

ЛІТЕРАТУРА

1. *Фармакологическая* активность метаболитов феназепаму / Т. А. Воронина, Ю. И. Вихляев, Л. Н. Неробкова [и др.] // *Феназепам*. — К. : Наукдумка, 1982. — С. 118-120.

2. *Вплив* циназепаму на структуру циклу сну — неспання у щурів / Л. С. Годлевський, Т. Л. Карасьова, Л. В. Попова [та ін.] // *Досягнення біології та медицини*. — 2005. — № 2 (6). — С. 22-26.

3. *Горьков В. В.* Эволюция фармакологии снотворных средств: от алкоголя к зопиклону / В. В. Горьков, В. А. Раюшин, Ю. Ю. Чурилин // *Журнал неврологии и психиатрии*. — 1999. — Т. 3. — С. 63-66.

4. *Дроговоз С. М.* Чи безпечний сон, стимульований ліками? / С. М. Дроговоз, М. В. Сараєва // *Фармринок*. — 2003. — № 4. — С. 31-33.

5. *Пат.* України на винахід № 60361, МПК 7С 07 D 243/14, 243/24, 243/26, А61К31/5513. Спосіб одержання гемісукцинату 3-гідрокси-7-бром-5-(о-хлор)феніл-1,2-дигід-

ро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону / Андронаті К. С., Павловський В. І., Редер А. С., Стельмах І. Б., Лемпарт Г. В., Андронаті С. А.; заявники та патентовласники: ВАТ «Сумісне українсько-бельгійське хімічне підприємство», ФХІ ім. О. В. Богатського НАНУ. — № 2000116596; заявл. 22.11.2000; опубл. 15.10.2003, Бюл. № 10. — 3 с.

6. *Роль* черной субстанции в механизмах подавления эпилептической активности / А. А. Шандра, Л. С. Годлевский, И. В. Ткаченко [и др.] // *Успехи физиологических наук*. — 1995. — Т. 26. — С. 90-106.

7. *Effects of gabaergic drugs on reserpine-induced oral dyskinesia* / M. F. Piexito, N. P. Araujo, R. H. Silva [et al.] // *Behav. Brain Res.* — 2005. — Vol. 160 (1). — P. 51-59.

8. *Gottesmann C.* Brain inhibitory mechanisms involved in basic and higher integrated sleep processes / С. Gottesmann // *Brain Research Reviews*. — 2004. — Vol. 45, N 3. — P. 230-249.

9. *Maquet P.* Functional neuroimaging of normal sleep by positron emission tomography / P. Maquet // *J. Sleep Res.* — 2000. — Vol. 9. — P. 207-231.

10. *Paxinos G.* The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates / G. Paxinos, C. Watson. — N. Y., 1982.

11. *Raghavendra V.* Reversal of reserpine-induced vacuous chewing movements in rats by melatonin: involvement of peripheral benzodiazepine receptors / V. Raghavendra, P. S. Naidu, S. K. Kulkarni // *Brain Res.* — 2001. — Vol. 904, N 1. — P. 149-152.

12. *Long-Lasting effects of feline amygdale kindling on monoamines, seizures and sleep* / M. N. Shouse, R. J. Staba, S. F. Saquiba, P. R. Farbera // *Brain Research*. — 2001. — Vol. 892. — P. 147-165.

13. *Soubrie P.* Effects of diazepam on six drug-induced locomotor hyperactivities in mice / P. Soubrie, P. Simon, J. R. Boissier // *Psychopharmacologia*. — 1975. — Vol. 45, N 2. — P. 197-201.

УДК 615.033/015.4:547.294

М. Я. Головенко, В. Б. Ларіонов,
Н. В. Овчаренко, О. Б. Лихота, Ж. М. Цапенко

ТРАНСПОРТ ^{14}C -МАСЛЯНОЇ КИСЛОТИ КРІЗЬ ГЕМАТОЕНЦЕФАЛІЧНИЙ БАР'ЄР БІЛИХ МИШЕЙ

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса

Вступ

З усіх гістогематичних бар'єрів організму гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) є найважливішим, оскільки його функціонування забезпечує підтримку гомеостазу центральної нервової системи та її належну роботу. Завдяки фізико-хімічним властивостям ГЕБ перетинають його здебільшого ліпофільні речовини [1], тимчасом як для транспорту низькомолекулярних гідрофільних (або амфіфільних) сполук існують специфічні транспортні системи (цукри [2], амінокислоти [3] та ін.).

