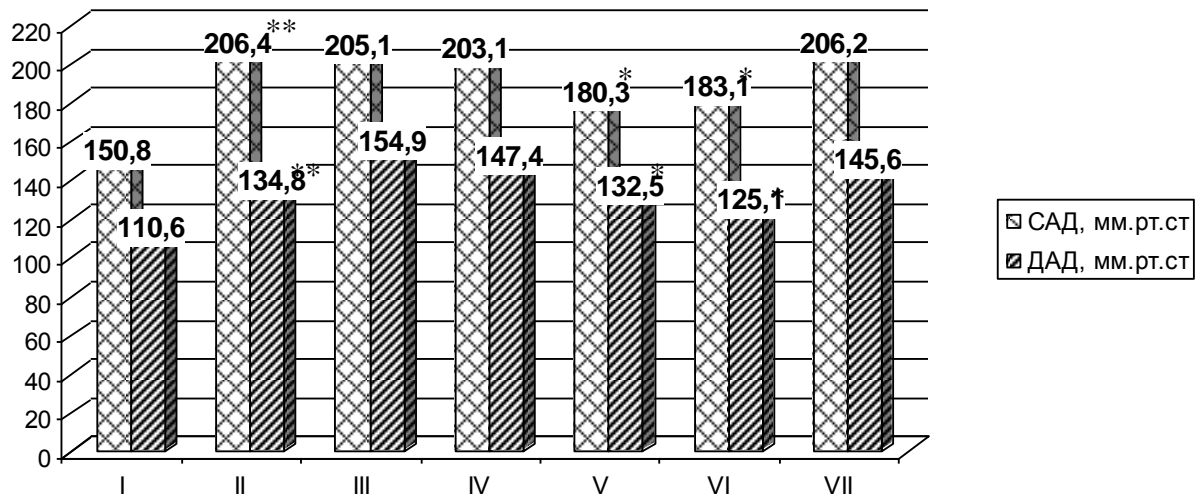
На 8-й день от начала эксперимента под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) вводили катетер в левую сонную артерию для регистрации показателей артериального давления (АД). Болюсное введение фармакологических агентов осуществляли в бедренную вену. Показатели гемодинамики: систолическое артериальное давление (САД), диастолическое артериальное давление (ДАД) и частоту сердечных сокращений (ЧСС) измеряли непрерывно посредством датчика и компьютерной программы «Vіорас Systems, Inc.». Помимо измерения АД проводили ряд функциональных тестов с последующей оценкой изменения параметров гемодинамики (САД, ДАД, ЧСС) в ответ на внутривенное введение раствора ацетилхолина (АХ) в дозе 40 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭЗВД) [5], а также изменения параметров гемодинамики в ответ на внутривенное введение раствора нитропруссид натрия (НП) в дозе 30 мкг/кг из расчета 0,1 мл на 100 г массы тела животного (ЭНВД) [4, 5].

Степень эндотелиальной дисфункции у экспериментальных животных, а также степень ее коррекции исследуемыми препаратами оценивали по расчетному коэффициенту эндотелиальной дисфункции (КЭД), представляющему собой отношение площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение НП (ЭНВД) к площади треугольника над кривой восстановления АД в ответ на введение АХ (ЭЗВД) [4, 5]. Милдронат[®] и производные вводились внутрибрюшинно, однократно в течение 7 дней. Экспериментальные животные были разделены на группы (n=10): I – интактные; II – с введением L-NAME; III – с введением на фоне L-NAME Милдроната[®] (пр-ва АО «Гриндекс») в дозе 90 мг/кг, IV- с введением на фоне L-NAME никотинат 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия в дозе 189 мг/ кг, V – с введением на фоне L-NAME 5-бромникотинат 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия в дозе – 189 мг/ кг, VI – с введением на фоне L-NAME глицинат 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата калия в дозе 199 мг/кг, VII – с введением на фоне L-NAME 5-гидроксиникотинат 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия в дозе 159 мг/кг. Дозы исследуемых производных рассчитывались по молярной массе от препарата сравнения Милдроната[®], в пересчете на лабораторных животных.

Статистический анализ полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel. «Описательная статистика» применялась для нахождения среднего значения (M) и ошибки среднего (m). «Двухвыборочный t-тест с различными дисперсиями» использовался для сравнения показателей в различных группах животных и определения достоверности различий между ними. Статистически значимыми считали различия при значениях двустороннего $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение. Обнаружено, что изучаемые препараты не предотвращали развития выраженной гипертензии и значения САД и ДАД были достоверно выше соответствующих значений интактных животных во всех сериях экспериментов, кроме производных 5-гидроксиникотинат 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия и 5-бромникотинат 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия, где САД и ДАД составили 183,1±3,5 и 125,1±4,3 и 180,3±6,3 и 132,5±4,8 мм рт.ст. соответственно.

Влияние Милдроната[®] и исследуемых веществ на исходные показатели артериального давления у наркотизированных крыс с моделированием L-NAME индуцированной патологии представлены на рис. 1.



I – интактные; II – L-NAME; III – Милдронат® в дозе 90 мг/кг; IV – никотинат в дозе 189,2 мг/кг; V – 5-бромникотинат в дозе 237 мг/кг; VI – 5-гидроксиникотинат в дозе 199,1 мг/кг; VII – глицинат в дозе 159,6 мг/кг (3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата калия)

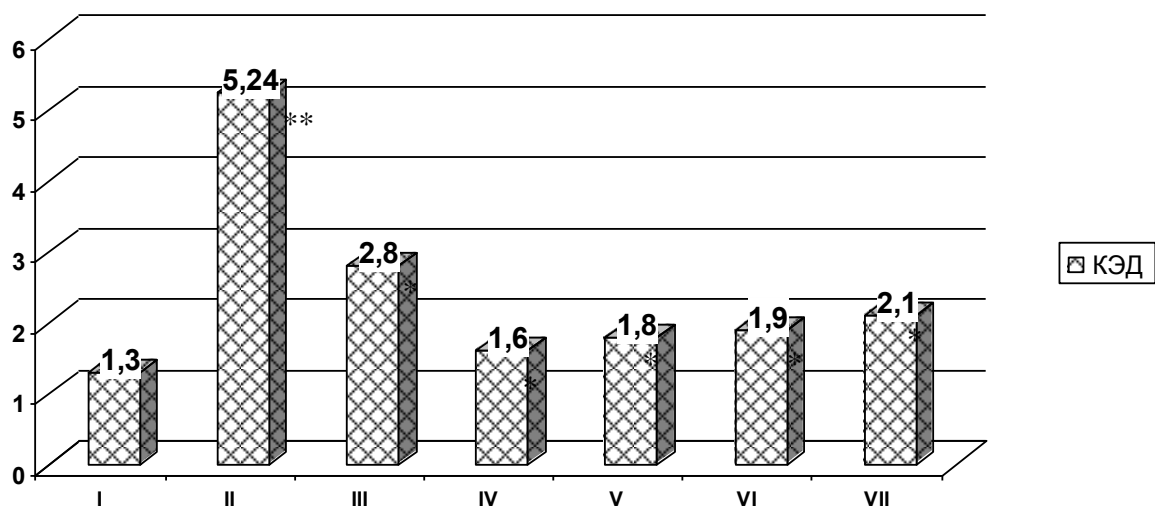
Примечание. * – $p = 0,05$ – в сравнении с L-NAME; ** – $p = 0,05$ – в сравнении с интактными

Рис. 1. Влияние производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия на АД систолическое и АД диастолическое при моделировании L-NAME (25 мг/кг внутривенно, однократно в течение 7 дней)-индуцированного дефицита NO

На рис. 2 представлены результаты функциональных проб на эндотелийзависимое (ацетилхолин 40 мкг/кг в/в) и эндотелийнезависимое (нитропруссид 30 мг/кг в/в) расслабление сосудов у животных с L-NAME индуцированной патологией на фоне лечения исследуемыми препаратами с последующим расчетом КЭД.

Обращает на себя внимание, что Милдронат[®] и все его производные приводили к достоверно выраженному снижению КЭД. Обнаружено, что Милдронат[®] снижает КЭД до $2,8 \pm 0,1$, тогда как в группе животных, получавших L-NAME, он составлял $5,3 \pm 0,6$.

Исследуемые производные достоверно относительно контрольной группы снижали КЭД до $1,6 \pm 0,3, 1,8 \pm 0,6, 1,9 \pm 0,5, 2,4 \pm 0,5$ соответственно.



I – интактные; II – L-NAME; III – Милдронат® в дозе 90 мг/кг; IV – никотинат в дозе 189,2 мг/кг; V – 5-бромникотинат в дозе 237 мг/кг; VI – 5-гидроксиникотинат в дозе 199,1 мг/кг; VII – глицинат в дозе 159,6 мг/кг (3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия).

Примечание. * – $p = 0,05$ – в сравнении с L-NAME; ** – $p = 0,05$ – в сравнении с интактными.

Рис. 2. Влияние производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия на коэффициент эндотелиальной дисфункции при моделировании L-NAME (25 мг/кг внутривенно, однократно в течение 7 дней) – индуцированного дефицита NO

В настоящее время для коррекции состояний, сопровождающихся эндотелиальной дисфункцией, перспективными считаются препараты, обладающие антиоксидантной активностью, так как главным механизмом, лежащим в основе эндотелиальной дисфункции, является снижение продукции и биодоступности NO при одновременном повышении уровня супероксид аниона вследствие увеличения окислительной активности НАДФ [1].

Милдронат, который сам антиокислительными свойствами не обладает, увеличивает в организме концентрацию гамма-бутиробетаина (ГББ), потому что под воздействием Милдроната он окисляется в карнитин медленнее обычного. В свою очередь ГББ может индуцировать образование NO, который является одним из самых эффективных поглотителей свободных радикалов в организме. Милдронат, увеличивая количество ГББ, способен защищать клетки от эффектов свободных радикалов, но это осуществляется опосредованно, через индукцию биосинтеза NO. Следовательно, Милдронат способствует появлению физиологически регулируемого количества NO, позволяющего организму самому осуществить необходимый для него уровень защиты от радикалов.

Общеизвестно, что введение в молекулу лекарственного вещества дополнительных функциональных групп приводит к расширению спектра его фармакологической активности. При этом важно, чтобы дополнительные свойства не приводили к снижению эффективности препарата, а наоборот способствовали усилению его основного эффекта. При введении в молекулу триметилгидразиния пропионата никотиновой кислоты (никотината) и её производных, а именно 5-бромникотината, 5-гидроксиникотината, а также глицината, обладающих различной степенью антиоксидантной активности, предполагается выявление новых свойств и усиление эффектов, однако закономерно, что в зависимости от вводимой компоненты диапазон активности полученных субстанций может варьировать, что и показали результаты наших исследований.

Так, вещество, обладающее наиболее ярко выраженной антиоксидантной активностью, 5-гидроксиникотинат 3-(2, 2, 2-триметилгидрозиный) пропионат калия достоверно в отличие от других веществ повлияло на гемодинамические показатели на модели L-NAME индуцированного дефицита NO и понизило САД и ДАД до следующих значений: $183,1 \pm 3,5$ и $125,1 \pm 4,3$ мм рт.ст соответственно. Максимально снижение КЭД характерно для трех представленных модификаций: никотинат, 5- бромникотинат, 5-гидроксиникотинат (3-(2, 2, 2-триметилгидрозиный) пропионат калия), $1,6 \pm 0,3$, $1,8 \pm 0,6$, $1,9 \pm 0,5$. В ранее проведенных работах было показано противоишемическое действие исследуемых веществ. Установлено, что профилактическое введение соединений никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксиникотинат, глицинат (3-(2, 2, 2-триметилгидрозиный) пропионат калия), производных 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата в соответствующих дозах приводит к уменьшению зоны некроза. Максимально размер зоны некроза уменьшило соединение 5-гидроксиникотинат (3-(2, 2, 2-триметилгидрозиный) пропионат калия) [4].

Проведенные экспериментальные исследования позволяют заключить, что препарат Милдронат[®] и все его производные оказывали выраженное эндотелиопротективное действие на модели L-NAME-индуцированного дефицита NO, что выражалось в преобладании эндотелийзависимого расслабления сосудов и снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции.

Учитывая важную роль в развитии ЭД оксидативного стресса, можно предположить, что вещества, обладающие антиоксидантной активностью, могут воздействовать на различные звенья развития ЭД: на систему синтеза и биодоступности NO, гемореологические параметры крови, липидный и углеводный обмен, воспаление, пролиферацию. Поэтому поиск высокоактивных эндотелиопротекторов среди соединений, обладающих антиоксидантной активностью, вполне оправдан.

Выводы.

1. Длительное (в течение 7 дней) внутрибрюшинное введение L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает у самцов линии Вистер нарушение функции эндотелия сосудов, выражающееся в повышении значений артериального давления и коэффициента эндотелиальной дисфункции.

2. Милдронат[®] в дозе 90 мг/кг и все его производные – (никотинат, 5-бромникотинат, 5-гидроксиникотинат, глицинат (3-(2, 2, 2-триметилгидрозиный) пропионат калия) оказывают выраженное эндотелиопротективное действие, проявляющееся в снижении коэффициента эндотелиальной дисфункции.



3. Производные 3-(2, 2, 2-триметилгидразиний) пропионата калия способны оказывать наиболее выраженное эндотелиопротективное действие, в отличие от препарата сравнения Милдронат®, что позволяет предположить их использование для наиболее эффективного лечения при эндотелиальной дисфункции и продолжить дальнейшее изучение.

Литература

1. Карпов, Ю.А. Новые рекомендации по артериальной гипертензии / Ю. А. Карпов // Русский медицинский журнал. – 2010. – № 22. – С. 1290.
2. Ланкин, В.З. Антиоксиданты в комплексной терапии атеросклероза: pro et contra / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков. – М.: Медпрактика, 2003. – С. 200.
3. Метельская, В.А. Характеристика биохимических маркеров функции сосудистого эндотелия: разработка модельной системы с применением клеточных культур / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова, О.А. Литинская // Вопросы биологической медицины и фармацевтической химии. – 2004. – №2. – С. 34-39.
4. Покровский, М.В. Сравнительное исследование противоишемического эффекта 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионата и его производных при моделировании коронароокклюзионного инфаркта миокарда / М.В. Покровский, Л.М. Даниленко, О.В. Харитоновна и др. // Вестник ВолгГМУ: приложение. Материалы III Всероссийского научно-практического семинара для молодых ученых «Методологические аспекты экспериментальной и клинической фармакологии». – 2011. – С.76-77.
5. Покровский, М. В. Метаболическая и антиоксидантная терапия L-NAME индуцированной эндотелиальной дисфункции/ М.В. Покровский, Е.Б. Артюшкова, Т.Г. Покровская и др.// Кубанский научный медицинский вестник. – 2008. – №3-4. – С.73-78.
6. Aikawa, M. Stabilization of atherosclerotic plaques: new mechanisms and clinical targets / M. Aikawa, P. Libby // Nat. Med. – 2002. – Vol. 8. – P. 1257-6122.
7. Bloch, W. Ischemia increases detectable endothelial nitric oxide synthase in rat and human myocardium / W. Bloch, U. Mehlhorn, A. Krahwinkel et al.//NitricOxid. – 2001. – Vol. 5, N 4. –P. 317-333.
8. Egashira, K. Effect of L-arginine on acetylcholine-induced endothelium-dependent vasodilation differs between the coronary and forearm vasculatures in humans/ K.Egashira, Y. Hirooka, T. Imaizumi et al.//J.Am. Coll. Cardiol. –2010. –Vol. 24. № 4. – P. 948 –952
9. Marchesi, C. Role of the 62eprod-angiotensin system in vascular inflammation//C. Marchesi P.Paradis, E.L Schiffrin // Trends Pharmacol. Sci. – 2008. – Vol. 29(7). – P.367–374.
10. Frisbee, J. C. Impaired NO-dependent dilation of skeletal muscle arterioles in hypertensive diabetic obese Zucker rats / J.C.Frisbee, D.W. Stepp //Am J Physiol Heart Circ Physiol.– 2001. – Vol. 281. – P. 1304–1311.
11. Heilzer T., Schlinzig T., Krohn K. et al. Antioxidant vitamin C improves endothelial dysfunction in chronic smokers// Circulation. – 2001.- Vol. 104, N 22. – 2638-2646.
12. Suzuki, T. Eicosapentaenoic acid protects endothelial cells against anoikis through restoration of cFLIP/ T. Suzuki, K. Fukuo, T.Suhara et al. //Hypertension. – 2003. – Vol. 42. – P. 342-348.

ENDOTELIOPROTEKTIVE ACTION OF MILDRONATE AND ITS DERIVATIVES IN MODELING L-NAME INDUCED DEFICIENCY OF NITRIC OXIDE

L.M. DANILENKO¹
O.V.KHARITONOVA¹
M.V. POKROVSKII¹
O.A.STAROSEL'ZEVA²
S.Y. SKACHILOVA³
O.G. KESAREV³

¹Belgorod National Research University

²Kursk State Medical University

³Allrussian research center of safety
of biological active compounds,
Settl.Staraya Kupavna

e-mail: Danilenkolyudmila@mail.ru

Study of endotelioprotektive properties in a series of 3-(2, 2, 2-trimethylhydrazine) propionate showed that (Mildronate) at a dose of 90 mg/kg and its derivatives (nicotinate) 5 bromnikotinat, 5-gidroksinikotina, glycinate) 3 - (2,2,2-trimethylhydrazine) propionate potassium, have a marked effect on the model endotelioprotektor L-NAME-induced nitric oxide, resulting in a decrease in the coefficient of endothelial dysfunction.

Revealed that the derivative of 5-gidroksinikotinat 3 - (2, 2, 2-trimethylhydrazine) propionate potassium, which has the most pronounced endotelioprotektive activity.

Key words: endothelial dysfunction, 3 - (2, 2, 2-trimethylhydrazine) propionate, L-NAME.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ, ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ МАРКЕТИНГ

УДК 615.457,615.011.3

ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕПЕНИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОГО ПОДОБИЯ МОЛЕКУЛ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ И СТРУКТУРНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ МАТЕРИАЛА КОНТАКТНЫХ ЛИНЗ

**В.В. АКОПОВА¹, А.В. ПОГРЕБНЯК²
Л.В. ПОГРЕБНЯК², Е.Т. ЖИЛЯКОВА¹**

*¹ Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

*²Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: vela-mag@mail.ru

Повышение биодоступности жидких лекарственных форм является основной задачей при их разработке. В этой связи поиск составов и технологических методик пролонгаторов-загустителей для лекарственных форм с жидкой дисперсной средой является актуальной.

Ключевые слова: молекулярное моделирование, дескрипторы, кластерный анализ, контактные линзы, полимеры.

Первые сообщения о применении мягких контактных линз в терапии глазных заболеваний, появившиеся в 60 – начале 70-х гг., свидетельствовали, что линзы могут оказывать лечебное действие, являясь искусственной повязкой при поражении роговой оболочки. Сегодня контактные линзы можно использовать и как средство введения лекарственных препаратов в глаз. Разработка составов и технологий требует современных подходов, поэтому транспортные системы, основанные на сорбционных процессах, могут быть смоделированы теоретически по расчету физико-химических величин и пространственной конфигурации молекул, и в зависимости от размера пор линз. Таким образом, был предложен метод прогноза совместимости лекарственных веществ и различных мономеров мягких контактных линз.

На этапе теоретического обоснования подбора 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.

Для выполнения поставленной задачи были использованы следующие программные комплексы:

1. Пакет молекулярного моделирования HyperChem® for Windows Release 8.0 Academic Version (лицензировано в 2011 г. для Пятигорской государственной фармацевтической академии).

2. Пакет статистических расчетов в составе программы Excel 2010 из офисного набора Microsoft Office 2010 Professional или Excel 2007 из офисного набора Microsoft Office 2007

Professional (лицензировано в 2006 и 2010 гг. для Пятигорской государственной фармацевтической академии).

3. Программы пп. 1 и 2 выполнялись под управлением ОС Windows XP и Windows 7 (лицензировано в 2006 и 2010 гг. для Пятигорской государственной фармацевтической академии).

Методика расчетов заключалась в следующем: оптимизация геометрии молекул лекарственных веществ производилась при помощи итерационной процедуры поиска локального (в случае удачи – глобального) минимума на поверхности потенциальной энергии (ППЭ). Локализация минимума на ППЭ осуществлялась двумя основными расчетными схемами: молекулярная механика (предварительно) и метод молекулярных орбиталей (МО).

Для первичной оптимизации геометрии использован метод молекулярной механики в силовом поле (ММР2) [1]. В силу своей экономичности, с точки зрения затрат машинного времени, данный метод использовался в основном для первичного анализа конформационной заселенности.

В качестве стартовой для метода МО была взята геометрия, полученная методом ММР2. В табл. 1 и на рис. 1 приведены примеры расчетов для мирамистина.

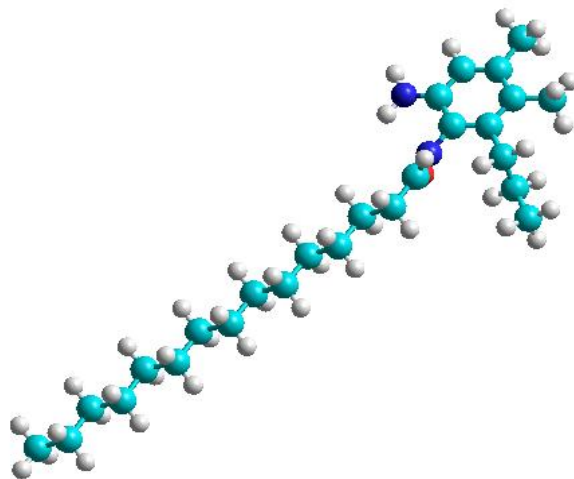


Рис. 1. Пространственное строение молекулы мирамистина

Таблица 1

Расчет физико-химических дескрипторов молекулы мирамистина

Вещество	Дескрипторы					
	Поляризуемость, А	Коэффициент распределения (log P)	Энергия гидратации, ккал/моль	НСМО	ВЗМО	Дипольный момент, Дебай
Мирамистин	49,92	7,69	2,69	0,236	-8,265	1,86

Поляризуемость молекулы характеризует степень смещения электронной плотности в молекуле при межмолекулярных взаимодействиях.

Дипольный момент является мерой асимметрии в распределении электронной плотности в молекуле. Обычно рассматривается дипольный момент химических связей, векторная сумма которых и образует дипольный момент молекулы. Молекула считается полярной, если ее дипольный момент отличается от нуля. Если отдельные связи в молекуле полярны, а их сумма равна 0, то молекула называется неполярной.

В результате расчетов было получено значение энергии гидратации. Данный дескриптор используется для прогнозирования растворимости веществ в воде.

Величина десятичного логарифма коэффициента распределения в модельной системе «октанол-вода» позволяет прогнозировать проницаемость БАВ через биомембраны.

Особо важное значение для дескрипторного описания молекулы БАВ имеют энергии верхней занятой и нижней свободной молекулярных орбиталей (ВЗМО и НСМО, граничные орбитали).

Вышеперечисленные дескрипторы, связанные с адсорбционной способностью молекул, могут использоваться для прогнозирования их адсорбционных свойств, при этом основной задачей является выяснение характера связи между дескрипторами молекулярной структуры и экспериментальными данными.

Полученная в результате оптимизации МО методом параметризованной модели (PM3) [2] геометрия использовалась далее для расчета физико-химических дескрипторов полуэмпирическими методами.

Главные физико-химические дескрипторы, определяющие взаимное сродство и степень адсорбции молекул: потенциал ионизации с учетом гидратации (PM3); сродство к электрону с учетом гидратации (PM3); α -поляризуемость (PM3); дипольный момент в газовой фазе (PM3); длина молекулы с учетом гидратации (PM3); коэффициент распределения в системе «октанол-вода» logP (аддитивный метод расчета).

Химические формулы и результаты квантово-химических расчетов структурных элементов полимеров и лекарственных веществ приведены в табл. 2 и 3.

Таблица 2

Химические формулы и результаты квантово-химических расчетов структурных элементов полимеров

Полимеры		Поляризуемость, А	Коэф. распределения (log P)	Энергия гидратации, ккал/моль	НСМО	ВЗМО	Дипольный момент, Дебай
Балафилкон А	NCVE	14,39	-0,31	-11,07	0,435	-10,059	3,34
	NVP	12,26	-0,27	-0,86	0,782	-8,915	3,53
	PBVC	206,87	1,9	-16,65	0,730	-8,351	16,83
	TPVC	41,34	-0,44	-2,68	0,907	-8,975	2,57
Лотрафилкон А	N,N-Dim	11,19	0,21	0,52	0,068	-9,197	3,73
	TRIS	41,82	0,49	1,27	0,370	-8,744	4,30
Окуфилкон А	EDMA	20,19	1,61	-1,74	-0,179	-10,614	5,86
	HEMA	12,95	0,45	-6,86	-0,108	-10,548	3,43
	MAA	8,65	0,86	-5,32	-0,153	-10,629	2,07
Полимакон	HEMA	12,95	0,45	-6,86	-0,108	-10,548	3,43
Хилафилкон А	HEMA	12,95	0,45	-6,86	-0,108	-10,548	3,43
	NVP	12,26	-0,27	-0,86	0,782	-8,915	3,53
	ALM	14,15	1,8	-0,84	0,920	-10,248	1,89
	EDMA	20,19	1,61	-1,56	-0,321	-10,657	5,96
Этафилкон А	2E2H	31,73	2,26	-2,47	-0,254	-10,116	2,95
	HEMA	12,95	0,45	-6,86	-0,108	-10,548	3,43
	MAA	8,65	0,86	-5,3	-0,171	-10,602	2,09

Примечание:

NCVE – N-карбоксивиниловый эфир,

NVP – N-винилпирролидон,

TPVC – (триметилсилокси)силпропилвинилкарбамат,

PBVC – поли(диметилсилокси)ди(силлбутанол)бис-винилкарбамат,

TRIS – метакрилоксипропилтрис(триметилсилоксисилан), N,N-Dim – N,N-

диметилакриламид,

HEMA – 2-гидроксиэтилметакрилат,

EDMA – этилендиметакрилат,

MAA – метакриловая кислота,

ALM – аллилметакрилат,

2E2H – 2-этил-2-гидроксиэтил-1,3-пропандиолтриметакрилат.



Таблица 3

**Химические формулы и результаты квантово-химических расчетов
лекарственных веществ**

Вещество	Поляризуемость, А	Коэф. распреде- ления (log P)	Энергия гидратации, ккал/моль	НСМО	ВЗМО	Дипольный момент, Дебай
Сульфацил-натрий	18,03	6,92	-10,62	-0,513	-8,993	7,11
Атропин	31,78	4,52	-6,37	-0,070	-9,442	5,33
Левомецетин	28,02	4,56	-16,00	-1,390	-10,640	3,77
Мирамистин	49,92	7,69	2,69	0,236	-8,265	1,86
Пилокарпин	22,42	3,70	-2,71	0,623	-9,454	4,45
Таурин	7,57	2,48	-14,65	-0,079	-9,874	2,73
Тимолол	32,56	1,21	-9,93	-0,966	-9,043	3,64
Эмоксилин	15,87	0,84	-6,27	-0,030	-9,176	0,53

Найденные теоретически дескрипторы в форме табл. 1.2 и 1.3 переносились в статистическую программу, где с ними осуществляли стандартную процедуру разбиения на кластеры методом k-среднего [3].

Результаты разделения на кластеры представлены в табл. 4-8.

Таблица 4

**Сводная таблица разделения на кластеры мономеров материалов
контактных линз и лекарственных веществ**

	Кластер	Отклонение
NCVE	4	2,42
NVP	4	2,26
PBVC	1	0,00
TPVC	2	2,17
N,N-Dim	4	2,84
TRIS	2	1,50
EDMA	4	3,02
HEMA	4	0,99
MAA	4	2,44
ALM	4	2,05
2E2H	3	2,62
Сульфацил-натрий	4	3,69
Атропин	3	1,31
Левомецетин	3	3,31
Мирамистин	2	3,25
Пилокарпин	4	3,62
Таурин	4	4,67
Тимолол	3	1,18
Эмоксилин	4	1,47

Таблица 5

Компоненты кластера №1

Отклонение	PBVC
	0,00

Таблица 6

Компоненты кластера №2

Показатель	TPVC	TRIS	Мирамистин
Отклонение	2,17	1,5	3,25

Таблица 7

Компоненты кластера №3

Показатель	2E2H	Атропин	Левомецетин	Тимолол
Отклонение	2,62	1,31	3,31	1,18

Таблица 8

Компоненты кластера №4

Показатель	NCVE	NVP	N,N-Dim	EDMA	HEMA	MAA	ALM	Сульфацил-натрий	Пилокарпин	Таурин	Эмоксипин
Отклонение	2,42	2,26	2,84	3,02	0,99	2,44	2,05	3,69	3,62	4,67	1,47

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 табл. 9.

Таблица 9

Сродство физико-химических дескрипторов лекарственных веществ и мономеров контактных линз

Вещество	Мономер									
	NCVE	NVP	TPVC	N,N-Dim	TRIS	EDMA	HEMA	MAA	ALM	2E2H
Сульфацил-натрий	+	+		+		+	+	+	+	
Атропин										+
Левомецетин										+
Мирамистин			+		+					
Пилокарпин	+	+		+		+	+	+	+	
Таурин	+	+		+		+	+	+	+	
Тимолол										+
Эмоксипин	+	+		+		+	+	+	+	

Состав полимеров контактных линз, а также данные, приведенные в таблице, позволяют сделать вывод о том, что для насыщения контактных линз 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, левомецетином и тимололом следует проводить на линзу из этафилкона А, а для мирамистина подходят такие полимеры как балафилкон А и лотрафилкон А.

Предложенная нами методология определения сродства молекул биологически активных соединений и структурных элементов глазных линз позволяет на ранних этапах планирования способа транспорта данного вещества к тканям глазного яблока определять – какие именно материалы особенно пригодны для адсорбции (удержания) того или иного соединения, что позволяет значительно сузить объем соответствующего эксперимента.

Литература

1. Berkert, U. Molecular Mechanics / U. Berkert, N.L. Allinger. – American Chemical Society Monograph 177, Washington, D.C. – 1982.
2. Orozco, M. Development of Optimized MST/SCRF Methods for Semiempirical Calculations. The MNDO and PM3 Hamiltonians / M. Orozco, M. Bachs, F.J. Luque // J.Comp.Chem. – 1995. – №16. – P.563-585.
3. MacQueen, J. Some methods for classification and analysis of multivariate observations / J. MacQueen// Proceedings of the Fifth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability.- Berkeley, California: University of California Press, 1967. – Vol.1. – P.281-297.



INVESTIGATION OF THE DEGREE OF PHYSICAL AND CHEMICAL SIMILARITY OF MOLECULAR DRUGS AND STRUCTURAL ELEMENTS OF THE MATERIAL CONTACT LENSES

V.V. AKOPOVA¹

A.V. POGREBNYAK²

L.V. POGREBNYAK²

E.T. ZHILYAKOVA¹

¹*Belgorod National Research University*

²*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

e-mail: vela-mag@mail.ru

The article reflects research on the theoretical basis of material selection of contact lenses for specific drugs by methods of molecular modeling (molecular mechanics method and the method of molecular orbitals). For comparison, the calculated physicochemical parameters and determine the lens material was used cluster analysis in the approximation of k-average.

Keywords: molecular modeling, descriptor, cluster analysis, contact lenses, polymers

УДК 661.122, 661.123, 615.015.14

ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КОМБИНИРОВАННОГО ПРОЛОНГАТОРА НАТРИЙ КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ И ПОЛИВИНИЛОВОГО СПИРТА С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ЖИДКОЙ ДИСПЕРСИОННОЙ СРЕДОЙ

**Е.Т. ЖИЛЯКОВА, Н.Н. ПОПОВ
М.Ю. НОВИКОВА, О.О. НОВИКОВ
Д.А. ФАДЕЕВА**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: Ezhilyakova@bsu.edu.ru

Повышение биодоступности жидких лекарственных форм является основной задачей при их разработке. В этой связи поиск составов и технологических методик пролонгаторов-загустителей для лекарственных форм с жидкой дисперсной средой является актуальной. Выбор технологического процесса обработки полимеров натрий карбоксиметилцеллюлозы и поливинилового спирта приводящей к повышению вязкости, создает условие формирования перспективных комбинированных форм.

Ключевые слова: пролонгаторы, натрий карбоксиметилцеллюлоза, спирт поливиниловый.

Введение. В настоящее время отмечается увеличение количества производителей готовых лекарственных средств. Однако недостаточный опыт в разработке и продвижении отечественных лекарственных препаратов, их более низкое качество и узкий ассортимент не позволяют существенно потеснить иностранных производителей на российском фармацевтическом рынке [8].

В свою очередь, широкое применение в фармацевтическом производстве находят многокомпонентные композиции вспомогательных веществ, так как путем их совместного производства достигается изменение физико-механических свойств индивидуальных веществ. Примером могут служить Целлактоза (смесь лактозы и целлюлозы), пласдон S-630 (смесь повидона и полиэтиленгликоля), Лудипресс (смесь лактозы и Коллидонов), Просолв (смесь МКЦ и аэросила) [2].

В фармацевтической технологии в качестве вспомогательных веществ широкое применение находят натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) и поливиниловый спирт (ПВС). Такой выбор обусловлен, в основном, их способностью наиболее эффективно пролонгировать действие глазных капель, мазей, суппозиторных основ и суспензий путем повышения вязкости лекарственных форм.

В последнее время в мире особый интерес вызывает механохимия – наука, изучающая химические и физико-химические превращения вещества при механических воздействиях. Значимость и перспективность этого направления доказана и обоснована. Также находит место использование механохимических подходов в фармацевтической промышленности [6].

Механическая обработка лекарственных и вспомогательных веществ способствует увеличению площади поверхности твердого вещества, формированию частиц оптимального размера, приводит к уменьшению степени кристалличности и аморфизации веществ. Использование приведенного эффекта позволяет оптимизировать растворимость веществ, повышая биологическую доступность лекарственного средства [7].

Установлено, что механохимические явления становятся определяющими как в отношении физико-химических свойств препаратов, так и их биологического эффекта [9]. По некоторым данным известно, что механическое измельчение не загрязняет измельчаемые вещества, а в результате механической активации повышается биодоступность субстанций [5].

Так, механохимическое получение твердофазных комплексов лекарственных веществ с растительными полисахаридами представляется перспективным путем модификации лекарственных средств, позволяющим повысить растворимость, а следовательно, биодоступность лекарственных веществ; снизить действующую дозу лекарственных веществ с сохранением высокой базовой активности; уменьшить степень выраженности побочных эффектов, характерных для лекарственных веществ [3].

Известна способность молекул полимеров под действием механической нагрузки



распрямляться и кристаллизоваться. При условии сохранения стабильности дисперсий, последствием механической обработки некоторых полимеров является увеличение вязкости их растворов и дисперсий в 2-4 раза, что позволяет достигнуть снижения количества вспомогательных веществ в лекарственных формах [7].

В настоящее время широкое применение находят многокомпонентные композиции вспомогательных веществ, полученные путем совместной обработки, в результате чего достигается изменение физико-механических свойств индивидуальных веществ [1].

Резюмируя вышесказанное, можно констатировать, что использование механохимических приемов обработки лекарственных и вспомогательных веществ способствует их модификации, повышению растворимости, увеличению вязкости их растворов, повышает биологическую доступность веществ, что позволит создавать новые лекарственные препараты с минимальным содержанием действующих и вспомогательных веществ и более высокой терапевтической эффективностью, а также позволит оптимизировать некоторые технологические процессы.

Таким образом, рабочая гипотеза исследования состоит в следующем: проведение механохимической обработки полимеров в измельчителях различного типа способствует образованию новых молекулярных фрагментов, позволяющих изучить их физико-химические свойства (вязкость, растворимость), что в свою очередь может привести к возможности снижения их концентраций.

Целью данной работы явилась разработка технологии супрамикроструктурирования комбинированного пролонгатора натрий карбоксиметилцеллюлозы и поливинилового спирта и изучение физико-химических и технологических свойств полученной субстанции для использования в создании пролонгированных лекарственных форм.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования использовались Na-КМЦ Камцел 500 (ТУ 2231-002-50277563-00) и поливиниловый спирт 16/1 (ГОСТ 10779-78).

Получение супрамикроструктурированной субстанции производилось путем измельчения смеси порошка Na-КМЦ и ПВС в соотношениях 1:1, 1:2, 1:3, 2:3, 2:5 в различных временных режимах. Смесь полимера массой 20 грамм помещали в барабан шаровой вибрационной мельницы МЛ-1 (мельницы дисковой Retsch RS-200) и измельчали в различных временных режимах: 5, 15, 30, 45, 60 минут. Затем проводилось изучение физико-химических и технологических характеристик полученных супрамикроструктурированных субстанций.

Изучение формы частиц полученных супрамикроструктурированных форм полимеров проводилось на растровом ионно-электронном микроскопе Quanta 200 3D в Центре коллективного пользования научным оборудованием БелГУ «Диагностика структуры и свойств наноматериалов».

Определение вязкости и pH супрамикроструктурированных субстанций проводилось в соответствии с ОФС (42-0038-07) «Вязкость» и ОФС (42-0048-07) «Ионометрия» Государственной Фармакопеи Российской Федерации XII издания с использованием вискозиметра капиллярного ВПЖ-2 и ионометра ИЛ-160.

Приготовление раствора комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС. Навеску порошка заливали холодной водой необходимого объема, оставляли на сутки, после чего нагревали на водяной бане при температуре 90° С, помешивая, до полного растворения.

Определение технологических характеристик супрамикроструктурированных субстанций проводилось по общепринятым методикам [4].

Определение сыпучести производилось на приборе ВП-12А. Навеску порошка массой 20 г засыпали в сухую воронку прибора при закрытой заслонке, включали прибор и секундомер. После 20 секунд утряски, необходимой для стабильных показаний, открывали заслонку и фиксировали время полного истечения порошка из воронки. Сыпучесть определяли по формуле

$$V_c = \frac{m}{t-20} \quad (1)$$

где V_c – сыпучесть, г/с; m – масса навески, г; t – полное время опыта, с; 20 – время утряски, с.

Определение угла естественного откоса также производилось на приборе ВП-12А. Измеряли угол между образующей конуса сыпучего материала и горизонтальной плоскостью.

Для определения насыпной массы навеску исследуемого порошка насыпали в мерный цилиндр малыми порциями при легком постукивании по стенке цилиндра до постоянного объема, затем порошок взвешивали и рассчитывали насыпную массу по формуле:

$$\rho_n = \frac{m}{V}, \quad (2)$$

где ρ_n – насыпная масса, кг/м³; m – масса сыпучего материала, кг; V – объем порошка в измерительном цилиндре после утряски, м³.

Относительная плотность – отношение насыпной массы к истинной плотности:

$$\tau_r = \frac{\rho_n}{\rho} \cdot 100, \quad (3)$$

где ρ_n – насыпная масса, кг/м³; ρ – удельная масса, кг/м³.

Пористость – объем свободного пространства между частицами порошка:

$$P = 100 - \tau_r, \quad (4)$$

где τ – относительная плотность.

Для определения коэффициента прессуемости навеску исследуемого порошка массой 0,5 г прессовали в матрице диаметром 11 мм на таблеточном прессе 6000S, затем измеряли высоту и массу таблетки. Коэффициент прессуемости определяли по формуле:

$$K_{ПР} = \frac{m}{h}, \quad (5)$$

где $K_{ПР}$ – коэффициент прессуемости, г/мм; m – масса таблетки, г; h – высота таблетки, мм.

Результаты исследования. В рамках исследования было проведено изучение формы и размеров частиц супрамикроструктурированного комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС.

Изучение формы и размеров частиц супрамикроструктурированного комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС.

На рис. 1-25 представлены микрофотографии супрамикроструктурированного комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в соотношениях 1:1, 1:2, 1:3, 2:3, 2:5 после обработки в различных временных режимах в мельнице МЛ-1 (мельницы дисковой Retsch RS-200).

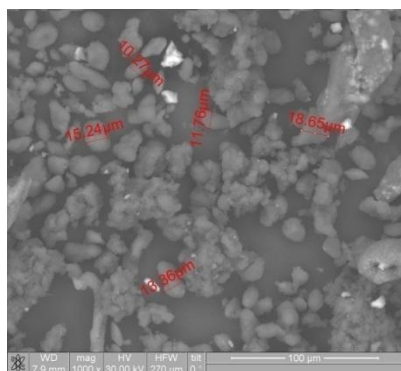


Рис. 1. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:1) после 5 минут измельчения

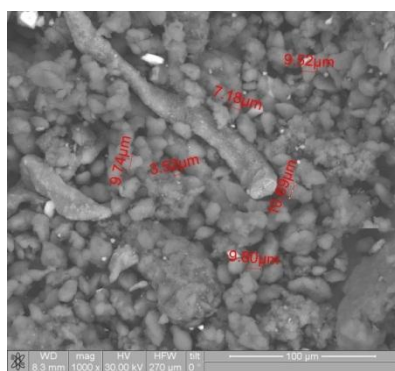


Рис. 2. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:1) после 15 минут измельчения

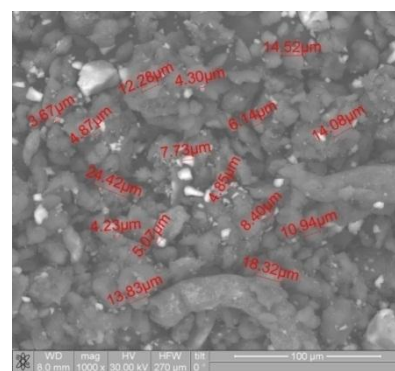


Рис. 3. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:1) после 30 минут измельчения

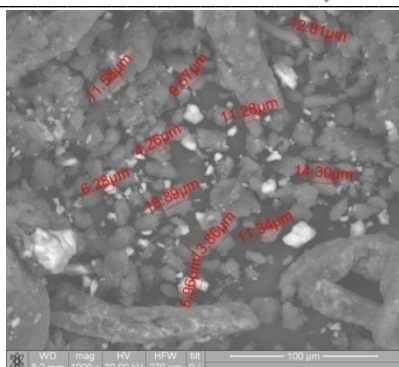


Рис. 4. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:1) после 45 минут измельчения

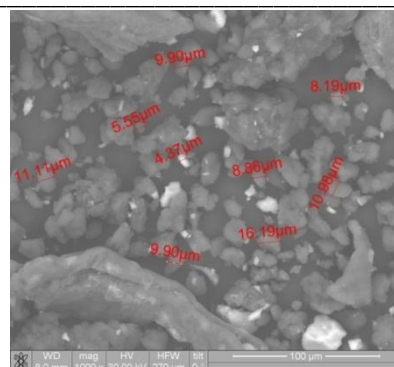


Рис. 5. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:1) после 60 минут измельчения

По данным рис. 1-5 видно, что совместное измельчение Na-КМЦ и ПВС в соотношении 1:1 также способствует уменьшению размеров частиц полимеров, разрушению глобулярной структуры Na-КМЦ, образованию агломератов. После 5 и 15 минут обработки размер частиц полимеров находится в пределах 10-20 мкм, встречаются остатки глобулярной структуры Na-КМЦ. После 30 и 45 минут обработки увеличивается количество более мелких частиц, появляются агломераты, размер частиц около 5-20 мкм. После 60 минут обработки количество агломератов возрастает, большинство частиц разрушено, размер частиц в пределах 5-15 мкм.

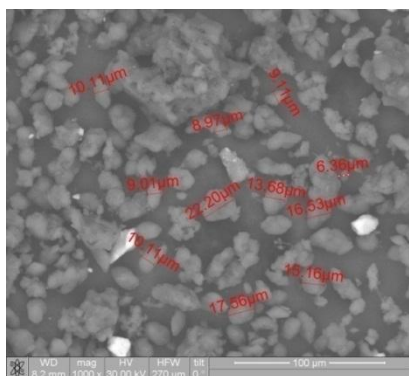


Рис. 6. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:2) после 5 минут измельчения

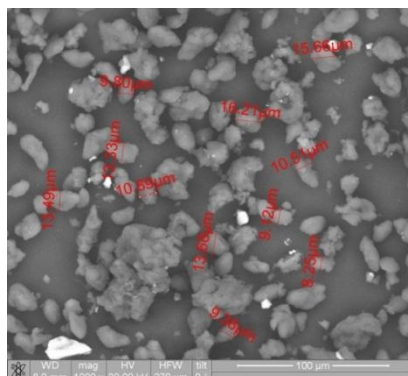


Рис. 7. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:2) после 15 минут измельчения

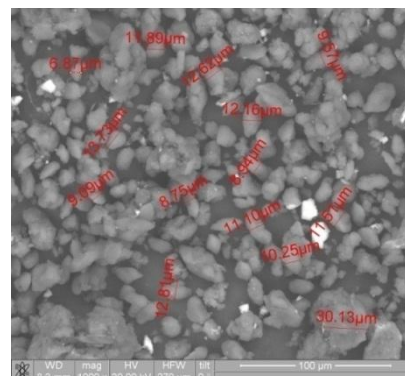


Рис. 8. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:2) после 30 минут измельчения

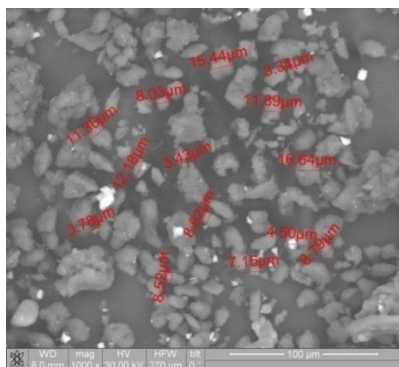


Рис. 9. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:2) после 45 минут измельчения

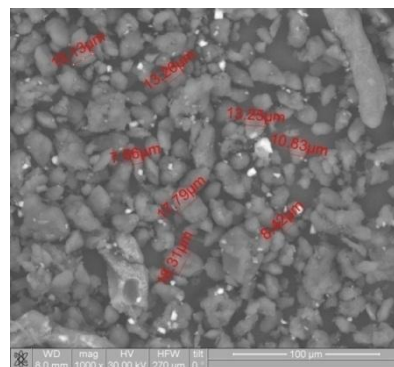


Рис. 10. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:2) после 60 минут измельчения

Как видно из рис. 6-10, после измельчения смеси полимеров в соотношении 1:2 в течение 5-15 минут размер частиц находится в пределах 8-22 мкм, практически полностью разрушается глобулярная структура Na-КМЦ. В свою очередь в режимах 30-45-60 минут происходит уменьшение размеров частиц полимера, образование агломератов, размер частиц находится в пределах 7-30 мкм.

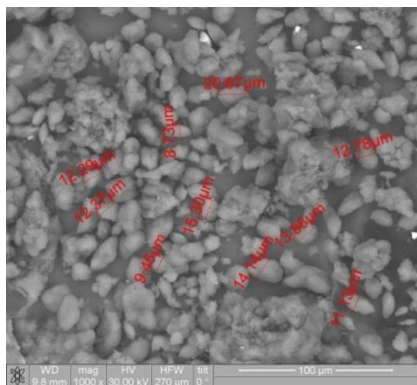


Рис. 11. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:3) после 5 минут измельчения

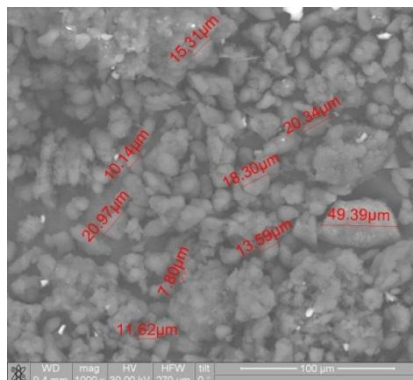


Рис. 12. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:3) после 15 минут измельчения

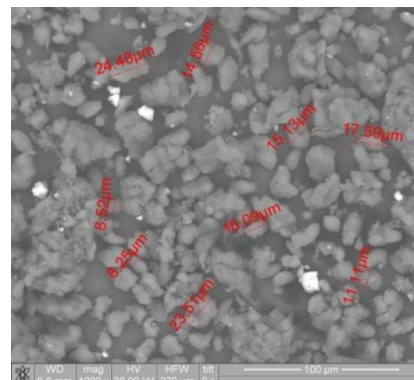


Рис. 13. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:3) после 30 минут измельчения

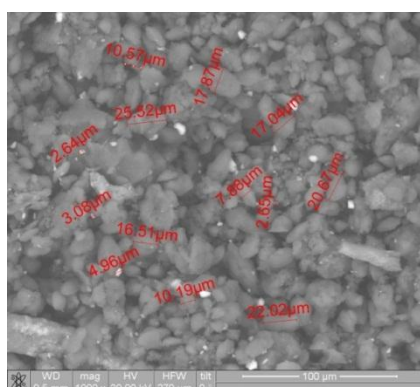


Рис. 14. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:3) после 45 минут измельчения

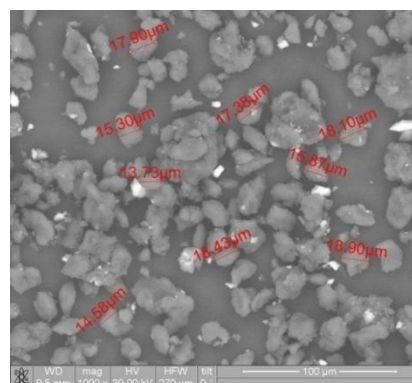


Рис. 15. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:3) после 60 минут измельчения

По данным рис. 11-15 видно, что измельчение смеси Na-КМЦ и ПВС в соотношении 1:3 в режимах 5-15 минут способствует появлению агломератов, размер частиц 8-20 мкм. После измельчения в режимах 30-45 минут количество агломератов уменьшается, увеличивается количество более мелких частиц размером 5-25 мкм. В свою очередь в режиме 60 минут обработки количество агломератов невелико, преобладают частицы размером около 10-20 мкм.

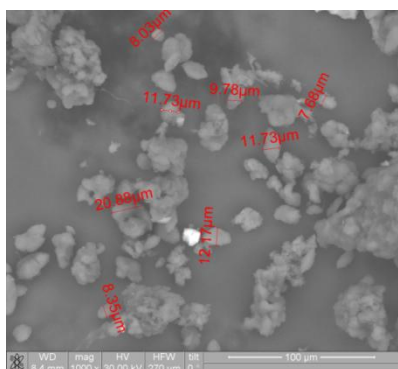


Рис. 16. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:3) после 5 минут измельчения

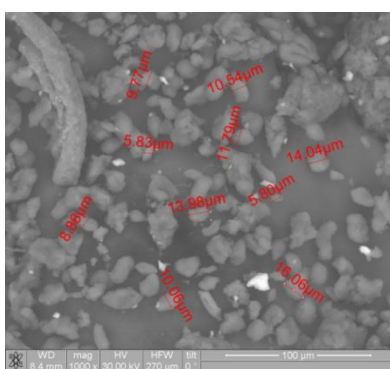


Рис. 17. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:3) после 15 минут измельчения

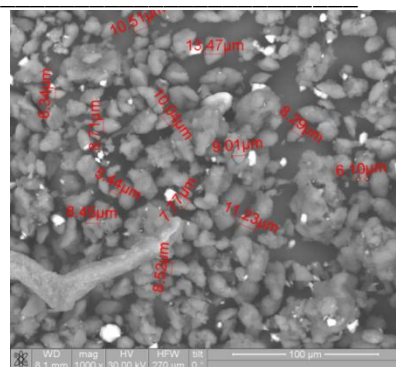


Рис. 18. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:3) после 30 минут измельчения

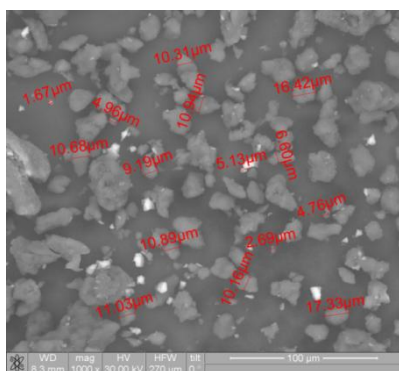


Рис. 19. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:3) после 45 минут измельчения

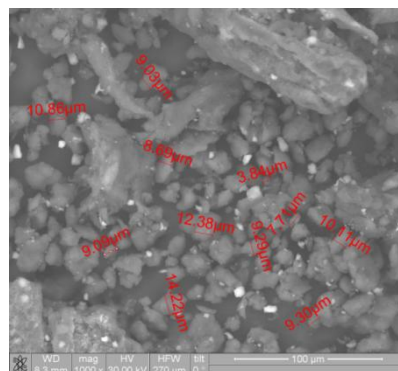


Рис. 20. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:3) после 60 минут измельчения

Из рис. 16-20 видно, что измельчение Na-КМЦ и ПВС в соотношении 2:3 во всех режимах не приводит к полному разрушению глобулярной структуры Na-КМЦ. Размер частиц с увеличением времени практически не изменяется и находится в пределах 5-20 мкм. Увеличение более мелкой фракции порошка полимера происходит пропорционально в режимах 30-45-60 минут, агломерирование частиц незначительно.

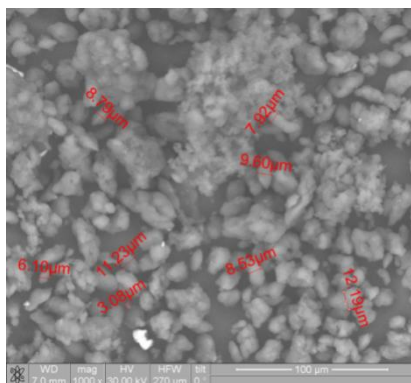


Рис. 21. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:5) после 5 минут измельчения

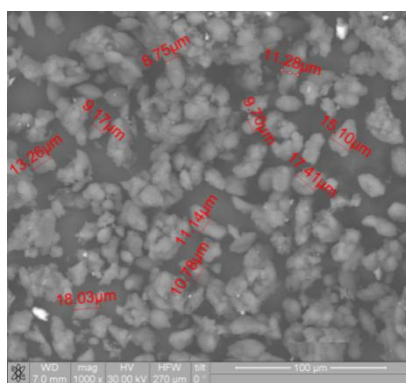


Рис. 22. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:5) после 15 минут измельчения

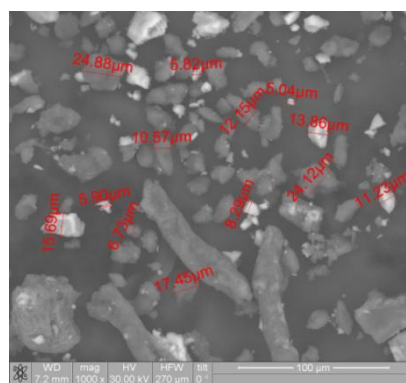


Рис. 23. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:5) после 30 минут измельчения

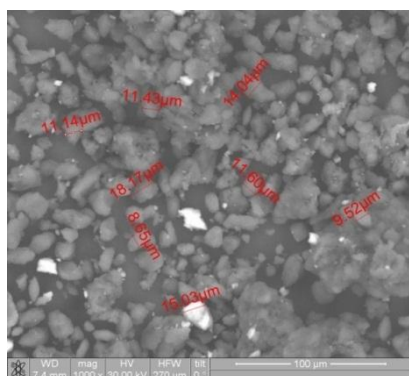


Рис. 24. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:5) после 45 минут измельчения

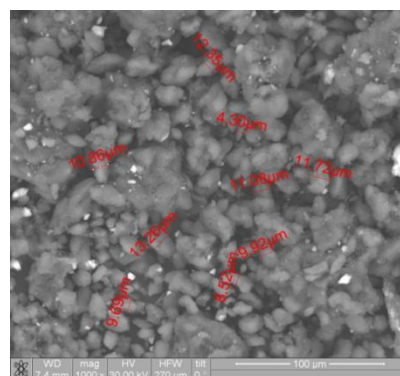


Рис. 25. Микрофотография комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:5) после 60 минут измельчения

По данным рис. 21-25, измельченный комбинированный пролонгатор Na-КМЦ и ПВС в соотношении 2:5 содержит большое количество агломерированных частиц, количество обломков глобул Na-КМЦ незначительно. В режимах 5 и 15 минут размер частиц 5-15 мкм, значительно количество агломератов. В режимах 30-45 минут количество агломератов увеличивается, увеличивается также количество более мелких частиц, размер частиц в среднем 7-30 мкм. В режиме 60 минут практически все частицы полимера агломерированы, размер частиц около 7-20 мкм.

Таким образом, анализируя микрофотографии измельченного комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в различных временных режимах и соотношениях, можно констатировать следующее: в процессе механической обработки происходит увеличение количества частиц полимера с меньшим размером, образование агломератов, разрушение глобулярной структуры Na-КМЦ. Средний размер частиц полимера во всех соотношениях в целом остается постоянным и находится в пределах 5-30 мкм.

Изучение изменения физико-химических характеристик комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в процессе супрамикроструктурирования

Результаты определения кинематической вязкости и pH водных растворов комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС представлены в табл. 1 и 2.

Графики зависимости кинематической вязкости и pH от времени супрамикроструктурирования представлены на рис. 9, 10.

Таблица 1

Кинематическая вязкость водных растворов комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в процессе супрамикроструктурирования, сСт

Вспомогательное вещество	Концентрация водного раствора, %	Время измельчения, мин					
		0	5	15	30	45	60
Соотношение Na-КМЦ и ПВС 1:1	1%	5,80	3,44	5,17	6,25	5,95	4,98
Соотношение Na-КМЦ и ПВС 1:3	2%	3,50	7,09	6,71	10,77	8,67	11,74
Соотношение Na-КМЦ и ПВС 2:3	1%	2,83	3,16	2,39	5,73	2,77	3,36
	2%	12,37	14,16	14,78	22,82	17,87	23,81

Таблица 2

pH водных растворов комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в процессе супрамикроструктурирования

Вспомогательное вещество	Концентрация водного раствора, %	Время измельчения, мин					
		0	5	15	30	45	60
Соотношение Na-КМЦ и ПВС 1:3	2%	8,41	6,27	6,21	6,67	6,88	6,91
Соотношение Na-КМЦ и ПВС 2:3	2%	5,09	4,96	4,95	4,86	5,10	4,94



Рис. 26. Зависимость кинематической вязкости водных растворов 1% комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:1) от времени измельчения

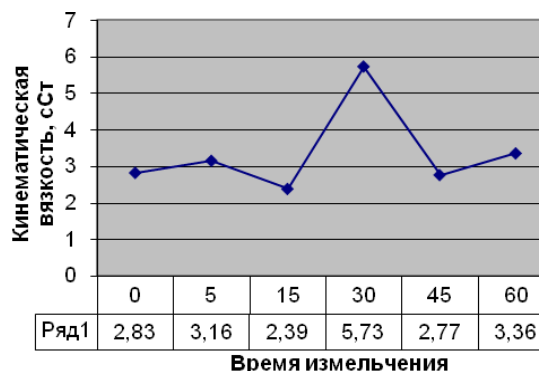


Рис. 27. Зависимость кинематической вязкости водных растворов 1% комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:3) от времени измельчения

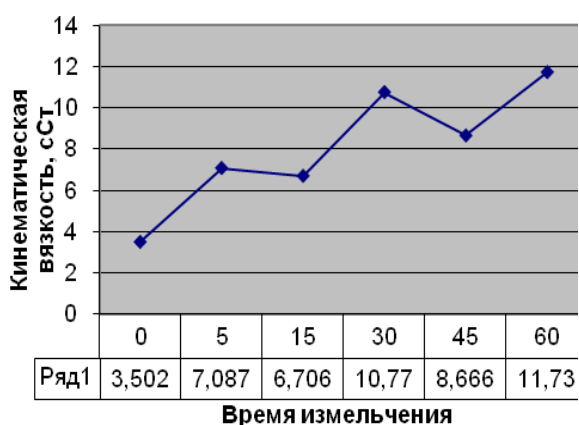


Рис. 28. Зависимость кинематической вязкости водных растворов 2% комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (1:3) от времени измельчения

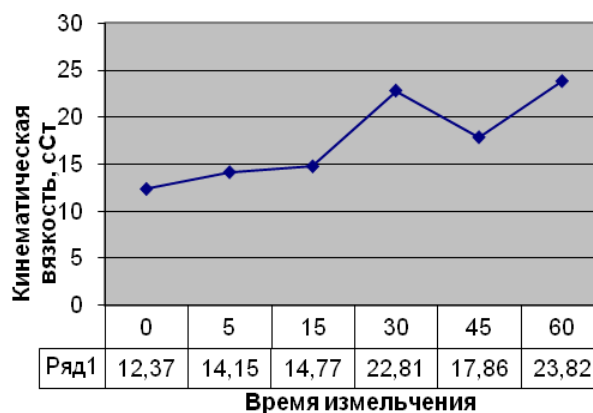


Рис. 29. Зависимость кинематической вязкости водных растворов 2% комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС (2:3) от времени измельчения

По данным табл. 1 и графиков на рис. 26-29 видно, что супрамикроструктурирование комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в различных соотношениях способствует повышению кинематической вязкости водных растворов этого вспомогательного вещества. Установлено, что максимальное повышение вязкости 1% водного раствора комбинированного пролонгатора-загустителя Na-КМЦ и ПВС для соотношения 1:1 с 5,8 сСт, не измельченного до 6,25, и для соотношения 1:3 с 2,83 сСт, не измельченного до 5,73 сСт, отмечается в режиме 30 минут. В свою очередь максимальное повышение кинематической вязкости 2% водного раствора комбинированного пролонгатора для соотношения 1:3 с 3,5 сСт, не измельченного до 11,74 сСт, наблюдается в режиме 60 минут.

Как видно из табл. 2, значения pH комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС находятся в интервале 5,00-8,41. Таким образом, супрамикроструктурирование практически не изменяет значение pH водных растворов этого пролонгатора.

Таким образом, в процессе супрамикроструктурирования комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в различных соотношениях происходит увеличение кинематической вязкости его растворов, pH существенно не изменяется.

Изучение изменения технологических характеристик комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в процессе супрамикроструктурирования.

В табл. 3 представлены технологические характеристики супрамикроструктурированного комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС.

Таблица 3

Изменение технологических характеристик комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в процессе супрамикроструктурирования

Наименование вспомогательного вещества	Тип измельчителя	Время измельчения, мин	Сыпучесть, г/с	Угол естественного оплоса, °	Насыпная масса, кг/м ³	Относительная плотность, %	Пористость, %	Коэффициент прессуемости, г/мм
Na-КМЦ и ПВС (1:1)	МЛ-1	0	2,00	45	548	38,59	61,41	Не пресс.
		5	4,75	45	714	50,28	49,72	Не пресс.
		15	4,78	45	787	55,42	44,58	Не пресс.
		30	4,16	40	815	57,39	42,61	Не пресс.
		45	2,78	45	786	55,35	44,65	Не пресс.
		60	2,50	45	796	55,05	44,95	Не пресс.
Na-КМЦ и ПВС (1:2)	МЛ-1	0	2,10	40	623	45,70	54,30	0,169
		5	4,47	40	700	51,36	48,64	0,169
		15	4,16	35	746	54,73	45,27	0,128
		30	3,63	30	688	50,48	49,52	0,125
		45	2,92	35	683	50,11	49,89	0,128
		60	1,25	30	739	54,22	45,78	0,125
Na-КМЦ и ПВС (1:3)	МЛ-1	0	2,09	45	597	44,72	55,28	0,173
		5	4,49	40	724	54,23	45,77	0,167
		15	3,30	40	752	56,33	43,67	0,170
		30	2,59	39	750	48,91	51,09	0,170
		45	1,41	39	740	47,94	52,06	0,170
		60	1,40	37	780	49,44	50,56	0,167
Na-КМЦ и ПВС (2:3)	МЛ-1	0	2,13	45	590	42,57	57,43	0,167
		5	4,86	40	716	51,66	48,34	0,170
		15	4,75	40	769	55,48	44,52	0,170
		30	3,74	35	804	58,01	41,99	0,167
		45	2,90	35	830	48,12	51,88	0,170
		60	2,54	35	800	57,72	42,28	0,167
Na-КМЦ и ПВС (2:5)	МЛ-1	0	2,20	40	607	45,06	54,94	0,170
		5	2,70	40	623	48,11	51,89	0,170
		15	2,90	40	651	49,29	50,71	0,167
		30	3,93	40	776	57,10	42,90	0,170
		45	2,76	40	655	48,63	51,37	0,167
		60	2,54	40	680	47,51	52,49	0,170

На рис. 30-31 представлены графики зависимости технологических характеристик комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС от времени супрамикроструктурирования.

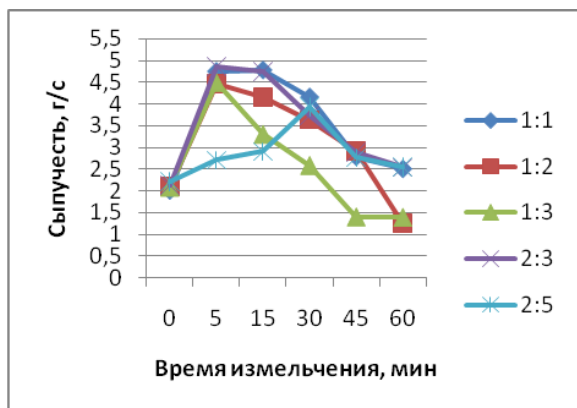


Рис. 30. Зависимость сыпучести комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в различных соотношениях от времени измельчения

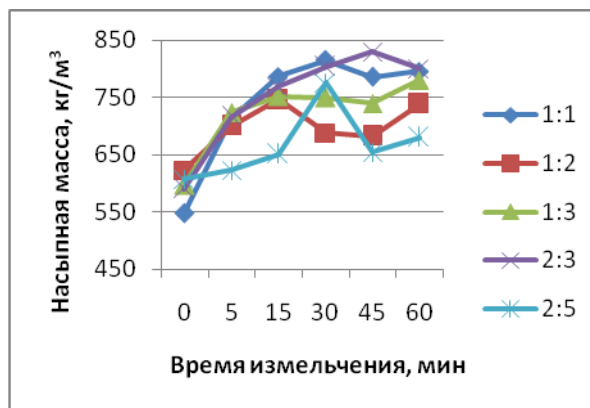


Рис. 31. Зависимость насыпной массы комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в различных соотношениях от времени измельчения



Как видно из графика на рис. 30, значения сыпучести неизмельченных компонентов соотношений комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС 1:1, 1:2, 1:3, 2:3, 2:5 составляют в среднем 2,08 г/с, что характеризует сыпучесть этих объектов как плохую. В ходе супрамикроструктурирования этот показатель для комбинированного пролонгатора во всех соотношениях возрастает. Максимальная сыпучесть комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в соотношениях 1:1, 1:2 и 2:3 отмечается в режимах 5-15 минут. Сыпучесть объекта в соотношениях 1:1, 1:2, 2:3 в режиме 5 минут составляет 4,75 г/с, 4,47 г/с, 4,86 г/с; в режиме 15 минут 4,78 г/с, 4,16 г/с, 4,75 г/с соответственно, что выше сыпучести неизмельченных субстанций в 2,4 раза. Для соотношения 1:3 максимальная сыпучесть наблюдается в режиме 5 минут и составляет 4,49 г/с, что выше неизмельченной субстанции в 2,14 раз. Дальнейшее увеличение времени измельчения пролонгатора в соотношении 1:1, 1:2, 1:3, 2:3 приводит к постепенному уменьшению этой характеристики. В свою очередь для соотношения 2:5 показатель сыпучести возрастает в интервале 5-30 минут, максимальная сыпучесть наблюдается в режиме 30 минут и составляет 3,93 г/с, дальнейшее измельчение приводит к уменьшению сыпучести.

Также отмечается изменение угла естественного откоса в ходе супрамикроструктурирования комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС. Для соотношений 1:2 и 2:3 с углом откоса неизмельченных субстанций 40° и 45° соответственно характерно его уменьшение в режимах 5, 15, 30 минут соотношения 1:2 до 40° , 35° , 30° и соотношения 2:3 до 40° , 40° , 35° . Угол естественного откоса соотношения 1:1 составляет 45° и уменьшается в режиме 30 минут до 40° ; соотношения 1:3 составляет 45° , снижается в режимах 5-60 минут до 40° ; соотношения 2:5 неизмельченного и измельченного пролонгатора составляет 40° .

Как видно из графика на рис. 31, для неизмельченного комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС всех соотношений характерна насыпная масса в пределах 548-623 кг/м³, что характеризует их как легкие порошки. После измельчения во всех указанных временных режимах насыпная масса комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в соотношении 1:1 возрастает до значения показателя, характерного для средних порошков в режимах 15, 30, 45, 60 минут – 787 кг/м³, 815 кг/м³, 786 кг/м³, 796 кг/м³ соответственно, максимума достигает в режиме 30 минут – в 1,5 раза выше исходной.

Такая же зависимость наблюдается и при измельчении комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в соотношении 1:2 – происходит увеличение значения насыпной массы до величины, характерной для средних порошков. При этом максимальных значений насыпная масса достигает в режимах 15 и 60 минут – 746 кг/м³ и 739 кг/м³, что в 1,2 раза выше исходного значения. Для соотношения 1:3 характерно увеличение насыпной массы в режимах 15, 30, 60 минут – 752 кг/м³, 750 кг/м³, 780 кг/м³, максимальное значение в режиме 60 минут – в 1,3 раза выше исходной. Измельчение комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в соотношении 2:3 способствует увеличению насыпной массы в режимах 30, 45, 60 минут – 804 кг/м³, 830 кг/м³, 800 кг/м³, максимум в режиме 45 минут – в 1,41 раз выше насыпной массы неизмельченного пролонгатора. Насыпная масса комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС в соотношении 2:5 увеличивается в режиме 30 минут до 776 кг/м³, что в 1,28 раз выше исходной.

По результатам определения относительной плотности и пористости установлено, что в процессе супрамикроструктурирования пролонгатора во всех режимах отмечается увеличение значений относительной плотности всех соотношений и уменьшение значений пористости.

В ходе определения коэффициента прессуемости установлено, что комбинированный пролонгатор Na-КМЦ и ПВС в соотношении 1:1 не прессуется. Коэффициент прессуемости в соотношении 1:2 в режиме 5 минут не изменяется и составляет 0,169, в режимах 15-60 минут снижается на 25% до 0,125-0,128 г/мм; в соотношениях 1:3, 2:3 и 2:5 в режимах 5-60 минут незначительно отклоняется на 2% от исходного значения и составляет 0,167-0,170 г/мм.

Таким образом, в ходе супрамикроструктурирования комбинированного пролонгатора Na-КМЦ и ПВС происходит улучшение его технологических характеристик: сыпучесть увеличивается и становится удовлетворительной, возрастает насыпная масса пролонгатора.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., государственный контракт № П865 от 25 мая 2010 г. «Разработка технологии

производства супрамикроструктурированных полимеров, используемых для создания пролонгированных лекарственных средств».

Литература

1. Андреев, П.В. Применение отечественных модифицированных крахмалов в химико-фармацевтической промышленности (обзор) / П.В. Андреев // Химико-фармацевтический журнал – 2004. – №8. – С.37-41.
2. Воскобойникова, И.В. Современные вспомогательные вещества в производстве таблеток. Использование высокомолекулярных соединений для совершенствования лекарственных форм и оптимизации технологического процесса / И.В. Воскобойникова, С.Б. Авакян, Т.А. Сокольская [и др.] // Химико-фармацевтический журнал – 2005. – № 1. – С.22-28.
3. Душкин, А. В. Механохимическое получение и фармакологическая активность водорастворимых межмолекулярных комплексов арабиногалактана и лекарственных веществ / А. В. Душкин, Е. С. Метелева, Т. Г. Толстикова // Известия Академии наук. Серия химическая.– 2008. – № 6. – С. 1-9.
4. Езерский, М.Л. Методы определения технологических характеристик фармацевтических порошков. II. Насыпной вес, объемная плотность, сыпучесть, угол откоса, слипаемость, сопротивление сдвигу/ М.Л. Езерский // Химико-фармацевтический журнал – 1977. – № 8. – С. 98-114.
5. Коньгин, Г.Н. Механоактивированный препарат кальция глюконат: рентгеноструктурные, микроскопические и рентгеноэлектронные исследования / Г.Н. Коньгин, Ф.З. Гильмутдинов, С.Г. Быстров // Химия в интересах устойчивого развития. – 2005. – №13. – С.249-252.
6. Краткая химическая энциклопедия / гл. ред. И. Л. Кнунянц – Т. 1-5. – М., 1961. – С. 67.
7. Ломовский, О.И. Прикладная механохимия: фармацевтика и медицинская промышленность / О.И. Ломовский // Обработка дисперсных материалов и сред.: Междунар. период. сб. научн. тр. – Вып.11. – Одесса, 2001. – С.81-100.
8. Обзор российского фармацевтического рынка / Департамент консалтинга группы ИНЭК. – М., 2004.
9. Халиков, С.С. Аспекты механохимической технологии модификации биологически активных веществ / С.С. Халиков // Химия и медицина: тезисы докладов VIII Всероссийской конференции с международным участием. – Уфа: АН РБ, Гилем. – 2010. – С. 78.

STUDY OF PHYSIC-CHEMICAL AND TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF COMBINED PROLONGATOR WITH NA-CARBOXYMETHYLCELLULOSE AND POLYVINYL ALCOHOL IN ORDER TO CREATE PROLONGED DOSAGE FORMS WITH LIQUID DISPERSION MEDIUM

**E.T. ZHILYAKOVA, N.N. POPOV
M.YU. NOVIKOVA, O.O. NOVIKOV
D.A. FADEEVA**

*Belgorod National
Research University*

e-mail: EZhilyakova@bsu.edu.ru

Improvement of bioavailability liquid dosage forms is the main task in their design. In this regard search formulations and technological techniques of prolongators for dosage forms with liquid dispersed environment is relevant. Choice of technological process of polymer processing of PVA and Na-CMC for higher viscosity, creates a condition of prospective combined forms.

Key words: prolongators, Na-carboxymethylcellulose, polyvinyl alcohol.



ПОЛУЧЕНИЕ ЛАБОРАТОРНОГО ОБРАЗЦА СУБМИКРО- И/ИЛИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ СУБСТАНЦИИ ПАРАЦЕТАМОЛА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЕГО СТРУКТУРЫ

**М.Ю. НОВИКОВА, О.О. НОВИКОВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА, Д.А. ФАДЕЕВА
Н.Н. ПОПОВ, М.А. ХАЛИКОВА
В.С. КАЗАКОВА**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: Ezhilyakova@bsu.edu.ru

В статье приведены результаты исследований субстанции парацетамола до и после измельчения: парацетамол неизмельченный представляет собой продолговатые элементы с неровной поверхностью, в процессе измельчения наблюдается уменьшение размеров частиц парацетамола и образование пластинчатых элементов и равноосных частиц. Изучено распределение микрочастиц парацетамола.

Ключевые слова: парацетамол, субмикроструктурирование, микрочастицы.

Введение. Недостаток оригинальных отечественных лекарственных средств, соответствующих современному мировому уровню, является реальной экономической и национальной проблемой России. На российскую фармацевтическую отрасль оказывают влияние негативные факторы, среди которых технологическое отставание от зарубежных производителей с соответствующими различиями в части номенклатуры производимой продукции. Сегмент, по которому отставание приобретает широкий масштаб, представлен наиболее современными лекарствами, производство которых является чрезвычайно емким в отношении использования технологий. На сегодняшний день российская фармацевтическая промышленность производит достаточно ограниченный спектр лекарств, многие из которых можно считать устаревшим. Государство на протяжении последних лет демонстрирует высокую степень интереса к перспективным рынкам. Без сомнения, рынок фармацевтики также относится к их числу. Зависимость от импортных субстанций негативно влияет на лекарственную безопасность страны [1].

Развитие современных технологий, использующих процессы диспергирования, сделало весьма актуальной проблему оптимизации технологических свойств материалов, подвергнутых интенсивным механическим воздействиям. Работы в этом направлении стимулируются необходимостью получения активированных веществ с заданными свойствами в значительной мере оптимизированными, в сравнении с таковыми в исходном состоянии.

Предварительные исследования, в том числе с использованием механохимических приемов, показали, что существующая степень решения проблемы комплексного изучения физико-химических свойств, безопасности фармакологической активности субмикро- и наноструктурированных фармацевтических субстанций требует дальнейшей разработки новых методических подходов и алгоритмов для повышения качества получаемых результатов. Результаты экспериментальных исследований позволяют планировать высокую эффективность и преимущества разрабатываемых в рамках проекта методик по сравнению с используемыми в настоящее время аналогами, что свидетельствует об адекватности избранного направления решаемым задачам.

Тема механохимии и механоактивации достаточно широко рассматривается в исследованиях как отечественных, так и зарубежных авторов [2]. В наиболее обобщающих трудах вопрос освещается в традиционном стиле и подходе, характерном для литературы академической направленности [3-5]. Исследователи не ставят перед собой задачи практического воплощения полученных знаний.

Развитие современных технологий, использующих процессы диспергирования, сделало весьма актуальной проблему оптимизации технологических свойств материалов, подвергнутых интенсивным механическим воздействиям. Работы в этом направлении стимулируются необходимостью получения активированных веществ с заданными свойствами (насыпная плотность, растворимость, вязкость и др.), в значительной мере

оптимизированными, в сравнении с таковыми в исходном состоянии.

Воздействие интенсивных механических полей на вещество является источником различных превращений, связанных как с образованием и деформацией валентных связей, так и с изменением межмолекулярных взаимодействий, что может сопровождаться изменением кристаллической структуры, конформационными превращениями, полиморфными переходами.

Несмотря на то, что первые исследования механохимических воздействий связаны с превращениями органических соединений, до настоящего времени нет однозначных ответов на ряд вопросов о влиянии внешних механических полей на их структуру, свойства, химическую и биологическую активность [6].

Целью данного фрагмента комплексных целевых исследований измененных физико-химических и фармакологических свойств ряда фармацевтических субстанций явилось получение лабораторного образца субмикро- и/или наноструктурированной субстанции парацетамола и экспериментальное подтверждение изменения его структуры.

Для получения субмикроструктурированной субстанции парацетамола было необходимо решить несколько текущих задач:

- определить форму и размер частиц субстанции до субмикроструктурирования и после;
- выбрать режим измельчения;
- определить показатели изменения характеристик.

Рабочая гипотеза состояла в том, что процесс субмикроструктурирования приведет к уменьшению частиц исследуемой субстанции, в результате чего могут сформироваться новые свойства парацетамола – увеличение растворимости и, значит, улучшение биофармацевтических свойств [7]. Таким образом, субмикро-наноструктурирование приведет к увеличению фармакотерапевтического эффекта в первую очередь и формированию других свойств исследуемой субстанции [8].

Материалы и методы. В работе использовали шаровую вибрационную мельницу МЛ-1 с измельчающими элементами или мельницу Retsch RS200 (результаты измельчения сопоставимы), растровый электронно-ионный микроскоп Quanta 200 3D с увеличением до 10000X (табл. 1) (ЦКП НИУ «БелГУ» «Диагностика структуры и свойств наноматериалов»). Кроме того, в работе использовали световой микроскоп на примере субстанций декстрана (вспомогательное вещество) и таурина (лекарственное вещество) с целью изучения его возможностей для решения задач госконтракта.

Таблица 1

Увеличение электронного микроскопа при изучении субстанции парацетамола

0	10	15	30	45
5000X	3000X	6000X	6000X	6000X

При этом, интервалы измельчения выбирались с учетом предварительных экспериментов и их физико-химических свойств: парацетамол – вещество мало растворимое в воде, но имеющее достаточно большой размер частиц, поэтому логично предположить, что для увеличения его растворимости недостаточно временных режимов в 5-10 минут;

Распределение по размерам микрочастиц изучалось с помощью лазерного дифракционного анализатора размера частиц «Analysette 22 NanoТес». В анализаторах, определяющих распределение частиц по размерам посредством лазерной дифракции, используется физический принцип рассеяния электромагнитных волн. Конструкция состоит из лазера, через измерительную ячейку направленного на детектор. При помощи диспергирующего устройства частицы подаются в измерительную ячейку и проходят сквозь лазерный луч. Свет, рассеянный пропорционально размеру частиц, посредством линзы фокусируется на детектор. По распределению рассеянного света при помощи комплексной математики рассчитывают распределение частиц по их размерам. В результате получают объемные доли, соответствующие эквивалентным диаметрам при лазерной дифракции.

Вместе с тем, изучение распределения частиц по размерам проводилось путем анализа фотографий частиц веществ, полученных с помощью растрового электронно-ионного

микроскопа Quanta 200 3D. Расчет среднего размера частиц, распределения частиц по размерам и построение гистограмм осуществлялось в программе Microsoft Office Excel 2007.

Микроскопия требует выбора оптимального увеличения, которое строго индивидуально для каждого образца, так как при большем увеличении изображение становится нечетким и малоконтрастным, с пониженной разрешающей способностью; при меньшем увеличении – изображение объекта, несмотря на четкость и повышенный контраст, становится настолько мелким, что элементы объекта практически неразличимы. Поэтому для объективного анализа распределения по размерам частиц образцов исследуемых лекарственных веществ были отобраны фотографии, сделанные при таком увеличении микроскопа, которое позволяло по масштабной линейке на снимке без затруднений определить как максимальный, так и минимальный размер частиц исследуемого образца. Увеличение микрофотографий, по которым определялось распределение частиц лекарственных веществ по размерам, представлено в табл. 1.

