

ЛИТЕРАТУРА

1. Ефременко В. И. Липосомы (получение, свойства, аспекты применения в биологии и медицине). – Ставрополь, 1999. – 236 с.
2. Костенко Ю. Г. // Ветеринария. – 1995. – № 5. – С. 7–9.
3. Кузякова Л. М. Методологические подходы и разработка технологии липосомальных лекарственных и лечебно-профилактических препаратов: автореф. дис. ... д-ра фарм. наук. – Пятигорск, 2000. – 40 с.
4. Кучма И. Ю., Волянский А. Ю., Москаленко В. Ф. // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. – 2000. – № 5. – С. 58–61.
5. Малецкая О. В. Научно-экспериментальное обоснование путей повышения эффективности этиотропной терапии бруцеллеза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Ставрополь, 2003. – 40 с.
6. Мисетова Е. Н. Метаболические изменения в

крови при различных способах введения липосом: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Ставрополь, 2003. – 21 с.

7. Пат. РФ № 2192265. Способ получения комплекса фосфолипидов / В. И. Ефременко, В. В. Оверченко, Е. Н. Мисетова и др. // Бюлл. – 2002. – № 31. – С. 114.

8. Ротов К. А., Тихонов Н. Г., Петров В. И. // Диагностика, лечение и профилактика опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология. Ветеринария: матер. конф. – Киров, 1998. – С. 419–420.

9. Суслина С. Н. Разработка составов и технологии мазей и геля с маслом Виотон для лечения воспалительных и аллергических заболеваний кожи: автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – М., 2000. – 20 с.

10. Шаршунова М., Щварц В., Михалец Ч. Тонкослойная хроматография в фармации и клинической медицине. – В 2 ч. – М.: Мир, 1980. – Ч. 2. – 379 с.

УДК 615.272.4:547.785.5:547.56

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА НОВОГО СОЕДИНЕНИЯ РУ-1249, СОДЕРЖАЩЕГО В СТРУКТУРЕ ЭКРАНИРОВАННУЮ ФЕНОЛЬНУЮ ГРУППИРОВКУ

А. А. Орлова, В. А. Косолапов
Кафедра фармакологии ВолГМУ

В работе изучены антиоксидантные свойства нового соединения под шифром РУ-1249, содержащего в структуре пространственно-затрудненную фенольную группировку, и препаратов сравнения дибунула и тролокса на трех моделях *in vitro* в концентрации 10 мкМ. Установлено, что на модели аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов соединение РУ-1249 проявило высокую антиоксидантную активность (89,2 % ингибирования), превосходя дибунол (75,9 %) и тролокс (61,9 %). При изучении механизмов действия было показано, что вещество РУ-1249 ингибировало липопероксильный радикал на модели хемилюминисценции желточных липопротеинов (79,3 %), немного уступая дибунолу (84,1 %) и тролоксу (84,2 %), и является эффективным перехватчиком активных форм кислорода, как показано на модели Fe^{2+} -люминол-зависимой хемилюминисценции (74,5 %), превосходя по данному виду активности дибунол (57,1 %) и тролокс (61,5 %).

Ключевые слова: антиоксидантные свойства, свободные радикалы, активные формы кислорода, фенольные антиоксиданты.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF NEW SUBSTANCE RU-1249, CONTAINING STERICLY HINDERED PHENOLIC GROUP IN ITS STRUCTURE

А. А. Orlova, V. A. Kosolapov

Abstract. Antioxidant properties of a new compound, coded as RU-1249 containing sterically hindered phenolic group in its structure, as well as reference drugs dibunol and trolox were studied *in vitro* in concentration of 10 μ M. It was established that RU-1249 compound showed a very high antioxidant activity (89,2 % inhibition) on the ascorbate-induced lipid peroxidation model, surpassing dibunol (75,9 %) and trolox (61,9 %). While studying the mechanisms of its action, it was shown that RU-1249 compound inhibited lipoperoxyl radical on vitelline lipoprotein chemiluminescent models (79,3 %), second to dibunol (84,1 %) and trolox (84,2 %); it was also shown that RU-1249 compound is an effective interceptor of reactive oxygen forms (74,5 %), which was shown on Fe^{2+} -luminol dependant chemiluminescence, exceeding dibunol (57,1 %) and trolox (61,5 %) in this kind of activity.

Key words: antioxidant properties, free radicals, reactive oxygen species, phenolic antioxidants.

Исследование антиоксидантных и антирадикальных свойств конденсированных и неконденсированных производных бензимидазола представляется актуальным, так как ранее проведен-

ные исследования подтверждают наличие широкого спектра биологической активности, включая способность ингибировать процессы липопероксидации [4, 6, 8]. Особый интерес представляет

(21)

класс соединений, содержащих в своей структуре пространственно-затрудненную фенольную группировку [1, 3, 12]. Известно, что среди фенольных антиоксидантных средств соединения со стерически затрудненной фенольной группой обладают наибольшей эффективностью в отношении перокси- и алкоксирадикалов, что позволяет объяснить их высокую физиологическую активность [2, 10, 11]. Поэтому эти вещества могут использоваться как потенциальные субстанции для создания на их основе средств, корректирующих состояния, сопровождающиеся повышенной продукцией активных форм кислорода (АФК).

