

УДК 577.126:57.042

А. Л. Загайко, О. А. Красильникова, А. Б. Кравченко, С. В. Заика, Э. Л. Торяник

Национальный фармацевтический университет

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ КОНЦЕНТРАТА ПОЛИФЕНОЛОВ ИЗ СЕМЯН ВИНОГРАДА

Развитие сахарного диабета (СД) негативно сказывается на состоянии печени, нарушая обмен белков, аминокислот, жиров и других веществ в гепатоцитах, что, в свою очередь, предрасполагает к развитию хронических заболеваний печени. Целью работы было изучение липотропной, антиоксидантной активности концентрата полифенолов из семян винограда, а также их влияние на состояние печени на модели СД1 и СД2. Концентрат полифенолов из виноградных семян проявил антиоксидантную, липотропную и гепатопротекторную активность на обох экспериментальных моделях. Однако более выраженное липотропное действие было показано на модели СД2.

Ключевые слова: полифенолы, сахарный диабет, фосфолипиды, триацилглицерины, холестерин, печень.

UDC 577.126:57.042

A. L. Zagayko, O. A. Krasilnikova, A. B. Kravchenko, S. V. Zaika, E. L. Toryanik

National Univercity of Pharmacy

RESEARCH OF THE LIPOTROPIC ACTIVITY OF GRAPE SEEDS POLYPHENOLIC CONCENTRATE

The development of diabetes mellitus (DM) have a negative impact on the liver, disrupting the metabolism of proteins, amino acids, fats and other substances in the hepatocytes, which in turn predisposes to the development of chronic liver disease. The aim of the study was the research of lipotropic and antioxidant activity of polyphenol concentrate from grape seeds, as well as their effects on the liver on the model DM1 and DM2. The concentrate of polyphenols from grape seeds showed antioxidant, lipotropic and hepatoprotective activity in both experimental models. However, a more pronounced lipotropic effect was shown on the model of DM2.

Key words: polyphenols, diabetes mellitus, phospholipids, triacylglycerols, cholesterol, liver.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельникова, 12,
кафедра біологічної хімії
тел.: 057-706-30-99

Надійшла до редакції:

24.06.2013 р.

УДК 547.455.623’233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

І. А. Зупанець, К. В. Ветрова, Т. С. Сахарова, Е. Л. Торянік

Національний фармацевтичний університет

МОЖЛИВОСТІ КОРЕКЦІЇ ТОКСИЧНИХ ЕФЕКТІВ ПРОТИПУХЛИННОГО АНТИБІОТИКА ДОКСОРУБІЦИНА ПОХІДНИМИ ГЛЮКОЗАМІНУ ТА ЇХ КОМБІНАЦІЯМИ

У експерименті на мишах досліджена ефективність похідних глюкозаміну та їх комбінацій при доксорубіциновій інтоксикації. Встановлено, що на тлі лікувального застосування досліджувані сполуки суттєво зменшують прояви загальнотоксичної дії доксорубіцина, подовжують тривалість життя у лабораторних тварин при моделюванні патології та підвищують їх виживаність. Обрані найбільш ефективні об’єкти — глюкозаміна гідрохлорид (в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг) і комбінація глюкозаміна гідрохлориду, N-ацетилглюкозаміну з кверцетином (у дозі 82 мг/кг) — як перспективні коректори токсичних ефектів антрациклінових протипухлинних антибіотиків.

Ключові слова: доксорубіцин, цитотоксичність, глюкозамін, кверцетин, похідні глюкозаміну, цитопротекторна дія

ВСТУП

Онкологічні захворювання входять у число найбільш поширених причин смерті: рак займає друге місце після серцево-судинних захворювань у структурі смертності населення України [1]. Незважаючи на досягнутий прогрес у лікуванні онкологічних захворювань за допомогою сучасних протипухлинних препаратів, більшість з них мають високу системну токсичність та відсутність селективності у відношенні до пухлинних тканин. Одночасно з гнітючим впливом на пухлину, вони діють на здорові тканини і системи організму, що обумовлює їх побічні ефекти. Більшість летальних результатів у онкологічних хворих відбувається не через саму хворобу, а внаслідок побічних ефектів протипухлинних препаратів [2, 3]. Основним шляхом вирішення цієї проблеми є пошук препаратів, що нівелюють та упереджують побічну токсичну дію протипухлинних препаратів [2]. Одними з перспективних превентивних засобів при проведенні протипухлинної терапії вважається аміноцукор глюкозамін та його похідні. Глюкозамін не лише є природним метаболітом організму людини, але й володіє широким спектром фармакологічної активності та потужними органопротекторними властивостями, серед яких гепатопротекторна, кардіопротекторна, нефропротекторна, гастропротекторна тощо [4].