Певний інтерес викликає надходження через ГЕБ коротколанцюжкових жирних кислот, зокрема масляної (бутанової) кислоти, що зумовлено і можливістю участі у нормальних фізіологічних реакціях (окиснення її до ацетату (шляхом β -оксидації [4])), і навіть терапевтичним впливом на певні патологічні процеси гематологічного (таласемії) [5] чи онкологічного [6] характеру.

Незважаючи на різні ефекти та важливу роль бутирату у фізіологічних процесах, до теперішнього часу існує мало публікацій, присвячених біокіне-

тиці бутанової кислоти в організмі (і спрямованих, насамперед, на вивчення її біохімічної ролі).

Метою роботи було вивчення процесів надходження ^{14}C -масляної кислоти до головного мозку білих мишей за умов її внутрішньовенного й інтрагастрального введення.

Матеріали та методи дослідження

^{14}C -Масляну кислоту отримували окисненням ^{14}C -бутанолу (20 см³, 16,196 г, 0,21 моль) розчином KMnO_4 (45,9 г, 0,294 моль) у лужному



середовищі (Na_2CO_3 , 12,6 г, H_2O 800 см³) протягом 24 год. Розчин відфільтровували від осаду оксиду марганцю (який промивали 2–3 рази порціями гарячої води), фільтрат упарювали до 50–60 см³ на роторному випарювачі та після підкислення сірчаною або фосфорною кислотою (10 %) екстрагували масляну кислоту, що виділилася, дихлорметаном. Отриманий екстракт сушили Na_2SO_4 та переганяли, збираючи фракцію, що кипить при 162–165 °С (вихід 78 %). Питома активність отриманої ^{14}C -масляної кислоти становила 6,3 Кі/моль.

Для фармакокінетичних досліджень були використані білі безпородні миші-самці із дотриманням міжнародних і національних біоетичних рекомендацій. Їм за певний проміжок часу (0,083; 0,25; 0,5; 1; 2; 4 або 6 год) до відбору проб вводили внутрішньовенно (у хвостову вену) або перорально (інтрагастрально) ^{14}C -масляну кислоту (6,4 Кі/моль) у забуференому розчині у 0,9 % NaCl (рН 7,4). Для відбору проб тварин піддавали наркозу, декапітували та збирали кров у попередньо оброблені розчином гепарину центрифужні пробірки, центрифугували протягом 15 хв (5 тис. об/хв) і аліквоту плазми крові (0,4 см³) із додаванням 0,2–0,3 см³ Тритону X-100 заливали сцинтилятором (10 см³). Вміст радіоактивних продуктів у головному мозку та печінці визначали після їх попередньої гомогенізації (0,9 % NaCl , 1 : 4 маса/об'єм) у аліквоті гомогенату (0,4 см³), до якої додавали Тритон X-100 та сцинтилятор, на рідинному сцинтиляційному фотометрі TRI CARB Canberra PACKARD 2700.

Визначення вмісту у гомогенатах печінки та головного мозку ^{14}C -масляної кислоти проводили методом рН-залежної рідинної екстракції у дуже кислому середовищі [1]. До 1–2 см³ гомогенату органа додавали аналогічний об'єм 4 н сірчаної (або фосфорної) кислоти й екстрагували хлороформом (4 × 2 см³) ^{14}C -масляну кисло-

ту. Отримані екстракти перенесли у флакони для рідинної сцинтиляційної фотометрії з попередньо доданим розчином 6 н Na_2CO_3 (0,5 см³) для утворення бутирату натрію. Рідину упарювали до видалення залишків хлороформу, додавали 0,5–1 см³ Тритону X-100, 10 см³ сцинтилятора та визначали вміст радіоактивного матеріалу на фотометрі. Водну фазу після екстракції кількісно перенесли у флакони для рідинної фотометрії, нейтралізували рівним об'ємом 6 н Na_2CO_3 , упарювали до об'єму 1–1,5 см³ та визначали вміст радіоактивного матеріалу після додавання 2–3 см³ Тритону X-100 і сцинтилятора.