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить активность и механизм действия нового антиоксидантного вещества РУ-1249 в различных модельных системах в сравнении с антиоксидантами дибунолом и тролоксом.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали тиобарбитуровую кислоту (ТБК) ("ICN Biomedicals", США), трихлоруксусную кислоту (х. ч., Россия), фосфорную кислоту ("Реахим", Россия), люминол ("Serva", Германия), сульфат железа (ЧДА, Украина), аскорбиновую кислоту ("Сметарол", Чехия), цитрат натрия (ЧДА, Россия), субстанцию соединения РУ-1249 (НИИ ФОХ РГУ, Россия), дибунол (Россия), тролокс ("Fluka", Швейцария).

Антиоксидантные свойства веществ изучали на трех моделях: модели аскорбат-зависимого перекисного окисления липидов (ПОЛ) [5] и двух моделях хемилюминесценции (ХЛ) с использованием системы железо(II)-индуцированного окисления липидов куриного желтка [9] и системы окисления люминола с генерацией АФК [7]. Вещества изучались в конечной концентрации 10 мкМ.

При исследовании методом аскорбат-зависимого ПОЛ реакцию окисления липидов в гомогенате печени крысы инициировали 50 мМ аскорбиновой кислоты. Скорость ПОЛ определяли по накоплению малонового диальдегида (МДА) в реакции с ТБК. Оптическую плотность окрашенного продукта определяли при длине волны 535 нм на спектрофотометре "СФ-46" (Россия) в кювете с длиной оптического пути 10 мм.

При измерении Fe²⁺-индуцированной ХЛ липидов реакционная смесь объемом 20 мл содержала липиды куриного желтка, содержащего липопротеиновые комплексы, сходные с липидами крови. Желток гомогенизировали в фосфатном буфере (20 мМ КН₂РO₄, 105 мМ КСL, рН = 7,45) в соотношении 1:1. Инициирование ПОЛ осуществляли введением 2,5 мМ раствора FeSO₄ при интенсивном перемешивании и t = 37 °С, после чего в течение 10-20 мин измеряли кинетику ХЛ.

Для измерения ХЛ, сопровождающей аутоокисление люминола, в кювету хемилюминометра добавляли фосфатный буфер (20 мМ КН₂РO₄, 105 мМ КСL, рН = 7,45), содержащий люминол

(1 мкМ) и цитрат натрия (5 мМ) в конечном объеме 20 мл. Инициирование ХЛ осуществляли введением 2,5 мМ раствора FeSO₄ при интенсивном перемешивании, и в течение 5 мин измеряли кинетику ХЛ.

ХЛ регистрировали на хемилюминометре "Хемилюминомер-003" (г. Уфа, Россия), связанным интерфейсом с компьютером "IBM Pentium-133".

Статистическую обработку проводили с использованием t-критерия Стьюдента в программе "Statistika 6.0".

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении антиоксидантной активности на модели аскорбат-индуцированного ПОЛ было установлено, что в концентрации 10 мкМ вещество РУ-1249 показало высокую активность, ингибируя реакцию на 89,2 %, превосходя фенольный жирорастворимый антиоксидант дибунол (75,9 %) и водорастворимый аналог токоферола тролокс (61,9 %) (p<0,01) (табл. 1). После этого на данной модели было проведено изучение веществ в широком диапазоне концентраций и методом регрессионных уравнений в программе "Microsoft Excell 2000" был рассчитан показатель ИК₅₀ как концентрация, в которой вещество ингибирует реакцию на 50 %. Было установлено, что соединение РУ-1249 по данному показателю на порядок превосходит препараты сравнения дибунол и тролокс.

При изучении механизмов антиоксидантной активности соединения РУ-1249 на хемилюминесцентных моделях было показано, что новое вещество ингибировало образование липопероксильных (LOO·) радикалов, о чем свидетельствовало подавление реакции ХЛ Fe²⁺-индуцированного окисления липидов. Кривая ХЛ имела классический двухфазный характер, однако развитие фазы медленного свечения выходило на максимальный уровень только к десятой минуте, после чего отмечалось длительное плато, поэтому в качестве основного был выбран показатель амплитуды медленной вспышки (I₂), на основании изменения которого проводились расчеты. Вероятно, такое длительное развитие медленной вспышки обусловлено отсутствием в системе люминола или других веществ, повышающих квантовый выход. Было достоверно установлено, что в концентрации 10 мкМ вещество РУ-1249 оказалось активным, снижая ХЛ на 79,3 % и лишь немного уступая по эффективности препаратам сравнения дибунолу (84,1 %) и тролоксу (84,2 %) (табл. 2).