З огляду на наведене метою даної роботи стало вивчення ефективності використання похід-

них глюкозаміну та їх комбінацій для корекції токсичних ефектів протипухлинного антибіотика доксорубіцина в дослідях «in vivo».

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти з вивчення модулюючого впливу похідних глюкозаміну на перебіг доксорубіцинової інтоксикації в умовах «in vivo» проведені на 100 статевозрілих мишах-самцях масою 18–20 г. Модель відтворювали шляхом внутрішньочеревинного введення доксорубіцина гідрохлориду («Доксорубіцин-КМП») в дозі 20 мг/кг одноразово [5, 6]. Тварини були розділені на 7 досліджуваних груп: 1 група — інтактна, 2 група — група контрольної патології, яка одержувала тільки доксорубіцин (ДОКС), 3–6 — дослідні групи тварин, які щодня отримували на фоні ін’єкції доксорубіцина похідні глюкозаміну відповідно: глюкозаміну гідрохлорид (ГА г/х) в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг, глюкозаміну сульфат (ГА сульфат) в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг, N-ацетилглюкозамін (N-ацГА) в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг та комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (у співвідношенні 3:1 в перерахунку на ГА г/х) в дозі 82 мг/кг, а 7 група тварин отримувала препарат порівняння кверцетин в дозі 10 мг/кг щодня на тлі ін’єкції доксорубіцина. Показниками оцінки ефективності препаратів були загальний стан, виживаність (%), тривалість життя (дні) тварин та вагові коефіцієнти серця, легенів і печінки (%).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані нами результати у дослідях «in vivo» повністю узгоджені з відомими даними літератури стосовно вираженого токсичного впливу доксорубіцина на організм дослідних тварин [3]. У групі контрольної патології загибель мишей реєструвалась з 2-ої доби експерименту, а на 6 добу досягла 100% (рис. 1). Перед загибеллю у тварин відзначалось суттєве погіршення загального стану — зниження рухової активності, неохайний вигляд, відсутність апетиту, вздуття черева. На 6 добу експерименту в дослідних групах залишалась така кількість тварин: в групі ГА г/х — 7 (46,67%), в групі ГА сульфата — 4 (26,67%), в групі N-ацГА — 5 (33,34%), в групі комбінації ГА г/х, N-ацГА з кверцетином — 8 (53,34%), в групі кверцетину — 2 (13,34%) (рис. 1).

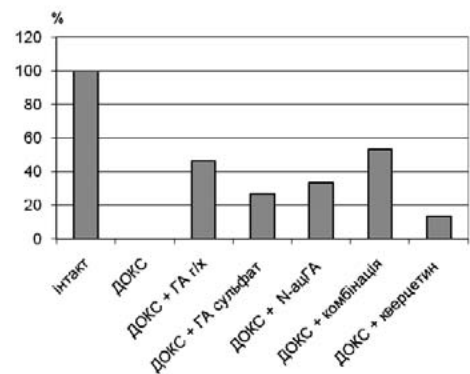


Рис. 1. Виживаність тварин у дослідних групах на 6 день експерименту

Досліджувані препарати чинили різний за вираженістю вплив на показники загального стану тварин. У групі тварин, які отримували кверцетин, максимальна смертність (70%) припала на 5 добу експерименту, а на 8 добу всі тварини загинули (табл.1). У групах, які отримували ГА сульфат та N-ацГА, тварини були малорухливі, та, на відміну від контрольної групи, не втрачали потягу до їжі та питва. Максимальна смертність в обох вищезазначених групах спостерігалася на 9 добу експерименту (73,3% у групі, яка отримувала ГА сульфат та 60% у групі, яка отримувала N-ацГА). До кінця експерименту в групі тварин, які отримували ГА сульфат, залишилися живими 2 миші (13,34%), а в групі N-ацГА — 3 (20%). У групах, які отримували ГА г/х і комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином, не спостерігалось різких (максимальних) піків смертності, як в інших групах, та виражених ознак інтоксикації. Тварини були досить активні та мали добрий апетит. У групі, яка отримувала ГА г/х, до кінця експерименту живими залишилися 5 мишей (33,34%), а в групі, яка отримувала комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином — 6 мишей (40%) (табл.1). Тварини всіх дослідних груп, які вижили на кінець експерименту, не втрачали бажання до їжі та питва, не відрізнялися за зовнішнім виглядом, поведінкою від тварин інтактної групи.