На рис. 1-10 представлены электронные микрофотографии изучаемых образцов.

Как видно из приведенных микрофотографий, парацетамол неизмельченный представляет собой продолговатые элементы с неровной поверхностью. В процессе измельчения наблюдается уменьшение размеров частиц парацетамола и образование пластинчатых элементов и равноосных частиц.

На рис. 11-15 представлены гистограммы распределения микрочастиц порошка парацетамола неизмельченного и измельченного.

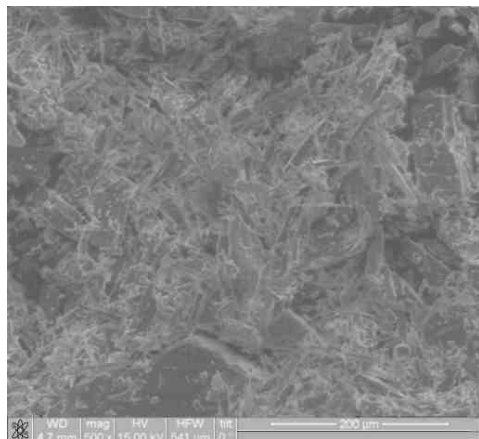


Рис. 1. Микрофотография исходной субстанции парацетамола

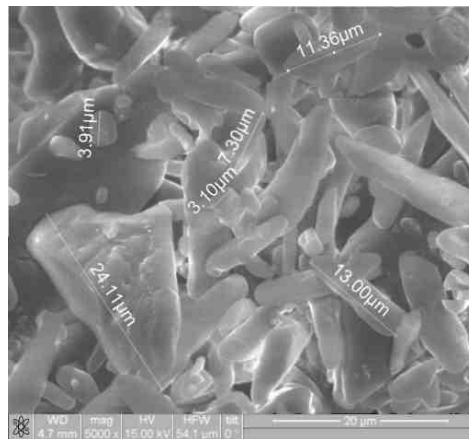


Рис. 2. Микрофотография исходной субстанции парацетамола (крупный план)

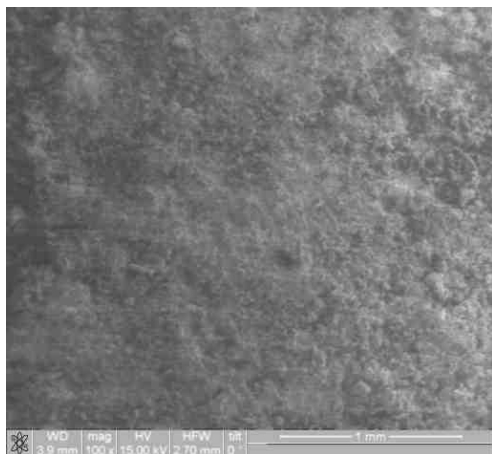


Рис. 3. Микрофотография субстанции парацетамола после 10 минут измельчения

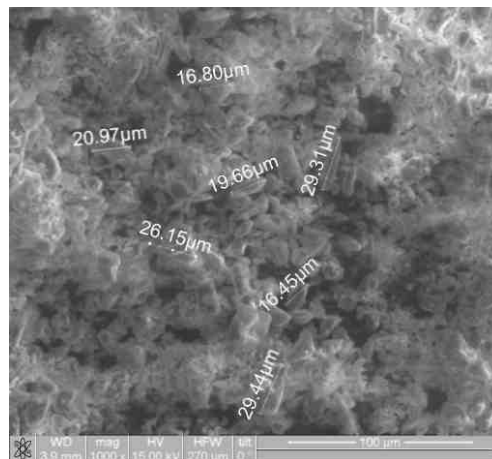


Рис. 4. Микрофотография субстанции парацетамола после 10 минут измельчения (крупный план)

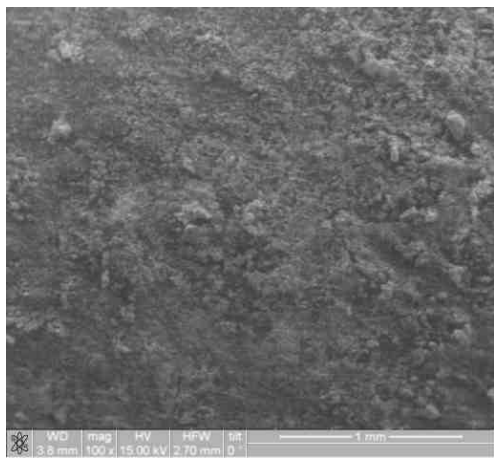


Рис. 5. Микрофотография субстанции парацетамола после 15 минут измельчения

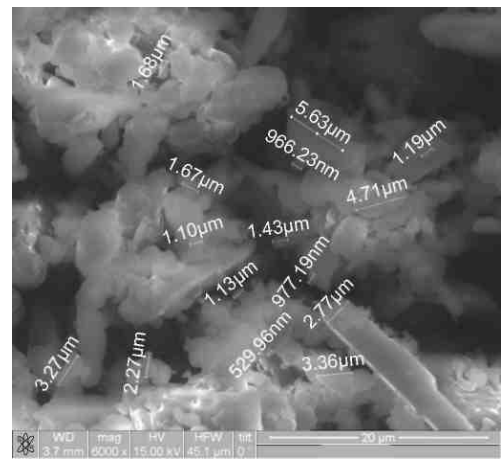


Рис. 6. Микрофотография субстанции парацетамола после 15 минут измельчения (крупный план)

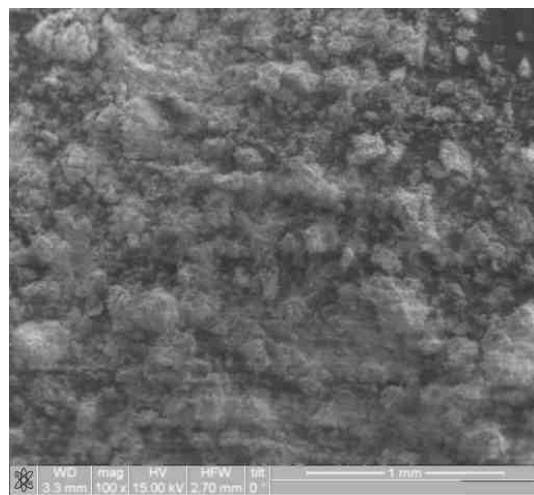


Рис. 7. Микрофотография субстанции парацетамола после 30 минут измельчения

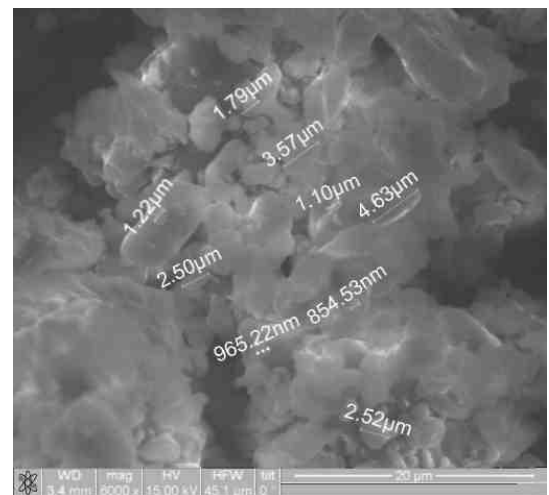


Рис. 8. Микрофотография субстанции парацетамола после 30 минут измельчения (крупный план)

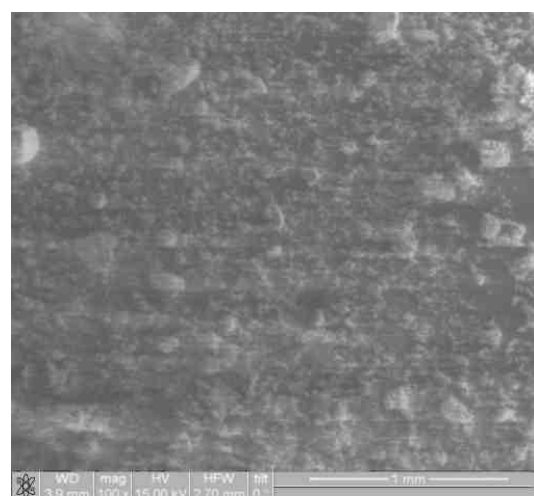


Рис. 9. Микрофотография субстанции парацетамола после 45 минут измельчения



Рис. 10. Микрофотография субстанции парацетамола после 45 минут измельчения (крупный план)

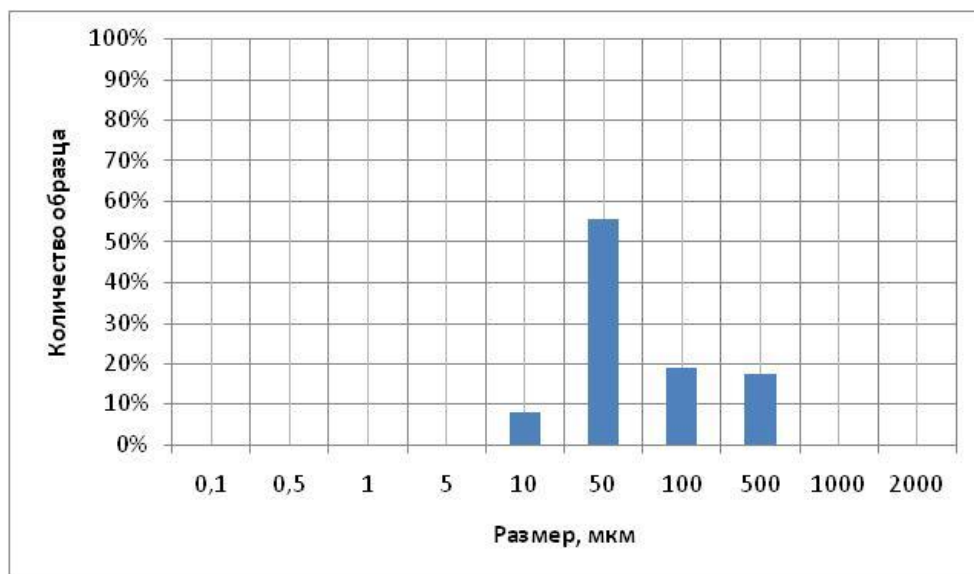


Рис. 11. Распределение по размерам микрочастиц порошка неизмельченного парацетамола

Как видно из рис. 11, для порошка парацетамола неизмельченного характерно наличие частиц со средним размером 45,0-65,0 мкм, количество этой фракции составляет около 55%, количество фракции с размером частиц 0,8-12,0 мкм составляет около 8%. Крупные фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм составляют 18 и 17% соответственно.

На рис. 12 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 10 минут.

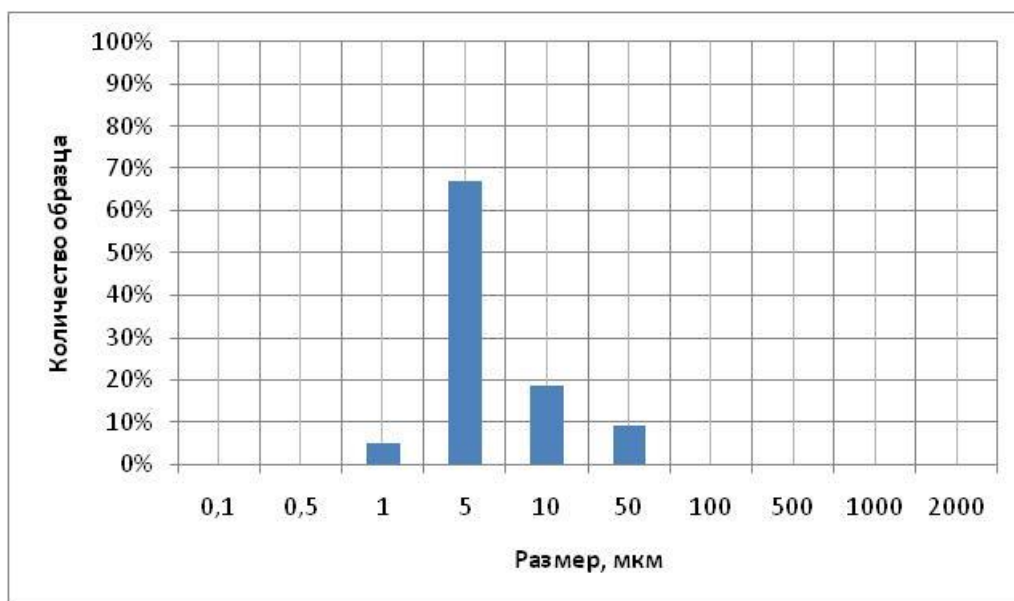


Рис. 12. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 10 минут

Как видно из гистограммы, через 10 минут фракционная картина меняется: резко снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 55 до 8%, фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм отсутствуют совсем. Увеличивается количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 17%, и появляются более мелкие фракции, основной из которых является порошок с размером 3,0-8,0 мкм — 67%. Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм, которая составляет около 6%.

На рис. 13 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 15 минут.

Как видно из гистограммы, через 15 минут фракционная картина меняется мало: снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 8 до 2% и количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 5%. Несколько увеличивается наличие фракции с размером частиц 3,0-8,0 мкм с 68 до 72% и более мелкой фракции 0,8-1,2 мкм с 6 до 15%.

На рис. 14 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 30 минут.

Как видно из гистограммы, и через 30 минут фракционная картина меняется мало: по-прежнему снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 2 до 1%, количество фракции 8,0-12,0 мкм увеличивается незначительно: с 10% до 12%.

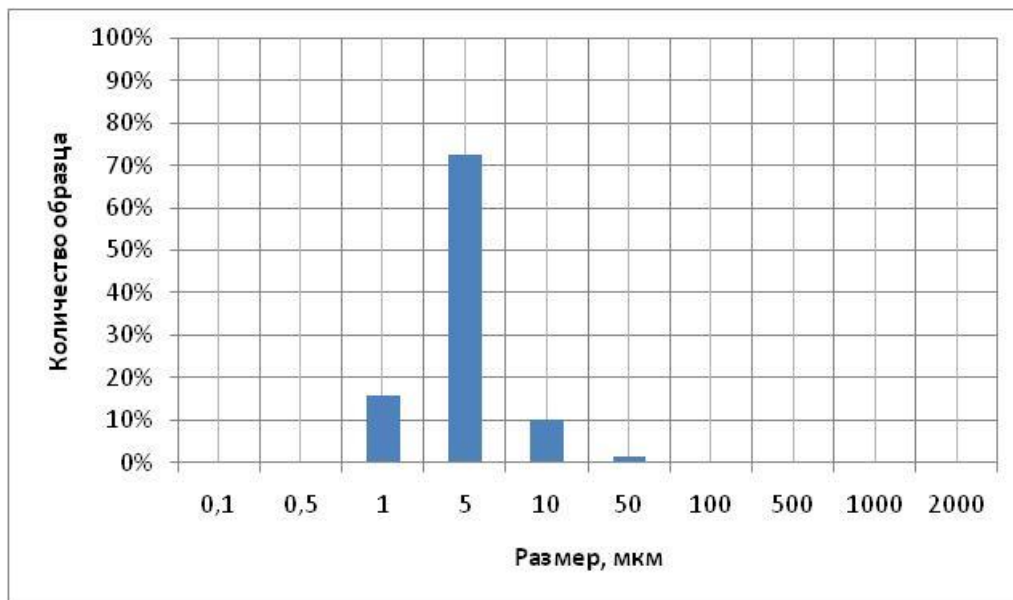


Рис. 13. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 15 минут

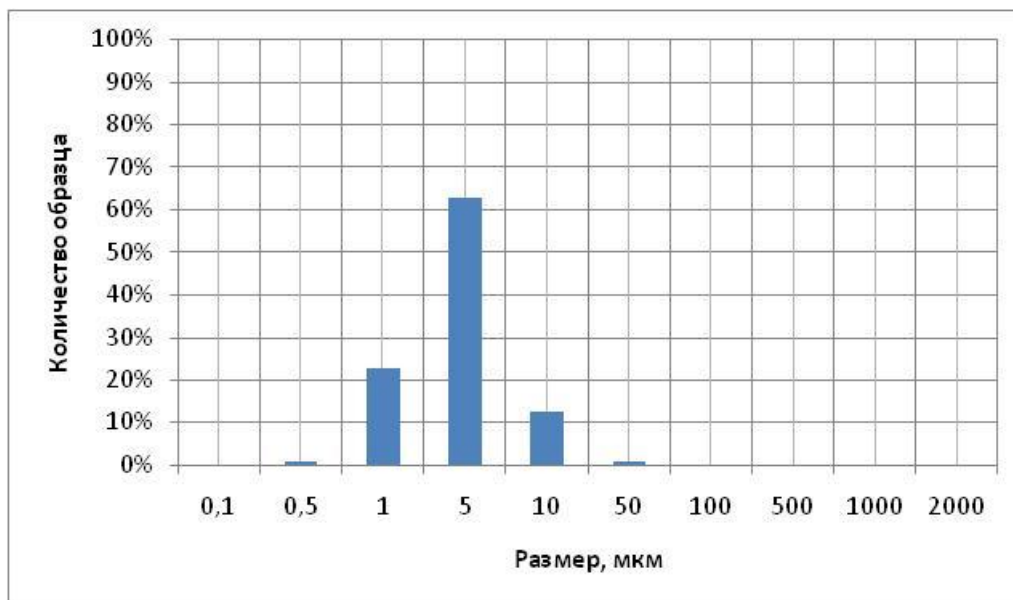


Рис. 14. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 30 минут

Также увеличивается наличие более мелкой фракции с размером частиц 0,8-1,2 мкм с 15% до 23%. Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,3-0,8 мкм: хотя ее количество очень мало — около 1%.

На рис. 15 представлена гистограмма распределения по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 45 минут. По сравнению с предыдущей фракционная картина меняется мало.

Для более наглядного отображения и анализа изменения размеров частиц парацетамола данные гистограмм сведены в табл. 2.

Как видно из данных табл. 2, для получения частиц парацетамола рабочей фракции с размером частиц 3,0-8,0 мкм достаточно измельчения субстанции в течение 30 минут.

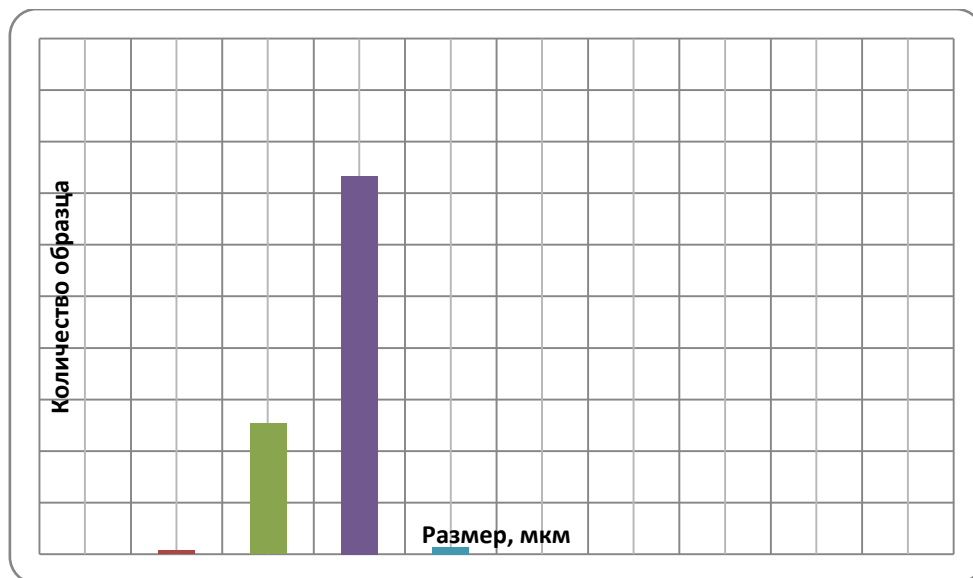


Рис. 15. Распределение по размерам микрочастиц порошка парацетамола, измельченного в течение 45 минут

Таблица 2

Динамика изменения размеров частиц парацетамола

Время измельчения порошка парацетамола, мин	Размеры частиц, мкм/% содержания фракции						
	0,3-0,8	0,8-1,2	3,0-8,0	8,0-12,0	45,0-65,0	85,0-125	450-700
Неизмельченный	-	-	-	10	55	18	17
10	-	5	68	19	8	-	-
15	-	15	72	5	2	-	-
30	1	23	70	12	1	-	-
45	менее 1	26	73	1	-	-	-

Заключение. Проведена электронная микроскопия полученных образцов субмикроструктурированных субстанций парацетамола. Доказано изменение структуры исходной субстанции парацетамола, а именно: парацетамол неизмельченный представляет собой продолговатые элементы с неровной поверхностью, в процессе измельчения наблюдается уменьшение размеров частиц парацетамола и образование пластинчатых элементов и равноосных частиц.

Изучено распределение микрочастиц изучаемых субстанций. Так, для порошка неизмельченного парацетамола характерно наличие частиц со средним размером 45,0-65,0 мкм, количество этой фракции составляет около 55%, количество фракции с размером частиц 0,8-12,0 мкм составляет около 8%. Крупные фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм составляют 18 и 17% соответственно. Через 10 минут измельчения фракционная картина меняется: резко снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 55 до 8%, фракции с размером частиц 85-120 мкм и 450-700 мкм отсутствуют совсем. Увеличивается количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 17%, и появляются более мелкие фракции, основной из которых является порошок с размером частиц 3,0-8,0 мкм — 67%.

Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм, которая составляет около 6%. Через 15 минут измельчения фракционная картина меняется мало: снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 8 до 2% и количество фракции 8,0-12,0 мкм с 8% до 5%. Несколько увеличивается наличие фракции с размером частиц 3,0-8,0 мкм с 68 до 72% и более мелкой фракции 0,8-1,2 мкм с 6 до 15%. Через 30 и 45 минут измельчения фракционная картина меняется мало: по-прежнему снижается наличие крупной фракции 45,0-65,0 мкм с 2 до 1%, количество фракции 8,0-12,0 мкм увеличивается незначительно: с 10% до 12%. Также увеличивается наличие более мелкой фракции с размером 0,8-1,2 мкм: с 15% до 23%. Кроме того, появляется фракция с размером частиц 0,3-0,8 мкм, хотя ее количество очень мало — около 1%. Следовательно, для получения частиц парацетамола рабочей фракции с размером 3,0-8,0 мкм достаточно измельчения субстанции в течение 30 минут.

Таким образом, доказано изменение структуры исходной субстанции парацетамола. Изучено распределение микрочастиц изучаемых субстанций. Далее планируется исследование физико-химических и фармакологических свойств изучаемых субмикро-и/или наноструктурированных субстанций.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., Государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08.09.2010 г. «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

Литература

- 1 Морозова, Л. Тонкая субстанция / Л. Морозова. – Российская бизнес-газета. – 08.12.2009. – Электронный ресурс: Режим доступа: <http://www.rg.ru/2009/12/08/lekarstva.html>
- 2 Ружинский, С. Наследие – механохимия и механоактивация / С. Ружинский. – Электронный ресурс: режим доступа: <http://www.ibeton.ru/a22.php>
- 3 Аввакумов, Е.Г. Механические методы активации химических процессов / Е.Г. Аввакумов. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд., 1986. – 303 с.
- 4 Ходаков, Г.С. Физика измельчения / Г.С. Ходаков. – М.: Наука, 1972. – 240 с.
- 5 Ребиндер, П.А. Физико-химическая механика дисперсных структур / П. А. Ребиндер. – М.: Пищевая промышленность, 1966. – 371 с.
- 6 Микушина, И.В. Превращения структуры древесины при механохимической обработке / И.В. Микушина, И.Б. Троицкая, А.В. Душкини др.// Химия в интересах устойчивого развития. – 2003. – Т. 11, №2. – С. 365–373.
- 7 Жилиякова, Е.Т. Изучение физико-химических и технологических характеристик натрий карбоксиметилцеллюлозы с целью создания пролонгированных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой /Е.Т. Жилиякова, Н.Н. Попов, М.Ю.Новикова и др.// Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – №4 (99). – Вып. 13/2. – С.109-117.
- 8 Кочкаров, В.И. Изучение острой и хронической токсичности растворов декстранов, полученных из супрамикроструктурированной субстанции /В.И. Кочкаров, О.О.Новиков, Е.Т.Жилиякова и др.// Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – №22 (93). – Вып. 12/2. – С.10-14.

GETTING THE LABORATORY SAMPLE OF SUBMICRO- AND/OR NANOSTRUCTURED SUBSTANCE OF PARACETAMOL AND EXPERIMENTAL CONFIRMATION OF CHANGES ITS STRUCTURE

**M.YU. NOVIKOVA, O.O. NOVIKOV
E.T. ZHILYAKOVA, D.A. FADEEVA
N.N. POPOV, M.A. KHALIKOVA
V.S. KAZAKOVA**

Belgorod National Research University
e-mail: EZhilyakova@bsu.edu.ru

The article reflects the results of study of paracetamol's substance before and after shredding: non-crushed paracetamol has oblong elements with rough surface, in the process of grinding particle size reduce and plate elements and equal-axis particles are observed. Studied the distribution of micro-particles of paracetamol.

Key words: paracetamol, submicrostructuring, microparticle



ФАРМАКОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ МАЗЕЙ С ВЕРАПАМИЛОМ И МАЗЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ ФИТОКОМПОЗИЦИЮ С ЧАБРЕЦОМ, ПРЕДЛАГАЕМЫХ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ В КАЧЕСТВЕ ДЕРМАТОПРОТЕКТОРОВ

**Т.А. ВОЛОДИНА¹, Ю.Ю. ЖИДКОВА¹
А.В. МАЙОРОВА², Э.Ф. СТЕПАНОВА³**

*¹Омская государственная
медицинская академия*

*²Российский университет дружбы
народов, г. Москва*

*³Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: farmTehOMGMA@yandex.ru

Впервые разработаны мазь с верапамилом на полиэтиленгликолевой основе и мазь, содержащая фитокомпозицию с чабрецом. Проведены их биофармацевтические исследования, на основании которых выбраны составы мазевых композиций.

Ключевые слова: верапамил, чабрец, мазь, биофармация.

Воспалительные заболевания кожи, как и любой воспалительный процесс, являющийся серьезным патогенетическим звеном многих заболеваний, в наше время способствуют продолжению поиска эффективных наружных лекарственных препаратов. Современная медицина обладает достаточно широким арсеналом лекарственных средств такой направленности действия. Однако наряду с благоприятными фармакологическими свойствами и достаточной степенью клинической эффективности многие из них вызывают ряд нежелательных побочных реакций. Поэтому разработка соответствующих природных лекарственных препаратов, да еще и комбинированного состава, не просто привлекательна, но актуальна и полезна.

Во флоре России есть целый ряд растений, которые обладают значительным фармакологическим комплексом с акцентом на противовоспалительный эффект.

К таким растениям относится чабрец, который с успехом применяется для лечения целого ряда заболеваний. Настои из травы чабреца широко используются как отхаркивающее средство при бронхитах, как мочегонное при заболеваниях почек, а также для примочек и промываний при воспалительных процессах, осложненных патогенной микрофлорой. Даже при незначительном содержании фенольных соединений препараты чабреца оказывают антимикробное действие.

Однако среди лекарственных форм чабреца известны в основном жидкие лекарственные формы для внутреннего и наружного применения, поэтому разработка соответствующей мягкой лекарственной формы, обладающей противовоспалительными свойствами, которая может применяться в дерматологии, является достаточно актуальным вопросом.

В качестве второго направления наших исследований была использована возможность создания мазей репаративного действия, содержащих в качестве действующего компонента известные дженерики, что позволит расширить спектр их действия, сохранив определенные технолого-экономические преимущества. Таким дженериком, на наш взгляд, является верапамил.

Основной клеткой-мишенью фармакологических методов регуляции процессов заживления является фибробласт. Функциональная активность фибробластов регулируется клетками микроокружения с участием цитокинов и ионизированного Ca^{2+} в качестве вторичного мессенджера [8]. Известна группа лекарственных средств, снижающих концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме активно функционирующих клеток – блокаторы медленных кальциевых каналов (БМКК), или кальциевые антагонисты. Одним из таких препаратов является верапамил. В результате исследований А.А. Ковалевского, В.К.Федотова, П.Г. Пилипенко, В.Т. Долгих (ГОУ ВПО ОмГМА) доказано более раннее структурное созревание рубца в группе пациентов, получавших лечение мазью с верапамилом, по сравнению с пациентами, получавшими традиционное лечение. Антагонисты кальция, улучшая эндотелийзависимую вазодилатацию, ускоряют процесс

регенерации эндотелиальных и других клеток, ограничивают образование свободных радикалов, уменьшают сосудистое воспаление и адгезивные свойства эндотелия, улучшают функциональное состояние эндотелия благодаря их антиоксидантному эффекту [4].

В отечественной литературе вопрос о применении верапамила для лечения ожогов различной этиологии не изучен, что и стало основанием для проведения данного исследования.

В качестве первого этапа данной работы нами была составлена блок-схема, в которой отражены основные этапы исследования и производства различных мазевых композиций (рис. 1).



Рис. 1. Блок-схема экспериментальных исследований

Из настоящей блок-схемы следует, что одной из важных характеристик любой лекарственной формы, в том числе наружной, являются биофармацевтические исследования *in vitro*.

Биофармацевтические исследования проводили по принципу высвобождения в 3% желатиновый гель, где в качестве реагентов использовали растворы хлорида железа (III) и нингидрина соответственно для мазевых композиций с чабрецом и верапамилом.

На основании проведенных исследований были выбраны следующие мазевые основы, представленные на рис. 1 и 2:

для наружной мягкой лекарственной формы (МЛФ) с чабрецом – Carbopol 940 1% и Flogel 700 0,5%+2% Flocare ET58 ,

для МЛФ с верапамилом – ПЭГ400:ПЭГ4000=1:1.

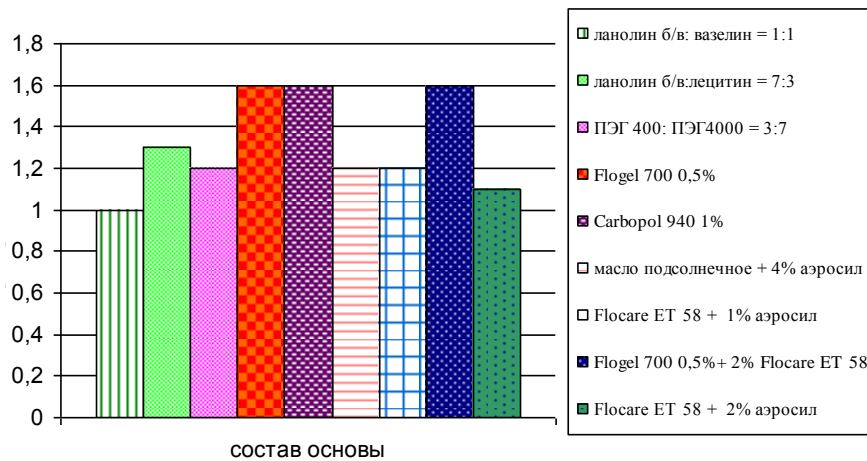


Рис. 2. Диаграмма степени высвобождения БАВ в зависимости от основы для МЛФ с чабрецом

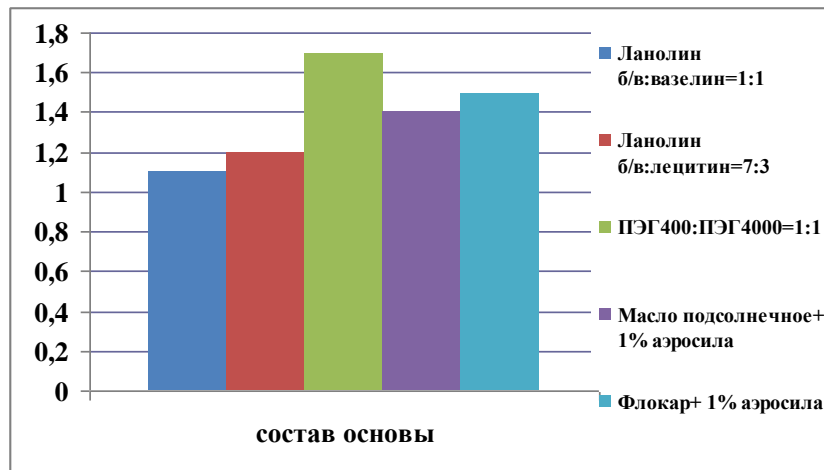


Рис. 3. Диаграмма степени высвобождения БАВ в зависимости от основы для МЛФ с верапамилом

Вторым этапом исследований был выбор дополнительных вспомогательных веществ (ВВ), к которым мы отнесли консерванты и пенетраторы.

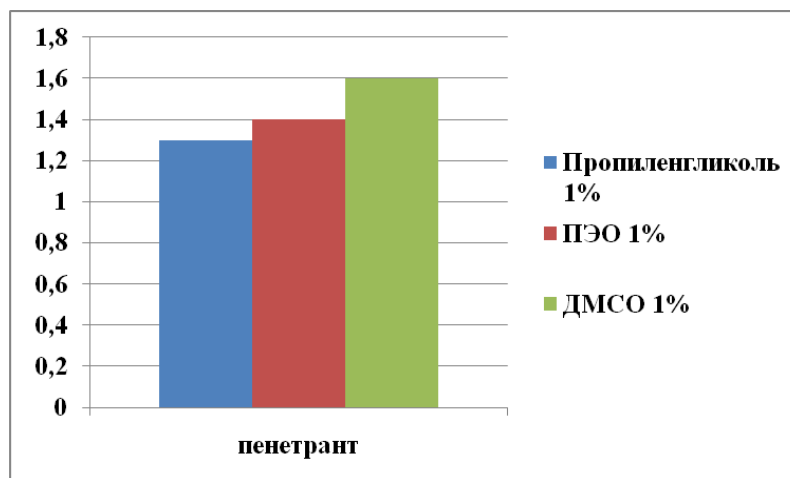


Рис. 4. Диаграмма степени высвобождения БАВ в зависимости от пенетранта для МЛФ с верапамилом

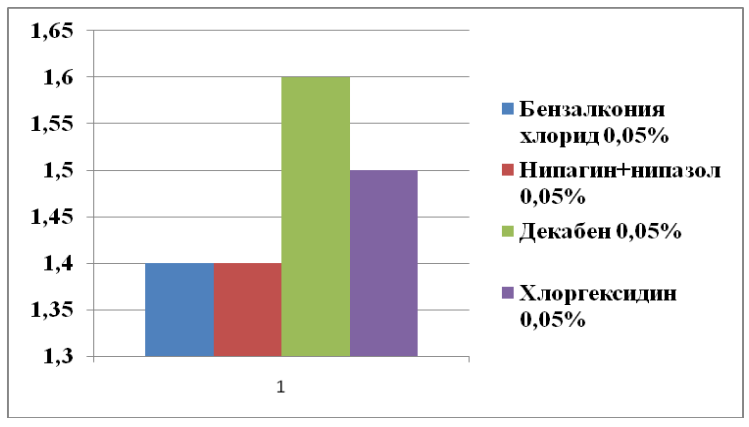


Рис. 5. Диаграмма степени высвобождения БАВ в зависимости от консерванта для МЛФ с верапамилом

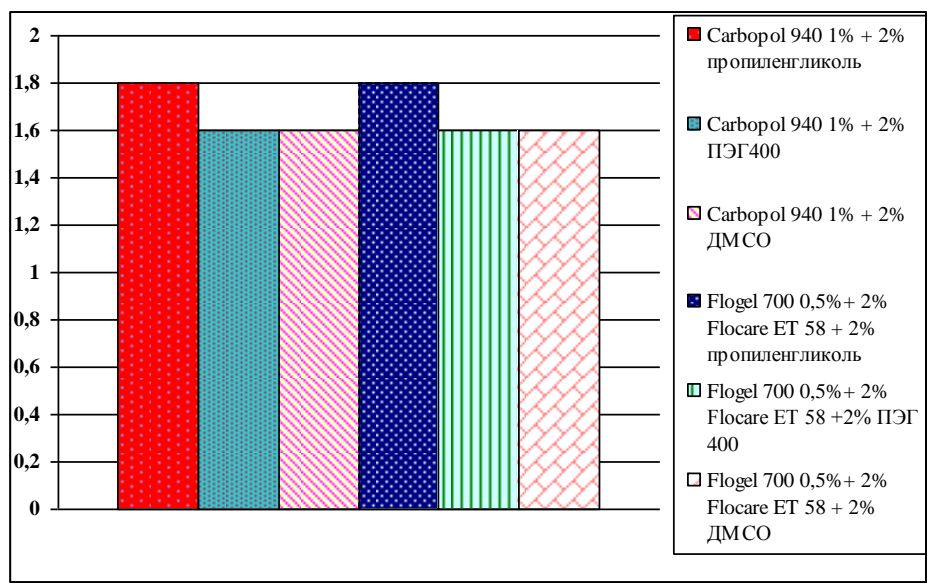


Рис. 6. Диаграмма степени высвобождения БАВ в зависимости от пенетранта для МЛФ с чабрецом

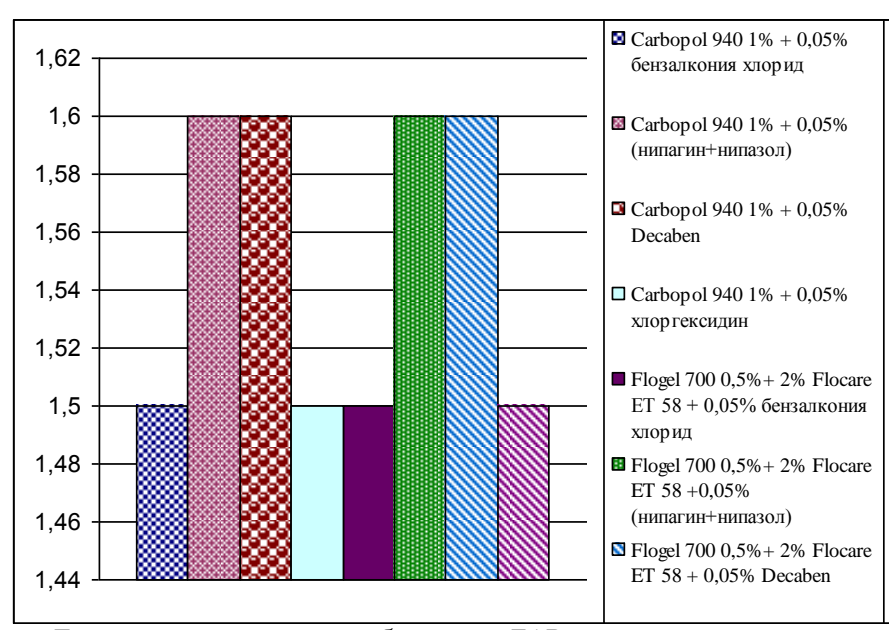


Рис. 7. Диаграмма степени высвобождения БАВ в зависимости от консерванта для МЛФ с чабрецом

На основании проведенных исследований нами были выбраны в качестве консервантов 0,05% растворы хлоргексидина и Decaben, а в качестве пенетрантов для мази с верапамилом – диметилсульфоксид, для мази с чабрецом – пропиленгликоль.

Проведенные биофармацевтические исследования позволили нам уточнить состав оптимальных вспомогательных веществ для разрабатываемых мазей (см. табл.).

Таблица

Составы композиций, предлагаемые для получения дерматопротекторов

Мазь с верапамилом		Мазь с фитокомпозицией	
Верапамила	3,0	Экстракт чабреца густой	3,5
Диметилсульфоксида	1,0	Экстракт каштана конского густой	0,7
Decaben	0,05	Экстракт солодки густой	0,7
ПЭГ400	50,0	Экстракт крапивы густой	1,4
ПЭГ 4000	46,95	Экстракт зверобоя масляный	0,7
		Дигидрокверцетин	0,35
		Пропиленгликоль	2,0
		Decaben	0,05
		Раствор натрия хлорида 10%	0,5 мл
		Flocare ET58	2,0
		Flogel 700	0,45
		Вода очищенная	До 100,0
		Или	
		Carborol 940	0,93
		Раствор натрия хлорида 10%	0,5мл
		Вода очищенная	До 100,0

Что касается состава действующих компонентов в композитной мази, то их выбор был обоснован литературными сведениями, которые и обеспечили включение в состав таких сопутствующих составляющих, как экстракты крапивы, корня солодки, зверобоя, способствующих потенцированию противовоспалительного эффекта [1, 3, 5, 6], а также экстракта каштана конского и дигидрокверцетина, усиливающих венотонизирующий эффект [2, 7].

Для разработанных мазей были проведены реологические исследования (проводились на РВ-8), которые подтвердили правильность оптимального состава. Основной задачей реологических исследований явилась проверка влияния действующих веществ на основные реологические параметры мазей. Поэтому сначала мы получили реологические профили основ, а затем посмотрели вязкость. Результаты проведенных исследований представлены на рис. 8, 9, 10, 11.

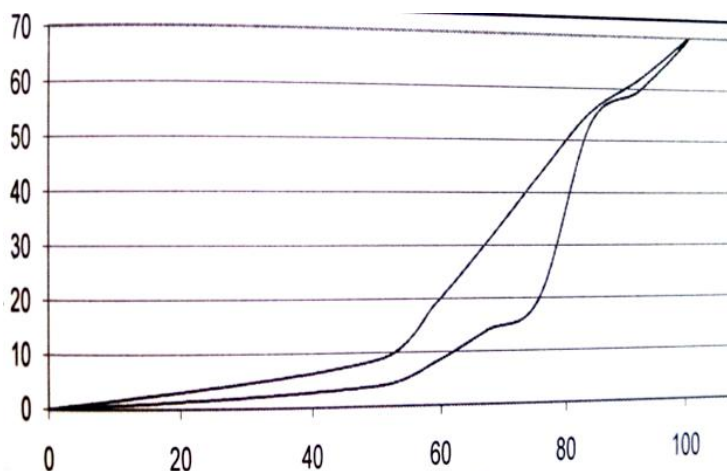


Рис. 8. Кривая течения основы Flogel 700 0,5%+ 2% Flocare ET 58

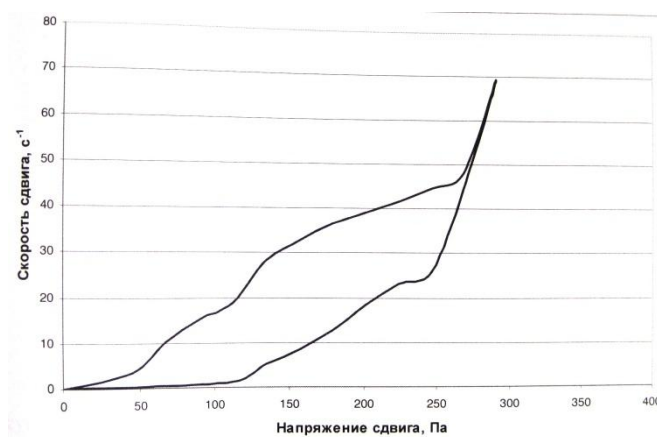


Рис. 9. Кривая течения основы ПЭГ400:ПЭГ4000=1:1

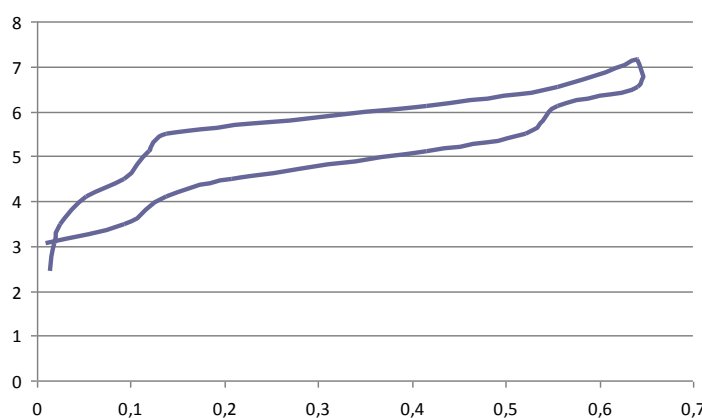


Рис. 10. Кривая течения мази с фитокомпозицией на основе Flogel 700 0,5%+ 2% Flocare ET 58

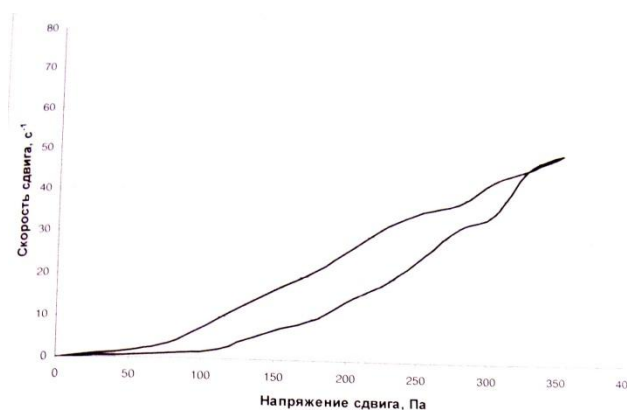


Рис. 11. Кривая течения мази с верапамилом на основе ПЭГ400:ПЭГ4000

В результате было установлено, что выбранные составы (см. табл.) являются оптимальными, что подтверждают соответствующие реологические характеристики.

Таким образом, нами впервые разработаны мазь с верапамилом (с использованием основы ПЭГ400:ПЭГ4000) и мазь с фитокомпозицией, доминантой в которой является чабрец (на основе Flogel 700 0,5%+ 2% Flocare ET 58), которые на основании проведенных исследований можно охарактеризовать положительно как с биофармацевтической, так и с технологической-экономической позиций.



Литература

1. Батюк, Л. Лекарственные растения для лечения алопеции. Солодка/ Л. Батюк// Косметика и медицина. – 2006. – №1. – С. 44-48.
2. Биологически активные вещества растительного происхождения: в 3-х т. // Б.Н. Головкин, Р.Н. Руденская, И.А. Трофимова и др. – М.: Наука, 2002. – 764с.
3. Зариков, П.С. Ранозаживляющая активность геля солодки / П.С. Зариков, И.П. Караткова // Фармация. – 2006. – С. 43-45.
4. Ковалевский, А.А. Лечение больных с послеожоговыми гипертрофическими и келоидными рубцами / А.А. Ковалевский, П.Г. Пилипенко, В.Т. Долгих // Бюллетень сибирской медицины. – 2003. – №4. – С. 69-75.
5. Лежнева, Л.П. Теоретическое и экспериментальное обоснование возможности применения крапивы двудомной в практической медицине // Л.П. Лежнева. – Пятигорск, 2010. – 100 с
6. Самылина, И.А., Зверобой продырявленный (*Hypericum perforatum*)/ И.А. Самылина, А.А. Сорокина, Н.Ф. Пятигорская // Фарматека. – 2010. – №11. – С. 107-109.
7. Флавоноиды, кумарины и тритерпены семян *Aesculus hippocastanum* L./ А.И. Деркач и др. // Раст. ресурсы. – 1999. – №3. – С.81-84.
8. Diamond, M.P. Modulation of the expression of peroxisome proliferators – activated receptors in human fibroblasts/ M.P. Diamond, G. Saed // Fertil. Steril. – 2007. – Vol.87. - № 3. – P. 706-709.

PHARMACOTECHNOLOGICAL RESEARCH OINTMENTS WITH VERAPAMIL AND OINTMENTS CONTAINING PHYTOCOMPOSITION WITH THYME, INTENDED FOR USE AS A DERMATOPROTECTORS

T.A. VOLODINA¹

U.U. ZHIDKOVA¹

A.V. MAJороVA²

E.F. STEPANOVA³

¹ *Omsk State Medical Academy*

² *Peoples' Friendship University of Russia, Moscow*

³ *Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

e-mail: farmTehOMGMA@yandex.ru.

For the first time ointment with verapamil on polyetnilenglycol basis and an ointment containing phytocomposition with thyme was developed. Their biopharmaceutical research was held. On their basis ointment's composition was chosen

Key words: phytocomposition, thyme, ointment, biopharmaceutics.

УДК 54.03: 661.12.01/09

ПОЛУЧЕНИЕ СУБМИКРО- И/ИЛИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ СУБСТАНЦИИ КАРНОЗИНА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЕЕ СТРУКТУРЫ

М.А. ХАЛИКОВА
Д.А. ФАДЕЕВА
Н.Н. ПОПОВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА
О.О. НОВИКОВ
О.А. ВАНЖИН

*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

e-mail: khalikova@mail.ru

В статье приведены результаты исследований субстанции карнозина до и после измельчения: исходные частицы карнозина представляют собой продолговатые элементы различной длины с неровной поверхностью, по мере увеличения времени измельчения порошка карнозина меняется и форма его частиц: из продолговатых элементов, характерных для неизмельченных фракций, форма становится пластинчатой при режиме измельчения 15 минут и равноосной для режимов измельчения 30 и 45 минут. Изучено распределение микрочастиц карнозина.

Ключевые слова: карнозин, субмикроструктурирование, микрочастицы.

Введение. В своем докладе за круглым столом, организованным РОСНАНО, «Качественные доклинические исследования в России» руководитель лаборатории лекарственной токсикологии НИИ фармакологии РАМН, член-кор. РАМН А. Дурнев подчеркнул: «Перспектива широкого применения наночастиц в области разработки и производства лекарственных средств требует создания принципиально новых подходов к доклинической оценке безопасности их применения» [1].

Чтобы разработать адекватные подходы к прогнозу риска влияния наночастиц (НЧ) различной природы на здоровье человека, необходимо обязательно изучать фундаментальные закономерности проявления биологических эффектов этих частиц. Исследование наиболее общих закономерностей проявления биологических и токсических эффектов НЧ в зависимости от их формы, размера, исходного материала, площади поверхности, заряда и других физико-химических особенностей строения считается одним из актуальнейших вопросов нанотоксикологии. Не менее важны исследования, определяющие дозы, пути введения и концентрации наночастиц в области органа-мишени, продолжительность их воздействия [2].

Кроме того, особо значимый аспект изучения токсикологии НЧ – оценка возможных отдаленных эффектов, которые не манифестируют в краткосрочной перспективе. Это, прежде всего, влияние на геном, иммунитет, внутриутробное и постнатальное развитие потомства. Сведения по таким вопросам в сегодняшних научных публикациях практически отсутствуют.

Следует констатировать, что до настоящего времени не существует действенной системы оценки безопасности для макроорганизма применяемых в официальной медицине ксенобиотиков с измененными физико-химическими свойствами. Кроме того, чрезвычайно перспективным представляется сам подход к приобретению нового спектра лекарственных агентов за счет существующего набора биологически активных соединений. И это достижимо с помощью методов нанотехнологии и механохимии, о чем свидетельствуют предварительные исследования коллектива [3, 4].

Целью данного фрагмента комплексных целевых исследований измененных физико-химических и фармакологических свойств ряда фармацевтических субстанций явилось получение лабораторного образца субмикро- и/или наноструктурированной субстанции карнозина и экспериментальное подтверждение изменения его структуры.

Для получения субмикроструктурированной субстанции карнозина было необходимо решить несколько текущих задач:

- определить форму и размер частиц субстанции до субмикроструктурирования и после;
- выбрать режим измельчения;



– определить показатели изменения характеристик.

Рабочая гипотеза состояла в том, что процесс субмикроструктурирования приведет к уменьшению частиц исследуемой субстанции, в результате чего могут сформироваться новые технологические и фармакологические свойства карнозина.

Материалы и методы. В работе использовали шаровую вибрационную мельницу МЛ-1 с измельчающими элементами или мельницу Retsch RS200 (результаты измельчения сопоставимы), растровый электронно-ионный микроскоп Quanta 200 3D с увеличением до 10000X (табл. 1) (ЦКП НИУ «БелГУ» «Диагностика структуры и свойств наноматериалов»).

Таблица 1

**Увеличение электронного микроскопа
при изучении субстанции карнозина**

Время измельчения, мин				
0	5	15	30	45
5000X	5000X	5000X	5000X	5000X

Интервалы измельчения выбирались с учетом предварительных экспериментов и их физико-химических свойств: карнозин — вещество, представляющие собой дисперсионную фазу со средним размером 18-22,4 мкм, растворимое в воде; интервалы измельчения — 5, 15, 30 и 45 минут — объясняются тем, что в течение 5-минутного измельчения устанавливалась способность порошков к измельчению, которая не менялась и в течение 10 минут. Далее частицы разукрупнялись и последующий режим измельчения производился с временным «шагом» 15 минут.

Распределение по размерам микрочастиц изучалось с помощью лазерного дифракционного анализатора размера частиц «Analysette 22 NanoТес». В анализаторах, определяющих распределение частиц по размерам посредством лазерной дифракции, используется физический принцип рассеяния электромагнитных волн. Конструкция состоит из лазера, через измерительную ячейку направленного на детектор. При помощи диспергирующего устройства частицы подаются в измерительную ячейку и проходят сквозь лазерный луч. Свет, рассеянный пропорционально размеру частиц, посредством линзы фокусируется на детектор. По распределению рассеянного света при помощи комплексной математики рассчитывают распределение частиц по их размерам. В результате получают объемные доли, соответствующие эквивалентным диаметрам при лазерной дифракции.

Вместе с тем, изучение распределения частиц по размерам проводилось путем анализа фотографий частиц веществ, полученных с помощью растрового электронно-ионного микроскопа Quanta 200 3D. Расчет среднего размера частиц, распределения частиц по размерам и построение гистограмм осуществлялось в программе Microsoft Office Excel 2007.

Микроскопия требует выбора оптимального увеличения, которое строго индивидуально для каждого образца, так как при большем увеличении изображение становится нечетким и малоконтрастным, с пониженной разрешающей способностью; при меньшем увеличении изображение объекта, несмотря на четкость и повышенный контраст, становится настолько мелким, что элементы объекта практически неразличимы. Поэтому для объективного анализа распределения по размерам частиц образцов исследуемых лекарственных веществ были отобраны фотографии, сделанные при таком увеличении микроскопа, которое позволяло по масштабной линейке на снимке без затруднений определить как максимальный, так и минимальный размер частиц исследуемого образца. Увеличение микрофотографий, по которым определялось распределение частиц лекарственных веществ по размерам, представлено в табл. 1.

На рис. 1-10 представлены электронные микрофотографии изучаемых образцов, полученные с помощью электронного микроскопа.

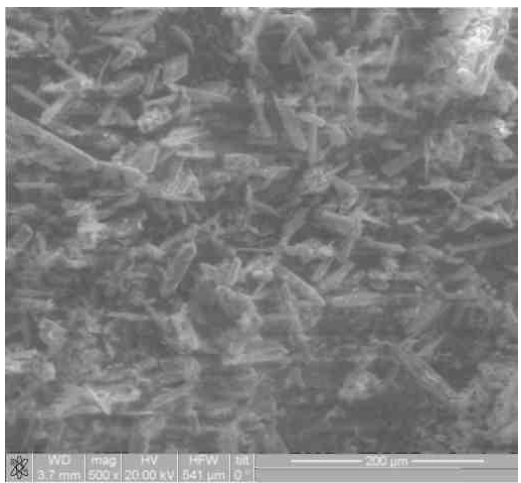


Рис. 1. Микрофотография исходной субстанции карнозина



Рис. 2. Микрофотография исходной субстанции карнозина (крупный план)

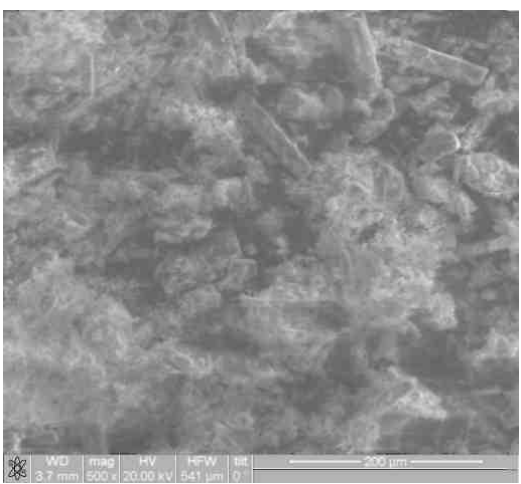


Рис. 3. Микрофотография субстанции карнозина после 5 минут измельчения



Рис. 4. Микрофотография субстанции карнозина после 5 минут измельчения (крупный план)

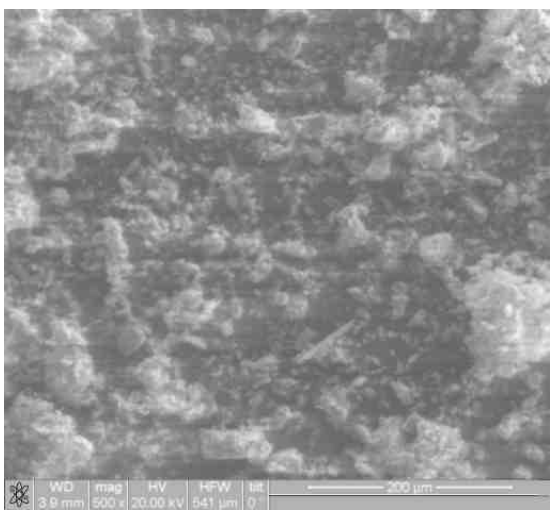


Рис. 5. Микрофотография субстанции карнозина после 15 минут измельчения

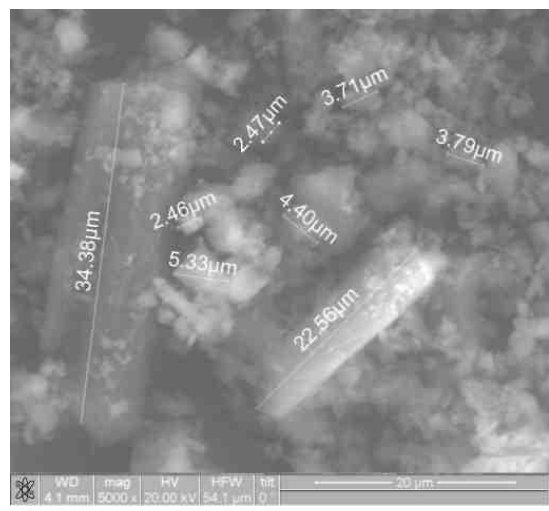


Рис. 6. Микрофотография субстанции карнозина после 15 минут измельчения (крупный план)

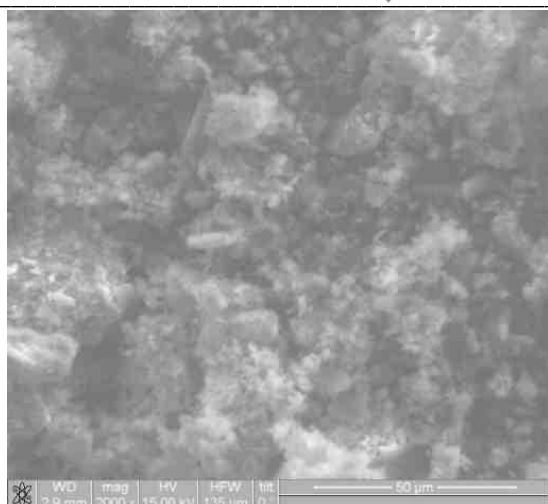


Рис. 7. Микрофотография субстанции карнозина после 30 минут измельчения

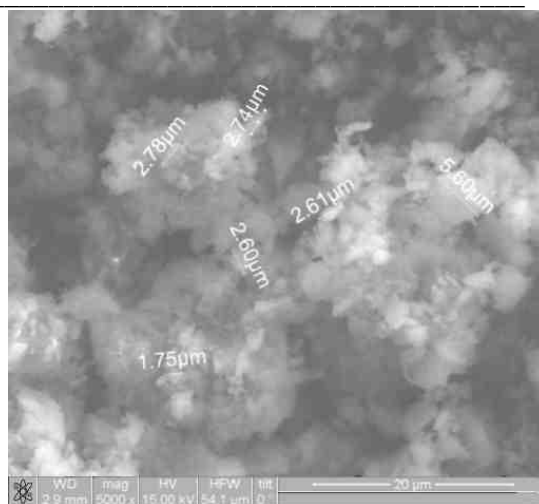


Рис. 8. Микрофотография субстанции карнозина после 30 минут измельчения (крупный план)

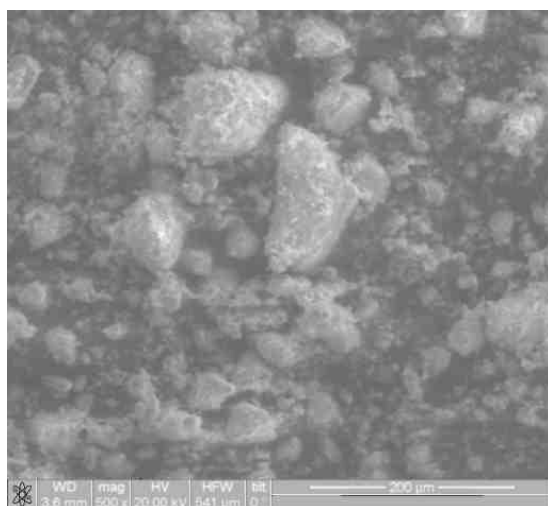


Рис. 9. Микрофотография субстанции карнозина после 45 минут измельчения

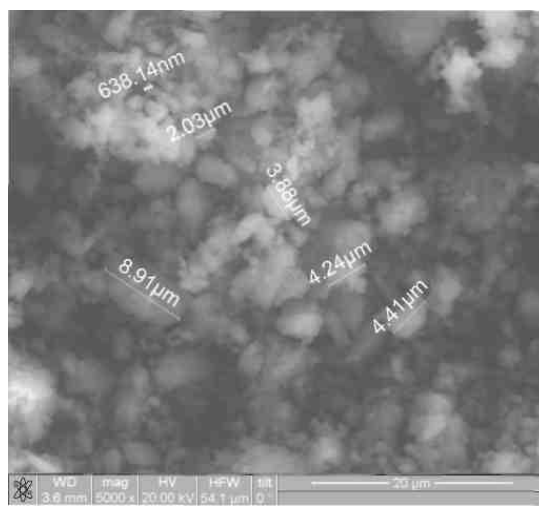


Рис. 10. Микрофотография субстанции карнозина после 45 минут измельчения (крупный план)

Как видно из рис. 1, 2, исходные частицы карнозина представляют собой продолговатые элементы различной длины с неровной поверхностью.

Как видно из микрофотографий рис. 3-10, по мере увеличения времени измельчения порошка карнозина меняется и форма его частиц: из продолговатых элементов, характерных для неизмельченных фракций, форма становится пластинчатой при режиме измельчения 15 минут и равноосной для режимов измельчения 30 и 45 минут.

На рис. 11-15 представлены гистограммы распределения микрочастиц порошка неизмельченного и измельченного карнозина.

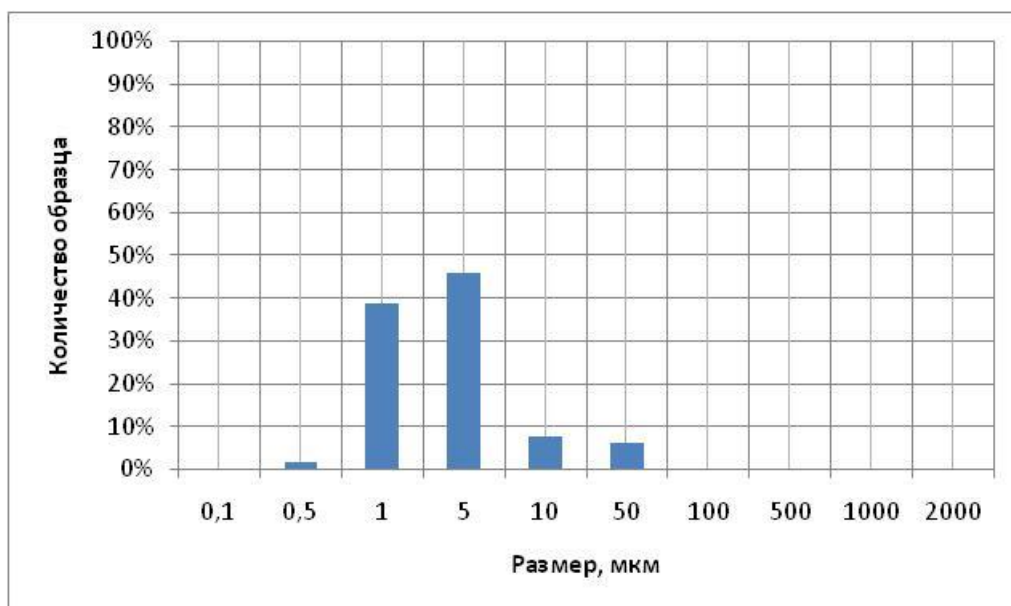


Рис. 11. Распределение по размерам микрочастиц порошка неизмельченного карнозина

Как видно из рис. 11, порошок карнозина неизмельченный состоит в основном из фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм и 3,0-7,0 мкм — 38% и 46% соответственно. Около 2% составляют фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм, а крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 — 8% и 6% соответственно.

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 5 минут, представленной на рис. 12, установлено, что фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм и 3,0-7,0 мкм — практически поровну по 41%. Однако увеличивается количество более мелкой фракции, около 10% с размером частиц 0,3—0,8 мкм, и уменьшается количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 — 6% и 2% соответственно. Таким образом, уже в течение 5 минут происходит уменьшение частиц порошка карнозина в целом.

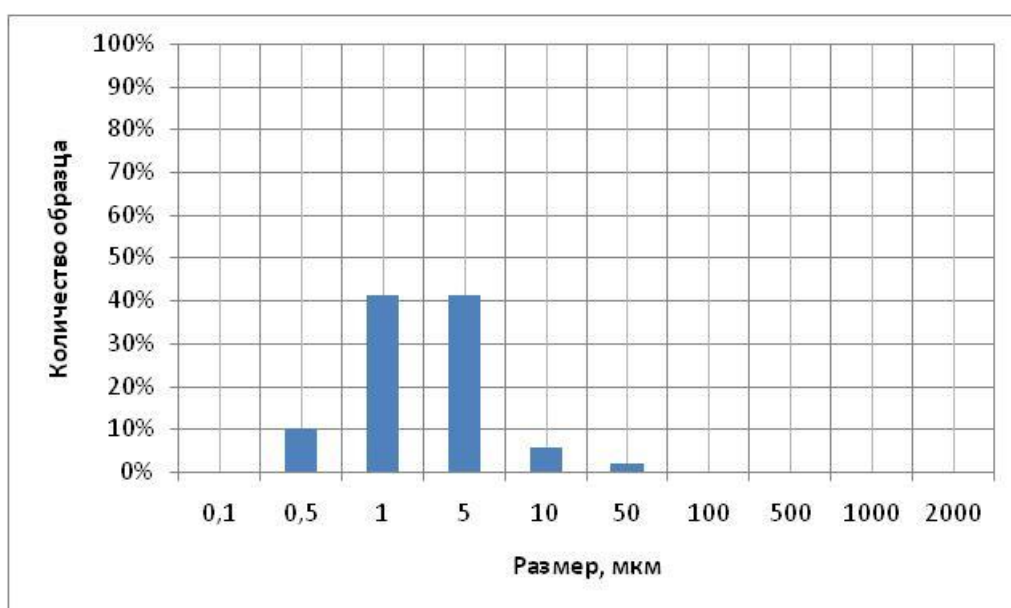


Рис. 12. Распределение по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 5 минут

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 15 минут, представленной на рис. 13, установлено, что

количество фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм увеличивается до 48%, а количество частиц фракции с размером 3,0-7,0 мкм постепенно уменьшается до 38%. Также идет постепенное увеличение количества частиц фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм и составляет около 12%, количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 — уменьшается до 1% для обеих фракций. Таким образом, при измельчении в течение 15 минут также наблюдается тенденция к уменьшению размеров частиц порошка карнозина.

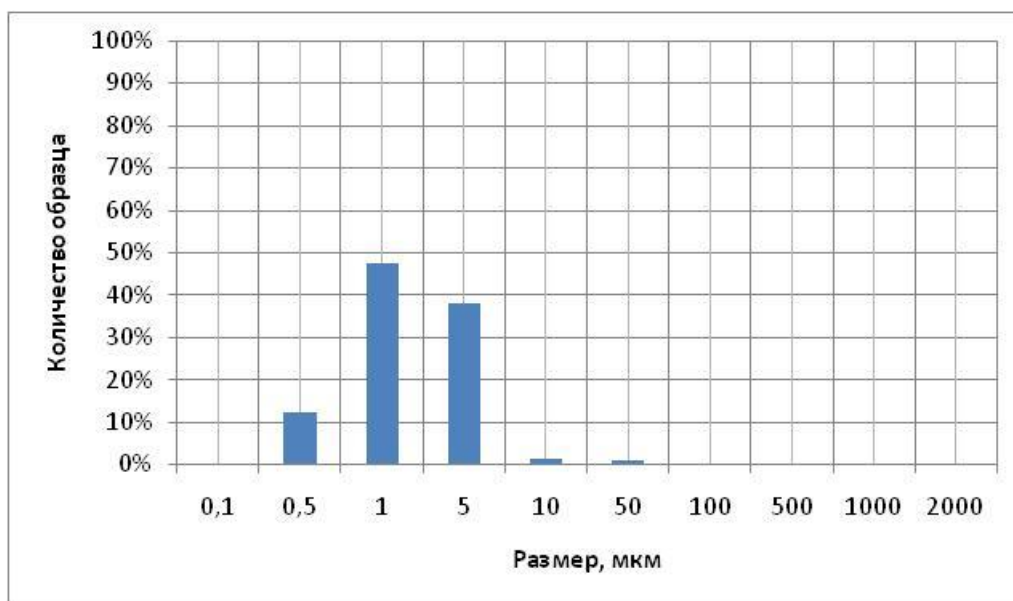


Рис. 13. Распределение по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 15 минут

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 30 минут, представленной на рис. 14, установлено, что количество фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм несколько снижается и составляет 38%, а количество частиц фракции с размером 3,0-7,0 мкм постепенно увеличивается до 56%. Также идет постепенное увеличение количества частиц фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм и составляет около 12%, количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 — уменьшается до 1% для обеих фракций. Таким образом, при измельчении порошка карнозина в течение 30 минут также наблюдается тенденция к увеличению числа более мелких фракций.

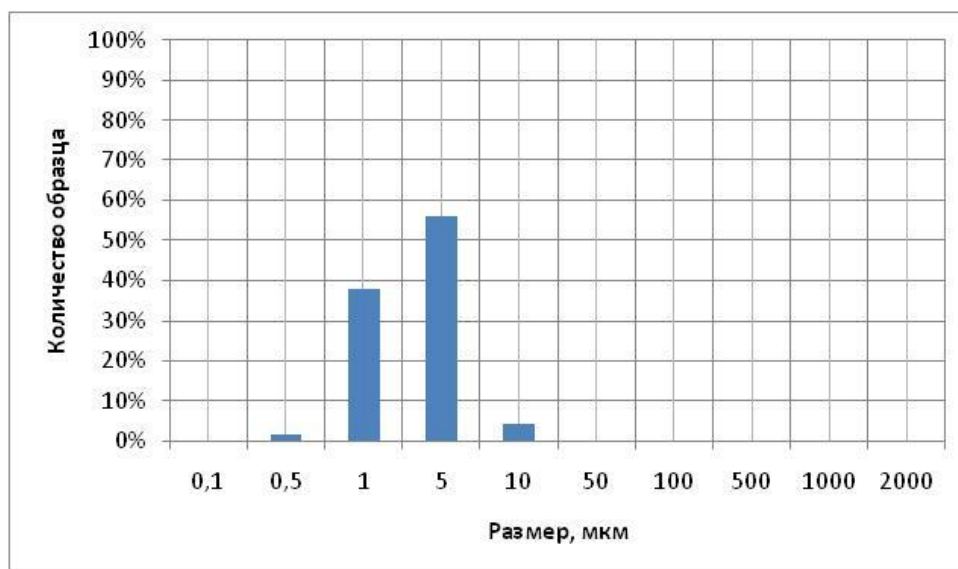


Рис. 14. Распределение по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 30 минут

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 45 минут, представленной на рис. 15, установлено, что количество частиц с размером 0,8-1,2 мкм, по сравнению с измельченным порошком в течение 30 минут увеличивается и составляет 51%, а количество частиц фракции с размером 3,0-8,0 мкм постепенно уменьшается до 43%. Также идет постепенное уменьшение количества частиц фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм до 5%, количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм остается равным 1%, а наиболее крупная фракция 35,0-65,0 мкм вообще отсутствует. Для наглядности и уточнения динамики измельчения карнозина полученные данные сведены в табл. 5.

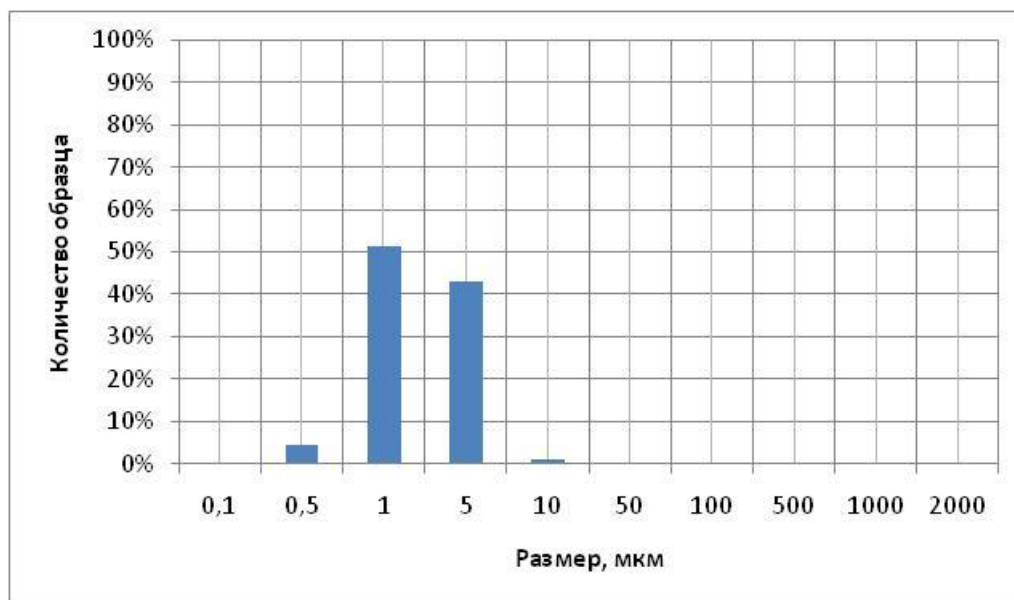


Рис. 15. Распределение по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 45 минут

Таблица 2

Динамика изменения размеров частиц порошка карнозина

Время измельчения, мин	Размеры частиц, мкм/% содержания фракции				
	0,3-0,8	0,8-1,2	3,0-8,0	8-12	35-65
Неизмельченный	2	38	46	8	6
5	10	41	41	6	2
15	12	48	38	1	1
30	2	38	56	4	-
45	5	51	43	1	-

Анализируя данные табл. 2, можно сделать вывод о том, что при измельчении порошка карнозина в режиме 15 минут происходит наиболее интенсивное образование частиц мелких фракций с размером от 0,3 до 1,2 мкм, что в сумме составляет 60%. Кроме того, при таком режиме измельчения практически отсутствуют частицы крупных фракций. Поэтому именно этот режим может быть принят за технологичный. Отсутствие стабильной картины при дальнейшем измельчении предварительно можно объяснить тем, что мелкие частицы образуют конгломераты и при продолжении технологического процесса не изменяются в размерах, а только формируют группы.

Заключение. Проведена электронная микроскопия полученных образцов субмикроструктурированной субстанции карнозина. Доказано изменение структуры исходной субстанции карнозина, а именно: исходные частицы карнозина представляют собой продолговатые элементы различной длины с неровной поверхностью, по мере



увеличения времени измельчения порошка карнозина меняется и форма его частиц: из продолговатых элементов, характерных для неизмельченных фракций, форма становится пластинчатой при режиме измельчения 15 минут и равноосной для режимов измельчения 30 и 45 минут.

Изучено распределение микрочастиц исследуемой субстанции. Так, порошок карнозина неизмельченный состоит в основном из фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм и 3,0-7,0 мкм — 38% и 46% соответственно. Около 2% составляют фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм, а крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 — 8% и 6% соответственно. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 5 минут, установлено, что фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм и 3,0-7,0 мкм — практически поровну по 41%. Однако увеличивается количество более мелкой фракции, около 10% с размером частиц 0,3-0,8 мкм, и уменьшается количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 — 6% и 2% соответственно. Таким образом, уже в течение 5 минут происходит уменьшение частиц порошка карнозина в целом. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 15 минут, установлено, что количество фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм увеличивается до 48%, а количество частиц фракции с размером 3,0-7,0 мкм постепенно уменьшается до 38%. Также идет постепенное увеличение количества частиц фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм и составляет около 12%, количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 уменьшается до 1% для обеих фракций. Таким образом, при измельчении в течение 15 минут также наблюдается тенденция к уменьшению размеров частиц порошка карнозина. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 30 минут, установлено, что количество фракций с размером частиц 0,8-1,2 мкм несколько снижается и составляет 38%, а количество частиц фракции с размером 3,0-7,0 мкм постепенно увеличивается до 56%. Также идет постепенное увеличение количества частиц фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм и составляет около 12%, количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм и 35,0-65,0 уменьшается до 1% для обеих фракций. Таким образом, при измельчении порошка карнозина в течение 30 минут также наблюдается тенденция к увеличению числа более мелких фракций. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка карнозина, измельченного в течение 45 минут, установлено, что количество частиц с размером 0,8-1,2 мкм, по сравнению с измельченным порошком в течение 30 минут, увеличивается и составляет 51%, а количество частиц фракции с размером 3,0-8,0 мкм постепенно уменьшается до 43%. Также идет постепенное уменьшение количества частиц фракции с размером частиц 0,3-0,8 мкм до 5%, количество крупных фракций с размером частиц 8,0-12,0 мкм остается равным 1%, а наиболее крупная фракция 35,0-65,0 мкм вообще отсутствует. Следовательно, при измельчении субстанции карнозина в режиме 15 минут происходит наиболее интенсивное образование частиц мелких фракций с размером от 0,3 до 1,2 мкм, что в сумме составляет 60%. Кроме того, при таком режиме измельчения практически отсутствуют частицы крупных фракций. Поэтому именно этот режим может быть принят за технологичный. Отсутствие стабильной картины при дальнейшем измельчении предварительно можно объяснить тем, что мелкие частицы образуют конгломераты и при продолжении технологического процесса не изменяются в размерах, а только формируют группы.

Таким образом, доказано изменение структуры исходной субстанции карнозина. Изучено распределение микрочастиц исследуемой субстанции. Далее планируется исследование физико-химических и фармакологических свойств изучаемой субстанции карнозина с измененной структурой.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., Государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08.09.2010 г. «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

Литература

1. Наноллекарства нуждаются в новых процедурах доклинических испытаний /Фармацевтический вестник. – Режим доступа: <http://www.pharmvestnik.ru/text/9350.html>
2. Кузив, Т. Наночастицы: безопасны ли они? / Т.Кузив // Медицинская газета. – №31. – 25 апреля 2008 г. – Режим доступа: <http://www.mgzt.ru/article/844/>
3. Жилякова, Е.Т. Изучение физико-химических и технологических характеристик натрий карбоксиметилцеллюлозы с целью создания пролонгированных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой /Е.Т. Жилякова, Н.Н. Попов, М.Ю.Новикова и др.// Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – №4 (99). – Вып. 13/2. – С.109-117.
4. Кочкаров, В.И. Изучение острой и хронической токсичности растворов декстранов, полученных из супрамикроструктурированной субстанции /В.И. Кочкаров, О.О.Новиков, Е.Т. Жилякова и др.// Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – №22 (93). – Вып. 12/2. – С.10-14.

GETTING THE LABORATORY SAMPLE OF SUBMICRO AND/OR NANOSTRUCTURED SUBSTANCE OF CARNOSINE AND EXPERIMENTAL CONFIRMATION OF CHANGES ITS STRUCTURE

M.A. KHALIKOVA
D.A. FADEEVA
N.N. POPOV
E.T. ZHILYAKOVA
O.O. NOVIKOV
O.A. VANKHIN

*Belgorod National Research
University*

e-mail: khalikova@bsu.edu.ru

The results of studies of substance carnosine before and after grinding: the initial particle carnosine are elongated elements of different lengths with a rough surface, with increasing milling time and powder carnosine changes its shape particles of elongated elements characteristic of the factions, uncomminted form becomes lamellar under the regime of grinding 15 minutes, and equiaxed for grinding modes 30 and 45 minutes. The distribution of the microparticles carnosine was investigated.

Keywords: carnosine, submicrostructuring, microparticles

ПОЛУЧЕНИЕ СУБМИКРО- И/ИЛИ НАНОСТРУКТУРИРОВАННОЙ СУБСТАНЦИИ ТАУРИНА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЕЕ СТРУКТУРЫ

**Е.Т. ЖИЛЯКОВА, М.Ю. НОВИКОВА
Д.А. ФАДЕЕВА, О.О. НОВИКОВ
Н.Н. ПОПОВ**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: khalikova@mail.ru

Изучено изменение структуры исходной субстанции таурина: частицы неизмельченного таурина представляют собой продолговатые элементы с относительно гладкой поверхностью, по мере увеличения времени измельчения порошка таурина меняется форма его частиц: из продолговатых элементов форма становится пластинчатой при режиме измельчения и равноосной, при этом наблюдается образование конгломератов частиц; при длительном измельчении элементы собираются в конгломераты и образуют однородную систему.