Отримані дані оброблені за допомогою статистичного пакета програми MS Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

Подібно до ацетату [8], слід очікувати також інтенсивного метаболізму бутирату в організмі. Перетворення бутанової кислоти до ацетил-КоА відбувається за рахунок β -окиснення, внаслідок чого вона може виступати як кетогенний субстрат. Той факт, що бутират може потрапляти до мітохондрій карнітин-незалежним шляхом [9], може бути наслідком підвищеної ліпофільності його молекули порівняно з оцтовою кислотою (для оцтової кислоти гідрофільно-ліпофільний баланс становить 8,625, а для бутанової — 7,675). Унаслідок цього ймовірним є також його здатність долати ГЕБ і бути утилізованим тканинами мозку. З другого боку, пероральний шлях надходження бутирату передбачає його проходження через печінку та піддавання значному метаболізму і зниженню концентрації вільного бутират-аніона. У такому разі слід очікувати значних коливань концентрації масляної кислоти у головному мозку тварин, якщо механізм її проходження через ГЕБ є концентраційно залежним (пасивна дифузія) або майже незмінним, якщо він є активним транспортом і відбувається за

рахунок специфічних транспортних систем.

Як при внутрішньовенному, так і при інтрагастральному введенні ^{14}C -бутанової кислоти вміст загальних радіоактивних продуктів реєструється не тільки у плазмі крові та печінці, але й у головному мозку, але картина розподілу загальної радіоактивності по цих органах і тканинах має значну різницю у перші години експерименту (рис. 1, а, б). Так, вміст радіоактивного матеріалу у печінці після внутрішньовенного введення ^{14}C -масляної кислоти є значно меншим за аналогічні показники при інтрагастральному введенні та піддається більшим коливанням. Унаслідок проходження всієї дози речовини, яка вводилась інтрагастрально, до печінки вміст радіоактивного матеріалу у цьому органі є значно вищим, ніж при внутрішньовенному, а завдяки всмоктуванню у шлунково-кишковому тракті (ШКТ) спостерігається повільне зниження концентрації радіоактивного матеріалу. Натомість, при внутрішньовенному введенні вся доза речовини одноразово потрапляє до системного кровообігу та розподіляється між усіма органами та тканинами. Це відображується у високому вмісті радіоактивних продуктів у плазмі крові відразу після внутрішньовенного введення ^{14}C -масляної кислоти (див. рис. 1, а), тимчасом як при пероральному введенні порівняно високий вміст радіоактивних продуктів спостерігається лише у перші хвилини після введення (див. рис. 1, б). Значні коливання співвідношення концентрацій радіоактивного матеріалу у головному мозку та плазмі крові (що характеризує ступінь надходження речовини до мозку) спостерігаються лише у першу годину після внутрішньовенного та впродовж 0,5 год після інтрагастрального введення, але протягом останнього часу цей показник набуває сталого характеру завдяки досягненню рівноваги між процесами надходження та видалення радіоактивних сполук з



