

2019 Том / Volume VII

№ 1

Научно-практический журнал
Scientific and Practical Journal

ISSN 2307-9266
e-ISSN 2413-2241

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

PHARMACY & PHARMACOLOGY



Обзоры, лекции
Reviews, Lectures

Фармакогнозия, ботаника
Pharmacognosy, Botany

**Фармацевтическая технология
и биотехнология**
Pharmaceutical Technology
and Biotechnology

**Фармацевтическая
и токсикологическая химия**
Pharmaceutical and Toxicological
Chemistry

**Фармакология и клиническая
фармакология**
Pharmacology and Clinical
Pharmacology

**Информационные технологии
в фармации**
Information Technologies in Pharmacy

**Организация и экономика
фармацевтического дела**
Organization and Economy
of Pharmacy

**Экономика и менеджмент
медицины**
Economy and Management
of Medicine

Фармацевтическое образование
Pharmaceutical Education

Краткие сообщения
Brief Reports

**Дискуссии, рецензии, юбилеи,
научные школы, история
фармации и фармакологии**
Discussions, Referee Reports,
Anniversaries, Schools
of Thought, History
of Pharmacy and
Pharmacology



Научно-практический журнал

ФАРМАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЯ

Периодичность 6 номеров в год

Том 7, Выпуск 1, 2019

Свидетельство регистрации СМИ:
ПИ №ФС77–67428 от 13.10.2016 г.

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Главный редактор

Петров Владимир Иванович академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Заместитель главного редактора

Озеров Александр Александрович доктор химических наук, профессор, г. Волгоград, Россия

Редакционная коллегия

Фармакогнозия, ботаника

Куркин Владимир Александрович доктор фармацевтических наук, профессор, г. Самара, Россия

Зилфикаров Ифрат Назимович профессор РАН, доктор фармацевтических наук, г. Москва, Россия

Фармацевтическая технология и биотехнология

Саканян Елена Ивановна доктор фармацевтических наук, профессор, г. Москва, Россия

Фармацевтическая и токсикологическая химия / Информационные технологии в фармации

Вавер Ивона PhD, профессор, г. Варшава, Польша

Фармакология и клиническая фармакология

Ханферьян Роман Авакович доктор медицинских наук, профессор, г. Москва, Россия

Буске Паскаль MD, профессор, г. Страсбург, Франция

Кампизи Коррадино профессор, MD, PhD, г. Генуя, Италия

Организация и экономика фармацевтического дела / Экономика и менеджмент медицины

Наркевич Игорь Анатольевич доктор фармацевтических наук, профессор, г. Санкт-Петербург, Россия

Сомасундарам Субраманиан MD, Россия/Индия

Статьи, представленные в разделы **Обзоры, лекции / Фармацевтическое образование / Краткие сообщения / Дискуссии, рецензии, юбилеи, научные школы, история фармации и фармакологии** могут быть рассмотрены любыми членами редакционной коллегии.

Ответственный секретарь: Корянова Ксения Николаевна, кандидат фармацевтических наук, г. Пятигорск, Россия

Переводчик: Давыденко Любовь Григорьевна, кандидат филологических наук, доцент, г. Пятигорск, Россия

Технический редактор: Доценко Марина Александровна, г. Пятигорск, Россия

Адрес редакции: 357532, г. Пятигорск, пр-т Калинина, 11.

Пятигорский медико-фармацевтический институт –

филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России

Телефон: +7 (8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru

www.pharmpharm.ru

Объединенный каталог. Пресса России. Газеты и журналы. Индекс 94183

Формат А4, тираж 1000 экз.

Журнал «Фармация и фармакология» включен в перечень рецензируемых научных изданий, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, и в соответствии с пунктом 5 правил формирования перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК), РИНЦ, eLibrary, ВИНТИ, РГБ, Киберленинка, Соционет, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Отпечатано в соответствии с предоставленными материалами в ООО «Амирит», 410004, г. Саратов, ул. Чернышевского, 88.

© ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, 2019

© Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, 2019

© Авторы, 2019

Scientific and Practical Journal

PHARMACY & PHARMACOLOGY

Scientific and practical journal

Volume VII, Issue 1, 2019

The mass media registration certificate:

ПН №ФЦ77-67428 от 13.10.2016

ISSN 2307-9266 e-ISSN 2413-2241

Editor-in-Chief

Vladimir I. Petrov Academician RAS, PhD (Medicine), Professor, Volgograd, Russia

Deputy Editor-in-Chief

Aleksandr A. Ozerov PhD (Chemistry), Professor, Volgograd, Russia

Editorial Board

Pharmacognosy, Botany

Vladimir A. Kurkin PhD (Pharmacy), Professor, Samara, Russia

Ifrat N. Zilfikarov PhD (Pharmacy), Professor of the RAS, Moscow, Russia

Pharmaceutical Technology and Biotechnology

Elena I. Sakanyan PhD (Pharmacy), Professor, Moscow, Russia

Pharmaceutical and Toxicological Chemistry / Information Technologies in Pharmacy

Iwona Wawer PhD, Professor, Warsaw (Poland)

Pharmacology and Clinical Pharmacology

Roman A. Khanfer`yan PhD (Medicine), Professor, Moscow, Russia

Pascal Bousquet MD, PhD Professor, Strasbourg, France

Campisi Corradino Professor, MD, PhD, Genoa, Italy

Organization and Economy of Pharmacy / Economy and Management of Medicine

Igor A. Narkevich PhD (Pharmacy), Professor, Saint-Petersburg, Russia

Somasundaram Subramanian MD, Russia/India

Manuscripts presented in sections **Reviews, Lectures / Pharmaceutical Education / Brief Reports / Discussions, Referee Reports, Anniversaries, School of Thought, History of Pharmacy and Pharmacology** can be considered by any members of the editorial board.

Executive Editor: Koryanova Ksenia Nikolaevna, PhD (Pharmacy), Pyatigorsk, Russia

Translator: Davydenko Lubov Grigoryevna, PhD (Philology), Associate Professor, Pyatigorsk, Russia

Technical editor: Dotsenko Marina Aleksandrovna, Pyatigorsk, Russia

Editors office address: 357532, Pyatigorsk, Kalinina, 11.

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University

*Phone number: +7(8793) 32-44-74. E-mail: pharmjournal@mail.ru
www.pharmpharm.ru*

Union catalogue. Russian Press/ Newspapers and journals. Code 94183

A4 size, 1000 issues circulation.

Journal "Pharmacy & Pharmacology" is recommended International Committee Of Medical Journal Editors and included in Higher Attestation Commission, Russian citation database, eLibrary, ARISTI

(All-Russian Institute of Scientific and Technical Information), RSL (Russian State Library), CyberLeninka, Socionet, EMBASE, Chemical Abstracts (CAS), Directory of Open Access Journals (DOAJ), EBSCO Discovery Service, RNMJ, University of CAMBRIDGE, Ulrich'sWeb, Google Scholar, Biefeld Academic Search Engine (BASE), Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD), Research Bible, Open Archives Initiative, Academic Keys, JournalTOCs, WorldCat, OpenAIRE, University of Oxford, The British Library, Universitait Gent, Université de Montréal, University of Saskatchewan.

Printed in the LLC "Amirit" in accord with provided materials, 410004, Saratov, 88, Chernishevsky Str.

© Volgograd State Medical University, 2019

© Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute –
branch of Volgograd State Medical University, 2019

©Authors, 2019

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENTS**Обзоры, лекции / Reviews, Lectures***А.В. Бондарев, Е.Т. Жиликова**A.V. Bondarev, E.T. Zhilyakova*ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОРБЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ
В ТЕХНОЛОГИИ СИСТЕМ ДОСТАВКИ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ.....4USE OF SORPTION PROCESSES
IN THE TECHNOLOGY
OF DRUG DELIVERY SYSTEMS4**Оригинальные статьи / Research Article****Фармацевтическая технология и биотехнология / Pharmaceutical technology and biotechnology***К.А. Алексеева, Д.И. Писарев, А.Ю. Малютин,
Е.Т. Жиликова, З.Е. Цветкова, Ю.А. Полковникова**K.A. Alekseeva, D.I. Pisarev, A.Yu. Malyutina,
E.T. Zhilyakova, Z.E. Tsvetkova, Yu.A. Polkovnikova*РАЗРАБОТКА НОРМ КАЧЕСТВА ОБРАЗЦОВ
МОДЕЛЬНОГО СОСТАВА ГРАНУЛИРОВАННОЙ
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
С ГЛУТАТИОНОМ ВОССТАНОВЛЕННЫМ13WORKING OUT QUALITY STANDARDS
OF MODEL COMPOSITION SAMPLES
OF GRANULATED DOSAGE FORM
WITH GLUTATHIONE RESTORED13**Фармакология и клиническая фармакология / Pharmacology and clinical pharmacology***А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, С.А. Нигарян,
Е.И. Хури, К.А. Мирошниченко,
А.В. Сосновская, Е.А. Олохова**A.V. Voronkov, D.I. Pozdnyakov, S.A. Nigaryan,
E.I. Khouri, K.A. Miroshnichenko,
A.V. Sosnovskaya, E.A. Olokhova*ОЦЕНКА РЕСПИРОМЕТРИЧЕСКОЙ
ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ
В УСЛОВИЯХ ПАТОЛОГИЙ
РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА20EVALUATION OF THE MITOCHONDRIA
RESPIROMETRIC FUNCTION
IN THE CONDITIONS OF PATHOLOGIES
OF VARIOUS GENESES20*А.В. Матвеев, А.Е. Крашенинников,
Е.А. Егорова, Е.И. Коняева**A.V. Matveev, A.E. Krashenninikov,
E.A. Egorova, E.I. Konyaeva*ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННО-
ИНДУЦИРОВАННЫХ КОЖНЫХ РЕАКЦИЙ
НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА КАРТ-ИЗВЕЩЕНИЙ
О НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЯХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ ЗА 2009–2016 ГГ.32INVESTIGATION OF MEDICALLY
INDUCED SKIN REACTIONS BASED
ON THE ANALYSIS
OF REPORTS OF ADVERSE DRUG
REACTIONS IN THE REPUBLIC
OF CRIMEA (FROM 2009 TO 2016)32*Ю.В. Степенко, В.О. Солдатов, М.А. Затолокина,
А.В. Майорова, Б.Б. Сысоев, А.Н. Демиденко,
Е.Н. Ивахно, М.В. Сарычева, М.В. Покровский**Yu.V. Stepenko, V.O. Soldatov, M.A. Zatolokina,
A.V. Mayorova, B.B. Sysuev, A.N. Demidenko,
E.N. Ivahno, M.V. Sarycheva, M.V. Pokrovskiy*СТИМУЛЯЦИЯ РЕПАРАЦИИ
В МОДЕЛИ ЛИНЕЙНОЙ РАНЫ
У КРЫС ГЕЛЕМ С БИШОФИТОМ.....42STIMULATION OF REPARATION
IN A LINEAR WOUND
MODEL IN RATS BY BISCHOFIT GEL.....42**Информационные технологии в фармации / Informational technologies in pharmacy***Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин, А.А. Глушко**E.T. Oganesyanyan, S.S. Shatokhin, A.A. Glushko*ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ
ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ
АНТИРАДИКАЛЬНОЙ (НО·) АКТИВНОСТИ
РОДСТВЕННЫХ СТРУКТУР, СОДЕРЖАЩИХ
ЦИННАМОИЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ.
I. ПРОИЗВОДНЫЕ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ,
ХАЛКОНА И ФЛАВАНОНА.....53USING QUANTUM-CHEMICAL PARAMETERS
FOR PREDICTING ANTI-RADICAL (HO·)
ACTIVITY OF RELATED STRUCTURES
CONTAINING A CINNAMIC MOLD
FRAGMENT. I. DERIVATIVES
OF CINNAMIC ACID, CHALCON
AND FLAVANON53

УДК 615.4



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СОРБЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В ТЕХНОЛОГИИ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

А.В. Бондарев, Е.Т. Жиликова

Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

E-mail: alexbond936@yandex.ru

Поступила в редакцию: 23.08.2018

Принята к печати: 20.02.2019

Цель – обзор научной и технической литературы, касающейся возможности использования сорбционных процессов в технологии систем доставки лекарственных веществ. **Материалы и методы.** В качестве материалов исследования использовали электронные ресурсы eLIBRARY, CyberLeninka, PubMed. Методы исследования – анализ и обобщение научной литературы за период с 1996 года по настоящее время. **Результаты.** Сорбенты выступают в роли носителей для различных лекарственных веществ при приеме per os, а также в роли дозаторов различных соединений в организме человека при использовании полимерных систем доставки в виде глазных пленок и стентов. Доставка лекарственных веществ происходит при помощи сорбционных процессов массопереноса. В роли носителей для различных веществ используются следующие сорбенты: активированный уголь, минеральные сорбенты – медицинские глины, синтетические сорбенты – полимеры и их биоаналоги. В России зарегистрировано 6 групп фармацевтических субстанций, предназначенных для производства лекарственных препаратов энтеросорбентов, которые возможно использовать в качестве сорбента-носителя в сорбционной лекарственной системе: активированный уголь, кремния диоксид коллоидный, поливинилпирролидон, смектит диоктаэдрический, полиметилсилоксана полигидрат. Разработана модель сорбционной лекарственной системы, состоящая из сорбента-носителя, активного фармацевтического ингредиента и вспомогательных веществ, обеспечивающих десорбцию. Десорбция активного фармацевтического ингредиента может способствовать его модифицированному высвобождению. Технология получения сорбционных лекарственных систем требует дальнейшего изучения и разработки методов моделирования, поиска экспериментальных фармакологических моделей и технологических методик, позволяющих получить сорбционную лекарственную форму с модифицированным высвобождением. **Заключение.** Проведен обзор использования сорбционных процессов в технологии систем доставки лекарственных веществ, разработана модель сорбционной лекарственной системы.

Ключевые слова: сорбционная лекарственная система, модификация высвобождения, доставка лекарственных веществ

USE OF SORPTION PROCESSES IN THE TECHNOLOGY OF DRUG DELIVERY SYSTEMS

A.V. Bondarev, E.T. Zhilyakova

Belgorod State University
85, Pobedy St., Belgorod, Russia, 308015

E-mail: alexbond936@yandex.ru

Received: 23.08.2018

Accepted for publication: 20.02.2019

The aim of this research is the review of scientific and technical literature regarding possibility of using sorption processes in the technology of drug delivery systems. **Materials and methods.** The materials are the following electronic resources: eLI-

Для цитирования: А.В. Бондарев, Е.Т. Жиликова. Использование сорбционных процессов в технологии систем доставки лекарственных веществ. Фармация и фармакология. 2019;7(1): 4-12. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-4-12

© А.В. Бондарев, Е.Т. Жиликова, 2019

For citation: YA.V. Bondarev, E.T. Zhilyakova. USe of sorption processes in the technology of drug delivery systems. Pharmacy & Pharmacology. 2019;7(1): 4-12. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-4-12

BRARY, CyberLeninka, PubMed. The methods of review are analysis and synthesis. The study covers the scientific literature from 1996 up to the present time. **Results.** Sorbents are used as carriers for various medicinal peroral substances, they are also dispensers of various compounds in the form of polymeric eye films and stents in the human body. The delivery of medicinal substances occurs with the help of sorption processes of mass transfer. Currently, the following medical substances are used as carriers for medicinal substances: activated carbon, mineral sorbents (medical clays, synthetic sorbents), polymers and their biosimilars. 6 groups of pharmaceutical substances are registered for the production of enterosorbents in Russia and they can be used as sorbent carriers in the sorption drug system. They are: activated carbon, colloidal silicon dioxide, polyvinylpyrrolidone, dioctahedral smectite, polymethylsiloxane polyhydrate. As a result of the study, the model of the sorption drug system has been developed. It consists of sorbent carrier, active pharmaceutical ingredient and excipients that provide the desorption. Desorption of the active pharmaceutical ingredient may contribute to its modified release. The technology for obtaining sorption medicinal systems requires further study and development of modeling methods, searching for experimental pharmacological models and technological methods, which make it possible to obtain sorption dosage form with modified release. **Conclusion.** The review of the sorption processes used in the technology of drug delivery systems has been carried out. The model of the sorption drug system has been developed.

Keywords: sorption drug system, release modification, drug delivery

ВВЕДЕНИЕ

В России (Минздрав, 2016 г.) на 146,8 млн. человек населения приходится 237 млн. случаев регистрации различных заболеваний [1]. Статистические показатели говорят о высокой общей заболеваемости населения. Национальная безопасность страны кроме всего прочего подразумевает фармацевтическую безопасность, т.е. наличие лекарственных средств российского производства, что невозможно без внедрения наукоемких отечественных разработок в этой области. В настоящее время перед специалистами стоят задачи по разработке и внедрению новых активных фармацевтических субстанций, разработке новых составов лекарственных форм (ЛФ) различной направленности действия, совершенствованию технологии производства лекарственных форм. Указанные направления являются основными в государственной программе «Стратегия развития фармпромышленности РФ на период до 2020 года». Существующий ассортимент активных субстанций на фармацевтическом рынке России представлен в основном зарубежными производителями. Отечественные разработки по совершенствованию технологии получения новых лекарственных форм уступают зарубежным [2].

Создание новых лекарственных форм в фармацевтической технологии происходит по двум направлениям:

1. разработка новых лекарственных форм с улучшенными характеристиками (модификация высвобождения, низкий процент побочных действий) на основе клинически апробированных субстанций. Актуальным направлением является изучение и использование процессов массопереноса лекарственных веществ (ЛВ) для модификации их высвобождения;
2. разработка новых фармацевтических ингредиентов и традиционных лекарственных форм на их основе [3, 4].

Перспективным направлением в разработке систем доставки лекарственных веществ является использование сорбционных технологий. Сорбционные методы можно использовать для введения лекарственного вещества в сорбент при условиях обратимости процесса и десорбции ЛВ в организм. Сорбент предварительно насыщают необходимым ЛВ и систему применяют в режиме десорбции [5]. ЛВ имеет большую активную площадь на сорбенте-носителе за счет сорбции мономолекулярным слоем. Данный эффект позволяет снизить дозировку ЛВ при сохранении терапевтической активности. Полученная сорбционная лекарственная система может выполнять функцию транспортного средства доставки ЛВ в организм.

ЦЕЛЬ – обзор научной и технической литературы, касающейся возможности использования сорбционных процессов в технологии систем доставки ЛВ. Задачи: провести обзор использования сорбционных процессов в технологии систем доставки ЛВ; разработать модель сорбционной лекарственной системы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материалов исследования использовали электронные ресурсы eLIBRARY, CyberLeninka, PubMed. Методы исследования – анализ и обобщение научной литературы за период с 1996 по 2018 г.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Современная фармацевтическая технология имеет ряд проблем, решением которых будут являться новые пути создания эффективных лекарственных препаратов. Предметом изучения становится ЛФ, обладающая оптимальными биологической доступностью и направленностью действия.

В настоящее время ЛФ классифицируют (Ищенко В.И., 2016) по терапевтическому эффекту на три поколения:

1. традиционные ЛФ, характеризующиеся системностью и периодичностью действия, в

которых большая часть вводимого вещества подвергается метаболизму и не достигает цели;

2. ЛФ с системным действием и модифицированным высвобождением ЛВ (трансдермальные терапевтические системы, системы доставки на основе сорбционных процессов массопереноса);
3. ЛФ, характеризующиеся адресным действием в органы, ткани, клетки и даже в структуры клеток и регулируемым высвобождением (липосомы).

Традиционные ЛФ характеризуются немедленным и неконтролируемым высвобождением ЛВ. Перспективными являются ЛФ с модифицированным высвобождением, характеризующиеся изменением механизма и характера высвобождения ЛВ [6]. Модификацию высвобождения ЛВ можно добиться следующими путями:

1. технологическими и нанотехнологическими – производство микроразмерных ЛФ, производство наноразмерных ЛФ с направленным действием на биологическую мишень;
2. физическо-химическими – использование вспомогательных веществ, изменяющих растворимость, всасывание, распределение или элиминацию, а также образование комплексов или изменение структуры молекулы ЛВ [4, 7, 8].

Технологические методы модификации рассматривают сорбционные лекарственные системы, в которых ЛВ физически или химически связано с твердым носителем с целью модифицирования его высвобождения при последующей десорбции. Сорбционная лекарственная система позволяет уменьшает дозировку и частоту введения ЛВ. В данном аспекте биофармацевтические исследования по созданию лекарств нового поколения приобретают особую актуальность.

Существует несколько способов получения сорбционных лекарственных систем:

1. совместное диспергирование ЛВ с твердым носителем в мельницах различного типа. Измельчение полимера при его использовании в качестве твердого носителя возможно проводить в диапазоне низких температур, так как повышается способность к истиранию;
2. смешивание ЛВ с твердым носителем в среде растворителя с последующим удалением растворителя выпариванием [9].

Полимерная сорбционная система с модифицированным высвобождением активных фармацевтических ингредиентов – это структура, в которых полимерный носитель и ЛВ находятся в комплексе, обладающим физиологической активностью и регулируемой фармакокинетикой [10, 11]. В гастроэнтерологии широко используются высушенные культу-

ры живых бактерий – пробиотики. Биомасса живых бактерий, адсорбированных на косточковом активированном угле, является улучшенной ЛФ по отношению к традиционным лиофилизированным пробиотикам. Номенклатура сорбционных пробиотиков в России представлена лекарственными препаратами: Бифидумбактерин форте, Пробифор и Флорин форте. В основе технологии получения препаратов-пробиотиков лежат сорбционные процессы, направленные на сорбцию микроорганизмов активированным углем. Сорбция обеспечивает выживаемость микроорганизмов в кислой среде желудка, их взаимодействие с пристеночным слоем слизистой оболочки кишечника и повышение терапевтического эффекта пробиотика [12, 13].

Углеродминеральный сорбент СУМС-1 с иммобилизованными на своей поверхности бифидобактериями показал высокую адсорбционную активность и пробиотический терапевтический эффект [14]. При иммобилизации на сорбенте СУМС-1 полисахарида из морских водорослей фукоидана, элюация последнего в водный раствор составила $50 \pm 10\%$. Комбинированная ЛФ для энтерального применения показала высокую эффективность при лечении ожоговых ран. [15, 16]. СУМС-1 с иммобилизованным ингибитором фибринолиза можно рекомендовать в комплексной терапии воспалительных заболеваний пародонта [17].

Экспериментальные исследования лечения ожоговых и гнойных раневых поверхностей показали эффективность применения вульнеросорбции при помощи сорбционных лекарственных систем с антибиотиками [18–20] и фитопрепаратами [21–23].

Клинические наблюдения последних десятилетий свидетельствуют о побочных эффектах антибиотиков, в связи с чем возобновляется интерес к препаратам серебра. Разработаны серебросодержащие сорбенты (СИАЛ-С), показавшие хорошие детоксицирующие и антиоксидантные свойства [24]. Экспериментальные исследования свидетельствуют, что сорбент СИАЛ-С может явиться имплантатом для заполнения костных полостей, сохраняя остеопаративные свойства и в инфицированной ране [25].

Адсорбционная иммобилизация инулиназы на сверхсшитых сорбентах позволяет многократно использовать полученный гетерогенный биокатализатор при ферментативном производстве фруктозы. Адсорбция белка проведена на полимерном сорбенте [26], мезопористом кремнеземе [27].

В работе Бабаниной А.К. с соавт. [28] представлены методы получения медицинских глин, интеркалированных анальгином и амоксициллином, рассмотрено влияние методики синтеза (соосаждения и гидратации) на степень интеркаляции и кинетику высвобождения активных анионов. Преимущества и недостатки использования медицинских глин для пероральной доставки ЛВ, пролонгация высвобождения

ния и целенаправленность действия ЛВ, включенного в структуру медицинских глин, рациональный выбор вида глины в качестве носителя лекарственных веществ отражены в работах разных ученых [29–32].

Разработка углеродных сорбционных лекарственных наносистем для применения в ветеринарной практике, а также изучение их физико-химических и токсикологических свойств представлены в работе Пьяновой Л.Г. с соавт. [33].

Полимерные носители помимо использования в гастроэнтерологии нашли широкое применение в офтальмологии и хирургии [34]. Метод получения пленок и капсул посредством чередующейся адсорбции противоположно заряженных полиионов с целью получения сорбционных лекарственных систем на основе хитозана, альгинатов и альбумина представлен в работах Макаревич Н.А. с соавт. [35, 36].

С использованием компьютерного программирования разработана сорбционная лекарственная система в виде контактной линзы с пролонгирующим терапевтическим эффектом. Рассмотрены адсорбция и десорбция ЛВ, определено время насыщения и терапевтического действия линзы, то есть время, в течение которого ЛВ транспортируется из линзы и оказывает терапевтическое действие [37–41].

В различных работах представлена технология создания сорбционной лекарственной системы «полимер-доксорибидин» [42–43]. Сорбированный доксорибидин на поверхности полимерного стента замедляет кристаллизацию желчи. Полимер поликапролактон является переносчиком доксорибидина и эффективен при терапии онкологических заболеваний.

Исследователи из Университета Хельсинки и Ин-

ститута теоретической и экспериментальной биофизики РАН создали костный каркас на основе гидроксипатита, желатина, полипиррола и мезопористого оксид кремния. Каркас содержит адсорбированные антибиотики, подавляющие инфекцию в поврежденной кости, и помогает работать клеткам-восстановителям. Адсорбция антибиотиков позволяет пролонгировать их высвобождение из каркаса до 4 месяцев [44].

Таким образом, использование полимеров в качестве основы для сорбционных лекарственных систем направлено на получение регулируемой фармакокинетики сорбированного ЛВ [45]. Высвобождение ЛВ проходит за счет процессов массопереноса ЛВ с поверхности полимера. При создании полимерных сорбционных лекарственных систем полимер выбирают на основе следующих свойств: биосовместимости, способности к биодеструкции, физических свойств, пористости, удельной поверхности, вида и объема пор, которые позволяют реализовать контролируемое высвобождение ЛВ. В настоящее время полимерные сорбционные лекарственные системы используют при разработке материалов для стентов, глазных пленок, а также других систем с направленной доставкой ЛВ [46–51].

Обзор литературных источников показал широкое использование сорбционных процессов в технологии систем доставки ЛВ. В роли носителей для различных веществ используются следующие сорбенты: активированный уголь, минеральные сорбенты (медицинские глины), синтетические сорбенты (полимеры и их комбинации). На рис. 1 представлена рекомендуемая структура сорбционной лекарственной системы («sorption drug system» – «SDS»).



Рисунок 1 – Структура сорбционной лекарственной системы

Структура сорбционной лекарственной системы состоит из сорбента-носителя, активного фармацевтического ингредиента и вспомогательного вещества, обеспечивающих десорбцию. Десорбция активного фармацевтического ингредиента может способствовать его модифицированному высвобождению.

Указанный эффект обеспечивает постоянную терапевтическую концентрацию, известную скорость высвобождения во времени, устранение побочных эффектов, повышение стабильности [52–54].

На рис. 2 представлена фармакокинетическая модель высвобождения ЛВ в зависимости от дозы.

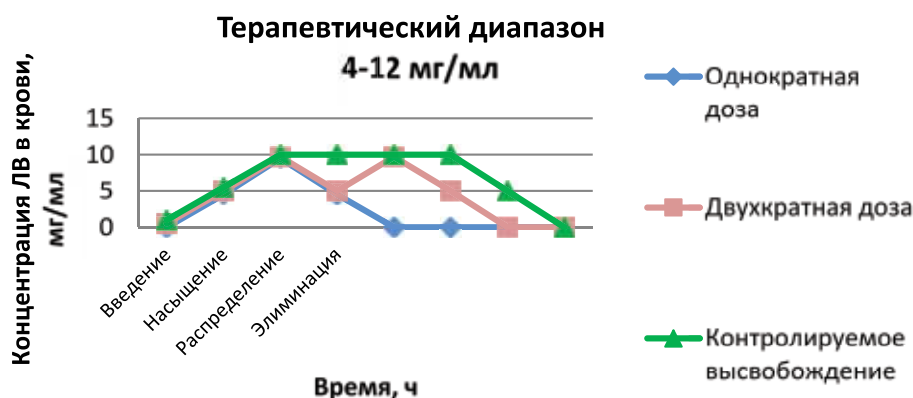


Рисунок 2 – Фармакокинетическая модель высвобождения ЛВ

Использование ЛФ с контролируемым высвобождением является рациональным, т.к. действующее вещество способно оказывать клинический эффект при фармакокинетическом профиле, отличающемся от достигаемого при применении ЛФ с немедленным

высвобождением при одно- или двукратной дозировке (рис. 2).

На рис. 3 представлен механизм действия сорбционной лекарственной системы для применения перорально.

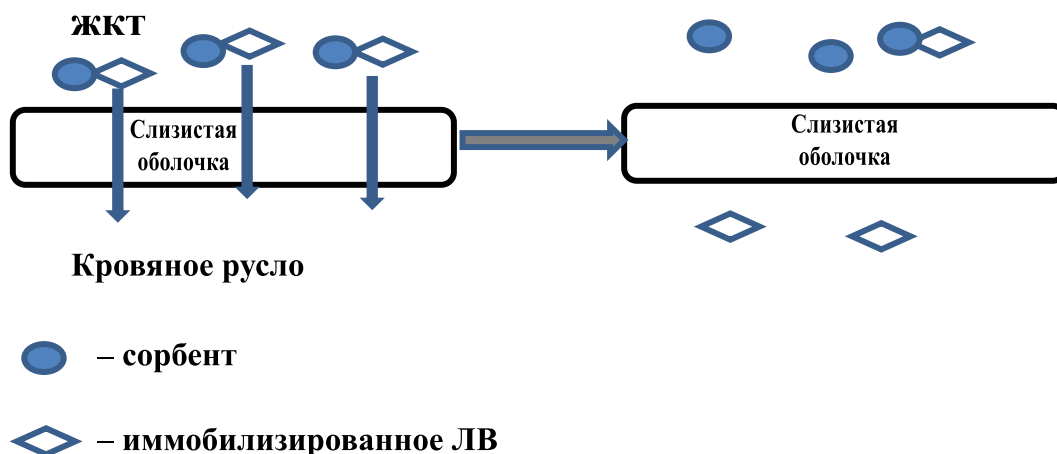


Рисунок 3 – Механизм действия сорбционной лекарственной системы для применения перорально

Как видно из рис. 3, при попадании в желудочно-кишечный тракт, сорбционная лекарственная система десорбирует иммобилизованное ЛВ, которое, накапливаясь возле кишечной стенки, всасывается в кровь. Использование сорбентов-носителей позволит добиться модификации высвобождения ЛВ. На высвобождение ЛВ возможно влияние следующих факторов: структура поверхности сорбента-носителя, концентрация ЛВ в носителе, вид ЛФ, площадь поверхности, размер пор, адсорбционная активность.

В технологии получения сорбционных лекарственных систем для использования *per os* возможно использование только зарегистрированных фарма-

цевтических субстанций с адсорбционным фармакологическим действием. На основе проведенного анализа выявлены следующие группы фармацевтических субстанций, разрешенных к применению в медицинской практике (табл.1) [55–56].

Как видно из табл. 1, в России зарегистрировано 6 групп фармацевтических субстанций, которые используются при производстве лекарственных препаратов – энтеросорбентов. В качестве сорбента-носителя возможно использование следующих сорбентов: активированного угля, смектита диоктаэдрического, кремния диоксида коллоидного, поливинилпирролидона и полиметилсилоксан полигидрата.

Таблица 1 – Характеристика основных групп сорбентов

№ п/п	Группа	Характеристика	Удельная поверхность
1	2	3	4
1	Активированный уголь	Получают из косточковых углей путем очистки и обработки водяным паром для увеличения пористости. Имеет высокоразвитую микропористую поверхность	1,5–200 м ² /г
2	Смектит диоктаэдрический	Получают из минерального сырья путем очистки. Имеет мезопористую поверхность. За счет строения кристаллической решетки обладает ионообменной способностью	до 600 м ² /г
3	Кремния диоксид коллоидный	Получают из высокодисперсного кремнезема. Сорбционные свойства проявляет на поверхности в местах связи оксида кремния с гидроксильными группами	до 400 м ² /г
4	Лигнин гидролизный	Получают путем щелочной обработки лигнина. Имеет макропористую структуру	до 20 м ² /г
5	Поливинилпирролидон	Получают синтетическим путем из мономера винилпирролидона. Обладает ионообменной способностью	200–400 м ² /г
6	Полиметилсилоксана полигидрат	Получают путем поликонденсации гидрогеля метилкремниевой кислоты. Имеет кремнийорганическую пористую структуру. Сорбирует сред- немолекулярные вещества	180–300 м ² /г

Сорбенты имеют различные показатели удельной поверхности, что характеризует количество на их поверхности сорбционных процессов, которые могут протекать одновременно. Лигнин гидролизный получают в виде вторичного сырья после гидролиза лиственных и хвойных пород древесины, он имеет макропористую структуру. Медицинские очищенные глины используют в качестве носителей, использующих поверхностные гидроксильные группы для сорбции органических веществ, а также активные центры внутри кристаллической решетки – для сорбции неорганических веществ. В настоящее время разработанные полимерные сорбционные лекарственные системы имеют ограничения *in vivo* из-за процессов биодеструкции, неизученного метаболизма, низкой или отсутствия растворимости, токсичности. Для решения указанных проблем требуются дополнительные исследования полимеров в качестве носителей для сорбционных лекарственных систем.