Ключевые слова: таурин, субмикроструктурирование, микрочастицы.

Введение. Развитие современных технологий, использующих процессы диспергирования, сделало весьма актуальной проблему оптимизации технологических свойств материалов, подвергнутых интенсивным механическим воздействиям [1, 2]. Работы в этом направлении стимулируются необходимостью получения активированных веществ с заданными свойствами, в значительной мере оптимизированными, в сравнении с таковыми в исходном состоянии.

Предварительные исследования, в том числе с использованием механохимических приемов, показали, что существующая степень решения проблемы комплексного изучения физико-химических свойств, безопасности фармакологической активности субмикро- и наноструктурированных фармацевтических субстанций требует дальнейшей разработки новых методических подходов и алгоритмов для повышения качества получаемых результатов. Результаты экспериментальных исследований позволяют планировать высокую эффективность и преимущества разрабатываемых методик по сравнению с используемыми в настоящее время аналогами [3, 4].

Целью данного фрагмента комплексных целевых исследований измененных физико-химических и фармакологических свойств ряда фармацевтических субстанций явилось получение лабораторного образца субмикро- и/или наноструктурированной субстанции таурина и экспериментальное подтверждение изменения его структуры.

Для получения субмикроструктурированной субстанции таурина было необходимо решить несколько текущих задач:

- определить форму и размер частиц субстанции до субмикроструктурирования и после;
- выбрать режим измельчения;
- определить показатели изменения характеристик.

Рабочая гипотеза состояла в том, что процесс субмикроструктурирования приведет к уменьшению частиц исследуемой субстанции, в результате чего могут сформироваться новые технологические и фармакологические свойства таурина.

Материалы и методы. В работе использовали шаровую вибрационную мельницу МЛ-1 с измельчающими элементами или мельницу Retsch RS200 (результаты измельчения сопоставимы), растровый электронно-ионный микроскоп Quanta 200 3D с увеличением до 10000X (табл. 1) (ЦКП НИУ «БелГУ» «Диагностика структуры и свойств наноматериалов»). Кроме того, в работе использовали световой микроскоп с целью изучения его возможностей для решения задач НИР.

Таблица 1

Увеличение электронного микроскопа при изучении субстанции таурина

Время измельчения, мин				
0	5	15	30	45
200X	5000X	5000X	5000X	5000X

Интервалы измельчения выбирались с учетом предварительных экспериментов и их физико-химических свойств: таурин — вещество, представляющее собой 105ерproductive105 фазу со средним размером 18-22,4 мкм, растворимое в воде; интервалы измельчения — 5, 15, 30 и 45 минут — объясняются тем, что в течение 5-минутного измельчения устанавливалась способность порошков к измельчению, которая не менялась и в течение 10 минут. Далее частицы разукрупнялись, и последующий режим измельчения производился с временным «шагом» 15 минут.

Распределение по размерам микрочастиц изучалось с помощью лазерного дифракционного анализатора размера частиц «Analysette 22 NanoТес». В анализаторах, определяющих распределение частиц по размерам посредством лазерной дифракции, используется физический принцип рассеяния электромагнитных волн. Конструкция состоит из лазера, через измерительную ячейку направленного на детектор. При помощи диспергирующего устройства частицы подаются в измерительную ячейку и проходят сквозь лазерный луч. Свет, рассеянный пропорционально размеру частиц, посредством линзы фокусируется на детектор. По распределению рассеянного света при помощи комплексной математики рассчитывают распределение частиц по их размерам. В результате получают объемные доли, соответствующие эквивалентным диаметрам при лазерной дифракции.

Вместе с тем, изучение распределения частиц по размерам проводилось путем анализа фотографий частиц веществ, полученных с помощью растрового электронного микроскопа Quanta 200 3D. Расчет среднего размера частиц, распределения частиц по размерам и построение гистограмм осуществлялись в программе Microsoft Office Excel 2007.

Микроскопия требует выбора оптимального увеличения, которое строго индивидуально для каждого образца, так как при большем увеличении изображение становится нечетким и малоконтрастным, с пониженной разрешающей способностью; при меньшем увеличении изображение объекта, несмотря на четкость и повышенный контраст, становится настолько мелким, что элементы объекта практически неразличимы. Поэтому для объективного анализа распределения по размерам частиц образцов исследуемых лекарственных веществ были отобраны фотографии, сделанные при таком увеличении микроскопа, которое позволяло по масштабной линейке на снимке без затруднений определить как максимальный, так и минимальный размер частиц исследуемого образца. Увеличение микрофотографий, по которым определялось распределение частиц лекарственных веществ по размерам, представлено в табл. 1.

На рис. 1-20 представлены электронные микрофотографии изучаемых образцов, полученные с помощью электронного микроскопа и светового микроскопа.

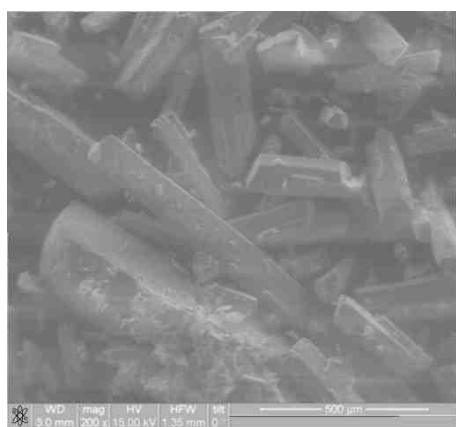


Рис. 1. Микрофотография исходной субстанции таурина (электронная микроскопия)

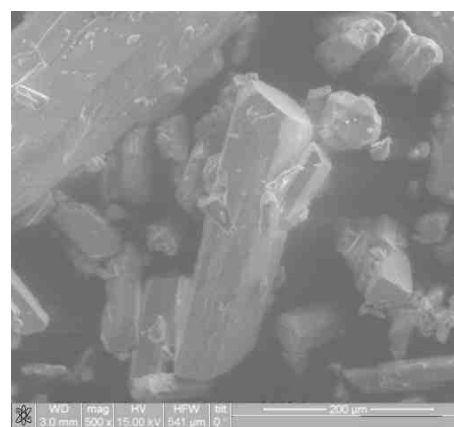


Рис. 2. Микрофотография исходной субстанции таурина (электронная микроскопия, крупный план)



Рис. 3. Микрофотография исходной субстанции таурина (световая микроскопия, 4X)

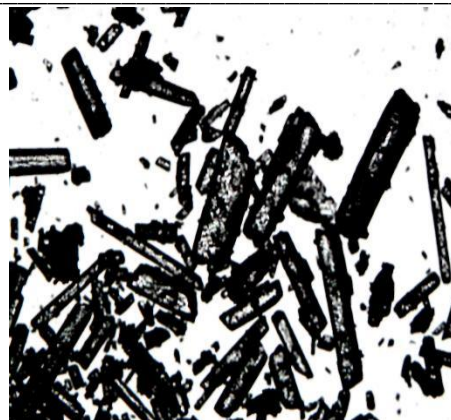


Рис. 4. Микрофотография исходной субстанции таурина (световая микроскопия, 4X, крупный план)

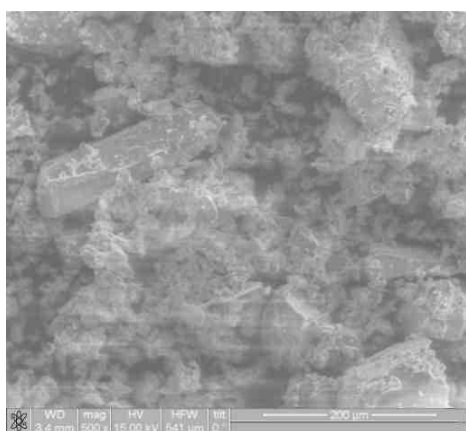


Рис. 5. Микрофотография субстанции таурина после 5 минут измельчения (электронная микроскопия)

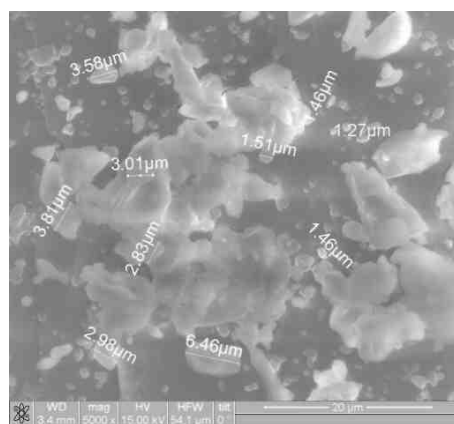


Рис. 6. Микрофотография субстанции таурина после 5 минут измельчения (электронная микроскопия, крупный план)



Рис. 7. Микрофотография субстанции таурина после 5 минут измельчения (световая микроскопия, 4X)



Рис. 8. Микрофотография субстанции таурина после 5 минут измельчения (световая микроскопия, 4X, крупный план)



Рис. 9. Микрофотография субстанции таурина после 15 минут измельчения (электронная микроскопия)

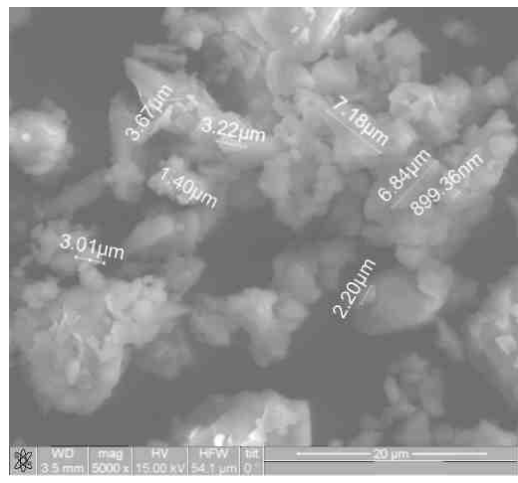


Рис. 10. Микрофотография субстанции таурина после 15 минут измельчения (электронная микроскопия, крупный план)



Рис. 11. Микрофотография субстанции таурина после 15 минут измельчения (световая микроскопия, 4X)



Рис. 12. Микрофотография субстанции таурина после 15 минут измельчения (световая микроскопия, 4X, крупный план)

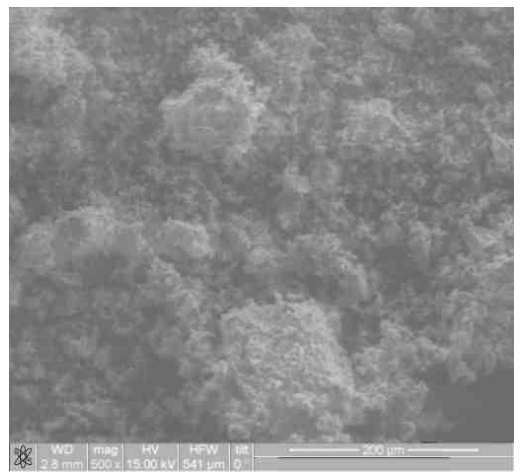


Рис. 13. Микрофотография субстанции таурина после 30 минут измельчения (электронная микроскопия)

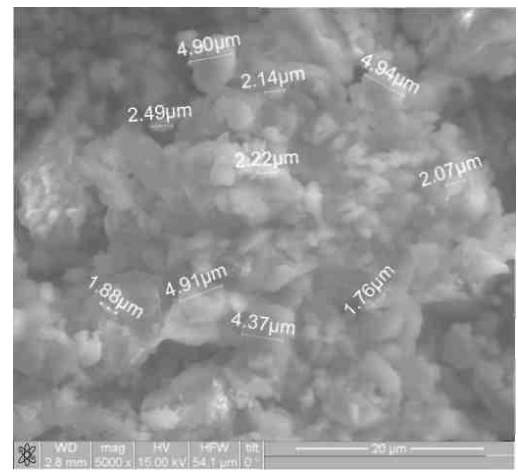


Рис. 14. Микрофотография субстанции таурина после 30 минут измельчения (электронная микроскопия, крупный план)



Рис. 15. Микрофотография субстанции таурина после 30 минут измельчения (световая микроскопия, 4X)



Рис. 16. Микрофотография субстанции таурина после 30 минут измельчения (световая микроскопия, 4X, крупный план)

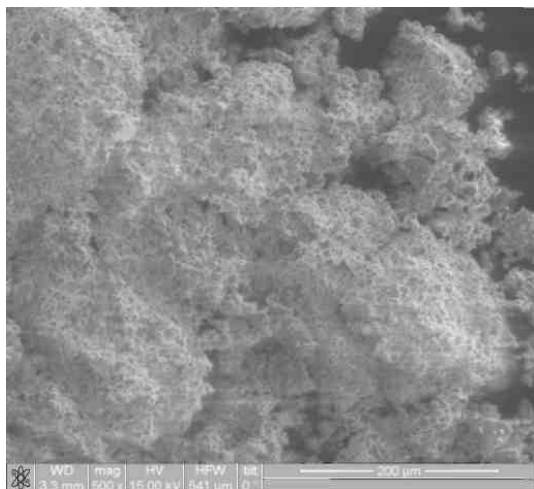


Рис. 17. Микрофотография субстанции таурина после 45 минут измельчения (электронная микроскопия)

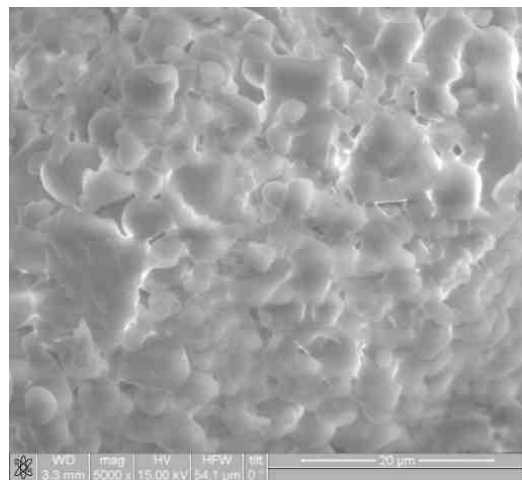


Рис. 18. Микрофотография субстанции таурина после 45 минут измельчения (электронная микроскопия, крупный план)

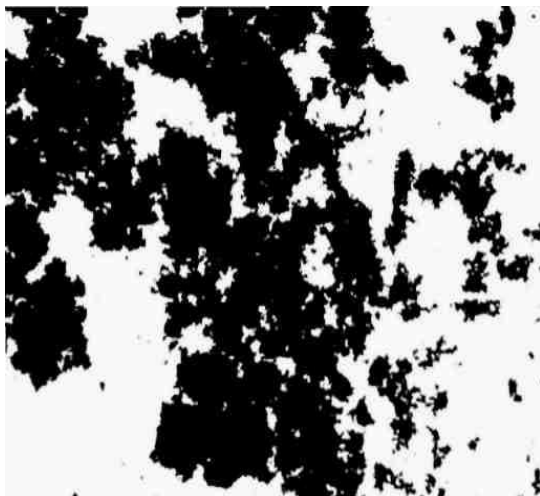


Рис. 19. Микрофотография субстанции таурина после 45 минут измельчения (световая микроскопия, 4X)



Рис. 20. Микрофотография субстанции таурина после 45 минут измельчения (световая микроскопия, 4X, крупный план)

Как видно из рис. 1-4, частицы неизмельченного таурина представляют собой продолговатые элементы с относительно гладкой поверхностью.

Как видно из микрофотографий рис. 5-16, по мере увеличения времени измельчения порошка таурина с 5 до 30 минут меняется и форма его частиц: из продолговатых элементов, характерных для неизмельченных фракций, форма становится пластинчатой при режиме измельчения 15 минут и равноосной для режима измельчения 30 минут. При этом наблюдается образование конгломератов частиц. На рис. 17-20 представлены микрофотографии таурина, измельчаемого в течение 45 минут, при этом режиме равноосные элементы собираются в конгломераты и образуют однородную, на взгляд, систему.

На рис. 21-25 представлены гистограммы распределения микрочастиц порошка неизмельченного и измельченного таурина.

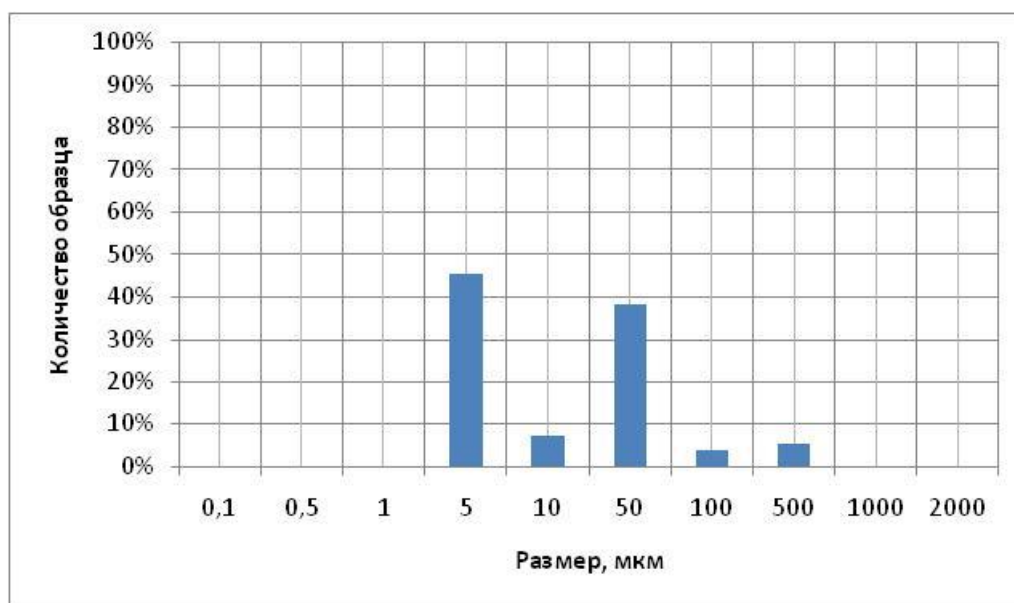


Рис. 21. Распределение по размерам микрочастиц порошка неизмельченного таурина

Как видно из рис. 21, порошок неизмельченного таурина состоит в основном из фракций с размером частиц 3,0-7,0 мкм и 35,0-65,0 мкм — 45% и 38% соответственно. Более мелких частиц с размером 8,0-12,0 мкм и крупных фракций с размером 75-350 мкм и свыше 500 мкм — 8% и 4% и 5% соответственно. Установлено, что средний размер частиц составляет 20,2 мкм.

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 5 минут, представленной на рис. 22, установлено, что возникает фракция частиц с размером 0,3-0,8 мкм — около 8%, возникает фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм и составляет 45%. Практически не меняется количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм — 42%, несколько снижается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 4%, резко снижается количество частиц фракции 35-65 мкм, этот показатель составляет 1%, а наиболее крупные фракции вообще отсутствуют. Установлено, что средний размер частиц составляет 1,7 мкм.

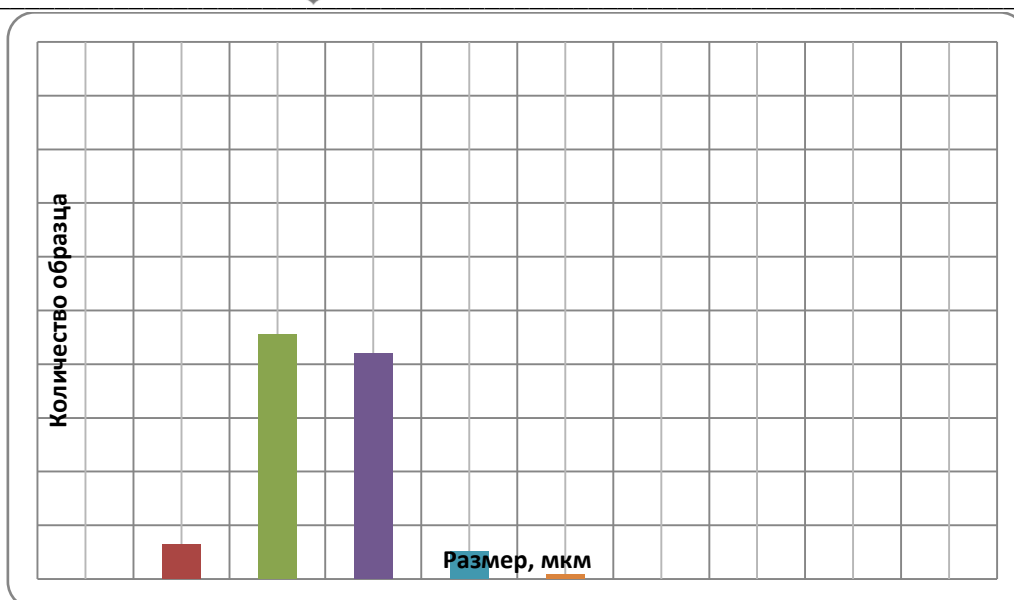


Рис. 22. Распределение по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 5 минут

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 15 минут, представленной на рис. 23, установлено, что фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм составляет 10%. Резко увеличивается количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм и составляет 77%, несколько увеличивается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 12%, не изменяется количество частиц фракции 35-65 мкм, этот показатель составляет 1%. Средний размер частиц составляет 2,85 мкм.

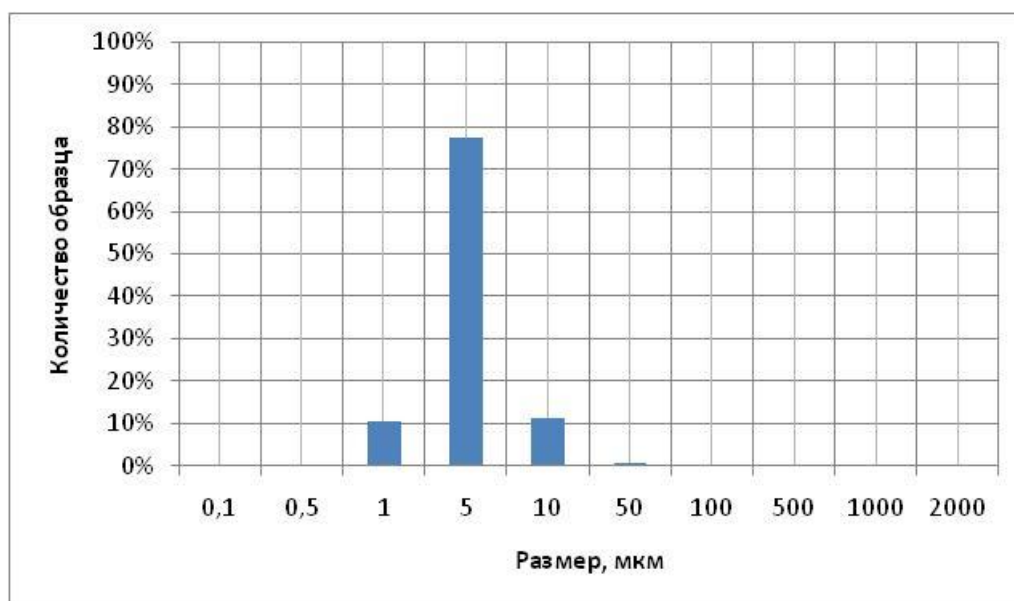


Рис. 23. Распределение по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 15 минут

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 30 минут, представленной на рис. 24 установлено, что в малом количестве возникает фракция с размером частиц 0,3-0,8 мкм – 1%, фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм составляет около 26%. Немного снижается количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм и составляет 64%, также несколько уменьшается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 7%, практически не изменяется количество частиц фракции 35-65 мкм, этот показатель составляет 2%. Средний размер частиц составляет 2,37 мкм.

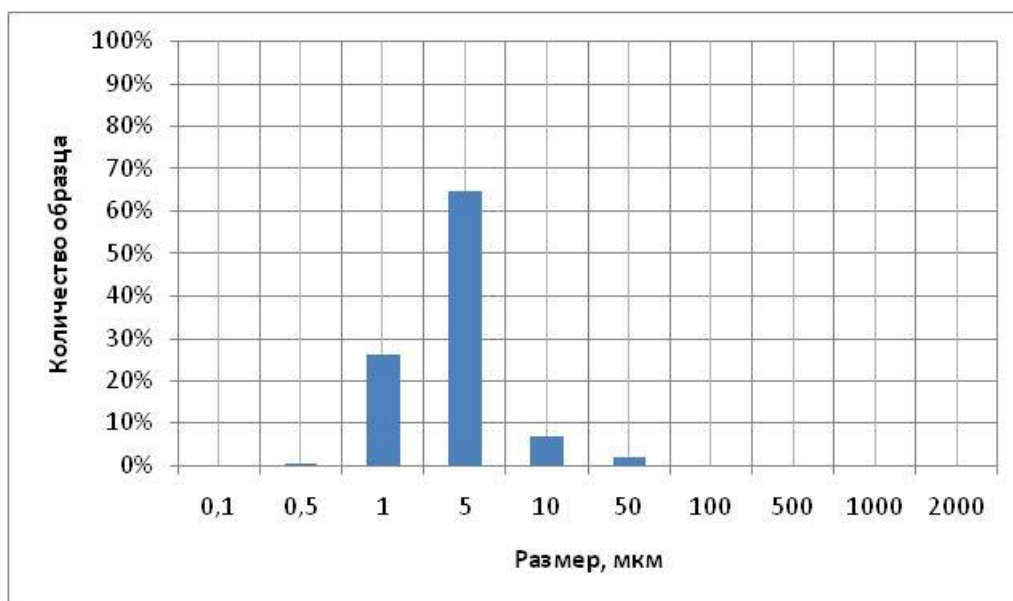


Рис. 24. Распределение по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 30 минут

При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 45 минут, представленной на рис. 25, установлено, что фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм составляет около 8%. Незначительно увеличивается количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм и составляет 78%, также несколько увеличивается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 14%. Отсутствуют крупные фракции.

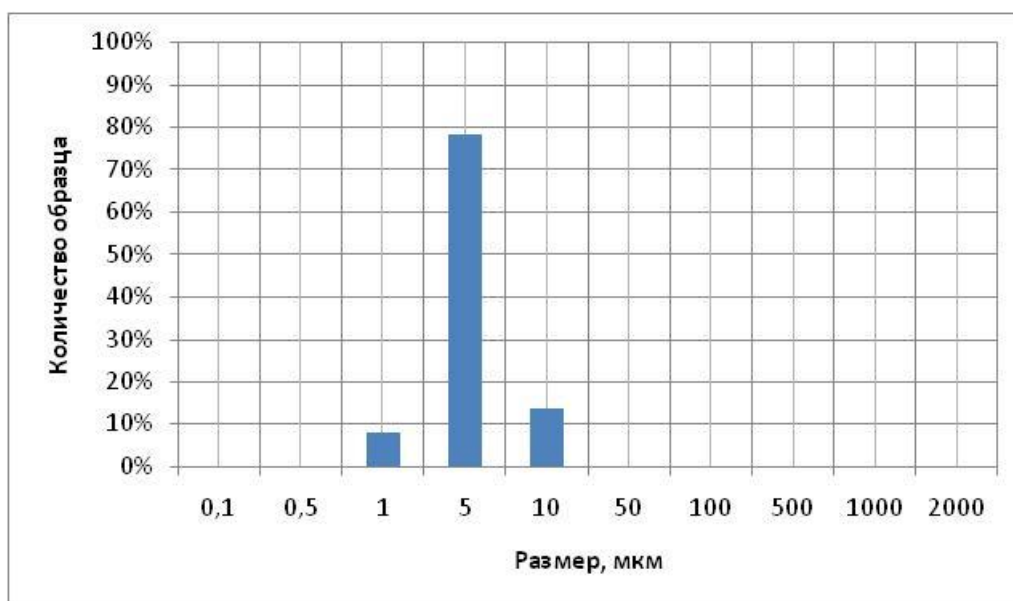


Рис. 25. Распределение по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 45 минут

Для более наглядного отображения и анализа изменения размеров частиц парацетамола данные гистограмм сведены в табл. 2.

Анализируя данные табл. 2, можно сделать вывод о том, что при измельчении порошка таурина в режиме 15 минут происходит наиболее интенсивное образование частиц мелких фракций с размером от 0,3 до 1,2 мкм, что в сумме составляет 53%. Кроме того, при таком режиме измельчения практически отсутствуют частицы крупных фракций. Поэтому именно этот режим может быть принят за технологичный. Отсутствие стабильной картины при дальнейшем измельчении предварительно можно объяснить тем, что мелкие частицы



образуют конгломераты и при продолжении технологического процесса измельчения не изменяются в размерах, а только формируют группы.

Таблица 2

Динамика изменения размеров частиц таурина

Время измельчения порошка таурина, мин	Размеры частиц, мкм/% содержания фракции						
	0,3-0,8	0,8-1,2	3,0-8,0	8,0-12,0	45,0-65,0	85,0-125	450-700
Неизмельченный	-	-	45	8	38	4	5
5	8	45	42	4	1	-	-
15	-	10	77	12	1	-	-
30	1	26	64	7	2	-	-
45	-	8	78	14	-	-	-

Заключение. Проведена электронная микроскопия полученных образцов субмикроструктурированных субстанций таурина. Доказано изменение структуры исходной субстанции таурина, а именно: частицы неизмельченного таурина представляют собой продолговатые элементы с относительно гладкой поверхностью, по мере увеличения времени измельчения порошка таурина с 5 до 30 минут меняется и форма его частиц: из продолговатых элементов, характерных для неизмельченных фракций, форма становится пластинчатой при режиме измельчения 15 минут и равноосной для режима измельчения 30 минут, при этом наблюдается образование конгломератов частиц; при режиме измельчения в течение 45 минут равноосные элементы собираются в конгломераты и образуют однородную систему.

Изучено распределение микрочастиц изучаемых субстанций. Так, порошок неизмельченного таурина состоит в основном из фракций с размером частиц 3,0-7,0 мкм и 35,0-65,0 мкм – 45% и 38% соответственно. Более мелких частиц с размером 8,0-12,0 мкм и крупных фракций с размером 75-350 мкм и свыше 500 мкм – 8% и 4% и 5% соответственно. Установлено, что средний размер частиц составляет 20,2 мкм. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельченного в течение 5 минут, установлено, что возникает фракция частиц с размером 0,3-0,8 мкм – около 8%, возникает фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм – 45%. Практически не меняется количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм – 42%, несколько снижается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 4%, резко снижается количество фракции 35-65 мкм, этот показатель составляет 1%, а наиболее крупные фракции вообще отсутствуют. Установлено, что средний размер частиц составляет 1,7 мкм. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 15 минут, установлено, что фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм составляет 10%. Резко увеличивается количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм и составляет 77%, несколько увеличивается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 12%, не изменяется количество частиц фракции 35-65 мкм, этот показатель составляет 1%. Средний размер частиц составляет 2,85 мкм. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 30 минут, установлено, что в малом количестве возникает фракция с размером частиц 0,3-0,8 мкм – 1%, фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм составляет около 26%. Немного снижается количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм и составляет 64%, также несколько уменьшается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 7%, практически не изменяется количество частиц фракции 35-65 мкм, этот показатель составляет 2%. Средний размер частиц составляет 2,37 мкм. При анализе гистограммы распределения по размерам микрочастиц порошка таурина, измельчаемого в течение 45 минут, установлено, что фракция с размером частиц 0,8-1,2 мкм составляет около 8%. Незначительно увеличивается количество частиц фракции 3,0-8,0 мкм и составляет 78%, также несколько увеличивается количество частиц фракции 8,0-12,0 мкм и составляет 14%. Отсутствуют крупные фракции. Следовательно, при измельчении порошка таурина в режиме 15 минут происходит наиболее интенсивное образование частиц мелких фракций с размером от 0,3 до 1,2 мкм, что в сумме составляет

53%. Кроме того, при таком режиме измельчения практически отсутствуют частицы крупных фракций. Поэтому именно этот режим может быть принят за технологичный. Отсутствие стабильной картины при дальнейшем измельчении предварительно можно объяснить тем, что мелкие частицы образуют конгломераты и при продолжении технологического процесса измельчения не изменяются в размерах, а только формируют группы.

Таким образом, доказано изменение структуры исходной субстанции таурина. Изучено распределение микрочастиц исследуемой субстанции. Далее планируется исследование физико-химических и фармакологических свойств изучаемой субстанции таурина с измененной структурой.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., Государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08.09.2010 г. «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

Литература

1. Наследие. Механохимия и механоактивация. – Режим доступа: <http://www.ibeton.ru/a22.php>
2. Аввакумов, Е.Г. Механические методы активации химических процессов / Е.Г. Аввакумов // Новосибирск. – Наука, Сиб. отд. – 1986. – 303 с.
3. Жилиякова, Е.Т. Изучение физико-химических характеристик крахмала картофельного и крахмала кукурузного с целью создания пролонгированных лекарственных форм с жидкой дисперсионной средой / Е.Т.Жилиякова, Н.Н.Попов, М.Ю. Новикова и др. // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2011. – №4 (99). – Вып. 13/2. – С.98-107.
4. Жилиякова, Е.Т. Изучение физико-химических свойств супрамикроструктурированного поливинилового спирта / Е.Т.Жилиякова, О.О. Новиков, М.А.Халикова и др. // Научные ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – №22 (93). – Вып. 12/2. – С.47-51.

GETTING THE LABORATORY SAMPLE OF SUBMICRO- AND/OR NANOSTRUCTURED SUBSTANCE OF TAURINE AND EXPERIMENTAL CONFIRMATION OF CHANGES ITS STRUCTURE

E.T. ZHILYAKOVA
M.Y. NOVIKOVA
D.A. FADEEVA
O.O. NOVIKOV
N.N. POPOV

Belgorod National Research University

e-mail: khalikova@bsu.edu.ru

The change of structure of the original substance of taurine: taurine unground particles are elongated elements with a relatively smooth surface, with increasing grinding time, taurine powder particles changes its shape: elongated elements of the form becomes a plate under a regime of cutting and equiaxed, and the observed formation of conglomerates of particles; prolonged grinding elements are collected in the conglomerates and form a homogeneous system.

Keywords: taurine, submicrostructuring, microparticles.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ СОРБЦИИ И ДЕСОРБЦИИ МИРАМИСТИНА В ОФТАЛЬМО-ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ

В.В. АКОПОВА¹

Е.Т. ЖИЛЯКОВА¹

Н.В. БЛАГОРАЗУМНАЯ²

*¹Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

*²Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: vela-mag@mail.ru

В статье отражены результаты исследований процессов сорбции и десорбции лекарственного препарата мирамистин в мягких контактных линзах. Для определения десорбции мирамистина разработана методика количественного определения препарата в контактной линзе. Мягкие контактные линзы, используемые в качестве транспортного средства, регулируют непрерывное высвобождение лекарственных веществ.

Ключевые слова: сорбция, десорбция, спектрофотометрия, контактная линза, мирамистин.

Глазные капли являются наиболее распространенной лекарственной формой в офтальмологии. Они представляют собой стерильные водные, масляные растворы или суспензии, содержащие одно или более действующих веществ и предназначенные для инстилляций в глаз.

Однако большинство глазных капель не являются пролонгированными лекарственными формами, что обуславливает частоту их применения (до 8 – 16 раз в сутки). Для многих пациентов с офтальмологическими заболеваниями инстилляций глазных капель трудно осуществимы, и это является существенным недостатком глазных капель.

Немаловажным является и тот факт, что при применении глазных капель невозможно отследить изменение концентрации лекарственного вещества в конъюнктивальной полости. Следовательно, вопрос о достижении терапевтической концентрации лекарственного препарата в тканях глаза так и не решен и продолжает оставаться актуальным [3].

Если сравнить традиционные глазные капли и такую оригинальную систему, как глазные вставки (линзы), то глазные вставки обладают рядом преимуществ:

- увеличение времени контакта препарата с поверхностью глаза и, таким образом, улучшение биодоступности;
- возможность обеспечения пролонгированного высвобождения лекарственного препарата и повышение его эффективности;
- уменьшение системных побочных эффектов;
- уменьшение числа составляющих и, как результат, сокращение побочных эффектов при применении;
- введение точной дозы в глаз и, следовательно, улучшение терапии.

Гидрофильные контактные линзы – это один из классов офтальмологических вставок. Контактные линзы являются оформленными структурами. Это ковалентно кросс-связанный гидрофильный или гидрофобный полимер, структура которого позволяет удерживать воду или водные растворы. Такие системы не растворяются, но могут набухать, сорбируя воду [4].

В качестве модельного объекта был использован мирамистин [1].

Мирамистин – бензилдиметил [3-(миристоиламино) пропил] аммоний хлорид моногидрат, антисептик широкого спектра действия с иммуномодулирующими свойствами. Мирамистин обладает бактерицидной активностью в отношении микрофлоры, вызывающей бактериальные конъюнктивиты [2].

Целью данной работы является получение терапевтической транспортной системы с мирамистином. Для реализации поставленной цели проводилось изучение динамики сорбции и десорбции лекарственного препарата из мягкой контактной линзы.

Для исследования сорбции мирамистина контактной линзой брали 6 линз. Линзы индивидуально помещали в контейнеры для мягких контактных линз (МКЛ) с 2 мл 0,02%

раствора мирамистина. Через определенные промежутки времени: 1, 2, 4, 6, 8, 10 часов линзы вынимали из контейнера, а в оставшемся растворе определяли количественное содержание мирамистина.

Разность между первоначальным содержанием мирамистина и оставшимся после извлечения линзой соответствует количеству препарата, сорбированному на линзе.

Количественное определение мирамистина проводили по следующей методике, приведенной в ФСП 42-0414-2768-02.

В делительную воронку вместимостью 100 мл вносили последовательно 0,01М раствор хлороводородной кислоты, 1 мл раствора мирамистина после сорбции линзой и водный раствор тропеолина 00. Перемешивали, добавляли 10 мл хлороформа и экстрагировали в течение 2 минут.

Хлороформный слой отделяли, фильтровали в мерную колбу вместимостью 25 мл через бумажный фильтр с безводным натрия сульфатом, предварительно смоченный хлороформом. Операцию повторяли трижды. Доводили объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивали.

Измеряли оптическую плотность хлороформного извлечения на спектрофотометре СФ-56 в максимуме поглощения при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10мм.

В качестве раствора сравнения использовали хлороформ. Параллельно измеряли оптическую плотность комплекса 2 мл 0,01% раствора стандартного образца мирамистина, приготовленного по методике, указанной в ФСП 42-0414-2768-02.

Содержание мирамистина в растворе вычисляли по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot a_0 \cdot 0,004}{A_0 \cdot a},$$

где A_x – оптическая плотность раствора мирамистина;

A_0 – оптическая плотность раствора СО мирамистина;

a – навеска раствора мирамистина;

a_0 – навеска СО мирамистина.

Содержание мирамистина (в %), сорбированного линзой, от максимально возможного, вычисляли по формуле:

$$X = \frac{(0,0002 - X)}{0,0002} * 100, \text{ где}$$

X – количество мирамистина, перешедшего в линзу, в % от максимально возможного.

Результаты количественного определения отражены в табл. 1.

Таблица 1

Результаты количественного определения мирамистина, сорбированного контактной линзой

Время, час	Оптическая плотность	Содержание мирамистина		
		г/мл в растворе	г/мл в линзе	в % в линзе
1	0,368	$1,27 \cdot 10^{-4}$	$0,73 \cdot 10^{-4}$	36,6
2	0,309	$1,07 \cdot 10^{-4}$	$0,93 \cdot 10^{-4}$	46,5
4	0,241	$0,83 \cdot 10^{-4}$	$1,17 \cdot 10^{-4}$	58,5
6	0,240	$0,83 \cdot 10^{-4}$	$1,17 \cdot 10^{-4}$	58,5
8	0,240	$0,83 \cdot 10^{-4}$	$1,17 \cdot 10^{-4}$	58,5
10	0,241	$0,83 \cdot 10^{-4}$	$1,17 \cdot 10^{-4}$	58,5

Как видно из данных табл. 1, в течение 4 часов происходит активная сорбция мирамистина контактными линзами. В дальнейшем количество сорбированного мирамистина не увеличивается, а остается постоянным – 58,5% от содержащегося в растворе.

Таким образом, оптимальное время сорбции 0,02% раствора мирамистина контактной линзой составляет 4 часа.

Для определения десорбции мирамистина из контактной линзы была разработана следующая методика, моделирующая процессы, происходящие при применении разрабатываемой офтальмо-терапевтической системы: линза, насыщенная раствором мирамистина в течение 4 часов, помещалась в контейнер для линз с 2 мл 0,09% раствора



натрия хлорида. Через 1 час линзу вынимали из раствора и перекладывали в следующий контейнер, где она выдерживалась второй час. Таким же образом линзу перемещали в следующие контейнеры, выдерживая соответственно диапазоны времени 2-4 часа, 4-8 часов и 8-10 часов. По 1 мл растворов после экспонирования 0-1 час, 1-2 часа, 2-4 часа, 4-8 часов и 8-10 часов подвергали количественному определению мирамистина по той же методике, что и при анализе сорбции. При определении содержания лекарственного вещества за 2, 3, 4, 5-й отрезки времени учитывалась концентрация уже высвободившегося мирамистина за предыдущие промежутки времени:

Таблица 2

Результаты количественного определения десорбции мирамистина

Время, час	Содержание в растворе, г/мл	Общая десорбция от начала процесса, г/мл
1	$0,650 \cdot 10^{-4}$	$0,650 \cdot 10^{-4}$
2	$0,404 \cdot 10^{-4}$	$1,054 \cdot 10^{-4}$
4	$0,110 \cdot 10^{-4}$	$1,164 \cdot 10^{-4}$
6		$1,164 \cdot 10^{-4}$
8		$1,164 \cdot 10^{-4}$
10		$1,164 \cdot 10^{-4}$

Таким образом, нами впервые установлено, что через 6 часов после выдерживания контактной линзы в 0,09% растворе натрия хлорида оптическая плотность раствора практически равнялась 0, что указывает на полное высвобождение лекарственного препарата из контактной линзы. В результате проведенных испытаний также определено, что максимальное высвобождение и максимальная концентрация наблюдается на поверхности глазного яблока уже через 4 часа после начала процесса десорбции.

Литература

1. Жилякова, Е. Т. Разработка состава и технологии глазных капель на основе мирамистина / Е. Т. Жилякова, Е. Ю. Тимошенко // Вестн. новых мед. технологий. – 2007. – Т. XIV, № 4. – С. 143-148.
2. Кривошеин, Ю.С. Мирамистин – антисептик широкого спектра действия/ Ю.С. Кривошеин // Рецепт. – 2006. - №3 (47). – С. 105-106
3. Ставицкая, Т.В. Особенности фармакокинетики препаратов, применяемых для лечения заболеваний глаз / Т.В. Ставицкая // Глаз. – 2003. – №2. – С. 22-25.
4. Gulsen, D. Ophthalmic drug delivery through contact lenses / D. Gulsen, A. Chauhan // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2004. – Vol. 45, № 7. – P. 2342-2347.

STUDY OF THE PROCESS OF SORPTION AND DESORPTION MIRAMISTIN OF OPHTHALMIC THERAPEUTIC SYSTEM

V.V. AKOPOVA¹
E.T. ZHILYAKOVA¹
N.V. BLAGORAZUMNAYA²

¹Belgorod National Research University

²Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

e-mail: vela-mag@mail.ru

The article reflects the results of research into the processes of sorption and desorption of the drug miramistin in soft contact lenses. To determine the desorption miramistin developed a method of quantifying the drug in the contact lens. Soft contact lenses are used as means of transport, regulate the continuous release of drugs.

Key words: sorption, desorption, spectrophotometry, contact lens, miramistin .

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И ВАЛИДАЦИОННАЯ ОЦЕНКА МЕТОДИК АНАЛИЗА СУППОЗИТОРИЕВ С КИСЛОТОЙ ГЛЮТАМИНОВОЙ

**Э.Ф. СТЕПАНОВА, А.Ю. САЕНКО
А.Ю. ПЕТРОВ, И.Я. КУЛЬ**

*Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: E.F. Stepanova@mail.ru

Разработана технология анализа суппозитория, содержащих кислоту глютаминовую. Методом равновесного диализа через полупроницаемую мембрану выбрана оптимальная основа и вспомогательное вещество. Разработаны методики качественного анализа методом тонкослойной хроматографии и количественного определения методом фотоколориметрии. Проведена валидационная оценка методик анализа суппозитория. Установлено, что суппозитории по всем показателям качества соответствуют требованиям, предъявляемым к данной лекарственной форме.

Ключевые слова: суппозитории, кислота глютаминовая.

Введение. Кислота глютаминовая (КГ) широко применяется в медицинской практике при заболеваниях центральной нервной системы: эпилепсии, соматогенных и инволюционных психозах, реактивных состояниях, протекающих с явлениями депрессии и истощения, при полиомиелите, болезни Дауна, церебральных параличах и др. Назначают ее в основном в виде таблеток, покрытых оболочкой. Однако в некоторых случаях пероральное введение сопровождается побочным действием: раздражением желудочно-кишечного тракта, рвотой, диареей [1].

В связи с этим актуальной является проблема совершенствования лекарственных средств с кислотой глютаминовой. С этой точки зрения заслуживают внимания ректальные суппозитории, преимущество которых является безболезненность введения, поступление большей части активной субстанции непосредственно в большой круг кровообращения, простота дозирования, удобство для использования в педиатрической и гериатрической практике [2].

Целью исследования явилась разработка технологии, анализ и валидационная оценка методик анализа ректальных суппозитория, содержащих кислоту глютаминовую.

Материалы и методы. Оптимальную основу выбирали методом диализа через полупроницаемую мембрану. В работе были использованы липофильные, дифильные, гидрофильные основы: твердый жир, масло какао, комплексная жировая основа (КЖО), новата, витепсол, полиэтиленоксидная основа.

Технология суппозитория заключалась в следующем: необходимое количество кислоты глютаминовой растирали в ступке, добавляли небольшое количество расплавленной основы и гомогенизировали. Затем добавляли оставшуюся основу и тщательно перемешивали до получения однородной массы. Охлаждали до температуры, близкой к температуре застывания, и выливали в разъемные формы, предварительно охлажденные и смазанные мыльным спиртом (для липофильных и дифильных основ) или вазелиновым маслом (для гидрофильных основ). Формы помещали в холодильник на 10-15 минут. После застывания разъемные формы разъединяли, извлекали суппозитории, подсушивали их на воздухе и упаковывали.

Для изучения процесса высвобождения кислоты глютаминовой из суппозитория измельчали один суппозиторий, помещали на целлофановую пленку диализатора и погружали в диализную среду. Диализ проводили при температуре $(37 \pm 1)^\circ \text{C}$. Пробы отбирали через 15, 30, 45, 60 минут. Объем восполняли таким же количеством диализной среды.

Содержание кислоты глютаминовой определяли фотоколориметрическим методом по реакции с нингидрином.

При выборе вспомогательных веществ для суппозитория были использованы: эмульгаторы №1 и Т-2, глицерам.

Для идентификации ингредиентов в суппозиториях был использован метод тонкослойной хроматографии на пластинках «Сорбфил». При выборе оптимальной системы растворителей был использован ряд систем, содержащих полярные и неполярные растворители. Проявляли кислоту глютаминовую 1% раствором нингидрина в спирте



этиловом 95% с последующим нагреванием пластинки в сушильном шкафу при температуре 105°C в течение 5-7 минут.

Метод тонкослойной хроматографии был использован для изучения стабильности кислоты глутаминовой в суппозиториях. Для этой цели проведено термическое разложение кислоты глутаминовой в сушильном шкафу при температуре 105°C. Периодически отбирали пробы и исследовали стабильность кислоты глутаминовой методом тонкослойной хроматографии.

Для количественного определения кислоты глутаминовой один суппозиторий измельчали, помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл воды очищенной, нагревали на водяной бане до расплавления основы. Содержимое колбы перемешивали, охлаждали и фильтровали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяли еще дважды порциями по 20 мл воды очищенной, переносили в ту же колбу и доводили до метки тем же растворителем (раствор А). Затем 5 мл раствора А помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводили водой до метки (раствор Б). В мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 1 мл раствора Б, прибавляли 1 мл фосфатного буфера с рН=6,8 и 3 мл 1% раствора нингидрина в спирте этиловом 95%. Раствор нагревали на водяной бане в течение 30 минут, охлаждали и доводили до метки водой очищенной. Оптическую плотность измеряли на фотоколориметре КФК-2 при светофильтре с длиной волны 490 нм.

Параллельно проводили измерение оптической плотности раствора стандартного образца (СО) кислоты глутаминовой. На анализ брали 1 мл 0,05% раствора стандартного образца, добавляли 1 мл фосфатного буфера и 3 мл 1% спиртового раствора нингидрина. Нагревали на водяной бане в течение 30 минут. Затем охлаждали, доводили до метки растворителем.

Затем измеряли оптическую плотность раствора стандартного образца кислоты глутаминовой (A_{CO}) при указанных условиях.

Расчет содержания КГ проводили по формуле:

$$X = \frac{A_X \cdot 25 \cdot a_{CO}}{A_{CO} \cdot 5},$$

где a_{CO} – навеска стандартного образца кислоты глутаминовой, г;

A_X – оптическая плотность исследуемого раствора;

A_{CO} – оптическая плотность раствора стандартного образца.

Для установления срока годности суппозитории помещали в контурные упаковки из полимерных материалов и хранили в холодильнике при температуре (4±1)°C.

Проведена валидационная оценка разработанных методик анализа кислоты глутаминовой в суппозиториях.

Проведена стандартизация суппозитория с кислотой глутаминовой по показателям: описание, подлинность, время полной деформации, температура плавления, средняя масса суппозитория и отклонения от нее, посторонние примеси, количественное определение.

Результаты. На основании проведенных исследований установлено, что наибольшее количество кислоты глутаминовой высвобождается из комплексной жировой основы (КЖО) и ПЭО (табл. 1).

Таблица 1

Результаты высвобождения кислоты глутаминовой из суппозитория

Основа	Время, мин							
	15		30		45		60	
	А	С%	А	С%	А	С%	А	С%
КЖО	0,12	1,0	0,28	2,3	0,39	3,2	0,64	5,3
Твердый жир	0,11	0,92	0,12	1,0	0,14	1,2	0,2	1,7
Витепсол	0,03	0,24	0,07	0,60	0,11	0,92	0,12	1,0
Новата	0,05	0,4	0,07	0,6	0,08	0,7	0,16	1,32
ПЭО	0,085	0,72	0,22	1,84	0,85	7,1	0,95	7,9
Масло какао	0,102	0,84	0,15	1,24	0,19	1,6	0,33	2,8

Проведена сравнительная оценка результатов высвобождения кислоты глютаминовой из основ КЖО и ПЭО в присутствии вспомогательных веществ: глицерама, эмульгаторов №1 и Т-2. Установлено, что большее количество кислоты глютаминовой (до 30,0%) высвобождается из КЖО в присутствии эмульгатора №1 (рис. 1).

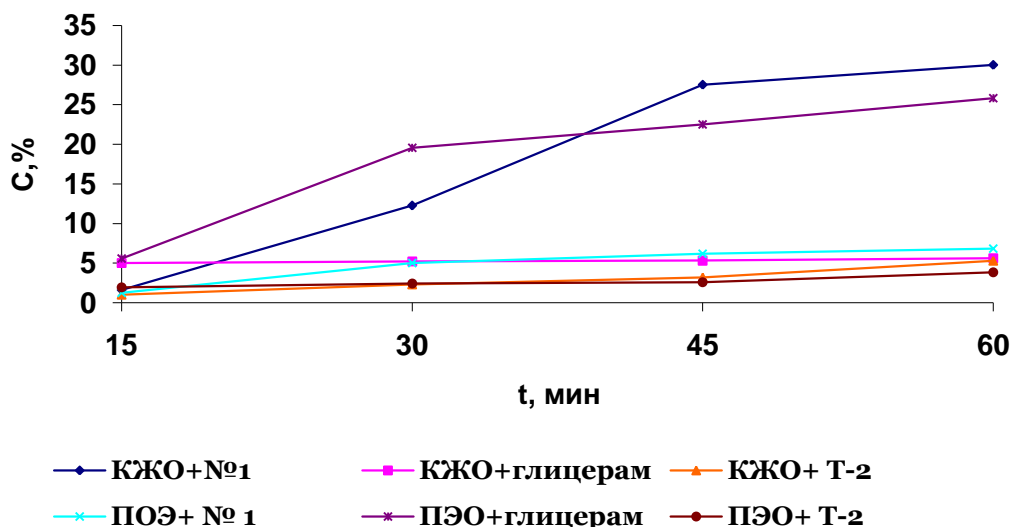


Рис. 1. Результаты выбора вспомогательных веществ

Методом хроматографии в тонком слое сорбента для идентификации кислоты глютаминовой выбрана оптимальная система растворителей: хлороформ-спирт этиловый 95%-раствор аммиака 25% (4:4:2).

Кислоту глютаминовую после проявления раствором нингидрина обнаруживали по появлению розового пятна с $\alpha = 0,52$.

При исследовании стабильности методом тонкослойной хроматографии установлено, что через 3 суток термического разложения в УФ-свете обнаружено дополнительное темное пятно продукта деструкции с $\alpha = 0,59$. При обнаружении дополнительного пятна с указанным значением с суппозитории следует считать не соответствующими требованиям фармакопеи.

Обсуждение результатов. Результаты определения количественного содержания кислоты глютаминовой в суппозиториях свидетельствует, что относительная погрешность не превышает $\pm 2,09\%$ (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определения кислоты глютаминовой в суппозиториях на основе КЖО с эмульгатором №1

Ах	Аст	мст	Р суп	Навеска, г	Найдено, г	Метрологические характеристики
0,660	0,65	0,05	1,9950	2,0024	0,253	$\bar{X} = 0,249$ $S = 0,0051$ $Sx = 0,0021$ $\Delta X = 0,0053$ $\varepsilon = \pm 2,12\%$
0,640				1,9840	0,247	
0,620				1,9710	0,241	
0,665				2,0013	0,255	
0,645				1,9811	0,249	
0,655				1,9940	0,252	

В результате проведенной валидационной оценки разработанных методик анализа установлено: методика линейна (уравнение градуировочного графика $y = 430,43x + 0,0009$); прецизионна (стандартное отклонение 0,0049, относительное стандартное отклонение $\pm 1,97\%$); и правильна (стандартное отклонение 1,01; относительное стандартное отклонение $\pm 1,01\%$). Полученные данные подтверждают валидность разработанной методики.



Данные, полученные при стандартизации разработанной лекарственной формы, показали, что суппозитории с кислотой глутаминовой по всем показателям качества соответствуют требованиям, предъявляемым к данной лекарственной форме.

Выводы. Разработана технология и методики анализа суппозиториев с кислотой глутаминовой. Выбран состав основы и вспомогательные вещества.

Методом хроматографии в тонком слое сорбента разработаны условия идентификации кислоты глутаминовой в суппозиториях.

Установлена стабильность кислоты глутаминовой в суппозиториях.

Установлена возможность количественного определения кислоты глутаминовой в суппозиториях методом фотоколориметрии по реакции с нингидрином.

Проведена стандартизация суппозиториев и установлен срок их годности, который составил 2 года.

Литература

1. Машковский, М.Д. Лекарственные средства. – Изд. 16-е, перераб., испр. и доп. / М.Д. Машковский. – М.: Новая волна, 2010. – С. 659.

2. Тенцова, А.И. Лекарственная форма и терапевтическая эффективность лекарств / А.И. Тенцова, И.С. Ажгихин. – М.: Медицина, 1974. – 336 с.

WORKING OUT OF TECHNOLOGY AND VALIDATION THE ESTIMATION OF TECHNIQUES OF ANALYSIS SUPPOSITORIES WITH GLUTAMINIC ACID

E.F. STEPANOVA

A.Y. SAENKO

A.U. PETROV

I.J. KOOL

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

e-mail: E.F. Stepanova@mail.ru

The technology suppositories, containing glutaminic acid is developed. The method of an equilibrium dialysis through a seminontight membrane chooses an optimum basis and auxiliary substance. Techniques of the qualitative analysis by a method thin-layer chromatography and quantitative definition by a method photocolometry are developed. The estimation of techniques of the analysis suppositories is spent validation. It is established, that suppositories on all indicators of quality correspond to the requirements shown to the given medicinal form.

Key words: suppositories, glutaminic acid.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО УСТАНОВЛЕНИЮ СРОКОВ ГОДНОСТИ ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ГЛАЗНЫХ КАПЕЛЬ С БИШОФИТОМ

Б.Б. СЫСУЕВ¹
И.Ю. МИТРОФАНОВА¹
Э.Ф. СТЕПАНОВА²

¹*Волгоградский государственный
медицинский университет*

²*Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

e-mail: bsb500@yandex.ru

Была изучена стабильность пролонгированных глазных капель бишофита, предлагаемых нами в качестве стимулятора репарации роговицы после оперативных вмешательств и травматических повреждений глаз, при упаковке в стеклянную тару в условиях естественного и искусственного хранения, установлен срок годности, равный 2 годам.

Ключевые слова: пролонгированные глазные капли, минерал бишофит, стабильность.

Введение. За последние 10 лет уровень заболеваний органа зрения увеличился в среднем на 25,8%. Ведущими заболеваниями органа зрения являются катаракта и глаукома, которые вместе составляют более 86,9% всех заболеваний глаза и его придаточного аппарата [7].

На сегодняшний день наиболее эффективным методом стабилизации глаукомного процесса при закрытоугольной глаукоме и восстановления зрения при катарактах является хирургический. Однако после данных вмешательств в послеоперационном периоде нередко развиваются осложнения [1, 6].

В структуре глазного травматизма поражения роговицы и их последствия составляют более 30%. Из них наиболее тяжелую группу патологии, ведущую к значительному снижению зрения, представляют ранения роговицы химическими, термическими и термохимическими агентами, которые составляют 30-62,8% общего количества травм глаза [5].

В связи с этим наряду с дальнейшим совершенствованием хирургических методов лечения актуальным направлением остается разработка и внедрение новых, более эффективных противовоспалительных офтальмологических препаратов и лекарственных средств, направленных на интенсификацию регенераторно-репаративных процессов роговицы глаза.

В последние годы особый интерес вызывают исследования, направленные на поиск и создание новых препаратов на основе природных соединений, которые характеризуются менее выраженными побочными эффектами, низкой иммуногенностью и цитотоксичностью, большей проницаемостью через биологические барьеры, экономической доступностью и экологической чистотой сырьевого источника. Одним из соединений, отвечающих этим требованиям, является минерал бишофит, значительные запасы которого находятся на территории Нижнего Поволжья.

В результате комплексных биофармацевтических и физико-химических исследований разработан состав и технология пролонгированных глазных капель бишофита, предлагаемых нами в качестве стимулятора репарации роговицы после оперативных вмешательств и травматических повреждений глаз [9].

Цель: изучение стабильности пролонгированных глазных капель бишофита в стеклянной упаковке в условиях естественного и искусственного хранения.

Материалы и методы. В лабораторных условиях было приготовлено 5 серий пролонгированных глазных капель бишофита. Они были упакованы в стеклянную тару и заложены в термостат при 40°C для изучения стабильности и установления срока годности [1].

Одновременно 5 серий упакованных в стеклянную тару пролонгированных глазных капель бишофита были подвергнуты хранению в естественных условиях при температуре не выше 25 °C в течение 2 лет.

При установлении срока годности глазных капель оценивали изменение показателей качества (внешний вид, значение pH, вязкость, стерильность) и количественное содержание действующего вещества в процессе естественного и искусственного хранения.

Для оценки качества глазных капель и изучения их стабильности в процессе хранения нами была изучена возможность установления подлинности и количественного определения отдельных ингредиентов в данном лекарственном препарате при их совместном присутствии.

Подлинность бишофита определяли путем проведения качественной реакции



раствора с хлоридом аммония в присутствии раствора аммиака и раствора фосфата натрия, подтверждающей наличие ионов магния в препарате. Присутствие хлорид-ионов подтверждали реакцией с нитратом серебра.

Значение pH глазных капель бишофита определяли потенциометрически. Согласно ГФХП, часть 1, с.71 [3]. Величина pH должна находиться в интервале от 7,8 до 9,0.

Определение вязкости глазных капель бишофита проводили с использованием вискозиметра ВПЖ-1 согласно ГФХП, часть 1, с.30 [3]. Значение вязкости должно быть в интервале от 15 до 21 сП.

Разработанные глазные капли должны выдерживать требования Инструкции по контролю на механические включения глазных капель (РДИ 42-504-00), быть прозрачными и стерильными согласно ГФХП издания [3, 4].

Количественное содержание бишофита оценивали по содержанию ионов магния методом комплексонометрического титрования согласно ФСП 42-015018-2001. Титрант – раствор трилона Б, индикатор – эриохром черный. Титрование проводили в присутствии аммиачного буферного раствора (pH 9,5 – 10,0) [8].

Результаты исследования. Результаты изменения физико-химических свойств разработанных глазных капель по результатам 2 лет естественного и искусственного хранения в стеклянной таре приведены в табл. 1-2.

Таблица 1

Результаты изучения стабильности пролонгированных глазных капель бишофита в стеклянной таре методом ускоренного хранения при температуре 40°C

Показатель качества	Требования проекта ТУ	Результаты анализов				
		Срок хранения				
		Начало эксперимента	46 сут.	92 сут.	138 сут.	184 сут.
Описание	Прозрачная однородная умеренно вязкая масса без цвета и запаха	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Качественный анализ						
Ионы магния	Ионы магния с хлоридом аммония (белый кристаллический осадок)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Хлорид-ион	Хлорид-ион с серебра нитратом (белый творожистый осадок)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
ГЭЦ	При нагревании 10 мл раствора ГЭЦ до кипения раствор остается прозрачным	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Значение pH	7,5-9,0	7,80±0,01	7,92±0,09	8,04±0,09	8,15±0,09	8,29±0,11
Вязкость, сП	15-21	18,60±0,71	19,65±0,67	19,83±0,56	20,05±0,58	20,22±0,63
Прозрачность	Прозрачен	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Стерильность	Стерилен	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Механические включения	Отсутствуют	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественный анализ						
Концентрация Mg ²⁺ , %	0,77 – 0,99	0,86±0,04	0,84±0,03	0,82±0,04	0,80±0,04	0,78±0,04

Как следует из табл. 1, в результате хранения предлагаемого средства в течение 184 дней при температуре 40°C, эквивалентным 2 годам хранения в естественных условиях,

глазные капли бишофита остаются стабильными, т. е. предварительный срок годности глазных капель составляет не менее 2 лет.

Таблица 2

Результаты изучения стабильности пролонгированных глазных капель бишофита в стеклянной таре, подвергавшихся хранению в естественных условиях

Показатель качества	Требования проекта ТУ	Результаты анализов						
		Срок хранения						
		Начало эксперимента	1 мес.	6 мес.	9 мес.	12 мес.	18 мес.	24 мес.
Описание	Прозрачная однородная умеренно вязкая масса без цвета и запаха	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Качественный анализ								
Ионы магния	Ионы магния с хлоридом аммония (белый кристаллический)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Хлорид-ион	Хлорид-ион с серебра нитратом (белый творожистый осадок)	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
ГЭЦ	При нагревании 10 мл раствора ГЭЦ до кипения раствор остается прозрачным	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Значение рН	7,5-9,0	8,00±0,11	8,03±0,13	8,03±0,13	8,21±0,13	8,26±0,13	8,30±0,13	8,35±0,13
Вязкость, сП	15-21	16,04±0,73	16,66±0,58	17,24±0,63	17,30±0,61	17,40±0,63	17,48±0,66	17,58±0,66
Прозрачность	Прозрачен	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Стерильность	Стерилен	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Механические включения	Отсутствуют	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Количественное определение								
Концентрация Mg ²⁺ , %	0,77 – 0,99	0,88±0,02	0,88±0,02	0,87±0,02	0,87±0,02	0,86±0,02	0,84±0,03	0,81±0,02



Согласно данным табл. 2, глазные капли соответствуют требованиям нормативной документации в течение 2 лет.

Сорбция ионов магния на стекле составляет до 9%, процесс несколько нивелируется пролонгатором. В ходе хранения наблюдается незначительное изменение физико-химических параметров глазных капель: повышение в отдельных случаях динамической вязкости. Данный факт объясняется тем, что формирование пространственной структуры раствора бишофита и ГЭЦ завершается через 3-4 месяца после изготовления, что сопровождается повышением вязкости.

В процессе хранения в стеклянной таре отмечалось увеличение значений pH разработанных глазных капель на 4-7 %.

В течение указанного срока годности не было обнаружено роста микроорганизмов и потери стерильности, что свидетельствует о качественной технологии и высокой микробиологической стабильности разработанных глазных капель.

Вывод. В целом разработанные глазные капли бишофита при упаковке в стеклянную тару показывают высокую физико-химическую стабильность в процессе хранения. Экспериментальный срок хранения (годности) изученных глазных капель бишофита при упаковке в стеклянную тару составляет не менее 2 лет.

Таким образом, доказана стабильность пролонгированных глазных капель бишофита при упаковке в стеклянную тару в течение не менее двух лет.

Литература

1. Авдеев, С. Н. Устройства доставки ингаляционных препаратов, используемых при терапии заболеваний дыхательных путей / С. Н. Авдеев // Русский медицинский журнал – 2002. – Т. 10, №5. – С. 255-261.
2. Временная инструкция по проведению работ с целью определения сроков годности лекарственных средств на основе метода «ускоренного старения» при повышенной температуре. – М., 1983. – 13 с.
3. Государственная Фармакопея Российской Федерации – изд. 12-е. – М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – Ч. 1. – 696 с.
4. Инструкция по контролю на механические включения глазных капель РДИ 42-504-00 // Новая аптека. – 2001. – №4. – С. 72-74.
5. Олиневич, В. Б. Морфологические особенности регенераторно-репаративных процессов в роговице при действии синтетических аналогов эндогенных пептидных фрагментов белка S 100b в эксперименте / В. Б. Олиневич и др. // Вестник офтальмологии. – 2009. – №2. – С. 3-6.
6. Полуниин, Г.С. Эффективность медикаментозного лечения различных видов катаракт / Г.С. Полуниин // Консилиум медикум. Офтальмология. – 2001. – Т. 3, №12. – С 9-11.
7. Попова, И. В. Рационализация управления региональной заболеваемостью органа зрения на основе мониторинга медико-биологических и социально-гигиенических факторов: автореф. дис. ...канд. мед. наук: 05.13.01 / И. В. Попова. – Воронеж, 2007. – 18 с.
8. ФСП 42-015018-2001 Бишофит. – Введ. 10.10.2001. – Волгоград: ГП «Фармацевтическая фабрика», 2001. – 6 с.
9. Mitrofanova, I. U. Formulation and technology of bischofite ophthalmological solution / И. Ю. Митрофанова // Открытая научно-практическая конференция молодых ученых и студентов с международным участием, посвященной 75-летию ВолГМУ «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (68; Волгоград; 2010): Материалы. – Волгоград, 2010. – С. 306.

PROLONGED BISHOFITE EYEDROPS' EXPIRATION DATE DETERMINATION RESEARCH

B.B. SYSUEV¹

I.U. MITROFANOVA¹

E.F. STEPANOVA²

¹*Volgograd State Medical University*

²*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

e-mail: bsb500@yandex.ru

The stability of prolonged bischofite eyedrops, that can be used as a stimulator of cornea reparation after operations and injuries, packed in glass container at natural and factitious condition was studied and we determinated expiration date, which was 2 years.

Key words: prolonged eyedrops, mineral bishofite, stability.

УДК 661.123:615.451.012:582.933.

СУММАРНЫЕ ФИТОПРЕПАРАТЫ ПОДОРОЖНИКА БОЛЬШОГО – ВОЗМОЖНОСТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ

**З.В. БАДАЛЯН², Э.Ф. СТЕПАНОВА¹
А.М. ТЕМИРБУЛАТОВА¹, И.Н. ЗИЛФИКАРОВ³**

*¹Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

*²Северо-Осетинский
государственный университет
им. К. Хетагурова,
г. Владикавказ*

³ ЗАО «ВиФитех», г. Москва

e-mail: e.f.stepanova@mail.ru

Определены товароведческие и технологические показатели листьев подорожника. Разработана новая технология нативного сока подорожника. Получен жидкий экстракт подорожника по ресурсосберегающей технологии. Проведен теоретический поиск оптимальных условий экстрагирования.

Ключевые слова: сок, ферментация, экстракт жидкий, ресурсосберегающая технология.

Расширение диапазона использования хорошо известных ценных растительных объектов в медицине – задача важная и актуальная.

Подорожник большой (*Plantago major* L., сем. Plantaginace) – растение востребованное, отлично зарекомендовавшее себя на протяжении многих десятилетий.

Подорожник большой распространен почти на всей территории России, за исключением Крайнего Севера. Растет по обочинам дорог, на пустырях, полях, огородах, вблизи жилья, по лесным опушкам и берегам водоемов. На Кавказе встречается повсеместно, начиная от низменных районов и кончая верхним горным поясом.

В листьях подорожника содержатся флавоноиды: апигенин, лютеолин, байкалин $C_{21}H_{18}O_{11}$ и скутеллярин $C_{21}H_{18}O_{12}$, полисахариды 20%, слизи, манит, сорбит 1,5%. Иридоиды: аукубин $C_{15}H_{22}O_9$ (дающий при гидролизе аукубигенин $C_9H_{12}O_4$ и глюкозу) 1%, каталпол ~0,1%, аукубозид. Витамины: К, аскорбиновая кислота (до 42,2 мг%). Фенолы и их производные: тирозол. Фенолкарбоновые кислоты и их производные: сиреневая, ванилиновая, п-гидроксibenзойная, феруловая, п-кумаровая, салициловая, бензойная, коричная, хлорогеновая, неохлорогеновая, метиловый и этиловый эфиры коричной кислоты, а также горькие и дубильные вещества, холин, стероидные сапонины, минеральные соли. В свежих листьях обнаружен норадреналин.

В семенах подорожника найдены: органические кислоты – янтарная – 1,28%, слизи – 20%, иридоиды – аукубин 0,37%, стероиды, сапонины, дубильные вещества. Жирное масло – 9,43%, в его составе кислоты: олеиновая, линолевая, линоленовая, элаидиновая, триглицериды олеиновой и линолевой кислот, высшие жирные кислоты.

В народной медицине листья подорожника большого используются наружно при ожогах, ранах, язвах, воспалительных заболеваниях кожи. Настои и отвары из листьев подорожника принимают внутрь при гастритах и язвенной болезни желудка с нормальной или пониженной кислотностью, энтеритах, колитах, как отхаркивающее и кровоостанавливающее средство, при бронхитах, туберкулезе легких, при анемии, неврастении, как противоопухолевое средство [3].

В практической медицине суммарные лекарственные препараты (в том числе сок) применяют при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки; наружно – при воспалительных болезнях ротовой полости и носоглотки, ушибах, ранах, порезах, хронических язвах, ожогах, флегмонах, как ранозаживляющее средство; в косметике – при жирной рыхлой коже; в акушерстве и гинекологии – при эндометрите, миометрите, параметрите, аднексите, а также при бесплодии, обусловленном ановуляцией при метроррагиях. Сок из свежей травы эффективен при лечении анацидных и хронических гастритах, колитах, ран рогаговы, при нейродермитах и угрях. Установлено, что сок и препараты из него обладают противомикробным действием по отношению ко многим патогенным микробам (стафилококкам, стрептококкам, синегнойной палочке и др.), их



применяют для лечения фурункулов, гнойных ран, нарывов. Поэтому сок из свежих листьев подорожника всегда доминировал среди всех его лекарственных форм.

Технологический процесс получения сока состоит из основных операций: измельчение листьев; прессование (на данной стадии получают 56,5–60% сока, и происходит отделение первой порции сока и первичного влажного шрота); повторное измельчение жома (с образованием второй порции сока и вторичного шрота); объединение первой и второй порций сока; консервирование сока (к отжатому соку немедленно добавляют 25 частей этилового спирта 90% при постоянном перемешивании и 0,15% натрия метабисульфита); отстаивание в течение 7 суток; фильтрация. Стадия отжима первичного шрота трудоемка, но необходима, так как первичный шрот содержит 10% сока.

Важным фактором, повышающим динамику извлечения сока из листьев подорожника, является степень измельчения листьев подорожника и продолжительность контакта нативного сока с исходным сырьем. Нами определены оптимальные степень и способ измельчения листьев подорожника, обеспечивающие наиболее полное и быстрое их истощение, позволяющие повысить суммарный выход экстрактивных веществ. В связи с этим нами разработана новая технология получения нативного сока подорожника. Мы предлагаем провести предварительное биостимулирование листьев подорожника в традиционных для этого условиях: целые листья выдерживаются в течение 10 суток в условиях холодильника (+5° - +8° С), после чего листья подорожника измельчают до 3–5 мм и помещают в термостат при температуре 37° С. Продолжительность ферментативного процесса, протекающего при достигнутой температуре, – 24 часа, затем ферментация прекращается, и смесь повторно измельчают до образования однородной массы, которую отжимают на прессе. Отжатый сок консервируют и фильтруют для отделения от сопутствующих веществ.

Таблица 1

Результаты сравнительной оценки нативного сока подорожника

№ серии	Содержание экстрактивных веществ в соке, %	
	Традиционная технология	Усовершенствованная технология
1	1,91	2,16
2	1,90	2,15
3	1,98	2,25
4	2,03	2,28
5	2,05	2,32
6	1,92	2,14

Анализ данных табл. 1 показывает, что внесенные нами усовершенствования позволяют увеличить выход нативного сока, и при этом содержание экстрактивных веществ увеличивается в среднем на 13%.

Анализ образцов полученного нами сока по основным показателям (описание, подлинность, сухой остаток, количественное содержание аскорбиновой кислоты, полисахаридов) показал, что они количественно приближены к показателям традиционного сока. Таким образом, проведенные нами предварительные исследования выявили целесообразность использования ферментации при получении лекарственных препаратов из подорожника.

Однако получение сока всегда имело некоторые технологические сложности, связанные, прежде всего, со сбором и переработкой свежего сырья. Поэтому следующим этапом наших исследований явилось создание экстракта жидкого из высушенных листьев растения [1].

В настоящее время на фармацевтических фабриках при мелкосерийном производстве жидких экстрактов, независимо от типа лекарственного растительного сырья (цветки, листья, корни, кора, плоды), реперколяция с завершённым циклом – противоточное экстрагирование в батарее из трех диффузоров при соотношении фаз 1:1, однако фактическая эффективность экстрагирования этим способом невысока и составляет 45–50%.

Факторами, влияющими на эффективность равновесного многоступенчатого противоточного способа экстрагирования, являются число ступеней экстракции и



соотношение объемов внешнего и внутреннего соков [2].

Для теоретических расчетов эффективности экстрагирования и норм качества нами определены товароведческие характеристики листьев подорожника большого (для экстрагента – спирта этилового 70%). Данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Товароведческие показатели листьев подорожника большого ($n^*_{оп} = 6$)

№ серии	Числовые показатели							
	Влажность		Экстрактивных веществ		Флавоноидов		Золы	
	%	МХ*	%	МХ*	%	МХ*	%	МХ*
1	8,22	$S_x=0,08672$ $E=2,71$	47,54	$S_x=0,4370$ $E=2,40$	1,09	$S_x=0,0219$ $E=4,47$	10,50	$S_x=0,0977$ $E=2,21$
2	8,45	$S_x=0,07348$ $E=2,23$	41,65	$S_x=0,8036$ $E=4,52$	0,88	$S_x=0,1673$ $E=3,05$	8,85	$S_x=0,1186$ $E=3,56$
3	7,50	$S_x=0,06986$ $E=2,39$	40,06	$S_x=0,5343$ $E=3,13$	0,95	$S_x=0,0209$ $E=4,28$	10,45	$S_x=0,1597$ $E=3,22$
4	6,90	$S_x=0,10639$ $E=3,96$	40,07	$S_x=0,6322$ $E=3,78$	0,99	$S_x=0,0228$ $E=4,54$	9,10	$S_x=0,1218$ $E=4,57$

Примечание:

МХ* - метрологические характеристики;

$N^*_{оп}$ - число опытов

Определение технологических характеристик сырья необходимо для проведения теоретических расчетов эффективности экстрагирования и выбора условий экстрагирования. Данные, представленные в табл. 2, показывают, что для листьев подорожника большого коэффициент наполнения сухого сырья – (F) находится в пределах от 2,46 до 2,53 см³/г; коэффициент вытеснения сырья (Δ) – от 0,881 до 0,919 см³/г; коэффициент наполнения набухшего сырья (ϕ) – от 1,433 до 1,53 см³/г, насыпная масса (γ) – от 0,299 до 0,309 см³/г, коэффициенты поглощения сырья (K_n) – от 1,58 до 1,65 см³/г, образования внутреннего сока (K) – от 1,94 до 2,01 см³/г, увеличения объема при растворении экстрактивных веществ (Z) – от 0,700 до 0,708 см³/г.

Таблица 3

Технологические характеристики листьев подорожника большого

№ серии	γ , г/см ³	F, см ³ /г	ϕ , см ³ /г	Δ , см ³ /г
1	2	5	8	11
1	0,301±0,02	2,48±0,01	1,530±0,010	0,881±0,003
2	0,303±0,01	2,50±0,02	1,497±0,023	0,890±0,005
3	0,306±0,01	2,54±0,02	1,471±0,028	0,888±0,009
4	0,309±0,01	2,53±0,02	1,438±0,022	0,919±0,006
5	0,299±0,02	2,46±0,02	1,482±0,031	0,895±0,007
6	0,300±0,02	2,58±0,01	1,433±0,032	0,910±0,002
№ серии	Коэффициент K_n , см ³ /г	Коэффициент K, см ³ /г	Коэффициент, Z, см ³ /г	
1	2	5	8	
1	1,62±0,010	2,01±0,010	0,707±0,020	
2	1,56±0,010	1,94±0,011	0,708±0,011	
3	1,62±0,020	1,98±0,012	0,702±0,010	
4	1,61±0,010	1,95±0,020	0,700±0,011	
5	1,65±0,020	1,98±0,010	0,700±0,020	
6	1,58±0,011	1,98±0,011	0,708±0,010	

Факторами, влияющими на эффективность равновесного многоступенчатого противоточного способа экстрагирования, являются число ступеней экстракции (число диффузоров в батарее) и соотношение объемов внешнего и внутреннего соков.

Метод расчета реперколяции с законченным циклом связывает математической зависимостью величину эффективности процесса экстрагирования с величиной



соотношения внешнего и внутреннего соков и числом ступеней экстракции, позволяет подобрать оптимальные условия экстрагирования любого вида сырья. В расчетах используются технологические характеристики сырья, найденные экспериментальным путем.

Теоретический расчет поэтапным способом для батарей с числом диффузоров от 3 до 8 и различных значениях η позволил установить соответствующие им значения степени истощения сырья S в процентах.

Расчет эффективности реперколяции для интервала значений η от 0,3333 до 1,0:

$$S = 54,425\eta - 2,496 + \frac{\eta \lg n}{0,00711 - 0,001375\eta + 0,017031\eta^2},$$

где $\eta = y/k$ – коэффициент распределения веществ или отношение объема внешнего сока к внутреннему;

n – число диффузоров в батарее;

y – отношение объема извлечения, отбираемого в качестве готовой продукции, к массе сырья, см³/г.

На первом этапе изучали изменение эффективности экстракции в зависимости от числа диффузоров при постоянном значении $\eta=0,87$. Величина $\eta=0,87$ взята как соотношение $\eta=y/K$, где $y=1,0$ и $K=1,98$. При увеличении числа диффузоров эффективность экстракции возрастает и при $n=4$ достигает 71%. Прирост эффективности после $n = 4$ становится менее значительным.

Увеличение соотношения фаз может стать причиной снижения концентрации сухих веществ в экстракте (С%), поэтому необходимо было вычислить предельно возможную концентрацию веществ в извлечении при изменении « y » от 1,0 до 2,0 при $K=1,98 = \text{const}$. Результаты исследований представлены в табл. 4.

Таблица 4

Зависимость эффективности экстракции и концентрации сухих веществ в экстракте подорожника большого жидком от величины соотношения фаз

y, см ³ /г	N = 3		N = 4	
	S, %	C, %	S, %	C, %
1,0	47,54	19,02	53,41	21,36
1,1	50,75	18,45	56,75	20,64
1,2	53,75	17,92	59,80	19,93
1,3	56,56	17,40	62,62	19,27
1,4	59,18	16,91	65,21	18,63
1,5	61,73	16,46	67,71	18,06
1,6	64,20	16,05	70,10	17,53
1,7	66,61	15,67	72,41	17,04
1,8	68,93	15,32	74,62	16,48
1,9	71,26	15,00	76,84	16,18
2,0	73,57	14,71	79,03	15,81

Анализ данных табл. 4 показывает, что при $n=3$, $y=1,0$ из сырья с содержанием экстрактивных веществ 47,54 можно получить экстракт с концентрацией сухих веществ 19,02%. При $n=4$, $y=1,7$ теоретическая эффективность экстракции составляет 72,41%, а концентрация сухих веществ 17,04%. Увеличение соотношения фаз с 1:1 до 1:1,7 приводит к снижению концентрации сухих веществ на 2%.

Для количественного определения флавоноидов использовали методику, основанную на комплексообразовании с раствором алюминия хлорида. УФ-спектры спиртовых извлечений снимали на СФ-2000 при максимуме поглощения 385 ± 5 нм.