Таблиця 1

Умови експерименту	Вихідна кількість тварин	Тривалість життя тварин, що вижили, доби	Виживаність на 21 день досліду, %
Інтактна група	10	21	100
ДОКС (20 мг/кг)	15	6	0
ДОКС (20 мг/кг) + ГА г/х (50 мг/кг)	15	21	33,34
ДОКС (20 мг/кг) + ГА сульфат (50 мг/кг)	15	21	13,34
ДОКС (20 мг/кг) + N-ацГА (50 мг/кг)	15	21	20
ДОКС (20 мг/кг) + комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (82 мг/кг)	15	21	40
ДОКС (20 мг/кг) + кверцетин (10 мг/кг)	15	8	0

При розтині загиблих тварин групи контрольної патології під час макроскопічного дослідження спостерігали ознаки запалення та інфільтрації органів грудної клітки та очеревини. Показники вагових коефіцієнтів внутрішніх органів були вірогідно вищими відносно інтактної групи: ваго-

вий коефіцієнт серця в 1,34, легенів — в 1,36 та печінки — в 1,82 раза (табл.2). Введення на тлі доксорубіцина досліджуваних препаратів певним чином змінювало картину інтоксикації. У групі тварин, які отримували кверцетин на фоні ін'єкції доксорубіцина, вагові коефіцієнти серця та ле-

генів не мали вірогідних розбіжностей стосовно тварин з контрольною патологією, а ваговий коефіцієнт печінки вірогідно відрізнявся від такого в групі контрольної патології (в 0,94 раза нижчий) (табл.2). У групі тварин, які отримували ГА сульфат, спостерігали достовірне зниження вагових коефіцієнтів внутрішніх органів відносно групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,92, легенів — в 0,88, печінки — в 0,74 раза (табл.2). У групі тварин, які отримували N-ацГА, також спостерігали вірогідне зниження вагових коефіцієнтів внутрішніх органів відносно групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,9, легенів — в 0,85, печінки — в 0,72 раза

(табл.2). У групах тварин, які отримували ГА г/х і комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином, при розтині не спостерігали виражених ознак запалення та інтоксикації. У групі тварин, які отримували ГА г/х спостерігали вірогідне зниження вагових коефіцієнтів внутрішніх органів відносно групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,8, легенів — в 0,76, печінки — в 0,64 раза (табл.2). В групі тварин, які отримували комбінацію ГА г/х, N-ацГА з кверцетином, вагові коефіцієнти внутрішніх органів були достовірно розбіжними за показники групи контрольної патології: ваговий коефіцієнт серця в 0,78, легенів — в 0,75, печінки — в 0,62 раза (табл.2).

Таблиця 2

Умови експерименту	ВКС, %	ВКЛ, %	ВКП, %
Інтактна група	0,38±0,003	0,68±0,003	4,51±0,078
ДОКС (20 мг/кг)	0,51±0,015*	0,93±0,019*	8,25±0,105*
ДОКС (20 мг/кг) + ГА г/х (50 мг/кг)	0,41±0,014**	0,71±0,017**	5,25±0,132*/**
ДОКС (20 мг/кг) + ГА сульфат (50 мг/кг)	0,47±0,003*/**	0,82±0,003*/**	6,08±0,054*/**
ДОКС (20 мг/кг) + N-ацГА (50 мг/кг)	0,46±0,005*/**	0,79±0,005*/**	5,94±0,091*/**
ДОКС (20 мг/кг) + комбінація ГА г/х, N-ац ГА з кверцетином (82 мг/кг)	0,40±0,011**	0,70±0,028**	5,15±0,135*/**
ДОКС (20 мг/кг) + кверцетин (10 мг/кг)	0,51±0,017*	0,91±0,037*	7,79±0,080*/**

Таким чином, в умовах проведеного експерименту за впливом на всі досліджувані показники найбільш ефективними виявилися ГА г/х (в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг) і комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (у дозі 82 мг/кг), лікувальне застосування яких не тільки продовжує у середньому тривалість життя лабораторних тварин у 3,5 раза порівняно з групою контрольної патології, підвищують їх виживаність (до 33,34% та 40% відповідно), але й зменшують прояви токсичної дії доксорубіцина, що підтверджується достовірними змінами значень вагових коефіцієнтів внутрішніх органів.