Технология получения сорбционных лекарственных систем требует дальнейшего изучения и

разработки методов моделирования, поиска экспериментальных фармакологических моделей и технологических методик, позволяющих получить сорбционную лекарственную форму с модифицированным высвобождением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведен обзор использования сорбционных процессов в технологии систем доставки ЛВ. Установлена возможность использования сорбционных процессов в системах доставки ЛВ. Сорбенты выступают в роли носителей для различных лекарственных веществ при приеме *per os*, а также в роли дозаторов различных соединений в организме человека при использовании полимерных систем доставки в виде глазных пленок и стентов. Разработана модель сорбционной лекарственной системы, состоящая из сорбента-носителя, активного фармацевтического ингредиента и вспомогательных веществ, обеспечивающих десорбцию. Десорбция активного фармацевтического ингредиента может способствовать его модифицированному высвобождению.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Здравоохранение в России. 2017: Стат. сб. / Росстат. М., 2017. 170 с.
2. Бондарев А.В., Линникова О.В., Новикова Н.Б. Обзор фармацевтического рынка России // Международное научно-периодическое издание «Новая наука: современное состояние и пути развития» по итогам науч.-практ. конф., (Оренбург), 30 августа 2016 г. – С. 117–119.
3. Меньшутин Н.В. Наночастицы и наноструктурированные материалы для фармацевтики. Калуга: Изд-во науч. лит-ры Бочкаревой Н.Ф., 2008. – 192 с.
4. Сысуев Б.Б., Плетнева И.В. Современное состояние исследований разработок в области инновационных лекарственных форм и их модификаций // Вестник ВолГМУ. 2014. – №4 (52). – С. 7–12.
5. Бородин Ю.И., Коненков В.И., Пармон В.Н., Любарский М.С., Рачковская Л.Н., Бгатов Н.П., Летягин А.Ю. Биологические свойства сорбентов и перспективы их применения // Успехи современной биологии. 2014 – Т. 134, № 3. – С. 236–248.
6. Сакаева И.В., Васильев А.Н., Бунятян Н.Д., Саканян Е.И., Колганов Л.А. Современное состояние вопроса классификации и стандартизации лекарственных форм в Российской Федерации //

- Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. – 2012. – №3. – С. 52–55.
7. Леонова М.В. Новые лекарственные формы и системы доставки лекарственных средств: особенности пероральных лекарственных форм. Ч. 2 // Лечебное дело. – 2009. – № 3. – С. 18–25.
 8. Kathe K, Kathpalia H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery // Asian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2017. – Vol. 12, №6. – P. 487–497. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2017.07.004>.
 9. Алексеев К.В., Тихонова Н.В., Блынская Е.В., Карбушева Е.Ю., Турчинская К.Г., Михеева А.С., Алексеев В.К., Уваров Н.А. Технология повышения биологической и фармацевтической доступности лекарственных веществ // Вестник новых медицинских технологий. – 2012. – № 4. – С. 43–47.
 10. Рекомендации Коллегии ЕЭК №2 от 16.01.2018 г. «О Руководстве по качеству лекарственных препаратов с модифицированным высвобождением для приема внутрь».
 11. Волова Т.Г., Севастьянов Е.И., Шишацкая Е.И. Полиоксикалканоаты – биоразрушаемые полимеры для медицины: монограф., 2-е изд., дополн. и перераб. – Красноярск. 2006. – 288 с.
 12. Корочинский А.В., Привалов И.М., Степанова Э.Ф., Сергиенко А.В. Фармакологические исследования лекарственной формы биоспорина, иммобилизованного на микрокапсулах // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. – 2012. – №10 (129). – С. 114–120.
 13. Хорошилова Н.В. Терапевтическая эффективность пробиотиков // Новая аптека. Аптечный ассортимент. – 2009. – №6. – С. 100–102.
 14. Препарат Биосорб-Бифидум для нормализации экологии внутренней среды / Ю.И. Бородин, Г.С. Солдатов, В.А. Бурмистров, Л.Н. Рачковская и др. // Проблемы лимфологии и эндоэкологии внутренней среды: Матер. междунар. симп. Новосибирск: НИИКЭЛ СО РАМ. – 1998. – С. 58–59.
 15. Биологические свойства энтеросорбента специфической направленности в условиях ожоговой травмы / В.И. Коненков, Н.П. Богатова, Ю.И. Бородин, М.С. Любарский и др. // Оздоровительная, лечебная и восстановительная медицина. – 2006. – №1. – С. 16–21.
 16. Пористый сорбент с гепатопротекторными свойствами: патент 2329864 РФ № 2006107349/15; заявл. 03.09.06; опубл. 27.07.08, Бюл. № 21.
 17. Коваленко Г.А., Кузнецова Е.В., Ванина М.П. Адсорбция и антифибринолитическая активность эпсилон-аминокапроновой кислоты на углеродсодержащих энтеросорбентах // Химико-фармацевтический журнал. – 1998. – Т. 32, № 11. – С. 39–42.
 18. Павлов В.В., Плешаков В.П. Использование лимфотропной и сорбционно-аппликационной терапии для подготовки раневой поверхности к различным видам кожной пластики // Проблемы клинической и экспериментальной лимфологии: Матер. междунар. конф. – Новосибирск, 1996. – С. 195–199.
 19. Плешаков В.П. Морфофункциональная характеристика лимфатического русла брюшной полости при разлитом гнойном перитоните его лечения с помощью лимфосорбционного дренажа // Проблемы клин. и exper. лимфологии: Матер. междунар. конф. Новосибирск. – 1996. – С. 202–206.
 20. Муруева А.В., Шершнева А.М., Шишацкая Е.И., Волова Т.Г. Исследование полимерных микроносителей, нагруженных противовоспалительными препаратами, для терапии модельных дефектов кожных покровов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157. – № 5. – С. 614–619.
 21. Буханов В.Д., Шапошников А.А., Везенцев А.И. Сравнительный анализ биохимических и морфологических показателей крови крыс на третьей стадии процесса ранозаживления при лечении фитоминералосорбентами // Научные Ведомости БелГУ. Сер Медицина. Фармация. – 2014. – №26(11). – С. 177–80.
 22. Касанов К.Н., Попов В.А., Успенская М.В., Соловьев В.С., Макин Д.Н., Везенцев А.И., Пономарева Н.Ф., Мухин В.М. Разработка монтмориллонит содержащей матрицы биоактивного сорбирующего раневого покрытия // Научные ведомости БелГУ. Серия: Естественные науки. – 2011. – №3 (98). – С. 168–173.
 23. Луценко В.Д., Шапошников А.А., Круть У.А., Маголин Г.Ф., Луханина Е.М., Иванчикова К.Н., Шевченко Т.С. Обоснование применения биоактивных сорбционно-гелиевых композиций при лечении гнойных ран // Новости хирургии. – 2016. – №3. – С. 222–226.
 24. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Бурмистров В.А., Рачковская Л.Н., Бгатова Н.П. Препараты высокодисперсного серебра для оздоровительных программ // Лечебная и восстановительная медицина. – Новосибирск: ООО ПК «АртПресс». 2009. Выпуск 2. С. 8–11.
 25. Асанов Б.М., Бейсембаев А.А. Замещение костных полостей сорбционными имплантатами // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса: матер. научн. конф. – Новосибирск, 2004. – С. 38–39.
 26. Шкутина И.В., Стоянова О.Ф., Селеменев В.Ф. Сверхсшитые сорбенты как носители инулиназы при получении фруктозы // Сорбенты как фактор качества жизни и здоровья: матер. IV междунар. науч. конф. – Белгород, 24–28 сентября 2012 г. – С. 189–193.

27. Sonmez M., Ficai D., Ficai A. Applications of mesoporous silica in biosensing and controlled release of insulin // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2018. – Vol. 549, № 1–2. – P. 179–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.037>.
28. Бабанина А.К., Рыльцова И.Г., Лебедева О.Е. Интеркаляционные структуры на основе слоистых двойных гидроксидов как системы доставки лекарственных препаратов // Сорбционные и ионообменные процессы в нано- и супрамолекулярной химии: матер. всерос. науч. конф. с междунар. уч. – Белгород, 22–24 сентября 2014 г. – С. 16–19.
29. Diab R., Canilho N., Pavel I.A., Haffner F.B., Pasc A. Silica-based systems for oral delivery of drugs, macromolecules and cells // *Advances in Colloid and Interface Science*. – 2017. – Vol. 249. – P. 346–362. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.005>.
30. Sarvaiya Jayrajsinh, Gauri Shankar, Yadvendra K. Agrawal, Lateef Bakre Montmori llonitenanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review // *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, – 2017. – Vol. 39. – P. 200–209. DOI: <https://doi.org/10.1180/0009855013640007>.
31. Graycyelle R.S., Cavalcantiac M.G., Fonseca E.C. Thiabendazole/bentonites hybrids as controlled release systems // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2019. – V. 176. – P. 249–255. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.12.030>.
32. Beissebekov M., Kayralapova R., Kudaybergenova G. Organo-mineral carriers of medicinal substances // *Chemical Bulletin of Kazakh National University*. – 2012. – Vol. 3. – P. 197–202. DOI: https://doi.org/10.15328/chemb_2012_3197-202.
33. Пьянова Л.Г., Герунова Л.К., Лихолобов В.А., Седанова А.В. Создание и перспективы использования модифицированных сорбентов в ветеринарной медицине // *Вестник ОмГАУ*. – 2016. – №2 (22). – С. 138–146.
34. Болотова Г.В. Полимерные носители для противотуберкулезных лекарственных средств на основе хитозана // *Молодой ученый*. – 2010. – Т. 2, №5. – С. 208–210.
35. Макаревич Н.А., Богданович Н.И., Бубнова И.И., Лагунова Е.А. Полионная сборка на основе биополиэлектролитов // Сорбционные и ионообменные процессы в нано- и супрамолекулярной химии: матер. всерос. науч. конф. с междунар. уч. – Белгород, 22–24 сентября 2014. – С. 67–72.
36. Макаревич Н.А., Бойцова Т.А., Бровко О.С., Паламарчук И.А. Полиэлектролитные комплексы на основе лигносульфонатов и хитозана в системе очистки сточных вод целлюлозно-бумажных предприятий // *Вода: химия и экология*. – 2009. – № 7. – С. 23–29.
37. Жилиякова Е.Т., Новиков О.О., Акопова В.В. Исследование поверхности и морфологии мягких контактных линз с целью создания офтальмологической терапевтической системы доставки лекарственных препаратов к тканям глаза // *Научные ведомости БелГУ*. – 2010. – № 22(93). – С. 73–76.
38. Акопова В.В. Мягкие контактные линзы как возможное средство доставки лекарственных средств // *Современные наукоемкие лечебные и фармацевтические технологии для офтальмологии: сб. материалов Всерос. shk.-семинара, 28 сент.-1 окт. 2009 г. / БелГУ ; под ред. Е.Т. Жилиякова [и др.]. – Белгород, 2009. – С. 7–11.*
39. Акопова В.В. Изучение поверхности и структуры мягких контактных линз с целью создания офтальмологической терапевтической системы доставки лекарственного препарата к тканям глаза // *Нано- и супрамолекулярная химия в сорбционных и ионообменных процессах: матер. всерос. конф. с элементами науч. shk. для молодежи, 14–17 сент. 2010 г. / БелГУ; под ред. А. И. Везенцева. – Белгород, 2010. – С. 9–12.*
40. Жилиякова Е.Т., Наплеков Д.К. Изучение возможности создания комбинированного лекарственного средства для лечения глаукомы, осложненной миопией // *Молодой ученый*. – 2014. – №19. – С. 107–109.
41. Жилиякова Е.Т., Новиков О.О., Акопова В.В., Попов Н.Н., Гончаров И.Ю., Бондарев А.В. Исследование поверхности и морфологии мягких контактных линз с целью создания офтальмологической терапевтической системы доставки лекарственного препарата к тканям глаза // *Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация*. – 2010. – №22 (93). – С. 73–76.
42. Бебуришвили А.Г., Запорожкова И.В., Спиридонов Е.Г., Мандриков В.В., Шинкарев Р.А. О возможности создания нового лекарственного покрытия на поверхности билиарного стента // *Вестник ВолгГМУ*. – 2014. – №2(50). – С. 123–130.
43. Nizaa E., Castro-Osmaa J.A., Alonso-Moreno P.C. Assessment of doxorubicin delivery devices based on tailored bare polycaprolactone against glioblastoma // *International Journal of Pharmaceutics*. – 2019. – Vol.558. – P. 110–119. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.12.079>.
44. Григорьева М.В. Полимерные системы с контролируемым высвобождением биологически активных соединений // *Biotechnol. acta*. – 2011. – № 2. – С. 9–23.
45. Glangchai L.C., Caldorera M.M., Shi L., Roy K. Nanoimprint lithography based fabrication of shape specific, enzymatically triggered smart nanoparticles // *Journal of Controlled Release*. – 2008. – V. 125. – P. 263–272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.10.021>.
46. HuanPengac, XiaobinHuangb, Andrea Melleacetc

- Redox-responsive degradable prodrugnanogels for intracellular drug delivery by crosslinking of amine-functionalized poly(N-vinylpyrrolidone) copolymers // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2019. – V. 540. – P. 612–622. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2019.01.049>.
47. Erdoğan N., Akkin S., Bilensoy E. Nanocapsules for Drug Delivery: An Updated Review of the Last Decade // *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*. – 2018. – Vol. 12. – P. 252–266. DOI: <http://dx.doi.org/10.2174/1872211313666190123153711>.
48. Mundargi R.C., Babu V.R., Rangaswamy V. et al. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide co glycolide) and its derivatives // *Ibid.* – 2008. – V. 125. – P. 193–209. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.09.013>.
49. Григор'єва М.В., Гладир І.І., Галатенко Н.А. Цефазолін-наповнені поліуретанові носії // *Укр. хім. журн.* – 2002. – Т. 68, № 4. – С. 125–127.
50. Григорьева М. В., Мазур Л. М., Галатенко Н. А. и др. Изучение свойств полимерной композиции на основе сетчатого полиуретана с пролонгированным антинаркотическим действием // *Полімер. журн.* – 2004. – Т. 26, № 4. – С. 254–259.
51. Blaesi A.H., Saka N. Microstructural effects in drug release by solid and cellular polymeric dosage forms: A comparative study // *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* – 2017. – №80. – P. 715–727. DOI: 10.1016/j.msec.2017.05.080.
52. Bajpai A.K., Shukla S.K., Bhanu S., Kankane S. Responsive polymers in controlled drug delivery // *Progress in Polymer Science*. – 2008. – V.33. – P.1088-1118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2008.07.005>.
53. Соснов А.В., Иванов Р.В., Балакин К.В., Шоболов Д.Л., Федотов Ю.А., Калмыков Ю.М. Разработка систем доставки лекарственных средств с применением микро- и наночастиц // *Качественная клиническая практика: новые лекарственные средства и технологии*. – 2008. – № 2. – С. 4–12.
54. Malafaya P.B., Silva G.A., Reis R.L. Natural-origin polymers as carriers and scaffolds for biomolecules and cell delivery in tissue engineering applications // *Advanced Drug Delivery Reviews*. – 2007. – P. 207–233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.03.012>.
55. Государственный реестр лекарственных средств [Электронный ресурс] / М-во здравоохранения РФ. М., 2018. Режим доступа: <http://grls.gosminzdrav.ru>.
56. Жиякова Е.Т., Бондарев А.В. Обзор российских энтеросорбционных лекарственных средств // *Ремедиум*. – 2014. – №10. – С. 40–47. DOI: <https://doi.org/10.21518/1561-5936-2014-10-40-47>.

Конфликт интересов

Между авторами конфликта интересов нет.

Авторы

Бондарев Александр Васильевич – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель, кафедра фармацевтической технологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет. E-mail: alexbond936@yandex.ru

Жиякова Елена Теодоровна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет. E-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru

УДК 543.544



РАЗРАБОТКА НОРМ КАЧЕСТВА ОБРАЗЦОВ МОДЕЛЬНОГО СОСТАВА ГРАНУЛИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С ГЛУТАТИОНОМ ВОССТАНОВЛЕННЫМ

К.А. Алексеева¹, Д.И. Писарев¹, А.Ю. Малютин¹, Е.Т. Жиликова¹,
З.Е. Цветкова¹, Ю.А. Полковникова²

¹ ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет» Минобрнауки России
394018, Россия, г. Воронеж, Университетская пл., 1

E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

Поступила в редакцию: 14.01.2019

Принята к печати: 25.02.2019

Биологически активные серосодержащие соединения (БАСС) проявляют ярко выраженные антиоксидантные свойства. Особое положение из числа данных соединений занимает глутатион восстановленный (GSH). Он представляет собой ключевое звено 3-х антиоксидантных систем организма из существующих четырех. Исходя из вышесказанного, нами была предложена лекарственная форма на основе GSH, обладающая антиоксидантными свойствами. **Целью** данного исследования является разработка модельной гранулированной лекарственной формы на основе GSH и методики ее анализа с помощью предколоночной дериватизации орто-фталевым альдегидом. **Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовали GSH и гранулированную лекарственную форму на основе GSH, полученную методом влажного гранулирования. Оценку количественного содержания GSH в полученных гранулах, проводился с помощью предколоночной дериватизации методом обращено-фазной высокоэффективной хроматографии (ОФ ВЭЖХ). В качестве дериватизирующего агента использован орто-фталевый альдегид. Для обнаружения образовавшегося деривата был применен диодно-матричный детектор. **Результаты.** В ходе работы была создана модельная лекарственная форма – гранулы на основе GSH. Исходя из рекомендаций по дозировке препарата подобрана концентрация действующего вещества. В качестве вспомогательного компонента была выбрана лактоза. Изучены физические и технологические характеристики модельного образца гранул с GSH и лактозой в качестве наполнителя. Разработана и валидирована методика количественного определения GSH в гранулах с использованием предколоночной дериватизации орто-фталевым альдегидом методом ВЭЖХ. **Заключение.** Разработанная гранулированная лекарственная форма по анализируемым показателям соответствует требованиям, приведенным в ОФС «Гранулы». При помощи валидационной оценки установлено, что разработанная методика количественного определения GSH в гранулах является правильной, прецизионной и специфичной. **Ключевые слова:** глутатион восстановленный, орто-фталевый альдегид, гранулы, обращенно-фазная высокоэффективная жидкостная хроматография, дериватизация, валидация

Для цитирования: К.А. Алексеева, Д.И. Писарев, А.Ю. Малютин, Е.Т. Жиликова, З.Е. Цветкова, Ю.А. Полковникова. Разработка норм качества образцов модельного состава гранулированной лекарственной формы с глутатионом восстановленным. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1):13-19. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-13-19

© К.А. Алексеева, Д.И. Писарев, А.Ю. Малютин, Е.Т. Жиликова, З.Е. Цветкова, Ю.А. Полковникова, 2019

For citation: K.A. Alekseeva, D.I. Pisarev, A.Yu. Malyutina, E.T. Zhilyakova, Z.E. Tsvetkova, Yu.A. Polkovnikova. Working out quality standards of model composition samples of granulated dosage form with glutathione restored. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(1): 13-19. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-13-19

WORKING OUT QUALITY STANDARDS OF MODEL COMPOSITION SAMPLES OF GRANULATED DOSAGE FORM WITH GLUTATHIONE RESTORED

K.A. Alekseeva¹, D.I. Pisarev¹, A.Yu. Malyutina¹, E.T. Zhilyakova¹,
Z.E. Tsvetkova¹, Yu.A. Polkovnikova²

¹ Belgorod State National Research University
85, Pobeda Str., Belgorod, Russia, 308015

² Voronezh State University
1, Universitetskaya Sq., Voronezh, Russia, 394006

E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

Received: 14.01.2019

Accepted for publication: 25.02.2019

Biologically active sulfur-containing compounds (BASC) exhibit pronounced antioxidant properties. Glutathione reduced (GSH) occupies a particular position among these compounds. It represents a key link in the 3 antioxidant systems of the body from the existing four. Based on the foregoing, a GSH-based dosage form with antioxidant properties was proposed. **The aim** of this study is to work out a model granulated dosage form based on GSH and methods of its analysis by means of pre-column derivatization with ortho-phthalic aldehyde. **Materials and methods.** GSH and granulated dosage form based on GSH obtained by wet granulation were used as the object of study. Quantitative evaluation of GSH content in the obtained granules was carried out using pre-column derivatization using the method of reversed-phase high-performance chromatography (RP HPLC). Ortho-phthalic aldehyde was used as a derivatizing agent. A diode-array detector was used to detect the resulting derivative. Ortho-phthalic aldehyde was used as a derivatizing agent. A diode-matrix detector was used to find out the resulting derivative. **Results.** In the course of the work, a model dosage form was created – granules based on GSH. By reference to the recommendations on the dosage of the drug, the concentration of the active substance was selected. Lactose was chosen as an auxiliary component. Physical and technological characteristics of a model sample of granules with GSH and lactose as a filler were studied. A method of quantitative determination of GSH in granules using pre-column derivatization with ortho-phthalic aldehyde was developed and validated by HPLC. The method of quantitative determination of GSH in granules with the use of pre-column derivatization by ortho-phthalic aldehyde by HPLC was developed and validated. **Conclusion.** The developed granulated dosage form meets the requirements given in the EF "Granules" according to the analyzed indicators. Using the validation evaluation it was established, that the developed method for the quantitative determination of GSH in granules is correct, precise and specific.

Keywords: reduced glutathione, ortho-phthalic aldehyde, granules, reverse phase high performance liquid chromatography, derivatization, validation

ВВЕДЕНИЕ

Глутатион восстановленный (GSH) – трипептид, содержащий в своем составе аминокислотные остатки L-глутаминовой кислоты, глицина и L-цистеина. GSH является одним из неферментативных компонентов, принимающих участие в антиоксидантной защите живых организмов. Он выступает действенным антирадикальным средством и играет ключевую роль в жизненном цикле клеток, обуславливая их защиту от свободных радикалов, гидропероксидов и ксенобиотиков [1, 2]. Статус GSH является индикатором функциональности и жизнеспособности клеток [3, 4]. Истощение или изменение его уровня внутри клетки провоцирует ряд таких заболеваний, как онкологические, нейродегенеративные, сердечно-сосудистые [5, 6].

Исследования *in vitro* и *in vivo* подтверждают, что дефицит GSH может послужить причиной гибели клеток и повреждений митохондрий вследствие повышения количества токсичных форм кислоро-

да и роста численности свободных радикалов [7]. GSH способен предупреждать разрушение клеток посредством конъюгации с токсичными веществами и их метаболитами. Глутатионовая конъюгация занимает одно из центральных мест в механизмах биотрансформации ряда ксенобиотиков [8–10]. На сегодняшний день известно более сорока типов химических соединений, которые вступают в реакции с GSH. Сопрягающим фактором подобного рода реакций является наличие электрофильного центра, способного реагировать с SH-группой GSH [11]. Следовательно, система обезвреживания ксенобиотиков с участием GSH имеет ключевую роль в формировании резистентности организма к разным воздействиям и представляет собой один из самых важных защитных механизмов клетки. При этом конъюгаты GSH с ксенобиотиками менее реакционноспособны и более гидрофильны, чем исходные вещества, поэтому менее токсичны и быстрее элиминируются из организма [12, 13]. GSH также

способен предотвращать внедрение липофильных токсикантов в липидный бислой мембран [14]. GSH обладает мембраностабилизирующим действием на гепатоциты, увеличивает активность ферментов и способствует детоксикации и восстановительной активности печени посредством обезвреживания свободных радикалов [15].

Учитывая спектр фармакологической активности глутатиона, нами была предложена лекарственная форма с GSH, обладающая выраженными антиоксидантными свойствами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве объекта исследования использовали глутатион восстановленный (CAS №70-18-8, ЕС № 2007254, *Applichem*, Германия) и вспомогательное вещество – лактозу. Выбор данного компонента объясняется возможностью его применения в качестве наполнителя, корригента и агента, регулирующего некоторые технологические показатели гранул (прочности, распадаемости и т.д.).

Преимущества лактозы как вспомогательного вещества [16]:

- инертный материал, высокая чистота, нейтральная окраска;
- влагоустойчивость;
- физическая и химическая стабильность;
- хорошо подвергается измельчению и просеиванию;
- высокая степень кристаллизации, низкая степень аморфности.

Угол смачивания GSH водой меньше 90° и составляет $45 \pm 5^\circ$, из чего сделан вывод о том, что GSH является гидрофильной субстанцией, поэтому в качестве увлажнителя в модельном образце гранул использовалась вода очищенная.

Для получения модельного образца гранул применяли метод влажного гранулирования. Формирование гранул происходит в результате продавливания увлажненной массы через перфорированное сито.

Технологические характеристики полученных гранул определяли с использованием изложенных ниже методик.

Степень сыпучести гранул устанавливали по методике ГФ XIV издания (ОФС «Степень сыпучести порошков»), используя вибрационное устройство – ВП-12А (ЖЗТО). Размеры полученных гранул определяли с помощью ситового анализа в соответствии с ГФ XIV (ОФС «Ситовый анализ»). Испытание «распадаемости» осуществляли на тестере распадаемости «Качающаяся корзинка» в соответствии с ГФ XIV (ОФС «Гранулы»). Результаты теста «Растворение» отмечали на тестере растворения «Мешалка лопастная» в соответствии с ОФС.1.4.2.0014.15.

Количественное определение GSH в гранулированной лекарственной форме проводили методом обращенно-фазной высокоэффективной хроматографии с помощью предколоночной дериватизации данного терапевтического агента *орто*-фталевым альдегидом [17].

Анализ проводили на хроматографе «*Agilent Technologies 1200 Infinity*» с автоматическим пробоотборником, вакуумным микродозатором, градиентным насосом и термостатом. Условия градиентного хроматографирования: подвижная фаза (А) – 1% водный раствор кислоты муравьиной, (Б) – спирт этиловый 95%; колонка: *Ascentis express* C18 2,7 дм × 100 мм × 4,6 мм; скорость подвижной фазы: 0,5 мл/мин; температура колонки: $+35 \pm 0,01^\circ\text{C}$; объем вводимой пробы: 1 $\mu\text{л}$.

У GSH отсутствуют хромофоры, пригодные для его анализа методами УФ-спектроскопии и ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием. В связи с этим нами предложен анализ GSH методом ВЭЖХ путем его химической трансформации дериватирующим агентом – *орто*-фталевым альдегидом. В результате реакции полученный дериват GSH и *орто*-фталевого альдегида приобретает хромофорную метку, которую и фиксируют в ходе хроматографического анализа с помощью диодно-матричного детектирования.

Методика дериватизации гранул на основе глутатиона

1 мл 0,1%-ного раствора гранул глутатиона в 0,05 М водном растворе натрия тетрабората помещали в склянку для анализа вместимостью 10 мл, добавляли 1 мл 0,35%-ного раствора *орто*-фталевого альдегида в этаноле, тщательно взбалтывали и сразу хроматографировали.

Приготовление модельных испытуемых растворов при валидационной оценке методики

Характеристики правильности и прецизионности исследовали на модельных образцах препарата с концентрациями глутатиона, которые соответствовали 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115% и 120% их содержания по отношению к номинальному значению. Для приготовления модельных образцов препарата использовали мерные колбы вместимостью 25 мл. Навески брали непосредственно из компонентов препарата. Массы навесок и концентрации полученных растворов глутатиона приведены в таблице 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На основании полученных экспериментальных данных была создана модельная лекарственная форма – гранулы на основе глутатиона. Концентрация действующих веществ выбрана исходя из рекомендаций по дозировке препарата (0,05–0,5 г). Состав гра-

нул на однократный пакет фасовкой 3,0 г: глутатион – 0,1 г, лактоза – 2,9 г.

На следующем этапе работы были определены

органолептические, физические и технологические показатели гранул на основе глутатиона. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Таблица 1. Фармацевтико-технологические характеристики гранулированной модельной лекарственной формы на основе GSH

Исследуемый показатель	Методика определения	Значения, полученные экспериментальным путем	Референтные значения
Размер гранул	<u>ОФС.1.1.0015.15</u>	1,0–1,2 мм	Крупная фракция: >1,2 мм Средняя фракция: 1,2 мм Мелкая фракция: 1,0 мм
Форма гранул	<u>ОФС.1.2.1.0009.15</u>	Анизодиаметрическая (удлиненная)	Удлиненная: >3:1 Пластинчатая: 3:1 Равноосная: 1:1
Насыпная плотность	<u>ОФС.1.4.2.0016.15</u>	460,10 ± 1,31 кг/м ³ (Легкие)	Весьма тяжелые: >2000 кг/м ³ Тяжелые: 1100–2000 кг/м ³ Средние: 600–1100 кг/м ³ Легкие: < 600 кг/м ³
Сыпучесть	<u>ОФС.1.4.2.0016.15</u>	7,14 ± 0,25 г/с (Хорошая)	Отличная: 8,6–12,0 г/с Хорошая: 6,6–8,5 г/с Удовлетворительная: 3,0–6,5 г/с Допустимая: 2,0–3,0 г/с Плохая: 1,0–2,0 г/с Очень плохая: <1,0 г/с
Распадаемость	<u>ОФС.1.4.2.0013.15</u>	4 ± 2 минут	До 15 минут
Прочность	<u>ОФС.1.4.2.0004.15</u>	98,5 ± 0,5%	Не менее 97%
Высвобождение глутатиона	<u>ОФС.1.4.2.0014.15</u>	99,9 ± 0,50% (в течение 15 минут)	75% (в течение 45 минут)
Растворимость гранул в воде	<u>ОФС.1.2.1.0005.15</u>	Растворимы (1:30)	Очень легко растворимы: до 1 мл/г; Легко растворимы: 1–10 мл/г; Растворимы: 10–30 мл/г; Умеренно растворимы: 30–100 мл/г; Мало растворимы: 100–1000 мл/г; Очень мало растворимы: 1000–10000 мл/г Практически не растворимы: более 10000 мл/г
Потеря в массе при высушивании	<u>ОФС.1.2.1.0010.15</u>		1,5 ± 1%
Однородность дозирования	<u>ОФС.1.4.2.0008.15</u>		Выполняется
Содержание глутатиона, г	ОФ ВЭЖХ 100,0 ± 0,39%		100,09 ± 0,39%

Согласно данным таблицы 1 гранулы на основе глутатиона представляют собой удлиненные частицы размером 1,0–1,2 мм, относятся к легким крупинкам и обладают удовлетворительной сыпучестью. По показателям, приведенным в ОФС «Гранулы» (распадаемость, однородность дозирования, растворение), данная лекарственная форма соответствует требованиям. Гранулы на основе глутатиона можно использовать для наполнения капсул, а также в качестве самостоятельной лекарственной формы. Разработанные гранулы растворимы в холодной воде. Гранулы на основе глутатиона – лекарственная форма для приема внутрь с предварительным растворением в жидкости.

С целью количественного определения GSH в гранулированной лекарственной форме разработана

методика предколонной дериватизации орто-фталевым альдегидом. Дериватизация с указанным модификатором происходит обычно в течение 2–3 минут. Образующийся продукт легко определяется с помощью диодно-матричного или флуориметрического детектора. Длина волны образующегося деривата обычно составляет λ – 337 нм. Молярные соотношения орто-фталеевого альдегида и глутатиона равны 3,5:1. При хроматографировании ОРНА-деривата глутатиона наблюдается один пик со временем удерживания 18,066 мин. В УФ-спектре деривата обнаруживается несколько максимумов поглощения, наиболее специфичным из которых является λ_{max} – 336 нм. При этом пик самого дериватизатора не виден, из-за иного максимума поглощения деривата (рисунок 1).

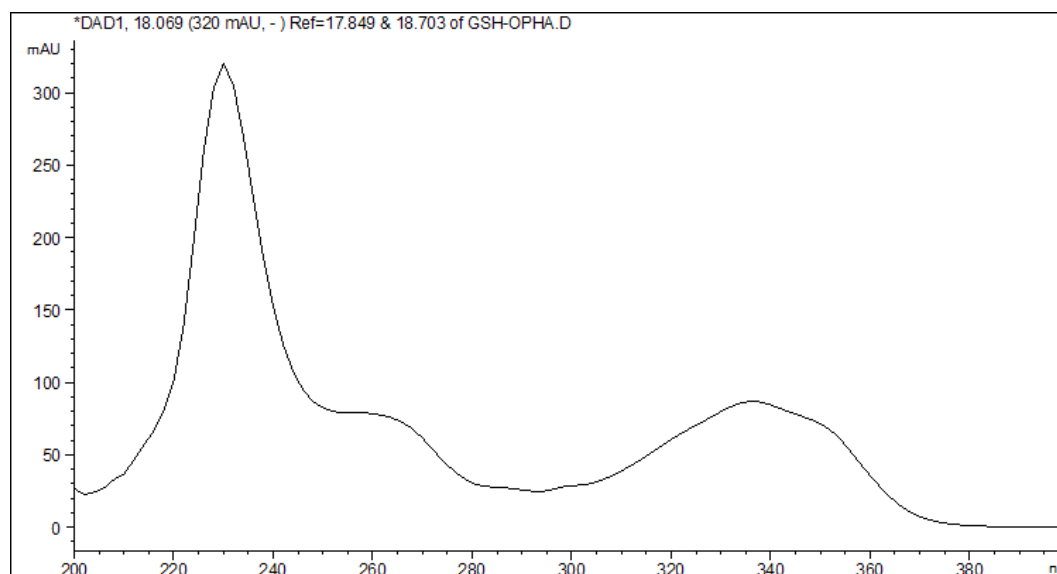


Рисунок 1. УФ-спектр деривата орто-фталевого альдегида с GSH при длине волны 336 нм в гранулированной лекарственной форме

Для подтверждения возможности использования предложенной нами методики идентификации и количественного определения глутатиона методом предколоночной дериватизации орто-фталевым альдегидом в гранулах проведена валидационная оценка по характеристикам: специфичность, линейность, сходимость (прецизионность) и правильность [18].

Валидационные параметры правильности, прецизионности и линейности изучены на растворах препара-

та с концентрациями глутатиона в диапазоне 80–120% от номинального содержания глутатиона в гранулах. Это охватывает весь спектр концентрации и определяет минимальную допустимую концентрацию применения методики для количественного определения [19].

Критерии приемлемости рассчитывали для $V=10\%$, следовательно, максимальная величина суммарной неопределенности результатов методики (Δ_{As}) на должна превышать значение $V \times 0,32 = 3,2\%$ [20].