Таблица 1

Антиоксидантная активность соединения РУ-1249 и препаратов сравнения в дозе 10 мкМ на модели аскорбат-индуцируемого ПОЛ *in vitro*

Шифр вещества	Процент ингибирования	ИК ₅₀ , мкМ
---------------	-----------------------	------------------------

РУ-1249	89,2±1,98*	0,25
Дибунол	75,9±2,76*	3,63
Тролокс	61,9±2,76*	2,41

Примечание. Здесь и далее в табл. 2: * – данные статистически значимы (t) по отношению к контролю ($p \leq 0,01$).

Таблица 2

Влияние соединения РУ-1249 и препаратов сравнения в концентрации 10 мкМ на параметры Fe^{2+} -индуцированной ХЛ липидов и люминол-зависимой ХЛ, $M \pm m$

Шифр вещества	Fe^{2+} -индуцированная ХЛ (I2), отн. ед.	Процент ингибирования	Люминол-зависимая ХЛ (S), отн. ед.	Процент ингибирования
Контроль	20,80±2,03	–	176,12±12,62	–
РУ-1249	4,30±0,40*	79,3	44,84±3,37*	74,5
Дибунол	3,30±0,32*	84,1	75,64±4,81*	61,5
Тролокс	3,28±0,28*	84,2	67,89±4,93*	57,1

Примечание. S – суммарная светимость, I2 – амплитуда медленной вспышки.

Второй моделью, использованной для выяснения механизмов антиоксидантной активности веществ, была система железо(II)-индуцированного окисления люминола с генерацией АФК. Для расчета величины ингибирования был выбран интегральный показатель суммарной светимости S, вычисляемый как площадь под кривой ХЛ. Как видно, соединение РУ-1249 в концентрации 10 мкМ угнетает ХЛ на 74,5 %, превосходя по данному виду активности дибунол (57,1 %) и тролокс (61,5 %).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты, полученные с использованием различных гетерогенных систем окисления, позволяют заключить, что исследуемое

вещество РУ-1249, содержащее в структуре экранированный фенол, обладает выраженной антиоксидантной активностью, что проявляется способностью инактивировать липопероксильные радикалы на стадии обрыва цепи, а также перехватывать гидроксильный радикал и радикалы люминола, образующиеся в модельных системах при железо-индуцируемой ХЛ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В. А. // Успехи современ. биологии. – 2004. – Т. 124, № 2. – С.157–168.
2. Бурлакова Е. Б., Губарева А. Е., Архипова Г. В. и др. // Вопр. мед. химии. – 1992. – № 2. – С. 17–20.
3. Ершов В. В., Никифоров Г. А., Володькина А. А. Пространственно-затрудненные фенолы. – М., 1972. – 137 с.
4. Косолапов В. А. Антиоксидантные средства: стратегия отбора, перспективы применения: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Волгоград, 2005. – 40 с.
5. Ланкин В. З., Гуревич С. М., Бурлакова Е. Б. // Тр. мос. общества испытателей природы. – М., 1975. – Т. 52. – С. 73–78.
6. Островский О. В. Фармакология антиоксидантов – конденсированных производных бензимидазола: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Волгоград, 1996. – 38 с.
7. Семешко С. Г., Фархутдинов Р. Р. // Клини. лаб. диаг. – 2002. – № 24. – С. 33–34.
8. Спасов А. А., Смирнова Л. А., Иежица И. Н. и др. // Вопр. мед. химии. – 2001. – Т. 47. – С.233–258.
9. Фархутдинов Р. Р., Лиховских В. А. Хемиллюминесцентные методы исследования свободно-радикального окисления в биологии и медицине. – Уфа, 1995. – 110 с.
10. Харфуф М., Сербинова Е. А., Савов В. // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 1990. – Т. 110, № 11. – С. 480–483.
11. Jeong T. S., Kim J. R., Kim K. S., et al. // Bioorg. Med. Chem. – 2004. – Vol. 12. – P. 4017–4023.
12. Sroka Z. // Z. Naturforsch [C]. – 2005. – Bd. 60. – S. 833–843.

УДК615.326:615.012

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗРАБОТКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНОГО ПОЛИМИНЕРАЛА БИШОФИТ

Л. М. Ганичева

Кафедра управления и экономики фармации ВолГМУ

Разработаны составы и технология лекарственных форм бишофита: гранул, суппозиторияев, пленок. Изучена их стабильность, сроки хранения, предложены рациональные виды упаковок. Проведен расчет себестоимости разработанных препаратов, составлен прогноз их конкурентоспособности на рынке лекарств.

Ключевые слова: бишофит, разработка препаратов, методология.

METHODOLOGICAL ASPECTS OF DEVELOPING DRUGS BASED ON NATURAL MINERAL BISHOFIT

L. M. Ganicheva

Abstract. The author describes development of composition and technology of medicinal forms of bischofit: granules, suppositories and films. Their stability and Hexpiration periods were studied; effective packaging forms are proposed. The cost price and competifiveness of the drug in the market was estimated.

Key words: bischofit, drug development, methodology.