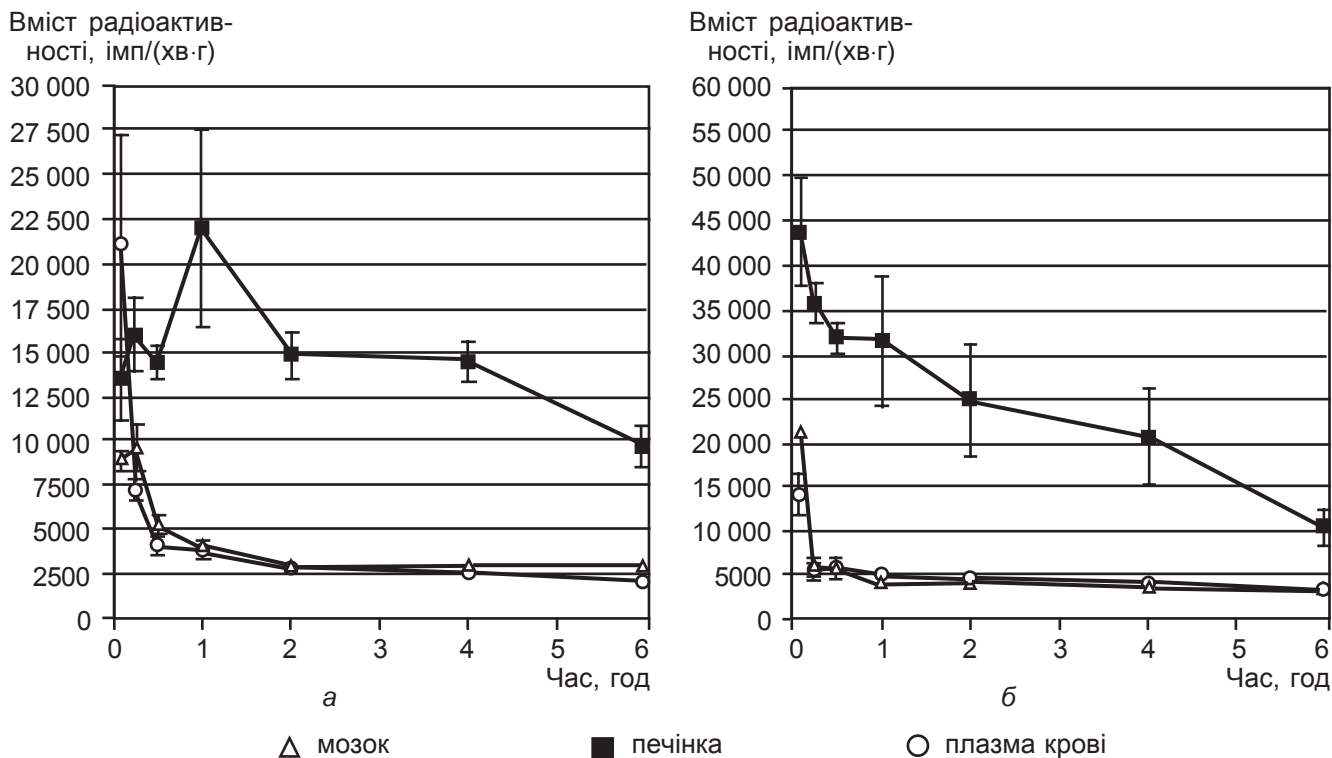


Рис. 1. Зміна вмісту (імп/(хв·г)) загальних радіоактивних продуктів у головному мозку, печінці та плазмі крові мишей після внутрішньовенного (а) й інтрагастрального (б) введення ^{14}C -масляної кислоти (2 ммоль/кг)

мозку (табл. 1). Як при внутрішньовенному, так і при інтрагастральному введенні співвідношення «мозок/плазма крові» залишається на практично однаковому рівні, досягаючи сталих значень уже до 0,5 год після введення, та становить 1,03–1,2. На противагу цьому, співвідношення «печінка/плазма крові» зазнає значних змін упродовж часу експерименту та є найзначнішим при внутрішньовенному введенні; інтрагастральне введення характеризується менш вираженими коливаннями цього показника внаслідок присутності процесу всмоктування масляної кислоти з ШКТ (див. табл. 1).

Потрапляння радіоактивного матеріалу до головного мозку можливе за рахунок надходження через ГЕБ як вихідної речовини, так і метаболітів, що утворюються. Разом з цим, сталість коефіцієнта розподілу між плазмою крові та головним мозком при різних способах введення ^{14}C -масляної кислоти дає можливість припустити існування певних механізмів, які

виконують транспортну функцію відносно бутирату, як і ацетату [8], через ГЕБ. Визначення цього можливо за допомогою встановлення абсолютної кількості ^{14}C -масляної кислоти у тканинах головного мозку та зіставлення з кількістю її у печінці, в якій інтенсивно перебігає метаболізм бутирату.

Визначення вмісту масляної кислоти в гомогенатах мозку та печінки проводили методом

pH-залежної рідинної екстракції з сильно кислого середовища [7].