Таблица 2. Массы навесок и концентрации глутатиона восстановленного в модельных образцах гранул

Номер модельного образца	Масса навесок препарата – гранул с глутатионом, г	Содержание глутатиона восстановленного в навеске, г	Концентрация глутатиона восстановленного по отношению к номинальной, %
1	0,6022	0,02000	80,41
2	0,6360	0,02120	85,42
3	0,6760	0,02250	90,85
4	0,7125	0,02370	95,07
5	0,7512	0,02500	100,02
6	0,7875	0,02620	105,20
7	0,8265	0,02755	110,03
8	0,8630	0,02876	114,96
9	0,9012	0,03000	119,92

Результаты хроматографирования, значения определенных концентраций глутатиона в модельных образцах и расчет метрологических характеристик методики представлены в таблице 3.

Из информации, приведенной в таблице 3, следует, что методика количественного определения глутатиона не имеет статистически значимой систематической ошибки. Таким образом, валидационные

испытания методики количественного определения глутатиона в гранулах методом предколоночной дериватизации орто-фталевым альдегидом показали соответствие валидационных параметров принятым количественным критериям по правильности, сходимости в диапазоне концентраций от 80% до 120% от номинального содержания глутатиона в гранулированной лекарственной форме.

Таблица 3 – Результаты валидации методики количественного определения глутатиона в модельных растворах гранул

№ раствора	Взято глутатиона в % от концентрации раствора сравнения (X, %)	Найдено глутатиона в % к концентрации раствора сравнения (Y, %)	Найдено в % к взятому глутатиону $Z = 100 \cdot (Y/X)$
1	80,41	80,39	99,98
2	85,42	85,49	100,01
3	90,85	90,78	99,92
4	95,07	95,23	100,17
5	100,02	100,21	100,19
6	105,20	105,01	99,82
7	110,03	110,18	100,14
8	114,96	115,15	100,17
9	119,92	120,36	100,37
Среднее, Z, %			100,09
Относительное стандартное отклонение, S_z , %			0,17%
Относительный доверительный интервал, Δ , % = $t(95\%, 7) \cdot S_z$			0,39
Критическое значение для сходимости результатов, $\max \Delta_{\Delta_s}$, %, при $B \pm 10\%$			3,2
Систематическая погрешность, $\delta = Z_{cp} - 100$			0,09
Критерий незначимости системной погрешности $\delta \leq \Delta/3$			выполняется
Общий вывод о методике			корректна

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы была создана модельная лекарственная форма – гранулы на основе глутатиона. Изучены физические и технологические характеристики модельного образца гранул с GSH и лактозой в качестве наполнителя. Разработана и валидирована методика количественного определения GSH в гра-

нулах с использованием предколонной дериватизации орто-фталевым альдегидом методом ВЭЖХ. Результаты валидационной оценки показали, что настоящая методика соответствует всем валидационным параметрам – является правильной, прецизионной, специфичной и линейной в аналитической области.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Winterbourn C.C. Superoxide as an intracellular radical sink // Free Radic. Biol. Med. – 1993. – Vol. 14, № 1. – P. 85–90.
2. High hepatic glutathione stores alleviate Fas-induced apoptosis in mice / S. Cazanave, A. Berson, D. Haouzi [et al.] // J Hepatol. – 2007. – Vol. 46, № 5. – P. 858–868.
3. Go Y.M., Jones D.P. Redox compartmentalization in eukaryotic cells // Biochim Biophys Acta. – 2008. – Vol. 1780, № 11. – P. 1273–1290. DOI: 10.1016/j.bbagen.2008.01.011.
4. Glutathione binding to the Bcl-2 homology-3 domain groove: a molecular basis for Bcl-2 antioxidant function at mitochondria / A.K. Zimmermann, F.A. Loucks, E.K. Schroeder [et al.] // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282, № 40. – P. 29296–29304. DOI: 10.1074/jbc.M702853200.
5. Arnér E.S., Holmgren A. Physiological functions of thioredoxin and thioredoxin reductase // Eur J Biochem. – 2000. – Vol. 267, № 20. – P. 6102–6109. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1432-1327.2000.01701.x>
6. Iles K.E., Liu R.M. Mechanisms of glutamate cysteine ligase (GCL) induction by 4-hydroxynonenal // Free Radic. Biol. Med. – 2004. – Vol. 38, № 5. – P. 547–556. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2004.11.012.
7. Corbucci G.G. The role of reduced glutathione during the course of acute haemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patients: clinical and pharmacodynamic aspects // Int J Clin Pharmacol Res. – 1990. – Vol. 10, №5. – P. 305–310.
8. Голиков С.Н., Саноцкий И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – Л.: Медицина, 1986. – 280 с.
9. Еропкина М.Ю., Еропкина Е.М. Культуры клеток как модельная система исследования токсичности и скрининга цитопротекторных препаратов. – СПб.: МОПС АВ, 2003. – 239 с.
10. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // Вестник РАМН. – 1995. – №3. – С. 9–13.
11. Тиунов Л.А. Иванова В.А. Роль глутатиона в процессах детоксикации // Вестник АМН СССР. – 1988. – №1. – С. 62–69.
12. Harman D. Free-radical theory of aging: inverting the functional life span // Ann NY Acad Sci. – 2006. – Vol. 1067. – P. 10–21. DOI: 10.1196/annals.1354.003.
13. Lörincz T., Szarka A. The determination of hepatic glutathione at tissue and subcellular level //

- J Pharmacol Toxicol Methods. – 2017. – Vol. 88, pt. 1. – P. 32–39. DOI: 10.1016/j.vascn.2017.05.004.
14. Kanekal S., Kehrer J.P. Metabolism of cyclophosphamide by lipoxygenases // Drug Metab Dispos. – 1994. – Vol. 22, №1. – P. 74–78.
 15. Traverso N., Ricciarelli R., Marengo B, et al. Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. – 2013. – Vol. 2013. – Article ID 972913. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/972913>.
 16. Поляков Н.А., Дубинская В.А., Астраханова М.М., Быков В.А. Гидратация и термодинамические характеристики образцов альфа-лактозы, полученные с использованием новых технологий // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2011. – №8. – С. 7–11.
 17. Lenton K.J., Therriault H., Wagner J.R. Analysis of glutathione and glutathione disulfide in whole cells and mitochondria by postcolumn derivatization high-performance liquid chromatography with ortho-phthalaldehyde // Anal Biochem. – 1999. – Vol. 274, № 1. – P. 125–130. DOI: 10.1006/abio.1999.4258.
 18. Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». – ГФ XIV. – М., 2018.
 19. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. Методические рекомендации. – М.: Спорт и Культура – 2000, 2007. – С. 6–92.
 20. Общая фармакопейная статья ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». – ГФ XIV. – М., 2018.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы

Алексеева Ксения Александровна – аспирант 3 года обучения, кафедра общей химии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0002-0711-3505. E-mail: 740890@bsu.edu.ru

Писарев Дмитрий Иванович – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры общей химии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0002-2996-7712. E-mail: pisarev@bsu.edu.ru

Малютина Анастасия Юрьевна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармакогнозии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0001-6170-2151. E-mail: malyutina_a@bsu.edu.ru

Жилыкова Елена Теодоровна – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической технологии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. E-mail: ezhilyakova@bsu.edu.ru

Цветкова Зоя Евгеньевна – ассистент кафедры фармацевтической технологии ФГАОУ ВО НИУ «Белгородский государственный университет» Минобрнауки России. ORCID: 0000-0002-6358-2680. E-mail: tsvetkova_z@bsu.edu.ru

Полковникова Юлия Александровна – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет». ORCID: 0000-0003-0123-9526. E-mail: Julipolk@mail.ru

УДК 576.308 (343)



ОЦЕНКА РЕСПИРОМЕТРИЧЕСКОЙ ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ В УСЛОВИЯХ ПАТОЛОГИЙ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

А.В. Воронков¹, Д.И. Поздняков¹, С.А. Нигарян¹, Е.И. Хури¹, К.А. Мирошниченко¹,
А.В. Сосновская¹, Е.А. Олохова²

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России
Россия, 357532, г. Пятигорск, пр. Калинина, 11

² ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России
Россия, 660005, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1

Поступила в редакцию: 18.12.2018

Принята к печати: 11.02.2019

Цель исследования – оценить изменение респирометрической функции митохондрий в условиях различных патологий. **Материалы и методы.** Исследование выполнено на крысах самцах линии Wistar. В качестве модельных патологий в работе использовали экспериментальную фокальную ишемию головного мозга, черепно-мозговую травму, коронаро-окклюзионный инфаркт миокарда и мышечную дисфункцию. Фокальную ишемию воспроизводили методом необратимой термокоагуляции средней мозговой артерии. Черепно-мозговую травму моделировали методом свободного падения груза. Экспериментальный инфаркт миокарда воспроизводили лигированием нисходящей ветви левой коронарной артерии. Мышечную дисфункцию моделировали методом «принудительного плавания с 20% отягощением». Дыхательную функцию митохондрий оценивали методом респирометрии по изменению потребления кислорода при внесении в среду разобщителей митохондриального дыхания: олигомицин, ротенон и FCCP. Дополнительно оценивали интенсивность процесса гликолиза и активность дыхательных комплексов I, II, IV и V. С целью комплексной оценки респирометрической функции проводили ИФА-исследование с определением концентрации АТФ, митохондриальной АТФ-синтазы, цитохром-с-оксидазы и НАДФ-оксидазы 4. **Результаты.** В ходе проведения исследования установлено, что в условиях экспериментальной ишемии головного мозга, черепно-мозговой травмы, инфаркта миокарда и мышечной дисфункции отмечено ухудшение АТФ-генерирующей способности митохондрий, максимального уровня дыхания и респираторной емкости, при этом снижение общей респирометрической функции сопровождалось усилением процессов гликолиза, которое носило некомпенсированный характер, а также дисфункцией митохондриальных комплексов I, II, IV и V, подтверждаемой увеличением активности НАДФ-оксидазы 4 и снижением активности цитохром-с-оксидазы и АТФ-синтазы. В итоге наблюдаемые изменения респирометрической функции митохондрий способствовали уменьшению концентрации АТФ в условиях церебральной ишемии – в 3,2 раза ($p < 0,05$), черепно-мозговой травмы – в 2,6 раза ($p < 0,05$), инфаркта миокарда – в 1,8 раза ($p < 0,05$) и мышечной дисфункции – в 4 раза ($p < 0,05$). **Заключение.** Основываясь на полученных данных, можно предположить, что в условиях ишемии головного мозга, черепно-мозговой травмы, инфаркта миокарда и мышечной дисфункции наблюдается ухудшение респирометрической функции митохондрий с угнетением синтеза АТФ и усилением процессов гликолиза. **Ключевые слова:** ишемия головного мозга, инфаркт миокарда, черепно-мозговая травма, мышечная дисфункция, респирометрия митохондрий

Для цитирования: А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, С.А. Нигарян, Е.И. Хури, К.А. Мирошниченко, А.В. Сосновская, Е.А. Олохова. Оценка респирометрической функции митохондрий в условиях патологий различного генеза. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1): 20-31. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-20-31

© А.В. Воронков, Д.И. Поздняков, С.А. Нигарян, Е.И. Хури, К.А. Мирошниченко, А.В. Сосновская, Е.А. Олохова, 2019

For citation: A.V. Voronkov, D.I. Pozdnyakov, S.A. Nigaryan, E.I. Khouri, K.A. Miroshnichenko, A.V. Sosnovskaya, E.A. Olokhova. Evaluation of the mitochondria respirometric function in the conditions of pathologies of various geneses. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(1):20-31. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-20-31

EVALUATION OF THE MITOCHONDRIA RESPIROMETRIC FUNCTION IN THE CONDITIONS OF PATHOLOGIES OF VARIOUS GENESES

A.V. Voronkov¹, D.I. Pozdnyakov¹, S.A. Nigaryan¹, E.I. Khouri¹, K.A. Miroshnichenko¹,
A.V. Sosnovskaya¹, E.A. Olokhova²

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

² Krasnoyarsk State Medical University n. a V.F. Voyno-Yasenetsky
1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russia, 660005

Received: 18.12.2018

Принята к печати: 11.02.2019

*The aim of the paper is to assess the change in the mitochondrial respirometric function under conditions of various pathologies. **Materials and methods.** The study was performed on male Wistar rats. Experimental focal cerebral ischemia, traumatic brain injury, coronary occlusive myocardial infarction and muscle dysfunction were used as pathological models. Focal ischemia was reproduced by the method of irreversible thermocoagulation of the middle cerebral artery. Traumatic brain injury was modeled by the method of free fall of the load. Experimental myocardial infarction was reproduced by ligating the descending branch of the left coronary artery. Muscle dysfunction was modeled by the method of «forced swimming with a 20% burden». The respiratory function of mitochondria was assessed by the method of respirometry by the change in oxygen consumption when introducing mitochondrial respiration into the medium: Oligomycin, Rotenone and FCCP. Additionally, we evaluated the intensity of the glycolysis process and the activity of respiratory complexes I, II, IV and V. In order to comprehensively assess the respiratory function, an ELISA study was conducted to determine the concentration of ATP, mitochondrial ATP synthetase, cytochrome C oxidase and NADP-Oxidase 4. **Results.** In the course of the study it was established that under conditions of experimental cerebral ischemia, traumatic brain injury, myocardial infarction and muscle dysfunction, the ATP-generating ability of mitochondria the maximum breathing and respiratory capacity deteriorated, hereby the decrease in overall respiratory function was accompanied by an increase in glycolysis, which was uncompensated, as well as dysfunction of mitochondrial complexes I, II, IV and V, confirmed by an increase in NADPH oxidase 4 activity and a decrease in cytochrome C oxidases and ATP synthetase. As a result, the observed changes in mitochondrial respiration function contributed to a decrease in ATP concentration under conditions of cerebral ischemia – by 3.2 times ($p < 0.05$), traumatic brain injury – by 2.6 times ($p < 0.05$), myocardial infarction – by 1.8 times ($p < 0.05$) and muscle dysfunction – by 4 times ($p < 0.05$). **Conclusion.** Basing on the data obtained, we can assume that in conditions of cerebral ischemia, traumatic brain injury, myocardial infarction and muscle dysfunction, there is deterioration of the mitochondrial respirometric function with inhibition of ATP synthesis and increased glycolysis.*

Keywords: cerebral ischemia, myocardial infarction, traumatic brain injury, muscle dysfunction, respirometry of mitochondria

ВВЕДЕНИЕ

Митохондрии – клеточные органеллы, являющиеся основными источниками энергии в клетке, играющие также значимую роль в регуляции процессов каспаза-зависимого и каспаза-независимого путей апоптоза, редокс-сигналикации клетки [1]. В соответствии с этим выделяют три ведущие митохондриальные функции: респиометрическая – обеспечение синтеза макроэргов в процессе окислительно-восстановительных реакций в электрон-транспортной митохондриальной дыхательной цепи [2]; апоптоз-регулирующая – регуляция инициации и прогрессирования апоптотического сигнала [3] и антиоксидантная – инактивация свободных радикалов [4]. При этом основной функцией митохондрий является респиометрическая, которая обеспечивает взаимосвязь между редокс-состоянием клетки и активацией проапоптотических молекул [5]. На сегодняшний день установлено, что к числу «митохондриальных болезней», патогенез которых ассоциирован с нару-

шением функциональной активности митохондрий, относятся ишемический инсульт, болезнь Альцгеймера, черепно-мозговая травма (ЧМТ), ишемическая болезнь сердца и инфаркт миокарда, мышечное утомление [6]. В литературных источниках приводятся данные о том, что в патогенезе данных заболеваний центральная роль отводится энергодефициту, возникающему при наличии митохондриальной дисфункции [7]. В то же время уменьшение образования макроэргических соединений неотрывно связано с нарушением транспорта электронов в дыхательной цепи митохондрий и разобщением реакций субкомплексов I, II, IV и V, ведет к активации гликолиза и существенному снижению синтеза АТФ [8]. Кроме того, дисфункция комплексов I и II способствует перераспределению потока кислорода в сторону образования прооксидантов, в частности супероксидного радикала [9], а уменьшение образования АТФ ведет к активации каспаза-зависимого пути апоптоза [10]. Одновременно интенсификация анаэробных процес-

сов окисления ведет к накоплению недоокисленных продуктов обмена, что сдвигает внутриклеточное значение pH в кислую сторону. В сложившихся условиях отмечается активация проапоптотических сигнальных молекул (белки семейства Bid/Bax), запускающих каспаза-независимый путь апоптоза, что усиливает клеточную деструкцию [11]. Таким образом, оценка изменения респирометрической функции митохондрий в условиях различных патологий может являться базисом для разработки новых стратегий терапии «митохондриальных болезней», позволяющих устранить энергодифицит и сопряженные с ним апоптоз и окислительную модификацию клеточных структур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологическая модель

Исследование выполнено на 50 крысах самцов линии Wistar массой 220-240 г, полученных из питомника лабораторных животных «Рапполово». Содержание и все проводимые с животными манипуляции соответствовали требованиям Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей (Страсбург, 1986 г.). Крысы размещались в макролоновых клетках, где в качестве подстилочного материала использовали гранулированную древесную фракцию при относительной влажности $60 \pm 5\%$ и температуре воздуха $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Корм и воду животные получали в свободном доступе. В ходе проведения исследования были сформированы следующие экспериментальные группы: интактные животные ($n=10$), крысы с воспроизведенной церебральной ишемией ($n=10$), ЧМТ ($n=10$), инфарктом миокарда ($n=10$) и мышечной дисфункцией ($n=10$).

Модель фокальной ишемии головного мозга

Фокальную ишемию головного мозга моделировали путем необратимой правосторонней термокоагуляции средней мозговой артерии под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг). Область ниже и правее глаза депилировали, делали надрез и раздвигали мягкие ткани, обнажая отросток скуловой кости, который удаляли. Далее буром проделявали трепанационное отверстие и термокоагулятором пережигали среднюю мозговую артерию под местом ее пересечения с обонятельным трактом. В дальнейшем, по возможности, восстанавливали топографию мягких тканей. Шов обрабатывали 5% спиртовым раствором йода [12]. Забор биоматериала осуществляли на 4-й день после воспроизведения фокальной ишемии.

Модель экспериментальной ЧМТ черепно-мозговой травмы

ЧМТ моделировали методом свободного падения груза массой 150 г с высоты 50 см. На теменную

область головного мозга крыс. Животных помещали в специальную установку, представляющую собой полый цилиндр с подложкой и фиксаторами, в которых закрепляли голову крыс, после чего производили сброс груза [13]. Забор биоматериала осуществляли на 4-й день с момента воспроизведения ЧМТ.

Модель мышечной дисфункции

Мышечную дисфункцию воспроизводили методом «принудительного плавания с 20% отягощением», при этом после определения исходного значения времени плавания, животных подвергали тренировочным тестам на протяжении 28 дней (продолжительность плавания составляла 20% от первоначального показателя). На 7, 14, 21 и 28 день крыс подвергали истощающему тесту – плаванию до полного отказа борьбы за жизнь, после чего животных извлекали из воды. Забор биоматериала производили на 28 день [14].

Модель острого инфаркта миокарда

У животных в условиях хлоралгидратного наркоза (350 мг/кг) и искусственной вентиляции легких на предварительно депилированном участке рассекали кожу в области грудины и отпрепаровывали мышцы. Далее выделяли IV ребро, производили вскрытие грудной клетки. Миокард отделяли от эпикарда и выводили сердце в рану. В дальнейшем осуществляли лигирование нисходящей ветви левой коронарной артерии шелковой нитью. Рану послойно ушивали. Забор биоматериала осуществляли через 24 часа после операции [15].

Забор биоматериала и пробоподготовка

В качестве биоматериала в работе использовали головной мозг, миокард и мышечную ткань (*m.quadriceps femoris*) крыс. Животных декапитировали под хлоралгидратным наркозом (350 мг/кг), производили забор органов, после чего биоматериал гомогенизировали в механическом гомогенизаторе Поттера в среде выделения (1 ммоль ЭДТА, 215 ммоль маннита, 75 ммоль сахарозы, 0,1% раствор БСА, 20 ммоль HEPES, с pH 7,2). Популяцию клеток получали дифференциальным центрифугированием, для чего полученный гомогенат биообразцов центрифугировали в режиме $1,400g \rightarrow 3$ мин. при 4°C , после чего супернатант переносили в пробирки на 2 мл. Далее полученный супернатант центрифугировали в режиме $13000g \rightarrow 10$ мин и надосадочную жидкость (культура содержит нативные митохондрии) удаляли для проведения анализа [16].

Респирометрический анализ

Анализ состояния дыхательной функции митохондрий производили методом респирометрии с использованием системы лабораторного респирометра АКПМ1-01Л (Альфа Бассенс, РФ). В работе применялся протокол анализа SEAHORSE, согласно которому респирометрическую функцию митохондрий

оценивают по изменению потребления кислорода в среде на фоне введения разобщителей митохондриального дыхания. В качестве последних в работе выступали: олигомицин 1 мкг/мл; 4 – (трифлуорометокси)фенилгидразон)малонитрил (FCCP – 1 мМ); ротенон – 1 мМ; натрия азид – 20 ммоль. Субстратами окисления служили: глюкоза – 15 ммоль; пировиноградная кислота – 10 ммоль; малат – 1 ммоль; сукцинат – 10 ммоль; аскорбат – 2 ммоль; АДФ – 1 ммоль; N,N,N',N'-тетраметил-1,4-фенилендиамин (TMPD – 0,5 ммоль). Общую оценку митохондриальной функции определяли по уровню потребления кислорода в среде после последовательного добавления в среду олигомицина, FCCP и ротенона, при этом определяли АТФ-генерирующую способность (по разнице потребления кислорода после добавления FCCP и олигомицина); максимальный уровень дыхания (по разнице потребления кислорода после добавления FCCP и ротенона) и респираторную емкость (по разнице потребления кислорода после добавления FCCP и базальным уровнем потребления кислорода). Активность процессов гликолиза оценивали при использовании в качестве субстрата окисления глюкозы в ходе регистрации потребления кислорода в условиях последовательного добавления в среду глюкозы, олигомицина и азидата натрия. При этом определяли интенсивность гликолиза (по разнице потребления кислорода после добавления глюкозы и базальным уровнем потребления кислорода), гликолитическую емкость (по разнице потребления кислорода после добавления олигомицина и глюкозы) и гликолитический резерв (по разнице потребления кислорода после добавления глюкозы и азидата натрия). Дополнительно оценивали активность комплексов I, II, IV и V митохондриальной дыхательной цепи. Активность комплекса I определяли по разнице потребления кислорода после внесения в среду смеси малат/пируват и ротенона. Активность комплекса II оценивали по разнице потребления кислорода после внесения в среду сукцината и олигомицина. Активность комплекса IV определяли по разнице потребления кислорода после внесения в среду смеси ротенон/ TMPD/аскорбат и азидата натрия. Активность комплекса V оценивали по разнице потребления кислорода после внесения в среду ротенона и АДФ. В ходе анализа объем биобразца составлял 275 мкл, вводимых анализаторов – 25 мкл. Потребление кислорода определяли в ppm [17].

ИФА-исследование

В ходе данного исследования методом ИФА в супернатантах тканей миокарда, головного мозга и мышц определяли концентрацию АТФ, митохондриальной АТФ-синтетазы (мАТФ), цитохром-с-оксидазы (CoX) и НАДФ-оксидазы 4 (NOX4). В работе использовали видоспецифичные наборы реактивов производства *Cloud clone corp.* (США). Пробоподготовка и ход анализа соответствовали инструкции, прилагаемой к набору.

Методы статистического анализа

Статистическую обработку полученных результатов производили с применением пакета стат-анализа «STATISTICA 6.0». Данные представляли в виде $M \pm SEM$. Сравнение групп средних производили методом «ANOVA» с пост-тестом Ньюмена-Кейсла при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе общей оценки респирометрической функции митохондрий в условиях различных патологий было установлено, что у крыс на фоне ЧМТ и церебральной ишемии (рис.1) в сравнении с интактными животными наблюдалось уменьшение АТФ-генерирующей способности митохондрий в 1,75 раза ($p < 0,05$) и 4,6 раза ($p < 0,05$) соответственно. Также у животных в условиях церебральной ишемии отмечено снижение максимального уровня дыхания и респираторной емкости относительно интактных крыс в 2,85 раза ($p < 0,05$) и 2,13 раза ($p < 0,05$) соответственно. На фоне экспериментальной ЧМТ у животных в сравнении с интактными крысами наблюдалось уменьшение максимального уровня дыхания в 1,77 раза ($p < 0,05$) и респираторной емкости в 3,92 раза ($p < 0,05$).

В условиях инфаркта миокарда (рис.2) у крыс отмечено снижение АТФ-генерирующей активности, максимального уровня дыхания и респираторной емкости относительно группы интактных животных в 2,27 раза ($p < 0,05$); 2,98 раза ($p < 0,05$) и 2,78 раза ($p < 0,05$) соответственно.

У крыс на фоне мышечной дисфункции (рис. 3) в сравнении с интактными животными наблюдалось уменьшение максимального уровня дыхания, АТФ-генерирующей активности и респираторной емкости в 3,28 раза ($p < 0,05$); 4,62 раза ($p < 0,05$) и 2,13 раза ($p < 0,05$) соответственно.

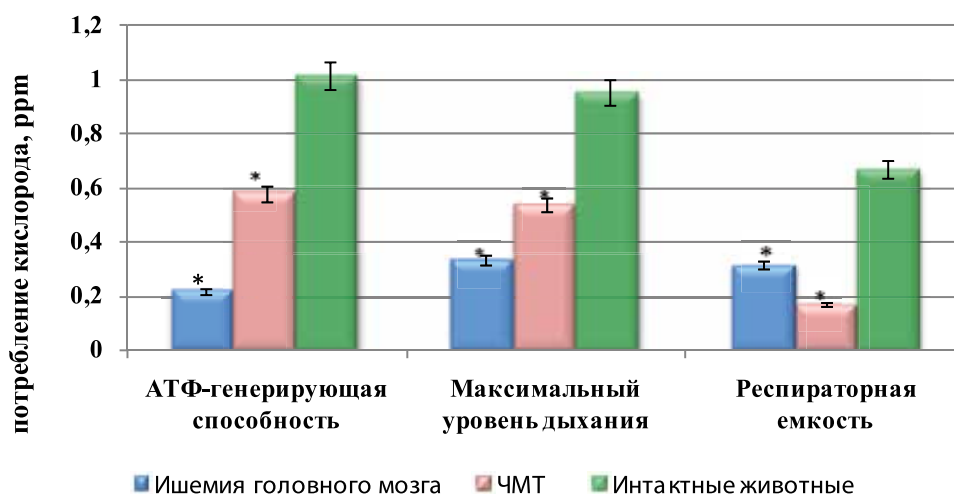


Рисунок 1. Общая оценка респирометрической функции митохондрий в условиях церебральной ишемии и черепно-мозговой травмы

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p < 0,05$)

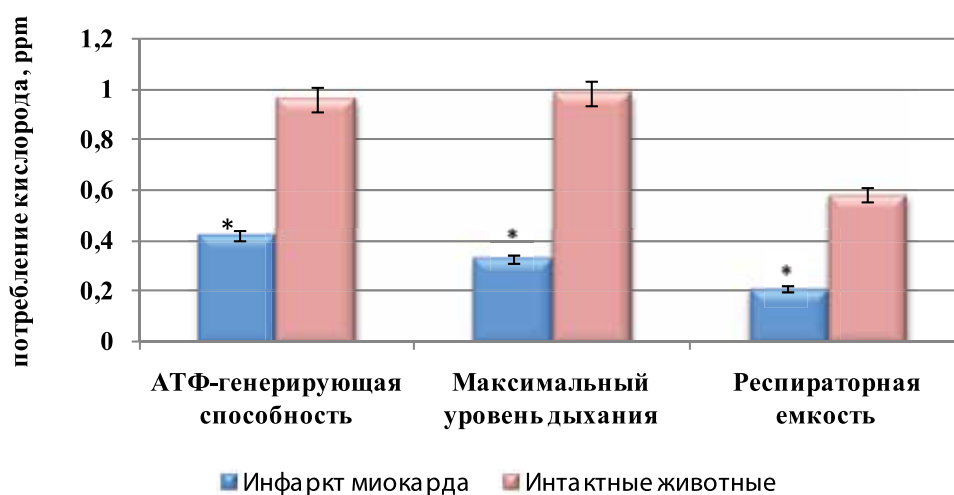


Рисунок 2. Общая оценка респирометрической функции митохондрий в условиях экспериментального инфаркта миокарда

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p < 0,05$)

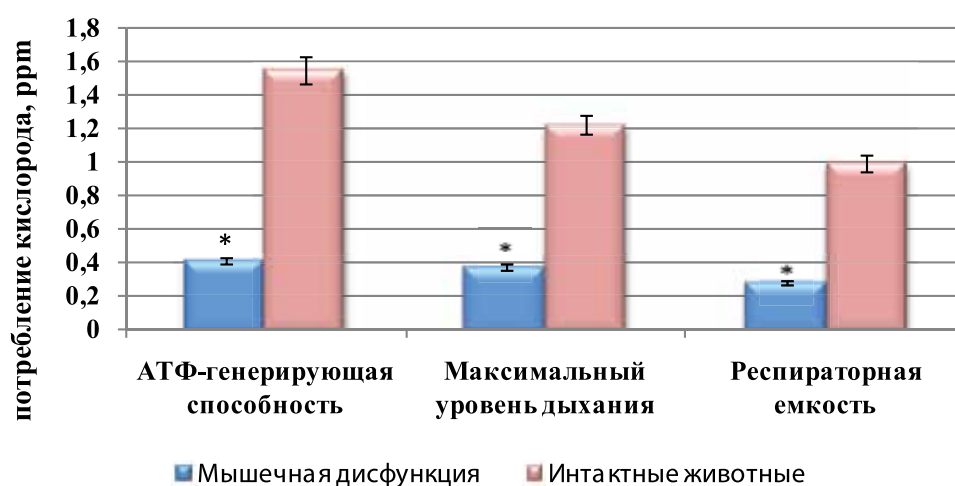


Рисунок 3. Общая оценка респирометрической функции митохондрий в условиях мышечной дисфункции

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p < 0,05$)

При оценке гликолитических процессов в условиях различных патологий установлено, что у животных на фоне ЧМТ и церебральной ишемии (рис.4) отмечено повышение интенсивности гликолиза в сравнении с группой интактных животных в 18,04 раза ($p < 0,05$) и 23,89 раза ($p < 0,05$) соответственно. В тоже время у крыс с экспериментально воспроизведенной ишемией головного мозга на-

блюдалось уменьшение гликолитической емкости относительно группы интактных животных в 4 раза ($p < 0,05$), а уровень гликолитического резерва принимал отрицательное значение (рис. 4). На фоне ЧМТ у крыс в сравнении с интактной группой животных гликолитическая емкость и гликолитический резерв снизились в 22,6 раза ($p < 0,05$) и 6 раз ($p < 0,05$) соответственно.

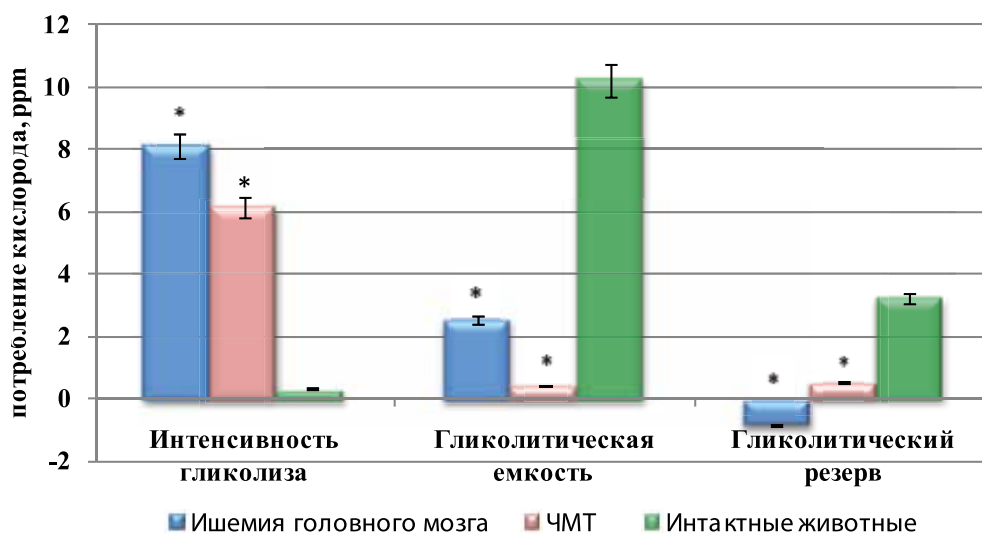


Рисунок 4. Оценка изменения процесса гликолиза в условиях экспериментальной церебральной ишемии и черепно-мозговой травмы

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p < 0,05$)

В условиях инфаркта миокарда (рис. 5) у экспериментальных животных интенсивность процессов гликолиза превосходила аналогичный показатель интактной группы животных в 17,3 ($p<0,05$) раза, на

фоне снижения гликолитической емкости и гликолитического резерва в 9,25 раза ($p<0,05$) и 37,28 раза ($p<0,05$) соответственно.