ВИСНОВКИ

1. Похідні глюкозаміну та їх комбінації проявили здатність до зниження проявів загальнотоксичної дії доксорубіцину, а за ефективністю їх можна розташувати в наступному ряду: комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином ≥ ГА г/х > N-ацГА > ГА сульфат. 2. Обрані перспективні сполуки — ГА г/х (в умовно-терапевтичній дозі 50 мг/кг) і комбінація ГА г/х, N-ацГА з кверцетином (у дозі 82 мг/кг) — що по-

казали найбільш виражений лікувальний ефект за сумарним рейтингом дослідних показників: подовження тривалості життя у лабораторних тварин, підвищення їх виживаності, зменшення явищ інтоксикації при патології, індукованої доксорубіцином. 3. Отримані дані виступають експериментальним обґрунтуванням подальшого вивчення ГА г/х та та комбінації ГА г/х, N-ацГА з кверцетином як можливих ад'ювантних засобів для корекції токсичних ефектів протипухлинних засобів.

ЛІТЕРАТУРА

- Щепотин И. Что нам известно о раке? / И. Щепотин // Фармацевт практик. — 2013. — № 2. — С. 8.
- Возможность коррекции токсических эффектов паклитаксела / О.В. Колотова, Е.П. Федорова, Л.А. Ермолаева, А.А. Чуринов // Сибирский онкологический журнал. — 2008. — Приложение № 1. — С. 66-68.
- Сравнительное экспериментальное токсикологическое исследование доксорубицина и

- его наносомальных лекарственных форм / И.Д. Трещалин, Э.Р. Переверзева, Д.А. Бодягин и др. // Российский биотерапевтический журнал. — 2008. — Т. 7, № 3. — С. 24-33.
- Туляков В.О. Протекторні властивості глюкозаміну / В.О. Туляков, К.О. Зупанець, С.К. Шебеко // Фармакологія та лікарська токсикологія. — 2009. — № 3. — С. 3-9.
 - Влияние глюконата кальция на токсичность и противоопухолевую активность доксору-бицина у мышей / Т.А. Богуш, Г.Б. Смирнова, Н.О. Вихлянцева, А.Б. Сыркин // Антибиотики и химиотерапия. — 1999. — Т. 44, № 1. — С. 6-10.
 - Семенов А.Н. Изучение кардиопротекторных свойств нестероидных противовоспалительных средств в ряду производных D-(+)-глюкозамина : дис. ... канд. мед. наук / Семенов Андрей Николаевич. — Купавна, 2001. — 198 с.

УДК 547.455.623’233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

И. А. Зупанец, Е. В. Ветрова, Т. С. Сахарова, Э. Л. Торяник

Национальный фармацевтический университет

ВОЗМОЖНОСТИ КОРРЕКЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО АНТИ-БИОТИКА ДОКСОРУБИЦИНА ПРОИЗВОДНЫМИ ГЛЮКОЗАМИНА И ИХ КОМБИНАЦИЯМИ

В эксперименте на мышах исследована эффективность производных глюкозамина и их комбинаций при доксорубициновой интоксикации. Установлено, что на фоне лечебного применения исследуемые соединения существенно снижают проявления общетоксического действия доксорубицина, увеличивают продолжительность жизни у лабораторных животных при моделируемой патологии и повышают их выживаемость. Выбраны наиболее эффективные объекты — глюкозамина гидрохлорид (в условно-терапевтической дозе 50 мг/кг) и комбинация глюкозамина гидрохлорида, N-ацетилглюкозамина с кверцетином (в дозе 82 мг/кг) — как перспективные корректоры токсических эффектов антрациклиновых противоопухолевых антибиотиков.

Ключевые слова: доксорубицин, цитотоксичность, глюкозамин, кверцетин, производные глюкозамина, цитопротекторное дейтвие

UDC 547.455.623’233.1: [615.277.3 + 615.099.092]

I. A. Zupanets, K. V. Vetrova, T. S. Sakharova, E. L. Toryanik

National University of Pharmacy

PROSPECTS USE OF GLUCOSAMINE’S DERIVATIVES AND ITS COMPOSITIONS FOR CORRECTION OF TOXITY OF ANTICANCER THERAPY

The efficiency of glucosamine’s derivatives and its compositions was investigate with doxorubicin toxicity in the experiment on the mice. Found that in the context of therapeutic use the test compounds reduce of the systemic toxicity of doxorubicin, increase lifespan in laboratory animals with modeled pathology and increase their survival. The most efficient facilities — glucosamine hydrochloride (conventionally in the therapeutic dose of 50 mg / kg) and the combination of glucosamine hydrochloride, N-acetylglucosamine and quercetin (at a dose of 82 mg / kg) — were select as a prospective correctors of toxic effects of anthracycline antitumor antibiotics.

Key words: doxorubicin, cytotoxicity, glucosamine, quercetin , glucosamine’s derivatives, cytoprotective effect

Адреса для листування:

61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27,
кафедра клінічної фармакології та клінічної
фармації
тел.: 057-706-30-72

Надійшла до редакції:

21.06.2013 р.