Статистически обработанные результаты определения флавоноидов в экстракте подорожника большого жидком представлены в табл. 5.

Таблица 5

Метрологическая характеристика количественного определения суммы флавоноидов в листьях подорожника большого

n	\bar{X}	S	P, %	$\Delta \bar{X}$	$\varepsilon\%$
6	0,615	0,0207	95	0,0309	3,54

Относительная ошибка определения с доверительной вероятностью 0,95 не превышает 5%.

Таблица 6

Результаты сравнительной оценки качества экстракта подорожника большого жидкого, полученного двумя способами

№ серии	Предлагаемый способ N = 4		
	Содержание экстрактивных веществ, %	Содержание флавоноидов, %	Содержание спирта этилового, %
1	47,54±0,88	1,09±0,05	63,9
2	41,65±0,92	0,88±0,11	62,3
3	40,06±1,22	0,95±0,09	62,8
4	40,07±1,05	0,99±0,10	62,1
№ серии	Промышленный способ N = 3		
	Содержание экстрактивных веществ, %	Содержание флавоноидов, %	Содержание спирта этилового, %
1	47,33±0,98	1,02±0,04	63,8
2	41,45±0,99	0,90±0,12	62,4
3	39,56±1,02	0,92±0,06	62,9
4	40,67±1,15	0,94±0,07	62,3

Равновесные способы экстрагирования предусматривают равенство концентрации веществ во внутреннем и внешнем соках. Чем быстрее наступает равновесие на каждой ступени экстракции, тем меньше продолжительность экстракции в целом.

Продолжительность экстракции – важнейший критерий оценки способа экстракции. Обычно продолжительность процесса экстракции стремятся сократить. Добиться этого можно, применяя сокращение время наступления равновесия между концентрацией веществ во внешнем и внутреннем соках. Именно применение факторов, сокращающих время наступления равновесия, может являться основанием для сокращения продолжительности процесса экстракции. В практике чаще всего продолжительность процесса экстракции сокращают без должного на то основания. Следствием необоснованного сокращения продолжительности процесса является снижение эффективности экстракции. Причем фактическая эффективность экстракции S_f часто бывает значительно ниже теоретической S .

Таблица 7

Результаты теоретического поиска оптимальных условий экстрагирования растительного сырья и расходные нормы на 1 л экстракта

Экстракт листьев подорожника	У, см ³ /г	Эффективность экстрагирования, %		Расходные нормы растительного сырья, г
		Теоретическая	Фактическая	
	1,7	72,41	70,1	596,0

Анализ данных табл. 7 показывает, что S_f при получении экстракта подорожника большого жидкого в батарее из четырех диффузоров и $u = 1:1,7$ см³/г составляет 70% и близка к теоретической – 72,41%.

Теоретический расчет поэтапным способом для батарей с числом диффузоров от 3 до 8 и различных значениях η (0,83-0,88) позволил установить соответствующие им значения степени истощения сырья (S) в процентах. При увеличении «у» до 1,7 при количестве диффузоров 4 эффективность экстракции возрастает и достигает 72%. Повышение эффективности экстракции позволило снизить расход листьев подорожника на 100 л экстракта со 100 кг принятых в промышленности до 59,6 кг.

Таким образом, разработана технология получения экстракта подорожника жидкого. Установлены оптимальные параметры экстракционного процесса при получении экстракта: реперколяционный метод в батарее из 4 диффузоров с фактической эффективностью экстракции 70,1%, при соотношении фаз 1:1,7.

Известно, что в различных фармакологических исследованиях экстракт подорожника



на 70% спирте этиловом оказывает гипотензивное, гемостатическое и бактериостатическое действие. Поэтому дальнейшие исследования и использование этих суммарных лекарственных препаратов из подорожника большого дают возможность еще более расширить спектр применения этого растения и смогут обеспечить выбор в отношении его лекарственных препаратов, как с позиций биофармацевтических, так и технологико-экономических.

Литература

1. Литвиненко, В.И. Пути усовершенствования технологии настойки пустырника / В.И.Литвиненко, В.Н.Бубенчикова, Т.П. Попова и др.// Традиционные методы лечения – основные направления и перспективы развития: материалы науч.-практ. конф. – М., 1998. – С.135-136.
2. Пшуков, Ю.Г. Способ расчета основных параметров непрерывного противоточного экстрагирования в батарее диффузоров. Расчет режима работы батареи / Ю.Г.Пшуков, И.А. Муравьев // Фармация. – 1979. – №1. – С. 11-16.
3. Соснина, С.А. Виды подорожника: содержание действующих веществ / С.А. Соснина, Г.И. Олешко, Л.Г.Печерская и др. // Фармация. – 2008. – №8. – С. 21-24.

TOTAL PHYTOPREPARATIONS PLANTAIN – POSSIBILITY OF IMPROVING THE TECHNOLOGY

Z.B.BADALIAN²

E.F.STEPANOVA¹

A.M.TEMIRBULATOVA¹

I.N.ZILFIKAROV³

¹*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

²*North Ossetian State University, Vladykavkaz*

³*Close corporation «Vifitekch», Moscow*

e-mail: e.f.stepanova @ mail.ru.

Technological characteristics of the leaves of plantain were defined in this article. A new technology of native plantain juice was developed. A liquid extract of plantain on resource-saving technologies was received. A theoretical search for optimum conditions of extraction was held.

Keywords: juice, fermentation, liquid extract, resource-saving technology.

РАЗРАБОТКА СИРОПОВ КОМПЗИТНОГО СОСТАВА С ФИТОКОМПОНЕНТАМИ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ

Э.Ф. СТЕПАНОВА¹
А.М. ТЕМИРБУЛАТОВА¹
Л.С. ВОРОНОВА²
И.Н. ЗИЛФИКАРОВ³

¹ *Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

² *ЗАО «МАГИ-Фарма», г. Москва*

³ *ЗАО «Вифитех», г. Москва*

e-mail e.f.stepanova@mail.ru

Разработаны фитосиропы с экстрактом родиолы розовой и лимонника китайского. Полученные сиропы используются как биологически активные добавки к пище, являющиеся дополнительным источником биологически активных веществ, и применяются для профилактики респираторных и вирусных инфекций, особенно в осенне-зимний период, в случае нарушения обмена веществ и ослабления функционального состояния иммунной системы. Проведены микробиологические исследования.

Ключевые слова: родиола розовая, лимонник китайский, сироп, микробиологические исследования.

В последние годы во всем мире возросло внимание к использованию лекарственного растительного сырья, а также препаратов из него, которые являются малотоксичными, обеспечивают мягкое действие, не вызывая побочных эффектов. Что касается биологически активных добавок (БАД) к пище, то среди них преобладают средства гипотензивного и адаптогенного действия, роль которых в медицине значительна [1].

По требованию СанПиН 2.3.2.1153-02 «О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил и нормативов» не рекомендуется использовать в адаптогенных сиропах родиолу розовую и лимонник как монокомпоненты. Поэтому целью наших исследований было получение сиропов родиолы розовой и лимонника, в который включены дополнительные компоненты потенцирующие адаптогенный эффект. Для этой цели были выбраны чашелистики гибискуса Сабдариффа, используемые в пищевой промышленности как чай каркаде, к тому же обладающие корректирующими свойствами в отношении вкуса, цвета и запаха. Из литературных данных известно, что спиртовой экстракт гибискуса обладает гипополипидемическим, антигипоксантным, гипотензивным действием.

Композитные сиропы отличаются гипотензивным действием, который потенцируется за счет добавок гибискуса и шиповника, повышенной С-витаминной активностью (за счет шиповника), адаптогенным действием (в связи с использованием гибискуса), а также естественными корректирующими свойствами, т. к. гибискус и шиповник являются оптимальными комплексными корригентами.

В качестве «сладкой системы» были использованы простой сахарный сироп, растворы сорбита и фруктозы.

Для получения композитного сиропа были использованы экстракты родиолы розовой, лимонника жидкие и отвар гибискуса с шиповником [2].

В качестве основы использовали сахарный сироп и раствор фруктозы 70% концентрации [3]. Составы сиропов приведены в табл. 1.

Выбор системы подсластителей обосновывали исходя из результатов биологического теста на парамециях, которые, показательны для оценки адаптогенных свойств.

Биологическую активность разработанных композиций оценивали экспресс-тестом на культуре *Paramecium caudatum*. Применяли метод визуального наблюдения за клеточной культурой простейших, полученной методом клонирования и выращенной на среде Л.К. Лозина-Лозинского из коллекции Санкт-Петербургского государственного университета.

Таблица 1

**Составы сиропов адаптогенного действия
на основе отвара гибискуса и шиповника**

Наименование действующих вспомогательных веществ	Номер сиропа					
	1	2	3	4	5	6
Экстракт родиолы жидкий	1,2	1,2	1,2			
Экстракт лимонника жидкий				1,2	1,2	1,2
Сахар	64,0			64,0		
Фруктоза		70,0			70,0	
Сорбит			70,0			70,0
Отвар каркаде и шиповника	34,8	34,8	34,8	34,8	34,8	34,8

При естественном визуальном наблюдении за парамециями под микроскопом и воздействии на нее различных химических и физических факторов можно наблюдать изменение функций по двигательным реакциям, а также по изменению структуры. В хронических опытах при инкубации парамеций в испытуемых растворах веществ определяли выработку толерантности у клеток к клеточным ядам. В эксперименте соблюдали принцип парных аналогов. Использовали культуру инфузорий в стационарной и лаг-фазе (размножение и рост).

Исследования проводили в три этапа. На первом оценено возможное биоцидное действие препаратов. Культуру использовали в стационарной фазе роста. Сиропы вносили в среду с клетками в кратных разведениях питательной средой от 10^{-1} до 10^{-6} , при этом количество особей в 0,05 мл было постоянным во всех разведениях и не превышало 3-5. Через сутки инкубации определяли гибель клеток.

Биоцидное действие композиций проявлялось в концентрации 100 мг/мл, при дальнейшем разведении сиропов гибели клеток не наблюдали. Следовательно, все полученные композиции можно отнести к малотоксичным препаратам.

Целью второго этапа данного фрагмента фитопрепаратов была оценка влияния фитопрепаратов на интенсивность размножения инфузорий в культуральной среде, т. е. оценивали токсическое воздействие на клетки в хроническом опыте. После трех суток инкубации в термостате определяли плотность инокулята в контроле и опытах. В процессе наблюдения за культурой клеток фиксировали число особей в одной капле. Для подсчета числа инфузорий используется гемоцитометрический способ (камера Горяева). Контролем служили интактные клетки *Paramecium caudatum*, выдержанные в среде Л.К. Лозина-Лозинского, разведенной как в опыте. Количество особей в одной капле (0,05мл) – 5. Растворы инкубировали при температуре – 20-26°C, pH растворов 6,2-7,2.

Различие в концентрации живых парамеций в опытной и контрольных пробах является критерием токсичности или экологического благополучия среды для одноклеточного организма и степени влияния на аппарат размножения. Парамеции при благоприятных для размножения клеток условиях способны делиться со скоростью 2-3 генерации в сутки, а также размножаться и половым путем, при этом количество генерации возрастает в геометрической прогрессии. В контрольном опыте культура оставалась в стационарной фазе и количество особей не увеличивалось.

Следующий этап исследований – оценка влияния препарата на защитные силы одноклеточных. Для этого клетки парамеций после инкубации с препаратом в течение 3 суток подвергали неблагоприятному воздействию и оценивали их выживаемость. Неблагоприятное воздействие вызывали 3% раствором перекиси водорода, который при прямом воздействии оказывает биоцидное действие на клетку, вызывая окислительные процессы в клеточной мембране.

Остановочные концентрации токсикантов вызывают у *Paramecium caudatum* токсический эффект – обездвиживание – не сразу, а в течение некоторого времени. Вещества-протекторы повышают остановочную концентрацию токсикантов для *Paramecium caudatum*, но и в их присутствии токсический эффект развивается во временном интервале. Этот интервал может служить хронологической характеристикой действия протектора. Результаты определений приведены в табл. 2.

Таблица 2

**Определение биологической активности сиропов
родиолы розовой и лимонника**

Объект исследования	Токсичность		Активность	
	Острая пороговая концентрация, г/мл	Темп размножения, число особей в сутки	Время остановки в 14% спирте этиловом, с	Время остановки в растворе водорода пероксида 1 %, с
Контроль	-	5	18 ± 5	9 ± 2
Экстракт родиолы розовой жидкий	5 · 10 ⁻⁴	50	550 ± 25	378 ± 7
Экстракт лимонника жидкий	5 · 10 ⁻⁴	50	535 ± 28	335 ± 8
Сироп родиолы розовой № 1	4 · 10 ⁻³	50	655 ± 18	385 ± 12
Сироп родиолы розовой № 2	2,5 · 10 ⁻³	50	605 ± 12	348 ± 14
Сироп родиолы розовой № 3	2,5 · 10 ⁻³	50	540 ± 16	310 ± 15
Сироп лимонника № 4	4 · 10 ⁻³	50	625 ± 18	335 ± 12
Сироп лимонника № 5	2,3 · 10 ⁻³	50	635 ± 12	328 ± 14
Сироп лимонника № 6	2,3 · 10 ⁻³	50	605 ± 16	305 ± 15
Сироп сахарный	3 · 10 ⁻²	20	122 ± 6	22 ± 3
Сироп фруктозы 70%	1,5 · 10 ⁻²	20	102 ± 8	24 ± 5
Сироп сорбита 70%	2 · 10 ⁻²	20	50 ± 4	15 ± 3

Анализ данных табл. 2 показывает, что при сочетании сахарного сиропа с экстрактом родиолы розовой и лимонником наблюдается отчетливый потенцирующий эффект

Высокие показатели активности, превышающие действие экстракта, оказались более выраженными при использовании сахарного сиропа простого. Фруктоза и сорбит уступают по биологической активности, поэтому мы выбрали сахарный сироп простой.

Приготовление отвара чашелистиков каркаде с плодами шиповника (1:1) проводили в котле с паровой рубашкой и мешалкой, в который загружали измельченные плоды шиповника и чашелистики гибискуса (каркаде), заливали водой очищенной, нагревали до кипения, кипятили 30 минут, извлечение охлаждали в течение 10 минут и отделяли от сырья, доводили до рассчитанного объема.

Полученное извлечение загружали в сироповарочный котел, добавляли сахар-рафинад и готовили сахарный сироп установленной концентрации. Полученный сироп фильтровали и при перемешивании добавляли в разные порции экстракт родиолы розовой жидкий и экстракт лимонника жидкий.

По микробиологической чистоте разработанные сиропы, на основании действующего СанПиН 2.3.4.1290 – 03, должны иметь достаточно низкую степень загрязненности, для этого были проведены микробиологические исследования сиропов.

Во избежание неправильной оценки результатов испытания определяли действие приготовленных сиропов в отношении стандартных тест-микроорганизмов. Для полученных сиропов: после перемешивания готовили разведения сиропа 1:10 в изотоническом растворе натрия хлорида, которое использовали для посевов по стандартной методике (двуслойный агаровый метод). В результате проведенных исследований оказалось, что все образцы сиропов родиолы розовой и лимонника антимикробным действием не обладают.

Количественное определение микроорганизмов в сиропах проводили двуслойным агаровым методом. Результаты исследований на микробиологическую чистоту образцов сиропов, свежеприготовленных и после инкубации в термостате при 30°С в течение 5 суток, отражены в табл. 3.



Таблица 3

**Микробиологическая чистота сиропов родиолы розовой
(без консервантов)**

Номера образцов	Число жизнеспособных микроорганизмов в 1 г сиропа				Наличие бактерий семейства Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa	
	Бактерий		Грибов		Через 1 час	Спустя 5 суток
	Через 1 час после приготовления	Спустя 5 суток хранения при 30°C	Через 1 час	Спустя 5 суток		
1	50	350	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
2	80	580	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
3	70	320	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
4	40	520	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
5	65	680	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет
6	75	620	Менее 10	Менее 10	Нет	Нет

Проведенные исследования показали (табл. 3), что сиропы нестерильны и обсеменены бактериальной флорой. Свежеприготовленные сиропы укладываются в нормы микробиологической чистоты, однако при хранении в условиях повышенной температуры, благоприятной для развития микрофлоры бактериостатическим действием основа не обладает, поэтому было необходимо использование консервантов.

С целью выбора консервантов и их концентрации для защиты сиропов от микроорганизмов был приготовлен ряд составов с известными консервантами, разрешенными к использованию в лекарственных препаратах и БАД к пище для внутреннего применения, – натрия бензоат и нипагин. Результаты исследований на микробиологическую чистоту консервированных сиропов приведены в табл. 4.

Таблица 4

**Результаты определения микробиологической чистоты сиропов
родиолы розовой с консервантами**

Номера образцов	Консервант	Число жизнеспособных микроорганизмов в 1 г сиропа				Наличие бактерий семейства Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa
		Бактерий		Грибов		
		Хранение 30 суток	Хранение 6 месяцев	Хранение 30 суток	Хранение 6 месяцев	
1	Нипагин 0,1%	40	130	Менее 10	Менее 10	Нет
2	Нипагин 0,2%	30	70	Менее 10	Менее 10	Нет
3	Нипагин 0,2%	30	80	Менее 10	Менее 10	Нет
4	Натрия бензоат 0,2%	20	110	Менее 10	Менее 10	Нет
5	Натрия бензоат 0,2%	20	90	Менее 10	Менее 10	Нет
6	Натрия бензоат 0,5%	30	60	Менее 10	Менее 10	Нет

Данные результаты показывают, что добавление консервантов улучшает микробиологическую чистоту сиропов. Натрия бензоат лучше растворим в водной среде, имеет нейтральный вкус и запах, в связи с этим для консервации сиропа был выбран натрия бензоат в концентрации 0,5%.

Следующим этапом исследований было изучение органолептических свойств полученных сиропов с целью их оптимизации. Сиропы подвергались органолептической оценке по методике, разработанной И.Н. Андреевой. Результаты приведены в табл. 5.

Таблица 5

Оценка органолептических свойств композитных сиропов

Объекты исследований	Оценка органолептических свойств					Общая оценка восприятия	
	Внешний вид	Оценка	Цвет	Оценка	Вкус и запах		
Композитный сироп с родиолой	вязкая прозрачная жидкость	7	красно-малиновый	7	кисло-сладкий вкус с фруктовым запахом	12	26 отлично
Композитный сироп с лимонником	вязкая прозрачная жидкость	7	темно-красный	6	кисло-сладкий вкус	12	25 отлично

Анализ данных табл. 5 свидетельствует, что приготовленные композитные сиропы имеют высокую оценку по своим органолептическим показателям.

Следующим этапом наших исследований было проведение оценки качества сиропов. Общими показателями для всех сиропов были: внешний вид, плотность, pH. Для каждого сиропа отдельно разрабатывали качественные реакции, подтверждающие подлинность и содержание действующих веществ. Для идентификации БАВ в сиропах использованы качественные реакции соле-комплексообразования, окисления-восстановления, diazotирования, а также метод ТСХ, основанный на разделении соединений в тонком слое сорбента.

При проведении анализа ТСХ в пробоподготовку входило обезвоживание сиропа, для этого 5,0 г сиропа смешивали с высушенным безводным натрия сульфатом до сыпучего состояния, действующие вещества после этого извлекали соответствующими органическими растворителями.

Результаты качественного определения состава биологически активных веществ приведены в табл. 6.

Качественные реакции и ТСХ позволили подтвердить наличие основных БАВ, специфичных для изучаемых растительных компонентов.

Таблица 6

Результаты качественного анализа композитных сиропов с помощью химических реакций и ТСХ

Объекты исследований	Предлагаемая методика		Действующие вещества, подтвержденные качественными реакциями и ТСХ
	качественные реакции	ТСХ	
Сироп лимонника	Раствор в воде 1 : 5 Объем 2 мл Реактивы: 0,5 мл 10% раствор натрия гидроксида (переход окраски синее – сине-зеленое – желтое – цианидины); 1 мл раствора железа (III) хлорида (сине-зеленое окрашивание – полифенолы); 2 мл раствора свинца ацетата (синее окрашивание и белый осадок – органические кислоты)	Пробоподготовка та же. Пластина «Силуфол». Система растворителей: Петролейный эфир – этилацетат (1 : 1). Реактив: концентрированная кислота серная	Ярко-желтые пятна $R_f = 0,34$ схизандрин $R_f = 0,39$ схизандрол
Сироп родиолы розовой	Раствор в воде 1 : 5 Объем 2 мл 1-3 реакции те же. 4) К 2 мл полученного раствора прибавляют 5 капель 10% раствора свинца ацетата, выпавший осадок отфильтровывают. К 2 мл фильтрата добавляют 2 капли 1% спиртового раствора 1,2-нитрозоафтаола, нагревают, прибавляют 3 капли концентрированной кислоты серной (красно-оранжевое окрашивание – салидрозид)	Пробоподготовка: на смешивали с безводным натрия сульфатом, экстрагируют 10 мл спирта этилового 95%. Пластина «Силуфол» Система растворителей: Хлороформ – метанол – вода (26 : 14 : 3) В УФ свете	4 пятна фиолетового цвета $R_f = 0,4$ $R_f = 0,45$ $R_f = 0,6$ $R_f = 0,9$ Фенолпропаноиды



Для количественного определения основных групп БАВ были использованы титриметрические методы: алкалометрический для определения органических кислот. Кислоту аскорбиновую определяли титрованием натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолятом. Параллельно ставили контрольный опыт с использованием простого сахарного сиропа.

Результаты количественного определения основных действующих веществ в сиропах приведены в табл. 7.

Таблица 7

Результаты количественного определения биологически активных веществ в сиропах

Биологически активные вещества	Сироп родиолы	Сироп лимонника
Сумма антоцианов	0,049±0,9%	0,051±0,8%
Сумма флавоноидов	следы	-
Сумма органических кислот	1,75±0,5%	2,09±0,6%
Дубильные вещества	0,048±0,9%	-
Кислота аскорбиновая	0,103±0,6%	0,102±1,0%
Салидрозид	0,006±0,7%	-

На основании данных табл. 7 стандартизацию сиропов по основным действующим веществам проводили: для родиолы – по антоцианам, салидрозиду, аскорбиновой кислоте и органическим кислотам; для лимонника – по антоцианам и органическим кислотам.

Таблица 8

Результаты качественного анализа фитосиропов с помощью химических реакций и ТСХ

Показатели качества	Требования ТУ	Показатели	Требования ТУ	Показатели
	Композитный сироп с родиолой розовой		Композитный сироп с лимонником	
1. Внешний вид и описание	прозрачная вязкая жидкость темно-красного цвета, кисло-сладкого вкуса	соответствует	прозрачная вязкая жидкость, тёмно-красного цвета, кисло-сладкого вкуса	соответствует
2. Запах	специфический – шиповника	соответствует	специфический – шиповника	соответствует
3. Вкус	кисло-сладкий	соответствует	кисло-сладкий	соответствует
4. Плотность	1.300 – 1.330	1,329	1.280 – 1.320	
5. Показатель преломления	1.440 – 1.460	1,457	1.440 – 1.460	
6. Патока	не допускается		не допускается	
7. Определение подлинности: а) салидрозид (родиола) б) реакции на антоцианы	положительная	соответствует	положительная	соответствует
8. Количественное определение: аскорбиновая кислота, мг/100г сиропа органические кислоты, мг/100г сиропа антоцианы салидрозид	не менее 10 не менее 160 не менее 0,04% не менее 0,006%	13,58 187 0,046% 0,0063%	не менее 1,5% не менее 0,04%	1,75% 0,047%
9. Микробиологическая чистота:				
БГКП (коли-формы), не допускается в куб см, г	1,0	выдерж.	1,0	выдерж.
Патогенные, в т.ч. сальмонеллы, не допускается в куб см, г	25	выдерж.	25	выдерж.
Дрожжи и плесени (сумма) объем куб. см, в котором не допускаются	40	выдерж.	40	выдерж.

Изучение стабильности полученных сиропов проводили при хранении в естественных условиях. По основным показателям сиропы выдерживают хранение в течение 1,5 лет, однако спустя 12 месяцев начинают разлагаться антоцианы, легко окисляются вещества экстракта каркаде. Поэтому срок хранения для изученных фитосиропов установлен в 1,0 год.

Таким образом, впервые проведены технологические исследования по разработке состава и технологии сиропов с жидким экстрактом родиолой розовой и лимонника китайского, разработаны нормы качества. Полученные сиропы являются дополнительным источником органических кислот, в т. ч. аскорбиновой, витаминов, флавоноидных соединений, которые можно применять для профилактики респираторных и вирусных инфекций, особенно в осенне-зимний период.

Литература

1. Жукович, Е.Н. К исследованию биологически активных лигнанов настойки и семян лимонника китайского /Е.Н.Жукович// Хим.-фарм. журн. – 2007. – Т.41, № 2 – С. 35-37.
2. Лекарственные растения тибетской медицины / Т.А. Асева и др. – Новосибирск: Наука, 2005. – 370 с.
3. Степанова, Э.Ф. Разработка и фармакотехнологические исследования сиропа комбинированного состава с экстрактом родиолы розовой / Э.Ф.Степанова, А.М. Темирбулатова, А.В. Пантюхин // Материалы науч. программы XII спец. выставки аптека, 2005, 25-28 окт. – М., 2005. – С. 99-100.

DEVELOPMENT OF COMPOSITE SYRUP WITH PHYTOCHEMICAL ADAPTOGENIC EFFECT

E.F. STEPANOVA¹

A.M. TEMIRBULATOVA¹

L.S. VORONOVA²

I.N. ZILFIKAROV³

¹ *Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

² *Close corporation "Magi-pharma", Moscow*

³ *Close corporation "Vifitekch", Moscow*

e-mail: e.f.stepanova @ mail.ru

Phytosyrup with an extract of *Rhodiola rosea* and Chinese magnolia was designed. The resulting syrup is used as food supplements, which are an additional source of biologically active substances and are used to prevent respiratory and viral infections, especially in autumn and winter, in the case of metabolic and functional weakening of the immune system. Conducted microbiological research.

Key words: *Rhodiola rosea*, *Schizandra Chinese*, syrup, microbiological investigations.

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК МОДЕЛЬНЫХ СМЕСЕЙ ГРАНУЛ ЛОРАТАДИНА ДЛЯ ДЕТЕЙ

**Е.Т. ЖИЛЯКОВА, Н.Н. САБЕЛЬНИКОВА
О.О. НОВИКОВ, М.Ю. НОВИКОВА
Д.И. ПИСАРЕВ, Д.В. ПРИДАЧИНА
А.С. ТКАЧЕВА**

*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

e-mail: Ezhilyakova@bsu.edu.ru

Проведено изучение таких технологических характеристик образцов гранул с лоратадином, как сыпучесть, насыпная плотность, гранулометрический состав, механическая прочность гранул.

Ключевые слова: лоратадин, гранулы, сыпучесть, угол естественного откоса, насыпная масса, форма и размер частиц.

Введение. При разработке новых составов и технологий лекарственных форм и прогнозе их эффективности особое внимание уделяется технологическим и физико-химическим характеристикам [1].

К технологическим характеристикам принято относить: сыпучесть (текучесть), угол естественного откоса, насыпную массу, форму и размер частиц. Изучая эти характеристики лекарственных и вспомогательных веществ и изменяя их с помощью супрамикроструктурирования субстанций, можно конструировать предварительные составы модельных смесей лекарственных форм различной направленности действия с ожидаемым повышенным фармакологическим эффектом. В основном понятие «технологические характеристики» распространяется на индивидуальные вещества при изучении возможности создания на их основе технологических систем для дальнейшего таблетирования и гранулирования. Однако, учитывая тот факт, что лекарственная форма гранулы лоратадина разрабатываемого состава будет упаковываться в однодозовые пакеты с использованием дозирующего оборудования, большое значение приобретают именно технологические характеристики гранул – насыпной объем и сыпучесть. От их значений будет зависеть эффективность работы дозирующего оборудования, и в конечном итоге – точность дозирования.

Целью данной работы явилось изучение технологических характеристик модельных смесей гранул лоратадина, составы которых приведены в табл. 1.

Материалы и методы. *Насыпную плотность* определяли путем свободной засыпки гранул в определенный объем (мерный цилиндр) с последующим взвешиванием с точностью до 0,01 г.

Определение насыпной массы. На электронных весах Sartorius LA220S взвешивали 5,0 г гранул с точностью до 0,001 г и засыпали в измерительный цилиндр. Устанавливали амплитуду колебаний посредством регулировочного винта и после отметки по шкале прибора фиксировали положение контргайкой.

Устанавливали амплитуду 35-40 мм. Частоту колебаний устанавливали при помощи автотрансформатора в пределах 150-200 кол/мин по счетчику. Далее включали прибор тумблером и следили за отметкой уровня порошка полимера в цилиндре [8,9].

Когда уровень порошка становился постоянным (через 5-10 мин), прибор выключали. Максимальную насыпную массу рассчитывали по формуле 1:

$$\rho_n^{max} = \frac{m}{V} = \frac{5 \times 10^3}{V}, \quad (1)$$

где ρ_n – объемная плотность кг/м³;

V – объем порошка в измерительном цилиндре после утряски, м³;

m – масса сыпучего материала, кг.

Таблица 1

Составы модельных смесей гранул с лоратадином

№ смеси	Состав модельной смеси	Количество входящих компонентов	Технологические особенности (вид увлажнителя, режим сушки)
1	NaKMЦ Сахар Фруктоза	0,02 1,85 1,00	Увлажнение гелем на основе NaKMЦ, сушка при комнатной температуре
2	NaKMЦ Сахар Фруктоза	0,02 1,85 1,00	Увлажнение водой, сушка при комнатной температуре
3	Na-KMЦ Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота 0,03	0,02 2,85 1,95 1,00 2,85	Вода
4	Na-KMЦ Сахар Фруктоза	0,02 1,98 1,00	Вода
5	Na-KMЦ Сахар	0,02 2,98	Увлажнение гелем на основе NaKMЦ, сушка при температуре 50°C
6	Na-KMЦ Сахар Фруктоза	0,02 1,77 1,20	Вода
7	Na-KMЦ Сахар Фруктоза	0,02 1,77 1,20	Увлажнение гелем на основе NaKMЦ
8	Na-KMЦ Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота	0,02 1,94 1,00 0,03	Аскорбиновую кислоту вносили с увлажнителем
9	Na-KMЦ ГЭЦ Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота	0,02 0,06 1,94 1,00 0,03	Сушка при комнатной температуре
10	Na-KMЦ Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота	0,01 1,86 1,00 0,03	Сушка при комнатной температуре
11	Декстран Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота	0,02 1,76 1,00 0,03	Масса не гранулируется
12	Na-KMЦ ГЭЦ Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота	0,04 0,06 1,80 1,00 0,03	Сушка при комнатной температуре
13	Na-KMЦ ГЭЦ Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота	0,02 0,21 1,73 1,00 0,03	Аскорбиновую кислоту вносили в сухом виде
14	ПВС Сахар Фруктоза Аскорбиновая кислота	0,06 1,95 1,00 0,03	Сушка при комнатной температуре

С целью получения статистически верных результатов проводили 6 повторных измерений и рассчитывали среднее значение максимальной насыпной массы.

Определение прочности на истирание проводили на устройстве для истирания таблеток РД-1. Загрузка барабана составила 10 грамм. Рабочее время устройства в единичном определении составило 5 минут, что соответствует 100 оборотам барабана. По

истечении установленного времени гранулы просеивали через шелковое сито с размером отверстий 0,12 мм и определяли их массу с точностью до 0,001 г. Прочность на истирание вычисляли по формуле:

$$P = 100 - \frac{P_{\text{нач}} - P_{\text{кон}}}{P_{\text{нач}}} \cdot 100, \quad (2)$$

где: P – прочность гранул на истирание, %

$P_{\text{нач}}$, $P_{\text{кон}}$ – масса гранул до и после испытания, г.

Угол естественного откоса определяли транспортиром прибора по определению сыпучести.

Экспериментальные данные. Полученные данные по определению угла естественного откоса представлены в табл. 2. Согласно полученным результатам, сыпучесть исследуемых составов хорошая и отличная, угол естественного откоса составляет от 20-35°, а насыпная плотность характеризует данные составы гранул как легкие и средние. С технологической точки зрения, все образцы модельных смесей могут использоваться для дозирования на однодозовых автоматах, однако образцы № 10-14, имеющие характеристику легких порошков, склонны в разрушению в процессе дозирования и созданию повышенной запыленности в воздухе рабочей зоны на производственном участке.

В табл. 3 приведены данные определения механической прочности гранул образцов 3, 10-15. Модельные смеси составов № 3, 11 и 12 не соответствуют показателю, предъявляемому к механической прочности гранул, эти значения менее 97%, допустимых для этой лекарственной формы. При анализе составов этих модельных смесей установлено, что такие обработанные полимеры, как Na КМЦ (образцы №3 и 11) и декстран (образец №12), не оказывают достаточного склеивающего действия для получения прочных данных, поэтому выбор вспомогательных веществ был остановлен на ГЭЦ, дающей достаточную прочность как в смеси с Na КМЦ (образцы № 13 и 14), так и без неё (образец №15).

Таблица 2

Технологические характеристики модельных смесей гранул лоратадина

Номер образца	Технологические характеристики гранул		
	Сыпучесть г/с, квалификация	Насыпная плотность, кг/м ³ , квалификация	Угол естественного откоса, град.
3	9,49 (отличная)	625 (средние)	20
10	7,11 (хорошая)	512 (лёгкие)	27
11	7,15 (хорошая)	526 (лёгкие)	29
12	7,95(хорошая)	536 (лёгкие)	30
13	8,43 (хорошая)	554 (лёгкие)	32
14	6,58 (хорошая)	474 (лёгкие)	35
15	9,32 (отличная)	657 (средние)	25

Таблица 3

Результаты опыта по определению прочности на истирание полученных гранул

Средняя масса гранул, г	Номер образца/значение прочности на истирание						
	3	10	11	12	13	14	15
До истирания	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
После истирания	8,63	9,92	9,57	9,51	9,95	9,88	9,97
Прочность на истирание, %	86,30	99,20	95,70	95,10	99,50	98,80	99,70

Закключение. Проведено изучение технологических характеристик образцов гранул с лоратадином: сыпучесть, насыпная плотность, гранулометрический состав, механическая прочность гранул. Установлены следующие значения:

▲ сыпучесть — хорошая и отличная у всех образцов гранул;

^ насыпная плотность, характеризующая массу гранул как среднюю (этот показатель более приемлем при автоматическом дозировании продукта), характерна для образцов №3 и 15;

^ механическая прочность гранул модельных смесей наиболее подходящая у образцов, имеющих в составе обработанные полимеры ГЭЦ или ГЭЦ в сочетании с Na КМЦ.

Полученные результаты будут использованы в дальнейших целевых научных исследованиях.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., Государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08.09.2010 г. «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

Литература

1. Swarbrick, J. Encyclopedia of pharmaceutical technology [Text]. Third edition. Vol.1. /J. Swarbrick. – Pinehurst. : PharmaceuTech, Inc. : Informa Healthcare USA, Inc., 2007. – 4128 p.

STUDY ON TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MODEL MIXTURES OF WITH GRANULES LORATADINE FOR CHILDREN

**E.T. ZHILYAKOVA, N.N. SABEL'NIKOVA
O.O. NOVIKOV, M.YU. NOVIKOVA
D.I. PISAREV, D.V. PRIDACHINA
A.S. TKACHEVA**

Belgorod National Research University
e-mail: EZhilyakova@bsu.edu.ru

Some technological characteristics of loratadine's granules: pourability, bulk density, particle size distribution, the mechanical strength of granules etc.

Key words: loratadine, granules, pourability, bulk density, particle size distribution



РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ПЛЕНОК С НАФТАЛАНОВОЙ ЭМУЛЬСИЕЙ

Н.В. АВТИНА¹
В.И. КОЧКАРОВ¹
Т.А. ПАНКРУШЕВА²
О.В. ХАРИТОНОВА¹
Д.И. ПИСАРЕВ¹

*¹Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

*²Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: avtina@bsu.edu.ru

В работе представлены результаты исследований по разработке состава и технологии биополимерных пленок ранозаживляющего и противоожогового действия, а также результаты фармакологических исследований в опытах *in vivo* на трех видах ожогов: термическом, химическом и световом.

Ключевые слова: биополимерные пленки, нафталановая эмульсия, фармакологическое исследование противоожоговой активности пленок.

Проблема лечения ожогов и ран, ускорения регенерационных процессов, а также предотвращения вторичного инфицирования раны не утратила своей актуальности, несмотря на существование различных подходов и методов для ее решения.

Лекарственные формы, традиционно применяемые для лечения ожоговых ран, такие как мази, гели, аэрозоли и др., имеют некоторые недостатки: неточность дозирования лекарственных веществ, непостоянство сохранения их концентрации из-за разбавления раневым экссудатом и неравномерности контакта лекарственных форм с поврежденными тканями. Поэтому разработка такой лекарственной формы, как биополимерные пленки, обеспечивающей требования, предъявляемые к идеальному покрытию, является актуальным направлением современной технологии лекарств [3, 4].

Кроме того, в настоящее время ведется поиск новых средств, обладающих выраженным, а главное комплексным (противоожоговым, противовоспалительным) действием, позволяющим наиболее полно устранять все патологические процессы и осложнения, свойственные для данного вида поражения.

Указанными фармакологическими свойствами обладает нафталановая эмульсия, представляющая собой смесь нафталанового масла с водой очищенной, эмульгатором поливинилпирролидоном (ПВП) и консервантом бензалкония хлоридом [1, 2].

Включение такого биоактивного вещества в пленочные покрытия позволит не только пролонгировать терапевтический эффект, но и обеспечить длительный контакт действующего вещества с пораженным участком, препятствуя развитию осложнений и присоединению вторичной инфекции.

В связи с изложенным, целью работы является разработка состава и технологии биополимерной пленки с 20% нафталановой эмульсией, а также изучение ее противоожоговой активности в опытах *in vivo*.

При разработке биополимерной пленки первоначальным этапом является подбор матрицы-носителя, придающей разрабатываемой лекарственной форме оптимальные органолептические свойства: адсорбция на поверхности раны или ожога, легкость моделирования на области поражения и равномерное высвобождение лекарственного средства.

Для отбора матриц-носителей лекарственного средства с удовлетворяющими требованиям качествами было изготовлено несколько модельных составов с различным соотношением полимеров, из которых выбрано три состава, представляющие собой различные сочетания натрий-карбоксиметилцеллюлозы и поливинилового спирта. В отобранные образцы полимерных смесей вводили действующее вещество – 20% нафталановую эмульсию.

Пленки трех составов готовились методом полива с последующей сушкой при температуре не более 60 °С в лабораторных условиях с соблюдением правил асептики. Технология изготовления состоит из следующих основных стадий: приготовление полимерной основы, введение действующего вещества, формирование пленок.

Биополимерные пленки (БЛП), полученные по разработанной технологической схеме, представленной на рисунке, анализировали по органолептическим признакам (внешний вид, эластичность, отсутствие микротрещин) и по физико-химическим показателям, таким как время растворения, рН водного извлечения, сила адгезии.

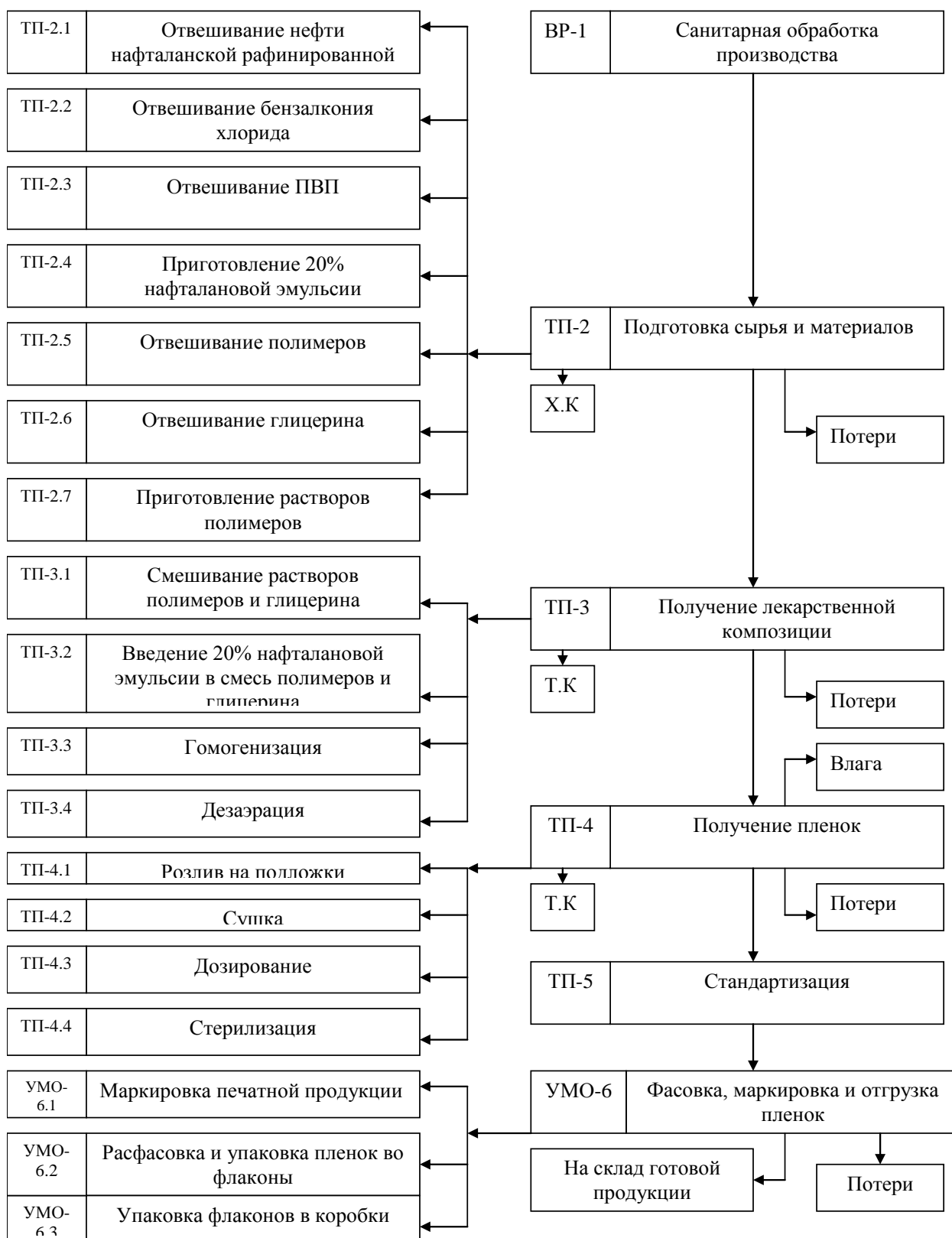


Рис. 1. Технологическая схема получения БЛП с 20% нафталановой эмульсией.

Примечание: VP – вспомогательные работы, TP – технологический процесс, К_х – контроль химический, К_т – контроль технологический, УМО – упаковка, маркировка



Фармакологическое исследование противоожоговой активности пленок с нафталановой эмульсией проводили в опытах *in vivo*, моделируя три вида ожогов, а именно термический, химический и световой. В качестве препарата сравнения использовали спрей «Пантенол Фармстандарт». Полученные результаты оценки качества модельных образцов пленок суммированы и представлены в сводной таблице.

Таблица

Оценка качества лекарственных пленок с 20% нафталановой эмульсией

Номер модельного образца пленки с 20% нафталановой эмульсией	Показатели качества					
	Внешний вид	Время растворения, мин	Значение pH	Сила адгезии Н	Выживаемость животных при моделировании, %	
					термического ожога	химического ожога
Состав №1	гладкие, прозрачные, бесцветные	не более 80	7,44	2,15	50	67
Состав №2	гладкие, прозрачные, бесцветные	не более 90	7,52	2,28	50	83
Состав №3	гладкие, прозрачные, мутные	не более 35	7,44	2,02	33	67

Приготовленные пленки трех составов по внешнему виду представляют собой эластичные прозрачные пластинки с гладкой ровной поверхностью. Время растворения, характеризующее полную деструкцию после моделирования на очаг поражения, зависит от состава полимерной основы и находится в интервале от 35 до 90 мин. Значение pH водного извлечения нейтрально. Сила адгезии, характеризующая адгезивные свойства, колеблется от 2 до 2,3 Н.

Фармакологические исследования пленок по выявлению противоожоговой активности проводились в опытах *in vivo* на белых крысах линии Wistar обоего пола с исходной массой 200-240 г, которые были предварительно рандомизированы по полу и массе тела.

Ожоговые травмы кожных покровов моделировали у предварительно наркотизированных хлоралгидратом (300 мг/кг) животных с поражением 6-7% поверхности тела. Термический ожог вызывали контактным способом с помощью металлического стержня, наполненного водой, с диаметром медной контактной поверхности 35 мм и постоянной температурой накаливания 100°C при времени экспозиции 20 с.; химический ожог – с помощью 0,1 мл 50%-ной серной кислоты с экспозицией 40 с, с последующим ее смыванием проточной водой.

В результате моделирования ожогов у крыс всех подопытных групп развивался тяжелый ожог кожи IIIa-IIIб степени, диаметр ожоговых ран и в том, и в другом случае, составлял 25-30 мм.

На поврежденные участки кожи сразу наносились исследуемые пленки и менялись ежедневно один раз в сутки в течении 28 дней. Оценку ранозаживляющего действия исследуемых пленок проводили по визуальным признакам развития поражения, течения раневого процесса и выживаемости животных по сравнению с контрольной группой без лечения.

При визуальном наблюдении в контрольной группе животных образование грануляционной ткани и краевая эпителизация начинались на 11-12-е сутки. Раны в этой группе были обширные, струпы отторгались до заживления раны. К концу эксперимента у 60% животных контрольной группы не произошло заживления и эпителизации ожоговых дефектов кожи. Длина поврежденной ожогом ткани составила 10-12 мм.

В группах животных, получавших местное лечение пленками с нафталановой эмульсией состава № 1 и № 2, образование грануляционной ткани начиналось на 4-5-е сутки. Краевая эпителизация была одинаково выражена во всех группах экспериментальных животных. Макроскопически к концу эксперимента у выживших животных имело место практически полное заживление полнослойного ожогового кожного дефекта с эпителизацией,

длина рубцовой ткани составляла 3-4 мм. Местное лечение пленками состава №3 приводило к уменьшению длины ожоговой раны до 5-8 мм. Эпителизация краевого дефекта происходила менее интенсивно, чем в остальных экспериментальных группах.

При визуальном наблюдении в группах животных, получавших местное лечение пленками с нафталановой эмульсией, с составом № 1 и 2 большинство раневых поверхностей были сухими и вторичная инфекция не присоединялась. В то же время пленки с составом №3 вызывали отторжение струпа до заживления раны, присоединялась вторичная инфекция с гнойным отделяемым.

По показателям выживаемости в результате моделирования термического и химического ожогов (табл. 1) к концу эксперимента наилучшие результаты достигнуты в группе животных, получавших местное лечение пленкой с составом №2. Выживаемость животных после термического ожога составила 50%, после химического ожога 83% по сравнению с контрольной группой, где выживаемость составила 16% и 30% соответственно.

Для установления окончательного состава пленки, обеспечивающей максимальное противоожоговое действие, был моделирован световой ожог, который вызывали с помощью лампы ультрафиолетового спектра с экспозицией 60 минут. Диаметр участка кожи, открытого для поражения ультрафиолетом, составлял 30 мм. За 30 минут до воздействия ультрафиолетовой лампы на депилированный участок кожи наносили пленки с нафталановой эмульсией. Кожу животных контрольной группы смачивали изотоническим раствором натрия хлорида.

По окончании ультрафиолетового воздействия на кожные покровы в бедренную вену вводили 1% раствор трепановой сини из расчета 0,2 мл на 100 г веса животного. Тест с трепановой синью является типичным, позволяющим исследовать влияние фармакологических веществ на сосудистую проницаемость. Известно, что при поражении кожных покровов светом ультрафиолетового спектра сосудистая проницаемость повышается. При внутривенном введении трепановой сини участки пораженных кожных покровов интенсивно прокрашиваются в синий цвет.

Действие фармакологических средств оценивается по следующим параметрам: площадь пятна, время начала прокрашивания пораженного участка кожи, динамика увеличения интенсивности окраски, время и интенсивность максимального прокрашивания пораженного участка кожи.

В результате проведенных исследований обнаружено, что после внутривенного введения трепановой сини на депилированном участке кожи в месте воздействия света ультрафиолетового спектра возникает синеокрашенное пятно площадью $70,1 \pm 6,2 \text{ мм}^2$.

Наружное нанесение пленок с нафталановой эмульсией вызывало достоверное уменьшение площади синеокрашенного пятна. При наружном применении пленки с нафталановой эмульсией состава №2 имела место тенденция к уменьшению площади окрашивания кожи в месте светового ожога (табл.).

В ходе моделирования трех видов ожогов наиболее выраженным противоожоговым, антифлогистическим и ранозаживляющим действием обладала пленка с нафталановой эмульсией состава № 2. Кроме того, токсического воздействия на кожу в разные сроки течения раневого процесса исследуемые препараты не оказывали.

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований установлен оптимальный состав пленки (состав №2): Na-КМЦ – 1%, ПВС – 2%, глицерин – 4%, 20% нафталановой эмульсии – 5,25 мл/см², воды очищенной до 100,0, который обладает удовлетворительными органолептическими свойствами, наибольшим временем растворения – 90 мин, обеспечивающим максимальную пролонгацию эффекта, оптимальными адгезивными свойствами с силой адгезии 2,28. Кроме того, проведенные фармакологические исследования, полученные в опытах *in vivo*, свидетельствуют о ее выраженном фармакологическом действии.

Литература

1. Отчет о НИР «Изучение общетоксических свойств нафталановой мази». – М, 2004.
2. Отчет о НИР «Эффективность, переносимость и польза лечения препаратом «Нафталановое масло» в новой лекарственной форме «Микрокапсулы» при кожных заболеваниях». – Баку, 2007.
3. Панкрушева, Т.А. Новые стоматологические пленки с метронидазолом и пиромекаином / Т.А. Панкрушева, Н.В. Автина, А.А. Панкрушев // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования: материалы 2-й Всероссийской научно-методической конференции «ФАРМОБРАЗОВАНИЕ – 2005». – Воронеж: Воронежский государственный университет, 2005. – С. 376- 379.



4. Титова, Г.П. Применение современных раневых повязок для профилактики нагноений операционных ран / Г.П. Титова, В.А. Васина, С.В. Куприков / Фармация. – 2007.– №8. – С.26 – 31.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY AND FILMS WITH NAFTALAN EMULSIONS

N.V. AVTINA¹

V.I. KOCHKAROV¹

T.A. PANKRUSHEVA²

O.V. HARITONOVA¹

D.I. PISAREV¹

¹*Belgorod National Research University*

²*Kursk State Medical University*

e-mail: avtina@bsu.edu.ru

The results of studies on the development of technology and biopolymer films and wound healing of Burns, as well as results of pharmacological studies in in vivo experiments on three types of burns: thermal, chemical and light.

Key words: biopolymer films Naftalan emulsion, the pharmacological activity of research Burns films.

УДК 615.214.24: 303.425.7

СОВРЕМЕННЫЕ КОНЦЕПЦИИ РАЗВИТИЯ АССОРТИМЕНТА СНОТВОРНЫХ СРЕДСТВ НА РОССИЙСКОМ И РЕГИОНАЛЬНОМ РЫНКАХ

**И.Н. СОВЕРШЕННЫЙ
Н.Б. ДРЕМОВА**

*Курский государственный
медицинский университет*

*e-mail:
kursk-euzd@mail.ru*

Представлены результаты качественного и количественного анализа ассортимента снотворных лекарственных средств на российском и региональном фармацевтических рынках. В процессе мониторинга установлены основные направления развития данного сегмента рынка и их соответствие мировым тенденциям. С использованием экспертных оценок врачей определены позиции наиболее эффективных и безопасных снотворных лекарственных препаратов. Предложены рекомендации для формирования портфеля закупок аптечных организаций по изучаемой группе лекарственных средств.

Ключевые слова: снотворные средства, фармацевтический рынок, маркетинговый анализ, мониторинг, тенденции, позиционирование, эффективность, безопасность.

Введение. В современном обществе проблема сохранения и поддержания на должном уровне здоровья населения является одной из самых актуальных, т. к. рассматривается как один из факторов национальной безопасности государства. Для ее решения важным признается состояние фармацевтического сектора здравоохранения, и в особенности рынка лекарственных средств (ЛС), который в последние десятилетия приобрел тенденции наиболее успешно развивающейся отрасли экономики.

Развитие мирового фармацевтического рынка (ФР) имеет особенности, которые связаны со спецификой фармацевтической продукции. Она представляет собой товар, жизненно важный для улучшения здоровья и профилактики заболеваний населения. Потребности населения в фармацевтической продукции, как показывает время, не только не сокращаются, а напротив, непрерывно растут [5].

Лекарственные препараты (ЛП) являются специфическим фармацевтическим товаром, их потребление обусловлено в основном заболеваемостью, а спрос на них формируется не только конечными потребителями – больными, но и промежуточными – врачами и аптечными работниками. Потребности здравоохранения в современных, высокоэффективных и качественных ЛС с каждым годом только возрастают, что мотивирует процесс их разработки и производства [11].

В результате создания значительного ассортимента высокоэффективных препаратов фармакотерапия стала универсальным методом лечения большинства заболеваний. Общее количество применяемых в настоящее время ЛС включает тысячи индивидуальных химических соединений и десятки тысяч готовых лекарственных форм и комбинированных препаратов. Установлено, что свыше 95% лекарственных препаратов, применяемых в современной мировой медицине, создано в последние несколько десятилетий. По оценкам экспертов, сегодня на мировом фармацевтическом рынке в обращении находится более 200 тыс. ЛС, при этом происходит ежегодное обновление ассортимента: с одной стороны, из обращения уходят препараты, морально устаревшие, оказавшиеся малоэффективными либо токсичными, с другой – на рынок выводятся новые эффективные ЛС [3].

Одной из групп ЛС, которая претерпела достаточно серьезные изменения в своем составе в последние десятилетия, является группа снотворных средств.

Сон представляет собой уникальное состояние, необходимое для нормальной жизнедеятельности любого человека. Во время сна происходит компенсация возникающих в период бодрствования рассогласований познавательных, мнестических, эмоциональных и других психических процессов, перестройка деятельности нервных центров, регулирующих гормональную сферу, интенсивность обмена веществ, висцеральных функций. Сон выполняет протекторную функцию, повышая стрессоустойчивость мозга и всего организма, что способствует сохранению психоэмоционального статуса человека. Полноценность сна определяет общий уровень здоровья и качество жизни, измеряемые в показателях социального, психического, эмоционального и физического благополучия [4, 8, 12].

С нарушениями сна связано наибольшее число жалоб при любых заболеваниях. Эти расстройства лидируют по распространенности (до 45-50% населения), влиянию на жизнедеятельность, экономическим и временным потерям [7]. Так, по оценкам Американского Национального Фонда по проблемам сна, нарушения сна у граждан ежегодно обходятся американской экономике более чем в 100 млрд. долларов [1].

Международная классификация расстройств сна (2005) включает 8 разделов, наиболее обширным из которых является инсомния – одна из главных составляющих триады нарушений цикла сон-бодрствование, включающих в себя также гиперсомнию и парасомнию.

Инсомния является самым распространённым нарушением сна – 28-45% популяции и для 12-22 % населения является клинической проблемой, требующей медикаментозного лечения [6, 10].

Вышесказанное определило **цель исследования:** маркетинговый анализ ассортимента сегмента ФР снотворных средств, определение основных тенденций его развития, выявление наиболее эффективных и безопасных снотворных ЛП.

Материалы и методы: качественный и количественный ассортиментный анализ, медико-социологическое исследование врачей, работников аптечных организаций (АО), контент-анализ, структурный анализ, ранжирование, группировка. Дизайн исследования приведен на рис. 1.

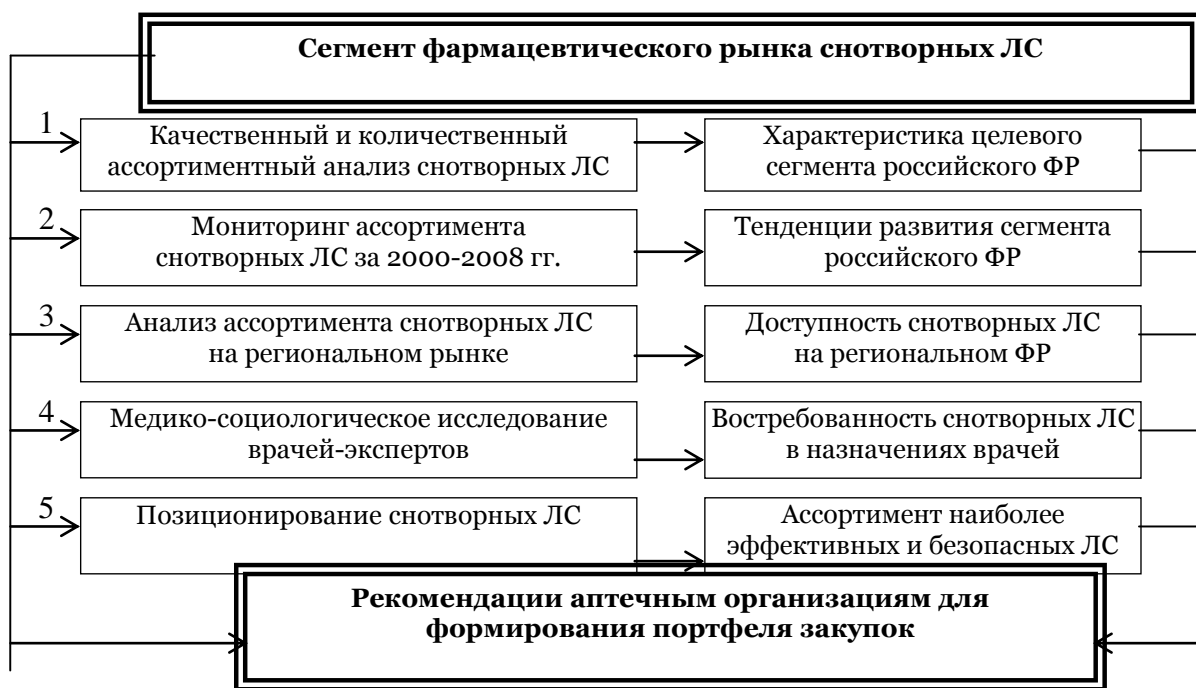


Рис. 1. Дизайн исследования ассортимента сегмента фармацевтического рынка снотворных лекарственных средств

Обсуждение результатов. Лекарственные средства для улучшения сна имеют длительную историю. Как и многие другие ЛС, первые снотворные были растительного происхождения. Еще до нашей эры для улучшения сна применялись белладонна, дурман, опийный мак. Позже с развитием знаний о лекарственных растениях в обиход вошли валериана, мята, Melissa и др. Коренным образом ситуация изменилась только в начале XIX века – в связи с периодом активного развития химической науки. С появлением химического синтеза были выделены бромиды и бромуреиды, а позже и альдегиды (хлоралгидрат), в начале XX века – группа барбитуратов, затем пентенамидов, пиперидинодионов и хиназолинов – так называемое первое поколение снотворных средств. Только в 1960 г. были синтезированы бензодиазепины (второе поколение) – первые вещества с выраженным снотворным эффектом в спектре действия. С начала 90-х гг. XX века в качестве снотворных средств стали использовать циклопирролоны (зопиклон) и имидазопиридины (золпидем), а на рубеже XX и XXI веков появилось производное

пиразолопиримидина – залеплон (относят к бензодиазепиноподобным средствам) – третье поколение.

По данным U.S. Department of Health and Human Services и University of Maryland Medical Center, инсомнией регулярно страдают примерно 20% жителей США, при этом 15% принимают снотворные средства практически каждую ночь. Среди жителей стран Европейского союза и Японии частые проблемы со сном испытывают 15-18% населения, однако только 4% жителей пользуются снотворными препаратами каждую ночь. Наиболее популярными гипнотиками в мире в настоящее время являются Stilnox, Ambien, Ambien CR (МНН Золпидем), Lunesta (МНН Зопиклон), Sonata, Starnoc (МНН Залеплон), а также Rozerem (МНН Рамельтеон) [2].

Таким образом, на мировом ФР в настоящее время наблюдается тенденция распространения наиболее современных снотворных препаратов, относящихся к третьему поколению гипнотиков. Эти ЛС обладают лучшим терапевтическим эффектом, меньшим количеством побочных действий и вытесняют с рынка уступающие им по этим параметрам ЛС предыдущих поколений.

В связи с этим представляет интерес анализ ассортимента сегмента российского ФР снотворных ЛС. В результате исследования установлена структура ассортимента групп снотворных ЛС. Так, в РФ зарегистрированы 8 МНН действующих веществ и 1 комбинированный препарат, которые представлены на ФР 24 ТН и 36 ЛП. Данные ЛС систематизированы в 5 фармакологических подгрупп: 1) производные бензодиазепина; 2) бензодиазепиноподобные средства; 3) барбитураты в комбинации с другими средствами; 4) эфиры алкиламинов; 5) другие снотворные и седативные средства (табл. 1).

Таблица 1

Структура ассортимента снотворных средств, разрешенных к применению в РФ (2008 г.)

Название классифик. подгруппы	Количество наименований											
	МНН/комб. ЛС		Торговые названия		Лекарственные препараты							
					всего		в т. ч. отечеств.		в т. ч. зарубежн.		в т. ч. новые (после 2005 г.)	
абс.	Доля, %	абс.	Доля, %	абс.	Доля, %	абс.	Доля, %	абс.	Доля, %	абс.	Ю	
1. Производные бензодиазепина	3/0	37,5/0,0	7	34,7	13	36,1	5	38,5	8	61,5	2	0,15
2. Бензодиазепиноподобные средства	3/0	37,5/0,0	14	53,9	19	52,8	4	21,0	15	79,0	4	0,21
3. Барбитураты в комбинации с другими средствами	0/1	0,0/100,0	1	3,8	1	2,8	–	–	1	100,0	–	–
4. Эфиры алкиламинов	1/0	12,5/0,0	1	3,8	2	5,5	–	–	2	100,0	–	–
5. Другие снотворные и седативные средства	1/0	12,5/0,0	1	3,8	1	2,8	1	100,0	–	–	–	–
Итого	8/1	100,0 / 100,0	24	100,0	36	100,0	10	27,8	26	72,2	6	0,17

Анализ по фармакологическим подгруппам показал, что наиболее широко в ассортименте представлены бензодиазепиноподобные средства: 3 МНН (37,5%), 14 ТН (53,9%) и 19 ЛП (52,8%). Производные бензодиазепина немного уступают им: 3 МНН (37,5%), 7 ТН (34,7%) и 13 ЛП (36,1%). Другие химические подгруппы представлены не так



широко: эфиры алкиламинов – 1 МНН (12,5%), 1 ТН (3,8%) и 2 ЛП (5,5%); другие снотворные и седативные средства – 1 МНН (12,5%), 1 ТН (3,8%) и 1 ЛП (2,8%). Имеется 1 комбинированный препарат – Реладорм, содержащий в своем составе диазепам и циклобарбитал, соответственно: 1 ТН (3,8%) и 1 ЛП (2,8%). Индекс обновления (ЛП, зарегистрированные после 2005 г.) составил 0,17.

В связи с динамичностью и постоянными изменениями на ФР представляет интерес постоянное наблюдение за ассортиментом отдельных групп препаратов. С целью выявления основных тенденций динамики ФР используется мониторинг, представляющий собой систематический сбор информации о ФР и ее анализ.

В результате контент-анализа официальных источников информации о зарегистрированных в РФ ЛС (Государственные Реестры ЛС 2000–2008 гг.) было установлено, что на начало 2000 г. в РФ было зарегистрировано 39 снотворных ЛП, а к 2008 г. регистрацию и перерегистрацию прошли 36 ЛП (табл. 2). Незначительные изменения в количественном составе (-7,7%) при этом повлекли серьезные перемены в качественном. Так, необходимо отметить подгруппу барбитуратов (МНН – фенобарбитал), которая в 2000 г. представлена 4 ЛП, но в дальнейшем она была переведена в группу противосудорожных средств. При этом из Реестра она не исключена. Обратная ситуация оказалась с ЛП бромизовала (в 2000 г. относился к группе седативных средств) и доксиламина (блокаторы Н₁-гистаминовых рецепторов), которые в 2004 г. по фармакологической классификации были отнесены к группе снотворных средств.

Таблица 2

**Мониторинг показателей ассортимента сегмента ФР
снотворных средств в РФ в 2000-2008 гг.**

№ п/п	МНН	ТН					ЛП				
		2000	2004	2008	Изм. К 2000	изм., %	2000	2004	2008	Изм. К 2000	изм., %
1. Производные бензодиазепина											
1.1	Нитразепам	8	6	4	-4	-50,0	11	8	6	-5	-45,5
1.2	Мидазолам	2	2	2	-	-	9	6	6	-3	-33,3
1.3	Триазолам	1	1	-	-1	-	1	1	-	-1	-100,0
						100,0					
1.4	Флунтиазепам	3	1	1	-2	-66,7	5	1	1	-4	-80,0
1.5	Бротизолам	1	-	-	-1	-	1	-	-	-1	-100,0
						100,0					
		15	10	7	-8	-53,3	27	16	13	-14	-51,9
2. Бензодиазепиноподобные средства											
2.1	Золпидем	2	5	6	+4	+200,0	3	6	8	+5	+167,0
2.2	Зопиклон	1	9	7	+6	+600,0	2	11	9	+7	+350,0
2.3	Залеплон	-	-	1	+1	+100,0	-	-	2	+2	+100,0
						0					
		3	14	14	+11	+366,7	5	17	19	+14	+280,0
3. Барбитураты в комбинации с другими средствами											
3.1	Реладорм	1	1	1	-	-	1	1	1	-	-
		1	1	1	-	-	1	1	1	-	-
4. Эфиры алкиламинов											
4.1	Доксиламин	-	2	1	+1	+100,0	-	3	2	+2	+100,0
						0					
		-	2	1	+1	+100,0	-	3	2	+2	+100,0
						0					
5. Другие снотворные и седативные средства											
5.1	Клометиазол	1	-	-	-1	-	2	-	-	-2	-100,0
						100,0					
5.2	Бромизовал	-	1	1	+1	+100,0	-	1	1	+1	+100,0
						0					
		1	1	1	-	-	2	1	1	-1	-50,0
6. Барбитураты и их производные											
6.1	Фенобарбитал	3	-	-	-3	-	4	-	-	-4	-100,0
						100,0					
		3	-	-	-3	-	4	-	-	-4	-100,0
						100,0					
7	Всего	23	28	24	+1	+4,3	39	38	36	-3	-7,7

Значительные перемены наблюдаются в подгруппах производных бензодиазепина и бензодиазепиноподобных средств, с которыми связаны наибольшие изменения в группе снотворных, при этом в первой подгруппе наблюдается тенденция к уменьшению, а во второй – значительный рост.

Так, количество МНН бензодиазепинов за исследуемый период сократилось с 5 до 3 (-40,0%), ТН – с 15 до 7 (-53,3%), а ЛП – с 27 до 13 (-51,9%). Бензодиазепиноподобные средства: количество МНН увеличилось с 2 до 3 (+50,0%), ТН – с 3 до 14 (+366,7%), ЛП – с 5 до 19 (+280,0%). Полученные результаты объясняются тем, что в последние несколько лет ведется активная разработка новых снотворных ЛС, которые отличаются от «традиционных», обладающих обширным спектром побочных действий и противопоказаний. С этим связано увеличение доли бензодиазепиноподобных средств, которые относят к снотворным «третьего поколения»: они не влияют на структуру сна, не вызывают привыкания, побочные эффекты сведены к минимуму. Производные бензодиазепина постепенно уступают свои лидирующие позиции. Подобная ситуация наблюдалась с группой барбитуратов, которые имели большую часть среди первых снотворных препаратов, а в настоящее время их монокомпонентные препараты в РФ уже не применяются в качестве снотворных.

Таким образом, в настоящее время в России на фармацевтическом рынке и в лечебной практике снотворные 1-го и 2-го поколений вытесняются препаратами 3-го, которые имеют очень узкий спектр побочных реакций. Можно сделать вывод, что ассортимент группы снотворных средств в настоящее время включает большое число инновационных препаратов. При этом даже при их приеме необходимо соблюдать меры предосторожности, т. к. по-прежнему сохраняется возможность привыкания к препарату.

Нужно отметить, что «идеального снотворного» до сих пор не существует, но прогнозы экспертов позволяют сделать вывод, что в ближайшие несколько лет эта проблема будет решена. Кроме того, для лечения расстройств сна, по прогнозам экспертов, в ближайшие 5 лет должны появиться новые методы лечения и соответственно новые препараты [13].

С целью изучения регионального ФР снотворных ЛС проведено исследование их физической доступности в 2009-2010 гг. в АО городов Курска, Воронежа и Белгорода, представляющих Центрально-Черноземный район РФ. Анкетирование проводилось только в АО, имеющих лицензию на работу с сильнодействующими веществами.

Всего в исследовании приняли участие 70 аптечных работников из 10 АО, подавляющее большинство которых составили женщины (97,1%) в возрасте от 26 до 45 лет (64,3%), имеющие высшее фармацевтическое образование (77,1%). При этом стаж работы большинства из них составил более 10 лет (75,8%). Половина респондентов занимали должность провизора первого стола (50,0%), 20,0% – фармацевты, 12,9% – заведующие отделом, 11,4% – руководители АО или его заместители, 5,7% – провизоры отдела закупок.

В результате анализа выявлено, что на локальном ФР Центрально-Черноземного района представлены 5 из 8 МНН (62,5%) снотворных средств, зарегистрированных в РФ, и 1 комбинированный препарат. Производные бензодиазепина представлены только 1 из 3 МНН (33,3%), а бензодиазепиноподобные средства в полном объеме – 3 из 3 МНН (100,0%). Из 24 ТН, имеющихся на ФР РФ, на региональном рынке представлены только 11 (45,8%), а число ЛП составляет 15 из 36 (41,7%). Среди производных бензодиазепина на региональном рынке имеется только 6 из 13 ЛП (46,2%), а бензодиазепиноподобных средств – 6 из 19 ЛП (31,6%). Подгруппы комбинированных снотворных и эфиров алкиламинов представлены на локальном рынке в полном объеме.

Также на региональном рынке представлена половина из зарегистрированных ЛП отечественного производства – 5 из 10 (50,0%) и только треть зарубежного – 10 из 26 (38,5%). Необходимо отметить, что из 6 новых снотворных ЛП на локальном рынке представлены 4 (66,7%).

Таким образом, на региональном ФР Центрально-Черноземного района имеются 5 МНН снотворных средств и 1 комбинированный препарат, которые зарегистрированы в 11 ТН и 15 ЛП. Наиболее широко представлены подгруппы бензодиазепина и бензодиазепиноподобных средств – по 6 ЛП (40,0%); большинство ЛП по производственному признаку являются зарубежными – 10 ЛП (66,7%); индекс обновления составляет 0,27.



В связи с тем, что спрос на снотворные ЛП определяется врачами, представляет интерес исследование назначений этих препаратов с целью выявить наиболее востребованные, эффективные и безопасные из них.

В исследовании приняли участие 100 врачей из 9 ЛПУ, среди которых 63,0% составили терапевты, 33,0% – неврологи и 4,0% – психотерапевты. При этом стаж работы у 87,0% респондентов превышает 5 лет, а у 66,0% он составляет более 10 лет. Наличие врачебной категории отметили 66,0% врачей.

Врачами-экспертами были оценены не все снотворные ЛП, а только те, опыт назначения которых они имели в своей практике, в зависимости от коэффициентов активности было отобрано 10 снотворных ЛП.

Для дальнейших исследований нами использована методика оценки позиционирования ЛС, разработанная на кафедре ЭУЗд КГМУ (Н.Б. Дремова, Н.И. Панкова и др., 2007), которая позволяет оценить рыночные позиции ЛС на ФР. [9]. Особенностью методики является предварительное исследование важности параметров позиционирования, отбор наиболее важных параметров, на основе которых далее осуществляется анализ позиций ЛС в конкурентном наборе с построением карт (матриц) позиционирования.

В нашем исследовании изучались позиции ЛС по следующим потребительским свойствам (параметрам): 1) эффективность, 2) безопасность, 3) скорость терапевтического эффекта, 4) широта действия/частота назначения, 5) способ приема, 6) цена.

По каждому параметру рассчитываются средневзвешенные оценки (форм. 1):

$$\bar{C}_{ji} = \frac{\sum C_{ji} \times k_m}{\sum k_m}, \quad (1)$$

где: \bar{C}_{ji} – средневзвешенная оценка j-го параметра i-го ЛС;
 C_{ji} – оценка j-го параметра i-го ЛС m-го эксперта;
 k_m – компетентность m-го эксперта.

Затем оценки по каждому параметру суммируются и полученные результаты ранжируются, в результате чего определяются ЛП с наиболее сильными позициями (табл. 3).

Таблица 3

Расчет средневзвешенных оценок позиционирования снотворных средств (баллы)

№ п/п	Лекарственный препарат	Эффектив-ность	Скорость наступления эффекта	Удобство приема	Частота назначения	Безопасность	Цена	Σ	R
1	Анданте, 10 мг	2,89	2,55	2,82	1,89	2,54	1,69	14,38	1
2	Донормил, таб. п/о	2,11	2,07	2,35	2,01	2,37	1,80	12,71	10
3	Донормил, таб. Шип.	2,19	2,50	2,72	1,90	2,30	1,79	13,40	4
4	Ивадал	2,75	2,49	2,53	1,78	2,56	1,44	13,55	3
5	Имован	2,94	2,71	2,61	2,00	2,50	1,40	14,16	2
6	Нитразепам	2,26	2,08	2,56	1,65	2,26	2,23	13,04	7
7	Нитразепама таблетки, 10 мг	2,54	2,11	2,68	1,71	2,30	2,05	13,39	5-6
8	Нитразепама таблетки, 5 мг	2,17	1,94	2,66	1,58	2,30	2,10	12,75	9
9	Радедорм 5	2,28	2,18	2,57	1,52	2,30	1,99	12,84	8
10	Реладорм	2,53	2,30	2,52	1,97	2,23	1,84	13,39	5-6

Отличительной особенностью данного метода является построение сетки позиционирования (карты восприятия), которая обеспечивает визуальное представление позиций различных ЛС по двум параметрам. Для того чтобы выделить квадраты матрицы,

необходимо рассчитать интервал значений параметров (L), который будет соответствовать стороне каждого квадрата матрицы (форм. 2):

$$L = \frac{Q_{\max} - Q_{\min}}{n}, \tag{2}$$

где: Q_{\max} – максимальная оценка ЛС;
 Q_{\min} – минимальная оценка;
 n – количество баллов в оценочной шкале.

Так как при оценке позиций ЛС нами использована трехбалльная шкала, то интервал значений параметров будет равен 0,67 [(3-1)/3].

Для более детального позиционирования рекомендуется строить 4-5 матриц, основанных на комбинации различных параметров позиционирования. Результаты таких сеток сводятся в комплексную карту восприятия ЛС.

Также карту восприятия можно строить по двум параметрам. В связи с тем, что для снотворных ЛП предъявляются особые требования по эффективности и безопасности, то именно по этим параметрам нами сформирована матрица позиционирования (рис. 2).

Э Ф Ф е к т и в н о с т ь	2,34-3,0 высокая		Нитразепама таблетки, 10 мг, Реладорм	Анданте, 10 мг, Ивадал, Имован
	1,67-2,33 средняя		Донормил, таб. Шип., Нитразепам, Нитразепама таблетки, 5 мг, Радедорм 5	Донормил, таб. п/о,
	1,0-1,66 низкая			
		1,0-1,67 – высокая	1,68-2,34 – средняя	2,35-3,0 – низкая
	Безопасность			

Рис. 2. Матрица позиционирования снотворных ЛС по параметрам «эффективность-безопасность»

Из данных рис. 2 видно, что лучшими позициями по параметру «эффективность-безопасность» обладают современные снотворные ЛП 3-го поколения: Анданте, Ивадал и Имован, которые необходимо включать в ассортимент АО в обязательном порядке. Также хорошими позициями обладают ЛП Реладорм и Донормил, таб. п/о, которые также могут быть рекомендованы для расширения ассортимента.

Хорошие позиции в основном из-за высокой эффективности получил ЛП Нитразепама таблетки, 10 мг, однако его включение в ассортимент не рекомендуется в связи с тем, что он достаточно редко встречается в ассортименте поставщиков, что свидетельствует о его уходе с рынка. Такая же ситуация характерна и для ЛП Радедорм 5 и Донормил, таб. Шип.

Средние оценки по эффективности и безопасности получил ЛП Нитразепам, который наиболее часто назначается в связи с тем, что наряду с ЛП зопиклона (Имован) входит в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов (ЖНВЛП), поэтому его включение в ассортимент АО обязательно.

Выводы. В результате исследования установлено, что изменения в сегменте снотворных средств современных российского и регионального ФР отражают тенденцию мирового ФР: отказ от морально устаревших ЛП 1-го и 2-го поколений и переход на препараты 3-го поколения. В связи с этим в обязательном порядке в портфель закупок АО необходимо включать ЛП: Анданте, Ивадал, Имован и Нитразепам. В качестве желательных позиций ассортимента можно рекомендовать Дормил, таб. п/о и Реладорм.



Литература

1. Гершелл, Л. Рынок средств для лечения нарушений сна / Л. Гершелл // Провизор. – 2006. – № 21. – С. 19-21.
2. Данилов, В. Обзор мирового рынка препаратов против основных психических и неврологических заболеваний [электронный ресурс]. – Режим доступа: http://www.htinvest.ru/basic_analysis/by_branch/download.php, свободный. – Загл. С экрана.
3. Журавлева, И.М. Вывод на рынок новых лекарственных средств: парадоксы прогресса / И.М. Журавлева // Экономический вестник фармации. – 2005. – № 8. – С. 37-38.
4. Ковров, Г.В. Сон человека – от хаоса к порядку, или Представление о сегментарной организации сна и его функциях / Г.В. Ковров, С.И. Посохов // Актуальные проблемы сомнологии: сб. материалов VI Всерос. конф. с междунар. участием. – СПб.: ООО «Аграф», 2008. – С. 47.
5. Коржавых, Э.А. Инновационные лекарственные средства / Э.А. Коржавых, Н.Б. Дремова // Новая аптека. – 2006. – № 8. – С. 70-79.
6. Котова, О.В. Нарушения сна и их коррекция / О.В. Котова // Новая аптека. – 2008. – № 9. – С. 89-91.
7. Левин, Я.И. Современная сомнология и инсомния / Я.И. Левин // Современная терапия психических расстройств. – 2007. – № 2. – С. 4-8.
8. Левин, Я.И. Сон. Стресс. Инсомния / Я.И. Левин // Лечащий врач. – 2007. – № 5. – С. 23-27.
9. Маркетинговая оценка позиционирования лекарственных средств: метод. рекомендации / Н.Б. Дремова, Е.В. Репринцева, Н.И. Панкова, Т.Г. Афанасьева. – Курск: КГМУ, 2007. – 39 с.
10. Неврология. Национальное руководство / под ред. Е.И. Гусева [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1040 с.
11. Российская фармацевтика сегодня // Фармацевтическая промышленность. – 2009. – № 1. – С. 10-12.
12. Современный взгляд на значение сна и его структуру у человека. Сообщение 1 / А.Т. Быков, Т.Н. Маляренко, А.В. Матюхов [и др.] // Военная медицина. – 2009. – № 3. – С. 48-54.
13. Широкова, И. Будущее медицины: взгляд за горизонт / И. Широкова // Ремедиум. – 2009. – № 8-9. – С. 8-14.

MODERN CONCEPTS OF THE EVOLUTION OF ASSORTMENT OF HYPNOTICS IN RUSSIAN AND REGIONAL PHARMACEUTICAL MARKETS

I.N. SOVERSHENNY
N.B. DREMOVA

Kursk State Medical University

e-mail:
kursk-euzd@mail.ru

The results of qualitative and quantitative analysis of the evolution of hypnotics in Russian and regional pharmaceutical markets are presented. The monitoring set the main directions of development of this segment of the market and their compliance with global trends. With the use of peer review of doctors the positions of the most effective and safe hypnotic drugs are determined. Recommendations for the formation of assortment of hypnotics of pharmacy organizations are proposed.

Key words: hypnotics, pharmaceutical market, marketing analysis, monitoring, trends, positioning, efficiency, safety.

ИЗУЧЕНИЕ АССОРТИМЕНТА ПРОТИВОВИРУСНЫХ ГЛАЗНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

Е.Т. ЖИЛЯКОВА
О.О. НОВИКОВ
М.Ю. НОВИКОВА
А.С. ТКАЧЕВА
Н.Н. ПОПОВ

*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

e-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru

Проведен анализ ассортимента лекарственных форм, применяемых для лечения вирусных конъюнктивитов. Дано описание наиболее часто встречающихся форм вирусных конъюнктивитов различной этиологии. Выявлены наиболее активные фармацевтические субстанции, используемые для лекарственных форм этой направленности действия. Дана сравнительная характеристика субстанциям и обзор их фармакологического действия на различные виды возбудителей вирусных конъюнктивитов. Дан обзор преимуществ ацикловира перед идоксуридином. Дан обзор проявления возможных побочных эффектов при применении данных препаратов. Приведены основные торговые наименования, под которыми выпускаются в настоящее время препараты на основе ацикловира и идоксуридина.