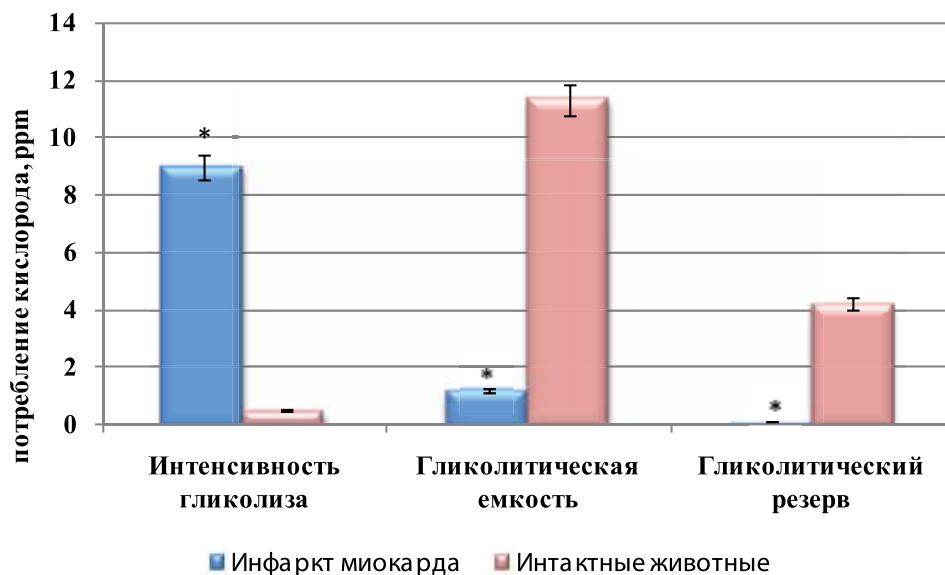


Рисунок 5. Оценка изменения процесса гликолиза в условиях экспериментального инфаркта миокарда

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p<0,05$)

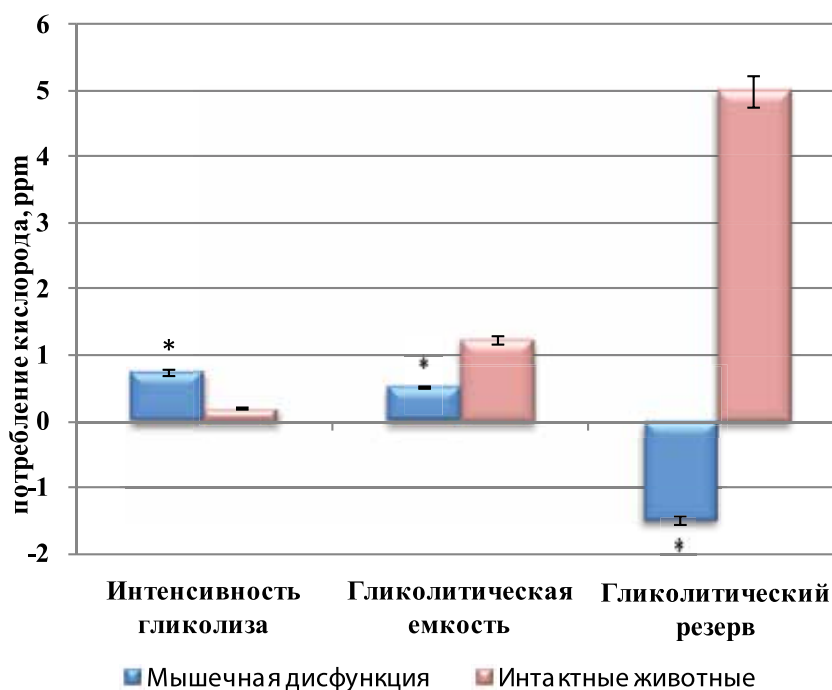


Рисунок 6. Оценка изменения процесса гликолиза в условиях мышечной дисфункции

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p<0,05$)

У крыс на фоне мышечной дисфункции (рис. 6) в сравнении с интактными животными наблюдалось повышение интенсивности гликолиза, а также уменьшение гликолитической емкости в 3,55 раза ($p<0,05$) и 2,35 раза ($p<0,05$), при этом величина гликолитического резерва принимала отрицательное значение.

Оценивая изменение активности комплексов митохондриальной дыхательной цепи установлено, что у крыс в условиях ишемии головного мозга (рис. 7)

наблюдалось снижение активности митохондриальных комплексов I, II, IV и V в сравнении с интактной группой крыс в 4,8 ($p<0,05$) раза; 4,6 раза ($p<0,05$); 13,4 раза ($p<0,05$) и 9,33 раза ($p<0,05$) соответственно. На фоне экспериментально смоделированной ЧМТ (рис. 7) у животных относительно интактной группы крыс наблюдалось уменьшение активности комплекса I – в 2,17 раза ($p<0,05$), комплекса II – в 4,8 раза ($p<0,05$), комплекса IV – в 11,1 раза ($p<0,05$) и комплекса V – в 8,1 раза ($p<0,05$).

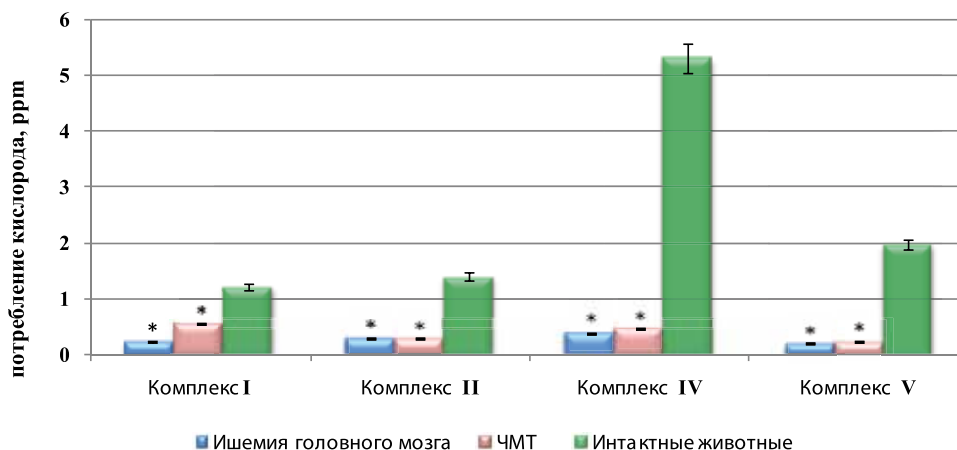


Рисунок 7. Оценка изменения активности комплексов митохондриальной дыхательной цепи в условиях экспериментальной ишемии головного мозга и черепно-мозговой травмы

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p<0,05$)

В условиях инфаркта миокарда (рис. 8) у животных отмечено уменьшение активности митохондриальных комплексов I, II, IV и V в сравнении с ин-

тактными животными в 3,3 раза ($p<0,05$); 3,4 раза ($p<0,05$); 11,1 раза ($p<0,05$) и 7,5 раза ($p<0,05$) соответственно.

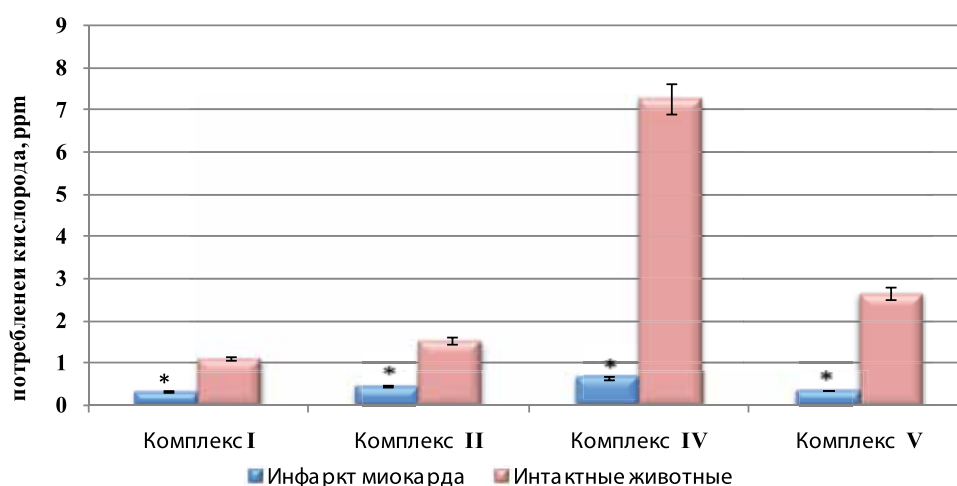


Рисунок 8. Оценка изменения активности комплексов митохондриальной дыхательной цепи в условиях экспериментального инфаркта миокарда

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p<0,05$)

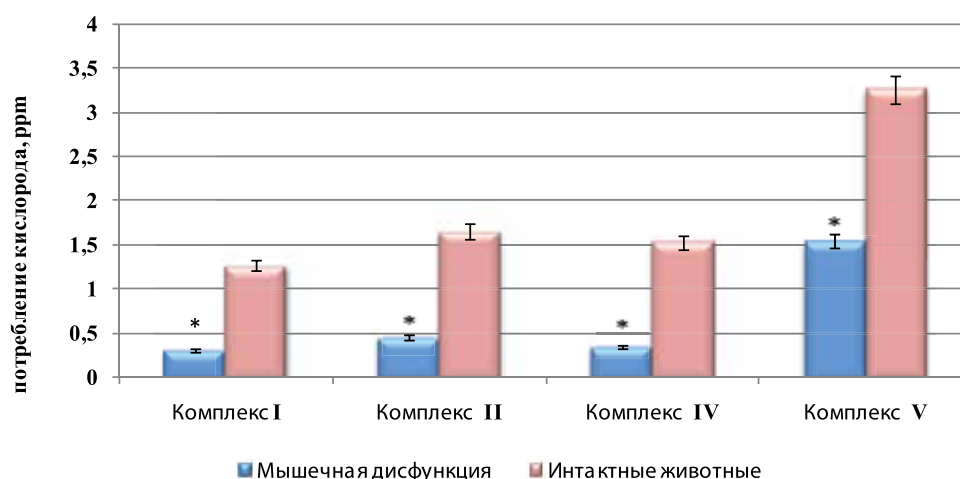


Рисунок 9. Оценка изменения активности комплексов митохондриальной дыхательной цепи в условиях экспериментальной мышечной дисфункции

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p < 0,05$)

У животных с воспроизведенной мышечной дисфункцией (рис. 9) активность дыхательных комплексов I, II, IV и V была ниже в сравнении с интактными крысами в 4 раза ($p < 0,05$); 3,6 раза ($p < 0,05$); 4,3 раза ($p < 0,05$) и 2,1 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Оценивая изменение концентрации ферментативных комплексов, характеризующих митохондриальную функцию (табл. 1), было установлено, что содержание NOX4 увеличивается в группах животных

с модельными патологиями: ишемия головного мозга, ЧМТ, инфаркт миокарда и мышечная дисфункция в сравнении с группой интактных крыс в 15,8 раза ($p < 0,05$); 10,2 раза ($p < 0,05$); 9,2 раза ($p < 0,05$) и 6,1 раза ($p < 0,05$) соответственно. Также у животных с экспериментально воспроизведенной церебральной ишемией наблюдалось уменьшение концентрации CoX и МАТФ относительно группы интактных крыс в 2,9 раза ($p < 0,05$) и 3,4 раза ($p < 0,05$) соответственно.

Таблица 1. Изменение концентрации маркеров митохондриальной функции в условиях патологии различного генеза (ИФА-исследование)

Группа	NOX4, нг/мл	CoX, нг/мл	МАТФ, нг/мл	АТФ, нг/мл
Интakтные животные (головной мозг)	1,2±0,014	46,97±0,695	98,62±2,631	1172,34±10,291
ЧМТ	12,23±0,237*	26,4±0,896*	36,3±1,917*	453,1±8,614*
Церебральная ишемия	18,1±0,331*	16,35±0,417*	29,1±1,118*	364,61±7,924*
Интakтные животные (миокард)	1,6±0,028	43,94±0,792	101,2±2,939	1233,1±9,144
Инфаркт миокарда	14,75±0,542*	28,6±0,991*	43,2±1,249*	662,4±5,271*
Интakтные животные (мышечная ткань)	2,65±0,634	48,91±0,541	109,24±1,712	1536,2±8,176
Мышечная дисфункция	16,2±0,524±0,743*	27,5±0,335*	18,6±2,364*	379,65±6,928*

Примечание: * – статистически значимо относительно группы интактных животных (критерий Ньюмена-Кейсла, $p < 0,05$)

В то же время у животных с ЧМТ содержание CoX и МАТФ в сравнении с интактными крысами снизилось в 1,8 раза ($p < 0,05$) и 2,7 раза ($p < 0,05$) соответственно. В условиях инфаркта миокарда (табл.1) у крыс наблюдалось снижение концентрации CoX и МАТФ относительно интактной группы животных в 1,5 раза ($p < 0,05$) и 2,3 раза ($p < 0,05$) соответственно,

кроме того, содержание данных ферментов на фоне экспериментальной мышечной дисфункции (табл. 1), также уменьшилось (в сравнении с интактной группой крыс: CoX – в 1,8 раза ($p < 0,05$); МАТФ – в 5,9 раза ($p < 0,05$)). Немало важно, что наблюдаемые негативные изменения митохондриальной функции в условиях церебральной ишемии, ЧМТ, инфаркта

миокарда и мышечной дисфункции сопровождались уменьшением концентрации АТФ относительно интактных крыс в 3,2 раза ($p < 0,05$); 2,6 раза ($p < 0,05$); 1,8 раза ($p < 0,05$) и 4 раза ($p < 0,05$) соответственно.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

На сегодняшний день установлено, что значительное число патологий сопряжено с развитием митохондриальной дисфункции [18]. Нарушение деятельности митохондрий является неотъемлемой частью этиопатогенеза различного рода заболеваний, однако, наибольшее значение митохондриальная дисфункция играет в развитии и прогрессировании патологий головного мозга, сердца и скелетной мускулатуры, т.е. наиболее энергозатратных органов, для функционирования которых необходим постоянный пул макроэргов [19, 20, 21]. Настоящее исследование было сосредоточено на оценке респирометрической функции митохондрий в условиях патологий ишемического генеза, при которых наблюдается существенный энергетический дефицит, прямо характеризующий деятельность митохондрий – фокальной ишемии, ЧМТ, инфаркте миокарда и мышечной дисфункции [22].

В ходе исследования было установлено, что в условиях модельных патологий отмечается существенное ухудшение АТФ-синтетической способности митохондрий, что отражает снижение максимального уровня дыхания, респираторной емкости и АТФ-генерирующей способности митохондрий в сравнении с интактными животными [23]. При этом немало важно, что уменьшение АТФ-синтезирующей функции митохондрий сопровождалось интенсификацией процессов гликолиза, которая носила не компенсированный и предельно допустимый характер, о чем можно судить по значительному снижению гликолитической емкости, гликолитического резерва и концентрации АТФ у животных с модельными патологиями относительно интактных крыс [24]. Кроме того, у животных на фоне патологического процесса головного мозга, миокарда и мышц наблюдалась

дисфункция митохондриальных комплексов I, II, IV и V, что, в конечном счете, негативно отражалось на процессе переноса электронов в митохондриальной дыхательной цепи [25]. Так, повышение активности (носящее компенсаторный характер) NOX4 свидетельствует о значительном снижении электронтранспортного потенциала комплексов I и II, с возрастающим проокислительным потенциалом клетки [26]. Известно, что при невозможности прямого транспорта кислорода в митохондриальной дыхательной цепи, окислитель метаболизируется в альтернативном пути с активацией НАДФ-оксидаз и в частности NOX4, в результате чего отмечается существенное увеличение внутриклеточной концентрации супероксидного радикала, запускающего окислительный стресс [27]. В дальнейшем терминирование переноса электронов в комплексах IV и V (подтверждаемое снижением активности CoX и мАТФ) препятствует конвертации АДФ в АТФ, и как результат, уменьшается общий пул макроэргических соединений, требующий усиления процессов гликолиза, что также установлено в ходе данного исследования и согласуется с литературными данными [28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных данных можно предполагать существенное ухудшение респирометрической функции митохондрий в условиях ишемических патологий головного мозга, миокарда и скелетной мускулатуры, сопровождаемое разобщением переноса электронов в митохондриальной дыхательной цепи (дисфункцией комплексов I, II, IV и V), снижением АТФ-синтезирующей способности митохондрий и усилением процессов гликолиза, носящего предельный характер. При этом, вероятно, коррекция дыхательной функции митохондрий может являться новой стратегией терапии ишемических состояний, позволяющей направленным терапевтическим воздействием нивелировать энергетический дефицит и сопряженные с ним механизмы клеточного повреждения в условиях ишемии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Lerner C.A., Sundar I.K., Rahman I. Mitochondrial redox system, dynamics, and dysfunction in lung inflammation and COPD // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2016. – Vol. 81 (Pt B). – P. 294–306. DOI: 10.1016/j.biocel.2016.07.026.
2. Zielonka J., Joseph J., Sikora A., et al. Mitochondria-Targeted Triphenylphosphonium-Based Compounds: Syntheses, Mechanisms of Action, and Therapeutic and Diagnostic Applications // *Chem Rev.* – 2017. – Vol. 117, №15. – P. 10043–10120. DOI: 10.1021/acs.chemrev.7b00042.
3. Menges S., Minakaki G., Schaefer P.M., et al. Alpha-synuclein prevents the formation of spherical mitochondria and apoptosis under oxidative stress // *Sci Rep.* – 2017. – Vol. 7. – P. 42942. DOI:10.1038/srep42942.
4. Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release // *Physiol Rev.* – 2014. – Vol. 94, №3. – P. 909–950. DOI: 10.1152/physrev.00026.2013.
5. Bergman O., Ben-Shachar D. Mitochondrial Oxidative Phosphorylation System (OXPHOS) Deficits in Schizophrenia: Possible Interactions with Cellular Processes // *Can J Psychiatry.* – 2016. – Vol. 61, №8. – P. 457–469. DOI: 10.1177/0706743716648290.
6. Alston C.L., Rocha M.C., Lax N.Z., Turnbull D.M., Taylor R.W. The genetics and pathology of

- mitochondrial disease // *J Pathol.* – 2017. – Vol. 241, №2. – P. 236–250. DOI: 10.1002/path.4809
7. Chinnery P.F. Mitochondrial disease in adults: what's old and what's new? // *EMBO Mol Med.* – 2015. – Vol. 7, №12. – P. 1503–1512. DOI: 10.15252/emmm.201505079.
8. O-Uchi J., Ryu S.Y., Jhun B.S., Hurst S., Sheu S.S. Mitochondrial ion channels/transporters as sensors and regulators of cellular redox signaling // *Antioxid Redox Signal.* – 2014. – Vol. 21, №6. – P. 987–1006. DOI: 10.1089/ars.2013.5681.
9. Di Meo S., Reed T.T., Venditti P., Victor V.M. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions // *Oxid Med Cell Longev.* – 2016. – Vol. 2016. – P. 1245049. DOI: 10.1155/2016/1245049.
10. Ferrari D., Stepczynska A., Los M., Wesselborg S., Schulze-Osthoff K. Differential regulation and ATP requirement for caspase-8 and caspase-3 activation during CD95- and anticancer drug-induced apoptosis // *J Exp Med.* – 1998. – Vol. 188, №5. – P. 979–984.
11. Khacho M., Tarabay M., Patten D. Acidosis overrides oxygen deprivation to maintain mitochondrial function and cell survival // *Nat Commun.* – 2014. – T. 5. DOI:10.1038/ncomms4550.
12. Bederson J.B., Pitts L.H., Tsuji M., Nishimura M.C., Davis R.L., Bartkowski H. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination // *Stroke.* – 1986. – Vol. 17, №3. – P. 472–476.
13. Воронков А.В., Калашникова С.А., Хури Е.И., Поздняков Д.И. Моделирование черепно-мозговой травмы в условиях эксперимента у крыс // *Современные проблемы науки и образования.* – 2016. – № 1. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25242>.
14. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Воронкова М.П. Комплексная валидационная оценка нового методического подхода к изучению физического и психоэмоционального перенапряжения в эксперименте // *Фундаментальные исследования.* – 2015. – №1–5. – С. 915–919.
15. Сисакян А.С., Оганян В.А., Семерджян А.Б., Петросян М.В., Сисакян С.А., Гуревич М.А. Влияние фактора ангиогенеза на морфофункциональное состояние миокарда у крыс при экспериментальном инфаркте миокарда // *Российский кардиологический журнал.* – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 63–66.
16. Patel S.P., Sullivan P.G., Pandya J.D et al. N-acetylcysteine amide preserves mitochondrial bioenergetics and improves functional recovery following spinal trauma // *Exp Neurol.* – 2014. – Vol. 257. – P. 95–105. DOI: 10.1016/j.expneurol.2014.04.026.
17. Redmann M., Benavides G.A., Wani W.Y. et al. Methods for assessing mitochondrial quality control mechanisms and cellular consequences in cell culture // *Redox Biol.* – 2018. – Vol. 17. – P. 59–69. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.04.005>.
18. Picard M., Wallace D.C., Burelle Y. The rise of mitochondria in medicine // *Mitochondrion.* – 2016. – Vol. 30. – P. 105–116. DOI: 10.1016/j.mito.2016.07.003.
19. Lesnefsky E.J., Chen Q., Hoppel C.L. Mitochondrial Metabolism in Aging Heart // *Circ Res.* – 2016. – Vol. 118, №10. – P. 1593–1611. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.116.307505.
20. Cai Q., Tammineni P. Mitochondrial Aspects of Synaptic Dysfunction in Alzheimer's Disease // *J Alzheimers Dis.* – 2017. – Vol. 57, №4. – P. 1087–1103. DOI: 10.3233/JAD-160726.
21. Boengler K., Kosiol M., Mayr M., Schulz R., Rohrbach S. Mitochondria and ageing: role in heart, skeletal muscle and adipose tissue // *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* – 2017. – Vol. 8, №3. – P. 349–369. DOI: 10.1002/jcsm.12178.
22. Choudhury A.R., Singh K.K. Mitochondrial determinants of cancer health disparities // *Semin Cancer Biol.* – 2017. – Vol. 47. – P. 125–146. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.05.001.
23. Szeto H.H., Birk A.V. Serendipity and the discovery of novel compounds that restore mitochondrial plasticity // *Clin Pharmacol Ther.* – 2014. – Vol. 96, №6. – P. 672–683. DOI: 10.1038/clpt.2014.174.
24. Dranka B.P., Benavides G.A., Diers A.R., Giordano S., Zelickson B.R., Reily C., Zou L., Chatham J.C., Hill B.G., Zhang J., Landar A., Darley-Usmar V.M. Assessing bioenergetic function in response to oxidative stress by metabolic profiling // *Free Radic Biol Med.* – 2011. – Vol. 51. – P. 1621–1635. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.08.005.
25. Salabei J.K., Gibb A.A., Hill B.G. Comprehensive measurement of respiratory activity in permeabilized cells using extracellular flux analysis // *Nat Protoc.* – 2014. – Vol. 9, №2. – P. 421–438. DOI: 10.1038/nprot.2014.018
26. Kim Y.M., Kim S.J., Tatsunami R., Yamamura H., Fukai T., Ushio-Fukai M. ROS-induced ROS release orchestrated by Nox4, Nox2, and mitochondria in VEGF signaling and angiogenesis // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2017. – Vol. 312, №6. – P. C749–C764. DOI: 10.1152/ajpcell.00346.2016.
27. Shanmugasundaram K., Nayak B.K., Friedrichs W.E., Kaushik D., Rodriguez R., Block K. NOX4 functions as a mitochondrial energetic sensor coupling cancer metabolic reprogramming to drug resistance // *Nat Commun.* – 2017. – Vol. 8, №1. – P. 997. DOI:10.1038/s41467-017-01106-1.
28. Smith M.R., Vayalil P.K., Zhou F., et al. Mitochondrial thiol modification by a targeted electrophile inhibits metabolism in breast adenocarcinoma cells by inhibiting enzyme activity and protein levels // *Redox Biol.* – 2016. – Vol. 8. – P. 136–148. DOI: 10.1016/j.redox.2016.01.002.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы

Воронков Андрей Владиславович – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-6638-6223. E-mail: prohor77@mail.ru.

Поздняков Дмитрий Игоревич – кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-0889-7855. E-mail: rozdniascow.dmitry@yandex.ru

Нигарян Сирануш Артуровна – аспирант, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-9898-0518. E-mail: 79682650210@yandex.ru.

Хури Елена Игоревна – аспирант, кафедра фармакологии с курсом клинической фармакологии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: elena.belova@hotmail.ru

Мирошниченко Кирилл Александрович – студент 5 курса фармацевтического факультета, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: K220436@yandex.ru

Сосновская Анастасия Викторовна – студентка 4 курса фармацевтического факультета, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: 88misi88@yandex.ru

Олохова Елена Александровна – ассистент, кафедра фармакологии и фармацевтического консультирования с курсом ПО, ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Минздрава России. E-mail: tabletka@yandex.ru

УДК 615.065



ИЗУЧЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННО-ИНДУЦИРОВАННЫХ КОЖНЫХ РЕАКЦИЙ НА ОСНОВАНИИ АНАЛИЗА КАРТ-ИЗВЕЩЕНИЙ О НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ РЕАКЦИЯХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В РЕСПУБЛИКЕ КРЫМ ЗА 2009-2016 ГГ.

А.В. Матвеев^{1,2}, А.Е. Крашенинников¹, Е.А. Егорова², Е.И. Коняева²

¹ Автономная некоммерческая организация «Национальный научный центр фармаконадзора»
127051, Российская Федерация, Москва, ул. Малая Сухаревская площадь, д. 2, корп. 2

² Медицинская академия им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского»
295051, Российская Федерация, г. Симферополь, бул. Ленина 5/7

E-mail: elena212007@rambler.ru

Поступила в редакцию: 09.01.2019

Принята к печати: 08.02.2019

Реакции лекарственной гиперчувствительности (РЛГ) являются одними из наиболее важных проблем, возникающих при применении лекарственных препаратов. Встречаемость подобных реакций в популяции составляет не менее 7% и имеет тенденцию к постоянному росту. Наиболее частыми проявлениями РЛГ являются лекарственно-индуцированные поражения кожи. **Целью настоящего исследования** явилось изучение и анализ случаев развития кожных лекарственных реакций (КЛР) на основании карт-извещений о нежелательных реакциях (НР) лекарственных средств (ЛС), зарегистрированных в Республике Крым за 2009–2016 гг. **Материалы и методы.** В работе были использованы данные карт-извещений о НР ЛС, зарегистрированных в региональной базе (реестре) спонтанных сообщений ARCADE (Adverse Reactions in Crimea, Autonomic Database) за период 2009–2016 гг. При проведении анализа карт-извещений было отобрано 2698 случаев развития КЛР, возникающих в ответ на применение у пациентов лекарственных препаратов. Изучение частоты встречаемости КЛР при применении различных групп ЛС проводилось с учетом кодов Анатомо-терапевтически-химической (АТХ) классификации лекарственных средств Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ). **Результаты.** Развитие кожных лекарственных реакций наиболее часто было связано с применением противомикробных средств для внутреннего применения, нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), препаратов для лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта и средств, влияющих на нервную систему. Среди клинических проявлений кожных лекарственных реакций преобладали генерализованные и локализованные сыпи, значительно реже у пациентов наблюдались зуд и гиперемия кожных покровов. Анализ возрастных категорий показал, что наиболее часто лекарственно-индуцированные реакции возникали у детей с рождения до 3 лет, а также в возрастной группе пациентов от 46 до 60 лет. Выявленными в ходе проведения анализа факторами риска развития КЛР были женский пол, ранний детский и пожилой возраст, а также наличие у пациентов отягощенного лекарственного аллергологического анамнеза. **Заключение.** Реакции лекарственной гиперчувствительности создают определенные трудности в клинической практике, связанные с их диагностикой, лечением и профилактикой, а также могут представлять собой угрозу здоровью и жизни пациентов. В связи с чем, изучение таких НР является важнейшей задачей практического здравоохранения и требует непосредственного участия врачей всех специальностей.

Ключевые слова: лекарственные средства, нежелательные реакции, лекарственная гиперчувствительность, лекарственные поражения кожи

Для цитирования: А.В. Матвеев, А.Е. Крашенинников, Е.А. Егорова, Е.И. Коняева. Изучение лекарственно-индуцированных кожных реакций на основании анализа карт-извещений о нежелательных реакциях лекарственных средств в Республике Крым за 2009–2016 гг. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1): 32–41. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-32-41

© А.В. Матвеев, А.Е. Крашенинников, Е.А. Егорова, Е.И. Коняева, 2019

For citation: A.V. Matveev, A.E. Krashennnikov, E.A. Egorova, E.I. Konyaeva. Investigation of medically induced skin reactions based on the analysis of reports of adverse drug reactions in the Republic of Crimea (from 2009 to 2016). *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(1): 32–41. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-32-41

INVESTIGATION OF MEDICALLY INDUCED SKIN REACTIONS BASED ON THE ANALYSIS OF REPORTS OF ADVERSE DRUG REACTIONS IN THE REPUBLIC OF CRIMEA (FROM 2009 TO 2016)

A.V. Matveev^{1,2}, A.E. Krashennikov¹, E.A. Egorova², E.I. Konyaeva²

¹ National Pharmacovigilance Research Center

2/2, Malaya Sukhrevskaya Str., Moscow, Russian Federation, 127051

² Medical Academy n. a. S.I. Georgievsky of Vernadskiy CFU

5/7, Lenin Boulevard, Simferopol, Russian Federation, 295051

E-mail: elena212007@rambler.ru

Received: 09.01.2019

Accepted for publication: 08.02.2019

*Drug hypersensitivity reactions are among the most important problems that arise when using drugs. The occurrence of such reactions in the population is at least 7% and tends to a constant increase. The most frequent manifestations of drug hypersensitivity reactions are medically induced skin lesions. **The aim** of this research was to study and analyze the cases of development of skin drug reactions on the basis of the reports on the adverse reactions (ADRs) of the drugs, registered in the Republic of Crimea in the period from 2009 to 2016. **Materials and methods.** The objects of the research were report cards about the adverse reactions, registered in the regional base (registry) of spontaneous messages called ARCADE (Adverse Reactions in Crimea, Autonomic Database) for the period from 2009 to 2016. During the analysis of the report cards, 2,698 cases of the development of skin drug reactions arising in response to the use of drugs in patients were selected. The study of the frequency of occurrence of skin drug reactions in the application of various groups of drugs was carried out taking into account the codes of the Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification System of drugs of the World Health Organization (WHO). **Results.** Of the study showed that the development of skin drug reactions was most often associated with the use of antimicrobial agents for internal use, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), drugs for the treatment of diseases of the gastrointestinal tract and agents that affect the nervous system. Among the clinical manifestations of skin drug reactions, generalized and localized rashes prevailed, and itching and hyperemia of the skin were much less common in patients. The analysis of age categories showed that the most frequently medically induced reactions occurred in children from birth to 3 years, as well as in the age group of patients from 46 to 60 years. The risk factors identified in the course of the analysis, were female gender, early childhood and old age, as well as the presence of aggravated drug allergy history. **Conclusion.** Drug hypersensitivity reactions create certain difficulties in clinical practice related to the diagnosis, treatment and prophylaxis, and may also cause danger to health or life of patients. In this connection, the study of such adverse reactions is the most important task of practical health care and requires direct participation of doctors of all specialties.*

Keywords: medicines, adverse reactions, drug hypersensitivity, medicinal skin lesions

ВВЕДЕНИЕ

Реакции лекарственной гиперчувствительности (РЛГ) являются одними из наиболее важных проблем, возникающих при применении лекарственных препаратов. Частота встречаемости таких реакций в популяции составляет около 7% и имеет тенденцию к постоянному росту [1, 2]. Клиническими проявлениями РЛГ являются аллергические реакции различной степени тяжести, которые могут возникать непосредственно на действующие вещества, либо на вспомогательные компоненты лекарственных средств (ЛС) [3, 4]. Наиболее частыми проявлениями РЛГ являются лекарственно-индуцированные поражения кожи. Согласно терминологии, разработанной Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ), лекарственно-индуцированная кожная реакция определяется как любое непреднамеренное и вредное морфологическое изме-

нение кожи, возникшее при системном или местном использовании лекарственного препарата в обычных дозах с целью профилактики, лечения и диагностики [4]. По данным литературы частота встречаемости таких реакций находится в пределах 2–3% у госпитализированных пациентов [5], а среди всех выявляемых нежелательных реакций (НР) – от 19 до 48% [6, 7]. При этом актуальность изучения кожных лекарственных реакций (КЛР) обусловлена не только высокой частотой их развития, но и тяжестью и непредсказуемостью подобных реакций, что может представлять значительную угрозу здоровью и жизни пациентов.

ЦЕЛЬЮ настоящего исследования явилось изучение и анализ случаев развития КЛР на основании карт-извещений о НР ЛС, зарегистрированных в Республике Крым за 2009–2016 г., выявление фармакологических групп лекарственных препаратов, вызываю-

щих КЛР наиболее часто, а также выделение факторов риска развития таких нежелательных реакций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе были использованы данные карт-извещений о НР ЛС, зарегистрированных в региональной базе (реестре) спонтанных сообщений ARCADE (Adverse Reactions in Crimea, Autonomic Database) за период 2009–2016 гг. При проведении анализа карт-извещений было отобрано 2698 случаев развития кожных аллергических реакций, возникающих в ответ на применение у пациентов лекарственных препаратов. Критерием для осуществления скрининга НР стало указание на развитие кожных проявлений НР в разделе «Стандартизированное описание реакции».

Изучение частоты встречаемости КЛР при применении различных групп ЛС проводилось с учетом кодов Анатомо-терапевтически-химической (АТХ) классификации лекарственных средств ВОЗ [8].

Методология исследования (анализ данных реестра) не подразумевала проведения сравнений и определения корреляций данных между собой. Определение частоты НР проводилось в программе MS Excel 2016 пакета Microsoft Office.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для проведения анализа случаев КЛР, возникающих в ответ на применение различных групп лекар-

ственных препаратов, из региональной базы спонтанных сообщений ARCADE было отобрано 2698 карт-извещений, что составило 43,1% от общего количества зарегистрированных НР ЛС за соответствующий период (6254 карт-извещений).