УДК 661.12.091.547

С. М. Коваленко, С. В. Власов, О. В. Ткаченко, Л. В. Євсєєва, А. Л. Загайко,
О. А. КРАСІЛЬНИКОВА

Національний фармацевтичний університет

ДОСЛІДЖЕННЯ JNK-КІНАЗНОЇ АКТИВНОСТІ N-(3-ЦІАНО-4,5,6,7-ТЕТРАГІДРО-1-БЕНЗОТІЄНІЛ-2-ІЛ)БЕНЗАМІДІВ

З метою дослідження JNK-кіназної активності структурних аналогів відомого інгібітору С-JNK-кінази (N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)-1-нафтаміду), шляхом ацилювання 2-аміно-3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-бензотіофену хлорангідридами бензойних кислот в сухому 1,4-діоксані були отримані заміщені N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди з фіксованою тіофеновою частиною молекули та набором різноманітних замісників в залишку бензойної кислоти. Структура отриманих N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензамідів підтверджена даними ПМР-спектроскопії. Отримані результати свідчать про те, що N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл)бензаміди впливають на активність аланінамінотрансферази (АЛТ) у ізольованих гепатоцитах, проте суттєво не змінюють вміст триацилгліцеринів у печінці щурів, а також не впливають на рівень глюкози та активність АЛТ в сироватці крові тварин в умовах in vivo. Досліджувані речовини знижували вміст ТБК-реактивних продуктів у тварин з експериментальним цукровим діабетом 2-го типу.

Ключові слова: інгібітори JNK-кіназ, N-(3-ціано-4,5,6,7-тетрагідро-1-бензотієніл-2-іл) бензаміди, аланінамінотрансфераза, триацилгліцерини, цукровий діабет 2-го типу.

Останніми роками отримані експериментальні докази, що підтверджують наявність тісного зв’язку між активацією JNK або с-Jun N-кінцевої кінази та розвитком таких патологічних станів як ожиріння, інсулінорезистентність, атеросклероз, цукровий діабет [1].

За походженням с-JNK (с-Jun N-кінцеві кінази) відносяться до сімейства мітоген активованих протеїнових кіназ (МАРК). с-JNK кінази активуються у відповідь на різноманітні стресові стимули, зокрема такі, як тепловий або осмотичний удар, ультрафіолетове випромінювання, дія цитокінів або кислот жирного ряду [2]. Можливо, активація відбувається при пошкодженні конформації інших чутливих фосфатазних ферментів, що звичайно подавляють активність с-JNK кіназ [3].

Встановлено, що с-JNK кінази відповідають за запальну реакцію [4]. Показано, що с-JNK1 та с-JNK2 кінази відіграють важливу роль у розвитку викликаного ожирінням діабету [5]. с-JNK кінази також активують внутриклітинний синтез нітроген оксиду, який є медіатором запалення, модифікує білки, пошкоджує нуклеїнові кислоти та бере участь у розвитку атеросклерозу [6]. Але при тому с-JNK кінази запускають механізм відновлення пошкодженої нітроген оксидом ДНК в міоцитах серця [7].

Останнім часом були знайдені потужні інгібітори JNK кіназ, що містять ціано-групу, та можуть бути описані загальною формулою. Яка відображена на рис. 1.

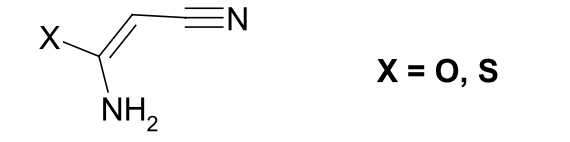


Рис. 1. Загальна формула інгібіторів JNK кіназ, що містять ціано-групу

Першим з таких інгібіторів був розроблений 1,3-бензотіазол-2-іл-(2-[[2-(3-піридиніл)етил]аміно}-4-піримідиніл)ацетонітрил AS601245 [8].

Він інгібує JNK кінази та проявляє активність IC₅₀ 150 нмоль/л проти JNK1, 220 нмоль/л проти JNK2 та 70 нмоль/л проти JNK3. При проведенні доклінічних досліджень на пацюках проти церебральної ішемії, він проявив нейропротекторну дію [9]. AS601245 також демонструє протизапальну активність [10]. Але недоліком AS601245 є слаба проникність всередину клітини [11].

З метою підвищити проникливість всередину клітини та інгібуючу активність, шляхом комбінаторного синтезу та скрінінгу біологічну активність був знайдений високоефективний інгібітор