Ключевые слова: ацикловир, лекарственные формы.

Распространение офтальмологических патологий в настоящее время является одной из глобальных проблем современности в связи с особенным строением и функциями органа зрения, легкой ранимостью глаза. По данным ВОЗ, в мире насчитывается 42 миллиона слепых и слабовидящих. Причем ежегодно наблюдается увеличение этого показателя и прирост составляет 3-6% в год [1].

По материалам статистики Министерства здравоохранения и социального развития РФ, болезнями глаз и глазного аппарата страдают около 4,7 миллионов человек в России, из которых 1,2 миллиона человек составляют дети до 14 лет [2].

Болезни конъюнктивы составляют около трети всех глазных заболеваний. Из них ведущее место занимают воспалительные инфекционные конъюнктивиты, они составляют около 30% от всех глазных патологий. Вирусные конъюнктивиты, как правило, возникают в результате заболеваний верхних дыхательных путей, при заражении бытовым путем, как осложнения офтальмологических патологий.

В Белгородской области, по данным Роспотребнадзора за 2010 г., заболеваемость конъюнктивитами среди внутрибольничных инфекций в областном перинатальном центре составила 5, 7%, а среди внутриутробных болезней, по данным за 2009 г., около 13,3%. По данным за 2008 г., конъюнктивиты составляли 38,1% от всех внутрибольничных инфекций среди всех возрастов населения [3].

В связи с этим, целью работы является изучение ассортимента противовирусных глазных лекарственных форм, выявление наиболее используемых субстанций.

По-прежнему основной методикой лечения вирусных заболеваний глаз является применение глазных лекарственных форм, содержащих противовирусные активные субстанции. Нами был изучен ассортимент противовирусных лекарственных форм для лечения различных вирусных конъюнктивитов.

В табл. 1 представлены лекарственные формы, используемые для лечения вирусных конъюнктивитов.

Как видно из табл. 1, наибольшее распространение среди лекарственных форм для лечения вирусных конъюнктивитов занимают глазные капли, их число на рынке составляет около 43%. Вторую позицию удерживают глазные мази – 27%. Третье место приходится на долю лиофилизатов для интравитриального введения. Доля остальных лекарственных форм не превышает 5%.



Таблица 1

Ассортимент лекарственных форм для лечения вирусных конъюнктивитов

№	Наименование лекарственной формы	Распространение лекарственной формы для лечения вирусных конъюнктивитов в %.
1	Глазные капли	43
2	Глазные мази	27
3	Лиофилизат для интравитриального введения	13
4	Глазные гели	5
5	Глазные кремы	3
6	Лиофилизат для капель	3
7	Порошок для инфузий	3
8	Раствор для интравитриального введения	3

При анализе составов лекарственных форм противовирусного действия выявлена 21 активная фармацевтическая субстанция, используемая для лечения этой патологии. Перечень субстанций представлен в табл. 2.

Как видно из табл. 2, ведущую роль играют препараты на основе ацикловира, их около 22%. Несколько меньшее распространение получили препараты на основе интерферона альфа 2b и идоксуридина, 19 и 8% соответственно, на остальные активные фармацевтические субстанции приходится менее 5%.

Таблица 2

Ассортимент активных фармацевтических субстанций для лечения вирусных конъюнктивитов

Наименование фармацевтической субстанции	Доля, приходящаяся на данную субстанцию, от общего числа субстанций
Ацикловир	22
Интерферон альфа-2b	19
Идоксуридин	8
Дексаметазон	5
Формидерина содиат	3
Аминобензойная кислота	3
Ганцикловир	3
Глюкоаминопропилакридон	3
Бромнафтохинон	3
Дезоксирибонуклеаза	3
Декаметоксин	3
Интерферон бета-1a	3
Трифлуридин	3
Бис(пиридин 6-2-дикарбоксилат) германия	3
Комплекс к-т (полиад+поли...)	3
Тетрабромтетрагидроксибензил	3
Флуоренонилглиоксаля бисульфит	3
Ципрофлоксацин	3
Гликозид Solanum tuberosum	3
Госпипол (хлопчатник)	3
Адгелон (гликопротеин из КРС)	3

В глазных мазях наиболее часто встречается ацикловир, около 60%, доли остальных действующих веществ примерно равны и составляют по 10%. К ним относят идоксуридин, бромнафтохинон, теброфен, флореналь.

В табл. 3 представлены активные фармацевтические субстанции, применяемые в составе глазных капель для лечения вирусных конъюнктивитов.

Как видно из табл. 3, в этой лекарственной форме доминирует интерферон альфа-2b –

27%. За ним следует идоксуридин – 13%. Доля всех остальных действующих веществ не превышает 7%.

Таблица 3

Ассортимент действующих веществ, используемых для лечения вирусных конъюнктивитов в глазных каплях

Наименование фармацевтической субстанции	Доля, приходящаяся на данную субстанцию, от общего числа субстанций
Интерферон альфа2b	27
Идоксуридин	13
Трифлуридин	7
Глюкоаминопропилакридон	7
ПАБК	7
Дексаметазон	7
Интерферон бета-1a	7
Бис пиридин 6,2дикарбоксилат германия	7
Комплекс полиадениловой и полиуридиновой кислот	6
Госсипол	6
Гликопротеин из сыворотки крови КРС	6

На рынке лекарственных форм для лечения вирусных конъюнктивитов лидируют три действующих вещества: ацикловир, интерферон и идоксуридин.

Свойства субстанций отличаются, так как они принадлежат к разным классам химических веществ, обладают различной растворимостью. Так, ацикловир и интерферон растворимы в воде при 37°C, идоксуридин растворяется при температуре выше 20°C [5].

Фармакологическое действие лекарственных субстанций вариабельно. Ацикловир является синтетическим аналогом пуриновых нуклеозидов, нарушает структуру вирусной ДНК без повреждения клеток хозяина путем взаимодействия с ДНК-полимеразой.

Идоксуридин блокирует изменение нормального синтеза ДНК и встраивание тимидина в вирусную ДНК, в результате чего ДНК вируса становится дефектной и не способной инфицировать и разрушать ткань. Интерферон действует на мембранные рецепторы и индуцирует синтез РНК, мешает репродукции и высвобождению вируса, активирует фагоцитоз.

В противовирусной терапии офтальмогерпеса на смену идоксуридину, обладающему выраженными раздражающими свойствами и слабой эффективностью при глубоких формах, прочно вошел в практику ацикловир. В отличие от других средств, ацикловир избирательно активируется ферментами, кодируемыми герпесвирусами, такими как тимидинкиназы вируса герпеса или продукт гена UL97 цитомегаловируса. Активность в отношении вируса простого герпеса (тип 1) выше в 10 раз, чем у идоксуридина. Таким образом, ацикловир имеет специфический механизм действия, предотвращающий размножение семейства герпесвирусов. Идоксуридин же не обладает действием на цитомегаловирус и умеренно активен на вирус Эпштейна-Барра [6].

Особая роль в разработке составов и технологии глазных капель принадлежит физико-химическим свойствам активных фармацевтических субстанций.

Ацикловир имеет активное противовирусное действие, однако не растворяется в воде, что затрудняет его применение в составе глазных капель противовирусного действия. В современных литературных данных имеются сведения об улучшении растворимости ацикловира.

Так, в ходе проведения экспериментов различными группами ученых была улучшена растворимость ацикловира только в сочетании с различными вспомогательными веществами, а наилучшие результаты были получены в 2010 г. в Индии, в Канпуре, В. Томаром и др. путем образования комплексов ацикловира и таких веществ, как b-CD и HP b-CD, причем лучшая растворимость была именно у комплекса HP b-CD [7].

Следовательно, обоснованием данного исследования является повышение биологической производительности ацикловира за счет повышения его растворимости и скорости растворения по двум методам: получения твердых дисперсий с полиэтиленгликолем (PEG 6000), поливинилпирролидоном (PVP К 30) и образования комплексов с β-циклодекстрином и гидроксипропил β-циклодекстрином, что увеличит



биодоступность.

Литература

1. WHO Library Cataloguing-In-Publication Data, World health statistics 2011 – France.– электронный ресурс: www.who.int/whosis/whostat/EN_WHS2011_Full.pdf.
2. Какорина, Е. П. Заболеваемость в РФ в 2006-2007 гг. / Е.П. Какорина, Л.А. Михайлова, Е.В. Огрызко и др.// Электронный ресурс: www.fcgsen.ru/DOC/123/sborn.doc.
3. Доклад «О санитарно-эпидемиологической обстановке в Белгородской области в 2010 году» /под ред. д.м.н., профессора В.И. Евдокимова Белгород, 2010 г. – Электронный ресурс: www.31.gospotrebnadzor.ru/files/gsen_gov_report_2010.pdf.
4. Глазные болезни: учебник / под ред. В. Г. Копаевой. – М.: Медицина, 2002
5. Каспаров, А.А. Офтальмогерпес / А.А. Каспаров // М.: Медицина, 1994. – 224 с.
6. Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств. – Электронный ресурс: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_290.htm/.
7. Tomar, V. Enhancement of Solubility of Acyclovir by Solid Dispersion and Inclusion Complexation/ V. Tomar, N. Garud, P. Kannoija, A. Garud, N.K. Jain, N. Singh – Pranav Institute of Pharmaceutical science and research, Gwalior, M.P.,- India. – электронный ресурс: <http://scholarsresearchlibrary.com/DPL-vol2-iss5/DPL-2010-2-5-341-352.pdf>.

STUDY OF ASSORTMENT OF ANTIVIRAL EYE MEDICAL FORMS

E.T. ZHILYAKOVA
O.O. NOVIKOV
M.Y. NOVIKOVA
A.S. TKACHEVA
N.N. POPOV

Belgorod National Research University

e-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru

The analysis of the assortment of medicinal forms for treating viral conjunctivitis was done. The obtained statistics is presented. The most common forms of viral conjunctivitis of various etiologies were described. The most active pharmaceutical substances used for medicinal forms for the treating are detected. There is the characteristic of these substances and the review of their pharmacological action. The review of the benefits of acyclovir over the idoxuridine was compiled and possible side effects of these drugs were described. Major trade names of the currently available drugs based on acyclovir and idoxuridine were identified.

Key words: acyclovir, medicinal form.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЕЦИТИНА В МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

М.А. ОГАЙ¹
Э.Ф. СТЕПАНОВА²
В.В. МАЛЯВИНА³

¹*Омская государственная
медицинская академия*

²*Пятигорская государственная
фармацевтическая академия*

³*Кубанский государственный
медицинский университет*

e-mail: marinfarm@yandex.ru

Лецитин в организме выполняет разнообразные функции. На основе лецитина производятся препараты из различных фармакологических групп. Интересным направлением с использованием в качестве вспомогательного вещества лецитина является разработка суббукального липосомального геля с инсулином. Это качественно новый подход как к лекарственной форме, так и выбранным вспомогательным веществам. В России существует потенциально дешевый и гарантированный источник фосфолипидов. Это многотоннажные вторичные продукты производства подсолнечного масла - фосфатидной эмульсии и концентрата. Были проведены исследования по созданию комбинированной лекарственной формы с фосфолипидным комплексом и жирорастворимыми антиоксидантами.

Ключевые слова: лецитин, суббукальный липосомальный гель, фосфатидная эмульсия.

Лецитин – комплекс эссенциальных фосфолипидов (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозит), в организме выполняет разнообразные функции: входит в состав клеточных мембран (в виде фосфатидилхолина); является эмульгатором и регулятором кристаллизации холестерина; основной компонент ацетилхолина; является источником металльных групп. Фосфатидилхолин (один из главных составляющих лецитина) и другие фосфолипиды поддерживают структуру и проницаемость клеточных мембран, что необходимо для жизнедеятельности клеток, усвоения питательных веществ и передачи межклеточной информации. Кроме того, фосфолипиды помогают регулировать деятельность мембранных белков и нейромедиаторов. Лецитин обладает эмульгирующими свойствами, что позволяет ему растворять жиры в слизистой оболочке кишечника, подготавливая их к расщеплению, предотвращать и растворять желчные камни, а также препятствовать образованию опасных холестериновых отложений в кровеносных сосудах, снижать уровень холестерина в крови.

Другим достоинством лецитина является то, что он содержит омега-6 полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Эти жирные кислоты принимают участие в нормализации процессов транспорта липидов в кровотоке и способствуют лучшей всасываемости жиров из кишечника. Лецитин играет важную роль в иммунной защите организма. Он увеличивает сопротивляемость заболеваниям: помогает вырабатывать антитела, стимулирует рост и активность фагоцитов, способствует разрушению чужеродной и патологической ткани [1].

В настоящее время препараты на основе фосфолипидов успешно применяются в медицинской практике как гепатопротекторные и антиоксидантные средства. На основе лецитина производятся препараты «Эссенциале Форте», «Эссенциале Н», «Эсливер Форте», ряд биологически активных добавок (БАД). В поливитаминных препаратах, таких как «Сана-Сол», содержится лецитин, являющийся ценной биологически активной добавкой. Включение лецитина в состав препаратов линии «Сана-Сол» (в частности, «Сана-Сол – Мультивитаминный сироп для детей») предполагает целесообразность их использования в детской неврологии. О возможности применения поливитаминных препаратов с лецитином при различных заболеваниях психоневрологической сферы у детей неоднократно сообщалось в публикациях последних лет [2]. Предполагается, что использование лецитина наряду с набором важнейших витаминов позволит обеспечить детей и подростков дополнительными преимуществами, среди которых важнейшими являются улучшение когнитивных (познавательных) функций и адаптация к стрессовым факторам, испытываемым в повседневной жизни (особенно в процессе школьного обучения).

Интересным направлением с использованием в качестве вспомогательного вещества лецитина является разработка суббукального липосомального геля с инсулином. Несмотря на очевидный прорыв в технологии препаратов, в том числе и содержащих инсулин, сочетающих в себе последние достижения науки [3, 4], они еще не могут занять ведущее место в лечении сахарного диабета. Проанализировав опыт применения наиболее

распространенной лекарственной формы инсулина - инъекционной, мы пришли к выводу, что такая лекарственная форма далеко не всегда удовлетворительна в применении. Прежде всего это болезненность инъекций при пожизненном характере течения заболевания, возможная передозировка с развитием гипогликемической комы, в случае недостаточной дозы препарата не менее грозное осложнение – гипергликемия. Пероральный же прием не может гарантировать разрушения лекарственной формы в желудочно-кишечном тракте, быстроты наступления эффекта. Выбор был остановлен на суббукальном липосомальном геле, обладающем, с нашей точки зрения, рядом преимуществ. Упрощается приём препарата – он производится путём нанесения геля на слизистую внутренней стороны щеки. Устраняется раздражающее влияние на слизистую ЖКТ и инактивацию под воздействием агрессивной среды желудка. Такой способ применения позволяет лекарственному веществу миновать барьер печёночных ферментов и более полно, чем из кишечника, перейти в кровяное русло, следовательно, повышается биодоступность препарата. Кроме того, при таком способе нанесения препарата уменьшается время наступления эффекта, что важно при использовании в терапии неотложных состояний, в том числе и коматозных.

Технологическая схема состоит из двух стадий: получения «липосомального молочка» и собственно суббукального геля. При сравнительной характеристике различных методов получения липосом наилучшим оказался метод «обращения фаз и озвучивания», на втором месте – «ручного встряхивания», затем – «инъекции». Таким образом, «липосомальное молочко» получали «методом обращения фаз». Он обеспечивал максимальный процент включения инсулина в липосомы (67,7%). Технологическая схема производства суббукального липосомального инсулина представлена на рис. 1.

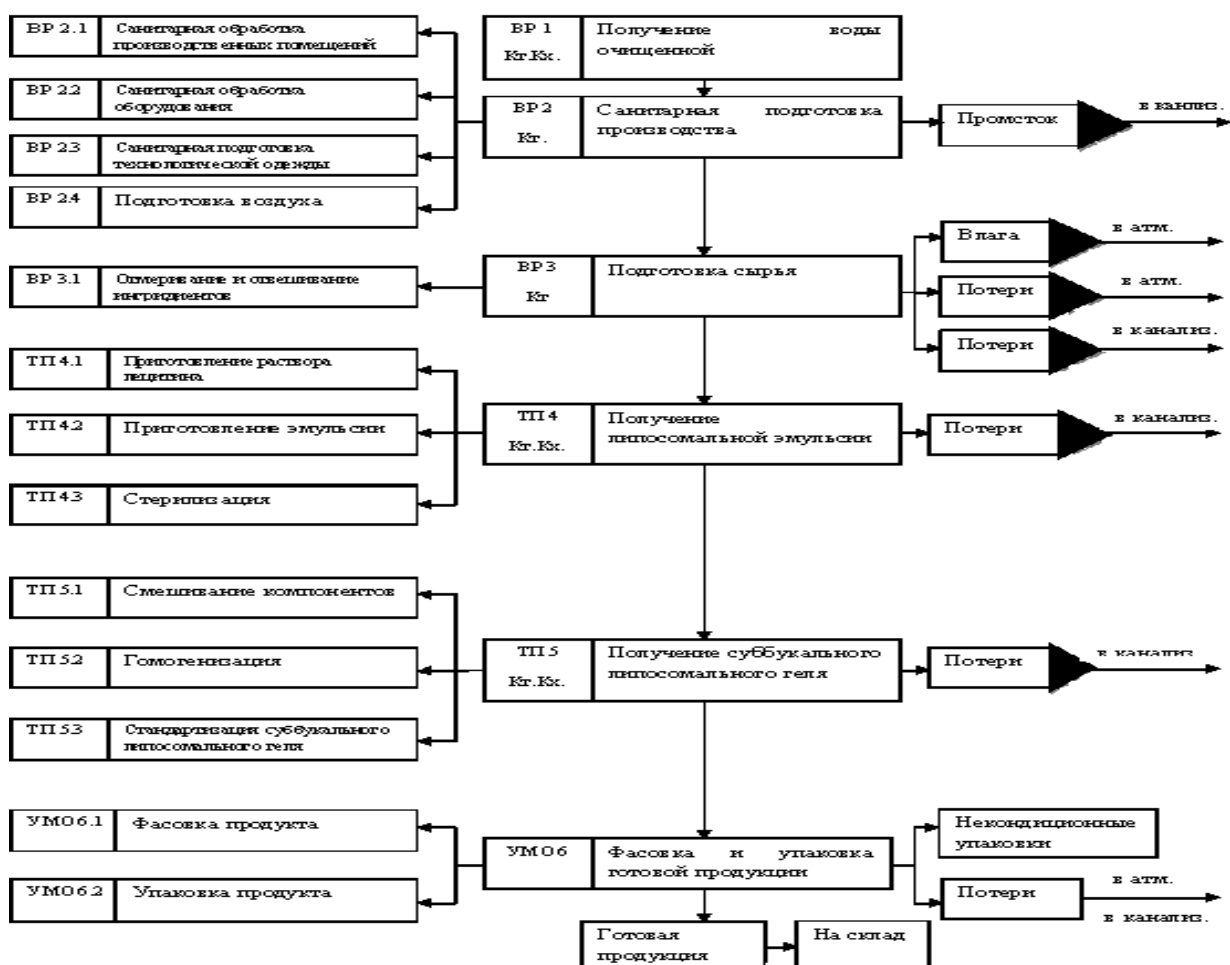


Рис. 1. Технологическая схема производства суббукального липосомального инсулина
К_т, К_х – контроль технологический, химический соответственно

Гель хранили в стеклянных баночках с навинчивающимися крышками при комнатной температуре. Результаты определений приведены в таблице.



Таблица 1

Результаты определения срока годности

Наименование показателя	Требования ГФ-ХП	Сроки хранения		
		6 мес.	12 мес.	18 мес.
Внешний вид	Однородная гелеобразная масса	Соответствует		
Цвет	Соответствовать изделию	Светло-желтого цвета		
Запах	Соответствовать изделию	Лецитина		
Водородный показатель (рН)	5,5-7,5	6,5	6,5	6,5
Массовая доля сухого вещества, %	Не более 3,0	2,8	2,8	2,8
Термостабильность	Стабилен	Стабилен	Стабилен	Не стабилен
Коллоидная стабильность	Стабилен	Стабилен	Стабилен	Не стабилен
Тяжелые металлы:		Отсутствуют		
- свинец	Отсутствие			
- мышьяк	Отсутствие			
Качественный анализ:		Реакции положительные		Реакции нет
Микробиологическая чистота	Не более 10 ³ бактерий и 10 ² грибов, отсутствие патогенной флоры	Соответствует	Соответствует	Не соответствует

Таким образом, определен срок хранения геля, он составляет 12 месяцев.

Исследовали раздражающее действие суббукального геля с инсулином при 10-дневной аппликации на слизистую десны. Данный эксперимент проведен на 20 крысах самцах линии Вистар массой 300-350 г, которые были разделены на 2 группы по 10 животных в каждой. Животным контрольной группы в течение 10 дней однократно наносили на слизистую оболочку десны тампон, смоченный физиологическим раствором. Животным опытной группы в течение 10 дней ежедневно однократно наносили суббукальный гель с инсулином на слизистую десны. После этого проводили визуальный осмотр слизистой животных опытной и контрольной групп.

Видимых отличий слизистой десны животных опытной и контрольной групп не отмечено, не выявлено покраснения, отека слизистой и других изменений, указывающих на раздражающее действие суббукального геля с инсулином.

Изучена специфическая активность разработанной лекарственной формы и показано, что суббукальный гель с липосомальным инсулином вызывает улучшение состояния крыс с тяжелым аллоксановым сахарным диабетом. Модель аллоксанового сахарного диабета была создана путем внутрибрюшинного введения аллоксана гидрата экспериментальным животным в дозе 170 мг/кг. Диабет развивался на 4-е сутки после введения препарата. Оказалось, что разработанный суббукальный липосомальный гель увеличивает продолжительность жизни, снижает уровень глюкозы в крови крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом с 21,57±0,69 до 8,03±0,18 к 4-му часу эксперимента.

Подавляющее большинство фосфолипидов производится за рубежом, и этот небольшой объем импорта, сопряженный с высокой стоимостью препаратов, не способен удовлетворить имеющийся на них спрос. По приблизительной оценке, ежегодно требуется до 100 тонн субстанций фосфолипидов. Немногочисленные российские производства в лучшем случае способны решить эту задачу для отдельного региона, при этом зачастую используя в качестве субстанций или сырья импортные соевые фосфолипиды, яичный порошок, а для их переработки – многостадийные, аппаратно перегруженные и экологически малопривлекательные технологии. Таким образом, основной причиной острой стоящей проблемы производства фосфолипидных препаратов, является использование дорогостоящего сырья и сложной технологии. В России существует потенциально дешевый и гарантированный источник фосфолипидов с ценным набором входящих в него представителей этой группы БАВ (фосфатидилхолина или лецитина, фосфатидилинозитола, фосфатидилэтаноламина и др.). Речь идет о многотоннажных вторичных продуктах производства подсолнечного масла – фосфатидной эмульсии и концентрата. Были проведены исследования по созданию комбинированной лекарственной формы с

фосфолипидным комплексом и жирорастворимыми антиоксидантами. Итогом их стала предлагаемая на рис. 2 технологическая схема производства. Из рисунка следует, что технологическая схема несложна, аппаратура традиционна, т.е. предлагаемые композиции могут быть получены как в условиях крупных, так и средних фармпроизводств.

Лекарственная форма представляет собой гель для перорального применения (оралгель), для которой в качестве первичной упаковки рекомендованы тубы. При условии хранения ее при температуре 15°C в указанной упаковке срок годности лекарственной формы составляет 1,5 года.

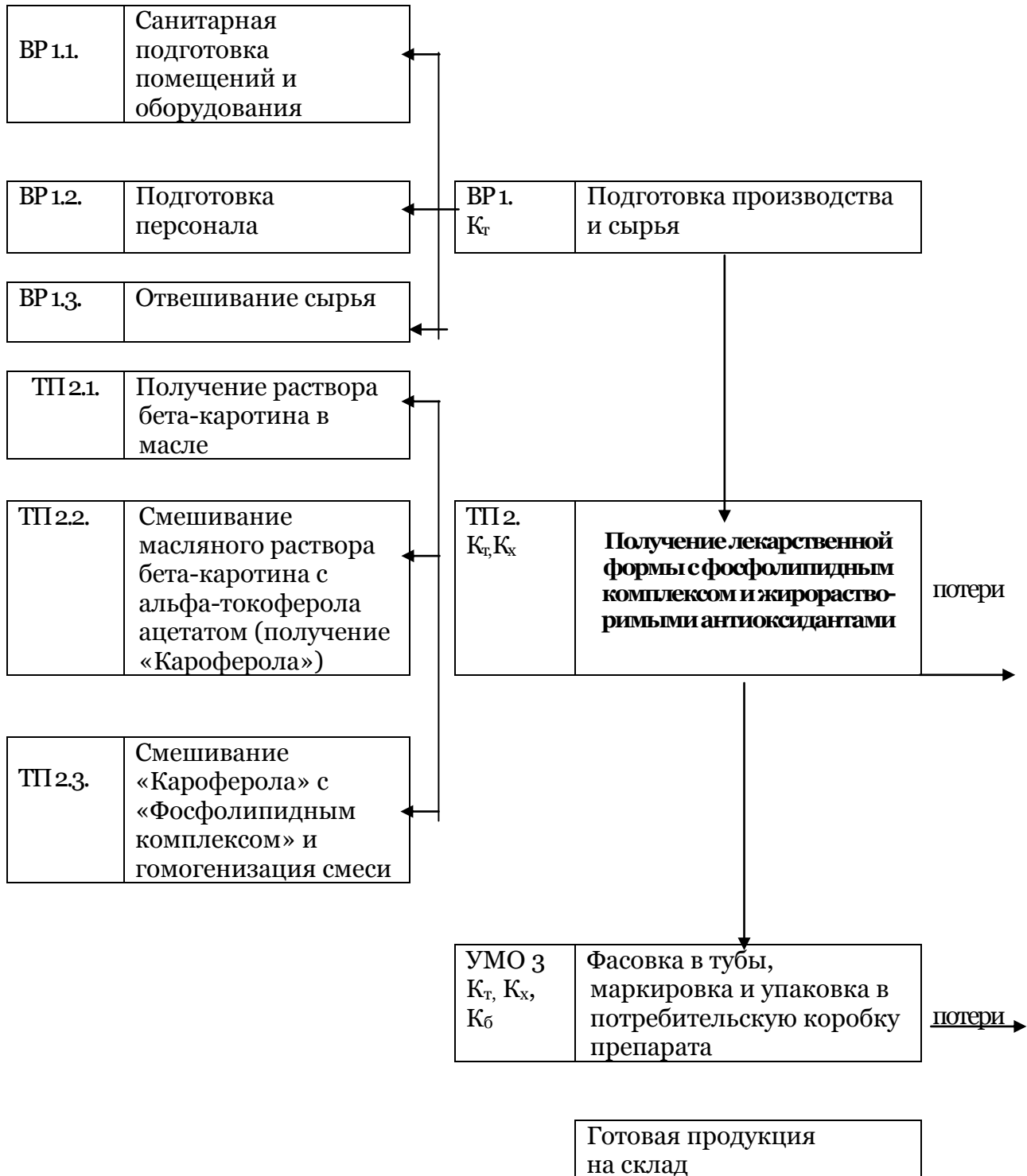


Рис. 2. Технологическая схема производства лекарственной формы с фосфолипидным комплексом и жирорастворимыми антиоксидантами

Полученные положительные результаты фармакологического исследования отдельных компонентов и их композиции в разработанной лекарственной форме на различных видах животных позволяют рекомендовать ее в качестве антиоксидантного и гепатопротекторного средства и показывают реальные перспективы для применения в медицине и лечебно-профилактическом питании.

Таким образом, лекарственные формы, содержащие лецитин являются достаточно перспективными, так как разработаны на основе природного сырья, вносящего свой вклад в специфическую активность.

Литература

1. Марголис, Л.Б. Липосомы и их взаимодействие с клетками / Л.Б. Марголис, Л.Д. Бергельсон. – М.: Наука, 1986. – 240 с.
2. Студеникин, В. М. Возможности применения поливитаминного препарата с лецитином в детской неврологии / В.М. Студеникин, С.В. Балканская, О.И. Маслова // *Consilium medicum*. Прил. № 1 «Педиатрия». – 2004. – С. 16-19.
3. Gwinup, G. Insulin and C-peptide levels following oral administration of insulin in intestinal-enzyme protected capsules / G. Gwinup, A.N. Ellias, E.S. Domurat // *Gen. Pharmacol.* – 1991. – V. 22. – N 2. – P. 243–246.
4. Patel, H.M. Orally administered liposomally insulin / H.M. Patel, B.E. Ryman // *Biochem. Soc. Trans.* 5. – 1977. – P. 1739-1741.
5. Малявина, В.В. Разработка препарата гепатопротекторного действия на основе растительных фосфолипидов / В.В. Малявина, Р.В. Казарян, С.П. Кудинова и др. // *Человек и лекарство: тез. докл. 6 Рос. нац. Конгресса, 19-23 апр. 1999 г.* – М.: Фармединфо, 1999. – С. 414

USING LECITHIN IN SOFT MEDICAL FORMS

M.A. OGAI¹
E.PH. STEPANOVA²
V.V. MALJAVINA³

¹*Omsk state medical academy*

²*Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy*

³*Kuban' State Medical University*

e-mail: marinfarm@yandex.ru

Lecithin in an organism carries out various functions. On the basis of lecithin preparations from various pharmacological groups are made. An interesting direction with use as auxiliary substance of lecithin, is working out subbucal liposomally gel with insulin. It is qualitatively new approach as to the medicinal form, and the chosen auxiliary substances. In Russia there is potentially cheap and guaranteed source phospholipid. These are large-tonnage by-products of manufacture of sunflower-seed oil – phosphotide an emulsion and phospholipid a concentrate. Researches on creation of the combined medicinal form with a complex and fat-soluble antioxidants have been conducted.

Keywords: lecithin, subbucal liposomally gel, phosphotide an emulsion.



ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ И ФАРМАКОГНОЗИЯ

УДК 582.912.46:547.965

ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ НЕКОТОРЫХ РАСТЕНИЙ СЕМЕЙСТВА ASTERACEAE

**А.Ю. БОТОВ, А.П. СЕВЕРИН
В.Я. ЯЦЮК, Л.Е. СИПЛИВАЯ**

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: dasbot777@gmail.com

В данной статье представлены результаты исследований элементного состава некоторых видов семейства Asteraceae (мелколепестник канадский, полынь горькая, полынь эстрагон и полынь обыкновенная). Элементный состав определяли при помощи спектрального анализа, методом испарения на спектрографе ДФС-8-1. Для определения отдельных элементов использовали атлас спектральных линий и спектров-стандартов.

Ключевые слова: элементный состав, спектральный анализ, полынь горькая, полынь обыкновенная, полынь эстрагон, шрот полыни горькой, мелколепестник канадский.

Поиск новых источников лекарственного растительного сырья, совершенствование технологии производства лекарственных препаратов, а также комплексный подход к использованию уже разрешенных к применению лекарственных растений является актуальной задачей отечественной фармацевтической науки.

Данная работа является продолжением исследований химического состава растений рода мелколепестник и полынь и посвящена изучению элементного состава [2, 3, 6].

В качестве объектов исследования использовали траву мелколепестника канадского, полыни горькой, полыни обыкновенной, полыни эстрагон, а также шрот полыни горькой. Изучаемые растения были заготовлены в фазу вегетации: конец цветения – начало плодоношения на территории Курской и Белгородской областей в 2010 году.

Важность сведений о содержании макро- и микроэлементов в лекарственном растительном сырье не вызывает сомнений. Микроэлементы и минеральные вещества участвуют в различных биохимических процессах, стимулируют и нормализуют обмен веществ. Многие микроэлементы выполняют строго определенные функции, выступая своеобразными катализаторами биологических процессов в организме человека. Так, фосфор участвует в синтезе белка, входя в состав РНК и ДНК. Марганец имеет большое значение для функций мозга, участвует в развитии костной ткани [4, 7]. Это обуславливает актуальность определения элементного состава растительного сырья с целью его рационального использования.

Материалы и методы исследования. Для изучения состава макро- и микроэлементов образцы исследуемого сырья подвергали озолению в муфельной печи при температуре 450-5000С. Для определения элементного состава в золе использовали полуколичественный спектральный метод анализа (испарения) на спектрографе ДФС-8-1. Фотометрирование спектрограмм проводили с помощью атласа спектральных линий и спектров-стандартов с погрешностью не более 2% в пересчете на золу [1, 5].

Результаты исследования и их обсуждение. В результате проведенных исследований (табл.) во всех изучаемых видах сырья обнаружены макро- (К, Са, Р, Na) и

микроэлементы (Fe, Al, Mg, Si, Cu, Zn, Pb, Ag, Mo, Ba, Sr, B, Mn, Ni, Ti, V, Cr, Zr, Ga, Be), 10 из которых относятся к эссенциальным (K, Na, Ca, Mg, P, Fe, Cu, Zn, Mo, Mn).

Таблица

Минеральный состав сырья некоторых видов семейства Asteraceae

Вид сырья Элемент	Содержание элементов в золе, %				
	Мелколепестник канадский	Полынь обыкновенная	Полынь эстрагон	Полынь горькая	Шрот Полыни горькой
Макроэлементы					
Фосфор (P)	4,000	4,000	5,000	4,000	6,000
Калий (K)	30,000	30,000	30,000	20,000	30,000
Натрий (Na)	0,300	1,000	1,000	0,300	1,000
Кальций (Ca)	10,000	6,000	6,000	6,000	10,000
Микроэлементы					
Железо (Fe)	0,500	0,300	0,500	0,200	1,000
Магний (Mg)	8,000	3,000	6,000	3,000	5,000
Алюминий (Al)	0,600	0,300	0,500	0,500	1,000
Кремний (Si)	6,000	3,000	5,000	3,000	6,000
Медь (Cu)	0,010	0,020	0,020	0,005	0,020
Цинк (Zn)	0,030	0,010	0,020	0,010	0,030
Свинец (Pb)	0,0006	0,0006	0,002	0,0006	0,003
Серебро (Ag)	0,00001	0,00001	0,00002	0,00001	0,00001
Молибден (Mo)	0,0005	0,002	0,001	0,001	0,003
Барий (Ba)	0,020	0,060	0,020	0,030	0,030
Стронций (Sr)	0,050	0,050	0,060	0,050	0,060
Бор (B)	0,010	0,030	0,020	-	0,030
Марганец (Mn)	0,100	0,150	0,080	0,080	0,150
Никель (Ni)	0,004	0,005	0,008	0,002	0,002
Титан (Ti)	0,020	0,030	0,020	0,020	0,020
Ванадий (V)	0,0003	0,0005	0,0003	0,0005	0,0005
Хром (Cr)	0,002	0,002	0,002	0,001	0,002
Цирконий (Zr)	0,002	0,002	0,002	0,001	0,001
Галлий (Ga)	0,0002	0,0001	0,0002	0,0001	0,0003
Бериллий (Be)	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005

Изучаемые виды сырья содержат значительные количества макроэлементов, в особенности фосфора, калия и кальция. Среди микроэлементов преобладают: железо, магний, алюминий, кремний, марганец; в меньшей степени: медь, цинк, барий, стронций, бор, титан.

Полученные данные об элементном составе мелколепестника канадского, полыни горькой, шрота полыни горькой, полыни обыкновенной и полыни эстрагон определяют перспективность их дальнейшего экспериментального исследования для получения на их основе новых фитопрепаратов.

Литература

1. Атлас спектральных линий для кварцевого спектрографа [Текст] / С.А. Калинин, А.А. Явнель, А.И. Алексеева и др. – М., 1959. – 53с.
2. Ботов, А.Ю. Исследование углеводного состава некоторых растений семейства Asteraceae / А.Ю. Ботов, А.П. Северин, В.Я. Яцюк, Л.Е. Сипливая // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – Рязань, 2012.
3. Ботов, А.Ю. Перспективы использования мелколепестника канадского (*Erigeron Canadensis* L.) как сырья для получения фитопрепаратов / А.Ю. Ботов, В.Я. Яцюк, Л.Е. Сипливая // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2011. – №4. – С. 129-133.
4. Кудрин, А.В. Иммунофармакология микроэлементов / А.В. Кудрин, А.В. Скальный, А.А. Жаворонков. – М.: Высш. шк., 1992. – 272 с.
5. Попов, А.И. Фронтальный элементный состав травы тысячелистника / А.И. Попов, В.А. Попков // Химико-фармацевтический журнал. – 1992. – № 9-10. – С. 96-97.
6. Северин, А.П. О комплексном использовании сырья полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.) для получения фитопрепаратов / А.П. Северин, В.Я. Яцюк, Л.Е. Сипливая // Научные ведомости Белгородского государственного университета. – 2011 г.-№4. – С.134-137.



7. Трубников, А.А. Фармакогностическое изучение цикория дикорастущего и культивируемого в Ярославской области: автореф. дис...канд. фарм. наук: (15.00.02) / А.А. Трубников. – Пермь, 2000. – 23 с.

ELEMENTAL COMPOSITION OF SOME PLANTS OF *ASTERACEAE*

A.Y. BOTOV
A.P. SEVERIN
V.Y. YATSUK
L.E. SIPLIVAYA

Kursk State Medical University

e-mail: dasbot777@gmail.com

In this article we have presented the results of some species elemental composition studies of Asteraceae (*Erigeron canadensis* L., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia vulgaris* L.). The elemental composition was determined by means of spectral analysis, by method of evaporation in a spectrograph DFS-8-1. To determine the individual elements we used atlas of spectral lines.

Keywords: elemental composition, spectral analysis, *Erigeron canadensis* L., *Artemisia absinthium* L., *Artemisia dracunculus* L., *Artemisia vulgaris* L.

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА АНТОЦИАНОВ ИРГИ ОЛЬХОЛИСТНОЙ – *AMELANCHIER ALNIFOLIA NUTT* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТРИЧНО-АКТИВИРОВАННОЙ ЛАЗЕРНОЙ ДЕСОРБЦИОННОЙ ИОНИЗАЦИИ (MALDI)

**Д.И. ПИСАРЕВ, О.О. НОВИКОВ
Н.А. ПИСАРЕВА, Н.В. АВТИНА
М.Д. БЕЗМЕНОВА, А.В. СТЕПАНОВА**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail pisarev@bsu.edu.ru

В статье представлены результаты изучения состава антоцианов плодов ирги ольхолистной методами ВЭЖХ, масс- и УФ-спектроскопии. Обнаружено наличие двух гликозидов цианидина. Подобраны оптимальные условия для количественного определения антоцианов в сырье, которое осуществлялось методом рН-дифференциальной спектрофотометрии.

Ключевые слова: антоцианы, ирга ольхолистная, ВЭЖХ, масс-спектрометрия, УФ-спектрофотометрия.

Антоцианы – одни из самых важных для человека представителей растительных полифенольных соединений. Антоцианы применяются как пищевые красители (Е 163) и биологически активные соединения. Известны лекарственные препараты и биологически активные добавки к пище на основе антоцианов.

Интересным является факт аномально высокой антирадикальной активности антоцианов, которая во много раз превышает таковую других классов флавоноидов [5].

Для антоцианов в настоящее время доказаны следующие фармакологические эффекты: вазопротекторный, антиоксидантный, противовоспалительный, противоотечный [3].

Наличие антоцианов присуще многим растениям, так как они обеспечивают цвет цветков, плодов, но арсенал лекарственных растений, содержащих эту группу соединений, которые могут служить их рациональными источниками, насчитывает ограниченное количество наименований. Поэтому изучение и выявление перспективных источников антоцианов является актуальной проблемой. С этой позиции перспективным является ирга ольхолистная – *Amelanchier alnifolia* Nutt. – растение, интродуцированное в Россию из западных районов Северной Америки, где оно образует огромные заросли по берегам рек, на склонах холмов, в лесах. В 1918 г. введена в культуру и используется в качестве как декоративного, так и пищевого растения, легко поддающегося обрезке. От других видов ирги отличается влаголюбивостью и несколько более поздним цветением [1, 2].

Целью настоящего исследования явилось изучение плодов ирги ольхолистной с применением матрично-активированной лазерной десорбционной ионизации (MALDI).

В качестве объекта исследования использованы плоды ирги ольхолистной.

Для выделения суммы антоцианов использовали способ выделения антоцианов с помощью сорбции на тальке [6]. Для этого 10,0 г свежих плодов ирги ольхолистной экстрагировали 1% раствором кислоты хлористоводородной в 96% спирте этиловом. Полученное извлечение сгущали под вакуумом на ротационном испарителе ИР-1 до минимального объёма. Для получения чистой суммы антоцианов извлечённую фракцию подвергли избирательному сорбированию на тальке. Для этого её смешивали с достаточным количеством талька до образования кашицы. Полученную массу переносили в воронку Бюхнера с бумажным фильтром. Воронку присоединяли к колбе Бунзена с водоструйным насосом и под вакуумом промывали полученную массу водой очищенной до того момента, пока промывные воды не стали прозрачными. Промывные воды удаляли из колбы Бунзена, а из оставшейся на фильтре массы проводили десорбцию антоцианов 1% раствором кислоты хлористоводородной в 96% спирте этиловом. Вымывали до появления бесцветных промывных вод. Полученный раствор упаривали под вакуумом на ротационном испарителе ИР-1.

Полученную сумму далее подвергали масс-спектрометрическому анализу. Регистрацию масс-спектров проводили на приборе масс-спектрометр «Autoflex II» «MALDI TOF/TOF» фирмы Bruker Daltonics производства Германии. Анализируемую пробу в количестве 0,5 µl с помощью дозатора 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 полярности (reflective positive). При масс-спектрометрическом исследовании получен спектр, на котором наблюдается наиболее интенсивный пик иона с зарядом $m/z = 287,316$, соответствующий пику агликона – по молекулярной массе соответствующий цианидину, и интенсивный пик иона $m/z = 449,214$, отвечающий его моногликозиду (рис. 1).

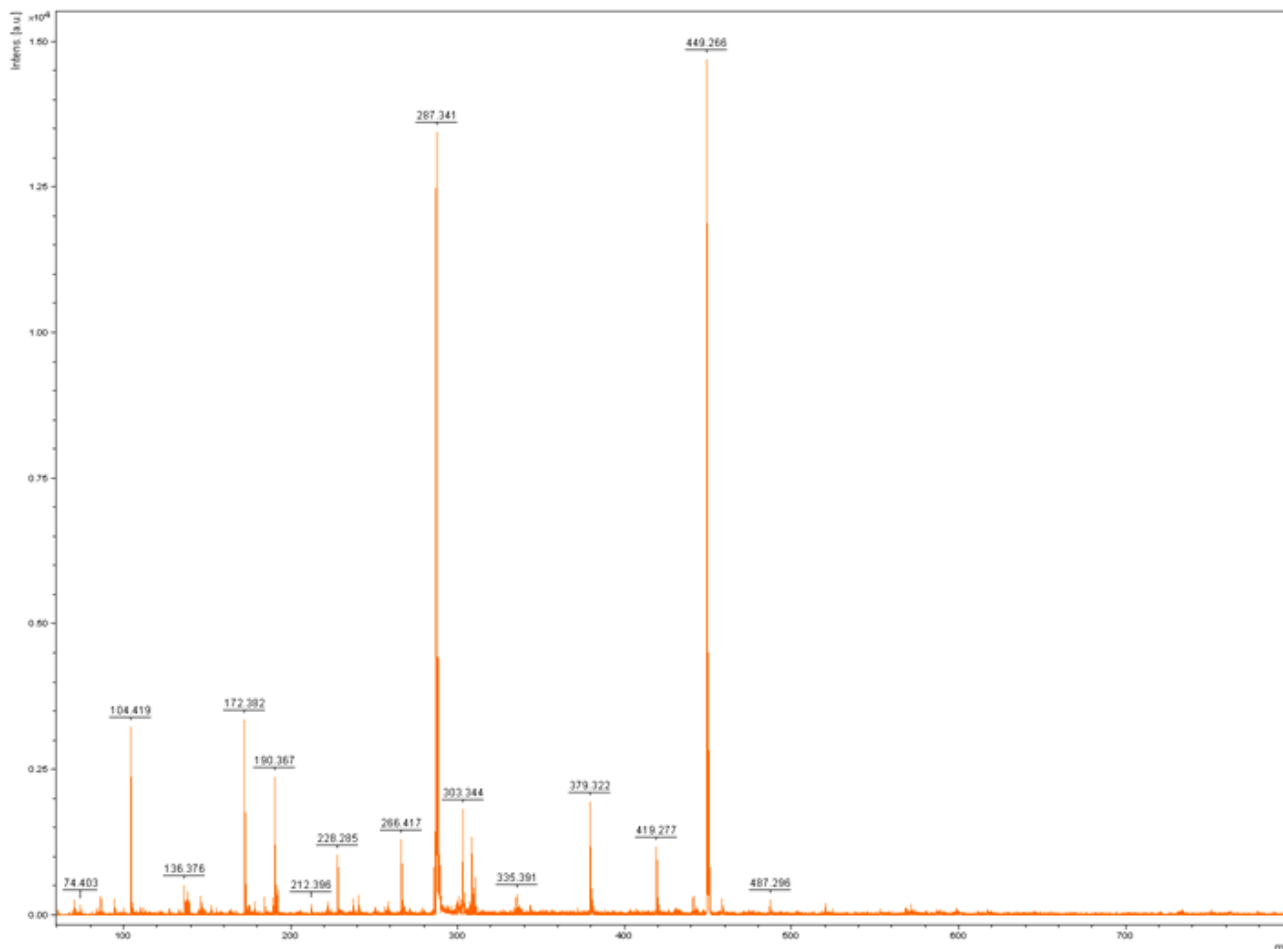


Рис. 1. Масс-спектр суммы антоцианов ирги ольхолистной

Для установления сахарного компонента, входящего в состав гликозида, использован кислотный гидролиз 10% раствором кислоты уксусной на водяной бане в течение 30 минут. Выпавший после гидролиза осадок агликона отфильтровывали, а гидролизную жидкость нейтрализовывали бария карбонатом. Далее в гидролизной жидкости обнаруживали моносахара в тонком слое силикагеля на пластинках «Сорбфил» в системе растворителей: этилацетат – кислота уксусная – вода (3:1:3) со свидетелями нейтральных сахаров. Детекцию пятен на хроматограмме проводили путём её нагревания до 105 °С. Таким образом было выявлено наличие галактозы и глюкозы. Следовательно, можно утверждать, что в плодах ирги ольхолистной содержатся цианиди-3-глюкозид и цианидин-3-галактозид.

Помимо пиков высокой интенсивности на масс-спектре можно заметить пик молекулярного иона с зарядом $m/z = 303,344$, отвечающий дельфинидину, и соответствующий ему гликозид с зарядом $m/z = 487,295$, отвечающий его натриевой форме гликозида.

Присутствие трёх гликозидов антоцианов подтверждено методом обратнофазной высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для разделения использованы следующие условия: колонка ZORBAX Eclipse XDB – C18 600 Var 2.1×100мм, 1,8 Мм; подвижная фаза – 10% уксусная кислота в спирте этиловом, скорость подачи элюента 0,150 мл/сек, объем вводимой

пробы 5 мкл, детекция УФ $\lambda = 510$ нм, температура колонки 25 °С, давление 300 Ваг. Разделение проводилось в изократическом режиме. Полученные результаты представлены на рис. 2.

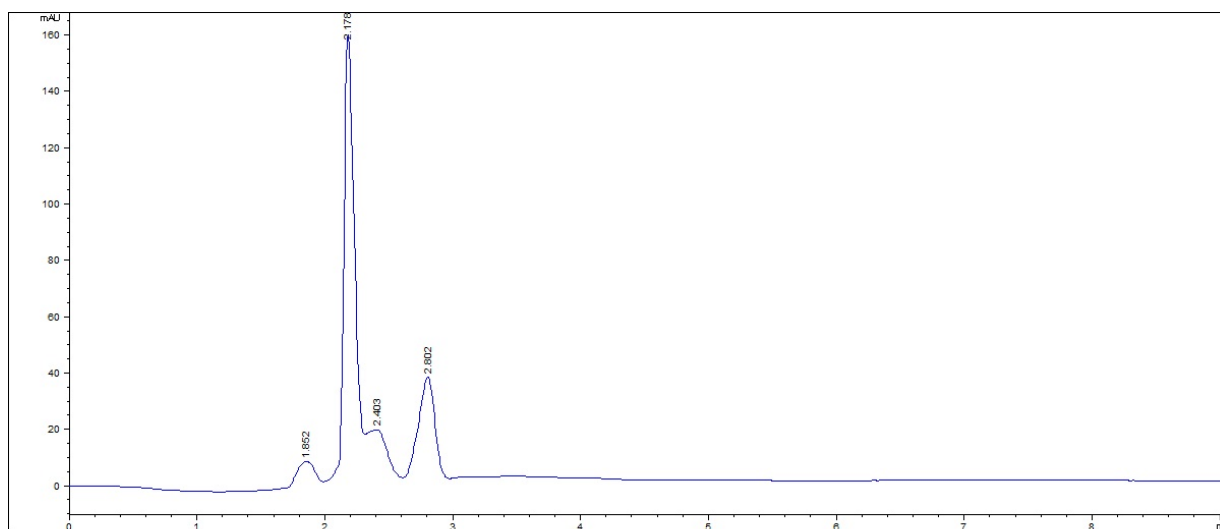


Рис. 2. Хроматограмма суммы антоцианов ирги ольхолистной

На рис. 2 наблюдаются три основных пика со временем удерживания: 1,852, 2,178 и 2,802.

Для доказательства расположения гидроксильных групп нами был использован метод УФ-спектрофотометрии с использованием шифт-реактива – 5% этанольного раствора алюминия хлорида.

Для выявления свободной орто-диоксигруппировки в кольце В сначала регистрировали УФ-спектр чистой суммы антоцианов. При этом наблюдался один максимум поглощения при длине волны $\lambda = 545$ нм. При добавлении 5% раствором алюминия хлорида в 96% этиловом спирте наблюдалось смещение максимума поглощения на 47 нм, что свидетельствует о свободной орто-диоксигруппировке в кольце В, а сахарная часть у цианидина предположительно находится в положении 3 (рис. 3).

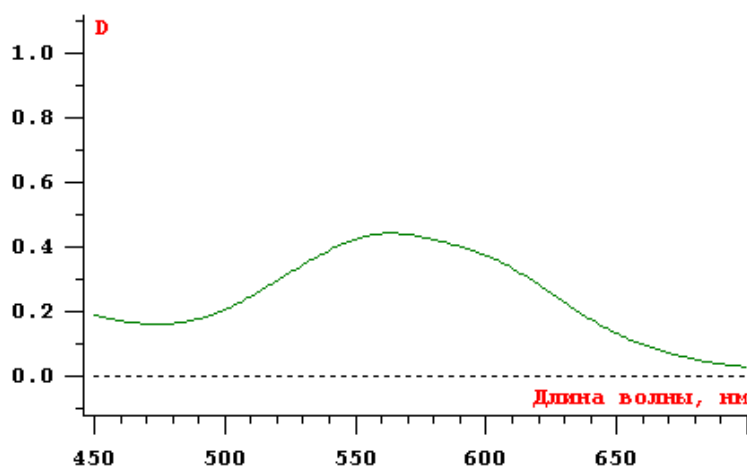


Рис. 3. УФ-спектр поглощения комплекса антоцианов ирги ольхолистной с алюминия хлоридом

Количественное определение антоцианов в плодах ирги ольхолистной проводили методом рН-дифференциальной спектрофотометрии [4].

Для осуществления количественного определения антоцианов возникла необходимость отработать стадию экстракции. Были подобраны оптимальные условия экстрагирования антоцианов из сырья 1% раствором кислоты хлористоводородной в спиртах различной крепости – 40%, 70%, 96% и воды. Установлено, что наилучшим растворителем для антоцианов является 1% раствор кислоты хлористоводородной в 96% спирте этиловом

при соотношении сырьё – растворитель 1:100, оптимальное время экстракции 30 минут, количество повторностей экстрагирования – 5.

Наибольший выход антоцианов наблюдался при использовании 96% концентрации спирта этилового, что объясняется тем, что при увеличении доли воды в экстрагенте массовая доля антоцианов в извлечении уменьшается. Это связано в первую очередь с тем, что при добавлении воды увеличивается не только концентрация антоцианов в извлечениях, но также растёт и концентрация примесей.

Также установлено влияние ультразвука на степень выхода антоцианов. Для этого использовалась обычная мацерация при температуре 80 °С и мацерация с использованием ультразвука в том же температурном режиме. Полученные растворы фотометрировали методом прямой спектрофотометрии на спектрофотометре СФ-56 в диапазоне длин волн $\lambda = 450 - 600$ нм, в качестве раствора сравнения использовали 1% раствор кислоты хлористоводородной в спирте этиловом 96%. Полученный УФ-спектр представлен на рис. 4.

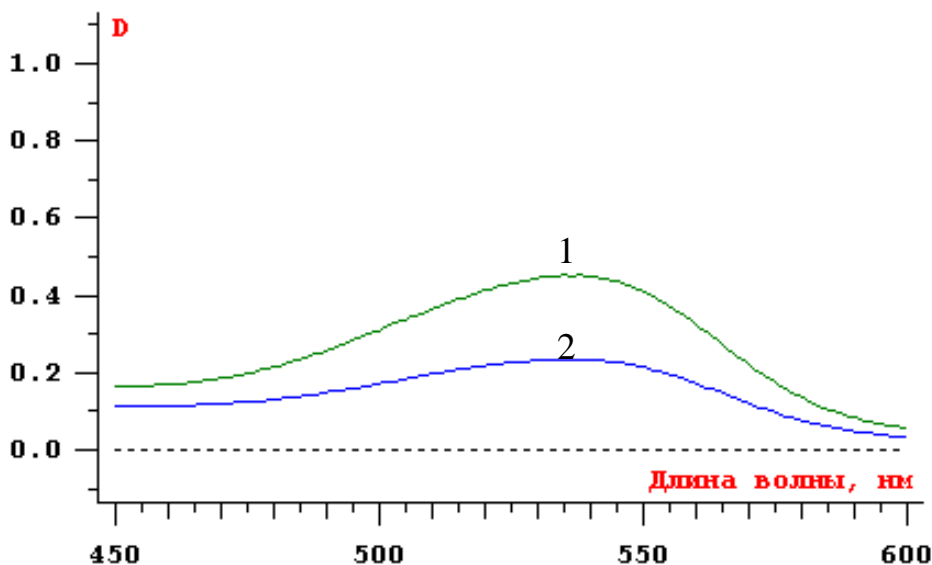


Рис. 4. УФ-спектр поглощения суммы антоцианов *Amelanchier alnifolia* Nutt

1 – УФ-спектр поглощения суммы антоцианов, извлекаемых 1% раствором кислоты хлористоводородной в спирте этиловом 96% с использованием ультразвука;

2 – УФ-спектр поглощения суммы антоцианов, извлекаемых 1% раствором кислоты хлористоводородной в спирте этиловом 96% простой мацерацией.

Таким образом, установлено, что использование ультразвука в среднем в два раза увеличивает выход антоцианов.

В результате проведённых предварительных испытаний удалось разработать рациональный метод количественного определения антоцианов, изложенный ниже.

Для этого навеску свежего сырья массой 5,0 г, предварительно растёртого в ступке, помещали в плоскодонную колбу со шлифом ёмкостью 100 мл и заливали 20 мл растворителя – 1% раствором кислоты хлористоводородной в спирте этиловом 96%-ном, присоединяли к обратному холодильнику и помещали в ультразвуковую баню с программируемым температурным режимом 80 °С и нагревали в течение 30 минут. Полученное извлечение охлаждали и фильтровали в мерную колбу ёмкостью 100 мл. Экстракцию остатка проводили ещё четыре раза порциями по 20 мл, собирая фильтрат в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл. После охлаждения объём извлечения доводили экстрагентом до метки и перемешивали (раствор А). Далее из полученного раствора А отбирали две аликвоты в количестве по 5 мл, помещали в мерные колбы вместимостью 25 мл и одну колбу заполняли буферным раствором с рН – 1, другую с рН 4,5. Регистрировали значения оптической плотности растворов из первой и из второй колбы при длинах волн – 510 нм и 700 нм на спектрофотометре СФ-56. В качестве раствора сравнения использовали буферные растворы. рН дифференциальный спектр поглощения суммы антоцианов ирги ольхолистной представлен на рис. 5.

Приготовление буферного раствора с рН 1,0: 1,49 г КСl растворяли в 100 мл воды

очищенной, смешивали 25 мл раствора КСl с 67 мл 0,2 М раствора НСl. Регистрировали значение рН на потенциометре и доводили 0,2 М раствором НСl до 1,0.

Приготовление буферного раствора с рН 4,5: 1,64 г натрия ацетата растворяли в 100 мл воды, доводили 0,2 М раствором НСl до рН 4,5.

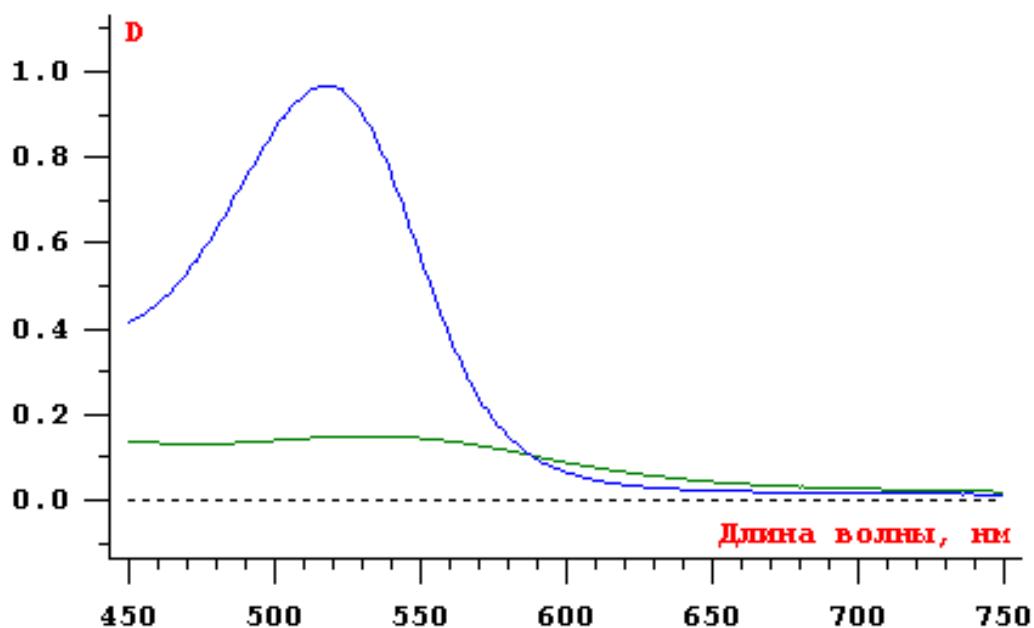


Рис. 5. рН-дифференциальный спектр поглощения суммы антоцианов *Amelanchier alnifolia* Nutt.

Величину оптической плотности рассчитывали по формуле 1:

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5} \quad [1]$$

Расчёт содержания суммы антоцианов (X%) в сырье в пересчете на цианидин-3-гликозид проводили по формуле 2:

$$X\% = \frac{A \times M_M \times W_1 \times W_2 \times 100}{\epsilon \times l \times m \times V \times 10 \times (100 - B)} \quad [2]$$

где X% – содержание антоцианов в пересчете на цианидин-3-гликозид, %;

W_1 – общий объем извлечения из сырья, мл;

W_2 – объем извлечения после разбавления, мл;

a – масса сырья, г;

V_1 – аликвота, взятая для разбавления, мл;

M – молярная масса цианидина-3-гликозида, равная 449,17;

l – толщина кюветы, см;

ϵ – молярный коэффициент поглощения цианидин-3-гликозида (26900).

B – влажность сырья.

Содержание антоцианов в свежих плодах *Amelanchier alnifolia* Nutt. Составило 17,14 мг%.

**Результаты количественного определения антоцианов
в плодах *Amelanchier alnifolia* Nutt. Методом дифференциальной
рН-спектрофотометрии**

X (%)	$\bar{X} - X_i$	$(\bar{X} - X_i)^2$	Метрологические характеристики
16,46	0,68	0,4624	$\bar{X} = 17,14$ $\sum (\bar{X} - X)^2 = 3,71$ $S_x = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - X_i)^2}{n(n-1)}} = 0,297$ $\Delta X = S_x \cdot t_x = 0,73$ $\varepsilon = 4,2\%$
18,01	-0,87	0,7569	
16,53	0,63	0,3721	
17,95	-0,81	0,6561	
16,55	0,59	0,3481	
16,5	0,64	0,4096	
17,98	-0,84	0,7056	
$\bar{X} = 17,14$		$\sum (\bar{X} - X)^2 = 3,71$	

Из представленных в таблице данных следует, что относительная ошибка единичного определения методом рН-дифференциальной спектрофотометрии с вероятностью 95% составляет $\pm 4,2\%$, что укладывается в пределы, рекомендуемые ГФ.

В ходе настоящего исследования изучен состав антоцианов плодов ирги ольхолистной методами ВЭЖХ, масс- и УФ-спектроскопии, в результате обнаружено наличие двух гликозидов цианидина. Подобраны оптимальные условия для количественного определения антоцианов в сырье, которое осуществлялось методом рН-дифференциальной спектрофотометрии.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., государственный контракт № П425 от 12 мая 2010 г. «Разработка методик выделения и определения полифенольных соединений классов флавоноидов, каротиноидов и антоцианов и технологии создания лекарственных форм на их основе».

Литература

1. Аксенова, Н.А. Деревья и кустарники для любительского садоводства и озеленения / Н.А. Аксенова, Л.А. Фролова. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 157 с.
2. Галактионов, И.И. Декоративная дендрология / И.И. Галактионов, А.В. Ву, В.А. Осин. – М.: Высшая школа, 1967. – 318 с.
3. Корулькин, Д. Ю. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музычкина, Г.А. Толстикова; Рос. Акад. Наук, Сиб. Отд., Новосиб. Ин-т органической химии. – Новосибирск: Академическое изд-во "Тео", 2007. – 232 с.
4. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / под ред. В.А. Тутельяна и К.И. Эллера. – М.: Изд-во «Династия», 2010. – 160 с.
5. Органическая химия: учеб. для вузов: в 2 кн.: Специальный курс / Н.А. Тюкавкина, С.Э. Зурябин, В.Л. Белобородов и др. / под ред. Н.А. Тюкавкиной. – М.: Дрофа, 2008. – 592 с.
6. Способ выделения биологически активных антоцианов / А. В.Птицын, Э. И. Мухтаров, А. П. Каплун. и др. // Патент №2302423. – Оpubл.10.07.2007, Бюлл.№19.

STUDY OF ANTHOCYANINS OF *AMELANCHIER ALNIFOLIA* NUTT USING MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION IONIZATION (MALDI)

**D.I. PISAREV, O.O. NOVIKOV,
N.A. PISAREVA, N.V. AVTINA,
M.D. BEZMEANOVA, A.V. STEPANOVA**

Belgorod National Research University

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

The paper presents the results of a study of the anthocyanins of *Amelanchier alnifolia* Nutt by HPLC, MS- and UV-spectrometry. Revealed the presence of two cyanidin glycosides. Selected the optimal conditions for the quantitative determination of anthocyanins in raw material, which was carried out using a pH differential spectrophotometry.

Keywords: anthocyanins, *Amelanchier alnifolia* Nutt, HPLC, MS-spectrometry, UV-spectrometry

ИЗУЧЕНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА НАЗЕМНОЙ ЧАСТИ РЯБИНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ (SORBUS AUCUPARIA L.)

И.А. САФОНОВА
В.Я. ЯЦЮК
Н.В. КОСТЕБЕЛОВ

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: Isafon@yandex.ru

Изучен элементный состав наземной части рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.). Определение 28 элементов проводилось методом испарения на спектрографе ДФС-8-1. Установлены закономерности в уровнях накопления элементов в разных частях растения, сделан вывод о перспективности использования листьев и цветов растения для создания новых лекарственных и косметических препаратов.

Ключевые слова: макроэлементы, микроэлементы, рябина обыкновенная, *Sorbus aucuparia* L., элементный состав.

Биологическая роль минеральных веществ в настоящее время не вызывает сомнения. Давно известно, что элементы участвуют в многочисленных биохимических процессах, стимулируют и нормализуют обмен веществ, действуют на ферменты и генетический аппарат клеток. Многие макро- и микроэлементы выполняют строго определенные функции, являясь своеобразными катализаторами различных реакций в организме человека и животных, и дефицит этих элементов часто является причиной патологических процессов и заболеваний. В связи с этим поиск новых растительных источников макро- и микроэлементов является актуальным. Для исследования были выбраны различные части рябины обыкновенной (*Sorbus aucuparia* L.). Плоды этого растения широко используются в официальной медицине как поливитаминное профилактическое и лечебное средство при гипо- и авитаминозах [2], компонент противовоспалительных свечей [8, 9], антиоксидантного и капилляроукрепляющего средства «Элима» [1]. Применение рябины обыкновенной в народной медицине намного разнообразнее. Это витаминное, контрацептивное, мочегонное, кровоостанавливающее, потогонное, противодизентерийное, слабительное, желчегонное средство. Плоды и цветки рябины применяют при нарушениях обмена веществ, ревматизме, простуде, желудочно-кишечных заболеваниях; отвар ее коры помогает при гипертонии и др. [2-4, 6, 7].

Материалы и методы исследования. В качестве объектов исследования были выбраны листья рябины обыкновенной, собранные непосредственно после цветения и в фазу зрелых плодов, а также цветки и плоды этого растения. Все объекты заготовлены на территории Курской области в 2010 году. Определение элементного состава проводили полуколичественным методом испарения на спектрометре ДФС-8-1. Анализ проводили с помощью атласа спектральных линий и спектров стандартов с погрешностью не более 2% в пересчете на золу.

Результаты исследования и их обсуждение. Данные, полученные при исследовании содержания элементов в наземной части рябины обыкновенной, представлены в таблице. В различных частях этого растения обнаружено 28 элементов. Установлено, что листья *Sorbus aucuparia* L. с весны до осени содержат 4 макро- и 22 микроэлемента. В цветках присутствуют 4 и 20, а в плодах – 4 и 21 макро- и микроэлементов соответственно. Во всех исследованных образцах обнаружены макроэлементы (K, Ca, P, Na) и микроэлементы (Mg, Fe, B, Al, Si, Cu, Zn, Pb, Ag, Mo, V, Ba, Sr, Mn, Ni, Ti, V, Cr, Zr, Be). Как видно из таблицы, изученные части растения имеют схожий качественный элементный состав, однако количественное содержание минеральных веществ варьирует.

Выявлены следующие закономерности содержания эссенциальных и условно эссенциальных элементов: в листьях сразу после цветения – $K > Ca > P > Mg > Si > Na > Al > Fe = Ba > Sr > Mn > Ti = B > Zn > Cu > Ni > Zr = Cr = Pb > V = Sn > Mo = Co = Ga > Be > Ag$; в листьях в фазу плодоношения: – $K = Ca > P = Mg > Si > Na > Al > Fe = Mn > Ba > Sr > Ti > B > Zn > Cu > Ni > Zr = Cr = Pb > V > Sn > Mo = Co = Ga > Be > Ag$.



**Минеральный состав наземной части рябины обыкновенной
(% содержание в золе)**

№ п/п	Сырье				
	Элемент	Листья (сразу после цветения)	Листья (фаза зрелых плодов)	Цветы	Плоды
<i>Макроэлементы</i>					
1	Фосфор (P)	3,000	3,000	3,000	5,000
2	Калий (K)	30,00	20,00	30,00	30,00
3	Натрий (Na)	0,600	0,600	0,300	1,500
4	Кальций (Ca)	10,00	20,00	10,00	5,000
<i>Микроэлементы</i>					
1	Железо (Fe)	0,200	0,200	0,100	0,100
2	Магний (Mg)	2,000	3,00	3,000	2,000
3	Алюминий (Al)	0,300	0,500	0,20	0,200
4	Кремний (Si)	1,000	1,000	0,600	0,500
5	Медь (Cu)	0,005	0,002	0,006	0,005
6	Цинк (Zn)	0,006	0,006	0,008	0,006
7	Свинец (Pb)	0,001	0,001	0,002	0,0006
8	Серебро (Ag)	0,00001	0,00002	0,00001	0,00001
9	Молибден (Mo)	0,0001	0,0001	0,0001	0,0005
10	Барий (Ba)	0,200	0,150	0,100	0,020
11	Стронций (Sr)	0,150	0,10	0,060	0,030
12	Бор (B)	0,020	0,010	0,060	0,010
13	Марганец (Mn)	0,100	0,200	0,150	0,060
14	Никель (Ni)	0,001	0,002	0,001	0,0006
15	Титан (Ti)	0,020	0,030	0,020	0,020
16	Ванадий (V)	0,0003	0,0005	0,0003	0,0001
17	Хром (Cr)	0,001	0,001	0,001	0,0006
18	Цирконий (Zr)	0,0010	0,0010	0,0008	0,0010
19	Бериллий (Be)	0,00005	0,00005	0,00005	0,00005
20	Висмут (Bi)	-	-	-	0,0002
21	Олово (Sn)	0,0003	0,0003	0,0003	-
22	Галлий (Ga)	0,0001	0,0001	-	-
23	Литий (Li)	-	-	-	0,002
24	Кобальт (Co)	0,0001	0,0001	-	-
	Суммарно	43,6 %	43,6%	43,3%	41,5%

С весны до осени в листьях уменьшается содержание калия, меди, бария, стронция, бора; возрастает содержание кальция, магния, алюминия, марганца, никеля, титана, ванадия, серебра и остается неизменным содержание натрия, фосфора, железа, кремния, цинка, молибдена, хрома, циркония, олова, галлия, кобальта, бериллия и свинца. Обнаруженные в остальных объектах исследования элементы можно расположить в следующем порядке (по уменьшению содержания) $K > Ca > P = Mg > Si > Na > Al > Fe = Ba > Sr = B > Ti > Zn > Cu > Pb > Ni = Cr > Zr > V = Sn > Mo > Be > Ag$ (для цветков) и $K > Ca = P > Mg > Na > Si > Al > Fe > Mn > Sr > Ba = Ti > B > Zn > Cu > Li > Zr > Ni = Cr = Pb > Mo > Bi > V > Be > Ag$ (для плодов). В изучаемых видах сырья преобладают: среди макроэлементов – калий, среди микроэлементов – Mg, Si, Al, Ba, Mn, Sr, Ti. Содержание токсичных элементов не превышает предельно допустимые уровни в овощах и фруктах. [5]. Элементный состав листьев, плодов и цветков немного отличается. В листьях и цветах в отличие от плодов обнаружено олово, однако отсутствуют литий и висмут. Кроме того, в листьях содержатся галлий и кобальт. По содержанию магния, калия, натрия, фосфора, меди, цинка, титана листья на уступают плодам, а по содержанию железа, кальция, алюминия, кремния, марганца, никеля листья даже превосходят плоды, широко используемые как источник витаминов и микроэлементов. Все это указывает на перспективность дальнейших исследований листьев и цветов рябины обыкновенной в плане создания компонентов новых лекарственных и косметических препаратов.

Литература

1. Матющенко, Н. В. Стандартизация препарата «Элима» и его сырьевых источников, плодов рябины и листьев крапивы по содержанию флавоноидов [Текст] : автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02 / Н. В. Матющенко. – Пермь, 2005. – 24 с.
2. Растительные ресурсы СССР. Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hydrangeaceae – Nolaragaceae. – Л.: Наука, 1987. – 326 с.
3. Рябина обыкновенная. Справочно-информационный Интернет-портал «Экологическое образование детей и изучение природы», 2009. – Режим доступа: <http://www.ecosystema.ru/08nature/trees/57p.htm>, свободный. – Загл. с экрана.
4. Рябина обыкновенная. Справочно-информационный портал «Холинка». – Режим доступа: http://www.holinka.ru/index.php?option=com_content&task=view&id=30, свободный.-Заглавие с экрана.
5. Сан-Пин 2.3.2.1078-01. Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. – М., 2001.
6. Сафонова, И.А. Рябина обыкновенная. Химический состав и аспекты применения в медицине и народном хозяйстве / И.А. Сафонова, А.В. Ботов, О.В. Максименко // Труды 4-й международной научной конференции «Актуальные проблемы регионоведения», 28-29 дек. 2009 г.), Курск. обл. науч. краевед. об-во, Курск. ин-т социального образования (филиал) РГСУ, Курск. филиал Междунар. ассоциации исторической психологии. – Курск: ООО «Издательский дом VIP», 2009. – С.183-188.
7. Сафонова, И.А. Определение хлорофилла в некоторых растениях семейства Rosaceae / И.А. Сафонова, О.В. Максименко, А.В. Ботов // Труды 3-й международной научной конференции «Актуальные проблемы регионоведения», 8 декабря 2008 г. Ч. 2. – Курск, 2008. – С. 65-67.
8. Хавченко, Н.В.. Разработка и стандартизация суппозиторий с липидным комплексом жомы плодов рябины обыкновенной / Н.В.Хавченко, В.И. Деменко, В.А. Попков // «КИМЕ ВА Фармация». – Ташкент, 1994. – № 5-6. – С. 49-51.
9. Чахирова, А.А. Технологические исследования по разработке масляного экстракта из плодов рябины обыкновенной и перспективы его использования: автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.01. – Пятигорск, 2008. – 24 с.

STUDIYNG OF ELEMENTAL COMPOSITION OF (SORBUS AUCUPARIA L.) ABOVEGROUND PART

I.A. SAFONOVA
V.Y. YATCUK
N.V. KOSTEBELOV

Kursk State Medical University

e-mail: Isafon@yandex.ru

The elemental composition of the aboveground part of *Sorbus aucuparia* L. was studied. The estimation of 28 elements was performed by evaporation method in a spectrograph DSF-8-1. Pattern in the levels of accumulation of elements in different parts of the plant is established. The conclusion about the prospects of *Sorbus aucuparia* leaves and flowers using to create new medicines and cosmetics was made.

Key words: macroelements, microelements, *Sorbus aucuparia* L., elemental composition.



СПОСОБ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ТИЛИАНИНА

Д.И. ПИСАРЕВ, О.О. НОВИКОВ
О.С. ВОРОНКОВА, Н.А. ПИСАРЕВА

*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

В статье представлены результаты разработки простого и эффективного способа выделения тилианина и предложена его идентификация на основании применения УФ-спектроскопии с шифт-реактивами и масс-спектрометрии.

Ключевые слова: флавоноиды, тилианин, УФ-спектрофотометрия, масс-спектрофотометрия.

В настоящее время интерес, проявляемый к изучению флавоноидов специалистами разных направлений, существенно возрос. Причина этого заключается в их значительной биологической роли в живых системах и разнонаправленном фармакологическом действии. Для флавоноидов достоверно установлены такие фармакологические эффекты, как иммуностимулирующий, противоопухолевый, кардио-, гепато- и геропротекторный, антитромбоцитный, противоаллергический, противовирусный, гипохолестеринемический, капилляроукрепляющий, эстрогенный.

Доминирующее действие флавоноидов – антирадикальное, связанное с наличием в их структуре фенольных гидроксильных групп, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях радикального типа. В этих реакциях флавоноиды выступают в роли восстановителей – доноров электронов по отношению к какому-либо радикальному агенту, переходя в свою окисленную форму – флавоксильный радикал [3].

Флавоноиды – кристаллические вещества, ограниченно растворимые в спирте, этилацетате, не растворимы в хлороформе, дихлорэтане, бензоле, бензине, растворимы в разбавленных растворах едких щелочей. Флавоноидные гликозиды не растворимы в холодной и растворимы в горячей воде. Плохую растворимость в холодной воде используют для очистки флавоноидов от полярных веществ растворением в горячей воде и осаждением при охлаждении.

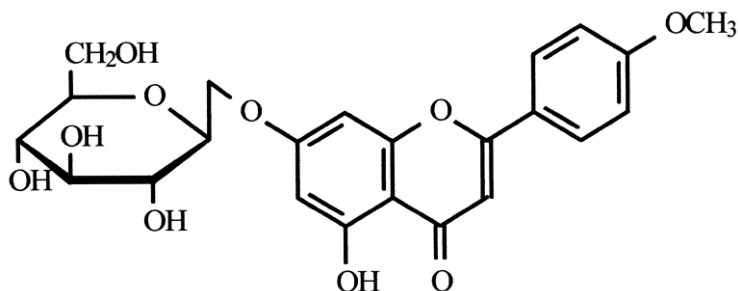
Методы выделения и очистки флавоноидных гликозидов основаны на их специфических свойствах, в основном на растворимости.

Существует множество методов выделения флавоноидов. К классическим методам можно отнести экстракцию этиловым спиртом или кипящей водой с последующей очисткой путём замены одного растворителя другим (спирта нагретой водой), экстракцией жидкости жидкостью (в качестве экстрагента чаще всего используют этилацетат или его смесь со спиртом), а также колоночной хроматографией на полиамидном сорбенте с избирательным элюированием сопутствующих и действующих веществ [5].

У таких методов выделения и очистки имеются достоинства и недостатки. Основным недостатком их является многостадийность, длительность по времени выделения, использование токсичных органических растворителей (этилацетат, хлороформ, диэтиловый эфир).

Данная разработка посвящена способу выделения и установления строения тилианина.

Тилианин – акацетин-7-гликозид, флавоноид, у которого выявлен антиатерогенный эффект за счет уменьшения ЛПНП, а также способность ингибировать опухоли эндотелиальных клеток пупочной вены человека [6].



Структура тилианина

В литературе описан способ выделения тилианина из травы многоколосника морщинистого, недостаток которого заключается в многостадийности и использовании токсичных растворителей.

Цель работы – предложить малостадийный, быстрый, безопасный способ выделения тилианина и установления его строения.

В качестве объекта для выделения тилианина была использована трава лофанта анисового.

100,0 г воздушно-сухого сырья лофанта анисового экстрагировали спиртом этиловым 70% в аппарате «Сокслет» до полного истощения сырья. Полученное извлечение в количестве 250 мл упаривали досуха под вакуумом на ротационном испарителе. Остаток в колбе растворяли в 100 мл горячего насыщенного водного раствора калия хлорида (KCl) ($t \sim 80 \text{ }^\circ\text{C}$), добавляя его небольшими порциями. Промывные воды быстро фильтровали через бумажный фильтр в горячем виде под вакуумом с помощью колбы Бунзена и воронки Бюхнера. Полученный водный раствор охлаждали в холодильнике. По истечении суток из водного извлечения наблюдалось выпадение обильного жёлтого-коричневого осадка, который отделяли центрифугированием (3000 об/мин, 10 мин). Осадок сушили в течение суток в эксикаторе над безводным кальция хлоридом. Выход полученного продукта составил 0,7 г, который представлял собой коричневато-жёлтый аморфный порошок без запаха, растворимый в спирте этиловом, нерастворимый в воде, хлороформе и эфире.

Для очистки продукта его подвергали перекристаллизации. Для этого его помещали в колбу ёмкостью 100 мл, колбу присоединяли к обратному холодильнику и растворяли при нагревании в минимальном количестве спирта этилового 96%. Полученный раствор доводили до кипения – до полного растворения продукта и небольшими порциями через обратный холодильник добавляли хлороформ до тех пор, пока осадок, появляющийся в месте падения капли хлороформа, ещё растворялся. Полученный раствор доводили до кипения и фильтровали горячим. Колбу с фильтратом закрывали и оставляли для охлаждения в холодильнике. Спустя сутки из фильтрата выпадал жёлтый кристаллический осадок. Надосадочную жидкость декантировали, а осадок высушивали в эксикаторе над кальция хлоридом безводным.

Выход выделенного вещества из 100,0 г травы лофанта анисового – 0,5 г. Оно представляло собой жёлтый кристаллический порошок, хорошо растворимый в спирте этиловом, мало растворимый в воде, нерастворимый в эфире и хлороформе.

Для отнесения выделенного вещества к группе флавоноидов использовали качественные реакции и результаты хроматографирования.

Анализируемое вещество давало положительную цианидиновую пробу по Синоду и отрицательную по Брианту, что свидетельствует о его гликозидной природе.

Хроматографирование осуществляли в тонком слое силикагеля на пластинках «Сорбфил» в системе этилацетат – уксусная кислота – муравьиная кислота – вода (10:1:1:2,6). Хроматограмму просматривали в УФ-свете и проявляли хромогенными реактивами: парами 25% аммония гидроксида, 5% спиртовым раствором алюминия хлорида, 10% водным раствором натрия карбоната (результаты приведены в таблице).

**Результаты качественных реакций анализируемого флавоноида
на хроматограмме в тонком слое силикагеля**

Окраска пятна при проявлении реактивами			
УФ-свет	УФ-свет + NH ₃	AlCl ₃ 5% спиртовый р-р в УФ-свете	5% водный р-р натрия карбоната
Тёмно-жёлтая	Ярко- жёлтая	Ярко-жёлтая	Жёлтая

Для определения структуры выделенного вещества нами использован подход, заключающийся в сочетании двух методов: УФ-спектрофотометрии и масс-спектрометрии, что позволяет с предельной точностью экспрессно идентифицировать выделенное соединение.

Для установления расположения гидроксильных групп в структуре соединения использовали шифт-реактивы.