Первым этапом исследования было изучение частоты случаев развития КЛР при применении лекарственных препаратов различных фармакологических групп. Проведение анализа карт-извещений показало, что наиболее часто КЛР возникали при применении препаратов группы противомикробных средств для системного применения (1215 случаев), что составило 45% от общего количества случаев лекарственно-индуцированных кожных реакций. Значительно реже подобные НР возникали при применении препаратов, влияющих на пищеварительную систему и обмен веществ (277 случаев; 10,27%), ЛС, влияющих на нервную систему (239 случаев; 8,85%), и препаратов, влияющих на костно-мышечную систему, включая нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) (229 случаев; 8,49%). Частота встречаемости КЛР при применении препаратов других фармакотерапевтических групп в соответствии с Анатомо-терапевтически-химической классификацией лекарственных средств ВОЗ представлена на рисунке 1.

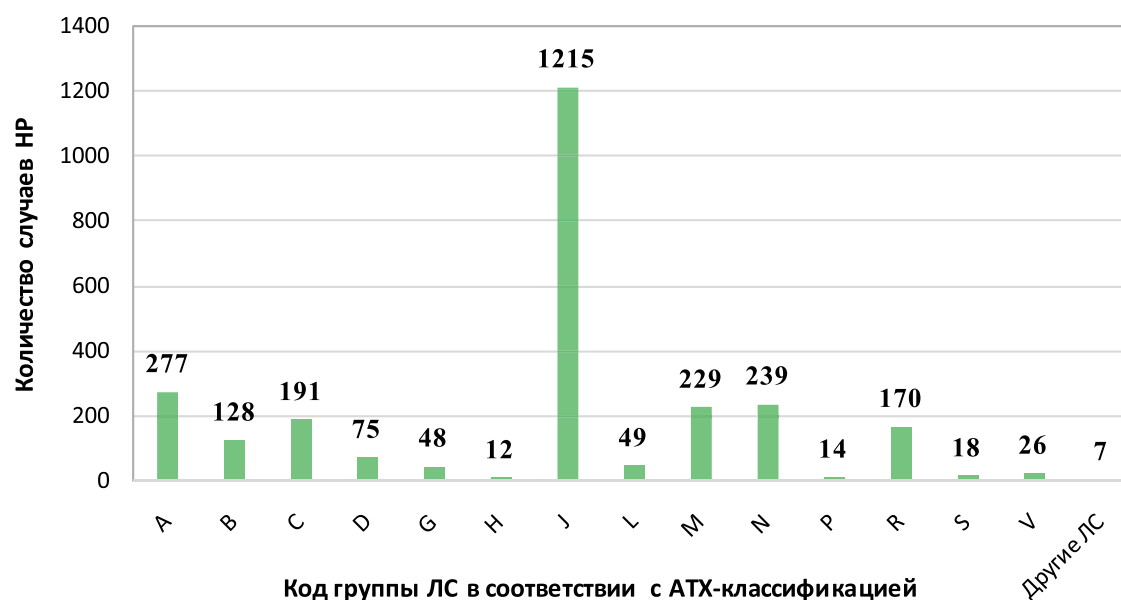


Рисунок 1. Распределение препаратов, вызывающих КЛР, в соответствии с АТХ-классификацией ЛС ВОЗ

Изучение частоты НР для отдельных групп препаратов, вызывающих лекарственно-индуцированные кожные реакции, показало, что среди группы проти-

вомикробных средств для системного применения подобные НР наиболее часто были связаны с применением группы J01 (противомикробные средства для

системного применения) – 1065 случаев (87,65% от общего количества случаев НР этой группы). Реже КЛР были связаны с применением противовирусных

препаратов для системного применения (J05 – 72 случая; 5,9%) и препаратов, активных в отношении микобактерий туберкулеза (J04 – 43 случая; 3,54%) (рис. 2).

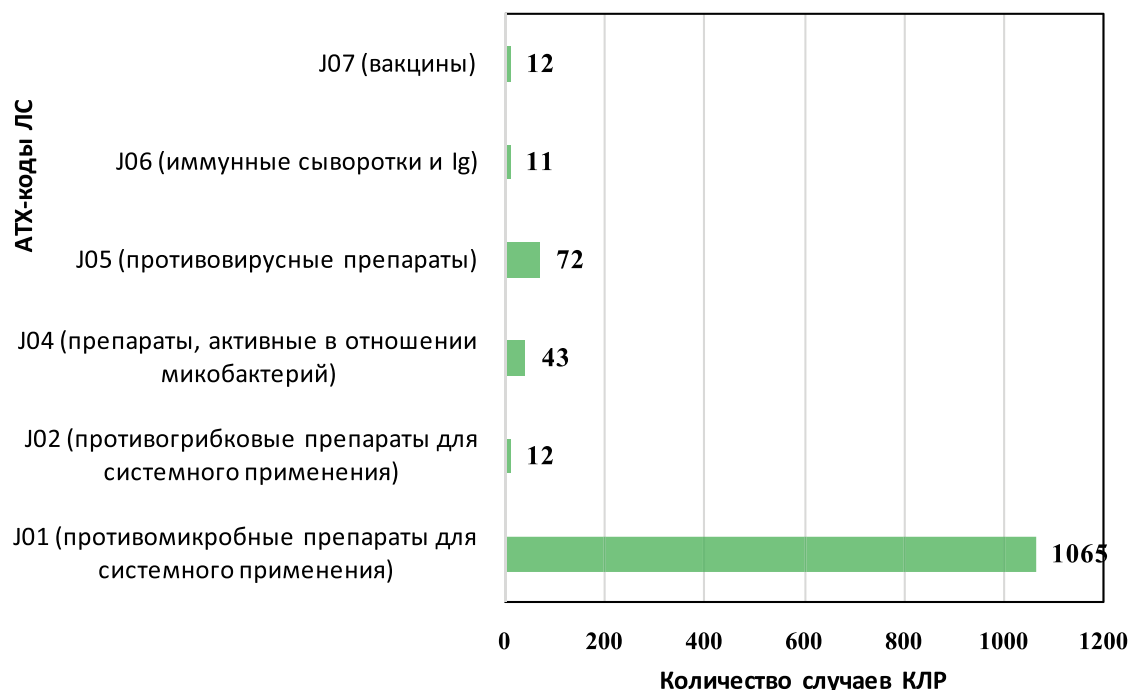


Рисунок 2. Распределение случаев КЛР в группе противомикробных препаратов для системного применения

Анализ КЛР отдельных групп противомикробных препаратов для системного применения подтверждает известные данные о высокой частоте развития аллергических реакций при применении антибактериальных препаратов, в том числе β-лактамов [9–11]. В нашем случае частота развития КЛР при применении этих групп ЛС составила 552 (51,8% от всего количества случаев НР на противомикробные препараты) и 207 случаев (19,4%) соответственно. Частота встречаемости лекарственно-индуцированных кожных реакций отдельных представителей групп β-лактамов антибиотиков представлена в таблице 1. Другие группы средств, обладающие антимикробной активностью, вызывали аллергические реакции значительно реже: фторхинолоны – 121 случай НР (11,4%), макролиды и азалиды – 65 случаев (6,1%), аминогликозиды – 40 случаев (3,8%). Препаратами-«лидерами» по развитию лекарственно-индуцированных реакций в группе фторхинолонов стали

левофлоксацин (45 случаев НР) и ципрофлоксацин (42 случая). В группе макролидных антибиотиков развитие КЛР наиболее часто регистрировалось при применении азитромицина (34 случая НР) и кларитромицина (13 случаев). Высокая частота развития КЛР в представленных выше группах препаратов обусловлена, вероятнее всего, их частым назначением медицинскими работниками, а также использованием данных ЛС пациентами при проведении самолечения [12].

Наибольшее количество случаев развития КЛР при применении противовирусных препаратов было вызвано использованием препаратов, эффективных по отношению к ВИЧ (ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы – 28 случаев НР, нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы – 6 случаев, ингибиторы протеазы – 4 случая). Комбинированные противовирусные препараты, эффективные по отношению к ВИЧ, вызывали развитие НР в 9 случаях.

Таблица 1. Частота встречаемости лекарственно-индуцированных кожных реакций при применении препаратов группы β -лактамов (пенициллинов, цефалоспоринов)

Представители групп противомикробных препаратов	Количество случаев КЛР, абс. значение	Количество случаев КЛР, % (по отношению к общему количеству случаев КЛР)
Пенициллины		
Ампициллин (J01CA01)	5	0,2%
Амоксициллин (J01CA04)	72	2,7%
Бензилпенициллина натриевая соль (J01CE01)	4	0,15%
Ампициллин в комбинации с ингибиторами β -лактамаз (J01CR01)	15	0,6%
Амоксициллин в комбинации с ингибиторами β -лактамаз (J01CR02)	111	4,1%
Цефалоспорины		
Цефалоспорины I поколения		
Цефалексин (J01DB01)	14	0,5%
Цефазолин (J01DB04)	13	0,48%
Цефалоспорины II поколения		
Цефуросим (J01DC02)	53	2%
Цефалоспорины III поколения		
Цефотаксим (J01DD01)	152	5,6%
Цефтазидим (J01DD02)	12	0,4%
Цефтриаксон (J01DD04)	230	8,5%
Цефексим (J01DD08)	33	1,2%
Цефоперазон (J01DD12)	5	0,18%
Цефподоксим (J01DD13)	16	0,6%
Цефтибутен (J01DD14)	1	0,04%
Цефтриаксон в комбинации с другими препаратами (J01DD54)	6	0,2%
Цефоперазон в комбинации с другими препаратами (J01DD62)	9	0,3%
Цефалоспорины IV поколения		
Цефепим (J01DE01)	8	0,3%

Среди противотуберкулезных препаратов развитие лекарственно-индуцированных кожных реакций в большинстве случаев (28 случаев, 65% от общего количества НР на противотуберкулезные препараты) было связано с применением пиразинамида. Значительно реже КЛР возникали на фоне применения изониазида, этамбутола и рифампицина.

Отдельного внимания заслуживает высокая частота развития лекарственно-индуцированных кожных реакций, возникающих при применении нестероидных противовоспалительных средств (186 случаев, что составило 6,9% от общего количества случаев КЛР). Среди данной фармакологической группы наиболее часто подобные НР были связаны с применением препаратов, являющихся производными пропионовой (106 случаев) и уксусной кислот (51 случай). Анализ частоты КЛР при применении отдельных представителей групп НПВС представлен на рисунке 3.

Наибольшее количество КЛР было зарегистрировано при применении ибупрофена (99 случаев; 53,22%), диклофенака (31 случай; 16,7%), кеторолака (18 случаев; 9,7%) и нимесулида (12 случаев; 6,45%).

Изучение стран-производителей лекарственных препаратов, вызывающих кожные лекарственные реакции, позволило выявить, что в 911 случаях развитие НР было связано с применением ЛС, произведенных на территории Украины, в 309 случаях – на территории Российской Федерации. Развитие НР на фоне применения лекарственных препаратов, произведенных зарубежными фармацевтическими компаниями, наблюдалось незначительно реже. Так, ЛС, произведенные в Индии, вызвали 291 случай КЛР, в Великобритании – 210 случаев, в Германии – 177 случаев НР.

Изучение клинических проявлений лекарственно-индуцированных кожных реакций показало, что наиболее распространёнными их формами были: генерализованная кожная сыпь (1673 случая НР; 62%), локализованная кожная сыпь (713 случаев НР; 26,4%), локализованный и генерализованный зуд кожи (128 и 95 случаев НР соответственно), а также гиперемия кожных покровов (78 случаев; 2,9%). Показатели встречаемости таких проявлений у пациентов представлены в таблице 2.

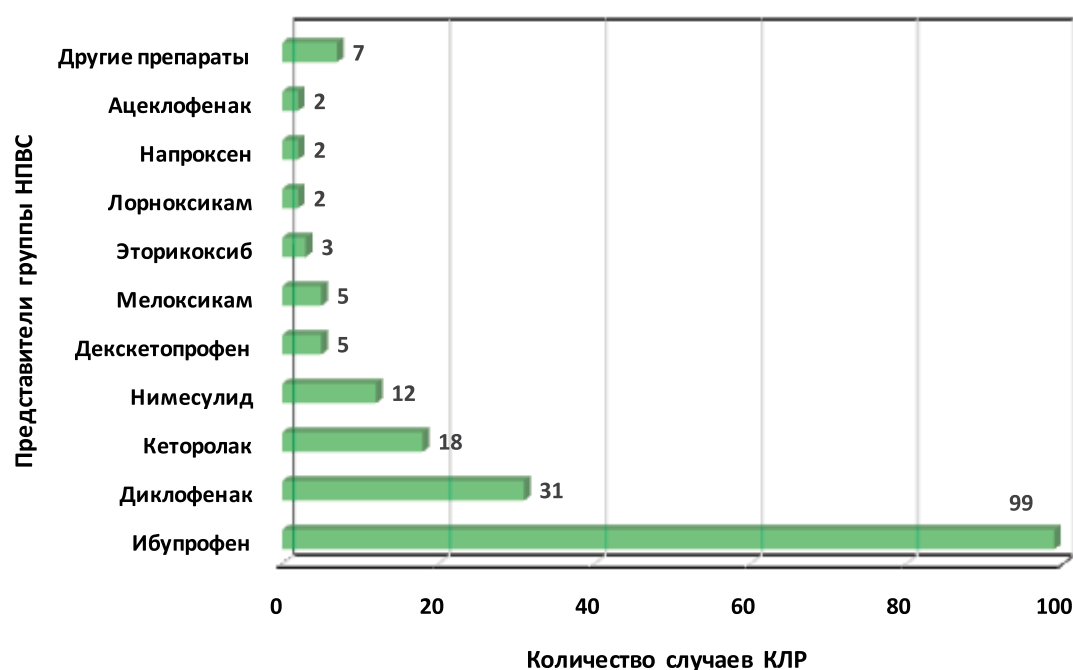


Рисунок 3. Частота случаев развития КЛР при применении препаратов группы НПВС

Таблица 2. Показатели встречаемости различных клинических проявлений КЛР

Клинические проявления КЛР	Количество зарегистрированных случаев НР	
	Абс.	%
1. Генерализованная сыпь	1673	62
2. Локализованная сыпь	713	26,4
3. Генерализованный кожный зуд	95	3,5
4. Локализованный кожный зуд	128	4,8
5. Гиперемия кожи	78	2,9
6. Токсико-аллергический дерматит	9	0,3
7. Фотодерматит	2	0,1

Анализ возрастных групп больных, для которых было характерно возникновение НР в виде кожных проявлений, показал следующие результаты (рис. 4): наиболее часто осложнения фармакотерапии наблюдались в возрасте до 3 лет – 766 случаев (с рождения до 28 дней – 42 случая НР, 28 дней – 1 год – 392 случая НР, от 1 до 3 лет – 342 случая) и в возрастной категории «46–60 лет» – 441 случай. Стоит отметить, что достаточно высокая частота случаев КЛР наблюдалась и в возрастные периоды «19–30 лет», «31–45 лет» и «61–75 лет» – 349, 354 и 331 случай НР соответственно.

Изучение зависимости частоты КНР от пола пациентов выявило, что наиболее часто КЛР возникали у пациентов женского пола – 1613 (60%) случаев,

в остальных 1085 случаях НР (40%) наблюдались у лиц мужского пола.

Дальнейший анализ был направлен на изучение путей введения препаратов, вызывающих лекарственно-индуцированные кожные реакции. Так, наиболее частым путем введения таких препаратов являлся их прием внутрь (per os) – 1326 случаев (49,15%), реже НР возникали на фоне парентерального введения лекарственных препаратов: внутримышечно – 535 случаев (19,8%), внутривенно – 510 случаев (18,9%), подкожно – 32 случая (1,19%). Обращает на себя внимание и тот факт, что в 139 случаях (5,15%) КЛР возникали при наружном применении лекарственных препаратов, а в 52 случаях (1,9%) – при ректальном их введении.

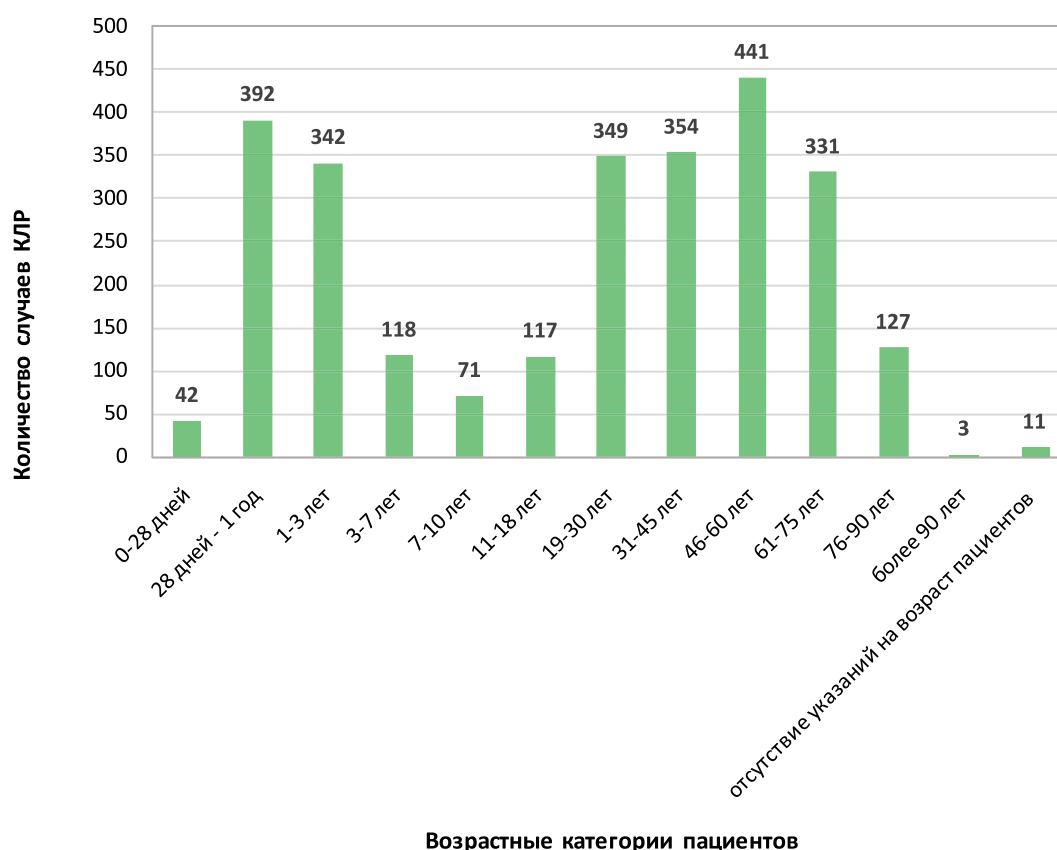


Рисунок 4. Распределение пациентов с лекарственно-индуцированными кожными реакциями по возрасту

Одним из важнейших факторов, определяющих вероятность возникновения нежелательных реакций аллергического характера, является наличие в анамнезе пациента повышенной чувствительности к лекарственным препаратам, компонентам пищи, контактными бытовыми аллергенами и другим факторам. Изучение аллергологического анамнеза у пациентов с КЛР показало, что в большинстве случаев он был спокоен (2399 случаев, 88,92%), в остальных же случаях наблюдался отягощенный аллергологический анамнез: лекарственная аллергия – 156 случаев НР (5,8%), пищевая аллергия – 80 случаев НР (3%), бытовая (контактная аллергия) – 35 случаев (1,3%), в 28 случаях у пациентов наблюдалась смешанная аллергия (рис. 5).

Кроме того, одним из значимых факторов, необходимым для оценки причинно-следственной связи между приемом подозреваемого лекарственного препарата и возникающей КЛР, является количество назначаемых одновременно с ним лекарственных средств.

В нашем случае, частота полипрагмазии (одновременного назначения 5 и более препаратов) составила 320 случаев развития КЛР. При этом одновременное назначение 4 препаратов наблюдалось в 162 случаях (6%), 5 ЛС – в 83 случаях (3,1%), 6 ЛС – в 40 случаях (1,5%). Назначение 7 и более препаратов наблюдалось в 35 случаях, что могло значительно увеличить риск развития НР (рис. 6).

Протекание аллергических реакций немедленного типа, проявляющихся поражениями кожи, характеризуется высокой скоростью развития и непредсказуемостью. В связи с чем, лечение сводится, как правило, к отмене лекарственного препарата, вызвавшего НР, и к проведению симптоматической терапии. Анализ случаев КЛР в Республике Крым показал, что отмена подозреваемых ЛС была проведена в 2651 случае (98,26%), при этом в 2266 случаях из них отмена подозреваемого средства сопровождалась исчезновением проявлений побочной реакции.

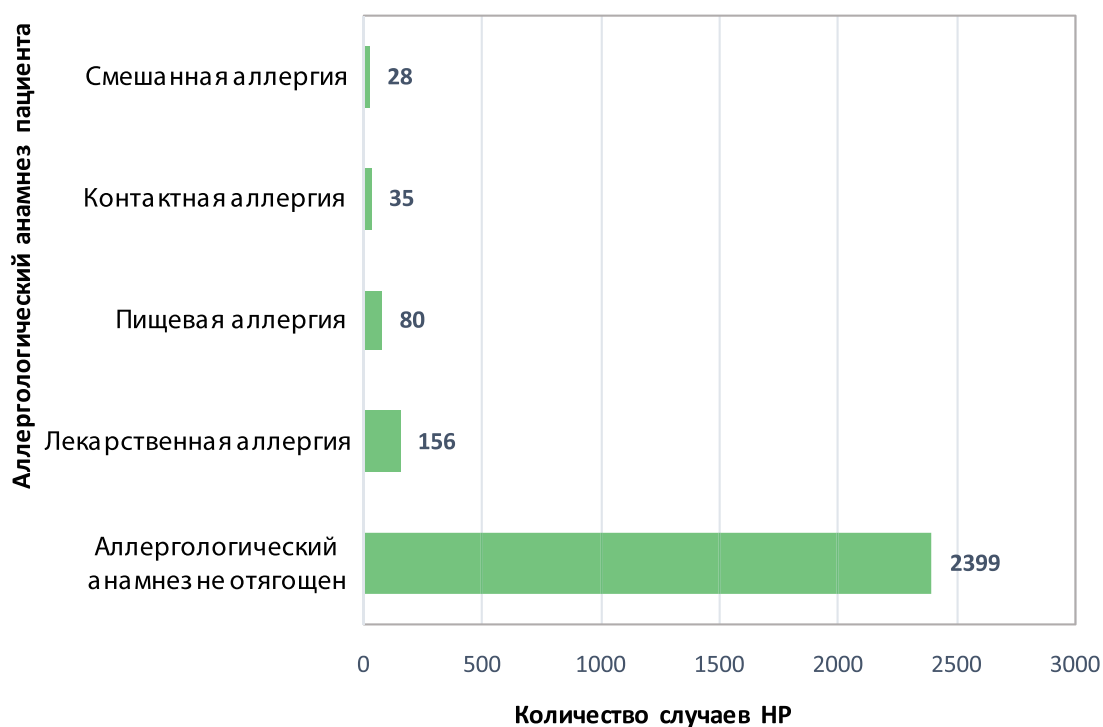


Рисунок 5. Анализ аллергологического анамнеза пациентов с проявлениями КЛР

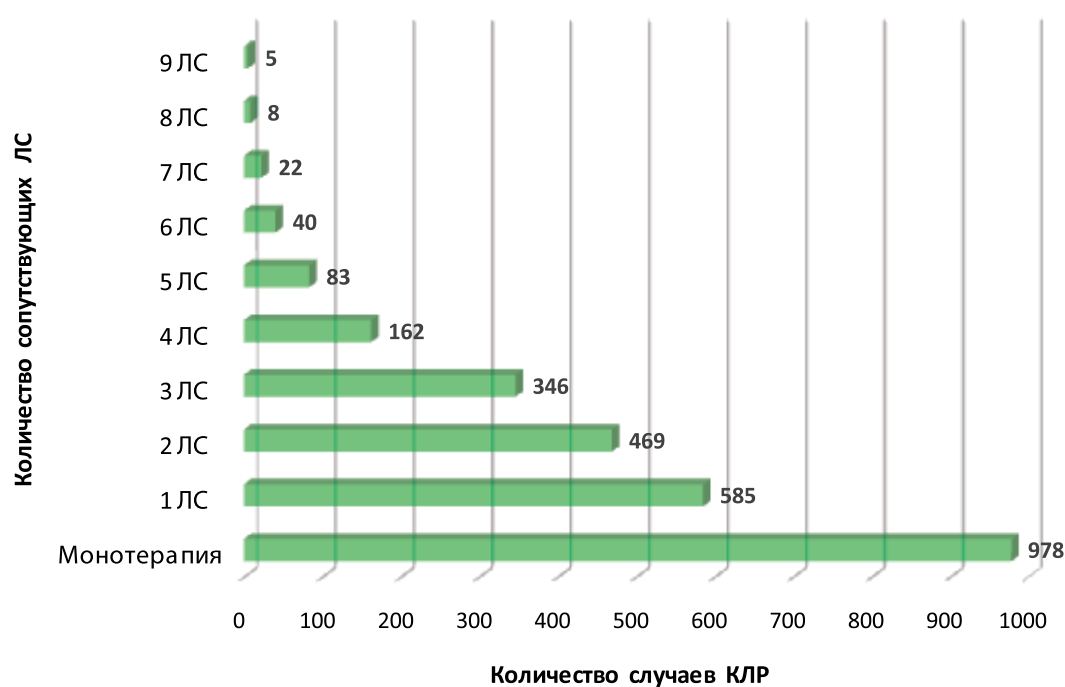


Рисунок 6. Анализ карт-извещений с проявлениями КЛР по количеству сопутствующих ЛС

Проведение симптоматической терапии для купирования проявлений КЛР наблюдалось в 2242 случаях (83,1%), в остальных случаях в дополнительной фармакотерапии пациенты не нуждались.

Следующий этап изучения КЛР был направлен на

анализ исходов НР ЛС. Результаты анализа показали, что в большинстве случаев КЛР были несерьезными и не вызвали выраженных последствий для пациентов (2009 случаев, 74,5%). Однако стоит отметить и частоту серьезных последствий НР для пациентов:

угрожающие жизни пациентов состояния наблюдались в 32 случаях (1,19%), госпитализация и продление сроков госпитализации пациентов потребовалось в 261 (9,7%) и 153 (5,7%) случаях соответственно. В 242 (9%) случаях развитие КЛР привело к временной нетрудоспособности пациента.

Таким образом, полученные при проведении анализа результаты, подтвердили высокую частоту встречаемости, серьезность и непредсказуемость возникновения лекарственно-индуцированных кожных реакций [13, 14]. Среди всех фармакологических групп лекарственных препаратов наиболее часто КЛР были ассоциированы с применением противомикробных препаратов для системного применения, а именно препаратов группы цефалоспоринов и пенициллинов. Такие высокие показатели частоты развития НР при применении данных групп ЛС могли быть связаны не только с наличием в их структуре β -лактамного кольца, которое способно ковалентно связываться с белками сыворотки крови и клеточной стенки, вызывая развитие аллергических реакций, но и со значительной

частотой их назначения в клинической практике [15]. Выявленными в ходе проведения анализа факторами риска развития КЛР были женский пол (60% случаев развития НР), ранний детский и пожилой возраст, а также наличие у пациентов отягощенного лекарственного аллергологического анамнеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из приоритетных направлений системы здравоохранения в настоящее время является контроль эффективности, безопасности и качества лекарственных препаратов, применяющихся на этапах диагностики, профилактики и лечения пациентов.

Достаточные знания специалистов здравоохранения в области фармакобезопасности ЛС позволят им не только быть подготовленными к купированию серьезных непредвиденных проявлений кожных лекарственных реакций в кратчайшие сроки, но и к возможному предотвращению связанных с применением ЛС состояний, угрожающих жизни пациентов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Demoly P., Adkinson N.F., Brockow K., Castells M., Chiriac A.M., Greenberger P.A., Khan D.A., Lang D.M., Park H.S., Pichler W., Sanchez-Borges M., Shiohara T., Thong B.Y. International Consensus on drug allergy // *Allergy*. – 2014. – Vol. 69, №4. – P. 420–437. DOI: <https://doi.org/10.1111/all.12350>.
2. Степанова Е.В. Современные аспекты диагностики и лечения лекарственной аллергии // *Лечащий врач*. – 2009. – № 4. – С. 13–17.
3. Мачарадзе Д.С. Гиперчувствительность к пищевым наполнителям лекарственных препаратов // *Лечащий врач*. – 2014. – №1. – С. 68–74.
4. Ильина Н.И., Латышева Т.В., Мясникова Т.Н., Лусс Л.В., Курбачева О.М., Ерохина С.М. Лекарственная аллергия. Методические рекомендации для врачей (часть 2) // *Российский аллергологический журнал*. – 2013. – №6. – С. 25–40.
5. Lee A., Thomson J. Drug-induced reactions // In: Lee A, editor. *Adverse Drug Reactions*. 2nd ed. – London: Pharmaceutical Press. – 2006. – P. 126–55.
6. Рудык М.Я., Ежова Л.Г., Мирилашвили Т.Ш., Котовская Ю.В., Кобалава Ж.Д. Характеристика лекарственно-индуцированных кожных реакций в многопрофильном скоромощном стационаре // *Вестник РУДН. Серия: Медицина*. – 2012. – №1. – С. 46–50.
7. Матвеев А.В., Крашенинников А.Е., Егорова Е.А. Роль «off-label» назначений как фактора возникновения нежелательных побочных реакций на лекарственные средства в педиатрической практике // *Вопросы практической педиатрии*. – 2018. – Т. 13, №4. – С. 18–24. DOI: 10.20953/1817-7646-2018-4-18-24.
8. ATC/DDD Index 2019 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://www.whocc.no/atc_ddd_index/.
9. Скорородкина О.В., Лунцов А.В. Лекарственная аллергия при проведении антибиотикотерапии // *Вестник современной клинической медицины*. – 2013. – Т. 6, №3. – С. 60–67.
10. Thong B.Y., Mirakian R., Castells M., Pichler W., Romano A., Bonadonna P., Deleanu D., Kowalski M. et al. A world allergy organization international survey on diagnostic procedures and therapies in drug allergy/hypersensitivity // *World Allergy Organ J.* – 2011. – Vol. 4, №12. – P. 257–270. DOI: 10.1097/WOX.0b013e31823dc02c.
11. Андреева И.В., Стецюк О.У. Аллергические реакции на антибиотики // *Клиническая фармакология и терапия*. – 2013. – Т. 22, №2. – С. 5–10.
12. Borch J.E., Andersen K.E., Bindslev-Jensen C. Cutaneous adverse drug reactions seen at a university hospital department of dermatology // *Acta DermVenereol.* – 2006. – V. 86, № 6. – P. 523–527. DOI: 10.2340 / 00015555-0153.
13. Назимкин К.Е., Ларина В.Н., Головкин М.Г., Михайлузова М.П., Кузнецов П.И., Никитина Ю.А. Кожные проявления нежелательных реакций лекарственной терапии в практике врача-терапевта поликлиники // *Медицинский алфавит*. – 2017. – Т. 1, №8. – С. 30–34.
14. Зборовский А.Б., Тюренок И.Н., Белоусов Ю.Б. Неблагоприятные побочные эффекты лекарственных средств. – М.: ООО «МИА», 2008. – 656 с.
15. Аллергические реакции на антибиотики. Методическое пособие. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/rus/all/metod/aballergy/02.shtml>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы

Матвеев Александр Васильевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренней медицины №1 с курсом клинической фармакологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», г. Симферополь; исполнительный директор АНО «Национальный научный центр фармаконадзора», г. Москва. E-mail: avtcsmtu@gmail.com.

Крашенинников Анатолий Евгеньевич – кандидат фармацевтических наук, генеральный директор АНО «Национальный научный центр фармаконадзора», г. Москва. E-mail: anatoly.krashennnikov@drugsafety.ru.

Егорова Елена Александровна – кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры внутренней медицины №1 с курсом клинической фармакологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», г. Симферополь. E-mail: elena212007@rambler.ru.

Коняева Елена Ивановна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры внутренней медицины №1 с курсом клинической фармакологии Медицинской академии им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского», г. Симферополь. E-mail: konyaeva.simferopol@gmail.com.

УДК615.262.2



СТИМУЛЯЦИЯ РЕПАРАЦИИ В МОДЕЛИ ЛИНЕЙНОЙ РАНЫ У КРЫС ГЕЛЕМ С БИШОФИТОМ

Ю.В. Степенко¹, В.О. Солдатов¹, М.А. Затолокина², А.В. Майорова³, Б.Б. Сысуев³,
А.Н. Демиденко¹, Е.Н. Ивахно¹, М.В. Сарычева¹, М.В. Покровский¹

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, Россия, г. Белгород, ул. Победы, 85

² Курский государственный медицинский университет
305041, Россия, г. Курск, ул. Карла Маркса, 3

³ Российский университет дружбы народов
117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Поступила в редакцию: 20.12.2018

Принята к печати: 23.01.2019

Цель – оценка репаративной активности геля с Бишофитом на модели линейной раны у крыс. **Материалы и методы.** Исследование было проведено на 36 самцах крыс линии Wistar массой 193–218 г. На 8-е сутки после моделирования линейного раневого дефекта длиной 50 ± 1 мм оценивали репаративное действие Бишофита, Актовегина и Контрактубекса в составе гелей. Оценка проводилась с помощью: 1) изучения физико-механических свойств раневого дефекта (механический раноразрыватель Метротест РЭМ-0.2-1); 2) морфологического исследования тканей кожного лоскута, взятого из области раны (окраска гематоксилин-эозин и Ван Гизон); 3) определения соотношения коллагена I и III типов в поляризационном микроскопе (окраска пикросириус красный); 4) колориметрического анализа концентрации гидроксипролина в тканях раневой поверхности. **Результаты.** На 8-е сутки наибольшей прочностью характеризовались раневые дефекты, полученные от животных с применением Бишофита (среднее усилие на момент разрыва 13,70 Н), что достоверно выше ($p < 0,01$), чем в контрольной группе (11,76 Н). Актовегин повлиял на данный параметр в меньшей степени (12,60 Н), а Контрактубекс привел к его снижению (8,10 Н). Влияние препаратов на морфологическую картину тканей кожи было аналогичным. Содержание гидроксипролина в образцах исследуемых групп составило: Бишофит – $13,23 \pm 1,68$; Актовегин – $15,89 \pm 1,37$; Контрактубекс – $17,61 \pm 0,67$; Контроль – $16,59 \pm 1,08$. По влиянию на соотношение коллагена I и III типов исследуемые препараты располагались в следующей последовательности: Бишофит ($0,73 \pm 0,023$) > Актовегин ($0,67 \pm 0,017$) > Контроль ($0,56 \pm 0,012$) > Контрактубекс ($0,38 \pm 0,02$). **Заключение.** Проведенное исследование показало, что Бишофит обладает выраженной способностью стимулировать регенерацию раневого дефекта кожи. При этом препарат сравнения Актовегин продемонстрировал меньшую активность, а Контрактубекс ухудшил ранозаживление.

Ключевые слова: Бишофит, регенерация, Актовегин, Контрактубекс, гидроксипролин, коллаген

Для цитирования: Ю.В. Степенко, В.О. Солдатов, М.А. Затолокина, А.В. Майорова, Б.Б. Сысуев, А.Н. Демиденко, Е.Н. Ивахно, М.В. Сарычева, М.В. Покровский. Стимуляция репарации в модели линейной раны у крыс гелем с Бишофитом. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1): 42-52. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-42-52

© Ю.В. Степенко, В.О. Солдатов, М.А. Затолокина, А.В. Майорова, Б.Б. Сысуев, А.Н. Демиденко, Е.Н. Ивахно, М.В. Сарычева, М.В. Покровский, 2019

For citation: Yu.V. Stepenko, V.O. Soldatov, M.A. Zatolokina, A.V. Mayorova, B.B. Sysuev, A.N. Demidenko, E.N. Ivahno, M.V. Sarycheva, M.V. Pokrovskiy. Stimulation of reparation in a linear wound model in rats by Bischofit gel. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(1): 42-52. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-42-52

STIMULATION OF REPARATION IN A LINEAR WOUND MODEL IN RATS BY BISCHOFIT GEL

Yu.V. Stepenko¹, V.O. Soldatov¹, M.A. Zatolokina², A.V. Mayorova³, B.B. Sysuev³,
A.N. Demidenko¹, E.N. Ivahno¹, M.V. Sarycheva¹, M.V. Pokrovskiy¹

¹ Belgorod State National Research University

85, Pobeda Str., Belgorod, 308015

² Kursk State Medical University

3, Karl Marx Str., Kursk, 305041

³ Peoples' Friendship University of Russia

6, Miklukho-Maklay Str., Moscow, 117198

E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Received: 20.12.2018

Accepted for publication: 23.01.2019

The aim of the article is to evaluate Bischofit gel reparative activity in a linear wound model in rats. **Materials and Methods.** The study was conducted on 36 male Wistar rats weighing from 193 to 218 grams. On the 8th day after modeling a linear wound defect 50±1 mm long, the reparative effect of bischofite, Actovegin and Contractubex in the gel compositions was evaluated. The evaluation was carried out using: the following methods: 1) studying the physicochemical characteristics of the wound defect (a wound-tearing machine Metrotest REM-0.2-1); 2) morphological examination of the skin graft taken from the wound area (stained with hematoxylin-eosin and Van Gieson's solution); 3) determining the ratio of collagen types I and III in a polarizing microscope (the picosirius was red); 4) colorimetric analysis of the hydroxyproline concentration in the wound surface tissues. **Results.** On the 8th day, the wound defects sampled from the bischofite treated animals, were characterized by the most pronounced strength (the average force at the rupture moment was 13.70 N), which was significantly higher ($p<0.01$) than in the control group (11.76 N). Actovegin showed less influence on this parameter (12.60 N), and the use of Contractubex led to its decrease (8.10 N). The effect of the drugs on the morphological state of the skin tissue was similar. The hydroxyproline concentration in the studied groups' samples was: Bischofit 13.23±1.68; Actovegin 15.89±1.37; Contractubex 17.61 ± 0.67; the Control was 16.59±1.08. According to the impact on the ratio of collagen in types I and III, the studied drugs were arranged in the following sequence: Bischofit (0.73±0.023) > Actovegin (0.67±0.017) > Control (0.56±0.012) > Contractubex (0.38 ±0.020). **Conclusion.** The carried out study showed that Bischofit has a pronounced ability to stimulate the regeneration of the skin wound defect. Hereby, the reference drug Actovegin showed less activity, and Contractubex worsened wound healing.

Keywords: Bischofite, regeneration, Actovegin, Contractubex, hydroxyproline, collagen

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на стремительное развитие направленного синтеза, появление высокоселективных препаратов и биологической терапии, более простые, мультитаргетные соединения не теряют своей актуальности [1]. Одним из таких средств является гель на основе Бишофита – природного минерала, значительные запасы которого представлены на территории Нижнего Поволжья. Долгое время Бишофит использовался в клинической практике для лечения широкого спектра патологий. Фармакологическая активность этого минерала, в том числе в составе гелей, детально изучалась в течение нескольких десятилетий [2, 3]. Было показано, что Бишофит обладает противовоспалительной и иммуномодулирующей активностью, а также способствует ускорению регенеративных процессов [4–7].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ Животные

Исследование проведено на 36 самцах крыс линии Wistar массой (193–218 г). В качестве лабораторных животных были использованы крысы, полученные из питомника лабораторных животных «Столбовая» (Московская область, п. Столбовая). Все манипуля-

ции, производимые над особями, выполнены в соответствии с международными нормами экспериментальной этики (Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Strasbourg, 22 June, 1998)) и с требованиями надлежащей лабораторной практики (GLP). Животных размещали в макролоновом клетках с решетчатыми стальными крышками и углублением для корма. Подстилочным материалом служили нехвойные древесные опилки. Все крысы в течение эксперимента содержались в стандартных условиях вивария (влажность – 65±5%, температура – 22±2°C). Особи находились при естественном освещении со свободным доступом к пище и воде. Клетки, подстил и поилки для питья менялись по мере загрязнения.

Дизайн исследования

Под наркозом (хлоралгидрат 300 мг/кг) после предварительной депиляции (80×45 мм) и обработки антисептиком (раствор спирта этилового 70%) дорсальной области моделировали линейную рану длиной 50±1 мм путем рассечения кожных покровов по паравerteбральной линии лезвием с ограничителем глубины 2 мм, после чего края раны сближали путем наложения трех швов стерильными нитями [8].

Затем животных делили на 4 равные группы:

I – контрольная группа – имитация втирания препарата на выбритую область через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

II – Бишофит – втирание 500 мг геля с Бишофитом на область раны и прилежащие ткани через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

III – Актовегин – втирание 500 мг геля Актовегин на область раны и прилежащие ткани через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

IV – Контрактубекс – втирание 500 мг геля Конт-

рактубекс на область раны и прилежащие ткани через 10 минут после моделирования раны и в последующие 6 дней (1 раз в сутки)

После естественного подсушивания области нанесения препаратов животные помещались в индивидуальные клетки. В последующие 6 дней производилась оценка клинического состояния, двигательной активности, потребления корма и пищи, а также фотофиксация области раны. На 8-й день животных выводили из эксперимента методом краниальной дислокации под наркозом, после чего с дорсальной поверхности изымались 4 кожных лоскута (общая поверхность 25×45 мм) для проведения дальнейших исследований (рис. 1).

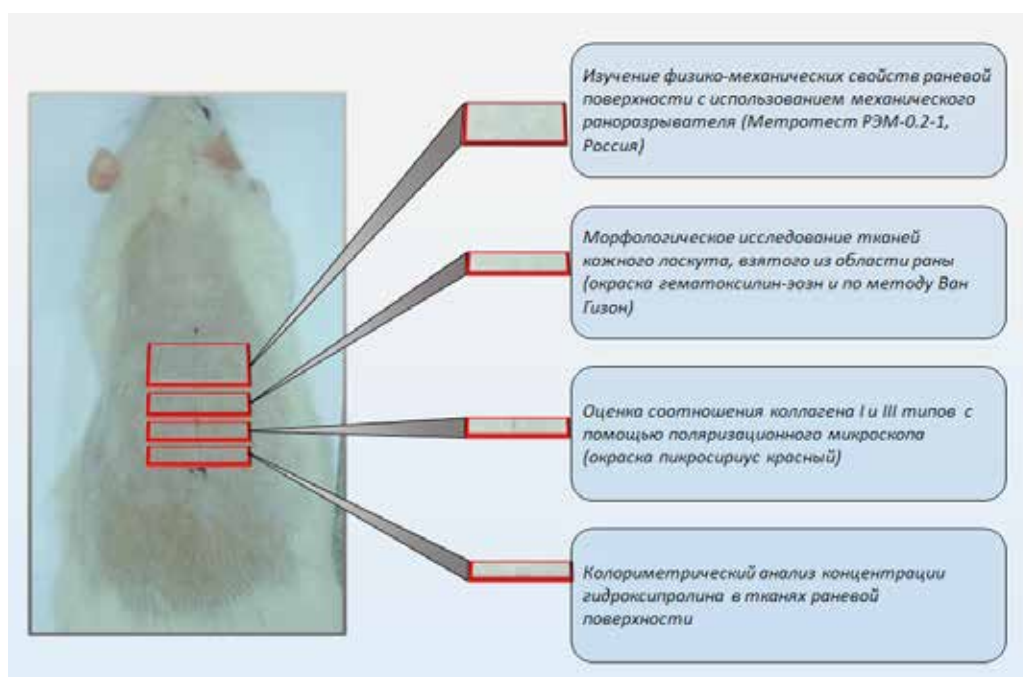


Рисунок 1. Схематическое изображение областей изъятия кожи для оценки репаративного действия препаратов

1. Изучение физико-механических свойств раневого дефекта проводили с использованием механического раноразрывателя. Вырезанный кожный фрагмент фиксировали в специальной установке с помощью нитей и металлических спиц. После запуска прибора отслеживали усилие (дискретность=0,1 Н), необходимое для разрыва тканей по линии раны, также были получены данные о предельной деформации (растяжение на момент разрыва) кожного лоскута. Данный параметр позволяет судить об эластичности раневого дефекта.

2. Колориметрический анализ концентрации гидроксипролина в тканях раневого дефекта. Также для оценки степени репаративной реакции в тканях производили определение концентрации как основной аминокислоты коллагена, так и гидроксипролина (ГП). ГП образуется как результат котрансляционного гидроксирования пролина ферментом пролингидроксилазой, которое происходит еще до завершения синтеза полипептидной цепи [9].

Для определения концентрации ГП в образцах использовали колориметрический метод определения продуктов реакции окисленного ГП и реактива Эрлиха [10]. В ходе пробоподготовки круглые участки кожи без подлежащих тканей диаметром 5 мм и, включающие все ее слои, забирались у эвтаназированных животных с помощью инструмента DermalPunch (США). Образцы замораживались в жидком азоте погружением на 1–2 секунды и хранились при температуре минус 72°C в герметично закрытых пробирках типа Eppendorf.

В день проведения исследования образцы замораживались в течение 3–5 часов при комнатной температуре на открытом воздухе. Образцы взвешивали и разрезали таким образом, чтобы масса одного из фрагментов была около 20 мг. Затем из образцов готовили гидролизат. Для определения ГП к 1 мл гидролизата добавляли 1 мл хлорамина Б, встряхивали и выдерживали при комнатной температуре 20 минут. Добавляли 1 мл раствора кислоты хлористоводородной 36%,

снова встряхивали и добавляли 1 мл 20%-го раствора реактива Эрлиха. Пробирки вновь встряхивали и помещали в водяную баню (60°C) на 20 минут, затем прерывали реакцию погружением пробирок в ледяную баню и добавляли 5 мл этилцеллозольва. Оптическую плотность определяли при длине волны 557 нм. Для приготовления стандартов использовали кристаллический ГП производства Sigma-Aldrich (США).

3. Морфологическое исследование тканей кожного лоскута, взятого из области раны, проводили стандартным способом. Образцы фиксировали 10% раствором забуференного формалина. Срезы

окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван Гизон. Окрашивание гематоксилином и эозином позволяет провести общую оценку гистологической картины, а окраска по методу Ван Гизон позволяет детально изучить архитектуру соединительной ткани, дифференцируя зрелый и незрелый коллаген. Затем полученным препаратам были присвоены кодовые названия для независимой оценки экспертной комиссией, состоящей из 5 врачей патологоанатомического бюро областной клинической больницы г. Белгорода им. Святителя Иосифа. Оценка производилась по специально разработанной шкале (таб. 1).

Таблица 1. Шкала для оценки репаративной активности исследуемых препаратов с помощью гистологической картины области раневого дефекта

Качественный признак	Баллы и их характеристика			
Нарушение цитоархитектоники	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярко выражено
Нарушение архитектуры межклеточного матрикса	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярко выражено
Кровоизлияния, расширенные сосуды	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярко выражено
Нарушение эпителизации	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярко выражено
Лейкоцитарная инфильтрация	0 – Отсутствует	1 – Слабо выражено	2 – Выражено	3 – Ярко выражено

4. Оценка соотношения коллагена I и III типов в поляризационном микроскопе

Для оценки состоятельности репаративного процесса определяли соотношение коллагена I и III типов, поскольку преобладание зрелого (I) коллагена над незрелым (III), свидетельствует о нормально протекающей регенерации раны. Для количественной оценки соотношения зрелого (I) и незрелого (III) коллагена срезы окрашивали пикросириус красным, микроскопировали в поляризационном микроскопе и фотографировали. Для каждого среза осуществляли фотосъемку 10 полей зрения при увеличении $\times 400$. Соотношение цветов дифференциальной окраски устанавливалось путем автоматического анализа цветных гистограмм для каждой из микрофотографий с помощью программы image J и последующей статистической обработки. Меньшее значение соотношения указывает на более высокую долю незрелого коллагена III типа [11].

Статистическая обработка полученных дан-

ных проводилась с помощью программного обеспечения Statistica 10.0. Для всех данных была применена описательная статистика. Нормальность распределения определялась с использованием критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова. Статистическая достоверность различий в зависимости от характера данных проводилась с использованием t-критерия Стьюдента и Манна-Уитни с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми признавались различия при значении $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После пробуждения и в дальнейшие дни исследования животные были активны, потребление корма и пищи в пределах нормы. Гнойных осложнений, геморагий, экскораций и прочих нежелательных явлений не наблюдалось. К 7 дню исследования наибольшие визуальные отличия наблюдались между животными, получавшими гель с Бишофитом и контрольной группой (рис. 2).



Рисунок 2. Общий вид животных непосредственно перед эвтаназией

Примечание:

A – группа животных, получавшая гель с Актовегином;

B – группа животных, получавшая гель с Контрактубексом;

C – группа животных, получавшая гель с Бишофитом

Определение физико-механических свойств раневого дефекта

При определении усилия на момент разрыва с использованием механического раноразрывателя (Метро-тест РЭМ-0.2-1, Россия) было установлено, что средняя сила, необходимая для разрыва кожного лоскута по

линии раневого дефекта в контрольной группе составила $11,76 \pm 0,71$ Н. По влиянию на прочность раневого дефекта изучаемые препараты можно расположить в следующем ряду (по убыванию): гель с Бишофитом ($13,70 \pm 0,76$ Н, $p < 0,01$); Актовегин ($12,60 \pm 0,63$ Н, $p < 0,05$); Контрактубекс ($9,65 \pm 0,59$ Н, $p < 0,01$) (рис. 3).

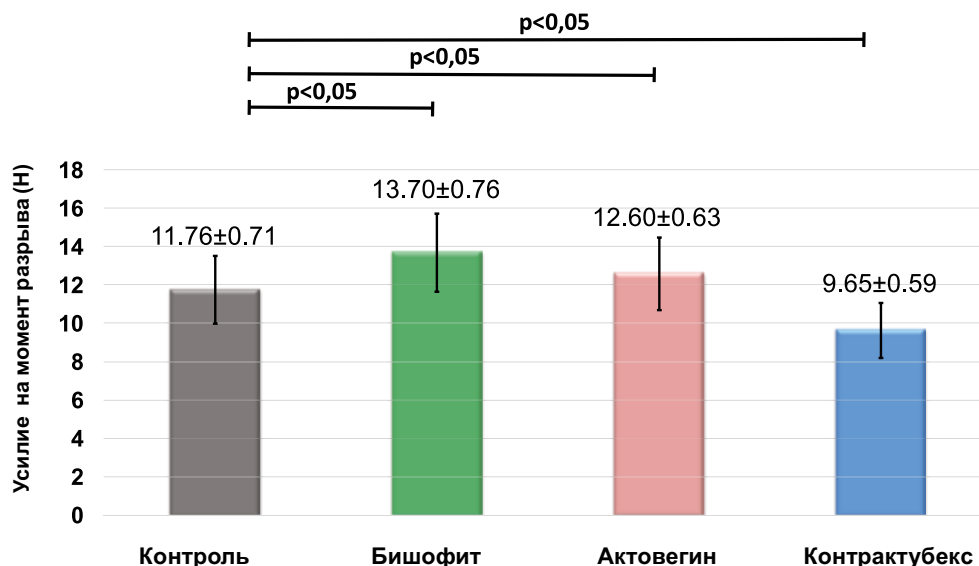


Рисунок 3. Результаты определения физико-механических свойств раневого дефекта. Усилие на момент разрыва (Н) при оценке прочности раневого дефекта с использованием механического раноразрывателя ($M \pm m$)

При анализе предельной деформации кожного лоскута было показано, что увеличение длины кожного лоскута на момент разрыва составило в контрольной группе – $8,0 \pm 1,7\%$. По влиянию на эластичность раневого дефекта изучаемые препараты можно расположить в следующем ряду (по убыва-

нию): гель с Бишофитом ($10,7 \pm 2,3\%$); Актовегин ($8,2 \pm 1,9\%$); Контрактубекс ($8,1 \pm 1,7\%$). Статистическая обработка показала, что по данному параметру достоверно ($p < 0,05$) отличается от контрольной группы только группа, получавшая гель с Бишофитом (рис. 4).

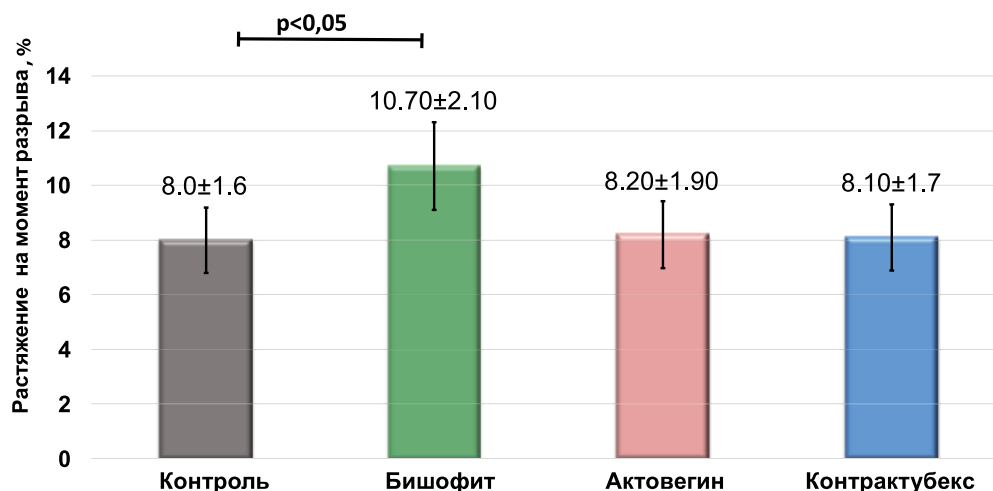


Рисунок 4. Результаты определения физико-механических свойств раневого дефекта: растяжение на момент разрыва (%) при оценке эластичности раневого дефекта с использованием механического раноразрывателя ($M \pm m$)

Колориметрический анализ концентрации гидроксипролина в тканях раневого дефекта

При колориметрическом анализе было установлено, что наибольшая концентрация ГП содержалась в тканях раневых дефектов животных, получавших Контрактубекс, однако статистически

достоверной разницы с контрольной группой обнаружено не было. Достоверно меньшую в сравнении с контролем ($p < 0,05$) концентрацию ГП содержали ткани моделированных ран у животных, получавших гель с Бишофитом (79,7% от контроля) (таб. 2).

Таблица 2. Концентрация гидроксипролина (ГП) в образцах тканей раневых дефектов, полученных на 8 сутки после начала эксперимента ($M \pm m$)

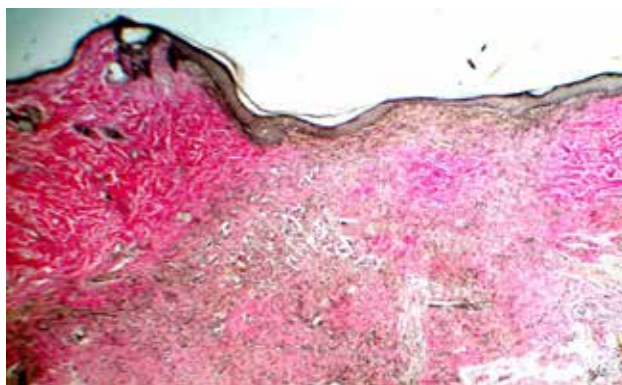
Группа	Контроль	Бишофит	Актовегин	Контрактубекс
Концентрация ГП, мг/г	16,59 $\pm$ 1,08	13,23 $\pm$ 1,68	15,89 $\pm$ 1,37	17,61 $\pm$ 0,67

Примечание: * – наличие статистических значимых отличий при сравнении с группой контроля по критерию Манна-Уитни при $p \leq 0,05$

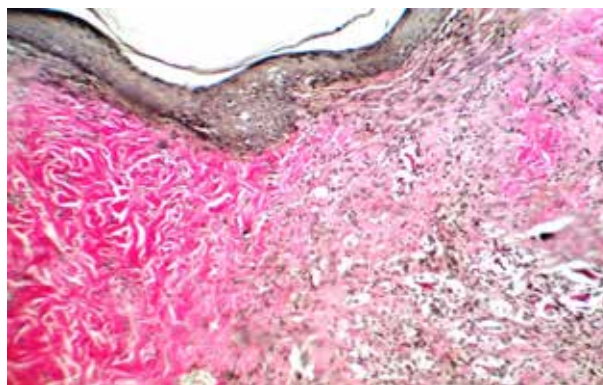
С учетом данных, полученных при определении физико-механических свойств раневого дефекта, вероятной причиной увеличения концентрации ГП в тканях животных, получавших Контрактубекс, является сохранность воспалительной реакции, пролонгирование процессов ремоделирования новообразованной соединительной ткани и разрастания грануляционной ткани. С другой стороны, снижение концентрации ГП в раневых дефектах группы, получавшей гель с Бишофитом, свидетельствует о снижении вторичной альтерации и об ускорении репарации.

Морфологическое исследование тканей кожного лоскута, взятого из области раны

Контрольная группа. В контрольной группе новообразованный соединительнотканый рубец занимает широкую площадь, визуализируются участки неравномерного созревания соединительной ткани. Регенерировавший и покрывающий рану эпидермис имеет толщину в 3–4 раза, превышающий лежащий рядом эпидермис интактной кожи (рис. 5А). В толще эпидермиса на фоне митотически делящихся клеток базального слоя визуализируются эпителиоциты с пикноморфными ядрами и явлениями кариолизиса. Следует также отметить о неоднородности строения соединительнотканного рубца (рис. 5В).



A



B

Рисунок 5. Микрофотография среза кожи в области раны в группе контрольных наблюдений

Примечание: окрашено по методу Ван Гизон. Ув. $\times 100$ (А). Ув. $\times 200$ (В)

Волокнистый компонент в области рубца представлен тонкими разнонаправленными коллагеновыми волокнами. Клеточный компонент преобладает

над волокнистым. Следует отметить, что в зоне рубца отсутствуют волосяные фолликулы и сальные железы (рис. 6).

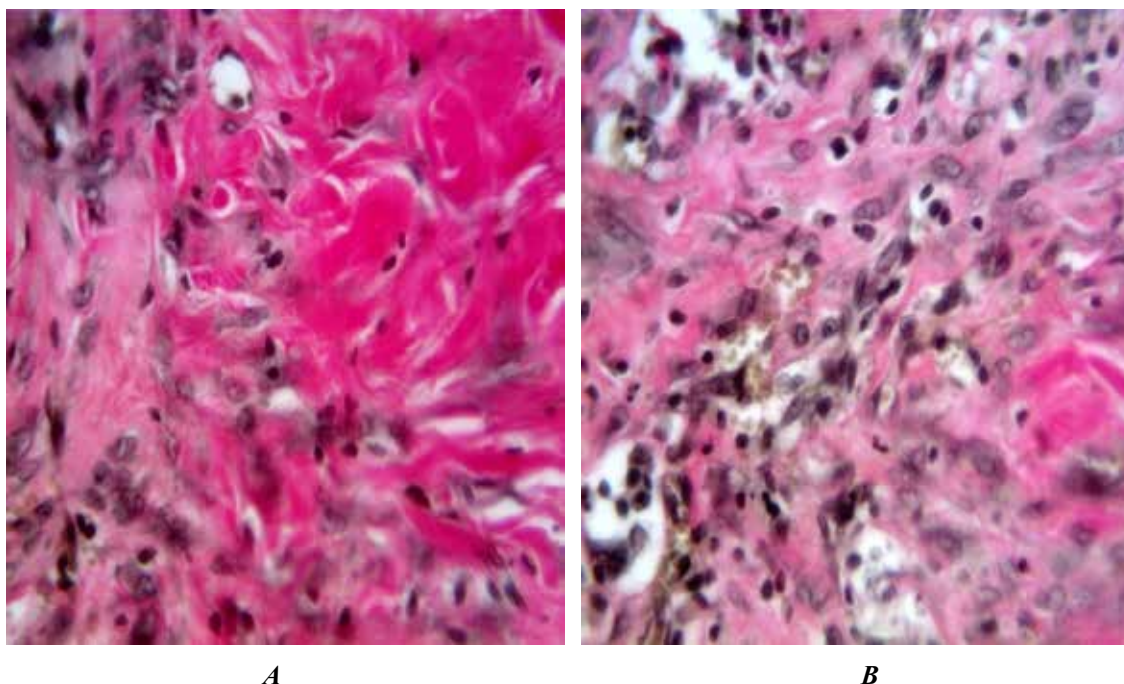


Рисунок 6. Микрофотография среза кожи в области раны в группе контрольных наблюдений
Примечание: окрашено по Ван Гизон. Ув. $\times 400$

Бишофит. На гистологических срезах кожи животных, получавших гель с Бишофитом, в области раны визуализируется тонкий соединительнотканый рубец, на поверхности которого определяется полная регенерация эпидермиса, которая в несколько раз больше, чем в прилегающей ране

эпидермиса. В зоне рубца дериваты не определяются (рис. 7А). Непосредственно под эпидермисом визуализируется широкая полоса соединительной ткани, содержащая кровенаполненные сосуды с локальными кровоизлияниями в окружающую ткань (рис. 7В, С).

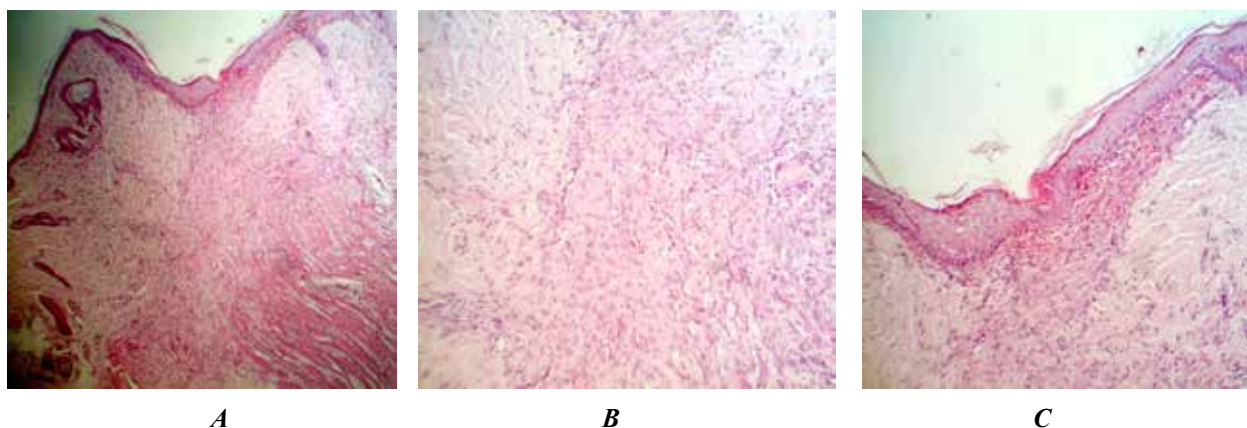


Рисунок 7. Микрофотография среза кожи в области раны в группе наблюдений с применением геля Бишофита

Примечание: хорошо визуализируется утолщенный новообразованный эпидермис (А, В) и новообразованная грануляционная ткань с большим количеством кровеносных сосудов (С). Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$ (А). Ув. $\times 200$ (В, С)

Относительно пространственной организации новообразованного соединительнотканного рубца необходимо отметить наличие нарушения послойно-

го строения кожи. Со стороны новообразованной соединительной ткани происходит прорастание в подлежащую гиподерму и мышечную ткань (рис. 8А).

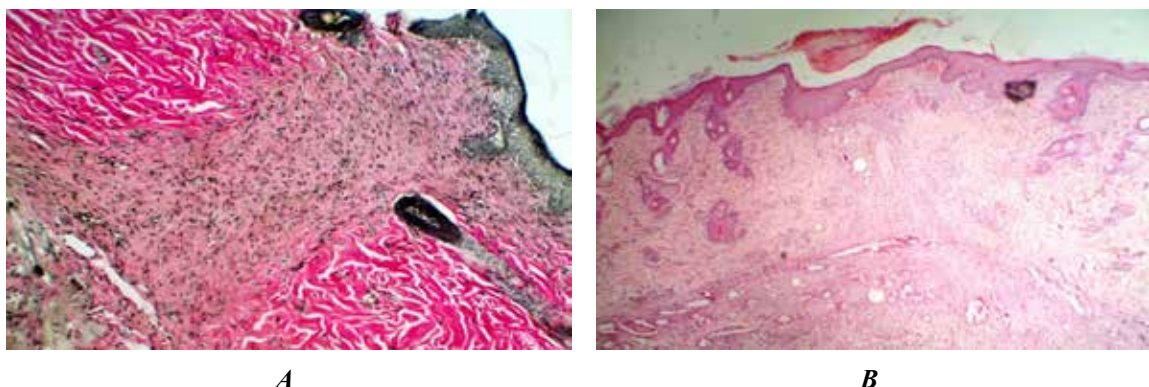


Рисунок 8. Микрофотография среза кожи в области раны в группах наблюдений

Примечание:

A – Бишофит, окрашено по Ван Гизон. Ув. $\times 200$;

B – Актовегин, окрашено гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

Актовегин. На препаратах полностью сформированный соединительнотканый рубец клиновидной формы. Наблюдается полное закрытие раневого де-

фекта многослойным плоским эпителием (рис. 8B).

В базальном и шиповатом слоях эпидермиса визуализируется большое количество митозов (рис. 9A).

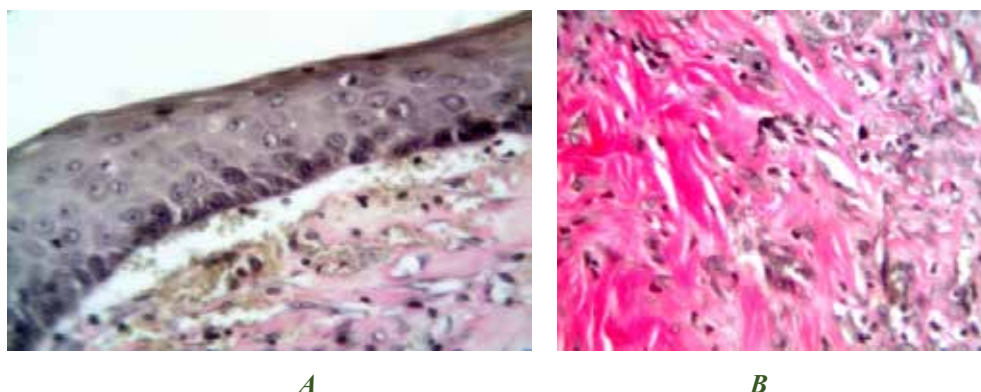


Рисунок 9. Микрофотография среза кожи в области раны в группе наблюдений с применением Актовегина. Окрашено по методу Ван Гизон. Ув. $\times 400$

Примечание:

A – в поле зрения преобладают фибробласты и лимфоциты, единичные фиброциты. Следует отметить отсутствие хорошо сформированного сосочкового слоя;

B – в рядом расположенных участках от рубца, дерме, волокна толстые структурированные и имеют все нормофункциональные критерии плотной неоформленной соединительной ткани

У основания клиновидного соединительнотканного рубца клеточный компонент преобладает над волокнистым, в поле зрения преобладают фибробласты и лимфоциты, единичные фиброциты. Следует отметить отсутствие хорошо сформированного сосочкового слоя. В поле зрения преобладают зрелые ярко оксифильные коллагеновые волокна, которые расположены хаотично и неупорядоченно. На участках, расположенных рядом от рубца, дерме, волокна толстые структурированные и имеют все нормофункциональные критерии плотной неоформленной соединительной ткани (рис. 9B).

Контрактубекс. При изучении микропрепаратов кожи животных, получавших Контрактубекс, визуализируется широкая зона рубцового дефекта, полное заполнение раневого дефекта грануляционной тканью (рис. 10A).

На протяжении всей поверхности рубца наблюдается отслоение новообразованного утолщенного эпителия. Обращает внимание наличие неоднородности в пространственной организации соединительнотканного рубца. Имеет место присутствие локальных участков с высокой степенью зрелости новообразованной соединительной ткани. При этом коллагеновые волокна, расположенные хаотично, не плотно, перемежаются с участками единично расположенных жировых клеток с разным диаметром, не склонных к слиянию (рис. 10B).