Используя УФ-спектрофотометрию с шифт-реактивами, можно добиться выявления определённых диагностических признаков в структуре исследуемого соединения, в частности, расположение гидроксильных групп и их гликозидирование. После добавления шифт-реактива в исходном спектре происходит сдвиг полос поглощения, и по характеру этих изменений делается вывод о наличии в соединении определённых структурных фрагментов [1, 2]. Привлечение масс-спектрометрии информирует о молярной массе вещества, а совпадение характера фрагментации неизвестного вещества и соединения предполагаемой структуры позволяет надёжно охарактеризовать строение соединения в целом [4].

В УФ-спектре вещества наблюдалось два максимума поглощения при $\lambda = 268$ и 322 нм, что свидетельствует о флавоновой природе вещества (рис. 1).

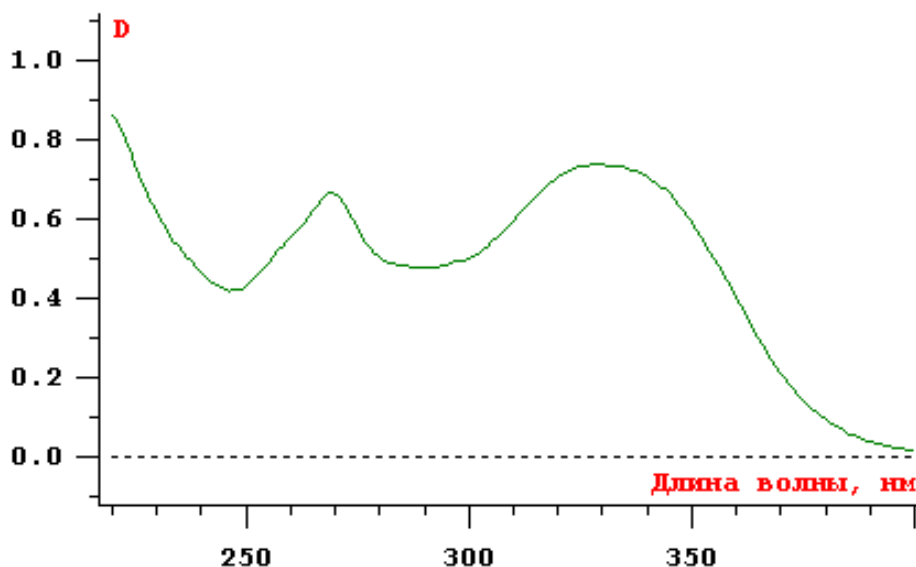


Рис. 1. УФ-спектр анализируемого вещества

При использовании шифт-пробы с алюминия хлоридом наблюдался батохромный сдвиг обеих полос поглощения, который понижался при добавлении кислоты хлористоводородной, что свидетельствует о свободной гидроксильной группе в 5 положении (рис. 2 и 3).

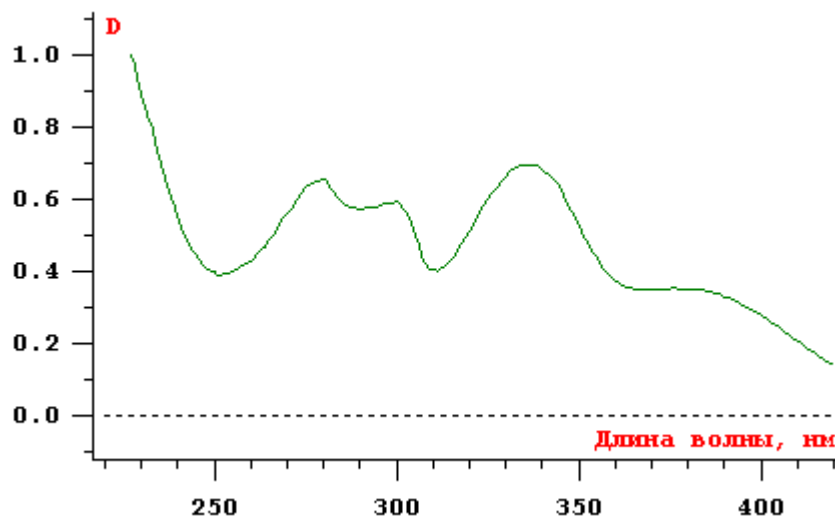


Рис. 2. УФ-спектр анализируемого вещества с использованием шифт-реактива алюминия хлорида

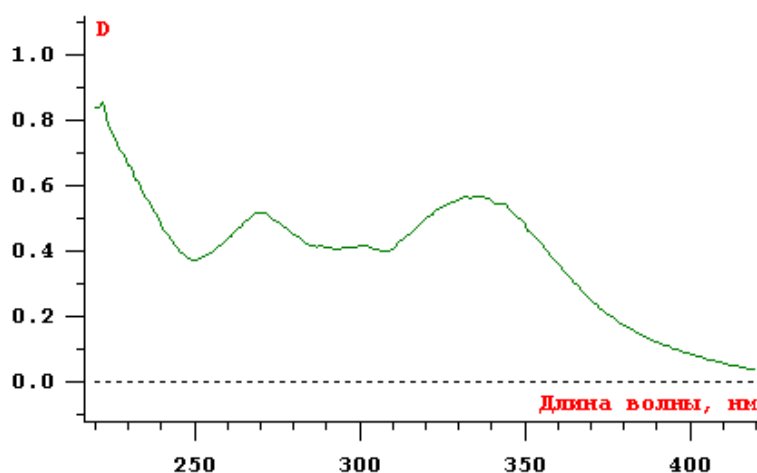


Рис. 3. УФ-спектр анализируемого вещества с шифт-реактивом алюминия хлоридом в присутствии кислоты хлористоводородной концентрированной

При добавлении ацетата натрия не наблюдалось батохромии первой полосы поглощения, что свидетельствует об отсутствии свободной гидроксильной группы в положении 7.

Добавление этилата натрия вызывало снижение интенсивности I полосы поглощения со сдвигом, что свидетельствует о замещённой 4'-ОН группе (рис. 4):

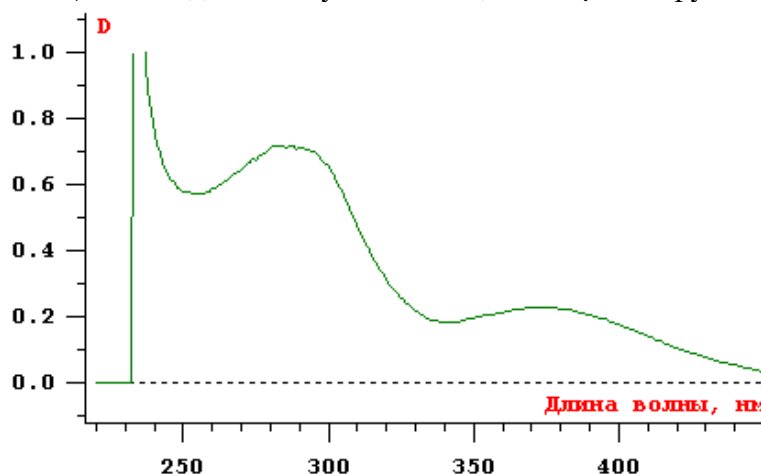


Рис. 4. УФ-спектр анализируемого вещества с этилатом натрия

Масс-спектр выделенного вещества регистрировали на аппарате Autoflex II, с использованием в качестве матрицы α -цианокоричной кислоты. В масс-спектре обеих изучаемых веществ наблюдался один наиболее интенсивный пик иона m/z иона = 285,369, соответствующий агликону акацетину, и менее выраженный пик иона m/z = 447,269, отвечающий его гликозидной структуре (рис. 5).

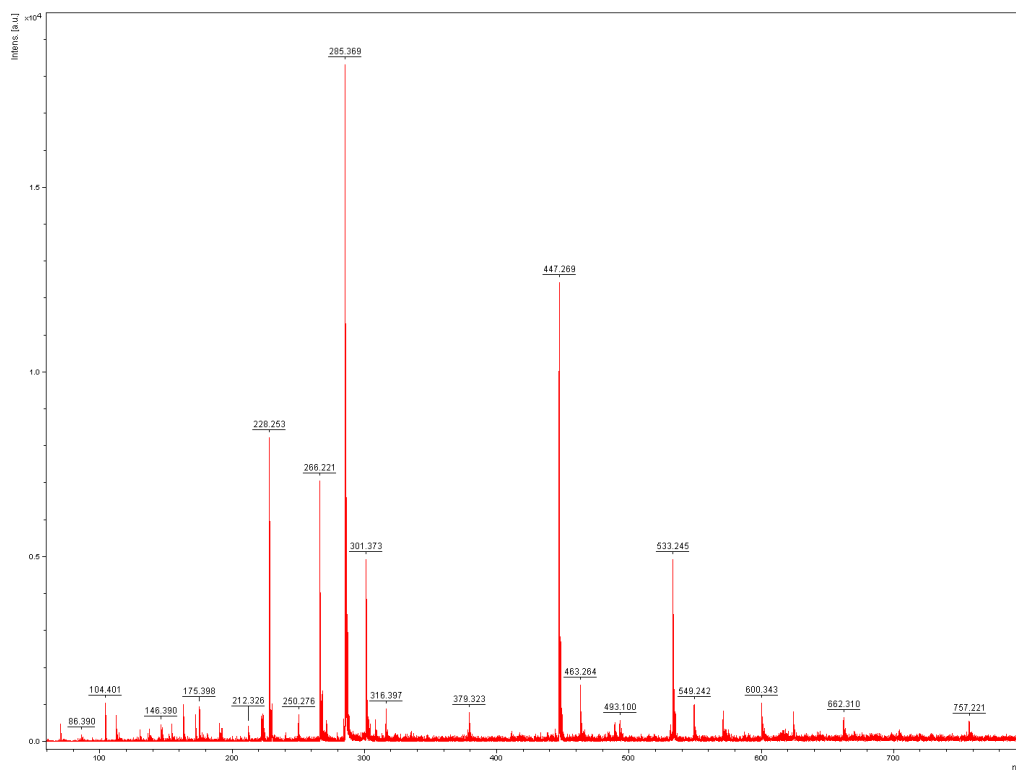


Рис. 5. Масс-спектр выделенного вещества

Для идентификации сахара, находящегося в 7-м положении, необходимо было провести кислотный гидролиз. Для этого 0,1 г анализируемого вещества помещали в колбу для гидролиза, заливали смесью CH_3COOH – 50% H_2SO_4 (соотношение 1:1) присоединяли к обратному холодильнику и нагревали на кипящей водяной бане в течение 2 часов. После охлаждения выпавший осадок отделяли фильтрованием. Фильтрат нейтрализовывали бария карбонатом до нейтральной реакции среды по лакмусу и хроматографировали в тонком слое силикагеля в системе растворителей: этилацетат – уксусная кислота – муравьиная кислота – вода (10:1:1:2,6) со свидетелями нейтральных сахаров. Проявляли путём нагревания в сушильном шкафу при температуре 110 °С в течение 10 минут. Сахара проявлялись в виде коричневых пятен. Таким образом была идентифицирована глюкоза.

По совокупности результатов исследования можно утверждать, что выделенное нами вещество – акацетин-7-глюкозид.

В результате исследований предложен простой, эффективный способ выделения тилианина и его идентификация на основании применения УФ-спектроскопии с шифт-реактивами и масс-спектрометрии.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., государственный контракт № П425 от 12 мая 2010 г. «Разработка методик выделения и определения полифенольных соединений классов флавоноидов, каротиноидов и антоцианов и технологии создания лекарственных форм на их основе».

Литература

1. Клышев, Л.К. Флавоноиды растений (распространение, физико-химические свойства, методы исследования) / Клышев Л.К., Бандюкова В.А., Алюкина Л.С. – Алма-Ата: Наука, 1978. – 220 с.
Корулькин, Д. Ю. Природные флавоноиды / Д.Ю. Корулькин, Ж.А. Абилов, Р.А. Музыкакина, Г.А. Толстиков; Рос. Акад. Наук, Сиб. отд., Новосибир. Ин-т органической химии. – Новосибирск: Академическое изд-во «Тео», 2007. – 232 с.

2. Органическая химия: учеб. для вузов: в 2 кн. Кн 2: Специальный курс / Н.А. Тюкавкина, С.Э. Зурабян, В.Л. Белобородов и др.: под ред. Н.А. Тюкавкиной. – М.: Дрофа, 2008. – 592 с.
3. Отто, М. Современные методы аналитической химии. Изд. 2-е, испр. – М.: Техносфера, 2006. – 416 с.
4. Химия и технология фитопрепаратов: учеб. пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭО-ТАР-Медиа, 2009. – 560 с.
5. Honga, J.-J. Inhibition of cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression; possible mechanism for anti-atherogenic effect of *Agastache rugosa* / J.-J. Honga, J.-H. Choia, S.-R. Ohb et al. // FEBS Letters. – 2001. – Vol.495. – P. 142-147.

METHOD OF SELECTION AND IDENTIFICATION OF TILIANIN

D.I. PISAREV, O.O. NOVIKOV
O.S. VORONKOVA, N.A. PISAREVA

Belgorod National Research University

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

The paper presents results of a simple and effective way to highlight tilianin and offered his identification on the basis of UV spectroscopy with shift-reagents and mass spectrometry.

Key words: flavonoids, tilianin, UV spectrophotometry, mass spectrophotometry.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ОБНАРУЖЕНИЯ РЕЗВЕРАТРОЛА В ОБЪЕКТАХ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

О.О. НОВИКОВ
Д.И. ПИСАРЕВ
М.Ю. НОВИКОВА
Г.В. ВАСИЛЬЕВ
О.А. ВАНХИН

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail novikov@bsu.edu.ru

В статье представлены результаты разработки методики обнаружения резвератрола в объектах растительного происхождения с помощью хромато-масс-спектрометрии. Метод имеет такие преимущества, как экспрессность определения, отсутствие или минимальная пробоподготовка.

Ключевые слова: резвератрол, хромато-масс-спектрометрия.

Большинство из химических соединений винограда и вина обладают определенной биологической и фармакологической активностью, например, содержащиеся в красном вине полифенолы (флавоноиды: катехины, антоцианы, лейкоантоцианидины, флавоны, флавонолы и др.) в целом значительно снижают вероятность тромбообразования. Кроме того, у них зарегистрировано выраженное антиоксидантное действие [1].

Однако обилие флавоноидов в красном вине не полностью объясняет факт так называемого «французского парадокса», т. е. существуют продукты с большим содержанием природных антиоксидантов (в т. ч. флавоноидов).

В начале 90-х появился термин «французский парадокс» в связи с тем, что во Франции, где население отдает предпочтение продуктам с высоким содержанием жиров, уровень сердечно-сосудистых заболеваний намного ниже, чем в других развитых странах. В результате длительных исследований было установлено, что благотворное влияние на сердечно-сосудистую систему человека оказывает красное вино, а именно в первую очередь резвератрол.

Резвератрол – фитоалексин полифенольной природы, обладающий широким спектром биологической активности. Для него, как и многих полифенолов природного происхождения (флавоноиды, антоцианы и др.), характерно ярко выраженное антиоксидантное действие, а также противоопухолевая, антиатерогенная и другие виды активности [2-6].

Резвератрол содержится в некоторых растительных объектах, в частности: кожуре винограда, арахисе, хмеле. Для идентификации резвератрола в данных объектах используют разнообразные методы. Основными их недостатками являются длительная сложная пробоподготовка, сложное аппаратное оформление, большая продолжительность определения. Поэтому разработка оптимальных методов идентификации резвератрола в объектах растительного происхождения является актуальной проблемой.

В связи с этим целью настоящего исследования явилась разработка оптимального метода идентификации резвератрола в объектах растительного происхождения.

Для определения содержания транс-резвератрола в объектах растительного происхождения использовали пищевой концентрат полифенолов винограда – «Эноант». «Эноант» использовали в чистом виде, без разведений. Обнаружение проводили с помощью обращенно-фазной высокоэффективной хроматографии на приборе *Agilent Technologies 1260 Infinity* в изократическом режиме.

Условия хроматографического разделения: объем вводимой пробы – 3 μ л, колонка: ZORBAX Eclipse XDB – C18 600 Var 2.1 \times 100 мм, 1,8 Мм, подвижная фаза – 15% раствор уксусной кислоты в спирте этиловом 96% – ацетонитрил = 90 – 10, скорость подачи подвижной фазы – 0,150 см³/мин, температура колонки – 25 °С.

Детекция осуществлялась с помощью диодно-матричной лампы: $\lambda = 220 - 600$ нм, регистрацию сигналов проводили при длине волны $\lambda = 307$ нм.

Также использован масс-спектрометрический детектор. Ионизация осуществлялась комбинированным использованием электроспрейной и химической ионизации при атмосферном давлении – ESI+APCI в режиме селективного сканирования.

Таким образом, в эноанте найден 41 компонент (рис. 1), среди которых транс-резвератол (время удерживания 5.412.) (рис. 2), подлинность которого устанавливали по физико-химическим характеристикам, а именно он имеет характерный максимум поглощения при $\lambda = 307$ и пик молекулярного иона $m/z = 228$. Концентрация резвератрола на хроматограмме 0,65%.

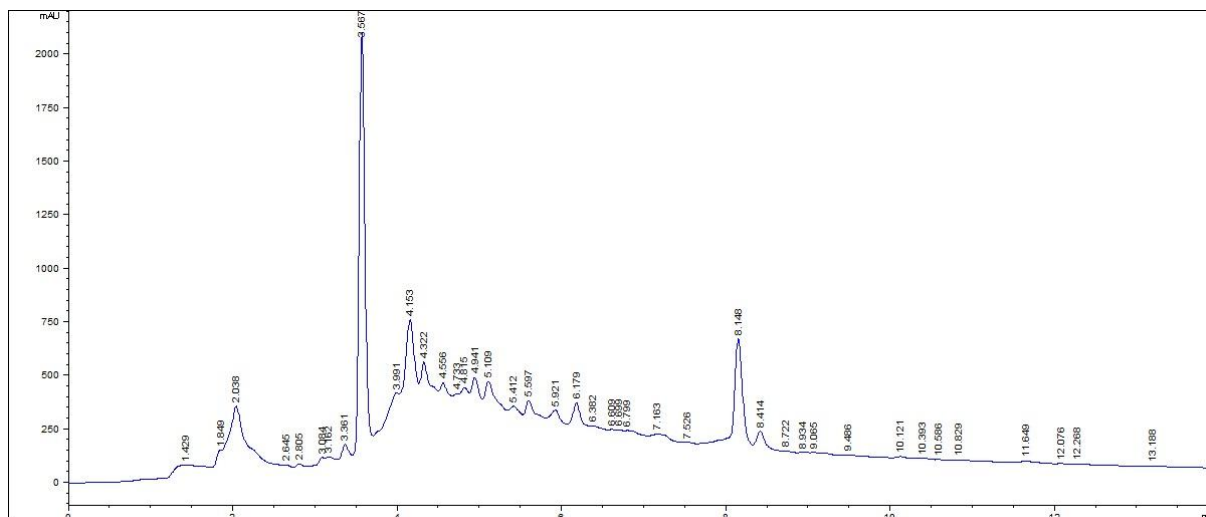


Рис. 1. Хроматограмма пищевого концентрата полифенолов винограда «Эноант»

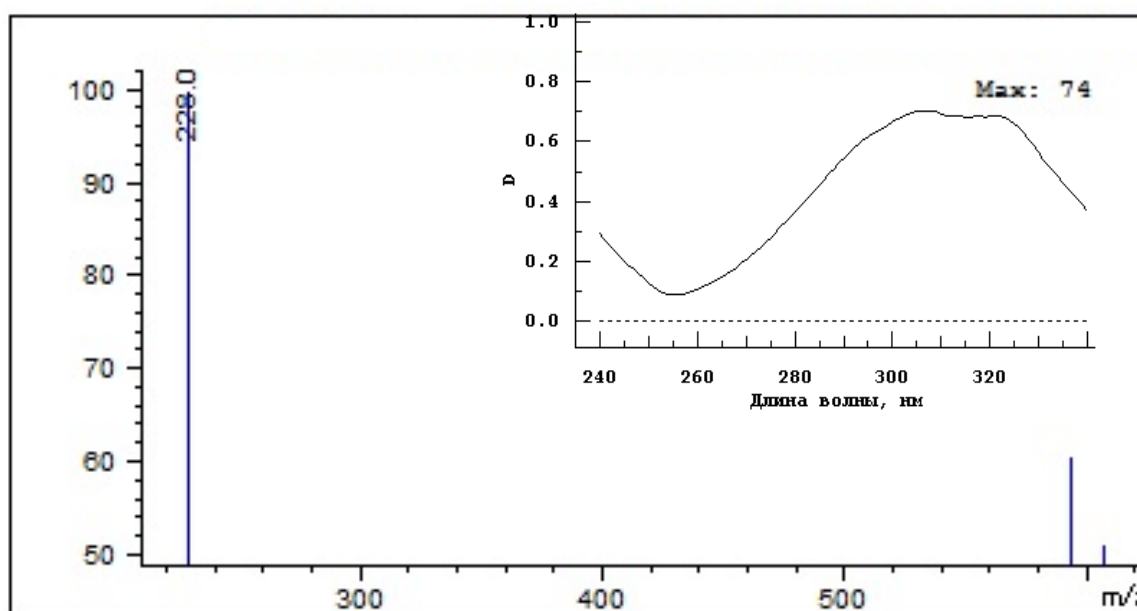


Рис. 2. Масс- и УФ-спектры резвератрола

Таким образом, в ходе исследования подобраны условия для обнаружения транс-резвератрола в объектах растительного происхождения с помощью хромато-масс-спектрометрии. Метод имеет такие преимущества, как экспрессность определения (время анализа 10 – 12 минут), отсутствие или минимальная пробоподготовка. Также для целей идентификации резвератрола не требуется использование стандартного образца, поскольку определяемые константы в методе хромато-масс-спектрометрии – УФ- и масс-спектры позволяют надёжно охарактеризовать подлинность вещества.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг.,



государственный контракт № П425 от 12 мая 2010 г. «Разработка методик выделения и определения полифенольных соединений классов флавоноидов, каротиноидов и антоцианов и технологии создания лекарственных форм на их основе».

Литература

1. Кишковский, З.Н. Химия вина / З.Н. Кишковский, И.М. Скуршин. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – 312 с.
2. Bradamante, S. Cardiovascular protective effects of resveratrol / S. Bradamante, L. Barenghi, A. Villa // *Cardiovasc. Drug, Rev.* – 2004. – Vol.22(3). – P. 169-188.
3. Dong, H.H. New progression in the study of protective properties of resveratrol in atherosclerosis / H.H.Dong, H.L. Ren // *Bratisl. Lek. Listy.* – 2004. – Vol.105(5-6). – P. 225-229.
4. Olas, B. Resveratrol protects against peroxynitrite-induced thiol oxidation in blood platelets / B. Olas, P. Nowak, B. Wachowicz // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2004. – Vol.9(4A). – P. 577-587.
5. Olas, B. Resveratrol reduces oxidative stress induced by platinum compounds in blood platelets / B. Olas, B. Wachowicz // *Gen. Physiol. Biophys.* – 2004. – Vol. 23(3). – P. 315-326.
6. Onuki, J. Inhibition of 5-aminolevulinic acid-induced DNA damage by melatonin, N-acetyl-N-formyl-5-methoxykynuramine, quercetin or resveratrol / J. Onuki, E.A. Almeida, M.H. Medeiros // *J. Pineal Res.* – 2005. – Vol. 38(2). – P. 107-115.

USE OF CHROMATO-MASS SPECTROMETRY IN FINDING OF RESVERATROL IN OBJECTS OF VEGETABLE ORIGIN

O.O. NOVIKOV
D.I. PISAREV
M.YU. NOVIKOVA
G.V. VASIL'EV
O.A. VANKHIN

Belgorod National Research University

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

The paper presents results of development of detection techniques of resveratrol in objects of vegetable origin by means of chromat-mass spectrometry. The method has the advantages, rapid determination, no or minimal sample preparation

Keywords: resveratrol, chromat-mass spectrometry

ИЗУЧЕНИЕ СОСТАВА АНТОЦИАНОВ СМОРОДИНЫ ЧЁРНОЙ – *RIBES NIGRUM L.* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МАТРИЧНО-АКТИВИРОВАННОЙ ЛАЗЕРНОЙ ДЕСОРБЦИОННОЙ ИОНИЗАЦИИ (MALDI)

**Д.И. ПИСАРЕВ, О.О. НОВИКОВ
Н.А. ПИСАРЕВА, М.Д. БЕЗМЕНОВА
Н.В. АВТИНА, В.Н. СОРОКОПУДОВ**

*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

В результате анализа полученных масс-спектров суммы антоцианов смородины чёрной удалось обнаружить наличие четырёх гликозидов антоцианов, агликонами которых являются цианидин и дельфинидин. Установлено, что методом *MALDI* можно устанавливать состав смесей антоцианов в объектах растительного происхождения без их предварительного разделения.

Ключевые слова: антоцианы, смородина черная, *MALDI*.

Метод *MALDI-MS* (*matrix assisted laser desorption/ionization*) – матрично активированная лазерная десорбция / ионизация – относится к методам десорбционной ионизации, то есть в основе лежит идея быстрого нагрева образца, способствующая тому, что при высоких температурах константа скорости испарения выше константы скорости разложения. При этом в процессе десорбции/ионизации участвует специальное вещество – матрица.

MALDI – один из наиболее передовых методов масс-спектрометрии, позволяющий определять, в том числе и большие молекулы, такие как белки. В методе *MALDI* исследуемый образец смешивают с матрицей и наносят на подложку из нержавеющей стали – мишень [3].

Метод *MALDI* нас привлёк по причине, того, что имеет преимущества перед другими методами масс-спектрометрии, а именно:

- позволяет анализировать смеси веществ без их предварительного разделения;
- ионизации подвергается непосредственно твёрдая или жидкая проба без её предварительного испарения;
- поскольку с помощью *MALDI* осуществляется мягкая ионизация, то в спектрах фрагментации не наблюдается или она мало выражена, поэтому масс-спектры крайне просты и в предельном случае состоят только из специфического молекулярного пика иона;
- обычная чувствительность *MALDI* порядка нескольких фемтомоль (10^{-15} моля).

В качестве объекта исследования выбраны антоцианы смородины чёрной. Известно, что основными антоцианами плодов черной смородины являются гликозиды цианидина и дельфинидина [1]. Поэтому целью настоящего исследования явилось определение возможности использования метода *MALDI* для установления состава антоцианов смородины черной без предварительного разделения их суммы.

Для реализации цели поставлены следующие задачи:

1. Выделить сумму антоцианов смородины чёрной.
2. Проанализировать выделенную сумму с помощью метода *MALDI*.
3. Соотнести полученные результаты с литературными данными.

Для выделения суммы антоцианов использовали способ выделения антоцианов с помощью сорбции на тальке [6]. Для этого 10,0 г свежих плодов ирги ольхолистной экстрагировали 1% раствором кислоты хлористоводородной в 96% спирте этиловом. Полученное извлечение сгущали под вакуумом на ротационном испарителе ИР-1 до минимального объёма. Для получения чистой суммы антоцианов извлечённую фракцию подвергли избирательному сорбированию на тальке. Для этого её смешивали с достаточным количеством талька до образования кашицы. Полученную массу переносили в воронку Бюхнера с бумажным фильтром. Воронку присоединяли к колбе Бунзена с водоструйным насосом и под вакуумом промывали полученную массу водой очищенной до того момента, пока промывные воды не стали прозрачными. Промывные

воды удаляли из колбы Бунзена, а из оставшейся на фильтре массы проводили десорбцию антоцианов 1% раствором кислоты хлороводородной в 96% спирте этиловом. Вымывали до появления бесцветных промывных вод. Полученный раствор упаривали под вакуумом на ротационном испарителе ИР-1.

Полученную сумму далее подвергали масс-спектрометрическому анализу. Регистрацию масс-спектров проводили на приборе масс-спектрометр «Autoflex II» «MALDI TOF/TOF» фирмы Bruker Daltonics производства Германии. Анализируемую пробу в количестве 0,5 μl с помощью дозатора 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 полярности (*reflective positive*). При масс-спектрометрическом исследовании получен спектр, на котором наблюдались интенсивные пики ионов с зарядом $m/z = 287,321$, соответствующий пику агликона и по молекулярной массе соответствующий цианидину и $m/z = 303,311$, отвечающий пику агликона дельфинидина (рис. 1).

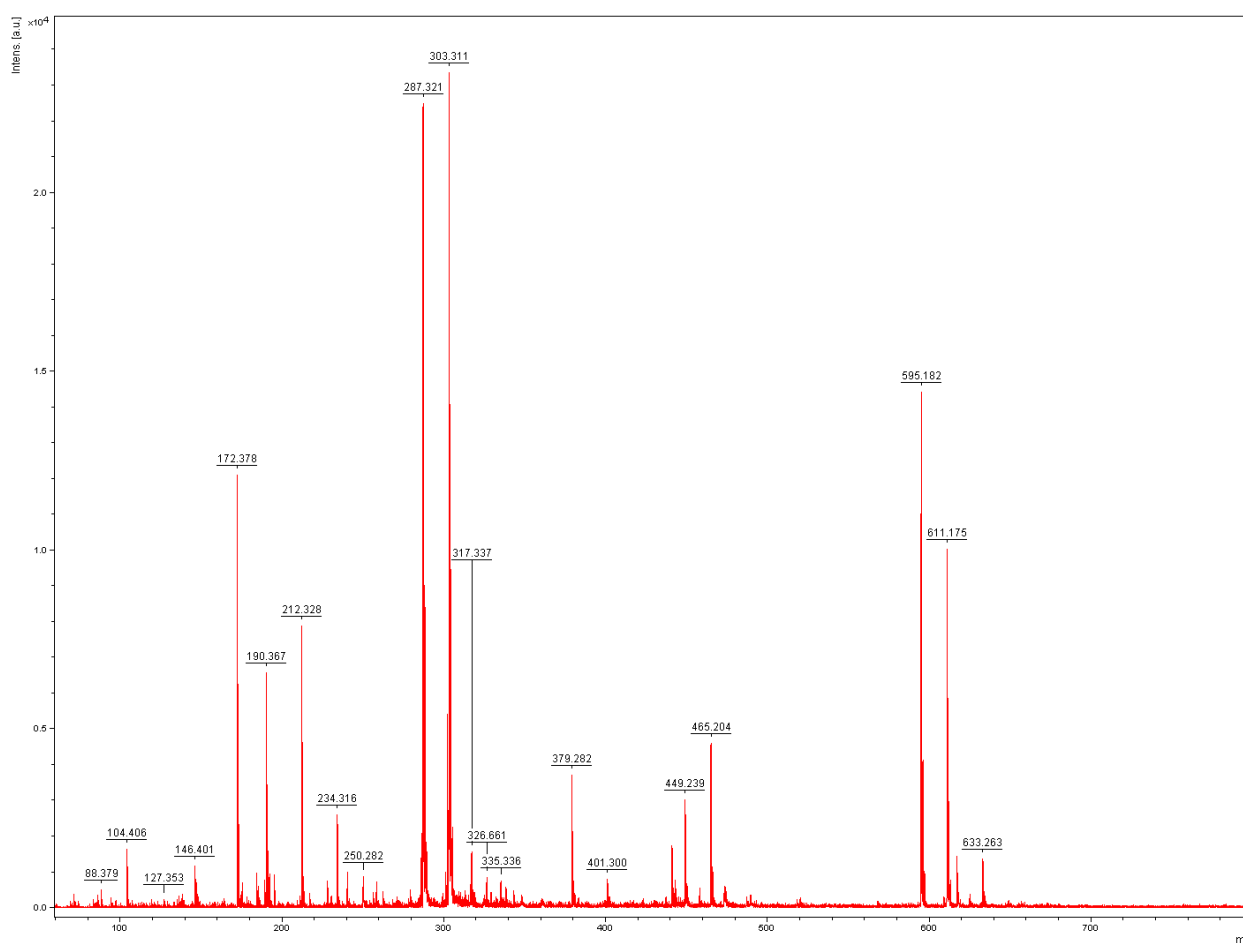


Рис. 1. Масс-спектр суммы антоцианов смородины черной – *Ribes nigrum L.*

Наличие пика иона с зарядом $m/z = 449,514$ свидетельствует о присутствии 3-глюкозида цианидина. Пик иона с зарядом $m/z = 595,204$ указывает на наличие цианидин-3-рутинозида. Наличие пика иона низкой интенсивности с зарядом $m/z = 465,204$ свидетельствует о наличии дельфинидина-3-глюкозида, пика иона с зарядом $m/z = 611,175$ и указывает на наличие дигликозида дельфинидина (рис. 2)

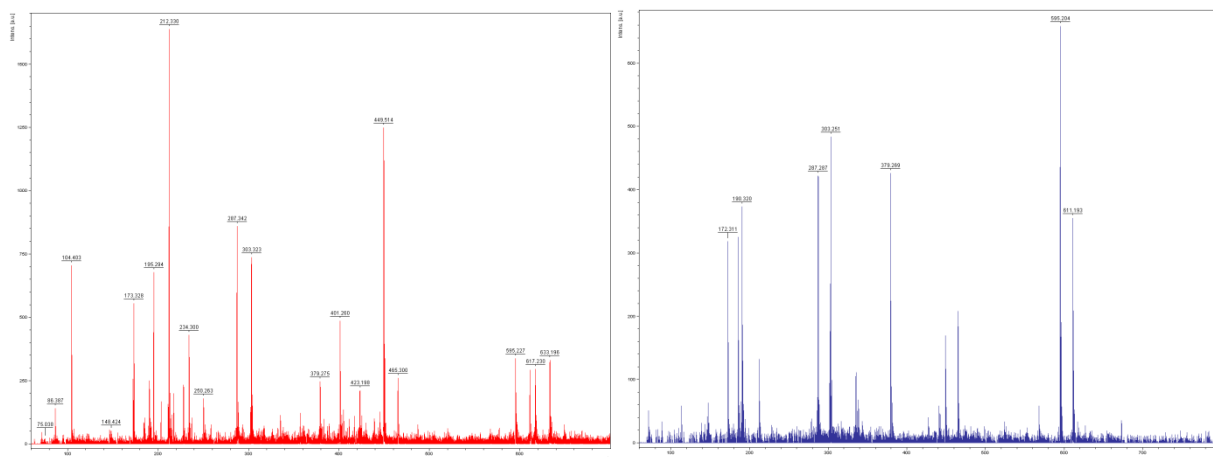


Рис. 2. Масс-спектр гликозидов антоцианов смородины черной – *Ribes nigrum L.*

Таким образом, в результате анализа полученных масс-спектров суммы антоцианов смородины чёрной удалось обнаружить наличие четырёх гликозидов антоцианов, агликонами которых являются цианидин и дельфинидин.

Для оценки правильности полученных результатов нами проведено сравнение полученных сведений с имеющимися в литературе данными по составу антоцианов плодов чёрной смородины. В результате найдено, что чёрная смородина содержит дельфинидин-3-глюкозид (М.м. = 465), дельфинидин-3-рутинозид (М.м. = 611), цианидин-3-глюкозид (М.м. = 449) и цианидин-3-рутинозид (М.м. = 595) [2].

В результате проведённого исследования установлено, что методом *MALDI* можно устанавливать состав смесей антоцианов в объектах растительного происхождения без их предварительного разделения.

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., государственный контракт № П425 от 12 мая 2010 г. «Разработка методик выделения и определения полифенольных соединений классов флавоноидов, каротиноидов и антоцианов и технологии создания лекарственных форм на их основе».

Литература

1. Демина, Т.Г. Антоцианы некоторых сортов смородины черной /Т.Г.Демина// Биологически активные соединения растений сибирской флоры. – Новосибирск: Наука, 1974. – С. 23-26.
2. Методы анализа минорных биологически активных веществ пищи / под ред. В.А. Тутельяна и К.И. Эллера. – М.: Изд-во «Династия», 2010. – 160 с.
3. Отто, М. Современные методы аналитической химии. – Изд. 2-е, испр. / М. Отто. – М.: Техносфера, 2006. – 416 с.

STUDY OF A BLACK CURRANT (*RIBES NIGRUM L.*) ANTHOCYANINS USING MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION IONIZATION (MALDI)

**D.I. PISAREV, O.O. NOVIKOV
N.A. PISAREVA, M.D. BEZMENOVA
N.V. AVTINA, V.N. SOROKOPUDOV**

Belgorod National Research University

e-mail: pisarev@bsu.edu.ru

An analysis of the obtained mass spectra of the sum of black currant anthocyanins could detect the presence of four glycosides anthocyanins, which aglycones are cyanidin and delphinidin. It is established that can be installed by MALDI of mixtures of anthocyanins in objects of vegetable origin without their prior separation.

Key words: anthocyanins, black currant, MALDI

ПЛОДЫ *ROSA SPINOSISSIMA* – ЦЕННЫЙ МАТЕРИАЛ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ НАПИТКОВ С ВЫСОКИМ АНТИОКСИДАНТНЫМ ПОТЕНЦИАЛОМ

С.Л. МАКАРЕВИЧ¹
А.Н. ЧУЛКОВ¹
В.И. ДЕЙНЕКА¹
М.Ю. ТРЕТЬЯКОВ¹
Л.А. ДЕЙНЕКА¹
В.И. ШАТРОВСКАЯ²

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

² Ботанический сад Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина

В настоящей работе в качестве альтернативы сушеным бутонам суданской розы, *Hibiscus sabdariffa* (чая «Каркадэ»), для приготовления «травяного чая» предлагаются плоды шиповника с черными плодами, *Rosa spinosissima*. Установлено, что содержание антоцианов в плодах шиповника составило 731 мг на 100 г свежих плодов, что лишь немногим меньше этого показателя для «Каркадэ» - 770 мг / 100 г. С использованием прибора «Цвет Яуза О1-АА» сопоставлена антиоксидантная активность напитков, которая для шиповника оказалась примерно в полтора раза выше, чем для «Каркадэ», - 90 и 60 ммоль электронов на 100 г (в пересчете на исходный растительный материал), соответственно.

Ключевые слова: антоцианы, *Hibiscus sabdariffa*, *Rosa spinosissima*, ВЭЖХ, антиоксидантная активность, «Цвет Яуза О1-АА».

Введение. Собранные в период полного созревания плоды шиповника (*Fructus rosae*) были включены в официальную фармакопею СССР как сырье для приготовления холосаса, каротолена и сиропов [1], при этом контролю (кроме внешних параметров) подлежит содержание аскорбиновой кислоты и суммы органических кислот. В то же время химический состав плодов шиповника разнообразен [2], что обеспечивает им высокую биологическую активность. В народной медицине применяют чай из плодов шиповника, напар и водный настой, в которые должны переходить водорастворимые биологически активные соединения, основными из которых являются аскорбиновая кислота, по содержанию которой (1200 ÷ 1500 мг %, [2]) плоды шиповника уступают лишь плодам ацеролы [3], иные водорастворимые витамины, включая флавоноиды, и ряд других соединений. Любопытно, что для приготовления холосаса, обладающего желчегонным и общеукрепляющим действием, используют сгущенный водный экстракт низковитаминных сортов и видов шиповника.

С другой стороны, для приготовления чая «Каркадэ», популярного в последнее время, используются высушенные бутоны цветков гибискуса *Hibiscus sabdariffa*. По фармакологическому действию такой напиток напоминает чай из плодов шиповника [4]. Но если в обычных плодах шиповника красного цвета основные пигменты – каротиноиды (ликопин, β-каротин и др.) – не растворимы в воде при настаивании, то чай «Каркадэ» характеризуется интенсивной красной окраской, обусловленной экстракцией водорастворимых антиоксидантов – антоцианов. Содержание витамина С в высушенных бутонах гибискуса (140 мг/100 г) на порядок меньше, чем в шиповнике, но уровень накопления антоцианов, представленных в основном 3-самбубиозидами дельфинидина и цианидина, заметно выше, чем аскорбиновой кислоты (620 мг/ 100 г [5]), поэтому антиоксидантные свойства напитка обусловлены именно антоцианами.

Однако кроме разнообразных «обычных» видов и сортов шиповника с характерной для ликопина красной окраской плодов, известны растения, плоды которых имеют почти черный цвет [6], обусловленный накоплением антоцианов, идентифицированных как 3- глюкозиды и 3,5-диглюкозиды дельфинидина и цианидина. При довольно высоком уровне накопления витамина С (668 мг/ 100 г) в плодах вида *R. spinosissima*, например, выращенных в Польше [7], найдено значительное содержание суммы антоцианов – 544 мг/ 100 г, лишь немногим уступающих по этому показателю бутонам гибискуса. Поэтому чай из такого шиповника может обладать более высокой антиоксидантной активностью по сравнению с напитком из каркаде.

Данная работа посвящена исследованию некоторых свойств плодов шиповника *R. spinosissima* и приготовленного из него напитка в сравнении с чаем «Каркадэ».

Экспериментальная часть

Плоды шиповника *R. spinosissima* были собраны в сентябре 2011 года в ботаническом саду Харьковского государственного университета. Пакетированный чай «Каркадэ» был приобретен в розничной торговле.

Экстракты для определения антоцианов получали настаиванием растительного материала в 0.1 М водном растворе HCl. Для количественного определения использовали дифференциальный спектрофотометрический метод с пересчетом на цианидин-3-глюкозид [8]. Перед качественным анализом антоциановых комплексов экстракты очищали методом твердофазной экстракции на патронах ДИАПАК C18. ВЭЖХ определение антоцианов проводили как указано в работе [9]. Масс-спектры записывали на квадрупольном масс-спектрометре Agilent 6130 LC/MS в режиме ESI (ионизация распылением в электрическом поле) с позитивным режимом сканирования в диапазоне масс 250-1200. Напряжение на фрагментаторе – 200 В. Ток на короне составлял 4 мкА. Давление газа-распылителя 2 бар, скорость газа осушителя 10 л/мин, температура газа осушителя 350 °С, температура испарителя 250 °С.

Измерение АОА производили на приборе «Цвет Яуза 01-АА» с вольт-амперометрическим детектором при постоянстве напряжении 1,3В в постоянно-токовом режиме (АД п.т.). В качестве элюента использовали раствор ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 2.2 ммоль/л. Скорость подачи элюента 1,2 см³/мин.

Результаты и обсуждения

По количественному содержанию антоцианов исследованные в настоящей работе свежие плоды шиповника (731 мг / 100 г) лишь немногим уступают сушеным бутонам розы суданской (770 мг / 100 г). Отметим, что при высушивании концентрация антоцианов в плодах шиповника может существенно увеличиться, если удастся предохранить эти соединения от разрушения. В качественном отношении антоциановый состав исследуемых образцов оказался различным. В составе антоцианового комплекса лепестков суданской розы найдены 3-самбубиозиды цианидина-3 (Cy-3-Sam) и дельфинидина-3 (Dp-3-Sam). Антоциановый состав плодов шиповника представлен преимущественно двумя производными цианидина – цианидин-3,5-диглюкозидом (Cy-3,5-diGlu) цианидин-3-глюкозидом (Cy-3-Glu) рис. 1.

Для идентификации индивидуальных компонентов на рис. 1 мы использовали сопоставление удерживания с антоцианами плодов черной смородины (состав которой представлен производными цианидин-3- и дельфинидин-3- глюкозидами и рутинозидами [10]) на основе спектральных характеристик компонентов, записанных в ячейке диодно-матричного детектора (рис.2). Для идентификации использовано характеристическое изменение спектров при гликозилировании положения 5 – исчезновение полосы при 420-450 нм [11], смещение максимума абсорбции на 1-2 нм при добавлении второго углеводного радикала к уже существующему в положении 3 (переход от 2-глюкозидов к 3-самбубиозидам [12]).

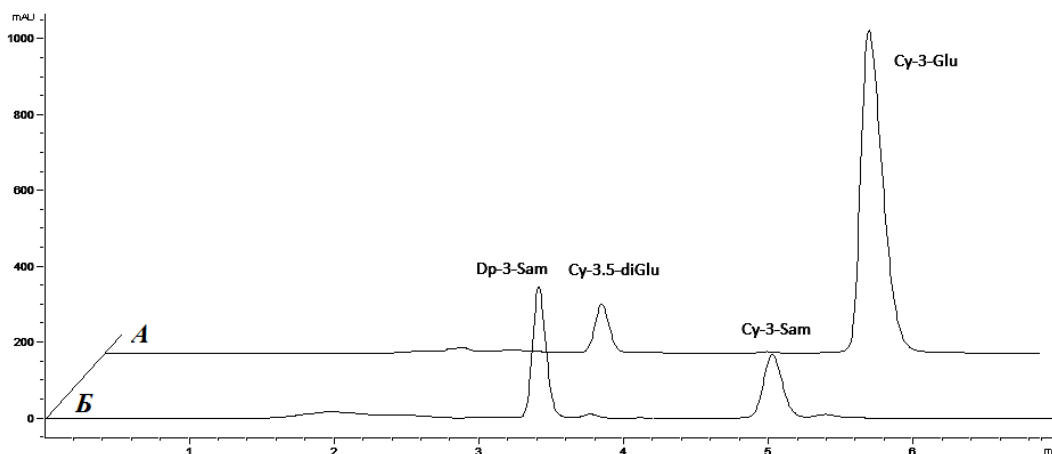


Рис. 1. Хроматограммы исследуемых образцов Антоцианы: А – *R. spinosissima*, Б – *H. sabdariffa*

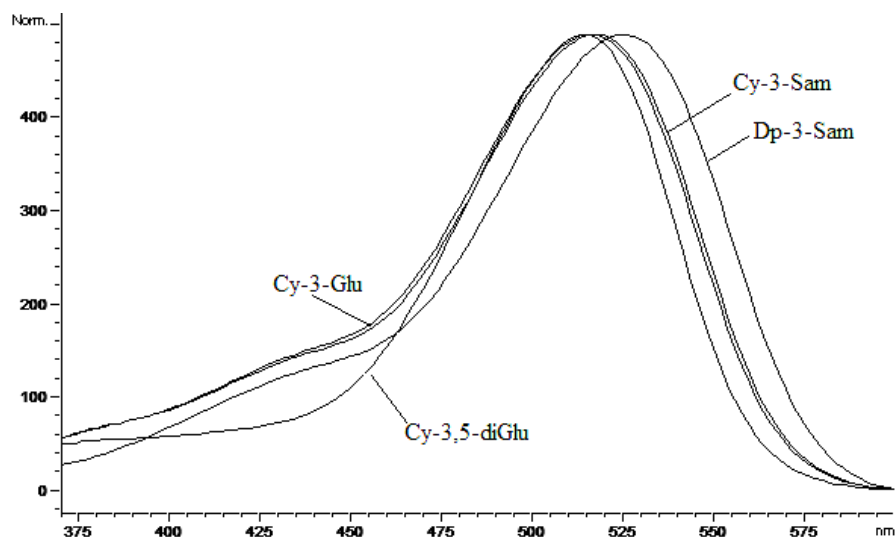


Рис. 2. Спектры компонентов антоцианов плодов *R. spinosissima* и бутонов *H. sabdariffa*

В случае «Каркадэ» при переходе от 3-самбубиозида цианидина к 3-самбубиозиду дельфинидина наблюдается типичное батохромное смещение максимума поглощения при переходе от цианидина-3-самбубиозида к дельфинидину-3-самбубиозиду на 10 нм с 1-2 нм батохромным смещением относительно дельфинидин-3-гликозида. Наконец, такое отнесение было подтверждено записью масс-спектров в режиме электрораспыления (ESI) – по массам ионов агликонов и основных ионов, присутствующих одновременно на спектрах: $[M^+]$ для Cy-3-Glu: 287.0 и 449.1; Cy-3,5-diGlu: 287.0 и 611.2; Cy-3-Sam: 287.0 и 581.1 (рис.3); Dp-3-Sam: 303.0 и 597.1.

Антоцианы относятся к соединениям, обладающим не только окраской, но и высокой антиоксидантной активностью, которой по одной из версий приписывается, например, известный «Французский парадокс» [13, 14]. Поэтому определение антиоксидантной активности является практически обязательной характеристикой как растительных материалов, так и продукции, получаемой из них. В настоящей работе были сопоставлены антиоксидантные свойства водных напаров (экстрактов) плодов *R. spinosissima* и бутонов *H. sabdariffa* с использованием прибора «Цвет-Яуза-01». Для градуировки прибора в работе использовали витамин С (аскорбиновую кислоту), при окислении которой до дегидроаскорбиновой кислоты высвобождается два электрона. Наши исследования показали, что при использовании указанного прибора можно определить емкостную (по терминологии, предложенной в работе [15]) характеристику антиоксидантной активности, выраженную в моль электронов на единицу исходного материала.

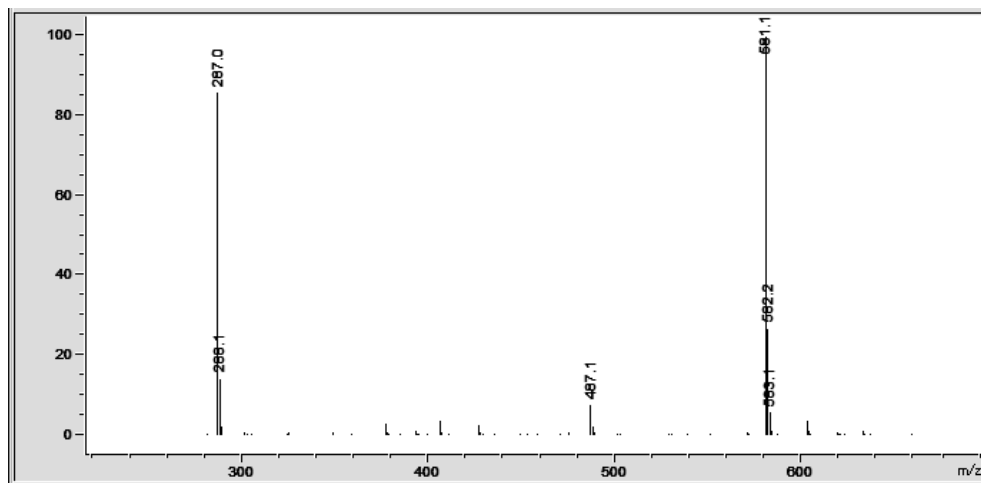


Рис. 3. Масс-спектр Cy-3-Sam

В результате проведенных исследований было установлено, что емкостная антиоксидантная активность плодов шиповника составила 90 ммоль электронов аскорбиновой кислоты на 100 г плодов, для лепестков каркаде она оказалась в полтора раза ниже – 60 (ммоль электронов аскорбиновой кислоты на 100 г). В пересчете на витамин С параметр антиоксидантной активности составляет 800 мг и 520 мг на один грамм сырья, соответственно. Поскольку антиоксидантная активность в обоих исследованных случаях является следствием присутствия не только антоцианов, но и витамина С и других компонентов, то интерес представляет оценка вклада отдельных компонентов в найденные суммарные параметры. В настоящей работе был использован следующий подход – при пропускании через концентрирующий патрон ДИАПАК С18 водных экстрактов происходит сорбция антоцианов и других относительно гидрофобных соединений, а аскорбиновая кислота практически не удерживается. Это позволило сопоставить антиоксидантные активности наиболее гидрофильных фракций исследуемых настоев. В результате такого сопоставления оказалось, что параметр антиоксидантной активности гидрофильных фракций настоя шиповника более чем в три раза выше аналогичной фракции «Каркаде» – 38 ммоль и 11 ммоль электронов на 100 г, соответственно; при этом антиоксидантная активность, приходившаяся на сорбированные компоненты, оказалась схожей (52 и 49 ммоль электронов на 100 г, соответственно), что согласуется с содержанием антоцианов в исследуемых образцах.

Заключение

Плоды шиповника с характерной для высокого уровня накопления антоцианов интенсивной, почти черной, окраской являются ценным материалом для приготовления настоев с высокой антиоксидантной активностью, связанной с высоким уровнем накопления антоцианов. По емкостной антиоксидантной активности такой материал в полтора раза превосходит популярный чай «Каркаде».

Работа выполнена в рамках реализации федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009 – 2013 гг., государственный контракт № П508, государственный контракт № П425.

Литература

1. Государственная фармакопея СССР. – 11-е изд. – Вып.2. – М.: Медицина, 1990. – С. 294-297.
2. Шнайдем Л.О. Производство витаминов. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Пищевая промышленность. 1973. – С. 360-370.
3. De Freitas C.A.S., Maia G.A., De Sousa P.H.M., Brasil I.M., Pinheiro A.M. Storage stability of acerola tropical fruit juice obtained by hot fill method // Intern. J. Food Sci. Technol. – 2006. – V.41. – P. 1216–1221.
4. Саканян Е.И., Кабишев К.Э. Каркаде, или нечаянный чай / Е.И. Саканян, К.Э. Кабишев // Terra Medica Nova. – 2006. – № 3. – С. 41-42.
5. Azza A. Abou-Arab, Ferial M. Abu-Salem and Esmat A. Abou-Arab. Physico-chemical properties of natural pigments (anthocyanin) extracted from Roselle calyces (*Hibiscus subdariffa*) // J. Amer. Sci. – 2011. – V.7. – P. 445-456.
6. Новрузов А.Р. Антоцианы плодов двух видов рода *Rosa* / А.Р. Новрузов, Л.А. Шамсизаде // Химия природн. соедин. – 2011. – №.1. – С. 120-121.
7. Babis A., Kucharska A.Z. Przydatność owoców *Rosa spinosissima* i *Rosa hybrida* do produkcji wysokowitaminowych soków mętnych // Biul. Wydz. Farm. AMW. – 2004. – V.3. – P. 18-24.
8. Giusti M.M., Wrolstad R.E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy // Current Protocols in Food Analytical Chemistry (2001). – F1.2.1-F1.2.13.
9. Чулков А.Н., Антоцианы плодов шести видов *Amelanchier* sp. / А.Н. Чулков, В.И. Дейнека, В.Н. Сорокопудов, Л.А. Дейнека, Ф.И. Степанова // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2011. – № 9 (104), Вып. 15/2. – С. 208-214.
10. Дейнека Л.А. ВЭЖХ в контроле антоцианового состава плодов черной смородины / Л.А. Дейнека, Е.И. Шапошник, Д.А. Гостищев, В.И. Дейнека, В.Н. Сорокопудов, В.Ф. Селеменев // Сорбц. хром. процесс. – 2009. – Т.9, Вып.4. – С. 529-536.
11. Harborne J.B. Spectral Methods of Characterizing Anthocyanins // Biochem. J. – 1958. – V.70. – P. 22-28.



12. Чулков А.Н., Жимолость голубая – сопоставление некоторых свойств плодов, выращенных в Белгороде и в Москве / А.Н. Чулков, С.Л. Макаревич, В.И. Дейнека, В.Н. Сорокопудов, Л.А. Дейнека, С.А. Сазонова // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2011. – №9 (104), вып.15/2. – С. 233-237.

13. de Leiris J., Boucher F. Does wine consumption explain the French paradox? // Dialogues Cardiovasc. Med. – 2008. – V.13, N.3. – P. 183-192.

14. Saint-Cricq de Gaulejac N., Glories Y., Vivas N. Free radical scavenging effect of anthocyanins in red wines // Food Res. Internat. – 1999. – V.32. – P. 327-333.

15. Анисимович И.П. Параметры антиоксидантной активности соединений: относительная антиоксидантная активность чая / И.П. Анисимович, В.И. Дейнека, Л.А. Дейнека, П.А. Фролов, П.А. Мясникова // Научные ведомости БелГУ. Сер. Естественные науки. – 2010 – №9(80), вып.11. – С. 104-111.

ROSA SPINOSISSIMA FRUITS – VALUABLE MATERIAL FOR PREPARATION OF SOFT DRINKS WITH HIGH ANTIOXIDANT POTENTIAL

S.L. MAKAREVITCH¹

A.N. CHULKOV¹ V.I. DEINEKA¹

M.YU. TRETAKOV¹

L.A. DEINEKA¹

V.I. SHATROVSKAYA²

¹ *Belgorod National
Research University*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

² *Botanical Garden of Kharkov
National University by V.N. Karasin
Klochkovskaya str., 52, Kharkov,
61022, Ukraine*

In this paper, an alternative to traditional *Hibiscus sabdariffa* examines the use of the fruits of *Rosa spinosissima*. It is established, the content of anthocyanins in the fruits of wild rose was 731 mg/100 g of fresh fruits and in *R. spinosissima* 773 mg/100 g dried buds of *H. sabdariffa*. "Tzvet Yauza 01-AA" device has been explored to determine antioxidant capacity parameter being one and a half greater for *R. spinosissima* vs *H. sabdariffa* – 90 and 60 mmol of electrons per 100 g of plant sample.

Key words: anthocyanins, *Hibiscus sabdariffa*, *Rosa spinosissima*, HPLC, antioxidant activity, "Tzvet Yauza 01-AA".

ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА КОМПЛЕКСОВ ВКЛЮЧЕНИЯ ДИЭФИРОВ ЛЮТЕИНА С β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

М.С. ЛАПШОВА
В.И. ДЕЙНЕКА
Л.А. ДЕЙНЕКА
А.А. ТИХОВА

*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

В настоящей работе исследовано взаимодействие диэфиров лютеина (ДЭЛ), выделенных из лепестков цветков бархатцев, с β -циклодекстрином (ЦД). Показано, что спектральные характеристики образующихся в водных растворах агрегатов ДЭЛ не зависят от присутствия или отсутствия ЦД, но методом лазерной корреляционной спектроскопии установлено увеличение размеров агрегатов при добавлении ЦД. Получены сухие порошки комплексов включения с высокой стабильностью при хранении в морозильной камере, удобные для приготовления лекарственных и профилактических препаратов и водных дисперсий.

Ключевые слова: диэфиры лютеина, β -циклодекстрин, комплексы включения, агрегаты каротиноидов.

Введение. Каротиноиды не синтезируются в организме человека, поэтому они должны поступать в организм с пищей или в составе лекарственных или профилактических средств. К настоящему времени известно, что кроме очень важного β -каротина и других соединений, обладающих провитаминой А активностью, для здоровья человека необходимы и некоторые другие каротиноиды [1]. Так, относительно недавно налажено производство препаратов на основе лютеина и зеаксантина – двух ксантофиллов, обеспечивающих профилактику возрастной макулярной дистрофии [2]. Однако при разработке рецептур необходимо учитывать биодоступность препаратов. Так, усвояемость каротиноидов выше из липидных матриц, чем при употреблении нативных растительных материалов [1], а по данным [3], наивысшей биодоступностью отличаются комплексы включения каротиноидов с β -циклодекстрином. Привлекательность циклодекстринов (циклических олигомеров глюкозы) в качестве молекул «хозяев» в образовании комплексов включения объясняется их доступностью и нетоксичностью. В гидрофобной полости β -циклодекстрина с гидрофильной внешней поверхностью могут разместиться (полностью или частично) подходящие по размерам молекулы «гостя». Образование таких комплексов не только изменяет растворимость «гостя», но и его химическую активность (в том числе и стабильность). В одном из патентов США [4] предложен метод получения наноразмерных комплексов лютеина с β -циклодекстрином, предназначенных для непосредственного введения в кормовые добавки с повышенной биодоступностью. А поскольку диэфиры лютеина – форма, в которой синтезируется лютеин в основном природном источнике – в лепестках цветков бархатцев, – обладают высокой биодоступностью [5], то интерес представляет создание композиций на основе комплексов включения этих соединений с β -циклодекстрином.

Цель настоящей работы – получение и изучение свойств комплексов включения диэфиров лютеина с β -циклодекстрином.

Методы. Диэфиры лютеина экстрагировали из высушенного сырья (лепестков цветков бархатцев) *n*-гексаном. Для очистки от сопутствующих примесей каротиноиды из полученного экстракта сорбировали на концентрирующих патронах, заполненных силикагелем, и затем десорбировали ацетоном.

Для регистрации спектров использовали спектрофотометр СФ-56. Спектры релеевского рассеивания записывали с использованием лазерного анализатора Zetasizer Nano ZS (*Malvern Instruments*). Расчет комплексов включения методом молекулярной механики проводили в среде HyperChem 8.0.

Результаты. Диэфиры лютеина (ДЭЛ) относятся к высоколипофильным соединениям, что должно обеспечить высокую биодоступность диэфиров, но, с другой стороны, привести к практически нулевой растворимости в воде. И действительно, каротиноиды вообще и ДЭЛ в частности не отличаются высокой растворимостью даже в

органических растворителях, из которых наиболее удобно использовать ацетон или *n*-гексан. Высокополярный β -циклодекстрин (ЦД) обладает наименьшей среди циклодекстринов растворимостью в воде и практически нерастворим в ацетоне (или в *n*-гексане). Однако от *n*-гексана пришлось отказаться, поскольку при встряхивании этого растворителя с водным раствором ЦД образуется обильная пена и коллоидный водный раствор, из которого при стоянии выделяется белый осадок. Это свидетельствует о том, что алкильные радикалы способны образовывать комплексы включения с ЦД, и поэтому можно это свойство экстраполировать на диэфиры лютеина, образованные радикалами насыщенных высших жирных кислот.

Таким образом, остается использование ацетонового концентрата ДЭЛ и водного раствора ЦД. При этом возможно два альтернативных порядка смешивания растворов для получения комплексов включения:

а – к насыщенному водному раствору β -циклодекстрина постепенно добавляют концентрированный раствор диэфиров лютеина в ацетоне;

б – к концентрированному раствору ДЭЛ постепенно добавляют насыщенный раствор ЦД.

Из этих методов более удобен первый, поскольку при добавлении ацетонового экстракта к 0.001 М раствору ЦД осадок образуется постепенно при достижении больших соотношений *n*-гексан: раствор ЦД (до примерно 1:1), а при обратном прибавлении циклодекстрин быстрее выделяется из смеси. При малых соотношениях *n*-гексан : раствор ЦД (от 1:200 до 1:10) осадок не образуется и за сутки. Действительно, по способу **а** получается коллоидный раствор с очевидно большей устойчивостью к седиментации, чем при получении такой смеси по способу **б** (рис.1).

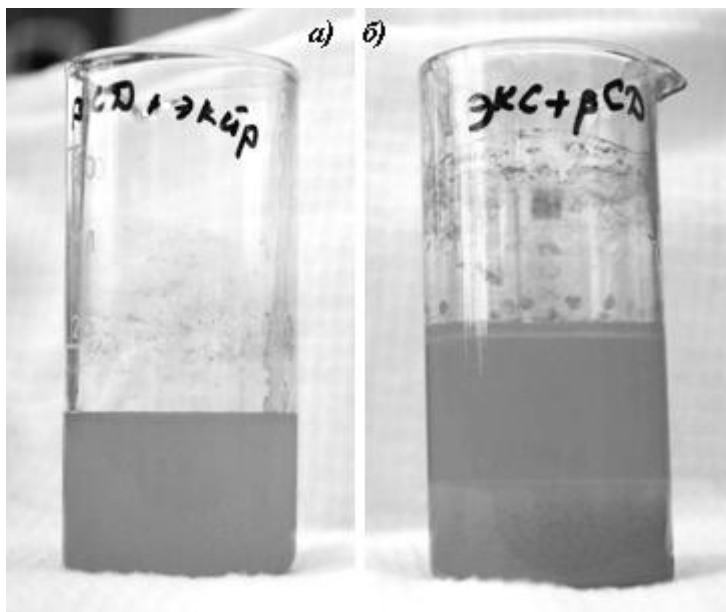


Рис. 1. Сопоставление седиментационной устойчивости комплексов включения диэфиров лютеина и β -циклодекстрина, полученных по двум вариантам

Однако детектирование комплексов включения в данном случае не такая простая задача, поскольку при добавлении раствора ДЭЛ как к раствору ЦД, так и к чистой воде образуются коллоидные растворы с высокой устойчивостью. Хорошо известно [6], что при постепенном снижении растворимости каротиноидов при добавлении к их раствору в органическом (смешиваемом с водой) растворителе (например, этаноле или использованном в настоящей работе ацетоне) сразу не выделяется гетерофаза каротиноидов, а образуются коллоидные агрегаты одного из двух типов. Первый из них, названный **H**-типом, соответствует тесной упаковке молекул каротиноидов (одна над другой с совпадением центров, но с разворотом по оси, проходящей через центры молекул), приводящей по модели молекулярных экситонов к гипсохромному смещению максимумов абсорбции, а по второму (**J**-) типу с упаковкой «голова-хвост» наблюдается батохромный сдвиг максимума абсорбции. Для диэфиров лютеина, поведение которых было исследовано

в настоящей работе, изменения, возникающие при добавлении воды к ацетоновому раствору, характерны для образования **J**-агрегатов. Типичный (например, для раствора в ацетоне) электронно-колебательный спектр диэфиров лютеина с максимумом, приходящимся на переход электрона на второй колебательный уровень первого возбужденного электронного состояния, заметно усложняется (рис.2), при этом спектры в растворах ЦД и в воде практически не различаются.

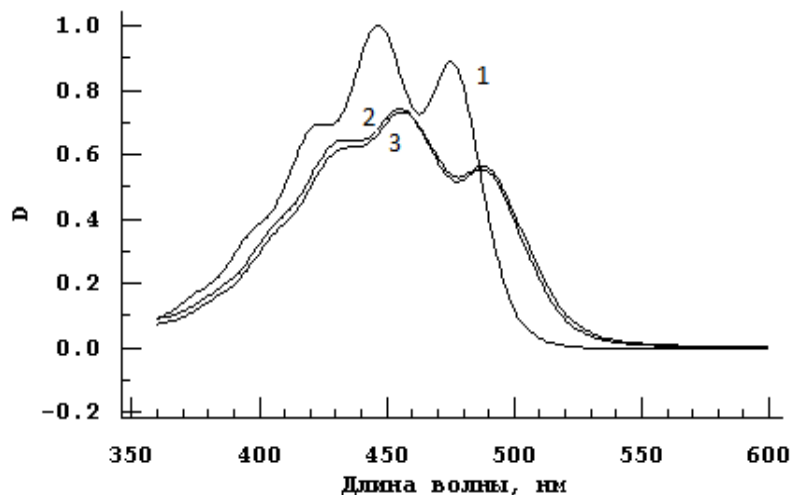


Рис. 2. Спектры диэфиров лютеина в трех средах
1 – в ацетоне; 2 – в водном растворе; 3 – в водном растворе с добавкой β-циклодекстрина

Таким образом, если образование комплексов включения и имеет место, то наиболее вероятно, что связано оно со внедрением в полость ЦД радикалов высших жирных кислот эфирных группировок, не входящих в хромоформные группы. Как показывает расчет по методу молекулярной механики (в среде HyperChem 8.0), полость ЦД может вместить две цепи метиленовых групп, а) и б), рис.3, объединяя агрегаты по радикалам ВЖК.

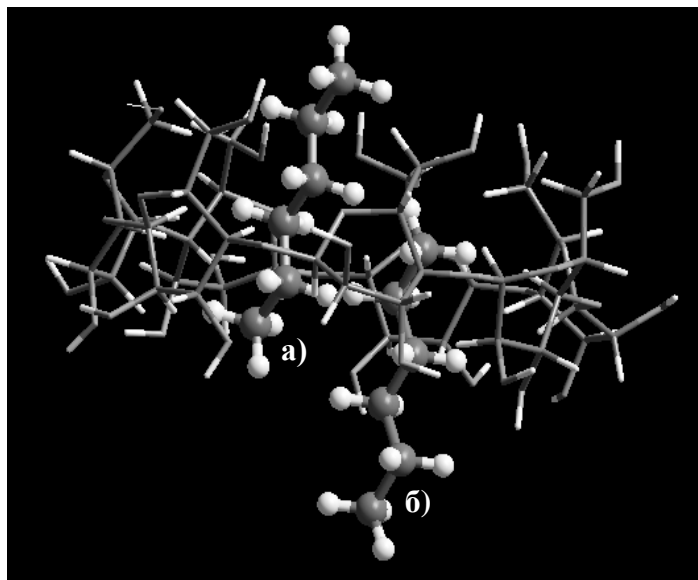


Рис. 3. Моделирование включения двух метиленовых цепей в полость β-циклодекстрина

Следовательно, комплексообразование может привести к изменению размеров агрегатов. Поэтому в дальнейшем мы исследовали полученные коллоидные растворы с использованием лазерного анализатора Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments),

использующего технологии рассеяния лазерного света. Действительно, при переходе от коллоидных растворов ДЭЛ в воде к коллоидным растворам с добавлением ЦД при прочих равных условиях наблюдается увеличение размеров коллоидных частиц (рис.4).

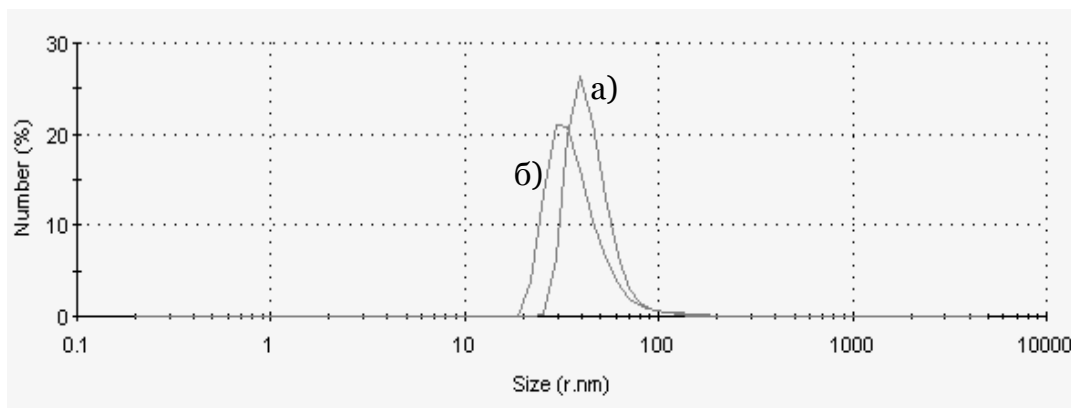


Рис. 4. Размеры коллоидных частиц диэфиров лютеина с (а) и без (б) добавок β -циклодекстрина

При этом следует отметить, что, по нашим данным, увеличение размеров коллоидных частиц наблюдается при добавлении β -циклодекстрина не только к растворам диэфиров лютеина, но и к растворам ликопина и даже неэтерифицированного лютеина.

Наконец, комплексообразование подтверждается тем, что выделенные нами осадки характерного желтого цвета после лиофилизации превращались в сыпучий порошок желтого цвета (рис.5).

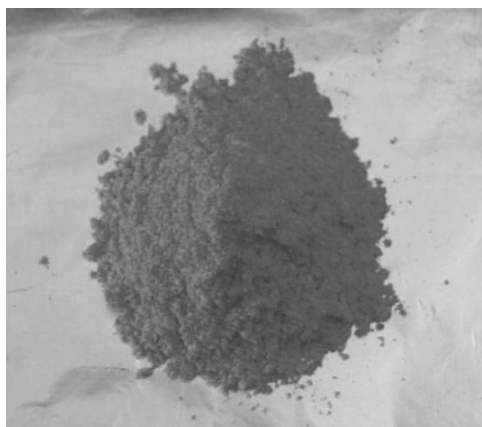


Рис. 5. Фотография порошка комплекса включения диэфиров лютеина с β -циклодекстрином

Для разрушения коллоидного раствора и отделения осадка необходимо добавить ацетон до соотношения водный раствор : ацетон примерно 1:1 (соотношение зависит от концентрации компонентов) исходного коллоидного раствора.

Полученный сухой комплекс, содержащий 10 ÷ 20-кратный избыток ЦД, обладает хорошей устойчивостью при хранении в морозильной камере (сохранность диэфиров превышает 95% в течение одного месяца) без дополнительных мер защиты. При этом для количественного определения ксантофиллы легко извлекаются из навесок образцов экстракцией ацетоном. Полученный композит удобен для введения в любые лекарственные и профилактические препараты (или для диспергирования в воде или в водных растворах).

Выводы. Комплексы включения диэфиров лютеина с β -циклодекстрином могут быть получены с использованием смешения ацетонового экстракта диэфиров лютеина и водного раствора β -циклодекстрина. Методом лиофильной сушки получен порошок комплекса включения с хорошей сохранностью при хранении в морозильной камере.

Литература

1. Hickenbottom S.J., Follett J.R., Lin Y., Dueker S.R., Burri B.J., Neidlinger T.R., J Clifford A.J. Variability in conversion of β -carotene to vitamin A in men as measured by using a double-tracer study design // *Am J Clin Nutr* 2002;75:900–7.
2. Lutein and Zeaxanthin/ Monograph // *Alternative Medicine Review*. – 2005. – V.10. - P. 128-135.
3. Madhavi D.L., Kagan D.I. Bioavailable carotenoid-cyclodextrin formulations for soft-gels and other encapsulation systems // Patent US 7.446.101 B1.
4. Bartlett M., Mastaloudis A., Smidt C., Poole S.J. Nanosized carotenoid cyclodextrin complexes // US Patent Application 2011/0129562 A1.
5. Wu L., Huang X., Shi K., Tan R Bioavailability Comparison of Free and Esterified Lutein for Layer Hens // *Brazilian Journal of Poultry Science*. – 2009. – V.11. – P. 95-98.
6. Simonyi N., Bikadi Z., Zsila F., Deli J. Supramolecular chirality of carotenoid aggregates // *Chirality*. – 2003. – V.15. – P. 680-698.

RECEPTION AND PROPERTIES OF INCLUSION COMPLEXES OF LUTEIN DIESTERS AND β -CYCLODEXTRIN

M.S. LAPSHOVA
V.I. DEINEKA
L.A. DEINEKA
A.A. TICHOVA

*Belgorod National Research
University*

e-mail: deineka@bsu.edu.ru

In the present paper interaction of lutein diesters (LDE) extracted from dried African marigold petals with β -cyclodextrin (CD) has been under investigation. It has been shown that spectral properties of carotenoid aggregates formed in water solutions do not depend upon presence or absence of CD while laser correlation spectroscopy reveals the enlargement of aggregates at CD addition. Lyophilized dried powder of the complexes had high stability at refrigerator's freezing chamber storage being suitable for fabrication of drugs and beverages.

Key words: lutein diesters, β -cyclodextrin, inclusion complexes, aggregates of carotenoids.

РАЗРАБОТКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ АНАЛИЗА АЗИТРОМИЦИНА И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИ ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА И СТАБИЛЬНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ЛОКАЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ

Т.А. БРЕДИХИНА¹
Т.А. ПАНКРУШЕВА²

¹*Воронежская государственная
медицинская академия
им. Н.Н. Бурденко*

²*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: bredichina-tat@yandex.ru

Предложена методика идентификации азитромицина в субстанции и разработанных лекарственных формах локального действия (вагинальные суппозитории, изготовленные на основах витепсол и бутирол, гель на основе метилцеллюлозы) с помощью хроматографии в тонком слое сорбента. Определены наиболее оптимальные системы хроматографирования и условия экстракции антибиотика из лекарственных форм. ТСХ-методика использована при стандартизации и установлении сроков годности для суппозитория и геля с азитромицином.

Ключевые слова: азитромицин, суппозитории, гели, тонкослойная хроматография, качественный анализ, стабильность.

Азитромицин – антибиотик макролидного ряда, является полусинтетическим производным эритромицина. В клинической практике применяется уже более 30 лет и рекомендуется, в том числе, для лечения различных инфекций, передаваемых половым путем [5, 6]. Выпускается в лекарственных формах для энтерального и парентерального применения и имеет более 20 торговых названий [3]. При лечении гинекологических и урологических заболеваний широко используются лекарственные препараты местного действия. В связи с изложенным, нами были разработаны новые лекарственные формы азитромицина – суппозитории и гели, предназначенные для лечения инфекционных урогенитальных и кожных заболеваний.

Целью настоящего исследования явилось определение качества и стабильности суппозитория и гелей азитромицина методом тонкослойной хроматографии (ТСХ).

При разработке методики хроматографии в тонком слое сорбента использовали субстанцию азитромицина, соответствующую требованиям фармакопейной статьи ГФ XII изд. (ФС 42-0213-07), органические растворители различной полярности квалификации «чда». Исследовали серийные образцы разработанных препаратов – 1% гель азитромицина на основе метилцеллюлозы и вагинальные суппозитории на основах бутирол и витепсол с дозировкой азитромицина 200 мг. Показатели качества всех вспомогательных веществ, используемых для получения опытных образцов, отвечали нормативным требованиям.

Хроматографические исследования проводили в стеклянной N-камере прямоугольного сечения по высоте, которую предварительно насыщали парами подвижной фазы в течение 30 мин при постоянной температуре. Хроматографировали восходящим способом на пластинах «Sorbfil» ПТСХ-П-В-УФ 100x100 мм для ВЭТСХ (ЗАО «Сорбполимер», РФ). Тип сорбента – силикагель с добавлением люминесцентного индикатора. Высота подъема фронта элюента – 80 мм.

На этапе пробоподготовки для извлечения азитромицина из лекарственных препаратов использовали метод двойной экстракции, которую проводили следующим образом: для суппозитория – одну свечу массой 1,5 г тщательно измельчали, навеску измельченного суппозитория массой 0,3 г помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 15 мл воды очищенной и нагревали на водяной бане до полного расплавления, энергично взбалтывая в течение 5 мин, затем охлаждали до застывания основы и сливали жидкую часть в мерную колбу на 50 мл. Экстракцию проводили три раза, водные вытяжки объединяли, фильтровали и доводили объем водой очищенной до метки. Для гелей – навеску лекарственной формы массой 4 г помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, приливали около 40 мл воды очищенной с температурой 40°C, встряхивали в течение 5 мин до полного растворения геля и доводили объем водой очищенной до 50 мл.

Извлечение азитромицина из водной фазы в органическую для суппозитория и гелей проводили по три раза, используя делительную воронку и расходуя каждый раз по 10 мл хлороформа, после чего вытяжки объединяли, фильтровали через бумажный фильтр

«синяя лента» или фильтр типа «Миллипор» с диаметром пор 0,45 мкм, отбрасывая первые порции фильтрата, и упаривали до объема 10 мл (испытуемый раствор).

Параллельно путем последовательных разбавлений готовили растворы рабочего стандартного образца (PCO) азитромицина с концентрацией 0,1% (раствор А), 0,05% (раствор В), 0,02% (раствор С). В работе использовали только свежеприготовленные растворы. С учетом требований к пробоподготовке и растворимости анализируемого вещества в качестве растворителя был выбран хлороформ [4, 7].

На линию старта, расположенную на расстоянии 10 мм от нижнего края пластины, с помощью микрошприца наносили последовательно через 15 мм по 10 мкл испытуемого раствора азитромицина, извлеченного из лекарственных форм, растворов А, В и С, соответственно эквивалентным 10, 5 и 2 мкг PCO азитромицина. Пластину с нанесенными пробами высушивали и хроматографировали восходящим методом. Пятна на полученных хроматограммах открывали при просматривании в УФ свете при длине волны 254 нм, сравнивая при этом значения Rf исследуемых образцов и PCO. Пригодность хроматографической системы оценивали по следующим параметрам: на хроматограмме раствора С азитромицина отчетливо видно пятно.

Статистическую обработку результатов исследований проводили согласно ГФ XI изд. С использованием пакета компьютерных программ Microsoft Excel 2002 (номер продукта 54521-701-3227086-17559). Оценку значимости различий проводили по t-критерию Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$ [2].

Азитромицин растворим в неполярных и универсальных растворителях (хлороформ, ацетонитрил, спирт 96%), практически нерастворим в воде, т.е. обладает выраженными гидрофобными свойствами. Расчетное значение критерия гидрофобности Шатца $H = 29$ [4]. Для подбора оптимального состава подвижной фазы (ПФ) изучали хроматографическую подвижность субстанции азитромицина в индивидуальных и комбинированных растворителях различной полярности, а также в системах с различным содержанием кислотного и щелочного модификаторов (кислота уксусная и аммиака раствор концентрированный 25%). На линию старта хроматографической пластины с помощью микрошприца в одну точку наносили 10 мкл 0,5% раствора азитромицина (50 мкг). Элюирование проводили восходящим способом при наклонном положении хроматографических пластинок, располагая их под углом около 70° к горизонтали. Полученные хроматограммы высушивали в токе воздуха при комнатной температуре, проявляли в УФ свете и рассчитывали значения Rf. Результаты хроматографирования азитромицина в индивидуальных растворителях представлены в табл. 1.

Таблица 1

Подвижность азитромицина при хроматографировании в индивидуальных растворителях на пластинах «Sorbfil»

Группы растворителей по Снайдеру	Растворитель	Rf	Диэлектрическая проницаемость
I	гексан	0,03	1,88
	пропанол-2	0,27	19,13
II	этанол	0,37	24,55
IV	ледяная уксусная кислота	0,10	6,30
V	1,2-дихлорэтан	0,09	10,38
VI	этилацетат	0,06	6,02
	ацетон	0,36	20,54
	ацетонитрил	0,23	35,94
VIII	хлороформ	0,09	4,72

При исследовании хроматографической подвижности субстанции азитромицина в индивидуальных гидрофобных и гидрофильных органических растворителях на пластинах «Sorbfil» была выявлена следующая закономерность: с увеличением полярности элюента увеличивается хроматографическая подвижность азитромицина. Это может быть обусловлено более прочными связями между активными центрами силикагеля и адсорбционным слоем, образованным полярными растворителями, в сравнении с неполярными, вследствие чего происходит снижение способности молекул азитромицина вытеснять адсорбированные полярные молекулы ПФ с поверхности адсорбента.