У основания новообразованного соединительнотканного рубца, который продолжается в глубоких слоях дермы, гиподермы и мышечного слоя кожи, определяется большое количество расширенных кровеносных сосудов, со склонностью к кровоизлиянию в окружающую ткань (рис. 10C).

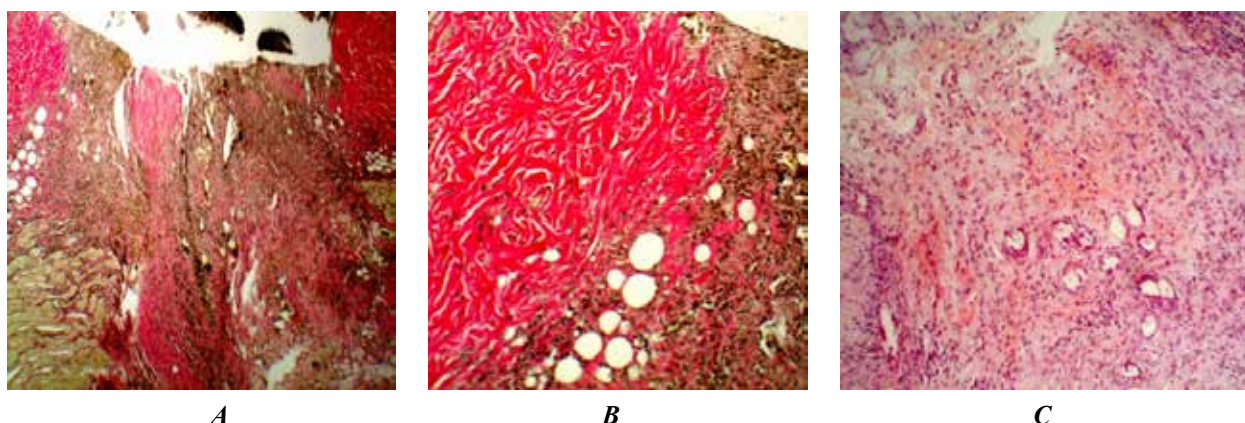


Рисунок 10. Микрофотография среза кожи в области раны в группе наблюдений с применением Контрактубекса

Примечание:

А – полное заполнение раневого дефекта грануляционной тканью, окрашено по методу Ван Гизон, ув. $\times 100$;

В – наблюдается чередование участков с высокой степенью зрелости новообразованной соединительной ткани с участками единично расположенных жировых клеток с разным диаметром, не склонных к слиянию, окрашено по методу Ван Гизон, ув. $\times 100$;

С – в глубоких слоях дермы, гиподермы и мышечного слоя кожи определяется большое количество расширенных кровеносных сосудов со склонностью к кровоизлиянию в окружающую ткань, окрашено гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$

Сравнительная количественная оценка

При анкетировании экспертной комиссии в каждой группе был определен средний балл (таб. 3).

Меньшее количество баллов указывает на более состоятельную гистологическую картину образцов, полученных из групп.

Таблица 3. Результаты балльной оценки микропрепаратов кожи экспертной комиссией ($M \pm m$)

Качественный признак	Количественная оценка (в баллах)			
	Контроль	Бишофит	Актовегин	Контрактубекс
Нарушение цитоархитектоники	1,71 $\pm$ 0,18	1,34 $\pm$ 0,21	1,49 $\pm$ 0,15	1,49 $\pm$ 0,15
Нарушение архитектоники межклеточного матрикса	1,32 $\pm$ 0,21	1,12 $\pm$ 0,09	1,21 $\pm$ 0,10	1,31 $\pm$ 0,11
Кровоизлияния, расширенные сосуды	1,91 $\pm$ 0,19	1,24 $\pm$ 0,11	1,54 $\pm$ 0,16	1,39 $\pm$ 0,15
Нарушение эпителизации	1,72 $\pm$ 0,21	1,52 $\pm$ 0,15	1,51 $\pm$ 0,19	1,79 $\pm$ 0,21
Лейкоцитарная инфильтрация	1,84 $\pm$ 0,23	1,32 $\pm$ 0,31	1,29 $\pm$ 0,12	2,0 $\pm$ 0,21
Средний балл	1,70 $\pm$ 0,20	1,31 $\pm$ 0,21*	1,41 $\pm$ 0,15*	1,60 $\pm$ 0,16

Примечание: меньшее количество баллов указывает на более состоятельную гистологическую картину; * – $p < 0,05$ при сравнении с контролем

Из данных представленных в таблице 3 видно, что менее выраженные морфологические изменения наблюдаются в группах, получавших гель с Бишофитом и гель с Актовегином.

Оценка соотношения коллагена I и III типов в поляризационном микроскопе

При оценке соотношения коллагена I и III типов в тканях раневого дефекта при окраске пикросириусом красным было установлено, что по количеству зрелых коллагеновых волокон исследуемые группы могут быть расположены в следую-

щей последовательности (по убыванию): Бишофит > Актовегин > Контроль > Контрактубекс (таб. 4, рис. 11).

Были обнаружены статистически значимые отличия в группах Бишофит и Контрактубекс. В группе, получавшей Бишофит, относительное содержание коллагена третьего типа ниже, что свидетельствует о более высокой степени организации рубца. В группе, получавшей Контрактубекс, наблюдается повышенное относительное содержание коллагена III типа, что указывает на задержку созревания коллагена и наличие склонности к образованию рубцовой ткани.

Таблица 4. Соотношение коллагена I и III типов в образцах тканей моделированных ран, полученных на 8 сутки после начала эксперимента ($M \pm m$)

Группа	Контроль	Бишофит	Актовегин	Контрактубекс
Соотношение коллагена I типа/ коллаген III типа	0,56±0,012	0,73±0,023*	0,67±0,017	0,38±0,02*

Примечание: * – $p \leq 0,05$ при сравнении с группой контроля

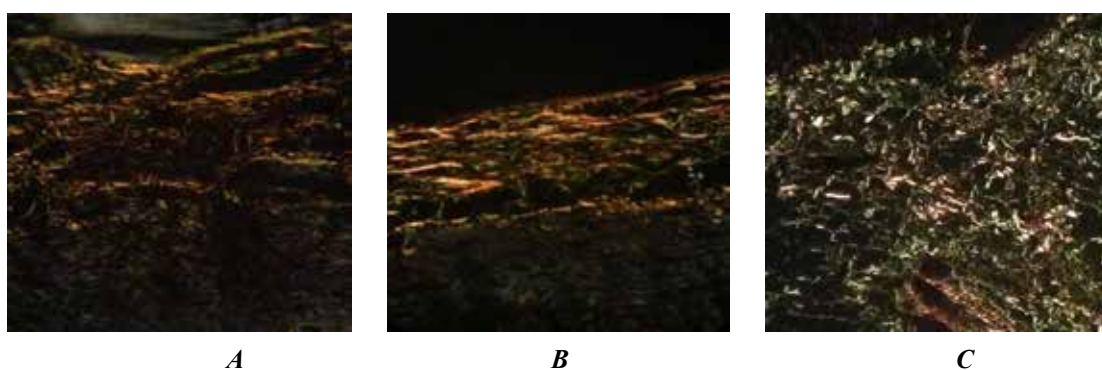


Рисунок 11. Микроскопическая картина кожи в области моделированной раны

Примечание:

поляризационная микроскопия, окраска SiriusRed, ув. $\times 400$;

A – контрольная группа;

B – группа Бишофит;

C – группа Контрактубекс

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что наилучшие результаты репарации раневого эффекта были получены при наружном использовании геля с Бишофитом. Раневой дефект в данной группе характеризовался наибольшей прочностью, эластичностью, хорошей гистологической картиной и меньшей склонностью к образованию рубца, о чем можно судить по низкой концентрации гидроксипролина и коллагена III типа. Менее значимым, но более выраженным репаративным эффектом на данной модели обладает Актовегин. Гель Актовегина продемонстрировал положительное влияние на макро- и микроскопическую картину раневого

дефекта, а также прочность раны и профилактическое воздействие на избыточное образование рубцовой ткани. Менее удовлетворительные результаты были получены при применении Контрактубекса. Не оказав существенного влияния на физико-механические свойства раны, Контрактубекс увеличил содержание ГП и снизил содержание зрелого коллагена. Подобные результаты свидетельствуют о том, что Контрактубекс снизил репаративный потенциал тканей, повысив разрастание грануляционной ткани и замедлив восстановление. Данный вывод подтверждается результатами гистологического исследования и объясним с точки зрения имеющихся сведений о фармакодинамике препарата.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Bogus S., Galenko-Yaroshevsky P., Suzdalev K., Sukoyan G., Abushkevich V., Soldatov V. 2-Phenyl-1-(3-pyrrolidin-1-yl-propyl)-1H-indole hydrochloride (SS-68): antiarrhythmic and cardioprotective activity and its molecular mechanisms of action (Part II) // Research Results in Pharmacology. – 2018. – №4(3). – С. 73–86. DOI: <https://doi.org/10.3897/rpharmacology.4.30329>.
2. Сысуев Б.Б., Иежица И.Н., Лебедева С.А. Изучение токсичности пероральных форм раствора минерала Бишофит // Фундаментальные исследования. – 2013. – №4–3. – С. 680–683.
3. Сысуев Б.Б. Структурно-механические свойства мазевых композиций с минералом Бишофит // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2006. – №4(20). – С. 46–48.
4. Евсеева С.Б., Сысуев Б.Б. Использование природных минеральных солей в современных косметических рецептурах: ассортимент продукции, характеристика сырья и особенности технологии // Фармация и фармакология. – 2016. – Т. 4, №2. – С. 4–25. DOI: [https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2\(15\)-4-25](https://doi.org/10.19163/2307-9266-2016-4-2(15)-4-25).
5. Сысуев Б.Б., Смирнов А.В., Митрофанова И.Ю. Изучение морфологических особенностей процессов репарации кожных ран под влиянием глазных капель Бишофита // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – №5. – Режим доступа: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=4787>.

6. Спасов А.А., Мазанова Л.С., Мотов А.А., Зайченко С.И., Лутошкина И.Н., Оробинская Т.А., Сысуев Б.Б. Влияние мази минерала Бишофит на прочность рубца инфицированных и неинфицированных ран кожи // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т. 72, №4. – С. 43–45. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2009-72-4-43-45>.
7. Спасов А.А., Мазанова Л.С., Мотов А.А., Оробинская Т.А., Сысуев Б.Б. Влияние мази минерала Бишофит на течение контактного аллергического дерматита, вызванного 2,4-динитрохлорбензолом // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. Т. 72. №3. – С. 37–39. DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2009-72-3-37-39>.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Под ред. А.Н. Миронова. – М.: ГрифиК, 2012. – 944 с.
9. Bella J. Collagen structure: new tricks from a very old dog // Biochem J. – 2016. – V. 473, №8. – P. 1001–1025. DOI: <https://doi.org/10.1042/BJ20151169>.
10. Определение гидроксипролина в тканях и оценка содержания в них коллагена / Н. Ю. Игнатьева, Н. А. Данилов, С. В. Аверкиев и др. // Журнал аналитической химии. – 2007. – Т. 62, № 1. – С. 51–57.
11. Lattouf R., Younes R., Lutomski D., Naaman N., Godeau G., Senni K., Changotade S. Picrosirius Red Staining: A Useful Tool to Appraise Collagen Networks in Normal and Pathological Tissues // J HistochemCytochem. – 2014. – V. 62, №10. – P. 751–758. DOI: <https://doi.org/10.1369/0022155414545787>.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы

Степенко Юлия Владимировна – студент 5 курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID – 0000-0002-7414-7326. E-mail: julia.v.stepenko@gmail.com

Солдатов Владислав Олегович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID ID – 0000-0001-9706-0699. E-mail: pharmsoldatov@gmail.com

Затолокина Мария Алексеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии, ФГАОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID – 0000-0002-9553-1597. E-mail: marika1212@mail.ru

Майорова Алена Валентиновна – кандидат фармацевтических наук, заведующий кафедрой эстетической медицины факультета непрерывного медицинского образования, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Минобрнауки России. ORCID ID – 0000-0003-1764-0592. E-mail: 1263220@bsu.edu.ru

Сысуев Борис Борисович – доктор фармацевтических наук, кафедра эстетической медицины факультета непрерывного медицинского образова-

ния, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН) Минобрнауки России. ORCID ID – 0000-0002-9933-1808. E-mail: bsb500@yandex.ru

Демиденко Алексей Николаевич – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии с курсом топографической анатомии и оперативной хирургии, заведующий отделением отоларингологии ОГБУЗ «Городской больницы № 2 г. Белгорода». ORCID ID – 0000-0002-6797-7751. E-mail: Demidenkolor@yandex.ru

Ивахно Елена Николаевна – студент 3 курса Медицинского института, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). E-mail: lana.ivakhno@mail.ru

Сарычева Марина Владиславовна – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID – 0000-0002-0284-275X. E-mail: dr.sarycheva@mail.ru

Покровский Михаил Владимирович – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии, руководитель НИИ Фармакологии живых систем, ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» (НИУ «БелГУ»). ORCID – 0000-0002-2761-6249. E-mail: mpokrovsky@yandex.ru

УДК 547.814.5:544.18



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ (НО·) АКТИВНОСТИ РОДСТВЕННЫХ СТРУКТУР, СОДЕРЖАЩИХ ЦИННАМОИЛЬНЫЙ ФРАГМЕНТ. I. ПРОИЗВОДНЫЕ КОРИЧНОЙ КИСЛОТЫ, ХАЛКОНА И ФЛАВАНОНА

Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин, А.А. Глушко

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России,
357532, Россия, Пятигорск, пр. Калинина, 11

E-mail: edwardov@mail.ru

Поступила в редакцию: 23.12.2018

Принята к печати: 20.02.2019

Изучено 45 соединений, объединяющих 3 группы производных коричной кислоты, халкона и флаванона, каждая из которых включает по 15 веществ. Анализируемые соединения содержат общий структурный фрагмент, представляющий собой остаток коричной кислоты (циннамоильный фрагмент). **Цель работы** – изучение квантово-химических параметров перечисленных групп соединений с целью прогнозирования возможных путей их взаимодействия с наиболее агрессивным и опасным из числа активных форм кислорода (АФК) гидроксильным радикалом. **Материалы и методы.** Для анализируемых структур определены Малликеновские заряды (а.е.), связевые числа (N_{μ}), индекс ненасыщенности (IUA) и величины электронной плотности на всех 9-атомах углерода циннамоильного фрагмента. Расчеты осуществлены на рабочей станции с процессором IntelXeonE5-1620 3,5 ГГц, 20 Гб оперативной памяти, при этом использован полуэмпирический метод PM7 (программа WinMopac 2016). Для расчетов энергий гомолитического расщепления связи O–H использована программа ORCA 4.1. **Результаты.** Анализ величин Малликеновских зарядов (а.е.), связевых чисел (N_{μ}), индексов ненасыщенности (IUA) и электронной плотности позволил выявить ряд закономерностей, на основании которых можно делать выводы о том, что с учетом природы заместителей наиболее вероятными для присоединения в арильном остатке являются положения C-1, C-2, C-3, C-4 и C-5. В пропеноновом фрагменте радикал $HO^{\cdot}$ в первую очередь атакует положение 8, затем 7. Для гидроксизамещенных определена энергия гомолитического разрыва связи H–O и установлено, что у пространственно затрудненных фенолов (соединения 13к, 13х, 13ф, 14к, 14х, 14ф) энергия разрыва связи H–O наименьшая и в среднем составляет – 160,63 кДж/моль. Установлено также, что, чем выше положительный Малликеновский заряд на атоме углерода, с которым связан фенольный гидроксил, тем ниже энергия гомолитического разрыва связи H–O и тем более устойчив образующийся феноксильный радикал. **Заключение.** Проведенные квантово-химические расчеты позволяют сделать вывод о том, что изучаемые классы соединений могут быть использованы для связывания образующегося в организме гидроксильного радикала, вызывающего различного рода мутации, приводящие, в том числе, к развитию онкологических заболеваний. **Ключевые слова:** гидроксильный радикал, производные коричной кислоты, халконы, флаваноны, Малликеновские заряды, связевые числа, индекс ненасыщенности, электронная плотность

Для цитирования: Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин, А.А. Глушко. Использование квантово-химических параметров для прогнозирования антирадикальной (НО·) активности родственных структур, содержащих циннамоильный фрагмент. I. Производные коричной кислоты, халкона и флаванона. *Фармация и фармакология*. 2019;7(1): 53-66. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-53-66

© Э.Т. Оганесян, С.С. Шатохин, А.А. Глушко, 2019

For citation: E.T. Oganessian, S.S. Shatokhin, A.A. Glushko. Using quantum-chemical parameters for predicting anti-radical ($HO^{\cdot}$) activity of related structures containing a cinnamic mold fragment. I. Derivatives of cinnamic acid, chalcon and flavanon. *Pharmacy & Pharmacology*. 2019;7(1):53-66. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-1-53-66

USING QUANTUM-CHEMICAL PARAMETERS FOR PREDICTING ANTI-RADICAL (HO·) ACTIVITY OF RELATED STRUCTURES CONTAINING A CINNAMIC MOLD FRAGMENT.

I. DERIVATIVES OF CINNAMIC ACID, CHALCON AND FLAVANON

E.T. Oganessian, S.S. Shatokhin, A.A. Glushko

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of Volgograd State Medical University,
11, Kalinin Ave., Pyatigorsk, Russia, 357532

E-mail: edwardov@mail.ru

Received: 23.12.2018

Accepted for publication: 20.02.2019

45 compounds uniting 3 groups of derivatives of cinnamic acid, chalcone and flavanone, have been studied. Each of them includes 15 substances. The analyzed compounds contain a common structural fragment, which is a cinnamic acid residue (cinnamoyl fragment). **The aim** is to study the quantum-chemical parameters of the listed groups of the compounds in order to predict possible ways of their interaction with the most aggressive and dangerous of the active oxygen species (ROS) – a hydroxyl radical. **Materials and methods.** For the analyzed structures, the Mulliken charges (a.u.), bond numbers (N_μ), unsaturation index (IUA), and electron density values on all 9-carbon atoms of the cinnamoyl fragment have been determined. The calculations have been carried out on a workstation with an Intel Xeon E5-1620 3.5 GHz processor, 20 GB of RAM. The semi-empirical method PM7 was used (WinMopac 2016 program). The ORCA 4.1 program was used to calculate the energies of homolytic cleavage of the O–H bond. **Results.** The analysis of Mulliken charges (a.u.), bonded numbers (N_μ), unsaturation indices (IUA), and electron density revealed a number of regularities on the basis of which it can be concluded, that taking into account the nature of the substituent, the most probable for addition in the aryl residue are positions C-1, C-2, C-3, C-4 and C-5. In the propenone fragment, the radical HO· first attacks position 8, then 7. For the hydroxy-substituted, the energy of the homolytic breaking of the H–O bond has been determined and it has been established that the spatial difficulty of phenols (compounds 13k, 13x, 13f, 14k, 14x, 14f) H-O bonds are the smallest and on average are -160.63 kJ/mol. It has also been established that the higher the positive Mulliken charge on the carbon atom with which the phenolic hydroxyl is bound, the lower the energy of the homolytic breaking of the H–O bond and the more stable the resulting phenoxy radicalis. **Conclusion.** The carried out quantum chemical calculations allow us to conclude that the studied classes of compounds can be used to bind the hydroxyl radical formed in the body, causing various kinds of mutations, leading, among other things, to the development of oncological diseases.

Keywords: hydroxyl radical, cinnamic acid derivatives, chalcones, flavanones, Mulliken charges, bond numbers, unsaturation index, electron density

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время экспериментальная биохимия и клиническая фармакология накопили обширный материал, свидетельствующий о взаимосвязи процессов свободнорадикального окисления с участием активных форм кислорода (АФК) и многих заболеваний. Известно, что при нарушении механизмов антиоксидантной защиты в организме происходит накопление АФК, из которых наиболее опасным является радикал HO·. Он способен взаимодействовать с азотистыми основаниями ДНК и РНК, что способствует формированию различных видов мутаций [1, 2], а также реагирует с фосфолипидами клеточных мембран, повышая уровень их перекисного окисления. Следствием этого являются реперфузионные повреждения тканей, канцерогенез и другие патологические процессы [2, 3].

При нарушениях равновесных процессов с участием АФК важное значение приобретают природные соединения – производные коричной кислоты, халконы и флаваноны, содержащие общий циннамольный фрагмент, который во флавоноидах является главной цепью сопряжения и по существу, представ-

ляет собой остаток коричной кислоты. Эти три группы соединений взаимосвязаны между собой биогенетическими превращениями [4–6].

Перечисленные представители полифенольных соединений характеризуются широким спектром фармакологической активности, что, вероятно, связано с их высокой антирадикальной активностью.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение квантово-химических характеристик производных коричной кислоты, а также халконов и флаванонов, содержащих заместители в арильном фрагменте главной цепи сопряжения для прогнозирования их возможного взаимодействия с гидроксильным радикалом HO·.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования явились гидроксид- и метоксизамещенные в арильном остатке циннамольного фрагмента производные коричной кислоты, халкона и флаванона, всего 45 соединений. Квантово-химические параметры анализируемых структур рассчитывались на рабочей станции с процессо-

ром IntelXeonE5-1620 3,5 ГГц, 20 Гб оперативной памяти.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из числа активных форм кислорода (АФК) наибольшую опасность представляет гидроксильный радикал $\text{HO}\cdot$, продолжительность жизни которого в биологической среде составляет около 10^{-9} сек.

Одним из путей образования гидроксильного радикала в организме может быть реакция Фентона или окисление Fe^{2+} до Fe^{3+} гипохлорит-анионом, который, в свою очередь, образуется в фагоцитах.

Доказано, что выход гидроксильного радикала $\text{HO}\cdot$ во втором случае выше, чем в реакции Фентона [8].

Этот же радикал может образоваться по реакции Хабер-Вайса [8].

Последствия приведенных реакций с участием двухвалентного железа очевидны: происходит «извлечение» Fe^{2+} - катиона из содержащих его систем и последующее окисление до Fe^{3+} , что само по себе чрезвычайно опасно, ибо это способствует разрушению гема крови и железосодержащих эндогенных веществ.

С другой стороны, гидроксильный радикал, взаимодействуя с аминокислотными фрагментами белков, вызывает денатурацию последних и последующую инактивацию ферментов.

Существует мнение, что радикал $\text{HO}\cdot$ способен избирательно накапливаться вблизи ДНК [9].

Обладая достаточно высокими электрофильными свойствами, он способен не только гидроксильровать

азотистые основания нуклеиновых кислот, но и способствовать последующему разрыву как углеводных мостиков между нуклеотидами, так и водородных связей «переплетенных» полинуклеотидных цепей [2]. Понятно, что далее будут происходить процессы мутаций или повреждение генов.

В липидном слое клеточных мембран радикал $\text{HO}\cdot$ инициирует цепную реакцию окисления липидов по радикальному механизму, что приводит к повреждению и гибели клеток.

Биохимические процессы с участием АФК в физиологической норме контролируются как ферментными, так и неферментными компонентами клеток. При нарушениях равновесных процессов с участием АФК важное значение приобретают природные антиоксиданты, к которым относятся такие полифенольные соединения, как производные коричной кислоты, а также флавоноиды (халконы, флаваноны, флавоны и флавонолы).

Благодаря структурному многообразию, а также совокупности проявляемых фармакологических эффектов, они занимают особое место среди природных антиоксидантов.

Известно, что в биосинтезе флавоноидов коричная кислота принимает непосредственное участие [4]. Сопоставляя между собой структуры коричной кислоты и флавоноидов, легко убедиться, что общим структурным фрагментом для всех соединений является циннамоильный фрагмент, который, по существу, представляет собой остаток коричной кислоты (рис. 1).

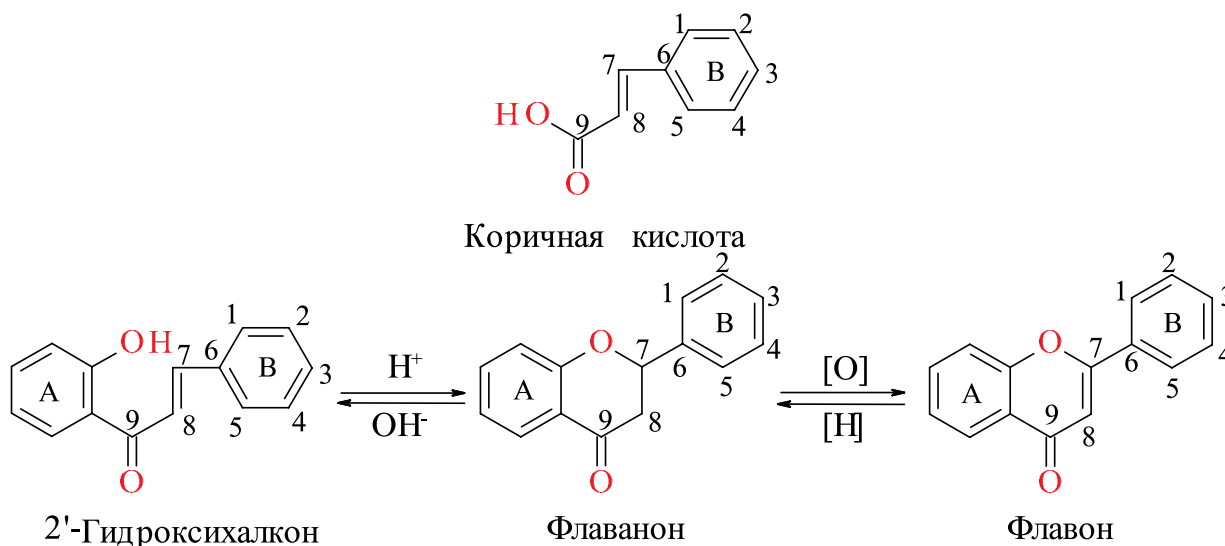


Рисунок 1. Структурные признаки халкона, флаванона и флафона

Необходимо отметить, что при незначительных изменениях pH-среды халконы переходят в флаваноны и наоборот: в кислой среде преобладает флаванон, а в щелочной – халкон. Данное обстоятельство имеет важное значение с точки зрения биологической активности халконов и флаванонов.

Из представленных структур явствует, что благодаря циннамоильному фрагменту формируется главная цепь сопряжения, через которую происходит передача электронных эффектов, оказываемых заместителями в кольце В.

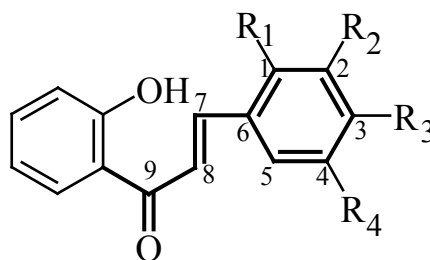
В продолжение более ранних исследований

[10–13], а также с учетом структурной близости коричной кислоты, халконов и флаванонов (наличие циннамоильного фрагмента). Мы сочли целесообразным априори исследовать активность халконов и флаванонов в отношении гидроксильного радикала $\text{HO}\cdot$ с использованием таких квантово-химических параметров, как Маллиkenовские заряды (а.е), свя-

зевые числа (N_μ), теоретическая валентность (V_μ), индекс ненасыщенности (IUA) и электронная плотность.

В таблице 1 представлены анализируемые соединения, которые обозначены соответственно 1к–15к (производные коричной кислоты), 1х–15х (производные халкона), 1ф–15ф (производные флаванона).

Таблица 1. Производные коричной кислоты (к), халкона (х)* и флаванона (ф) с заместителями в ароматическом ядре главной цепи сопряжения



№ п/п			положение заместителей			
к	х*	ф	1	2	3	4
1к	1х	1ф	H	H	H	H
2к	2х	2ф	ОН	H	H	H
3к	3х	3ф	CH_3O	H	H	H
4к	4х	4ф	H	ОН	H	H
5к	5х	5ф	H	CH_3O	H	H
6к	6х	6ф	H	H	ОН	H
7к	7х	7ф	H	H	CH_3O	H
8к	8х	8ф	H	ОН	ОН	H
9к	9х	9ф	H	CH_3O	ОН	H
10к	10х	10ф	H	ОН	CH_3O	H
11к	11х	11ф	H	CH_3O	CH_3O	H
12к	12х	12ф	H	ОН	ОН	ОН
13к	13х	13ф	H	CH_3O	ОН	CH_3O
14к	14х	14ф	H	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$	ОН	$\text{C}(\text{CH}_3)_3$
15к	15х	15ф	H	CH_3O	CH_3O	CH_3O

* Примечание: рассматриваются производные халкона, содержащие OH -группу в орто-положении к карбонилу, поскольку в его отсутствии невозможен переход халкон-флаванон

Ранее нами полуэмпирическими квантово-химическими методами были изучены индексы реакционной способности производных коричной кислоты в отношении гидроксильного радикала [10]. Это позволило выявить наиболее реакционноспособные центры в циннамоильном фрагменте: взаимодействие коричной кислоты с электрофильным по свойствам радикалом $\text{HO}\cdot$ происходит в первую очередь по положению С-8, т.к. этот атом характеризуется наименьшей степенью «насыщенности» (наименьшим связевым числом), наибольшей электронной плотностью и наибольшим отрицательным зарядом по сравнению с его двумя ближайшими атомами. Дальнейшее взаимодействие коричной кислоты с образованием соответствующих аддуктов возможно по положениям С-7, С-6, С-1 и С-5¹.

Учитывая выявленные для коричной кислоты закономерности, мы сочли целесообразным определить наиболее вероятные центры первичной атаки радикалом $\text{HO}\cdot$ халкона и флаванона.

Перечисленные выше квантово-химические характеристики были рассчитаны полуэмпирическим методом PM7 (программа WinMoras 2016) для халконов и флаванонов, содержащих гидрокси- и метоксигруппы в арильном фрагменте главной цепи сопряжения.

В таблицах 2, 3, 4 представлено распределение Маллиkenовских зарядов (а.е), связевых чисел (N_μ), индекса ненасыщенности (IUA) и электронной плотности на атомах углерода циннамоильного фрагмента двух производных коричной кислоты (6к и 7к), халкона (6х и 7х) и флаванона (6ф и 7ф).

¹ Здесь и далее по тексту статьи нумерация атомов в анализируемых структурах приводится не в соответствии с правилами ИУПАК, а согласно с расчетными программами. Для коричной кислоты показана нумерация атомов углерода, генерируемая программами. Чтобы легче и удобно было сравнивать полученные результаты, данная нумерация сохранена авторами для халконов и флаванонов.