Далее был подобран состав подвижной фазы путем смешивания растворителей из начала и конца элюотропного ряда в различных соотношениях. Полярность комбинированных элюентов оценивали по значению диэлектрической проницаемости и объемной доли индивидуальных растворителей, входящих в состав ПФ. При этом установлено, что оптимальная подвижность азитромицина наблюдается в бинарных системах хлороформ – ацетон (1:5) – $R_f = 0,58$ и хлороформ – этанол (1:1) – $R_f = 0,51$, для которых среднеприближенное значение диэлектрической проницаемости составило 17,9 и 14,6 соответственно.

В дальнейшем эксперименте было исследовано влияние щелочного (аммиака раствор концентрированный 25%) и кислотного (кислота уксусная) реагентов на изменение величины R_f азитромицина в указанных системах. При этом установлено, что в присутствии раствора аммиака происходит увеличение хроматографической подвижности азитромицина, а введение в состав ПФ кислоты уксусной ведет к ее уменьшению для обеих систем. Результаты хроматографирования в системах с различным содержанием кислотного и щелочного реагентов, как среднее пяти параллельных определений, представлены в табл. 2.

Таблица 2

**Подвижность азитромицина при хроматографировании
в комбинированных элюентах на пластинах «Sorbfil»
в присутствии кислотного и щелочного модификаторов
($\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, $n = 5$)**

Система элюирования	Доля модификатора в ПФ					
	без добавления модификатора	аммиака раствор концентрированный 25%			кислота уксусная	
		0,25	0,5	1	0,25	0,5
Rf						
Хлороформ – ацетон (1:5)	0,58±0,01	0,69±0,02	0,83±0,03	0,89±0,03	0,54±0,02	0,40±0,01
Хлороформ – этанол (1:1)	0,51±0,01	0,64±0,03	0,79±0,02	0,85±0,03	0,45±0,02	0,34±0,01

Азитромицин содержит два основных радикала и относится к слабым основаниям [1, 8]. Однако наличие в молекуле не только основных, но и кислотных центров обуславливает его способность к ионизации как в кислой, так и в щелочной среде. Положительное влияние щелочного модификатора может быть обусловлено одновременной диссоциацией гидроксильных групп сорбата и свободных ОН-групп силикагеля, что ведет к снижению удерживания азитромицина. С учетом параметров эффективности в качестве ПФ были выбраны системы хлороформ – ацетон – аммиак концентрированный (1:5:0,5) и хлороформ – этанол – аммиак концентрированный (1:1:0,5). Значения коэффициентов подвижности R_f субстанции азитромицина в указанных системах составили 0,83±0,02 и 0,79±0,02, соответственно. Чувствительность методики определения – 2 мкг азитромицина. Статистически обработанные результаты ТСХ-исследования в оптимальных системах растворителей приведены в табл. 3.

Таблица 3

Метрологические характеристики качественного анализа субстанции азитромицина с использованием метода тонкослойной хроматографии

Система растворителей	Rf	Метрологические характеристики			
		\bar{x}	S	S_x	$\Delta \bar{x}$
Хлороформ – ацетон – аммиак концентрированный (1:5:0,5)	0,83±0,02	0,83	0,0122	0,0055	0,0153
Хлороформ – этанол – аммиак концентрированный (1:1:0,5)	0,79±0,02	0,79	0,0150	0,0067	0,0186

На основании проведенных опытов обоснован выбор растворителей и условия элюирования для идентификации азитромицина методом ТСХ.

В задачи следующего этапа входило изучение возможности использования разработанной методики хроматографирования для анализа подлинности азитромицина в

суппозиториях и гелях и выбор оптимальных условий его проведения: кратность экстракции действующего вещества из лекарственной формы и состав экстрагентов, объем пробы и др. По результатам предварительных исследований была разработана методика получения извлечения из суппозиторий и гелей для ТСХ-анализа с использованием метода двойной экстракции.

При проведении качественного анализа азитромицина в суппозиториях и гелях по разработанной методике наблюдали соответствие значений R_f исследуемых образцов хроматографической подвижности РСО. Дополнительные пятна не обнаружены, следовательно, продукты взаимодействия между компонентами препаратов не образуются, азитромицин совместим с ингредиентами основ и не подвергается деструкции в процессе изготовления.

На хроматограммах, полученных при исследовании извлечений из суппозиторий и гелей плацебо, не содержащих активного ингредиента и изготовленных на тех же основах, что и опытные образцы лекарственных форм, неидентифицируемые пятна обнаружены не были, что свидетельствует о правильном выборе условий экстракции действующего вещества.

Важным критерием оценки качества лекарственных препаратов является их стабильность в процессе хранения. Изучение стабильности проводили методом естественного хранения, в условиях холодильника при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Для упаковки суппозиторий использовали контурно-ячейковую упаковку из поливинилхлорида и алюминиевой фольги, а для гелей – металлические тубы с лаковым покрытием.

Показатели качества, в том числе определение значения R_f азитромицина в оптимальных системах растворителей, оценивали в день приготовления и через промежутки времени, равные 6 мес хранения: по истечении 6, 12, 18 и 24 мес. Полученные результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

Результаты ТСХ-анализа лекарственных форм с азитромицином
 ($\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$, $n = 5$, $p < 0,05$)*

Срок хранения, мес.	Объекты исследования		
	суппозитории на основе витепсол	суппозитории на основе бутирол	гель на основе метилцеллюлозы
Значение R_f в системе элюирования хлороформ – ацетон – аммиак концентрированный (1:5:0,5)			
0** (контроль)	0,83±0,02	0,83±0,02	0,83±0,02
6	0,82±0,01	0,83±0,01	0,83±0,01
12	0,82±0,01	0,83±0,02	0,83±0,02
18	0,83±0,02	0,82±0,01	0,82±0,01
24	0,82±0,01	0,84±0,01	0,83±0,02
Значение R_f в системе элюирования хлороформ – этанол – аммиак концентрированный (1:1:0,5)			
0** (контроль)	0,79±0,02	0,79±0,02	0,79±0,02
6	0,79±0,01	0,79±0,02	0,79±0,02
12	0,78±0,01	0,79±0,01	0,80±0,01
18	0,78±0,02	0,78±0,01	0,78±0,01
24	0,80±0,01	0,79±0,01	0,78±0,01

Примечание: * - p – достоверность различий по отношению к контролю;
 ** - 0 – свежеприготовленные лекарственные формы.

Соответствие величины R_f исследуемых образцов и РСО азитромицина при отсутствии дополнительных пятен свидетельствовало о том, что качество исследуемых препаратов в процессе хранения не изменилось.

Таким образом, на основании проведенного исследования осуществлен выбор растворителей и условий элюирования для идентификации азитромицина методом ТСХ, а также предложена методика экстракции антибиотика из суппозиторий и гелей для проведения ТСХ-анализа. Разработанная ТСХ-методика использована для определения показателей качества суппозиторий и гелей с азитромицином, на основании которого подтверждена их стабильность и установлен срок хранения 2 года (срок наблюдения).



Литература

1. Государственная фармакопея РФ XII изд. – Ч. 1. – М : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. – 704 с.
2. Государственная фармакопея СССР XI изд. – Вып. 1. – М.: Медицина, 1987. – 369 с.
3. Регистр лекарственных средств России : Энциклопедия лекарств [Электронный ресурс] / <http://www.rlsnet.ru>.
4. Спутник хроматографиста : методы жидкостной хроматографии / О.Б. Рудаков, И.А.Востров, С.В.Федоров и др. – Воронеж : Водолей, 2004. – 528 с.
5. Страчунский, Л.С. Макролиды в современной клинической практике /Л.С.Страчунский, С.Н.Козлов. – Смоленск : Русич, 1998. – 302 с.
6. Bignell, C. Azithromycin in the treatment of infection with *Neisseria gonorrhoeae* / C.Bignell, J. Garley // *Sex Transm Infect.* – 2010. – V. 86, № 6. – P. 422-426.
7. Sadek, P.S. Troubleshooting HPLC Systems : A Bench Manual / P.S. Sadek. – NY, USA : J.Wiley & Sons, 2000. – 306 p.
8. USP Pharmacists Pharmacopeia. – II ed. – Rockville. The United State Pharmacopeial. Lnc., 2008. – 1519 p.

THE DEVELOPMENT OF CHROMATOGRAPHICAL METHODIC OF AZITHROMYCIN ANALYSIS AND ITS USE IN THE ASSESSMENT OF QUALITY AND STABILIZATION OF LOCAL ACTION MEDICINAL FORMS

T.A. BREDIKHINA¹
T.A. PANKRUSHEVA²

¹*Voronezh State
Medical Academy*

²*Kursk State Medical
University*

e-mail: bredichina-tat@yandex.ru

The method of azithromycin identification in substance and developed medicinal forms of local action (vaginal suppositories made on the basis of vitepsol and butirol; gel made on the basis of methylcellulose) with the help of thin-layer chromatography in sorbent is suggested. The most optimal systems of chromatography and the conditions of antibiotic extraction from the medicinal forms are determined. The TLS-method is used in the standardization and establishment of expiry dates for pull-dates for suppositories and gels with azithromycin.

Key words: azithromycin, suppositories, gels, thin-layer chromatography, quality analysis, stabilization.

ИЗУЧЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ТИМЬЯНА МЕЛОВОГО (*THYMUS CRETACEUS* KLOK. ET SCHOST.)

В.Н. БУБЕНЧИКОВА¹
Ю.А. СТАРЧАК²

¹*Курский государственный
медицинский университет*

²*Орловская медицинская академия*

e-mail: fg.ksmu@mail.ru

Изучены фенольные соединения тимьяна мелового, представленные флавоноидами, оксикоричными кислотами, кумаринами, дубильными веществами. Из флавоноидов выделены: цинарозид, космосин, скутеллярин, из оксикоричных кислот: кофейная, хлорогеновая, розмариновая кислота, из кумаринов – скополетин. Количественное содержание флавоноидов составляет 1,12-1,43%, дубильных веществ 6,21%-11,15%.

Ключевые слова: тимьян меловой, флавоноиды, оксикоричные кислоты, кумарины, дубильные вещества.

Введение. В научной медицине России широко используется тимьян ползучий *Thymus serpyllum* L. В качестве отхаркивающего средства в форме настоя и жидкого экстракта [3]. Тимьян ползучий произрастает в сосняках, на опушках, полянах, на песках, каменистых склонах. Наряду с тимьяном ползучим на территории Европейской части России произрастает около 20 близких видов, которые в природных условиях не различаются заготовителями и используются наравне с тимьяном ползучим, однако химический состав их изучен недостаточно. Установлено, что одна из групп действующих веществ растений рода тимьян обусловлена присутствием фенольных соединений [4, 5].

Целью нашей работы явилось изучение фенольных соединений тимьяна мелового, широко распространенного в областях Центральной России.

Материалы и методы. Объектом исследования служила трава тимьяна мелового, заготовленная в 2010 году в Курской области в фазу цветения.

Выделение фенольных соединений осуществляли экстракцией 70 % спиртом этиловым, растворитель отгоняли, очищали от липофильных примесей четыреххлористым углеродом. Учитывая разнообразие полярности сложной смеси флавоноидов, кумаринов и оксикоричных кислот, очищенные водные экстракты фракционировали методом селективной экстракции диэтиловым эфиром, этилацетатом. Разделение смеси флавоноидов, оксикоричных кислот, кумаринов проводили методом препаративной хроматографии на колонках в сочетании с препаративной хроматографией на бумаге.

Структуру выделенных веществ устанавливали с использованием классических химических и физико-химических методов анализа на основании физико-химических свойств исходных соединений и продуктов их превращения, УФ- и ИК-спектров, величин R_f в различных системах растворителей, а также температур плавления проб смешения с достоверными образцами [1].

Для количественного определения флавоноидов использовали спектрофотометрический метод, основанный на реакции взаимодействия флавоноидов с алюминия хлоридом в среде 70 % спирта этилового и модифицированный нами. Около 1,0 г (точная навеска) измельченного и просеянного сквозь сито с отверстиями диаметром 2 мм, сухого сырья помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл 70 % этилового спирта и взвешивают. Колбу присоединяют к обратному водяному холодильнику, нагревают на кипящей водяной бане в течении 60 минут, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Колбу с содержимым охлаждают, взвешивают и при необходимости доводят до первоначальной массы 70 % спиртом этиловым. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 10 мл фильтрата. 2,5 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 мл 5 % раствора алюминия хлорида в 70 % спирте этиловом и через 10 мин 1 мл 3 % кислоты уксусной. Объем раствора доводят 70 % спиртом этиловым до метки и оставляют на 30 мин.

Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 395 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.



В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 2,5 мл исходного извлечения, 1 мл 3 % раствора кислоты уксусной и доведенный 70 % спиртом этиловым до метки в мерной колбе вместимостью 25 мл [6].

Для качественного определения дубильных веществ готовили водные извлечения (1:10) на кипящей водяной бане в течение 30 минут. Извлечение фильтровали и использовали для проведения реакций с 10% раствором желатина, с железо-аммонийными квасцами, с формальдегидом и концентрированной кислотой хлористоводородной [7].

Для количественного определения дубильных веществ использовали метод перманганатометрии, являющийся фармакопейным для определения дубильных веществ [2].

Результаты и обсуждение. Установлено, что выделенные фенольные соединения тимьяна мелового представлены флавоноидными соединениями (3 вещества), оксикоричными кислотами (3 соединения), кумаринами (1 соединение).

Выделенные флавоноиды по результатам качественного анализа, хроматографии в различных системах растворителей, УФ-спектроскопии продуктов количественного кислотного гидролиза, физико-химических свойств отнесены к моногликозидам флавоноидам. Углеводная часть у двух соединений представлена глюкозой, а у одного – глюкуроновой кислотой. Углеводная часть присоединена по 7 положению молекул гликозидов. В продуктах кислотного гидролиза исследуемых соединений идентифицировали лютеолин, апигенин и скутеллареин. Таким образом, исследуемые флавоноиды идентифицировали как цинарозид (лютеолин-7-глюкозид), космосиин (апигенин-7-глюкозид), скутеллярин (скутелляреин-7-глюкуронозид).

Выделенные оксикоричные кислоты и их производные идентифицированы по флуоресценции пятен на хроматограммах, качественным цветным реакциям с железа хлоридом, диазотированной кислотой сульфаниловой и бромкрезоловым зеленым, УФ-спектрам, физическим константам, хроматографической подвижности. Они представлены хлорогеновой, кофейной и розмариновой кислотами.

Выделенный кумарин идентифицировали по флуоресценции пятна на хроматограмме в УФ-свете, хроматографической подвижности, данным УФ-, ИК-спектров. Кумариновая природа исследуемого соединения подтверждена также деструкцией кислотой йодистоводородной в среде жидкого фенола. В сравнении с достоверным образцом его охарактеризовали как скополетин.

Анализ результатов спектрофотометрического определения флавоноидов показал, что в траве тимьяна мелового их содержание колеблется от 1,12% до 1,43 %.

Результаты качественного определения дубильных веществ показали, что в сырье тимьяна мелового содержатся дубильные вещества преимущественно конденсированной группы. Содержание дубильных веществ колеблется от 6,21 % до 11,15%.

Выводы.

Таким образом, проведенные исследования позволили изучить фенольные соединения тимьяна мелового. Установлено, что тимьян меловой имеет близкий состав фенольных соединений и содержание флавоноидов в нем сопоставимо с тимьяном ползучим. Поэтому после изучения других биологических активных веществ (тритерпенов, эфирного масла) тимьян меловой может представлять интерес в качестве лекарственного сырья.

Литература

1. Бубенчиков, Р.А. Изучение фенольных соединений и полисахаридов травы фиалки скальной / Р.А. Бубенчиков // Башкир. хим. журн. – 2011. – Т. 18, № 1. – С. 128-130.
2. Государственная фармакопея СССР. – Изд. 11. – М.: Медицина, 1987. – Вып. 1. – 277 с.
3. Государственная фармакопея СССР: Вып.2. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье / МЗ СССР. – Изд. 11., доп. – М.: Медицина, 1989. – 400 с.
4. Иллюстрированный определитель растений Средней России. – Т. 3: Покрытосеменные (двудольные: раздельнолепестные) / И.А. Губанов, К.В. Киселева, В.С. Новиков, В.Н. Тихомиров – М.: Т-во научных изданий КМК, Ин-т технологических исследований, 2004. – С.105.
5. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства *Nirpuridaceae* – *Lobeliaceae*. – СПб., 1991. – 200 с.
6. Смирнова, Л.П. Количественное определение суммы флавоноидов в цветках бессмертника песчаного / Л.П. Смирнова, Л.Н. Первых // Хим.-фарм. журн. – 1998. – №6. – С. 35-38.
7. Химический анализ лекарственных растений / под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. – М.: Высш. шк., 1984. – 176 с.



THE STUDY OF PHENOLIC COMPOUNDS OF THYMUS CRETACEOUS KLOK. ET SCHOST

V.N. BUBENCHICOVA¹
YU.A. STARCHAK²

¹*Kursk State Medical University*

²*Oryol Medical Academy*

e-mail: fg.ksmu@mail.ru

The phenolic compounds of *Thymus cretaceus* Klok. et Schost. presented by flavonoids, oxycinnamic acids, coumarins, tannins have been studied. Cinarozid, kosmossin, skutellyarin have been identified from the flavonoids, from the oxycinnamic acids: caffeic, chlorogenic, rosemary acid, of the coumarins – scopoletin. Quantitative content of flavonoids is 1,12-1,43%, of tannins - 6,21-11,15%.

Key words: *Thymus cretaceus* Klok. et Schost., flavonoids, oxycinnamic acids, coumarins, tannins.

СОСТАВ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ ТРАВЫ ШАЛФЕЯ БЛЕСТЯЩЕГО

В.Н. БУБЕНЧИКОВА
Ю.А. КОНДРАТОВА

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: salvia_julia@mail.ru

В статье приведены результаты исследования полисахаридного комплекса *Salvia splendens* Sellow ex Roem. Et Schultes. Установлено, что углеводный комплекс надземной части *Salvia splendens* Sellow ex Roem. Et Schultes представлен водорастворимыми полисахаридами, пектиновыми веществами, гемицеллюлозой А и Б; установлен их моносахаридный состав. Противовоспалительное действие водорастворимого полисахаридного комплекса шалфея блестящего проявлялось в угнетении стадии экссудации. Изучение отхаркивающего действия показало, что водорастворимый полисахаридный комплекс по своей активности близок к препарату заводского производства Мукалтину.

Ключевые слова: шалфей блестящий (*Salvia splendens* Sellow ex Roem. Et Schultes), водорастворимые полисахариды, пектиновые вещества, гемицеллюлоза А и Б, противовоспалительная активность, отхаркивающая активность.

Шалфей (*Salvia*) – одно из самых первых растений, которые человек использовал для лечения болезней. Род шалфей богат своим видовым составом. Он насчитывает около 700 видов. Представители данного рода встречаются как в дикорастущем, так и культивируемом виде. Среди культивируемых растений в медицинской практике используются шалфей лекарственный и шалфей мускатный, препараты которых оказывают противовоспалительное, антибактериальное, ранозаживляющее действие. По всей Европейской части России широко культивируется шалфей блестящий (*Salvia splendens* Sellow ex Roem. Et Schultes), который в химическом и фармакологическом плане не изучен. Расширение ассортимента лекарственного растительного сырья за счет использования близких в систематическом отношении культивируемых видов рода *Salvia* L. Является весьма актуальным [1, 5, 8].

Цель нашей работы заключалась в выделении полисахаридного комплекса из травы шалфея блестящего и изучении его фармакологических свойств.

Материалы и методы. Объектом исследования служила измельченная воздушно-сухая трава шалфея блестящего, заготовленная в 2010 году в ботаническом саду КГМУ, в период массового цветения растения.

Для выделения полисахаридного комплекса воздушно-сухое измельченное сырье предварительно обрабатывали 70% спиртом этиловым для удаления полифенольных соединений.

Из шрота, оставшегося после получения полифенольных соединений, последовательно выделяли водорастворимый полисахаридный комплекс (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлозы (Гц А, Гц Б).

Воздушно-сухой шрот экстрагировали водой в соотношении 1:20 к массе сырья при нагревании до 95° С в течение 1 часа при постоянном перемешивании. Повторное извлечение полисахаридов проводили дважды водой в соотношении 1:10. Растительный материал отделяли центрифугированием, и объединенные экстракты упаривали до 1/5 первоначального объема. Полисахариды осаждали тройным объемом 96% спирта этилового при комнатной температуре. Выпавший плотный осадок полисахаридов отделяли, промывали 70% спиртом этиловым, ацетоном. Полученные ВРПС лиофильно высушивали [3].

Из шрота, оставшегося после получения ВРПС, выделяли ПВ. Экстракцию сырья проводили смесью 0,5% растворов кислоты щавелевой и аммония оксалата (1:1) в соотношении 1:20 при 80-85° С в течение 2 часов. Повторное извлечение проводили дважды в соотношении 1:10, с последующим осаждением их 96% спиртом этиловым [3, 6].

Шрот, оставшийся после выделения ПВ, заливали пятикратным объемом 10 % водного раствора щелочи и оставляли при комнатной температуре на 12 часов. Затем отфильтровывали через четыре слоя марли. К полученному фильтрату прибавляли два объема кислоты уксусной. Образовавшийся осадок отфильтровывали. На фильтре получился осадок Гц А в виде зеленовато-коричневой массы. К фильтрату добавляли двукратный объем 96% спирта этилового для осаждения Гц Б. Полученный осадок отфильтровывали, промывали спиртом этиловым, высушивали [9].

Для установления моносахаридного состава ВРПС, ПВ, Гц А и Б проводили их гидролиз 2Н кислотой серной. Навески веществ (0,05) помещали в ампулу емкостью 5-10 мл, прибавляли 2,5 мл раствора кислоты серной, запаивали ампулы и гидролизовали при температуре 100-105° С в течение 6 (для ВРПС), 24 (для ПВ) и 48 часов (для Гц А, Гц Б). Гидролизат нейтрализовали бария карбонатом по универсальному индикатору до нейтральной реакции, отфильтровали и осаждали спиртом этиловым 96%. Образовавшийся осадок обрабатывали катионитом КУ-2 до кислой реакции. Разделение и идентификацию нейтральных моносахаридов проводили методом нисходящей хроматографии на бумаге в системе растворителей н-бутанол-пиридин-вода (6:4:3) параллельно со стандартными образцами сахаров. Кислые моносахара разделяли в системе этилацетат-кислота муравьиная – вода – кислота уксусная (18:1:4:3). Проявитель – анилинфталат, температура проявления 100° С, длительность проявления 10-15 минут [6].

Вторым этапом наших исследований было изучение отхаркивающей и противовоспалительной активности водорастворимого полисахаридного комплекса.

Эксперименты проводили в соответствии с установленными документами «Об утверждении правил лабораторной практики» [7].

Для исследования отхаркивающего действия использовали модель изучения моторной функции мерцательного эпителия пищевода лягушки по методике В.В. Гацура. Экспериментальная работа выполнена на осенних лягушках *Rana temporaria* [4]. Эффективность отхаркивающего действия сравнивали с препаратом заводского производства – Мукалтином. Из ВРПС и Мукалтина готовили 1% водные растворы.

Оценку противовоспалительного действия проводили в соответствии с методическими рекомендациями по исследованию противовоспалительных препаратов [2], влияющих на разные стадии процесса воспаления. Полисахаридные комплексы вводили в дозе 100 мг/кг.

Антиэкссудативные свойства оценивали на модели острого воспалительного отека, вызванного субплантарным введением в заднюю лапу мыши 0,05 мл 2,5% водного раствора формалина [2].

Антифлогистическую активность настоя определяли при моделировании локальной воспалительной реакции с помощью ксиллола [2] на кроликах-альбиносах.

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что полисахариды шалфея блестящего представлены 4 фракциями: ВРПС, выход которых составил 10,03%, ПВ – 7,89 %, Гц А – 21,12%, Гц Б – 2,71% от воздушно-сухого сырья.

Методом хроматографии на бумаге параллельно с достоверными образцами сахаров в исследуемом ВРПС идентифицировали глюкозу, галактозу, арабинозу, рамнозу, ксилозу и глюкуроновую кислоту, с преобладанием галактозы и арабинозы. В выделенных ПВ преобладающей является галактуроновая кислота, кроме того, в них обнаружены и нейтральные моносахариды – глюкоза, ксилоза и рамноза.

В гидролизате Гц А и Гц Б обнаружены ксилоза, глюкоза, галактоза, арабиноза. По величине пятен и интенсивности их окраски установлено: преобладающим моносахаридом является ксилоза, что указывает на наличие полисахаридов типа ксиланов.

Изучение отхаркивающей активности водорастворимого полисахаридного комплекса, полученного из травы шалфея блестящего, показало, что данный препарат повышает двигательную активность мерцательного эпителия лягушки, следовательно, обладает отхаркивающими свойствами (табл. 1). По силе отхаркивающего действия водорастворимый полисахаридный комплекс близок к препарату заводского производства Мукалтину.

Влияние водорастворимого полисахаридного комплекса травы шалфея блестящего на двигательную активность мерцательного эпителия лягушки

Препарат	Коэффициент ускорения	Увеличение двигательной активности, %
Мукалгин	0,62±0,01	38,33±1,35*
ВРПС	0,64±0,02	36,05±1,99*

Примечание: * - различия по сравнению с контролем статистически достоверны при $P < 0,05$, $n = 6$ – количество лягушек в группе.

При изучении антиэкссудативной активности на модели формалинового отека установлено, что максимальная величина отека лапы в контроле составляет $58,27 \pm 2,65$ мг (100%) (табл. 2). Под действием ВРПС шалфея блестящего происходило снижение величины отека ($36,62 \pm 1,60$ мг) лапы мыши, противовоспалительный эффект составил 37,15%, что говорит о выраженном угнетении стадии экссудации и проявлении противовоспалительной активности.

Таблица 2

Влияние ВРПС травы шалфея блестящего на отек лапы, вызванный у мышей формалином

Растение, препарат	Вес лапок, мг		Величина отека		Противовоспалительный эффект, %
	правой	левой	($M \pm m$), мг	%	
Контроль	126,51	184,78	$58,27 \pm 2,65$	100,00	
ВРПС травы шалфея блестящего	123,95	165,83	$36,62 \pm 1,60$ *	62,85	37,15

Примечание: * - различия по сравнению с контролем статистически достоверны при $P < 0,05$; $n = 6$ – количество мышей в группе.

При изучении влияния ВРПС, полученного из травы шалфея блестящего, на проницаемость капилляров у кроликов установлено, что при его введении происходило незначительное увеличение латентного периода проявления пятен окрашивания ($4,51 \pm 0,21$ мин) по сравнению с контролем ($3,96 \pm 0,18$ мин), а также уменьшение их диаметра до ($1,41 \pm 0,04$ см) по сравнению с контролем ($1,74 \pm 0,03$ см), что является свидетельством отсутствия капилляроукрепляющего действия как одного из механизмов противовоспалительной активности исследуемого фитопрепарата.

Выводы.

- Таким образом, впервые из травы шалфея блестящего выделены по фракциям и изучены полисахариды.
- Установлен качественный состав ВРПС, ПВ, ГцА и Б. Преобладающими моносахарами в ВРПС являются галактоза и арабиноза, основу пектиновых веществ составляет галактуроновая кислота, основу Гц А и Б – ксилоза.
- Доказано наличие отхаркивающего действия и антиэкссудативной активности на модели формалинового отека у ВРПС, выделенных из травы шалфея блестящего.

Литература

1. Байкова, Е.В. Род шалфей: морфология, эволюция, перспективы интродукции /Е.В. Байкова. – Новосибирск: Наука, 2006. – 248 с.
2. Бубенчиков, Р.А. Противовоспалительные свойства надземной части *Viola hirta* L. / Р.А. Бубенчиков. // Раст. ресурсы. – 2004. – Вып. 2. – С. 97-100.

3. Бубенчикова, В.Н. Фармакогностическое исследование некоторых представителей флоры Центрального Черноземья / В.Н. Бубенчикова // Науч. тр.ВНИИФ. – М., 1991. – Т. XXIX. – С. 97-102.
4. Гацура, В.В. Методы первичного фармакогностического исследования биологически активных веществ / В.В. Гацура. – М.: Медицина, 1974. – 143 с.
5. Государственный реестр лекарственных средств. – М.: МЗ РФ2000. – 1204 с.
6. Лигай, Л.В. Изучение углеводов *Malva neglecta L.* / Л.В. Лигай, Д.А. Рахимов, В.А. Бандюкова // Химия природ. Соединен. – 1989. – №2. – С. 280-281.
7. Приказ № 708 н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении правил лабораторной практики»
8. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Hippuridaceae – Lobeliaceae. – СПб., 1991. – 200 с.
9. Степаненко, Б.Н. Химия и биохимия углеводов. Полисахариды /Б.Н.Степаненко. – М., 1978. – 256 с.

THE COMPOSITION AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF POLYSACCHARIDE COMPLEXES OF SALVIA SPLENDENS SELLOW EX ROEM. ET SCHULTES ABOVE-GROUND PART

V. N. BUBENCHICOVA
YU. A. KONDRATOVA

Kursk State Medical University

e-mail:salvia_julia@mail.ru

The results of investigation of polysaccharide complex of *Salvia splendens* Sellow ex Roem. et Schultes are there in the article. It has been established that the polysaccharide complex of above-ground part is presented by water-soluble polysaccharides, pectins, hemicellulose A and B, besides their monosaccharide composition has been determined. Anti-inflammatory activity of water-soluble polysaccharide complex of *Salvia splendens* Sellow ex Roem. et Schultes has been manifested in the suppression of the exudation stage. It has been shown that the herb of : *Salvia splendens* Sellow ex Roem. et Schultes in its expectorant action isn't inferior to its Mukaltin.

Key words: *Salvia splendens* Sellow ex Roem. et Schultes, anti-inflammatory activity, expectorant action.

ОРГАНИЗАЦИЯ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ

УДК 616.36

АНАЛИЗ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ, СМЕРТНОСТИ И СОСТОЯНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ПОМОЩИ БОЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В БЕЛГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ В 2004-2009 ГГ.

Н.В. ПАВЛОВА^{1,2}**И.В. СУХОТЕРИН**^{1,2}**Т.П. ГОЛИВЕЦ**¹**Б.С. КОВАЛЕНКО**¹

¹*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

²*Белгородский онкологический
диспансер*

e-mail: nadushka_p@mail.ru

Проведен анализ показателей заболеваемости, смертности и состояния онкологической помощи больным раком молочной железы в Белгородской области за 2004-2009 гг. Результаты свидетельствуют о негативных тенденциях в динамике ряда показателей, характеризующих как диагностику, так и состояние онкологической помощи больным раком молочной железы в целом. Это указывает на необходимость оптимизации медицинской помощи данным больным.

Ключевые слова: рак молочной железы, заболеваемость, смертность, онкологическая помощь.

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенной опухолью у женщин в экономически развитых странах [1].

Заболеваемость РМЖ растет в большинстве стран мира, особенно в странах Восточной Азии. В Китае ежегодный прирост заболеваемости РМЖ составил 5%. В то же время смертность от РМЖ во многих западных странах начала снижаться. Например, в США темп снижения составляет 1,7% в год [2].

В структуре онкологической заболеваемости женского населения России РМЖ занимает I место. В России ежегодно регистрируется более 46 тыс. новых случаев РМЖ [1]. В России отмечается рост как заболеваемости, так и смертности от РМЖ. Интерпретация трендов заболеваемости и смертности от РМЖ трудна. Очевидно, что в заболеваемости РМЖ в течение длительного времени наблюдался рост. Однако его можно объяснить и возросшим уровнем скрининга среди женщин без симптомов РМЖ, особенно в последнее время.

Прогноз РМЖ достаточно благоприятен. Наилучший показатель 5-летней выживаемости отмечен в США (84%) [2].

Цель исследования: установление основных тенденций в динамике заболеваемости, смертности и состояния онкологической помощи при РМЖ в Белгородской области в 2004-2009 гг.

Материалы и методы. Сбор информации о случаях заболевания и действенности медицинской помощи осуществлялся по данным «канцер-регистра» ОГУЗ «Белгородский онкологический диспансер» (формы №7 «Сведения о заболеваниях злокачественными новообразованиями», №35 «Сведения о больных со злокачественными

новообразованиями»). Расчет исследуемых показателей проводился в соответствии с методическими рекомендациями Московского научно-исследовательского онкологического института им. П.А. Герцена [3, 4].

Результаты и обсуждение. В 2004-2009 гг. в Белгородской области в целом наблюдаются стабильные цифры заболеваемости РМЖ, с незначительными колебаниями в ту или иную сторону. Так, интенсивный («грубый») показатель заболеваемости РМЖ составил от 69 до 65,48 на 100 000 населения в различные годы. Таким образом, наблюдается очень незначительное снижение данного показателя (прирост -5,24%) (табл. 1).

Таблица 1

**Заболеваемость раком молочной железы
в 2004-2009 гг. в Белгородской области**

Показатели	2004	2005	2006	2007	2008	2009
- абсолютное число	566	533	512	592	614	542
- показатель на 100 000 населения («грубый»)	69,1	65,1	65,5	72,03	74,43	65,48

Смертность от РМЖ в Белгородской области постепенно растет – интенсивный показатель в 2004 г. составлял 24,4 на 100 000 населения, в 2009 г. – 30,2. Прирост составил + 23,77% (табл. 2).

Таблица 2

**Смертность от рака молочной железы
в 2004-2009 гг. в Белгородской области**

Показатели	2004	2005	2006	2007	2008	2009
- абсолютное число	200	214	220	222	235	250
- показатель на 100 000 населения («грубый»)	24,4	26,1	26,8	27,01	28,49	30,20

Из абсолютного числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом РМЖ процент выявленных при профосмотрах в 2004-2009 гг. в Белгородской области различен: если в 2004–2006 гг. он составлял от 14,63 до 18,8%, то в 2007–2008 гг. – 30,2 и 30,7% соответственно. Можно предположить, что такой рост активной выявляемости (максимальное значение прироста с 2004 по 2007 гг. составило +111,2%) связан с внедрением в Белгородской области маммографического скрининга и открытием маммологического центра в областном онкодиспансере. Но при этом доля больных с I-II стадиями злокачественного процесса так и осталась в пределах чуть более 60%, наблюдается даже незначительная отрицательная динамика (показатель прироста -2,87%), а доля больных с запущенными III и IV стадиями РМЖ – около 40% соответственно (прирост данного показателя составил + 9,17%). Показатели морфологической верификации диагноза были достаточно высоки – от 94,1% до 99,6% в различные годы.

Летальность на первом году с момента установления диагноза достигла максимума в 2007-2008 гг. (11,1% и 10,1% соответственно). Прирост данного показателя за 2004-2009 гг. составил + 20,6%. Общая летальность от РМЖ различна – от 0,7% до 5,3% в разные годы, но в целом за исследуемый период наблюдается довольно значительный прирост данного показателя +43,75%. Число больных, находившихся под наблюдением на конец года на 100 000 населения, возросло с 267 в 2004 г. до 328 в 2009 г. (прирост составил +22,85%). Из них процент наблюдающихся 5 лет и более стабилен с некоторой тенденцией к уменьшению (показатель прироста составил -5,3%). Индекс накопления контингентов также стабилен, но с тенденцией к увеличению – прирост составил +34,72% (табл. 3).



**Состояние онкологической помощи при раке молочной железы
в 2004-2009 гг. в Белгородской области**

Характеристика больных	Годы					
	2004	2005	2006	2007	2008	2009
Абсолютное число больных с впервые в жизни установленным диагнозом	558	521	494	567	580	515
Из числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом						
-выявлено при профосмотрах, %	14,3	15,9	18,8	30,2	30,7	24,3
-диагноз подтвержден морфологически, %	97,5	99,6	98,6	94,4	96,9	97,5
Имели стадию заболевания, %						
I-II	62,7	65,5	60,3	64	59,3	60,8
III	27,2	25,9	30,6	27,3	30,3	31,5
IV	8,8	8,3	7,3	8,3	10	7,8
стадия не установлена, %	1,3	0,4	1,8	0,4	0,3	0
-летальность на 1 году с момента установления диагноза, %	6,3	8,8	6,3	11,1	10,1	7,6
Находятся под наблюдением на конец года						
Абсолютное число	4038	4074	4409	4466	4901	4990
на 100 000 населения	267	269	292	295,3	323,2	328
-из них 5 лет и более:						
абсолютное число	2280	2344	2490	2360	2659	2668
% к находящимся под наблюдением	56,5	57,5	56,5	52,8	54,3	53,5
-индекс накопления контингентов	7,2	7,8	8,9	7,9	8,4	9,7
-летальность, %	3,2	0,7	4,9	5,2	5,3	4,6

Таким образом, за период с 2004 по 2009 гг. в Белгородской области наблюдается относительно стабильный уровень заболеваемости РМЖ при постепенно растущих значениях смертности на 100 000 населения. Соотношение данных показателей характеризует тяжесть заболевания.

Уровень диагностики определяют следующие показатели: доля больных с I-II стадиями заболевания, доля больных с III-IV стадиями, одногодичная летальность.

Доля больных с ранними (I-II) стадиями РМЖ характеризует своевременность выявления заболевания, что, в свою очередь, определяется уровнем организации раннего выявления, скрининга, качеством профилактических осмотров. Напротив, количество больных с запущенными формами РМЖ (III-IV стадии) демонстрирует уровень позднего выявления, что говорит о недостаточной онкологической настороженности врачей первичного звена, квалификации кадров, плохой оснащенности медицинских учреждений, низкой грамотности населения и, как следствие, поздней обращаемости.

Одногодичная летальность также показывает как уровень поздней выявляемости (фактическая запущенность), так и общее состояние онкологической помощи (качество лечения; летальность, связанная с лечением).

За исследуемый период показатели больных с ранними и запущенными стадиями относительно стабильны, с незначительной отрицательной тенденцией, – порядка 60% составляют больные с ранними стадиями, и около 40% – с запущенными. При этом отмечается рост количества больных, выявленных при профосмотрах. В абсолютном выражении данные цифры нельзя считать удовлетворительными, так как не соответствуют современным возможностям медицины, особенно по раннему выявлению опухолей визуальной локализации, одним из которых является РМЖ. То есть доля больных с I-II стадиями должна быть больше, тем более при растущих показателях активной выявляемости, наблюдающихся в Белгородской области. Но, с другой стороны, это может быть связано и с более широким внедрением в практику уточняющих методов диагностики (компьютерная томография, сцинтиграфия костей), что позволяет выявить субклинический метастатический процесс и адекватно стадировать РМЖ при первичном обращении больных в специализированное учреждение. Одногодичная летальность за исследуемый период

выросла на 20,6%. В целом, совокупность полученных данных говорит о необходимости повышения уровня диагностики РМЖ в Белгородской области с помощью следующих мер: эффективной организации противораковой пропаганды, обучения женщин приемам самообследования, неформального подхода к профилактическим осмотрам со стороны врачей общей лечебной сети, увеличения охвата женского населения периодическим маммографическим скринингом.

Состояние онкологической помощи в целом характеризуют следующие показатели: индекс накопления контингентов (отношение числа больных, состоявших на учете на конец отчетного года, к числу больных с впервые в жизни установленным диагнозом), доля больных, наблюдавшихся 5 лет и более, летальность наблюдаемых контингентов. Данные показатели определяют эффективность лечения, состояние прослеженности больных, продолжительность их жизни, то есть в целом характеризуют эффективность деятельности онкологического диспансера как специализированного учреждения. Положительная динамика величины индекса накопления контингентов говорит об улучшении состояния специализированной онкологической помощи в целом, достаточно хорошем состоянии диспансерного наблюдения за выявленными онкологическими больными, а также косвенно характеризует правильность выбранной лечебной тактики. Но, вместе с тем, наблюдаются негативные тенденции в виде роста летальности наблюдаемых контингентов (отношение числа умерших из числа учтенных в отчетном году к числу наблюдаемых в течение года больных), что может быть связано с низкой ранней выявляемостью, высокой одногодичной летальностью и говорит о снижении продолжительности жизни больных, несмотря на используемые современные методы лечения.

Выводы.

Изучение динамики заболеваемости, смертности и состояния онкологической помощи РМЖ на отдельно взятой территории (Белгородской области) дает возможность правильной оценки эффективности борьбы с данной опухолью в регионе, помогая планированию лечебно-профилактических мероприятий и способствуя, тем самым, совершенствованию онкологической помощи больным РМЖ.

Литература

1. Аксель, Е.М. Злокачественные новообразования молочной железы: состояние онкологической помощи, заболеваемость и смертность / Е.М. Аксель // Маммология. – 2006. – №1. – С. 9-13.
2. <http://www.oncology.ru/specialist/epidemiology/malignant/C50/>
3. Петрова, Г.В. Характеристика и методы расчета статистических показателей, применяемых в онкологии (практ. пособие) / Г.В. Петрова, О.П. Грецова, В.В. Старинский и др. – М.: ФГУ МНИОИ им. П.А. Герцена Росздрава, 2005. – 39 с.
4. Чиссов, В.И. Организация онкологической службы в России (методические рекомендации, пособия для врачей) / В.И. Чиссов, В.В. Старинский, Б.Н. Ковалева. – М.: ФГУ МНИОИ им. П.А. Герцена Росмедтехнологий, 2007. – Ч. 2. – 663 с.

THE ANALYSIS OF INCIDENCE, MORTALITY AND LEVEL OF ONCOLOGICAL SERVICE FOR BREAST CANCER PATIENTS IN 2004-2009 YEARS IN BELGOROD REGION

N.V. PAVLOVA^{1,2}

I.V. SUKHOTERIN^{1,2}

T.P. GOLIVETS¹

B.S. KOVALENKO¹

¹ *Belgorod National Research University*

² *Belgorod Oncological Dispanser*

e-mail: nadushka_p@mail.ru

A study of incidence, mortality and level of oncological service for breast cancer patients in 2004-2009 years in Belgorod region was held. The results show the negative tendency of dynamics of some exponents, which marking the diagnostic and level of oncological service for patients with breast cancer. It points to necessity of optimizing health care for this patients.

Key words: breast cancer, incidence, mortality, oncological service.



МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАЗВИТИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ НА ПОПУЛЯЦИОННОМ УРОВНЕ: ОБОСНОВАНИЕ ПОПУЛЯЦИОННОЙ КОНЦЕПЦИИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА

**Т.П. ГОЛИВЕЦ¹, Б.С. КОВАЛЕНКО¹
Е.М. ПАРШКОВ², В.А. СОКОЛОВ²**

*¹Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

*²Медицинский радиологический
научный центр,
г. Обнинск*

e-mail: golivets@yandex.ru

На основании собственного опыта и анализа данных литературы, посвященных онкоэпидемиологии, установлено, что злокачественные новообразования развиваются по строго детерминированной программе независимо от условий проживания населения.

Ключевые слова: злокачественные новообразования, генетическая предрасположенность, факторы внешней среды, популяционные закономерности онкозаболеваемости, канцерогенез.

Введение. Теоретическая онкология имеет более чем 100-летнюю историю. За это время выдвинуто множество идей и теорий канцерогенеза, опубликовано большое количество научных статей, проведена масса наукоемких исследований по данной проблеме, но «дать универсальное определение опухолевому процессу представляется довольно затруднительной задачей вследствие комплексного характера этого патологического явления» [2, 4, 14]. Здесь уместно вспомнить пророческие слова Р. Вихрова, высказанные ещё в 1870 г.: «Едва ли через 100 лет кто-либо, даже под пыткой, может сказать, что же такое на самом деле раковая клетка?». Примерно с такой же озабоченностью звучат слова И.В. Давыдовского (1962 г.) о том, что «в медицине нет другой такой области, как онкология, где так демонстративно не вскрывались бы противоречия между богатством фактического материала и хаосом теоретических представлений об этиологии и сущности опухоли. Обилие фактов, обилие теорий еще не создает подлинной теории. Именно это обстоятельство обуславливает не только теоретический интерес дальнейших исследований, но и их практическую перспективность» [2, 4, 8, 15]. Достижения молекулярной биологии последних десятилетий, касающиеся разных сторон канцерогенеза, вселяют надежду, что проблема злокачественных новообразований вот-вот будет решена, «если еще не в области лечения, то хотя бы в области понимания злокачественного роста» [11, 16]. Стало очевидным, что в основе канцерогенеза лежат нарушения в геноме стволовых клеток или их ближайших потомков, которые выводят из-под контроля нормальный клеточный гомеостаз, т.е. клетки приобретают неконтролируемый рост [6, 15, 16]. Остается только понять, кто «виноват» в том, что раковые клетки приобрели свое бессмертие? Большинство исследователей склонны считать, что повинны в этом изменения в генах, ответственных за пролиферацию клеток [7, 8, 13, 15], причем эти изменения напрямую связаны с действием внешних и внутренних факторов [5].

В последнее время в литературе появляются статьи, в которых приоритет изучения проблемы рака переносится на радикально иной тип науки, по сравнению с тем, чем занимались последние 25-30 лет [2, 3, 6, 11, 13, 15]. Авторы этих публикаций считают, что «фундаментальные исследования будут относиться к числу концептуальных». По их прогнозу, «раковые исследования разовьются в логическую науку, где сложности заболевания, описываемые на лабораторном и клиническом уровнях, станут понятными в терминах небольшого числа основополагающих принципов».

В этом плане интерес могут представлять онкоэпидемиологические данные, характеризующие высокую степень детерминации развития злокачественных новообразований (ЗНО) в зависимости от пола, возраста и локализации опухоли [10, 17]. Нам импонирует мнение Е.Н. Имянитова [3, 4] о том, что «закономерности развития ЗНО, наблюдаемые в практической онкологии, заставляют рассматривать опухоли не как



абсолютно изолированный патологический процесс, а лишь как компонент сложной и взаимосвязанной системы биологических взаимоотношений с организмом хозяина».

Цель исследования – оценить общие закономерности развития онкопатологии у населения, проживающего на территориях с различными условиями жизни, и использовать их для теоретического обоснования процессов реализации канцерогенеза и формирования онкозаболеваемости на популяционном уровне.

Материалы и методы исследования. Дескриптивный эпидемиологический анализ онкологической заболеваемости проведен в динамике 25-летнего наблюдения (1981-2005 гг.) у населения Белгородской и Брянской областей, в сопоставлении с данными по России в целом [10], а также с данными отчета ВОЗ за 1993-1997 гг. [17].

В анализ включены 104978 впервые выявленных случаев с диагнозом злокачественного новообразования по Белгородской области, 113686 случаев – по Брянской области, более 10 млн. по России в целом и более 4 млн. на пяти континентах.

Динамика абсолютных данных и относительных показателей онкозаболеваемости, рассчитанных на 100 тыс. населения, изучена с учетом следующих параметров:

- ✓ зафиксирована годовая заболеваемость мужчин и женщин, т. е. суммарно все случаи ЗНО в течение одного поколения;
- ✓ изучена популяционная заболеваемость мужчин и женщин по пятилетним периодам наблюдения (1981-1985 гг., 1986-1990 гг., 1991-1995 гг., 1996-2000 гг., 2001-2005 гг.);
- ✓ оценена половозрастная заболеваемость на популяционном уровне (все случаи) по принятым в онкологической статистике по возрастным группам: 0-4 года, 5-9 лет, 10-14 лет и т.д., 85 и более лет;
- ✓ изучена половозрастная заболеваемость по основным нозологическим формам у мужчин и женщин;
- ✓ определено соотношение показателей заболеваемости мужчин и женщин на популяционном уровне (все случаи за жизнь), по возрастным группам (все случаи за жизнь), по нозологическим формам (за жизнь), по нозологическим формам с учетом возрастных групп.

Для объективизации данных дополнительно изучены:

- процентное соотношение онкозаболеваемости мужчин к женщинам и женщин к мужчинам по возрастным группам: 0-4 года, 0-9 лет, 0-14 лет и т.д., 0-85 лет и старше;
- темп прироста онкозаболеваемости (%) по возрастным группам (0-9 лет по отношению к 0-4 лет; 0-14 по отношению к 0-9 лет и т.д.; 0-85 лет и старше по отношению к 0-84 года);
- темп прироста онкозаболеваемости (%) по пятилетним периодам наблюдения (данные 1986-1990 гг. по отношению к таковым в 1981-1985 гг. ... 2001-2005 гг. по отношению к 1996-2000 гг.);
- процентное распределение онкозаболеваемости у мужчин и женщин по возрастным группам от 0 до 85 лет и старше.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием метода описательной статистики.

Результаты и обсуждение. Дескриптивный эпидемиологический анализ позволил выявить целый ряд закономерностей развития заболеваемости злокачественными новообразованиями, которые не зависят от территории проживания, условий жизни человека и даты постановки диагноза. К ним, в частности, относятся следующие показатели:

1. Число впервые выявленных случаев ЗНО в популяциях распределяется практически поровну среди мужского и женского населения (табл. 1).

Таблица 1

Отношение числа впервые выявленных ЗНО у мужчин и женщин на различных территориях

Пол, отношение м:ж, %	Территории, годы наблюдения						
	РФ 1981-2005	Белгород. Обл 1981-2005	Брянская обл. 1981-2005	Канада 1993-1997	США 1993-1997	Англия 1993-1997	Новая Зеландия 1993-1997
мужчины	4943981	51629	57456	317735	401430	621656	40357
женщины	5184387	53349	56230	285318	373750	612850	35866
м:ж	48,8:51,2	49,2:50,8	50,5:49,5	52,7:47,3	51,8:48,2	50,3:49,7	52,9:49,1

2. Суммарная онкозаболеваемость, рассчитанная на 100 тыс. населения («грубые» показатели, мировой стандарт), у мужчин выше, чем у женщин, в пределах 15-25% (рис.1).

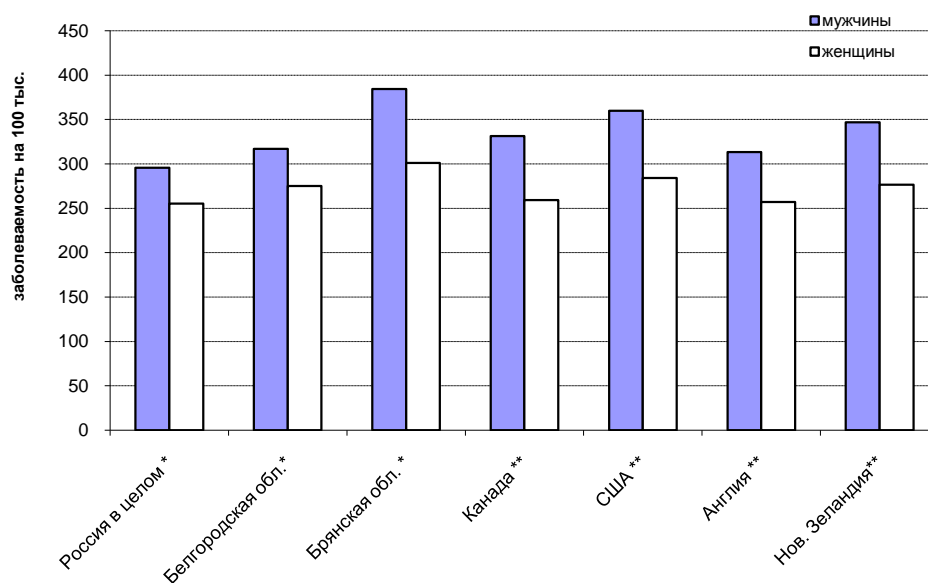


Рис. 1. Показатели заболеваемости ЗНО у населения, проживающего на различных территориях:
* - грубые показатели, ** - мировой стандарт

3. Число ежегодно регистрируемых ЗНО среди мужского и женского населения на протяжении 25-летнего наблюдения колеблется в пределах 0,25-0,30%. Соответственно, в течение жизни одного поколения число заболевших мужчин и женщин составит примерно 15-20% от общей численности населения (табл.2).

Таблица 2

**Среднее число (%) впервые выявленных случаев ЗНО
среди населения различных популяций в течение одного года и за жизнь***

Территория		Периоды наблюдения, годы									
		1981-1985		1986-1990		1991-1995		1996-2000		2001-2005	
		м	ж	м	ж	м	ж	м	ж	м	ж
Белгородская область	за 1 год	0,27	0,23	0,30	0,25	0,33	0,27	0,33	0,30	0,34	0,32
	за жизнь	16,2	16,1	18,0	17,5	19,8	18,9	19,8	21,0	20,4	22,4
Брянская область	за 1 год	0,27	0,22	0,32	0,25	0,38	0,27	0,37	0,28	0,38	0,27
	за жизнь	16,2	15,4	19,2	17,5	22,8	18,9	22,2	19,6	22,8	18,9
Россия в целом	за 1 год	0,25	0,23	0,28	0,25	0,29	0,25	0,31	0,29	0,30	0,32
	за жизнь	15,0	16,1	16,8	17,5	17,4	17,5	18,6	20,3	18,0	22,4

Примечание: * – средняя продолжительность жизни у мужчин принята за 60 лет, у женщин – 70 лет.

4. Онкозаболеваемость у мужчин до 20-летнего возраста выше, чем у женщин, от 20 до 60 лет, напротив, женщины болеют чаще, чем мужчины, в пожилом возрасте вновь мужчины болеют чаще, чем женщины (рис. 2).

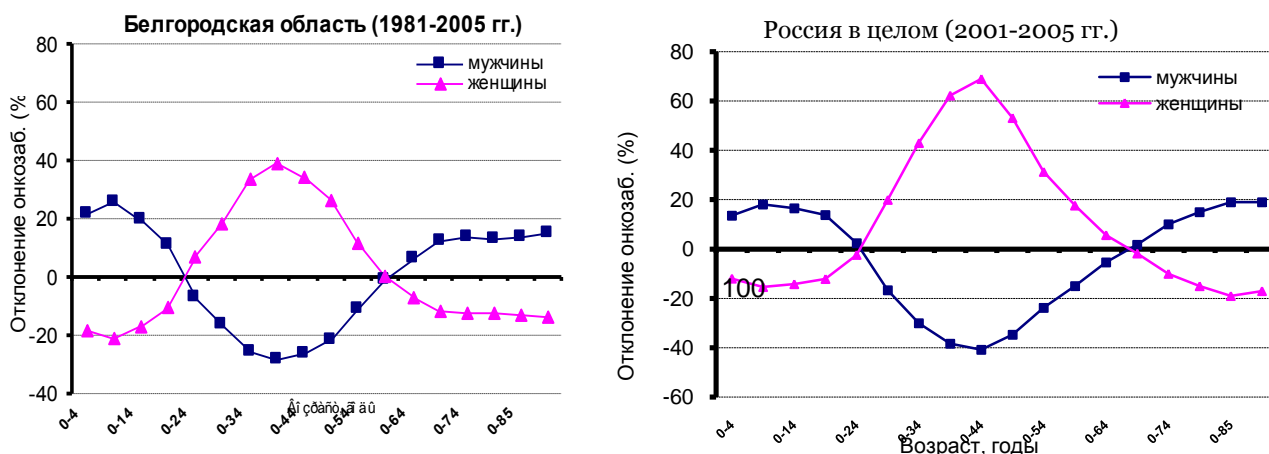


Рис. 2. Соотношение (%) онкозаболеваемости мужчин и женщин и женщин и мужчин в течение жизни. Ось абсцисс: заболеваемость мужчин и женщин принята за 100%

5. Темп прироста онкозаболеваемости у мужчин и женщин наиболее интенсивен до 50-летнего возраста, затем он плавно снижается и к 80-85 годам составляет 1-2% вновь выявленных случаев ЗНО (рис.3).

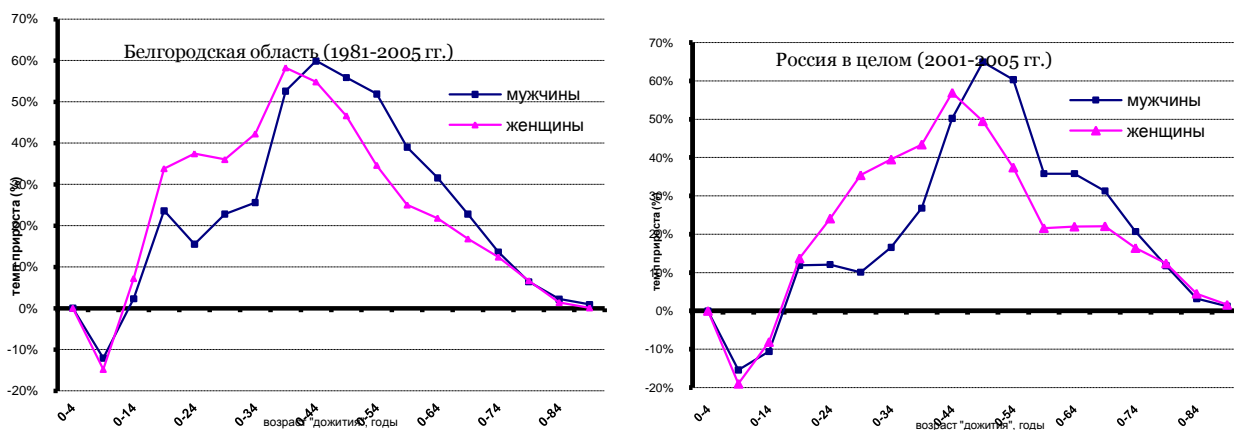


Рис. 3. Темп прироста (%) * онкозаболеваемости у мужчин и женщин в течение жизни

Примечание:* – темп прироста по отношению к предыдущей возрастной группе. Отрицательный темп прироста в возрастной группе 0-9 лет связан с более высокой заболеваемостью в возрастной группе 0-4 года

6. Отношение показателей онкозаболеваемости у мужчин и женщин по нозологическим формам (локализациям) остается практически постоянным независимо от территории проживания и года постановки диагноза. Например, заболеваемость РЦЖ всегда выше у женщин, чем у мужчин. Напротив, рак глотки всегда выше у мужчин, чем у женщин. В 1/3 локализаций мужчины и женщины болеют примерно в равном соотношении (рис. 4).

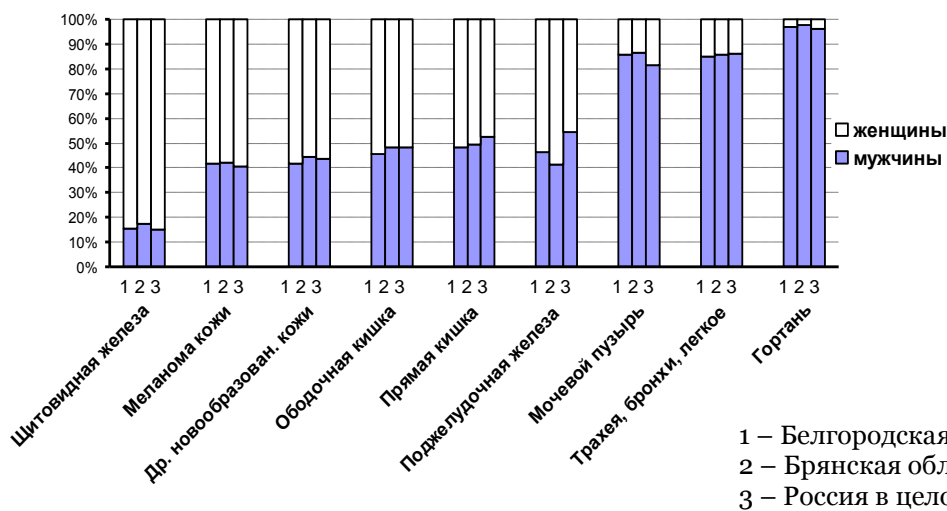


Рис. 4. Отношение показателей онкозаболеваемости по отдельным локализациям опухоли на территории Российской Федерации. Суммарные показатели за 1981-2005 гг.

7. Детская онкозаболеваемость формируется, в основном, за счет 6-7 локализаций (лимфатическая и кроветворная ткани, головной мозг, почки, кости и суставные хрящи, соединительная и другие мягкие ткани, щитовидная железа, печень). Лидером среди них является лимфатическая и кроветворная ткани (рис. 5).

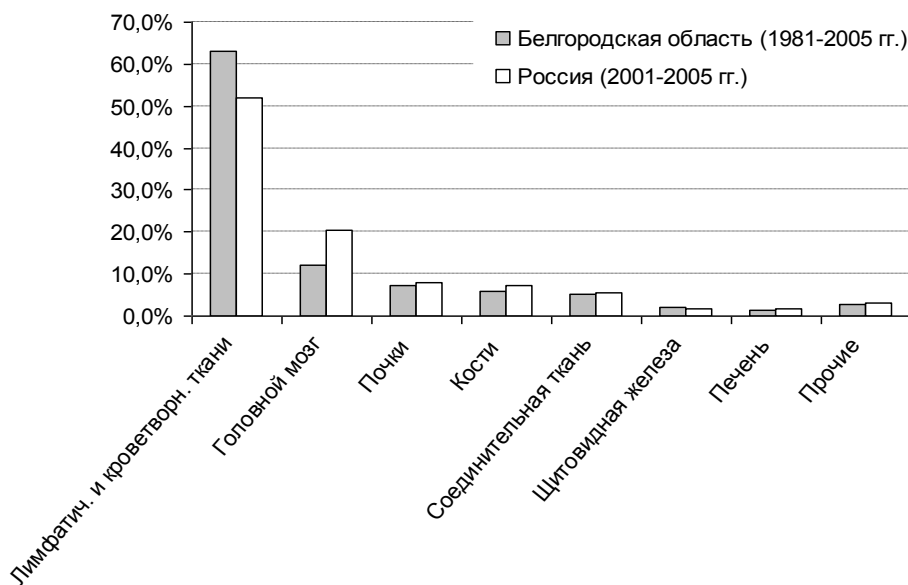


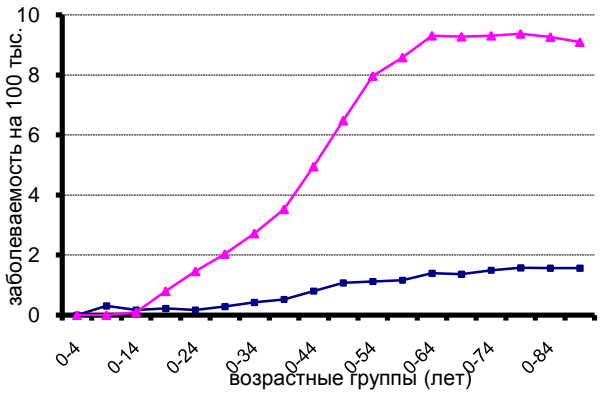
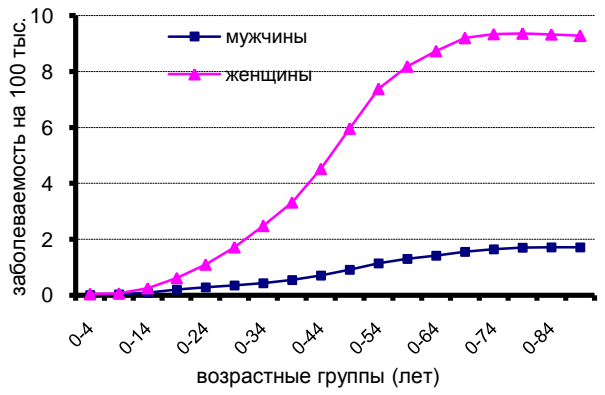
Рис. 5. Процентное распределение нозологических форм (локализаций), определяющих детскую онкозаболеваемость (0-14 лет)

8. Для каждой локализации (нозологической формы) характерна своя строго фиксированная поло-возрастная динамика онкозаболеваемости (рис. 6).

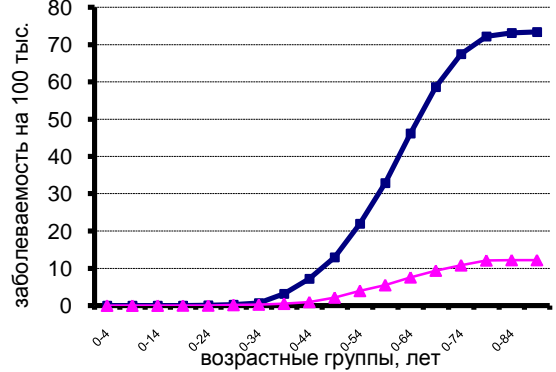
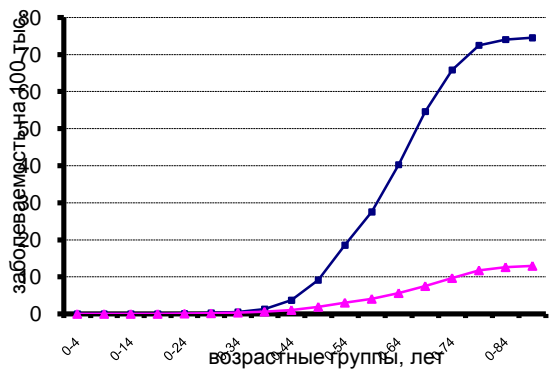
Россия в целом (2001-2005 гг.)

Белгородская область (2001-2005 гг.)

Щитовидная железа



Трахея, бронхи, лёгкое



Лимфатическая и кроветворная ткани

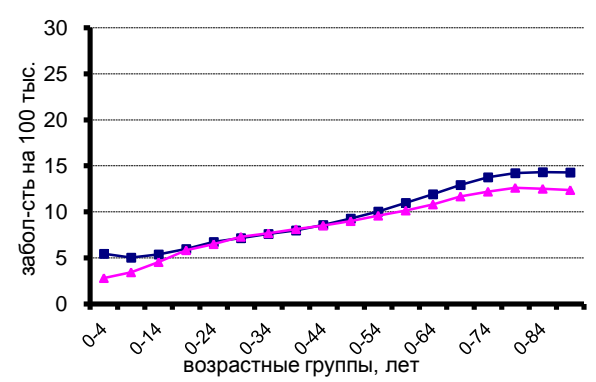
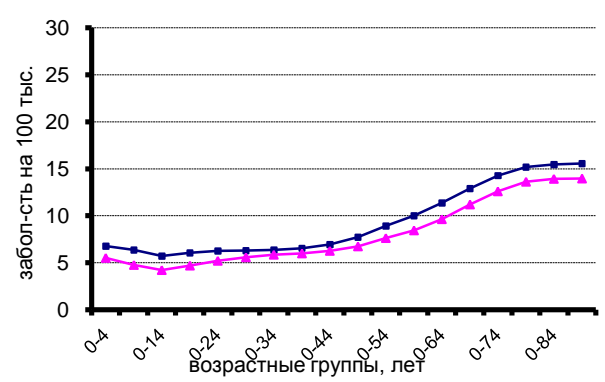


Рис. 6. Динамика поло-возрастной заболеваемости по отдельным нозологическим формам (локализациям)



9. Структура онкозаболеваемости по нозологическим формам во всех изученных популяциях остается стабильной у мужчин и женщин на протяжении длительного периода наблюдения.

Таблица 3

**Структура онкозаболеваемости по нозологическим формам.
«Грубые» показатели заболеваемости на 100 тыс. населения**

Мужчины

Локализация, нозологическая форма	Россия в целом (2001-2005 гг.)			Белгород. Область (2001-2005 гг.)		
	ранг	забол-сть	удельн. вес %	ранг	забол-сть	удельн. вес %
Трахея, бронхи, легкое	1	74,72	22,84	1	71,12	20,66
Желудок	2	38,88	11,89	3	39,62	11,51
Др. новообразования кожи	3	29,72	9,09	2	46,66	13,56
Почки	9	12,65	3,87	10	11,14	3,24
Поджелудочная железа	10	10,29	3,15	12	6,17	1,79
Гортань	11	9,84	3,01	9	12,23	3,55
Яички	17	1,85	0,57	17	1,67	0,49
Кости и суставные хрящи	18	1,82	0,56	19	1,36	0,40
Щитовидная железа	19	1,72	0,53	18	1,56	0,45

Женщины

Локализация, нозологическая форма	Россия в целом (2001-2005 гг.)			Белгород. Область (2001-2005 гг.)		
	ранг	забол-сть	удельн. вес %	ранг	забол-сть	удельн. вес %
Молочная железа	1	61,84	19,53	1	61,85	19,08
Др. новообразования кожи	2	41,63	13,15	2	60,27	18,59
Тело матки	4	21,30	6,73	3	25,45	7,85
Трахея, бронхи, легкое	10	12,95	4,09	10	11,59	3,57
Щитовидная железа	11	9,27	2,93	11	9,09	2,80
Почки	12	8,53	2,69	12	6,50	2,00
Пищевод	19	2,30	0,73	19	1,78	0,55
Кости и суставные хрящи	20	1,20	0,38	20	1,25	0,39
Гортань	21	0,48	0,15	21	0,54	0,17

10. Злокачественные опухоли развиваются в строгом соответствии с продолжительностью биологического латентного периода, независимо от времени постановки диагноза. Например, для острых лимфолейкозов – первые годы жизни, для рака предстательной железы – более 50 лет (рис. 7).

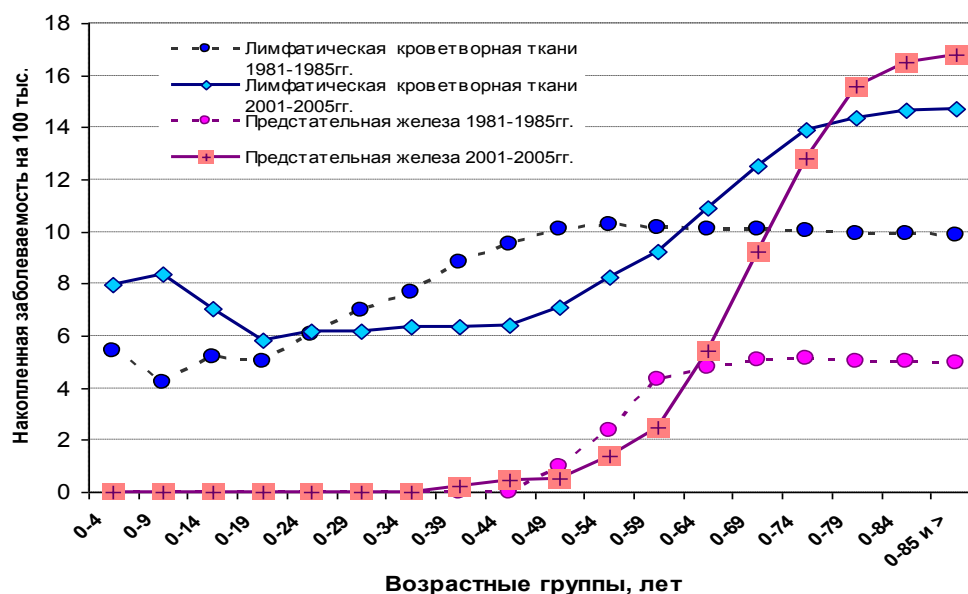


Рис. 7. Особенности развития ЗНО в зависимости от продолжительности биологического латентного периода

Такие устойчивые параметры развития ЗНО в популяциях обусловлены, по-видимому, действием одного и того же механизма канцерогенеза, несомненно, имеющего генетическую природу. Причем этот механизм может быть реализован при соблюдении двух условий:

- 1) если этиологический фактор канцерогенеза будет наследуемым и «территориально» находиться в геноме стволовых клеток [6];
- 2) если злокачественная опухоль будет развиваться в соответствии (параллельно) с реализацией генетической программы жизнедеятельности организма человека.

На основании представленных данных можно логически описать следующий порядок образования и развития ЗНО в популяциях:

1. После оплодотворения яйцеклетки в первую очередь определяется пол и соответственно формируются две генетические программы, идентичные для генотипа и фенотипа организма.

2. В создании этих программ принимают равное доленое участие генетические программы, заложенные в половых клетках мужчин и женщин. Естественно, чем больше генетического «брака» у родителей, тем в большей степени возрастает вероятность передачи наследственных аномалий потомству.

3. В процессе жизнедеятельности многих поколений в генофонде различных популяций формируется так называемый генетический онкологический груз. Это, своего рода, генетическая онкологическая предрасположенность, которая в настоящее время составляет примерно 20% от ныне живущего населения.

4. Ежегодная клиническая реализация генетической онкологической предрасположенности составляет 0,2-0,3%, причем практически в равном отношении по числу впервые выявленных ЗНО в мужской и женской популяциях. Важно заметить, что это отношение фактически не зависит от географии проживания, условий жизни населения и года постановки диагноза.

5. Для каждой локализации ЗНО характерна своя строго фиксированная онкологическая предрасположенность, которая передается по наследству и, в конечном итоге, формирует устойчивую структуру онкозаболеваемости в популяциях.

6. Развитие ЗНО происходит на протяжении всей жизни человека, включая внутриутробный период. Время клинического проявления ЗНО зависит от пролиферативной активности органо-специфических стволовых клеток.

7. На уровне организма имеются два наиболее активных периода пролиферации эрток – это внутриутробный органогенез и постнатальный рост и функциональная специализация по органам и системам. Последний примерно к 20 годам жизни завершается в полном объеме. Именно после этого срока в популяциях отмечается прогрессивный рост ЗНО. Это своего рода интегральный срок латентного периода развития ЗНО на популяционном уровне. Для каждой локализации опухоли характерен свой строго фиксированный латентный период, продолжительность которого составляет время от рождения до первых устойчивых случаев фиксации ЗНО на популяционном уровне.

8. В соответствии с физиологической активностью пролиферации меняется темп прироста половозрастной онкозаболеваемости как суммарно по всем нозологическим формам, так и по отдельным локализациям. Наиболее высокий темп роста ЗНО отмечается примерно до 50-летнего возраста, далее он постепенно снижается и к 80 годам составляет всего 1-2% вновь выявленных случаев ЗНО. Для каждой локализации темп прироста ЗНО имеет свои характерные особенности.

Таким образом, можно заключить, что основным этиологическим фактором канцерогенеза является с годами накопленная нестабильность генома органо-специфических стволовых клеток. Трансформация таких клеток в злокачественную опухоль происходит в результате физиологической пролиферации клеток, активность которой меняется в процессе жизнедеятельности организма. Действие факторов внешней среды осуществляется по двум направлениям: 1) на уровне генотипа (генофонда). Их действие сводится к образованию нестабильности генома и, в конечном итоге, к дополнительному росту популяционной генетической онкологической предрасположенности; 2) на уровне фенотипа (популяции) – они выступают как

промоторы: стимулируют рост скрытых, «молчащих» опухолей и, сокращая время латентного периода развития ЗНО, приводят их к более ранней клинической манифестации. Стимулирующий эффект внешних факторов происходит за счет процессов ускоренной пролиферации. По всей вероятности, основной причиной возникновения злокачественной опухоли является наличие в геноме стволовой клетки наследуемого поврежденного (мутированного) гена, ответственного за обеспечение нормальной дифференцировки пролиферирующих клеток и, соответственно, за их продвижение по жизненному циклу [1]. По остальным показателям раковая стволовая клетка не имеет принципиальных функциональных отличий от нормальной стволовой клетки (рис. 8). Она сохранила способность к делению, функцию ангиогенеза, ухода от апоптоза и иммунной агрессии и т. д. [7, 8, 9].

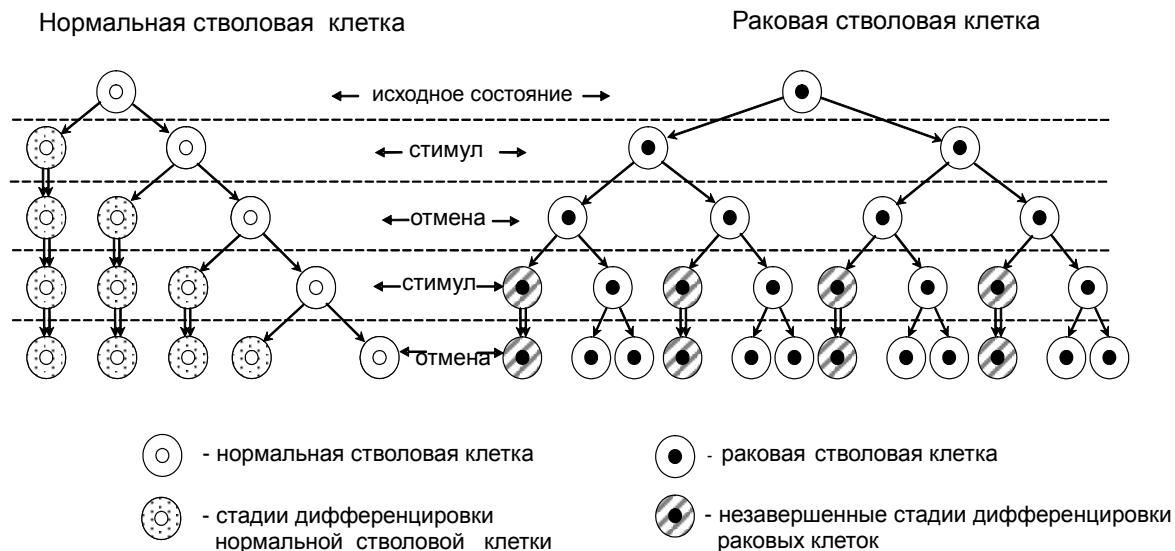


Рис. 8. Схема воспроизводства нормальных и раковых стволовых клеток

Данные рис. 8 можно прокомментировать следующим образом. В обычном спонтанном состоянии нормальная и раковая стволовые клетки находятся в стадии G_0 и начинают свое активное действие (деление) только в том случае, когда поступит сигнал о необходимости воспроизводства функциональных клеток.

После того, как орган или ткань восстановят клеточный и функциональный потенциал, поступает сигнал на отмену пролиферации. Нормальные и раковые стволовые клетки вновь переходят в стадию G_0 . В случае нормы одна из дочерних клеток остается стволовой, другая вступает на путь дифференцировки, и таким образом сохраняется необходимый клеточный гомеостаз. Если в пролиферирующей клетке нарушена система дифференцировки (раковая клетка), то после деления две дочерние клетки остаются потенциальными стволовыми, готовыми к дальнейшему делению.

При последующих сигналах к пролиферации пул раковых стволовых клеток будет прогрессивно расширяться. Соответственно, чем чаще будет поступать сигнал к пролиферации, тем быстрее будет расти злокачественная опухоль.

Периодичность поступления сигнала к пролиферации зависит от продолжительности жизненного цикла клетки, от функциональной активности (нагрузки) органа или ткани, от действия дополнительных факторов внешней и внутренней среды. Поскольку для каждого органа и ткани характерен свой строго детерминированный режим работы, то опухоли будут развиваться с разной интенсивностью. Именно этим можно объяснить различную продолжительность биологического латентного периода развития опухоли до ее клинической манифестации.

Учитывая данные современной геномики по структуре и организации геномной ДНК человека (Venter J.C., Adams M.D. et al., 2001), а также новейшие данные по биологии и генетике рака (Weinberg R.A., 2006), есть все основания предполагать, что в основе такого

фактора генетической природы может быть множественная нестабильность геномной ДНК, препятствующая дифференцировке пролиферирующих клеток и прохождению их по жизненному циклу [15].

Безусловно, дифференцировка и созревание пролиферирующей клетки не одномоментный процесс, он растянут во времени и на каждом этапе жизни клетки имеется своя строго детерминированная система генетической регуляции. Нарушение этой генетической программы на различных этапах дифференцировки и созревания клеток приведет к известному полиморфизму опухоли, но при этом «все признаки неопластической клетки отражают особенности поведения нормальной клетки в тех или иных условиях» (Абелев Г.И., Копнин Б.П., 2000) [1, 7].

В этой связи, заключение авторов о том, что «злокачественный рост клеток основан на автономной и неограниченной пролиферации клеточного клона...» [13, 15], вряд ли можно принять за абсолютную истину. При сохранившейся нормальной системе дифференцировки клеток следует ожидать гиперплазию клеток, но не развитие рака. В основе доброкачественной опухоли лежат нарушения (блок), препятствующие прохождению дифференцированных клеток по жизненному циклу на стадии старения и элиминации (рис. 9).

Мы отдаем себе отчет в том, что выявленные закономерности развития онкологической заболеваемости в популяциях позволяют лишь высказать определенную гипотезу канцерогенеза, требующую в дальнейшем дополнительных экспериментальных и клинических исследований. В этой связи уместно вспомнить мудрые слова известного американского патолога Е. Каудри, посвятившего всю свою жизнь изучению развития раковой клетки: «На протяжении всей истории изучения опухолей многочисленные открытия меняли представления об опухоли и открывали новые пути исследования, представляющие большую ценность. Значение некоторых открытий, сделанных много лет назад, стало ясным лишь теперь, ретроспективно. Самые последние открытия трудно подчас оценить вполне объективно» [Е. Каудри, 1955]. Не является исключением и представляемая нами гипотеза популяционного канцерогенеза.

Литература

1. Абелев, Г.И. Механизмы дифференцировки и опухолевый рост. Обзор / Г.И. Абелев // Биохимия. – 2000. – Т. 65, № 1. – С. 127-138.
2. Абелев, Г.И. На пути к пониманию природы рака. Обзор / Г.И. Абелев, Т.Л. Эрайзер // Биохимия. – 2008. – Т. 73, № 5. – С. 605-618.
3. Имянитов, Е.Н. Молекулярная онкология для клиницистов: год 2008. /Е.Н. Имянитов// XII Российский онкологический конгресс. Материалы конгресса, 18-20 ноября 2008 г.. – С. 32-34.
4. Имянитов, Е.Н. Молекулярная онкология: клинические аспекты/ Е. Н.Имянитов, К. П.Хансон. – СПб.: СПбМАПО, 2007. – 211 с.
5. Канцерогенез /под ред. Д.Г. Заридзе. – М.: Медицина, 2004 – 576 с.
6. Кларк М. Раковые стволовые клетки /М. Кларк, М. Бекер // В мире науки. – 2006. – № 10. – С. 28-35.
7. Копнин, Б.К. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза (обзор) / Б.К.Копнин// Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 1. – С. 5-33.
8. Копнин, Б. П. Молекулярные механизмы канцерогенеза // Энциклопедия клинической онкологии : [осн. Средства и методы диагностики и лечения злокачеств. Новообразований : руководство для практикующих врачей] / гл. ред. М. И. Давыдова. – М., 2004. – С. 34-59.
9. Лихтенштейн, А.В. Рак как программируемая гибель организма / А.В.Лихтенштейн // Биохимия. – 2005. – Т. 70, вып. 9. – С. 1277-1288.
10. Сборники «Злокачественные новообразования в России», изданные МНИОИ в 1986-2006 гг.
11. Чумаков, П.М. Функция гена Р-53: выбор между жизнью и смертью (обзор) /П.М.Чумаков//Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 1. – С.34-47.
12. Cancer Incidence in Five Continents /Parkin D.M., Whelan S.L., Ferlay J. et al. //IARC Scientific Publications, Lyon. – 2003. – Vol. 8. –P.781.
13. Hanahan, D. The Hallmarks of Cancer / D.Hanahan, R.Weinberg // G. Cell – 2000. – V.100, Issue 1, 7. – P. 57-70.
14. Leaf, C. Why we're losing the war on cancer (and how to win it) /C. Leaf // Fortune. – 2004. – Vol. 149. – P. 76-82, 84-86, 88 passim.
15. Weinberg, R. The Biology of Cancer / R. Weinberg //Garland Science, 2006. –p.864.
16. Wicha, M.S. Cancer stem cells: an old idea – a paradigm shift / M.S.Wicha, S.Liu, G.Dontu // Cancer. Res. – 2006. – Vol.4. –P. 1883-1890.
17. World Cancer Report. Stewart B.W. and Kleihues P. (Eds). – IARC Press, Lyon, 2003, p. 351.

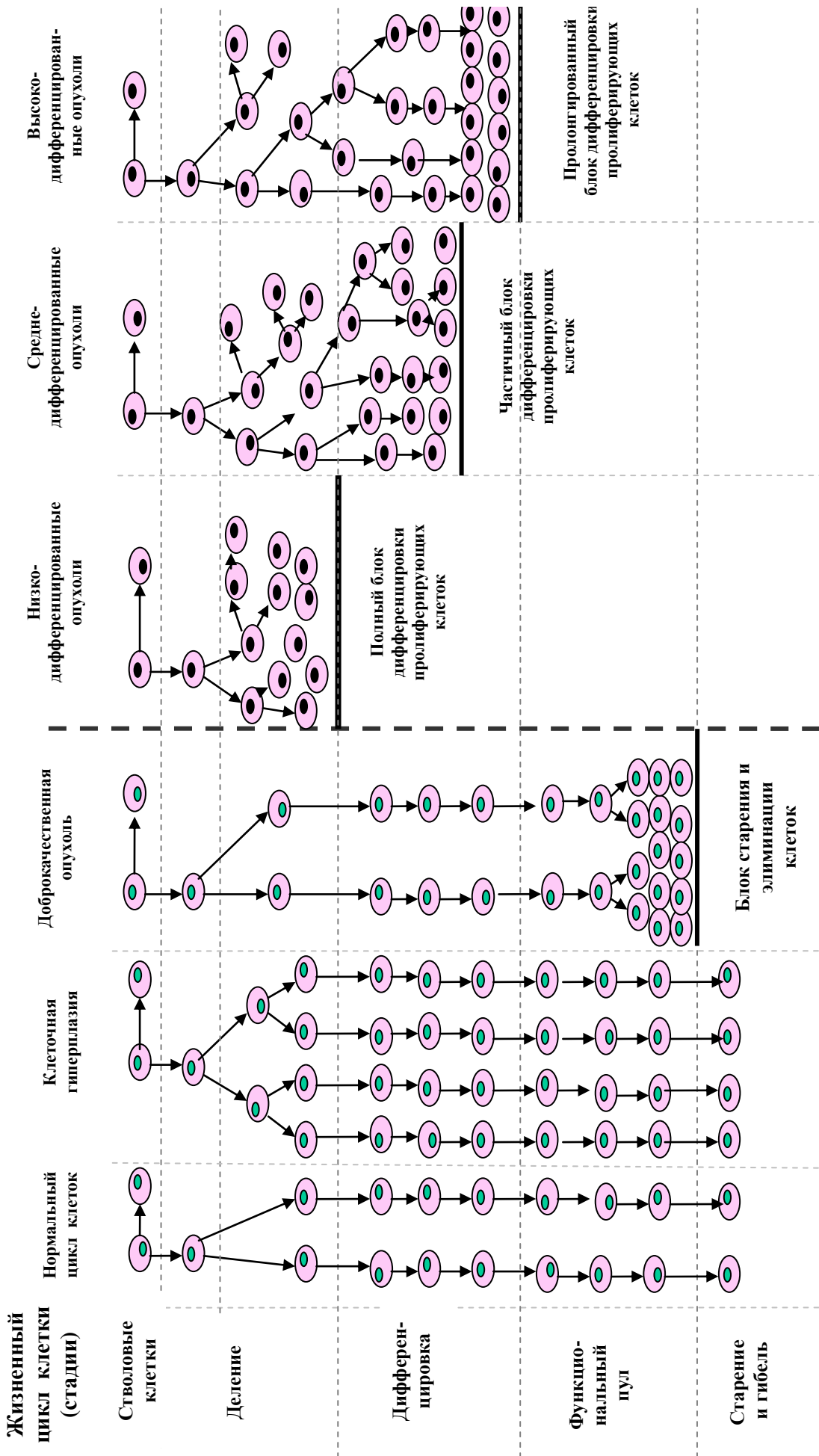


Рис. 9. Схема формирования нормального клеточного гомеостаза, клеточной гиперплазии, доброкачественной опухоли и на разных стадиях злокачественной опухоли



MEDICAL-BIOLOGICAL REGULARITIES OF THE DEVELOPMENT OF MALIGNANT NEOPLASMS ON THE POPULATION LEVEL: RATIONALE THE POPULATION OF THE CONCEPT OF CARCINOGENESIS

T.P. GOLIVETS¹
B.S. KOVALENKO¹
E.M. PARSHKOV²
V.A. SOKOLOV²

¹National State Research University

*²Medical Radiological Scientific Centre,
Obninsk*

e-mail: golivets@yandex.ru

On the basis of our own experience and the analysis of literature data on oncoepidemiology, it was established that malignant neoplasms are developing on a strictly deterministic program regardless of the living conditions of the population.

Key words: cancer,. Malignant neoplasms, carcinogenesis

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.346.2-002+616.381-072.1

РОЛЬ ЛАПАРОСКОПИИ В ДИАГНОСТИКЕ АППЕНДИЦИТА

А.А. КОПЫЛОВ^{1,2}, **Б.С. КОВАЛЕНКО**¹
Ю.В. КОРНИЕНКО², **Д.В. ВОЛКОВ**¹
Д.В. МАСЛОВ²

¹Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

²Муниципальная бюджетная
городская клиническая
больница №1, г. Белгород

e-mail: dr_alexob@bk.ru

Проведен анализ результатов диагностики острого аппендицита за период с 2008 по 2010 гг. На основании клинических примеров проанализированы результаты, полученные при выполнении диагностической лапароскопии у больных с острым аппендицитом. Полученные данные сопоставлены с результатами гистологических заключений. Отмечена высокая чувствительность и специфичность диагностической лапароскопии в диагностике острого аппендицита.

Ключевые слова: острый аппендицит, диагностическая лапароскопия, аппендэктомия.

На сегодняшний день острый аппендицит является наиболее распространенным хирургическим заболеванием органов брюшной полости. Однако, несмотря на появление в последние годы новых методов диагностики и лечения данного заболевания, количество «напрасных» аппендэктомий по данным ряда авторов колеблется от 17 до 43% [1, 2, 3, 4]. Наиболее эффективным методом дифференциальной диагностики острого аппендицита является лапароскопия [5, 6, 7]. Ее использование позволяет уменьшить число послеоперационных осложнений в 2-4 раза по сравнению с «традиционной» аппендэктомией [1, 2, 8]. В то же время, в доступной литературе приводятся противоречивые данные о показаниях и противопоказаниях к диагностической и лечебной лапароскопии при подозрении на острый аппендицит [1, 3, 9]. Не описаны единые стандарты диагностики и лечения острого аппендицита с применением лапароскопии [5, 6, 7].

Цель настоящего исследования: оптимизация диагностики острого аппендицита путем уточнения показаний к лапароскопии.

Материалы и методы. С 2008 по 2010 гг. в хирургическое отделение МБУЗ ГКБ №1 было госпитализировано 1737 пациентов с подозрением на острый аппендицит. Распределение больных по полу и возрасту представлено в табл. 1.

Таблица 1

Структура больных с подозрением на острый аппендицит

Результат диагностики	Возраст		15-29		30-44		45-59		60-74		> 75		ИТОГО	
	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж	М	Ж				
Аппендицит установлен без ЛС	158	159	238	203	192	117	97	123	16	31	1334	76,8%		
Аппендицит исключен без ЛС	21	23	31	27	21	25	15	12	1	2	178	10,2%		

Продолжение табл. 1

Гипердиагностика аппендицита без ЛС	1	9	1	4	1	2	3	6	3	4	34	2,0%
Гиподиагностика аппендицита без ЛС	0	3	0	1	2	2	1	0	1	2	12	0,7%
Аппендицит установлен после ЛС	11	13	20	21	19	7	0	1	0	0	92	5,3%
Аппендицит исключен после ЛС	10	20	14	15	12	9	4	2	0	1	87	5,0%
ИТОГО	201	227	304	271	247	162	120	144	21	40	1737	
	428		575		409		264		61			
	24,6%		33,1%		23,5%		15,2%		3,6%			

Аппендэктомия различным способом выполнена в 1472 случаях, из них 1380 аппендэктомий без предварительной лапароскопии и 92 – после диагностической лапароскопии. В 178 случаях аппендицит был исключен без помощи лапароскопии, а в 87 – при помощи диагностической лапароскопии.

По степени деструкции удаленные червеобразные отростки распределились следующим образом: катаральные – 384 (26,1%); флегмонозные – 906 (61,5%); гангренозные – 128 (8,7%); осложненные – 54 (3,7%).

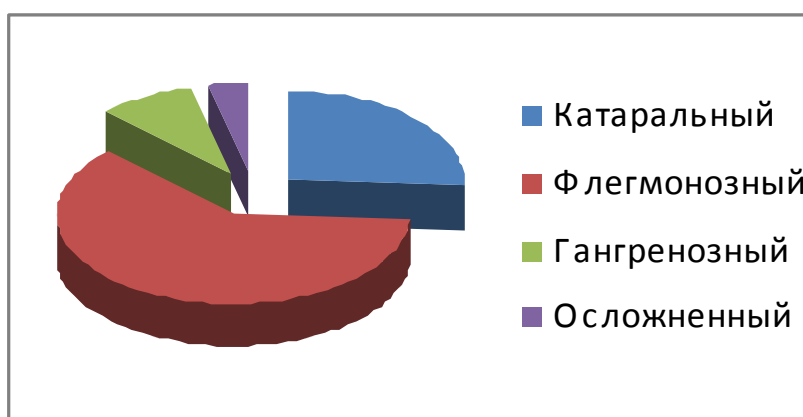


Рис. Распределение АО по степени деструкции

Результаты исследования. У 179 больных с подозрением на острый аппендицит (ОА) была выполнена диагностическая лапароскопия, при которой в 92 (51,4%) случаях диагноз ОА был подтвержден и выполнена аппендэктомия. По степени деструкции червеобразного отростка достоверных отличий от общей выборки не выявлено.

В 63 (35,2%) случаях были выявлены другие заболевания органов брюшной полости, среди которых гинекологические – у 31 пациентки, из них в 28 случаях диагностическая лапароскопия перешла в лечебную либо выполнена лапаротомия; у 11 пациентов – острый мезаденит; у 10 – заболевания толстой кишки; у 7 – деструктивный холецистит; у 4 – дивертикулит Меккеля.

В 24 (13,4%) случаях при диагностической лапароскопии патологических изменений органов брюшной полости выявлено не было. Из них уже в послеоперационном периоде у 12 пациентов установлены заболевания правой почки, у 6 гастродуоденальные язвы, у 2 острый гепатит, у 1 правосторонняя нижнедолевая пневмония. В 3 случаях методом исключения установлена кишечная колика.

В 16 (8,9%) наблюдениях при лапароскопии червеобразный отросток осмотреть не удалось даже после мобилизации слепой кишки, ввиду чего всем пациентам в данной группе выполнена аппендэктомия, в 11 случаях острый аппендицит подтвердился, гипердиагностика имела место в 5 наблюдениях.



При гистологическом исследовании 1380 червеобразных отростков, удаленных без предварительной лапароскопии, деструктивные формы были подтверждены в 1033 случаях (74,9%). В остальных 347 (25,1%) случаях была установлена катаральная форма аппендицита. Из них 34 (2,5%) пациента в раннем периоде после аппендэктомии оперированы повторно по поводу недиагностированных острых заболеваний, 13 по поводу острых гинекологических заболеваний, 9 по поводу деструктивного холецистита, в 8 случаях после аппендэктомии выполнена катетеризация правой почки по поводу острого пиелонефрита, 4 пациента оперированы по поводу дивертикулита сигмовидной кишки.

Так, в 34 случаях имела место доказанная гипердиагностика острого аппендицита, летальных исходов в данной группе больных не наблюдалось. Гиподиагностика встречалась реже – 12 наблюдений (0,9%), в этих случаях больные, как правило, находились в стационаре более 1 суток и были оперированы по поводу осложненных форм аппендицита. В данной группе было 2 летальных исхода.

Для оценки эффективности диагностических алгоритмов использовались классические критерии: чувствительность и специфичность. Исходные данные представлены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты верификации диагностических алгоритмов

№ п/п	Алгоритм диагностики	Кол-во	Правильно распознано		Неправильно распознано	
			Ист + (А)	Ист – (В)	Гипод-ка ©	Гиперд-ка (D)
1	Без ЛС	60	1334	178	12	34
2	Дополненный ЛС	110	1426	265	0	5

Чувствительность алгоритма диагностики без ЛС составила 99,1%, специфичность – 84%. Чувствительность алгоритма диагностики с использованием диагностической лапароскопии составила 100%, специфичность – 98,1%.

Выводы

1. Расширение показаний к лапароскопии позволяет оптимизировать диагностический процесс при подозрении на острый аппендицит.
2. Использование лапароскопии позволяет практически реализовать концепцию органосохраняющего подхода при остром аппендиците.
3. С помощью лапароскопии удается снизить частоту напрасных аппендэктомий без риска не диагностировать другие патологические процессы брюшной полости.
4. Лапароскопическая ревизия брюшной полости позволяет определить точную локализацию червеобразного отростка и завершить вмешательство малоинвазивно.

Литература

1. Лапароскопия в диагностике и лечении острого аппендицита / П.А. Ярцев, А.С. Ермолов, Г.В. Пахомова и др. // Хирургия. – 2010. – №4. – С. 21-25.
2. Варианты эндоскопической хирургии острого аппендицита в БСМП / Ю.Т. Цуканов, Е.В. Матвеев, А.В. Трубачева и др. // Эндоскоп. хир. – 2006. – №2. – С. 148-152.
3. Traditional and laparoscopic appendectomy in adults: outcomes in English NHS hospitals between 1996 and 2006 / O. Faiz, J. Clark, T. Brown et al. // Ann. Surg. – 2008. – V. 248. – №5. – P. 800-806.
4. Leblanc, K.A. Management of Laparoscopic surgical complications / K.A. Leblanc // New Orleans, Louisiana, USA, 2004. – P. 518.
5. Возможности эндохирургии в лечении деструктивных форм острого аппендицита / Э.В. Луцевич, Э.А. Галлямов, Э.Н. Праздников // Здравоохр. Башкортостана. – 2004. – №3. – С. 65–66.
6. Пряхин, А.Н. Лапароскопическая аппендэктомия / под ред. С.А. Совцова. – Челябинск, 2005. – 64 с.
7. Значение лапароскопии в диагностике острого аппендицита / Ю.Г. Шапкин, Ю.В. Чалык, В.В. Звягинцев, А.А. Гоголев // Эндоскоп. хир. – 2004. – №4. – С. 45–48.
8. Васильев, А.Ф. Осложнения лапароскопической аппендэктомии / А.Ф. Васильев, Е.В. Братчиков, А.П. Березницкий // Эндоскоп. хир. – 2006. – №2. – С.27-32.
9. Factors Associated with Conversion to Laparotomy in Patients Undergoing Laparoscopic Appendectomy / Liu S.I., Siewert B., Raptopoulos V. et al. // J of the American College of Surgeons. – 2002. – V.194. – №3. – P. 298–305.



LAPAROSCOPY'S ROLE IN APPENDICITIS DIAGNOSTICS

A.A. KOPYLOV^{1,2}

B.S. KOVALENKO¹

U.V. KORNIENKO²

D.V. VOLKOV¹

D.V. MASLOV²

¹ *Belgorod National Research University*

² *Municipal clinical hospital №1, Belgorod*

e-mail: dr_alexo6@bk.ru

The analysis of results of diagnostics of an acute appendicitis from 2008 to 2010 is performed. On the basis of clinical examples is carried out the results received at performance of a diagnostic laparoscopy at patients with an acute appendicitis are analysed. The obtained data is compared with results of the histological conclusions. High sensitivity and specificity of a diagnostic laparoscopy in acute appendicitis are reveal.

Keywords: acute appendicitis, diagnostic laparoscopy, appendectomy.

НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

УДК 618.1-006.6-036.3

РАЗРАБОТКА УСТРОЙСТВА ДЛЯ ФОРМИРОВАНИЯ СЛИЗИСТО-НАДКОСТНИЧНОГО ЛОСКУТА ПРИ ДЕНТАЛЬНОЙ ИМПЛАНТАЦИИ

**О.О. НОВИКОВ, В.П. ЧУЕВ
Е.Т. ЖИЛЯКОВА, В.С. КАЗАКОВА
М.А. ТРУБИЦЫН, Д.А. ФАДЕЕВА**

*Белгородский
государственный
национальный
исследовательский
университет*

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

В статье приведены результаты разработки устройства для формирования слизисто-надкостничного лоскута при дентальной имплантации. Предлагаемое устройство обеспечивает технологичное и экспрессное формирование линии разреза слизисто-надкостничного лоскута заданных параметров для оптимизации процесса заживления и эпителизации слизистой оболочки в послеоперационном периоде. Его можно использовать в хирургических отделениях лечебно-профилактических медицинских учреждений стоматологического профиля при дентальной имплантации.

Ключевые слова: имплантация, дентальный имплант, слизисто-надкостничный лоскут.

Введение. Имплантация занимает особое место в оказании высококвалифицированной стоматологической помощи. Цель имплантологии не только в том, чтобы восстановить функции, ощущение комфорта, анатомию лица, но и в том, чтобы вернуть человеку привлекательность и здоровье. Дентальная имплантация – один из самых популярных методов протезирования зубов. С годами этот метод становится все более востребованным и действенным. Использование классических съёмных протезов связано с рядом неудобств (при общении, употреблении пищи и т. д.). В отличие от них, дентальные имплантаты решают все проблемы неудобства, обладая высокой надежностью и эстетическим видом [8].

Дентальный имплантат – это специальный стержень (винт) 3-5 мм в диаметре. Он изготавливается из титана, циркония, лейкосапфиров и различных видов керамики с применением высоких технологий, в т.ч. нанотехнологий. Затем стержень хирургическим путем вживляется в челюсть, и на него надевается искусственный зуб.

Случаи отторжения имплантов очень редки и составляют 0,4-4%. Это означает, что риск осложнений после имплантации зубов существенно ниже, чем при использовании классических мостовидных протезов [4].

Устройство для формирования слизисто-надкостничного лоскута, то есть слизистой оболочки полости рта, который отслаивается вместе с надкостницей с поверхности кости перед имплантацией или во время других стоматологических хирургических операций при дентальной имплантации, служит целям хирургической стоматологии. Оно может быть использовано для протезирования на имплантатах при создании доступа через слизистую оболочку полости рта и надкостницу к костной ткани в области введения имплантата [6].

Установка зубного имплантата включает несколько стадий, первая из них – формирование имплантационного ложа, когда производится разрез слизистой оболочки и препарирование тканей челюсти с отделением десны и надкостницы, т. е. производится обнажение костной ткани челюсти. Далее обрабатывается поверхность костной ткани и делается отметка на костном ложе для установки имплантата. Предварительная обработка бором собственно костной ткани может не понадобиться при некоторых разновидностях технологий установки имплантата, т. е. достаточно провести лишь ее обнажение [3].

Известно, что состояние раневых краев играет важную роль в процессе заживления [1].

Исследования на животных показали, что периодонтальные раны могут заживать по тем же законам, что и все другие раны, с формированием фибринового сгустка между лоскутом и поверхностью корня. При попытках достижения регенерации лоскут располагается таким образом, чтобы он закрывал критическую зону заживления. Подвижность лоскута, непосредственно прилегающего к потенциально регенерирующему участку, может нарушить связь фибриновый сгусток поверхность корня, что вызовет их разрыв. Такие разрывы могут отсрочить заживление и, возможно, способствовать апикальной миграции эпителия [2].

Для проведения разреза слизисто-надкостничного лоскута с последующим отслаиванием при дентальной имплантации рекомендовано применение лазера [7]. Недостатком данного способа является произвольность проведения разреза и неровность краев слизисто-надкостничных лоскутов.

В настоящее время общепринято использовать скальпель для проведения разреза слизистой оболочки полости рта и надкостницы в области введения имплантата [8]. Недостатком применения скальпеля является сложность создания ровной линии разреза и создания слизисто-надкостничного лоскута необходимой формы.

Существует устройство в виде циркуля с градуированной шкалой, причем одна «ножка» циркуля жестко соединена со шкалой и заканчивается заостренным шипом, вторая «ножка» подвижна относительно первой и шкалы и заканчивается острым режущим элементом [5]. Недостатком применения данного устройства является сложность его применения в любой клинической ситуации из-за громоздкости («неповоротливости») конструкции. Кроме того, необходимость осуществления данным устройством режущего движения может приводить к дополнительному размозжению краев формируемого лоскута.

В соответствии с вышесказанным, поставлена **цель** – создать устройство для технологичного и экспрессного формирования линии разреза слизисто-надкостничного лоскута заданных параметров и оптимизации процесса эпителизации – заживления слизистой оболочки в послеоперационном периоде.

Полученные результаты. Поставленная цель достигнута, создано устройство, представленное на рисунке, состоящее из основания 1 с ручкой 2, рабочая часть которого имеет полость с, например, магнитным креплением 6, позволяющую фиксировать полулунный нож 5 нужного размера с торцевой заточкой 7. Устройство имеет подвижный защитный кожух 3, зафиксированный на рабочей части основания 1 пружиной на сжатие 4.

Устройство следует использовать при введении дентальных имплантатов во фронтальном отделе полости рта следующим образом. Определяется размер слизисто-надкостничного лоскута для диаметра вводимого имплантата, и, в соответствии с данным размером, выбирается торцевой нож 5 и фиксируется в полости с магнитным креплением 6. Основание 1 устройства устанавливается на защитный кожух 3 в зоне хирургического вмешательства в нужном ракурсе. Коротким нажатием на ручку 2 основания 1 защитный кожух 3 сдвигается вместе с пружиной 4 по основанию 1, при этом нож 5 формирует полулунный за счет торцевой заточки 7 разрез слизистой оболочки и надкостницы. После произведения разреза лоскут откидывают и вводят имплантат по общепринятой методике с дальнейшим ушиванием лоскута.

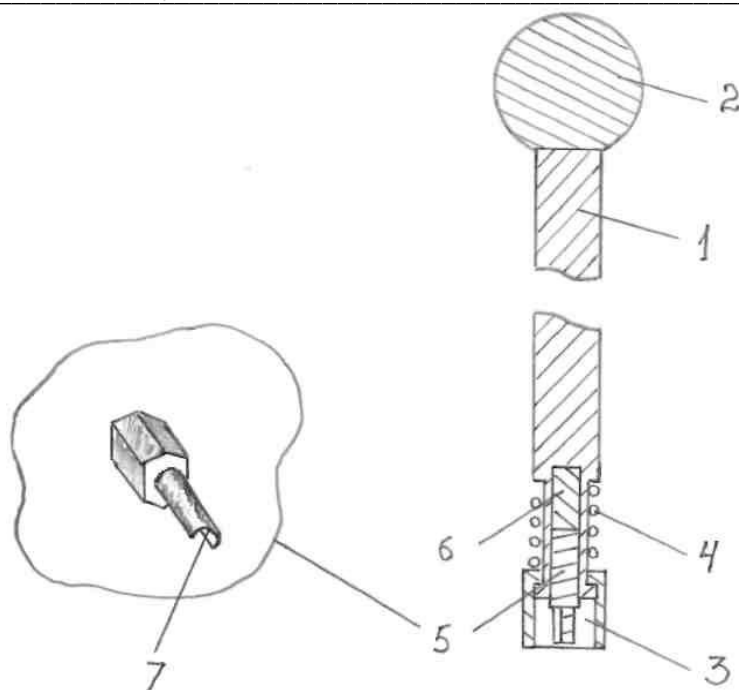


Рис. Предлагаемое устройство для формирования слизисто-надкостничного лоскута

Заключение. Таким образом, предлагаемое устройство обеспечивает технологичное и экспрессное формирование линии разреза слизисто-надкостничного лоскута заданных параметров для оптимизации процесса заживления и эпителизации слизистой оболочки в послеоперационном периоде, его можно использовать в хирургических отделениях лечебно-профилактических медицинских учреждений стоматологического профиля при дентальной имплантации.

В настоящее время проводится клиническая апробация разработанного устройства.

Работа выполнена в рамках договора об условиях предоставления и использования субсидии на реализацию комплексного проекта по созданию высокотехнологичного производства, выполняемого с участием российского высшего учебного заведения № 13.G25.31.0006 от 07.09.2010 г. «Биосовместимые композиционные и кальцийсодержащие остеопластические и лечебно-профилактические материалы для медицины».

Литература

1. Гирголав, С. С. Общее понятие о ране и ее заживлении / С. С. Гирголав, П. А. Куприянов [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.pistoletchik.ru/library/tiposdeherridos.html>
2. Дробышев, А.Ю. Реабилитация пациентов с применением дентальной имплантации и костной пластики / А.Ю. Дробышев [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.zhusev.ru/147.html>
3. Ломакин, М.В. Стоматологическая имплантология /М.В. Ломакин. – М.:ГЭОТАР-МЕД, 2004. -296 с.
4. Параскевич, В.Л. Дентальная имплантация /В.Л. Параскевич. – М.: Медицинское информационное агентство, 2006. – 400 с.
5. Патент на полезную модель РФ №93262.- Заявка: 2009146595/22, 15.12.2009. – Опубликовано: 27.04.2010.
6. Раздорский, В.В. Поднадкостничная иплантация /В.В. Раздорский // Новое в стоматологии. – 2008. – 74 с.
7. Рисованная, О.Н. Концепция сохранения костной ткани в имплантологии с использованием CO₂ лазера / О.Н. Рисованная // DENTAL MARKET.- 2007.- №1. – С. 44-49.
8. Робустова, Т.Г. Имплантация зубов (хирургические аспекты) / Т.Г. Робустова // М.: Медицина, 2003. – С. 294-320.



DEVELOPMENT OF DEVICE FOR FORMATION OF MUCOPERIOSTEUM FLAP IN DENTAL IMPLANTATION

**O.O. NOVIKOV, V.P. CHUEV
E.T. ZHILYAKOVA, V.S. KAZAKOVA
M.A. TRUBITSYN, D.A. FADEEVA**

Belgorod National Research University

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

This article describes results of the development of devices for the formation of mucoperiosteum flap in dental implantation. The proposed device provides technological and express forming line incision mucoperiosteum flap settings to optimize the process of healing and epithelization mucous in the postoperative period, and it can be used in surgical wards and curative health facilities dental profile when dental implantation.

Key words: implantation, dental implant, mucoperiosteum flap.

РЕКОМЕНДАЦИИ

УДК 616-006.6-089:618.1

ХИМИОТЕРАПИЯ ОПУХОЛЕЙ ЖЕНСКОЙ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ: ОПРЕДЕЛЕНИЯ И МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

В.Н. ДМИТРИЕВ^{1,2}, **Т.П. ГОЛИВЕЦ**¹
И.В. СУХОТЕРИН^{1,2}, **Б.С. КОВАЛЕНКО**¹
И.И. ЗЫБЕНКО²

¹*Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет*

²*Белгородский онкологический
диспансер*

e-mail: vadd@mail.ru

В статье рассмотрены возможности химиотерапевтического лечения злокачественных новообразований женской репродуктивной системы. Представлены методологические аспекты дозирования, частоты курсов и оценки эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: онкология, химиотерапия, опухоли женской репродуктивной системы.

Принципы системного лечения рака. Современные исследования развития рака показали, что в большинстве случаев уже к моменту выявления ранних стадий рака присутствуют микрометастазы. Эта возможность субклинического протекания онкопроцесса обосновывает проведение системной химиотерапии даже при ограниченных процессах [3, 4].

В большинстве случаев химиотерапия включает применение по меньшей мере двух противоопухолевых препаратов в комбинации (полихимиотерапия) [1]. Для предотвращения развития резистентности к химиотерапевтическим препаратам используют лекарственные средства с различным механизмом действия (с тенденцией к взаимному усилению эффекта) и различными токсическими действиями. Во избежание гипертоксичности выбираются препараты разных групп.

Химиотерапия проводится прерывистыми курсами с перерывами, которые позволяют восстанавливаться поврежденным нормальным клеткам и в то же время предотвращают деление опухолевых клеток.

Другая стратегия лечения заключается в использовании химиотерапии в виде длительной инфузии химиопрепаратов [20]. В отличие от прерывистых курсов химиотерапии, эффективность которых зависит от пиковой концентрации химиопрепаратов в плазме, длительное введение химиопрепаратов позволяет достичь более продолжительного воздействия лекарственных средств и поэтому увеличивает вероятность повреждение злокачественных клеток в тех фазах клеточного цикла, в которые они наиболее чувствительны к воздействию данного препарата [13].

Общепринято выбирать химиотерапевтический режим в соответствии с целями и задачами лечебной программы.

Изучение взаимодействий между противоопухолевой фармакодинамикой и клеточным метаболизмом позволяет рационализировать программу химиотерапии. Практически все химиотерапевтические препараты обладают двумя основными характеристиками: они воздействуют на делящиеся клетки и практически не затрагивают остальные клетки. Лечебный эффект, а также токсичность химиопрепаратов зависит от времени воздействия на ткани и органы, терапевтической дозы цитотоксического препарата.

Эффективность проводимого лечения. Существует принципиальная разница

между опухолью, которую возможно оценить с помощью инструментальных методов обследования, и опухолью, в оценке которой используются косвенные признаки. К первой группе относятся опухоли локализаций, доступных для измерения с помощью инструментальных методов. Это позволяет врачу оценить лечебное действие противоопухолевых средств путем повторного измерения размеров опухоли после проведения химиотерапии. Размеры опухолей второй группы не могут быть точно измерены из-за их локализации, например, остеосаркомы с отсутствием мягкотканного компонента. Наблюдение за онкомаркерами в динамике с отсутствием данных о размерах опухоли также относится ко второй группе.

Критерии противоопухолевого эффекта. Полный эффект подразумевает исчезновение всех поражений в момент обследования. Частичный эффект зависит от выбранной шкалы оценки, установленной ВОЗ [3] или RECIST [4], описывает случаи уменьшения размеров опухоли на 30-50%. Стабилизация – уменьшение размеров опухоли меньше 30% или увеличение меньше 20%. Прогрессирование – увеличение размеров опухоли более 20%, либо появление новых очагов поражения.

Другими параметрами, которые характеризуют противоопухолевую терапию, являются:

- 1) медиана продолжительности полной или частичной ремиссии (отсчитывается от даты, когда установлена ремиссия, до даты, когда отмечено прогрессирование болезни);
- 2) время до прогрессирования (период от начала терапии до первых признаков прогрессирования заболевания);
- 3) время от начала терапии до ее остановки (вследствие прогрессирования заболевания, сопутствующих заболеваний, отсутствия эффекта от лечения, непереносимость лечения или смерть);
- 4) общая выживаемость (время от начала терапии до смерти, смены места жительства или выхода из-под наблюдения).

Адьювантная химиотерапия. Проводится после излечения первичного опухолевого очага хирургическим или лучевым методом. Задача адьювантной химиотерапии заключается в лечении субклинических форм болезни или микрометастазов опухоли.

Обоснование для проведения адьювантной химиотерапии заключается в том, что большая часть смертности от онкологических заболеваний обусловлена рецидивом опухоли при наличии чувствительности к химиопрепаратам у опухолевых клеток.

Рак молочной железы является эталоном химиотерапевтического эффекта, при котором проведение данного вида лечения приводит к снижению риска рецидива на 18-40% и увеличению общей выживаемости на 10-35% [1]. Ранние стадии рака яичников также являются примером использования адьювантной химиотерапии.

Неoadьювантная химиотерапия. Использование неoadьювантной химиотерапии в качестве первого этапа лечения показано больным с неоперабельными формами с целью уменьшения объемов опухоли для выполнения вторым этапом радикальной операции.

Изначально неoadьювантная химиотерапия применялась у больных с местно распространенным раком молочной железы из-за невозможности выполнить радикальную операцию. Внедрение данного вида химиотерапии позволило увеличить общую выживаемость, особенно у больных с инфильтративными формами рака молочной железы, где пятилетняя общая выживаемость была меньше 4%, до 20-70%.

В настоящее время, основываясь на данных крупных клинических рандомизированных исследований, ее терапевтический эффект может быть использован в лечении начальных форм рака молочной железы.

Неoadьювантная химиотерапия предоставляет возможность определения *in vitro* чувствительности опухоли к химиопрепаратам. В то же время она имеет ряд ограничений, включающих возможное развитие резистентности опухоли, трудности в правильном стадировании опухолевого процесса.

Рак шейки матки является одним из примеров эффективности неoadьювантной химиотерапии. Клинические исследования проведения первым этапом химиотерапии, последующей гамматерапией в радикальных дозах показали преимущество (в плане выживаемости пациентов) данной схемы над применением изолированной гамма-терапии. Предположительно этот эффект может быть обусловлен наличием резистентных клонов

клеток опухоли, что снижает эффективность гамматерапии. Применение неoadъювантной химиотерапии перед хирургическим лечением позволяет получить лучший лечебный эффект по сравнению с химиолучевым методом лечения [2].

Продолжительность индукционной химиотерапии у пациентов с распространенной стадией заболевания зависит от выраженности лечебного эффекта и преследуемых целей.

Если лечение носит симптоматический характер, то количество курсов химиотерапии должно быть достаточным для устранения симптомов заболевания, при этом оно не должно вызывать токсического воздействия, ухудшающего качество жизни пациента. Данный подход требует пристального клинического наблюдения с отслеживанием симптомов заболевания и мониторингом токсичности.

Примерно у половины больных с раком яичников на поздних стадиях заболевания возможно проведение оптимальных циторедуктивных операций. Пациенты, которым выполнены субоптимальные циторедуктивные операции, имеют низкий ответ на проводимую химиотерапию, что существенно влияет на прогноз. В этих случаях рекомендовано проводить повторные циторедуктивные операции, целью которых является удаление наибольшего количества опухолевой ткани и достижение полного ответа на химиотерапию.

Консолидирующее лечение. Этот термин используется в тех случаях, в которых был получен полный ответ на адъювантную химиотерапию, и дальнейшее лечение преследует цель закрепить клинический результат, чтобы увеличить продолжительность безрецидивного периода и улучшить выживаемость.

Рак яичников – один из классических примеров для этого вида лечения, так как для данного типа опухоли характерен не только высокий ответ на проводимое химиотерапевтическое лечение, но и частые рецидивы болезни. Для консолидации ремиссии при раке яичников были предложены разные подходы: тотальная лучевая терапия брюшной полости, интраперитонеальная химиотерапия, высокодозная химиотерапия и т. д. Другие стратегии с целями консолидации для этой опухоли включают увеличение курсов химиотерапии. Эффективность терапии консолидации остается спорной.

Параллельная химиотерапия. Под термином «параллельная химиотерапия» подразумевают радиосенсибилизирующий эффект химиотерапии при использовании ее во время лучевой терапии. Эффективность параллельной химиотерапии и лучевой терапии в лечении рака шейки матки была доказана в конце 1990-х гг., когда на основании данных целого ряда рандомизированных исследований у больных со стадией IB2, или выше (II-IV) при использовании химиотерапии во время лучевой терапии выживаемость была выше по сравнению с пациентами, получавшими только стандартную лучевую терапию [6].

Обоснованием для применения указанной методики лечения служат ограничения, накладываемые тканями малого таза, не позволяющие повышать дозу гамма-терапии при облучении опухоли вследствие ее выраженного токсического воздействия. Также имеет место радиосенсибилизирующий синергизм некоторых противоопухолевых средств.

В целом результаты данных рандомизированных исследований продемонстрировали увеличение безрецидивного периода и сокращение смертности в группе больных раком шейки матки, получающих химио-лучевое лечение, особенно при использовании схем с цисплатином.

Чередование различных химиопрепаратов. Этот термин определяет чередование и последовательное использование комбинации различного химиотерапевтического лечения (обычно два), например, методики лечения А и В, примененный согласно графику А-В-А-В, и т. д.

Последовательные режимы химиотерапии предусматривают использование разных химиопрепаратов с различным механизмом воздействия на опухоль. Введение препаратов осуществляют с перерывами, необходимыми для того, чтобы избежать резкое увеличение токсичности используемой схемы, например, последовательная химиотерапия для препаратов А, В, и С – А-В-С. Первый опыт использования подобных схем для лечения рака молочной железы описан Bonadonna и соавторами [7]. Эти авторы провели клиническое испытание, в котором эффективность четырех курсов доксорубина гидрохлорида, с последующими восемью курсами циклофосфана, метотрексата, и фторурацила (CMF) (в последовательном режиме) сравнивалась с двумя курсами CMF, чередуемыми с одним курсом доксорубина до достижения в общей сложности 12 курсов (в переменном режиме). Последовательная химиотерапия с доксорубином, сопровождаемым CMF,

показала лучшие клинические результаты по сравнению с переменным использованием химиопрепаратов или с классическим CMF.

Во многих случаях при распространенном процессе назначается паллиативная химиотерапия, при которой активно обсуждается целесообразность применения монокимиотерапии, основным преимуществом которой является относительно низкая токсичность по сравнению с курсами полихимиотерапии. Как пример можно рассмотреть химиотерапию при раке молочной железы, при которой используется несколько химиопрепаратов. Один подход предполагает проведение монокимиотерапии для индукции (первая линия), а при неэффективности смена химиопрепарата (лечение второй линии), и т. д. Эту стратегию называют последовательной программой. Другой возможный подход включает лечение первой линии с двумя или тремя химиопрепаратами, с эффектом усиления, что влечет за собой также увеличение числа побочных реакций и сопровождается негативным воздействием на качество жизни пациента. В табл. 1 показываются преимущества и недостатки параллельных и последовательных режимов химиотерапии.

Таблица 1

Преимущества и недостатки параллельных и последовательных режимов химиотерапии

Параллельная химиотерапия	Последовательная химиотерапия
Более высокая вероятность ответа	Более низкая вероятность ответа
Более длительное время к прогрессии	Более короткое время к прогрессии
Избегает механизмов устойчивости опухоли	Эквивалентная медиана выживаемости?
Вызывает большое количество неблагоприятных эффектов	Меньше токсических эффектов на организм

Методологические аспекты дозирования препаратов.

Эффективность дозы химиопрепарата. В 1980-х гг. Frei и Canellos [8] показали, что увеличение дозы химиопрепаратов вызывало логарифмическое увеличение цитотоксического эффекта. Эта экспериментальная теория была подтверждена в клинической практике Hryniuk W, Levine MN [9] при использовании адьювантной химиотерапии при раке молочной железы 2-й стадии.

В 1990-х гг. появление гемостимулирующих препаратов позволило клинически провести курсы высокодозной химиотерапии при различных солидных опухолях, включая рак молочной железы и опухоли яичников. Хотя обсуждение результатов этих исследований выходит за пределы данной статьи, была доказана неэффективность режимов высокодозной химиотерапии в большинстве солидных опухолей. Полученные результаты были обусловлены феноменом клеточной гипоксии и механизмами клеточной устойчивости.

Методические указания по проведению химиотерапии при раке гениталий. Большинство опухолей гениталий исходит из эпителиальных тканей, они являются чувствительными к цитотоксическим препаратам. За последние 20 лет было проведено огромное количество клинических исследований по изучению монокимиотерапии, полихимиотерапии в качестве неoadьювантного, паллиативного лечения. Несмотря на это, до сих пор остаются предметом обсуждений вопросы дозирования, частоты курсов химиотерапии.

Паклитаксел при раке яичников. Табл. 2 обобщает данные рандомизированных исследований по применению паклитаксела в дозах 135, 175, 250 мг/кв. м, длительность инфузии – 3 ч, 24 ч, время проведения – еженедельно, каждые 3 или 4 недели.

Паклитаксел в дозе 175 мг/м² с трехчасовой инфузией с введением химиопрепарата каждые 3 недели в монорежиме или в комбинации с другими химиопрепаратами может быть взят за стандарт лечения. Суточная инфузия паклитаксела в той же дозе усиливает миелотоксический эффект. В то же время, трехчасовая инфузия обладает большей нейротоксичностью, и, следовательно, больные, получающие такое лечение, должны находиться под наблюдением.

На основании данных ограниченного количества исследований можно сказать, что еженедельное введение паклитаксела не увеличивает безрецидивную и общую



выживаемость, но требует более частых госпитализаций и гормональной терапии. Но данная схема имеет преимущества в меньшей гематологической токсичности и в большей дозной эффективности.

Хотя лечение паклитакселом у пациентов с полным регрессом опухоли, получавших неоадьювантную терапию, приводит к увеличению безрецидивной выживаемости, оно не может быть рекомендовано в качестве стандарта, так как не приводит к увеличению общей продолжительности жизни и часто вызывает периферическую нейропатию.

Таблица 2

**Исследования по сравнению путей введения доз
и режимов химиотерапии паклитакселом**

Автор	Дизайн исследования (общее кол-во пациентов)	Предшествующее лечение	Способ введения, доза (мг/кв.м), интервал между введениями химиопрепаратов	Результаты	Комментарии
1	2	3	4	5	6
Rosenberg et al 2002 [10]	Рандомизированное (208)	Адьювантная химиотерапия платиновыми производными	Внутривенный В группе А доза составляла 78 мг/кв.м при еженедельном введении, в группе В – 73 мг/кв.м при введении каждые 3 недели	Одинаковая чувствительность опухоли к химиотерапии, безрецидивная выживаемость и общая выживаемость. В группе А меньше токсических проявлений	Гематологическая и негематологическая токсичность 3 и 4 степени чаще встречалась в группе В
De Jongh et al 2002 [11]	Рандомизированное I/II фазы (49)	Химиотерапия при рецидиве после лечения платиновыми производными (21) или платина-резистентного заболевания (25)	Внутривенный. Цисплатин (70 мг/кв. м) еженедельно + 3-часовая инфузия паклитаксела ежемесячно с суммарной дозой 225 мг/кв.м в сравнении с 3-часовой еженедельной инфузией паклитаксела с суммарной дозой до 100	Нет различий в безрецидивной выживаемости и общей выживаемости в исследуемых группах	Миелосупрессия, почечная нейротоксичность зависели от накопительной дозы препарата и не зависели от величины дозы, применяемой на курс химиотерапии
Omura et al 2003 [12]	Исследование III фазы (271)	В анамнезе не более одного курса платиновыми производными, отсутствие лечения таксанами	Внутривенный. Суточная инфузия паклитаксела в дозе 135, 175 и 250 мг/кв. м, всего 6 курсов	Ответ на проводимое лечение паклитакселом в дозе 250 мг/кв. м (у 36 % больных) был существенно выше, чем у получающих в дозе 175 мг/кв. м (у 27 %)	Относительно небольшое количество пациентов, которые были платиночувствительными, не продемонстрировали дозозависимый эффект (48 % для дозы 175 мг и 36 % для дозы 250 мг)

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6
Eisenhauer et al 1994 [13]	Рандомизированное (407) (382 проанализированных)	Химиотерапия на основе платиновых производных	Внутривенный. Сравнение эффективности разных доз паклитаксела (175 и 135) и двух режимов инфузии (3-часовая и суточная)	Одинаковый ответ на проводимую терапию и общая выживаемость. Безрецидивная выживаемость была значительно выше в группе с высокой дозой	Значительно более частая нейтропения при суточной инфузии паклитаксела.
Bolis et al 2004 [14]	Исследований III фазы (502)	Пациенты с прогрессирующим болезнью после первичного хирургического лечения с остаточной опухолью	Внутривенный. В течение 3 ч Карбоплатин (AUC 6) + паклитаксел (175) в сравнении с паклитакселем (225)	Различие в уровне ответа на проводимую химиотерапию и трехлетней общей выживаемости статистически не достоверны	
Markman et al [15]	Фаза III (277) (262 проанализированных случаев)	Полный ответ на стандартную химиотерапию на основе паклитаксела или производных платины	Внутривенный В течение 3 ч Паклитаксел (175) каждые 28 дней, 3 курса (группа А) Паклитаксел (175) каждые 28 дней, 12 курсов (группа В)	Отсутствует разница в общей выживаемости. В группе В более длительный безрецидивный период (28 месяцев против 21)	Лечение значительно чаще осложнялось нейропатией в группе В

Цисплатин в лечении рака яичников.

Цисплатин в настоящее время используется меньше при раке яичников, так как его заменяют карбоплатином из-за меньшей токсичности, удобства применения и такой же эффективности последнего.

В табл. 3 представлены результаты эффективности лечения цисплатином (в зависимости от дозы, путей введения – внутривенный или внутривенный, режим введения – еженедельный или раз в три недели).

Таблица 3

Избранные исследования по сравнению путей введения доз и режимов химиотерапии цисплатином

Автор	Дизайн исследования (общее кол-во пациентов)	Предшествующее лечение	Способ введения, доза (мг/кв.м), интервал между введением химиопрепаратов	Результаты	Комментарии
1	2	3	4	5	6
Kaye et al 1996 [16]	Исследование III фазы (159)	Хирургическое	Внутривенный 4-часовая инфузия Циклофосфан (750) + цисплатин (50) по сравнению с цисплатин (100) каждые 3 недели, 6 курсов химиотерапии	Общая 5-летняя выживаемость была статистически достоверна для группы с высокодозной химиотерапией (P=0,043), что отражало задержку прогрессии опухоли, а не полное излечение от рака	Значительно более частые нейротоксичные и ототоксичные эффекты в течение 3-4 лет последующего наблюдения в группе с высокодозной химиотерапией. Авторами рекомендована доза цисплатина 75 мг/м ²



Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
Conte et al 1996 [17]	Рандомизированное (145)	Хирургическое	Внутривенное введение. Эпидоксорубин (60) + циклофосфан (600)+ цисплатин (50) по сравнению с цисплатином (100) каждые 4 недели, 6 курсов	Нет статистически достоверных различий в уровне ответа на проводимую химиотерапию, медианобезрецидивной и общей выживаемости	Высокие дозы цисплатина проявлялись значительной токсичностью
McGuire et al 1995 [18]	Рандомизированное (485)	Хирургическое (остаточная опухоль больше 1 см)	Внутривенный. Циклофосфан (500) + цисплатин (50) (группа А) по сравнению с циклофосфан (1000) + цисплатин (100) (группа В) каждые 3 недели, 8 курсов (группа А), 4 курса (группа В)	Одинаковый уровень ответа на химиотерапию, безрецидивная общая выживаемость	Значительно большая токсичность в группе с высокодозной химиотерапией
Bella et al 1994 [19]	(101)	Неизвестно	Внутривенный. Цисплатин (100) каждые 3 недели, 6 курсов; Цисплатин (100) еженедельно, 2 курса с еженедельным введением в течение 3 недель разделенных 5-недельным перерывом Последовательно применение в обеих группах 4 циклов доксорубина и циклофосфана	Медианы выживаемости были одинаковы в течение первых 2 лет, но затем увеличилась в группе с еженедельным введением химиопрепаратов (3 и 8 лет соответственно)	Значительно более частая ототоксичность при еженедельном режиме введения
Alberts et al 1996 [20]	Фаза III (546 проанализированных случаев)	Хирургическое (размер остаточной опухоли меньше или равен 2 см)	Внутривенный и внутривенный. Циклофосфан (600) в/в + цисплатин (100 в/в) (группа А), циклофосфан (600) в/в + цисплатин (100) внутривенно Каждые 3 недели, 6 курсов	Увеличение медианы выживаемости в группе с внутривенным введением препарата	Ототоксический, нейротоксический эффект 2, 3 степени и нейтропения более часто встречаются при внутривенном введении цисплатина
Gadducci et al 2000 [21]	Рандомизированное (113)	Хирургическое Остаточная опухоль меньше 2 см	Внутривенный и внутривенный. Циклофосфан (600) в/в + доксорубин (60) в/в + цисплатин (50) в/в по сравнению с цисплатином (50) внутривенно Каждые 4 недели, 6 курсов	Нет статистически достоверных различий в уровне ответа на химиотерапию, токсичностью, безрецидивной и общей выживаемостью	Исследование не достигло необходимых размеров групп

Имеется небольшое различие в долгосрочной выживаемости между высокодозным режимом цисплатина (100 мг/м²), при котором отмечалось более высокая нейротоксичность и ототоксичность, в сравнении с дозой 50 мг/м². Поэтому цисплатин в дозе 75 мг/м². М каждые три недели в монорежиме или в комбинации с другими препаратами может быть выбран в качестве оптимального баланса между противоопухолевой активностью и токсичностью. Имеющиеся данные о еженедельных схемах применения цисплатина не позволяют давать конкретных рекомендаций.

Внутрибрюшинное введение цисплатина продемонстрировало положительные результаты у пациентов с минимальной остаточной опухолью, но данная процедура затруднительна для введения в широкую клиническую практику.

Карбоплатин в лечении рака яичников.

Доза карбоплатина обычно вычисляется по площади поверхности тела или, более часто, методом AUC.

По данным исследования Gore et al 1998 [22], обе схемы терапии карбоплатином, использующей 6 циклов (AUC 6) и 4 цикла (AUC 12), были одинаково эффективны со статистически достоверным увеличением токсичности во второй группе. Таким образом, карбоплатин (AUC 6) может быть рекомендован в качестве стандарта для лечения рака яичников. Недостаточно данных для оценки применения карбоплатина с AUC меньше 6 при раке яичников, хотя у ослабленных пациентов и у больных с высоким риском токсичности доза карбоплатина должна быть уменьшена (AUC 4 или 5).

В клиническом исследовании Murphy et al [23] карбоплатин 300 мг/м² показал большую эффективность, чем 150 мг/м², но в настоящий момент не имеется данных об использовании более высоких доз карбоплатина, вычисленных на основании площади поверхности тела.

Другие цитотоксические препараты в лечении рака яичников. Топотекан 1,5 мг/м²/день в течение 5 дней может быть взят за стандарт при распространенном раке яичников. Для данной группы больных в качестве альтернативного режима химиотерапии может быть применен оральный прием топотекана. Доксорубин в дозе 50 мг/м² каждые 4 недели также может быть признан стандартом химиотерапии.

Оральный прием этопозида обладает противоопухолевой активностью при рецидивах рака яичников, но имеются большие различия в чувствительности опухоли. Больные, получающие данный вид лечения, должны наблюдаться на предмет миелосупрессии, степень выраженности которой зависит от различной фармакокинетической биодоступности препарата у разных больных.

В ретроспективном исследовании Гордон [24] показал статистически значимое увеличение выживаемости в группе пациентов с платиночувствительными опухолями яичников, получающих доксорубин, и также статистически недостоверное увеличение выживаемости в группе больных с платинорезистентными опухолями яичников, получающих топотекан. Доксетаксел в дозе 75 мг/м² был одинаково эффективен по сравнению с паклитакселом в дозе 175 мг/м² при использовании их в комбинации с карбоплатином, но обладал другой токсичностью (вызывал большую миелосупрессию и меньшую нейротоксичность по сравнению с паклитакселом).

Другие схемы для лечения рака яичников. Основываясь на имеющихся данных ICON3 2002 [25], GOG 132 [26], комбинация карбоплатина и таксана может быть использована в качестве стандарта лечения с одинаковой эффективностью и меньшей токсичностью, чем при использовании схемы с цисплатином и паклитакселом.

Использование карбоплатина в монорежиме является альтернативным вариантом лечения для пациентов с высоким риском развития паклитаксел-индуцированной нейротоксичности или неспособностью перенести комбинированную химиотерапию.

Использование эпирубина в комбинации с карбоплатином и таксанами находится в процессе клинического изучения, но, вероятно, имеет большую токсичность. Другие комбинации новых цитотоксических препаратов, таких как топотекан, липосомальный доксорубин, гемцитабин, находятся в процессе клинического исследования. Основываясь на последних данных, комбинации на основании карбоплатина (с липосомальным доксорубином или гемцитабином, или паклитакселом) показаны в группе пациентов с платино-чувствительными опухолями.



Режимы химиотерапии при раке шейки матки. За последние 30 лет различные цитотоксические препараты исследовались на предмет противоопухолевой активности в лечении плоскоклеточного рака шейки матки. Одним из наиболее эффективных препаратов остается цисплатин, хотя его влияние на выживаемость незначительно. Другие препараты, такие как топотекан и ифосфамид, также продемонстрировали противоопухолевую активность в клинических исследованиях.

Результаты проведенных исследований показывают, что цисплатин в монорежиме легче переносится больными, а применение комбинации увеличивает ответ на химиотерапию. Были получены данные первого рандомизированного исследования Long HJ 2005 [27], указывающие на увеличение общей выживаемости при использовании комбинации цисплатина и топотекана по сравнению с изолированным применением цисплатина. Увеличение выживаемости было незначительным, а токсичность увеличивалась в несколько раз.

Схемы, использующие комбинацию гемцитабина и цисплатина, на ранних стадиях болезни многообещающи, но достоверных данных, подтверждающих их эффективность, на настоящий момент нет. Поэтому цисплатин в дозе 50 мг/кв.м внутривенно каждые 3 недели является стандартом в лечении распространенного рака шейки матки.

Для пациентов с местнораспространенными ранними стадиями заболевания раком шейки матки в качестве радиомодифицирующей химиотерапии показано введение цисплатина в дозе 40 мг/24ч.е.м еженедельно в течение 6 недель лучевой терапии, что является стандартом во многих клиниках.

Схема химиотерапии при раке тела матки. Цитотоксическая терапия при распространенном или рецидивном раке тела матки менее изучена, чем гормонотерапия. Имеется несколько исследований 2-й фазы, которая указывает на значительную активность химиотерапевтических препаратов, таких как доксорубин, цисплатин и паклитаксел. Комбинация доксорубина и цисплатина увеличивает токсичность Trigen et al 1993 [28], но также повышает ответ на проводимую терапию и имеет небольшое преимущество в общей выживаемости перед монокимиотерапией перед доксорубином. Данная схема может быть использована в качестве стандарта для пациентов с удовлетворительным состоянием здоровья. Цисплатин может быть заменен карбоплатином, но окончательных данных об эффективности данной схемы нет.

Комбинация паклитаксела и производных платины демонстрирует хорошую противоопухолевую активность, но их токсичность (нейросупрессия, нейротоксичность) значительна. Когда к используемой схеме добавляется доксорубин (цисплатин+паклитаксел), ответ на проводимую терапию возрастает, но также повышается токсичность.

Частота повторения курсов химиотерапии. Сокращение интервалов между курсами химиотерапии устраняет фракцию растущих опухолевых клеток и позволяет уменьшить объем остаточной опухоли.

Уменьшение интервалов между курсами основано на сокращении классического 3-недельного к еженедельным или 2-недельным интервалам, частично с использованием гематологических факторов роста, чтобы обеспечить восстановление гранулоцитов. В исследовании CALGB 9741 [29] была продемонстрирована эффективность сокращения интервалов между курсами химиотерапии в лечении рака молочной железы, с использованием параллельных и последовательных схем.

Резюме. Рассмотренные в данной статье различные аспекты проведения химиотерапии у онкологических больных свидетельствуют о ее важности с учетом специфических целей, которые она преследует.

Необходимо подчеркнуть, что эффективность химиотерапевтического режима зависит от нескольких факторов:

- 1) выбора цитостатических препаратов согласно чувствительности опухоли;
- 2) дозы химиопрепаратов;
- 3) частоты повторения курсов;
- 4) синергизма комбинации препаратов;
- 5) острого, подострого или хронического профиля токсичности;
- 6) взаимосвязи с другими лечебными воздействиями, включенными в полную программу лечения.

Литература

1. Polychemotherapy for early breast cancer: an overview of the randomised trials // *Lancet*. – 1998. – Vol. 352, is. 9132. – P. 930-942.
2. Neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 21 randomised trials // *Eur. J. Cancer*. – 2003. – Vol. 39, is. 17. – P. 2470-2486.
3. WHO handbook for reporting results of cancer treatment / World Health Organization. – Offset publication. – Geneva, Switzerland, 1979. – № 48. – 45 p.
4. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors / P. Therasse, S.G. Arbuck, E.A. Eisenhauer [et al.] // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2000. – Vol. 92, is. 3. – P. 205-216.
5. Advanced epithelial ovarian cancer: 1998 consensus statements / J.S. Berek, K. Bertelsen, A. du Bois [et al.] // *Ann. Oncol.* – 1999. – Vol. 10, suppl. 1. – P. 87-92.
6. Survival and recurrence after concomitant chemotherapy and radiotherapy for cancer of the uterine cervix: a systematic review and meta-analysis / J.A. Green, J.M. Kirwan, J.F. Tierney [et al.] // *Lancet*. – 2001. – Vol. 358, is. 9284. – P. 781-786.
7. Bonadonna, G. Sequential or alternating doxorubicin and CMF regimens in breast cancer with more than three positive nodes: ten-year results / G. Bonadonna, M. Zambetti, P. Valagussa // *JAMA*. – 1995. – Vol. 273, is. 7. – P. 542-547.
8. Frei, E. 3rd. Dose: a critical factor in cancer chemotherapy / E. Frei, G.P. Canellos // *Am. J. Med.* – 1980. – Vol. 69, is. 4. – P. 585-594.
9. Hryniuk, W. Analysis of dose intensity for adjuvant chemotherapy trials in stage II breast cancer / W. Hryniuk, M.N. Levine // *J. Clin. Oncol.* – 1986. – Vol. 4, is. 8. – P. 1162-1170.
10. Randomized trial of single agent paclitaxel given weekly versus every three weeks and with peroral versus intravenous steroid premedication to patients with ovarian cancer previously treated with platinum / P. Rosenberg, H. Andersson, K. Boman [et al.] // *Acta Oncol.* – 2002. – Vol. 41, № 5. – P. 418-424.
11. Dose-dense cisplatin/paclitaxel: a well-tolerated and highly effective chemotherapeutic regimen in patients with advanced ovarian cancer / F.E. de Jongh, R. de Wit, J. Verweij [et al.] // *Eur. J. Cancer*. – 2002. – Vol. 38, is. 15. – P. 2005-2013.
12. Phase III trial of paclitaxel at two dose levels, the higher dose accompanied by filgrastim at two dose levels in platinum-pretreated epithelial ovarian cancer: an intergroup study / G.A. Omura, M.F. Brady, K.Y. Look [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2003. – Vol. 21, is. 15. – P. 2843-2848.
13. European-Canadian randomized trial of paclitaxel in relapsed ovarian cancer: high-dose versus low-dose and long versus short infusion / E. Eisenhauer, W.W. ten Bokkel Huinink, K.D. Swenerton [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1994. – Vol. 12, is. 12. – P. 2654-2666.
14. Paclitaxel 175 or 225 mg per meters squared with carboplatin in advanced ovarian cancer: a randomized trial / G. Bolis, G. Scarfone, G. Polverino [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2004. – Vol. 22, is. 4. – P. 686-690.
15. Phase III randomized trial of 12 versus 3 months of maintenance paclitaxel in patients with advanced ovarian cancer after complete response to platinum and paclitaxel-based chemotherapy: a Southwest Oncology Group and Gynaecology Oncology Group trial / M. Markman, P.Y. Liu, S. Wilszinski [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2003. – Vol. 21, is. 13. – P. 2460-2465.
16. Mature results of a randomized trial of two doses of cisplatin for the treatment of ovarian cancer / S.B. Kaye, J. Paul, J. Cassidy // *J. Clin. Oncol.* – 1996. – Vol. 14, is. 7. – P. 2113-2119.
17. High-dose versus low-dose cisplatin in combination with cyclophosphamide and epidoxorubicin in suboptimal ovarian cancer: a randomized study of the Gruppo Oncologico Nord-Ovest / P.F. Conte, M. Bruzzone, F. Carnino [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1996. – Vol. 14, is. 2. – P. 351-356.
18. Assessment of dose-intensive therapy in suboptimally debulked ovarian cancer: a Gynaecologic Oncology Group study / W.P. McGuire, W.J. Hoskins, M.F. Brady [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1995. – Vol. 13, is. 7. – P. 1589-1599.
19. Mature results of a prospective randomized trial comparing two different dose-intensity regimens of cisplatin in advanced ovarian carcinoma / M. Bella, G. Cocconi, R. Lottici [et al.] // *Ann. Oncol.* 1994. – Vol. 5, is. 8. – P. 2.
20. Intraperitoneal cisplatin plus intravenous cyclophosphamide versus intravenous cisplatin plus intravenous cyclophosphamide for stage III ovarian cancer / D.S. Alberts, P.Y. Liu, E.V. Hannigan [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 1996. – Vol. 335, is. 26. – P. 1950-1955.
21. Intraperitoneal versus intravenous cisplatin in combination with intravenous cyclophosphamide and epidoxorubicin in optimally cytoreduced advanced epithelial ovarian cancer: a randomized trial of the Gruppo Oncologico Nord-Ovest / A. Gadducci, F. Carnino, S. Chiara [et al.] // *Gynaecol. Oncol.* – 2000. – Vol. 76, № 2. – P. 157-162.
22. Randomized trial of dose-intensity with single agent carboplatin in patients with epithelial ovarian cancer. London Gynaecological Oncology Group / M. Gore, P. Mainwaring, R. A'Hern [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 1998. – Vol. 16, is. 7. – P. 2426-2434.



23. A randomized dose intensity study in ovarian carcinoma comparing chemotherapy given at four weeks interval for six cycles with half dose chemotherapy given for twelve cycles / D. Murphy, D. Crowther, J. Rennison [et al.] // *Ann. Oncol.* – 1993. – Vol. 4, is. 5. – P. 377-383.

24. Recurrent epithelial ovarian carcinoma: a randomized phase III study of pegylated liposomal doxorubicin versus topotecan / A.N. Gordon, J.T. Fleagle, D. Guthrie [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19, is. 14. – P. 3312-3322.

25. Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in women with ovarian cancer: the ICON3 randomized trial // *Lancet.* – 2002. – Vol. 360, is. 9332. – P. 505-515.

26. Phase III randomized study of cisplatin versus paclitaxel versus cisplatin and paclitaxel in patients with suboptimal stage III or IV ovarian cancer: a Gynaecologic Oncology Group study / F.M. Muggia, P.S. Braly, M.F. Brady [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2000. – Vol. 18, is. 1. – P. 106-115.

27. Randomized phase III trial of cisplatin with or without topotecan in carcinoma of the uterine cervix: a Gynecologic Oncology Group Study / H.J. Long 3rd, N.B. Brian, Jr. E.C. Grendys [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2005. – Vol. 23, is. 21. – P. 4626-4633.

28. Phase III trial of doxorubicin +/- cisplatin in advanced or recurrent endometrial carcinoma: a Gynaecologic Oncology group study / T. Thigpen, J. Blessing, H. Homesley [et al.] // *Proceedings of ASCO.* – 1993. – Vol. 12. – Abstract 261.

29. Randomized trial of dose-dense versus conventionally scheduled and sequential versus concurrent combination chemotherapy as postoperative adjuvant treatment of node-positive primary breast cancer: first report of Intergroup Trial C9741/Cancer and Leukemia Group B Trial 9741 / M.L. Citron, D.A. Berry, C. Cirrincione [et al.] // *J. Clin. Oncol.* – 2003. – Vol. 21, is. 8. – P. 1431-1439.

CHEMOTHERAPY OF WOMEN REPRODUCTIVE SYSTEM ONCOLOGY: DEFINITIONS AND METODOLOGICAL ASPECTS

V.N. DMITRIEV^{1,2}

T.P. GOLIVETS¹

I.V. SUKHOTERIN^{1,2}

B.S. KOVALENKO¹

I.I. ZYBENKO²

¹ *Belgorod National Research University*

² *Belgorod Oncological Dispenser*

e-mail: vadd@mail.ru

In this article the possibilities of chemotherapy in the treatment of malignant tumors of women reproductive system. The metodological aspects of dosing, frequency of courses and treatment efficacy.

Key words: oncology, chemotherapy, reoductive system oncology.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

- Авдеева Н.В.** - ассистент кафедры внутренних болезней №2 Курского государственного медицинского университета
- Автина Н.В.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, управления и экономики здравоохранения Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Акопова В.В.** - аспирантка кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Арльт А.В.** - старший преподаватель кафедры фармакологии Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Бабко А.В.** - аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
- Бадалян З.В.** - старший преподаватель кафедры технологии лекарственных форм и организации фармацевтического дела Северо-Осетинского государственного университета им. К. Хетагурова, г. Владикавказ
- Безменова М.Д.** - аспирантка кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Беляев К.А.** - студент фармацевтического факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Благоразумная Н.В.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Ботов А.Ю.** - аспирант кафедры общей и биорганической химии Курского государственного медицинского университета
- Бредихина Т.А.** - ассистент кафедры организации фармацевтического дела и клинической фармации Воронежской государственной медицинской академии им. Н.Н. Бурденко
- Бубенчикова В.Н.** - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии и ботаники Курского государственного медицинского университета
- Ванхин О.А.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры медико-биологических дисциплин Старооскольского филиала Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Ванян А.Ш.** - аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
- Васильев Г.В.** - ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Волков Д.В.** - кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры хирургических болезней №1 Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Володина Т.А.** - ассистент кафедры фармацевтической технологии с курсом фармакологии фармацевтического факультета Омской государственной медицинской академии
- Воронкова О.С.** - аспирантка кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Воронова Л.С.** - кандидат фармацевтических наук, ЗАО «МАГИ-Фарма», г. Москва
- Ганзюк К.О.** - студент Пятигорской государственной фармацевтической академии



- Голивец Т.П.** - кандидат медицинских наук, профессор кафедры терапии Института повышения медицинского образования Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Гудырев О.С.** - кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин Института повышения медицинского образования Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Даниленко Л.М.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Дейнека В.И.** - доктор химических наук, доцент, профессор кафедры общей химии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Дейнека Л.А.** - кандидат химических наук, доцент, доцент кафедры общей химии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Дмитриев В.Н.** - кандидат медицинских наук, врач-онколог Белгородского онкологического диспансера, старший преподаватель кафедры хирургических болезней №1 Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Дремова Н.Б.** - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой экономики и управления здравоохранением Курского государственного медицинского университета
- Дронова Т.А.** - доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней Курского государственного медицинского университета
- Евсеева М.М.** - доктор медицинских наук, научный сотрудник гинекологического отделения восстановительного лечения ФГУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова», г. Москва
- Жидкова Ю.Ю.** - ассистент кафедры фармацевтической технологии с курсом фармакологии фармацевтического факультета Омской государственной медицинской академии
- Жилякова Е.Т.** - доктор фармацевтических наук, доцент, заведующая кафедрой фармацевтической технологии, управления и экономики здравоохранения Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Зилфикаров И.Н.** - кандидат фармацевтических наук, генеральный директор ЗАО «Вифитех», г. Москва
- Зыбенко И.И.** - кандидат медицинских наук, заведующий гинекологическим отделением Белгородского онкологического диспансера
- Иванов А.В.** - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии, эмбриологии, цитологии Курского государственного медицинского университета
- Ивашев М.Н.** - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Казакова В.С.** - кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Карагулов Х.Г.** - кандидат фармацевтических наук, директор ООО «Бивитекс», г. Нальчик
- Кесарев О.Г.** - доктор химических наук, профессор Всероссийского

- научного центра по безопасности биологически активных веществ, п. Старая Купавна
- Клочкова Г.Н.** - заведующая клинико-диагностической лабораторией Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа
- Коваленко Б.С.** - кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой хирургических болезней №1 Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Коклина Н.Ю.** - ассистент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии Курского государственного медицинского университета
- Кондратова Ю.А.** - кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры фармакогнозии и ботаники Курского государственного медицинского университета
- Копылов А.А.** - кандидат медицинских наук, врач-хирург хирургического отделения 2 муниципальной бюджетной городской клинической больницы №1 г. Белгорода; старший преподаватель кафедры хирургических болезней №1 Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Корниенко Ю.В.** - заведующий хирургическим отделением муниципальной бюджетной городской клинической больницы №1
- Корокин М.В.** - кандидат медицинских наук, доцент кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин Института повышения медицинского образования Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Корянова К.Н.** - аспирантка кафедры технологии лекарств Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Костебелов Н.В.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации факультета повышения образования Курского государственного медицинского университета
- Костина Н.Л.** - ассистент кафедры внутренних болезней №2 Курского государственного медицинского университета
- Кочкаров В.И.** - доктор биологических наук, профессор кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Куль И.Я.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Лапишова М. С.** - аспирантка кафедры общей химии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Майорова А.В.** - кандидат фармацевтических наук, заведующая кафедрой эстетической медицины Российского университета дружбы народов, г. Москва
- Малявина В.В.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации Кубанского государственного медицинского университета
- Маслов Д.В.** - врач-хирург хирургического отделения муниципальной бюджетной городской клинической больницы №1
- Митрофанова И.Ю.** - ассистент кафедры фармакогнозии и ботаники Волгоградского государственного медицинского университета
- Навальнева И.А.** - аспирантка кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета



- Нарыков Р.А.** - аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
- Новиков О.О.** - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Новикова М.Ю.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии, управления и экономики здравоохранения Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Огай М.А.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии с курсом биотехнологии Омской государственной медицинской академии
- Павлова Н.В.** - врач-онколог Белгородского онкологического диспансера, ассистент кафедры хирургических болезней №1 Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Панкрушева Т.А.** - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической технологии Курского государственного медицинского университета, член-корреспондент академии РАЕН
- Панцуркин В.И.** - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии Пермской государственной фармацевтической академии
- Паршков Е.М.** - доктор медицинских наук, профессор, зав отд. «in vitro» радионуклидной диагностики Медицинского радиологического научного центра, г. Обнинск
- Петров А.Ю.** - доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической химии Екатеринбургской медицинской академии
- Писарев Д.И.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Писарева Н.А.** - студентка фармацевтического факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Погребняк А.В.** - доктор химических наук, доцент кафедры физической и коллоидной химии Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Погребняк Л.В.** - кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры технологии лекарств Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Покровская Т.Г.** - доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин Института повышения медицинского образования Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Покровский М.В.** - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии и фармацевтических дисциплин Института повышения медицинского образования Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Полковникова Ю.А.** - аспирантка кафедры технологии лекарств Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Попов Н.Н.** - студент фармацевтического факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета

- Попова Н.М.** - ассистент кафедры фармакологии с курсом фармакотерапии Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова
- Придачина Д.В.** - аспирантка кафедры фармацевтической технологии, управления и экономики здравоохранения Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Раджумар Д.С.Р.** - аспирант кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
- Сабельникова Н.Н.** - аспирантка кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного университета
- Савенко И.А.** - аспирант кафедры фармакологии Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Саенко А.Ю** - кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры фармации Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Сафонова И.А.** - кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры биоорганической химии Курского государственного медицинского университета
- Северин А.П.** - аспирант кафедры общей и биоорганической химии Курского государственного медицинского университета
- Сипливая Л.Е.** - доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической, токсикологической и аналитической химии Курского государственного медицинского университета
- Скачилова С.Я.** - доктор химических наук, профессор Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ, п. Старая Купавна
- Скоробогатова Т.А.** - аспирантка кафедры фармакологии Пятигорской государственной фармацевтической академии.
- Совершенный И.Н.** - аспирант кафедры экономики и управления здравоохранением Курского государственного медицинского университета
- Соколов В.А.** - кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник Медицинского радиологического научного центра, г. Обнинск
- Сорокопудов В.Н.** - доктор сельскохозяйственных наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Стабровская Н.В.** - аспирантка кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
- Старосельцева О.А.** - аспирантка кафедры фармакологии Курского государственного медицинского университета
- Старчак Ю.А.** - кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры общей и фармацевтической химии Орловской медицинской академии
- Степанова Э.Ф.** - доктор фармацевтических наук, профессор кафедры технологии лекарств Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Степанова А.В.** - аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Сухотерин И.В.** - кандидат медицинских наук, заведующий вторым хирургическим отделением Белгородского онкологического диспансера, доцент кафедры хирургических болезней №1 Белгородского государственного национального



- исследовательского университета
- Сысуюев Б.Б.** - кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии Волгоградского государственного медицинского университета
- Темирбулатова А.М.** - кандидат фармацевтических наук, преподаватель кафедры технологии лекарств Пятигорской государственной фармацевтической академии
- Терехова Е.Г.** - аспирантка кафедры клинической фармакологии Курского государственного медицинского университета
- Тихова А.А.** - аспирантка кафедры общей химии Белгородского государственного университета
- Ткачева А.С.** - студентка фармацевтического факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Трубицын М.А.** - кандидат технических наук, доцент, декан международного факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Фадеева Д.А.** - кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Файтельсон А.В.** - кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии Курского государственного медицинского университета
- Хаванский А.В.** - студент фармацевтического факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Халикова М.А.** - аспирантка кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Харитонова О.В.** - аспирантка кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Чуев В.П.** - доктор технических наук, заведующий кафедрой медико-технических систем Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Чулков А.Н.** - аспирант биолого-химического факультета Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Шевченко С.М.** - аспирант кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии Белгородского государственного национального исследовательского университета
- Юдина Н.В.** - аспирантка кафедры пропедевтики внутренних болезней Курского государственного медицинского университета
- Якушева С.Н.** - доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой фармакологии с курсом фармакотерапии ФПДО Рязанского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова
- Яцок В.Я.** - доктор фармацевтических наук, профессор кафедры общей и биорганической химии Курского государственного медицинского университета

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.com или doctor_ol@bk.ru (тема – журнал).

Материалы, присланные без соблюдения настоящих требований, редколлегией не рассматриваются.

ТРЕБОВАНИЯ К ОФОРМЛЕНИЮ СТАТЕЙ В ЖУРНАЛ «НАУЧНЫЕ ВЕДОМОСТИ БелГУ» СЕРИИ «МЕДИЦИНА. ФАРМАЦИЯ»

В материалы статьи включается следующая информация:

- | | | |
|--|---|--|
| <ol style="list-style-type: none"> 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); | } | <p><i>на русском и английском языках</i></p> |
| <ol style="list-style-type: none"> 5) внешняя рецензия доктора наук; 6) текст статьи; 7) ссылки. | } | <p><i>на русском языке</i></p> |

Технические требования к оформлению текста

1. Текст набирается в Microsoft Word. 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 1-м экземпляре. Для иногородних авторов возможна пересылка статьи по электронной почте.

9. Представляемый материал должен являться оригинальным, не опубликованным 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.

ФАКТОРЫ ТРАНСКРИПЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕДИАТОРЫ СТЕАТОЗА ПЕЧЕНИ

А.В. ИВАНОВ¹
Л.Н. ПЕТРОВ²

¹⁾ *Белгородский государственный национальный исследовательский университет*

²⁾ *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 углевод-ответственным элементом. Третьим фактором транскрипции, причастным к развитию стеатоза печени, признан рецептор, активирующийся пролифератором пероксисом. Совокупность таких факторов можно объединить в две больших 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, дислипотеидемия 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. IVANOV¹
L.N. PETROV²

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 is regulated 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

Key words: hepatic steatosis, steatohepatitis, oxidative stress, cytokines, fatty acids, transcription factors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Иванов Александр Васильевич

– кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренних болезней Белгородского государственного университета
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85,
Белгородский государственный университет
e-mail: aybolit@bk.ru, тел. 33-22-44



Приложение 2. Оформление таблиц

1. Каждая таблица должна быть пронумерована справа, иметь заголовки 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.

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.

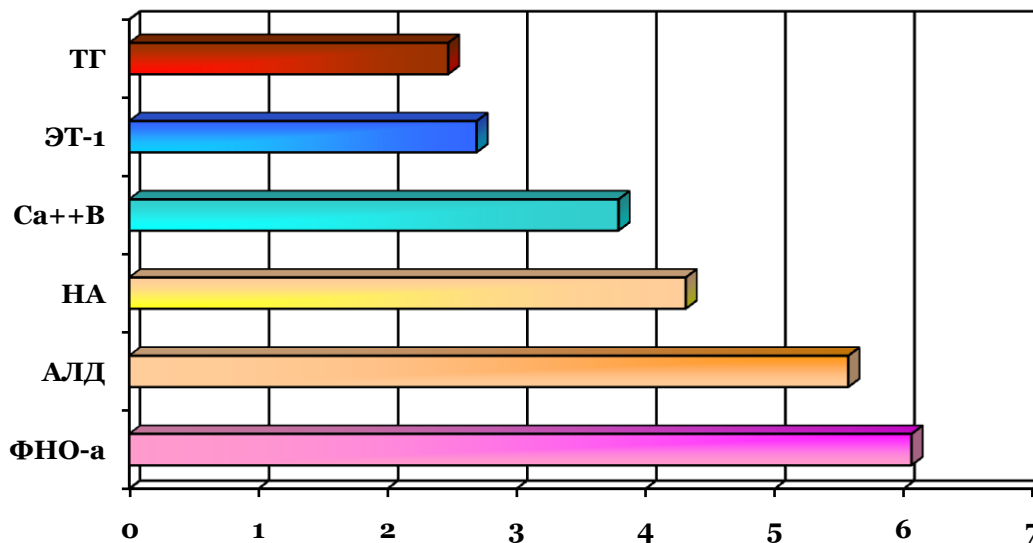


Рис. 1. Степень разницы значений гуморальных показателей между группами больных эксцентрической и концентрической ГЛЖ

2. Изображение графического объекта должно быть в виде рисунка или сгруппированных объектов.

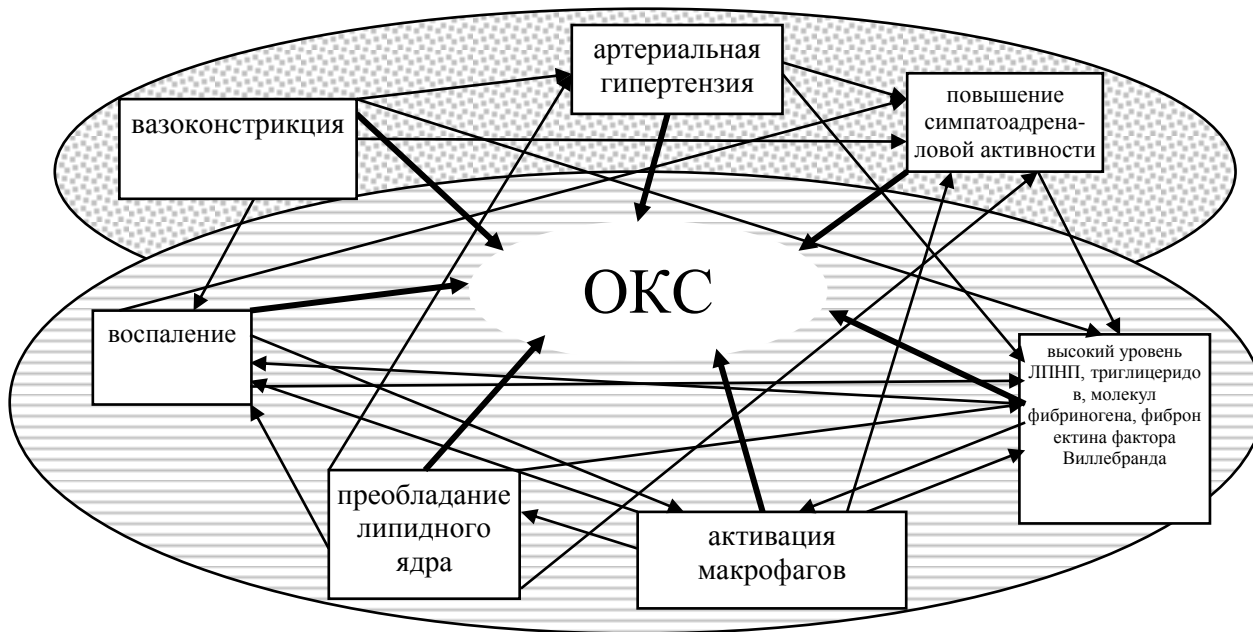


Рис. 2. Факторы, способствующие развитию ОКС

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.