Таблица 2. Значения Малликоновских зарядов (а.е.), связевых чисел (N_{μ}), индекса ненасыщенности (IUA) и электронной плотности на атомах углерода циннамольного фрагмента соединений 6к и 7к, 6х и 7х, 6ф и 7ф

1	2		3		4		5		6		7		8
	6к	7к	6к	7к	6к	7к	6к	7к	6к	7к	6к	7к	7к
а.е.	-0.044	-0.043	-0.262	-0.269	0.317	0.217	-0.317	-0.046	-0.134	-0.138	0.002	0.008	-0.316
N_{μ}	3.810	3.813	3.789	3.782	3.774	3.774	3.774	3.811	3.836	3.832	3.866	3.864	3.790
IUA	0.154	0.151	0.167	0.174	0.132	0.149	0.173	0.156	0.148	0.150	0.079	0.080	0.157
эл.пл	4.044	4.043	4.262	4.270	3.683	3.722	4.326	4.046	4.134	4.134	3.997	3.991	4.316
	6х	7х	6х	7х	6х	7х	6х	7х	6х	7х	6х	7х	7х
а.е.	-0.047	-0.046	-0.265	-0.272	0.317	0.277	-0.322	-0.314	-0.134	-0.138	0.009	0.016	-0.337
N_{μ}	3.810	3.814	3.788	3.783	3.773	3.775	3.777	3.809	3.836	3.835	3.851	3.849	3.805
IUA	0.156	0.152	0.169	0.173	0.133	0.148	0.173	0.156	0.147	0.148	0.091	0.091	0.147
эл.пл	4.047	4.046	4.265	4.272	3.683	3.722	4.322	4.044	4.134	3.983	3.990	3.983	4.337
	6ф	7ф	6ф	7ф	6ф	7ф	6ф	7ф	6ф	7ф	6ф	7ф	7ф
а.е.	-0.068	-0.069	-0.248	-0.253	0.306	0.265	-0.316	-0.305	-0.161	-0.162	0.138	0.141	-0.440
N_{μ}	3.826	3.222	3.786	3.780	3.783	3.785	3.777	3.774	3.821	3.819	3.838	3.839	3.820
IUA	0.140	0.139	0.172	0.179	0.126	0.142	0.175	0.139	0.160	0.162	0.064	0.162	0.114
эл.пл	4.068	4.070	4.248	4.253	3.693	3.735	4.316	4.305	4.161	4.162	3.861	3.859	4.441

Таблица 3. Значения Малликовских зарядов (а.е.), связевых чисел (N_р), индекса ненасыщенности (IUA) и электронной плотности на атомах углерода циннамольного фрагмента соединений 8к и 9к, 8х и 9х, 8ф и 9ф

1	2		3		4		5		6		7		8	
	8к	9к	8к	9к	8к	9к	8к	9к	8к	9к	8к	9к	8к	9к
а.е.	-0.105	0.105	-0.216	-0.217	0.229	0.225	0.126	0.094	-0.212	-0.206	-0.066	-0.008	-0.004	-0.303
N _μ	3.803	3.802	3.786	3.788	3.763	3.755	3.761	3.766	3.767	3.762	3.839	3.868	3.867	3.794
IUA	0.168	0.169	0.176	0.174	0.172	0.178	0.172	0.183	0.203	0.207	0.152	0.08	0.08	0.156
эл.пл	4.105	4.105	4.216	4.218	3.770	3.775	3.873	3.905	4.212	4.206	4.066	4.008	4.004	4.306
	8х	9х	8х	9х	8х	9х	8х	9х	8х	9х	8х	9х	8х	9х
а.е.	-0.110	-0.109	-0.218	-0.225	0.228	0.192	0.129	0.141	-0.213	-0.280	0.061	-0.02	0.004	-0.328
N _μ	3.804	3.806	3.788	3.780	3.763	3.760	3.761	3.760	3.766	3.763	3.841	3.854	3.853	3.807
IUA	0.169	0.166	0.175	0.183	0.172	0.189	0.172	0.175	0.203	0.206	0.151	0.090	0.090	0.147
эл.пл	4.110	4.109	4.218	4.225	3.771	3.807	3.870	3.858	4.214	4.220	4.059	4.022	3.996	4.328
	8ф	9ф	8ф	9ф	8ф	9ф	8ф	9ф	8ф	9ф	8ф	9ф	8ф	9ф
а.е.	-0.196	-0.198	0.206	0.165	0.147	0.163	-0.232	-0.242	-0.137	-0.134	-0.073	0.130	0.133	-0.435
N _μ	3.765	3.760	3.777	3.776	3.748	3.746	3.799	3.797	3.815	3.815	3.833	3.840	3.841	3.820
IUA	0.197	0.205	0.162	0.178	0.183	0.187	0.169	0.170	0.156	0.156	0.159	0.064	0.062	0.114
эл.пл	4.196	4.198	3.793	3.835	3.852	3.837	4.232	4.242	4.137	4.134	4.073	3.869	3.866	4.435

Таблица 4. Значения Маллиkenовских зарядов (и.е.), связевых чисел (N_r), индекса ненасыщенности (IUA) и электронной плотности на атомах углерода циннамоилового фрагмента соединений 10к и 13к, 10ф и 13ф и 13ф

	1		2		3		4		5		6		7		8	
	10к	13к	10к	13к	10к	13к	10к	13к	10к	13к	10к	13к	10к	13к	10к	13к
а.е.	-0.105	-0.271	-0.223	0.183	0.193	0.102	0.138	0.146	-0.218	-0.268	-0.063	0.008	-0.002	-0.01	-0.308	-0.298
Nμ	3.806	3.728	3.779	3.776	3.760	3.712	3.760	3.763	3.765	3.738	3.837	3.845	3.866	3.867	3.792	3.797
IUA	0.165	0.228	0.184	0.179	0.189	0.234	0.175	0.186	0.205	0.219	0.154	0.149	0.081	0.08	0.156	0.154
эл.пл	4.105	4.271	4.223	3.817	3.806	3.897	3.861	3.854	4.218	4.268	4.063	3.991	4.002	4.001	4.308	4.298
	10х	13х	10х	13х	10х	13х	10х	13х	10х	13х	10х	13х	10х	13х	10х	13х
а.е.	-0.109	-0.242	-0.220	0.203	0.224	0.057	0.097	0.171	-0.206	-0.290	-0.066	0.023	0.002	-0.025	-0.327	-0.303
Nμ	3.802	3.733	3.788	3.774	3.755	3.699	3.766	3.770	3.761	3.734	3.840	3.852	3.853	3.852	3.807	3.811
IUA	0.170	0.224	0.174	0.176	0.179	0.235	0.183	0.176	0.208	0.217	0.152	0.142	0.09	0.142	0.147	0.150
эл.пл	4.109	4.242	4.220	3.796	3.776	3.943	3.902	3.830	4.206	4.290	4.066	3.976	3.998	3.976	4.327	4.303
	10ф	13ф	10ф	13ф	10ф	13ф	10ф	13ф	10ф	13ф	10ф	13ф	10ф	13ф	10ф	13ф
а.е.	-0.194	-0.265	0.200	0.220	0.114	0.05	-0.224	0.176	-0.140	-0.292	-0.076	-0.004	0.132	0.129	-0.438	-0.430
Nμ	3.766	3.746	3.771	3.771	3.752	3.705	3.795	3.765	3.815	3.745	3.832	3.835	3.841	3.838	3.819	3.818
IUA	0.196	0.205	0.167	0.176	0.196	0.227	0.173	0.180	0.157	0.203	0.159	0.157	0.062	0.063	0.114	0.116
эл.пл	4.194	4.260	3.800	3.779	3.885	3.949	4.224	3.823	4.140	4.293	4.076	4.004	3.867	3.870	4.438	4.430

Характерно, что здесь для атомов С-7 и С-8 наблюдается такая же динамика изменения параметров, какая имела место в коричной кислоте. В анализируемых структурах углеродный атом С-9 характеризуется значительно более низкой электронной плотностью и более высоким положительным Малликовским зарядом, хотя связевое число незначительно (третий знак после запятой) выше по сравнению с таковыми для С-8 и С-7. На атоме С-8 всех трех типов рассматриваемых структур сосредоточены наибольшие отрицательный Малликовский заряд и электронная плотность, а также наименьшие связевые числа по сравнению с двумя ближайшими атомами. Подобные электронные эффекты легко объяснить, если учесть, что по отношению к пропеновому фрагменту электронодонорные гидрокси- и метоксигруппы в положениях 1 и 3 (орто-

и пара- положения по отношению к пропеновому звену) способствуют усилению полярного сопряжения и, следовательно, увеличению Малликовского заряда и электронной плотности на С-8 (соединения 2, 3, 6, 7) по сравнению с родоначальной структурой каждой группы анализируемых соединений.

Если гидрокси- и метоксигруппы находятся в положении 2 арильного фрагмента (соединения 4 и 5), то электронная плотность и Малликовский заряд убывают, однако эти же параметры возрастают на атомах С-1, С-3 и С-5, то есть в двух орто- (С-1 и С-3) и пара-положениях (С-5) (таблица 5). Эта зависимость повторяется у всех трех типов рассматриваемых структур – 4к, 4х, 4ф и 5к, 5х и 5ф. Подобные электронные эффекты хорошо согласуются с вкладом констант Тафта [14].

Таблица 5. Значения Малликовских зарядов (а.е.), электронной плотности и связевых чисел (N_μ), на атомах углерода в о- и п- положениях по отношению к заместителю у производных коричной кислоты, халкона и флаванона под номерами 2, 3 и 4

незамещенная коричная кислота				незамещенный халкон			незамещенный флаванон		
Cv	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ
1	-0.118	4.1180	3.812	-0.122	4.122	3.813	-0.141	4.141	3.827
2	-0.159	4.1590	3.852	-0.161	4.162	3.852	-0.145	4.145	3.849
3	-0.125	4.1249	3.836	-0.121	4.126	3.837	-0.135	4.135	3.845
4	-0.159	4.1595	3.854	-0.156	4.156	3.854	-0.151	4.151	3.852
5	-0.126	4.1260	3.816	-0.128	4.128	3.814	-0.132	4.133	3.829
6	-0.054	4.0540	3.858	-0.053	4.054	3.856	-0.081	4.081	3.840
7	-0.020	4.0200	3.869	-0.013	4.013	3.855	0.122	3.877	3.840
8	-0.298	4.9810	3.798	-0.319	4.319	3.814	-0.440	4.440	3.819

2к				2х			2ф		
Cv	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ
8	-0.288	4.288	3.798	-0.364	4.364	3.763	-0.446	4.442	3.812
2	-0.234	4.047	3.852	-0.268	4.268	3.787	-0.229	4.229	3.803
4	-0.149	4.062	3.854	-0.238	4.238	3.842	-0.197	4.197	3.844
1	-0.046	4.322	3.832	0.342	3.658	3.747	0.284	3.715	3.777

3к				3х			3ф		
Cv	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ
8	-0.301	4.301	3.781	-0.368	4.368	3.785	-0.439	4.439	3.819
2	-0.238	4.050	3.838	-0.270	4.270	3.780	-0.309	4.310	3.773
4	-0.161	4.060	3.783	-0.235	4.235	3.842	-0.227	4.228	3.834
1	-0.050	4.314	3.833	0.309	3.690	3.740	0.269	3.730	3.777

4к				4х			4ф		
Cv	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ
8	-0.283	4.283	3.804	-0.299	4.299	3.819	-0.437	4.437	3.818
1	-0.290	4.290	3.740	-0.230	4.230	3.750	-0.240	4.240	3.747
3	-0.228	4.228	3.779	-0.296	4.296	3.769	-0.303	4.303	3.774
5	-0.205	4.205	3.800	-0.210	4.210	3.803	-0.223	4.223	3.813

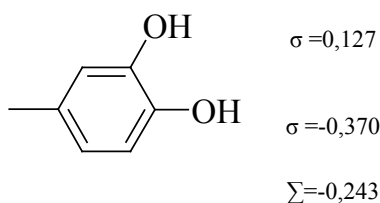
5к				5х			5ф		
Cv	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ	а.е	эл.пл	N _μ
8	-0.290	4.290	3.802	-0.303	4.303	3.819	-0.436	4.436	3.818
1	-0.278	4.278	3.737	-0.234	4.234	3.743	-0.252	4.252	3.757
3	-0.233	4.233	3.773	-0.285	4.285	3.766	-0.293	4.293	3.770
5	-0.204	4.204	3.798	-0.210	4.210	3.803	-0.215	4.210	3.814

* Примечание. К – коричная кислота, х – халкон, ф – флаванон

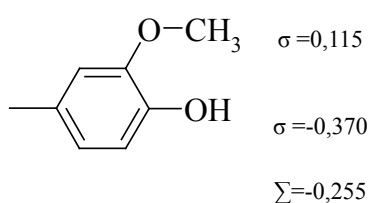
Таким образом, первичная атака электрофильным гидроксильным радикалом будет проходить в первую очередь по положению С-8, а затем по положению С-7.

Подобный вывод справедлив и для рассматриваемых типов анализируемых соединений, что было показано нами ранее [11, 12].

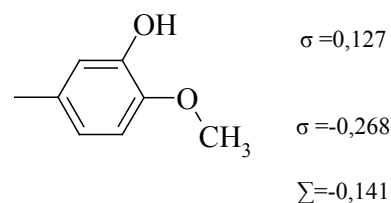
Используя аналогичный подход для интерпретации возможных путей атаки НО-радикалом монозамещенных производных (соединения 2к, 2х, 2ф – 7к, 7х, 7ф) с учетом квантово-химических параметров можно предположить, что наиболее вероятными являются С-2 и С-4 положения для соединений 2 и 3, поскольку они характеризуются наибольшими значениями IUA. Если заместитель находится в положении 2, то атака, вероятно, произойдет по С-1, С-3 или С-5 фенильного фрагмента всех трех типов рассматриваемых структур в связи с высокими значениями IUA. Для соединений типов



Соединения 8к, 8х, 8ф



Соединения 9к, 9х, 9ф



Соединения 10к, 10х, 10ф

При интерпретации антирадикальной (НО·) активности полигидроксипроизводных коричной кислоты, халкона и флаванона следует учитывать их способность к связыванию активных форм кислорода не только при участии углеродных атомов арильного радикала, но и благодаря гомолитическому разрыву связи Н-О фенольной гидроксигруппы с образованием промежуточного аддукта – феноксильного радикала.

Ранее при анализе антирадикальной активности полигидроксиалконов нами были рассчитаны энергии гомолитического разрыва связей Н-О в моногидрокси соединениях, в которых гидроксигруппа расположена у С-3 или С-4, а также для дизамещенных, что показано ниже.

В продолжение этих исследований методом *ab initio* нами были рассчитаны энергии гомолитического разрыва связи Н-О с переходом атома водорода на гидроксильный радикал в дизамещенных по арильному остатку циннамоильного фрагмента. Выявлена взаимосвязь между энергией разрыва связи Н-О, индексом ненасыщенности (IUA) атома углерода, с которым связан заместитель. Для этого была исполь-

6 и 7 атака гидроксильного радикала равновероятна по положениям С-2 и С-4 по тем же причинам, о чем говорилось выше (таблицы 2, 3, 4, 5).

В случае дизамещенных по арильному фрагменту динамика изменения Малликовских зарядов, индекса ненасыщенности и электронной плотности в соединениях 8, 9 и 10 всех трех типов рассматриваемых структур практически совпадают между собой и фактически привносят одинаковый электронный вклад на С-8 пропенового звена.

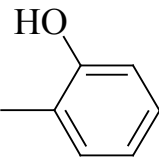
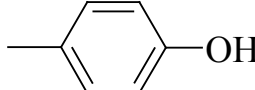
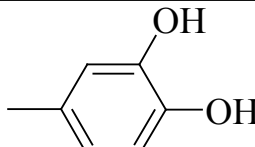
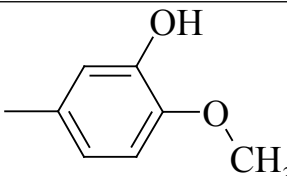
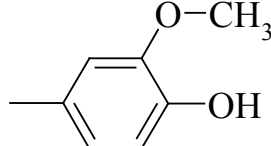
Следует подчеркнуть, что две гидроксильные или гидроксильные и метоксигруппы в положениях 2 и 3 арильного фрагмента оказывают конкурирующее влияние на систему сопряжения: эффект пара-заместителя частично гасится несовпадающим влиянием такого же заместителя в положении 2. Данный вывод можно проиллюстрировать при помощи σ -констант Тафта для –ОН и –ОСН₃ групп [14]:

зована программа ORCA 4.1. Оптимизация геометрии молекул производилась методом теории функционала плотности (UB3LYP) с применением набора базисных функций 3-21G*. Колебательный анализ, а также расчет термодинамических функций (энтальпия, энтропия и энергия Гиббса) производились при помощи теории функционала плотности (UB3LYP) с использованием набора базисных функций 6-311G** [18]. Установлено, что энергия разрыва связи тем ниже, чем выше значение IUA (таблица 6).

Из представленных данных прослеживается четкая зависимость: чем больше величина индекса ненасыщенности (IUA) арильного углеродного атома, с которым связана гидроксигруппа, тем ниже энергия гомолитического разрыва связи Н-О. Аналогичная зависимость существует и для связевых чисел (таблица 3).

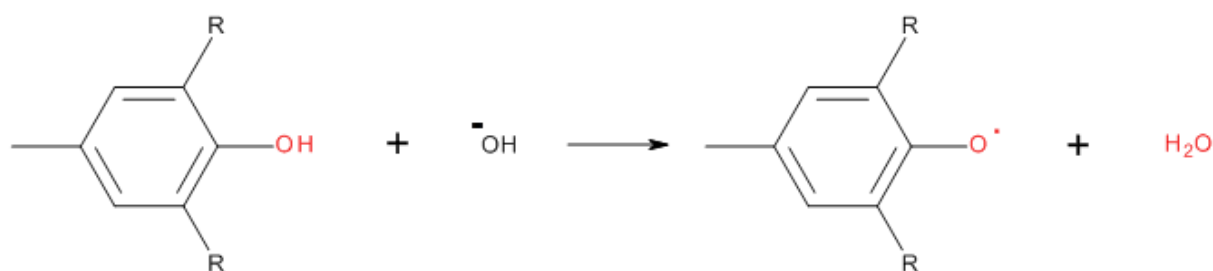
В перечне соединений, подвергнутых квантово-химическому изучению, нами рассмотрены три типа соединений, содержащих в положениях 2, 3, 4 арильного фрагмента три заместителя и обозначенных номерами 12, 13 и 14.

Таблица 6. Свободная энергия Гиббса гомолитического расщепления связи Н–О

Структурный фрагмент	Энергия разрыва связи О–Н	IUA (C-1)	IUA (C-2)	IUA (C-3)
	-150,30	0,135 (2к)	-	-
		0,152 (2х)	-	-
		0,145 (2ф)	-	-
	-137,70	-	-	0,132 (6к)
		-	-	0,133 (6х)
		-	-	0,126 (6ф)
	-173,89	-	0,175 (8к)	0,172 (8к)
		-	0,173 (8х)	0,172 (8х)
		-	0,162 (8ф)	0,183 (8ф)
	-130,01	-	0,184 (10к)	0,189 (10к)
		-	0,174 (10х)	0,179 (10х)
		-	0,167 (10ф)	0,196 (10ф)
	-174,26	-	0,174 (9к)	0,178 (9к)
		-	0,183 (9х)	0,189 (9х)
		-	0,178 (9ф)	0,187 (9ф)

Для этих соединений рассчитаны энергии гомолитического разрыва связи О–Н с образованием соответствующего фенокисильного радикала в положении

С-3 и присоединением атома водорода к гидроксильному радикалу, что, по нашему мнению, можно представить схемой.



Данная реакция была смоделирована методом молекулярной динамики в силовом поле 3-21G* с применением метода теории функционала плотности (UB3LYP) в течение 50 пс. В процессе моделирования гидроксильный радикал атакует фенольную гидроксильную группу, связываясь атомом водорода с ее кислородом. Далее в процессе колебаний феноль-

ной гидроксильной группы происходит ковалентное связывание атома водорода фенольного гидроксила с атомом кислорода гидроксильного радикала. После этого образуется свободная молекула воды и фенольный радикал. На рисунке 2 приведен график зависимости потенциальной энергии моделируемой системы от времени.

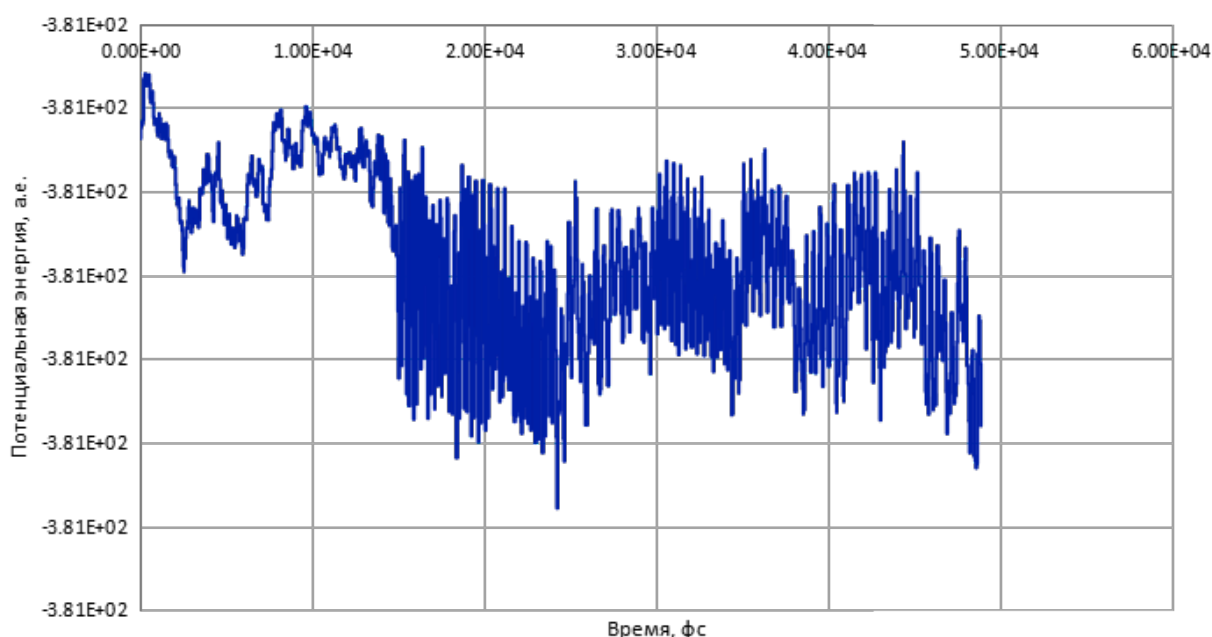


Рисунок 2. Динамика изменения потенциальной энергии в процессе моделирования гомолитического расщепления O-H связи фенольного гидроксила

По результатам моделирования молекулярной динамики была определена энергия активации моделируемой реакции гомолитического расщепления фенольного гидроксила с переходом атома водорода на гидроксильный радикал. Энергия активации составила 34,918 кДж/моль, что свидетельствует о достаточно быстром протекании данной реакции при температуре тела человека (310 K).

Следует отметить, что данный фенольный гидроксил находится в окружении двух орто-заместителей, которые оказывают экранирующий эффект. Образующийся за счет гидроксила C-3 феноксильный радикал в структурах 12, 13 и 14 относится к пространственно затрудненным типам радикалов и поэтому более устойчив.

Таблица 7. Свободная энергия Гиббса гомолитического расщепления связи H-O

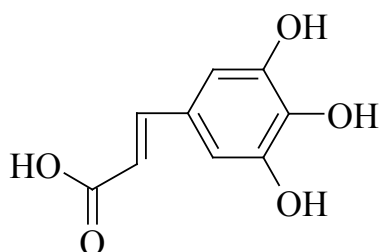
Вещество	Структурный фрагмент	Энергия разрыва связи O-H
12х		-171,21
12к		-170,72
12ф		-166,79
13х		-164,66
13к		-117,04
13ф		-159,40
14х		-178,31
14к		-181,29
14ф		-163,08

Здесь наблюдается такая же зависимость, что и в случае дизамещенных, а именно энергия гомолитического разрыва связи Н–О в стерически затрудненных фенолах тем ниже, чем выше величины IUA и положительного заряда атома углерода, с которым связан фенольный гидроксил (в данном случае С-3). Следует отметить, что соединение 14к (4-гидрокси-3,5-ди-трет-бутилкоричная кислота) ранее нами было синтезировано в соответствии с прогнозом [11], поскольку для этого вещества прогнозировалась высокая активность. Экспериментальное изучение фармакологических свойств подтвердило наш прогноз: вещество характеризуется церебропротекторной [17], антиоксидантной [18], эндотелиопротекторной [19] и актопротекторной [20] активностью.

Можно с высокой долей вероятности прогнозировать такой же уровень активностей для соединений

14х и 14ф, поскольку их квантово-химические характеристики практически идентичны с соединением 14к.

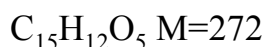
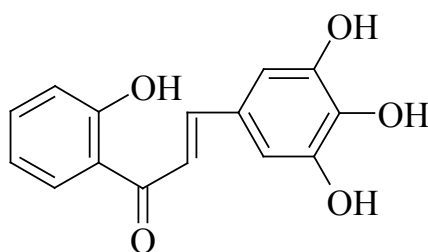
Применительно к анализу структур всех трех типов мы сочли целесообразным учитывать молярную массу при характеристике связевых чисел (N_μ), индекса ненасыщенности (IUA) и электронной плотности. С этой целью для каждого соединения была определена суммарная величина перечисленных характеристик, которая далее была отнесена к молярной массе. Частное от деления суммарных величин N_μ , IUA и электронной плотности на молярную массу, по нашему мнению, характеризует удельную величину перечисленных параметров в пересчете на единицу массы молекулы. На наш взгляд, подобный показатель в дальнейшем может оказаться полезным для интерпретации биологически активных родственных соединений. Полученные результаты представлены ниже:



$$\frac{\sum N_\mu}{M} = \frac{33.99}{196} = 0.1734$$

$$\frac{\sum IUA}{M} = \frac{1.41}{196} = 0.0072$$

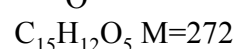
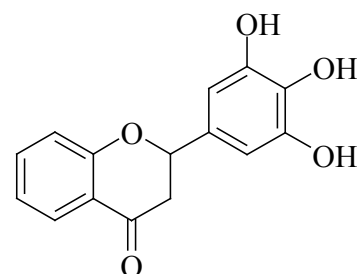
$$\frac{\sum_{эл.пл}}{M} = \frac{35.685}{196} = 0.1820$$



$$\frac{\sum N_\mu}{M} = \frac{34.04}{272} = 0.1251$$

$$\frac{\sum IUA}{M} = \frac{1.41}{272} = 0.0051$$

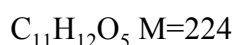
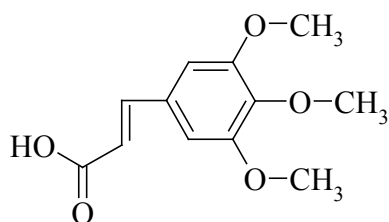
$$\frac{\sum_{эл.пл}}{M} = \frac{35.874}{272} = 0.1319$$



$$\frac{\sum N_\mu}{M} = \frac{34}{272} = 0.1259$$

$$\frac{\sum IUA}{M} = \frac{1.42}{272} = 0.0052$$

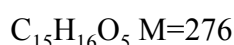
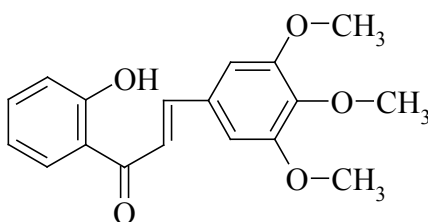
$$\frac{\sum_{эл.пл}}{M} = \frac{35.205}{272} = 0.1294$$



$$\frac{\sum N_\mu}{M} = \frac{33.94}{224} = 0.1515$$

$$\frac{\sum IUA}{M} = \frac{1.49}{224} = 0.0066$$

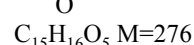
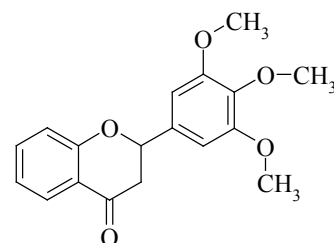
$$\frac{\sum_{эл.пл}}{M} = \frac{35.798}{224} = 0.1598$$



$$\frac{\sum N_\mu}{M} = \frac{34}{276} = 0.1231$$

$$\frac{\sum IUA}{M} = \frac{1.49}{276} = 0.0054$$

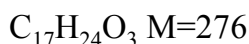
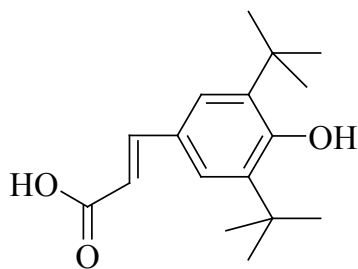
$$\frac{\sum_{эл.пл}}{M} = \frac{35.974}{276} = 0.1303$$



$$\frac{\sum N_\mu}{M} = \frac{33.95}{276} = 0.1230$$

$$\frac{\sum IUA}{M} = \frac{1.51}{276} = 0.0054$$

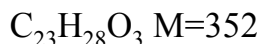
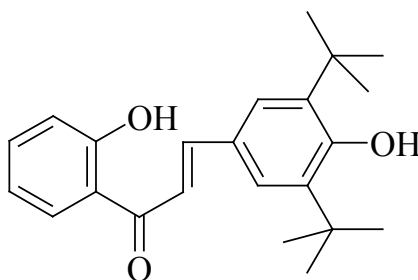
$$\frac{\sum_{эл.пл}}{M} = \frac{35.906}{276} = 0.1301$$



$$\frac{\Sigma_{N_\mu}}{M} = \frac{34.12}{276} = 0.1236$$

$$\frac{\Sigma_{IUA}}{M} = \frac{1.32}{276} = 0.0047$$

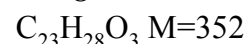
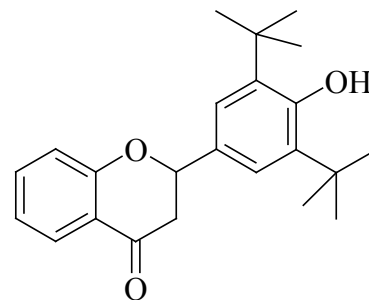
$$\frac{\Sigma_{эл.пл}}{M} = \frac{35.974}{276} = 0.1303$$



$$\frac{\Sigma_{N_\mu}}{M} = \frac{34.24}{352} = 0.0972$$

$$\frac{\Sigma_{IUA}}{M} = \frac{1.31}{352} = 0.0037$$

$$\frac{\Sigma_{эл.пл}}{M} = \frac{36.204}{352} = 0.1028$$



$$\frac{\Sigma_{N_\mu}}{M} = \frac{34.13}{352} = 0.0970$$

$$\frac{\Sigma_{IUA}}{M} = \frac{1.36}{352} = 0.0386$$

$$\frac{\Sigma_{эл.пл}}{M} = \frac{36.116}{352} = 0.1026$$

Обращают на себя внимание очень близкие значения удельных показателей связевых чисел, индексов ненасыщенности и электронной плотности для халкона и флаванона, что еще раз подтверждает не только легкость их взаимопревращения, но и, по-видимому, одинаковый уровень фармакологических свойств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Коричная кислота отличается от халкона и флаванона отсутствием в ее молекуле арильного остат-

ка, непосредственно связанного с карбоксильным углеродом, отсюда и некоторые различия в значениях квантово-химических характеристик. Но так или иначе, все три типа соединений могут с успехом использоваться для связывания гидроксильного радикала с целью предотвращения тех пагубных последствий, которые способен вызвать гидроксильный радикал, являющийся, по образному выражению Владимиров Ю.А., радикалом-разрушителем, радикалом-убийцей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Афанасьев И.Б. Кислородные радикалы в биологических процессах // Химико-фармацевтический журнал. – 1958. – Т. 19, №1. – С. 11–23.
- Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, №12. – С. 13–19.
- Владимиров Ю.А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.
- Минаева В.Т. Флавоноиды в онтогенезе растений и их практическое использование. – М.: Наука, 1978. – 256 с.
- Geissman T.A. The chemistry of flavonoid compounds. – New York: Pergamon Press, Oxford, 1962. – P. 666.
- Plant flavonoids in biology and medicine. Biochemical, pharmacological, and structure-activity relationships. Proceedings of a symposium. Buffalo, New York, July 22–26, 1985 // Prog Clin Biol Res. – 1986. – №213. – P. 1–592.
- Осипов А.Н., Якутова Э.Ш., Владимиров Ю.А. Образование гидроксильных радикалов при взаимодействии гипохлорита с ионами железа // Биофизика. – 1993. – Т. 38, №3. – С. 390–396.
- Koppenol W.H. The Haber-Weiss cycle – 70 years later // Redox Rep. – 2001. – Vol. 6, №4. – P. 229–234. DOI: 10.1179/135100001101536373.
- Pryor W.A. Why is the hydroxyl radical the only radical that commonly adds to DNA? Hypothesis: it has a rare combination of high electrophilicity, high thermochemical reactivity, and a mode of production that can occur near DNA // Free Radic Biol Med. – 1988. – Vol. 4, №4. – P. 219–223.
- Агаджанян В.С., Оганесян Э.Т. Применение квантово-химических методов анализа для интерпретации антирадикальной активности в ряду гидроксипроизводных коричной кислоты // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – Т. 42, №11. – С. 12–17. DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2008-42-11-12-17>.
- Агаджанян В.С., Оганесян Э.Т., Абаев В.Т. Целенаправленный поиск соединения-лидера в ряду производных коричной кислоты, обладающих антирадикальной активностью // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – Т. 44, №7. – С. 21–26. DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2010-44-7-21-26>.
- Оганесян Э.Т., Мальцев Ю.А., Творовский Д.Е. Исследование механизма реакции произво-

- дных флавоноидов с гидроксильным радикалом полупирическими методами // Журнал общей химии. – 2001. – Т. 71, №6. – С.999-1005. DOI: 10.1023/A:1012395821594.
13. Оганесян Э.Т., Доркина Е.Г., Хочава М.Р., Тускаев В.А., Мальцев Ю.А. Использование квантово-химических методов для обоснования антирадикального (НО·) действия полигидроксиалконов // Химико-фармацевтический журнал. – 2002. – Т. 36, №12. – С. 21–25.
14. Справочник химика. М.: Химия. – 1964. – Т. 3. – 1005 с.
15. Bykov D., Petrenko T., Izsák R., Kossmann S., Becker U., Valeev E., Neese F. Efficient implementation of the analytic second derivatives of Hartree–Fock and hybrid DFT energies: a detailed analysis of different approximations // Molecular Physics. – 2015. – Vol. 113, №13–14. – P. 1961–77. DOI: 10.1080/00268976.2015.1025114.
16. Минкин В.И., Симкин Б.Я., Миняев Р.М. Теория строения молекул. – Ростов-на-Дону, 1997. – 560 с.
17. Воронков А.В., Оганесян Э.Т., Поздняков Д.И., Абаев В.Т. Некоторые аспекты церебропротекторной активности 4-гидрокси-3,5-дитретбутилкоричной кислоты при ишемическом повреждении головного мозга в эксперименте // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т. 13, №1.1. – С. 90–93. DOI: <https://doi.org/10.14300/mnnc.2018.13025>.
18. Воронков А.В., Поздняков Д.И., Хури Е.И., Кульбекова Ю.Е., Кобин А.А. Оценка антиоксидантной активности 4-гидрокси-3,5-дитретбутилкоричной кислоты, мексидола и тиоктовой кислоты на модели фокальной ишемии головного мозга // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2017. – Т. 60, №2. – С. 48–52.
19. Воронков А.В., Оганесян Э.Т., Поздняков Д.И., Абаев В.Т. Изучение дозозависимого эндотелиотропного влияния соединения АТАСЛ в условиях ишемического повреждения головного мозга у крыс в эксперименте // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2017. – №1(61). – С. 54–58.
20. Воронков А.В., Оганесян Э.Т., Геращенко А.Д. Аспекты актопротекторной активности некоторых природных соединений различной химической структуры // Спортивная медицина: наука и практика. – 2017. – Т. 7, №1. – С. 92–96. DOI: 10.17238/ISSN2223-2524.2017.1.92.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторы

Оганесян Эдуард Тоникович – доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой органической химии, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: химия природных соединений и их синтетических аналогов; исследование промышленных отходов пищевого и фармацевтического производства как дополнительного источника получения лечебно-профилактических средств, медицинская химия. E-mail: edwardov@mail.ru

Шатохин Станислав Сергеевич – аспирант, кафедра органической химии, Пятигорский

медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ МЗ РФ. Область научных интересов: синтез и изучение новых биологически активных производных хромона. E-mail: Shatohin.stanislav95@yandex.ru

Глушко Александр Алексеевич – кандидат фармацевтических наук, преподаватель, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России. Область научных интересов: компьютерная химия, разработка программного обеспечения для молекулярного моделирования, молекулярный докинг, молекулярная динамика, QSAR. E-mail: alexander.glushko@lcmmp.ru