Помітно (табл. 2), що вміст вільної масляної кислоти у гомогенатах мозку та печінки має значні відмінності залежно від способу введення. Насамперед, це стосується печінки, в якій вміст масляної кислоти (у відсотках від загального вмісту радіоактивного матеріалу) поступово збільшується, а потім

Таблиця 1

Зміна співвідношення концентрацій радіоактивного матеріалу «орган/плазма крові» після внутрішньовенного або інтрагастрального введення білим мишам ^{14}C -масляної кислоти (2 ммоль/кг)

Час, год	Внутрішньовенне введення		Інтрагастральне введення	
	Мозок	Печінка	Мозок	Печінка
0,083	0,42±0,13	0,64±0,22	1,51±0,26	3,17±0,70
0,25	1,33±0,20	2,22±0,32	1,10±0,16	6,92±0,69
0,5	1,26±0,17	3,49±0,41	1,07±0,21	6,16±0,71
1	1,05±0,17	5,72±1,66	0,73±0,08	6,54±1,58
2	1,03±0,11	5,43±0,52	0,91±0,15	5,88±1,68
4	1,13±0,11	5,71±0,67	0,84±0,10	5,28±1,49
6	1,42±0,13	4,78±0,52	1,17±0,12	3,80±0,82



Таблиця 2

**Вміст масляної кислоти
(імп/(хв·г) і процент від загальної радіоактивності)
у гомогенатах мозку, печінки
після внутрішньовенного й інтрагастрального
введення масляної кислоти (2 ммоль/кг)**

Час, год	Внутрішньовенне введення		Інтрагастральне введення	
	Масляна кислота	% від загальної радіоактивності	Масляна кислота	% від загальної радіоактивності
Мозок				
0,083	4478±350	50,5±5,1	1300±149	6,3±0,7
0,25	2046±420	21,4±5,2	1697±112	30,0±4,2
0,5	2384±304	46,2±7,2	2351±186	43,1±8,3
1	2001±418	49,8±11,0	2407±173	69,4±7,3
2	1863±578	66,5±21,7	2269±159	59,8±7,9
4	1856±273	65,0±10,0	1025±117	31,8±3,9
6	1758±186	61,2±7,1	761±107	24,7±3,5
Печінка				
0,083	7270±350	16,8±3,0	30 700±3269	71,00±12,44
0,25	8443±420	23,9±3,3	22 700±1871	64,10±6,84
0,5	7929±1280	25,2±4,4	17 000±1396	53,90±5,43
1	11661±1278	37,4±5,2	16 300±987	52,30±12,39
2	9485±2275	38,8±9,9	10 700±876	43,70±11,75
4	8117±810	40,0±5,1	5200±691	25,60±7,46
6	4754±601	47,6±7,0	3200±368	32,10±7,07

знижується протягом часу експерименту, сягаючи максимуму до 1-ї години після внутрішньовенного введення. Навпаки, при інтрагастральному введенні у печінці спостерігається не тільки поступове зменшення загального радіоактивного матеріалу (див. рис. 1, б), але й масляної кислоти (див. табл. 2), при цьому її відсотковий вміст протягом часу експерименту знижується від 71 % до 25–30 %. Обумовлено це різними шляхами надходження масляної кислоти до організму — при внутрішньовенному введенні вся доза потрапляє до системного кровообігу та розподіляється між усіма органами та тканинами залежно від фізико-хімічних властивостей речовини та певного органа. До печінки масляна кислота (яка існує переважно у вигляді бутират-аніона у крові при рН 7,4) потрапляє не тільки завдяки пасивному перерозподілу між кров'ю, але й завдяки бутират-зв'язуючому протеїну [10], що й обумовлює його поступове

збільшення у тканинах печінки протягом часу. З другого боку, наявність процесів інтенсивного метаболізму зумовлює зменшення кількості бутирату до базального рівня та подальше зниження його концентрації (див. табл. 2). При інтрагастральному введенні вся доза бутирату проходить через печінку після всмоктування у ШКТ, тому рівень як масляної кислоти, так і її метаболітів знижується поступово. Високий вміст радіоактивного матеріалу та вихідної речовини у печінці вже в перші хвилини після введення свідчить також про високу швидкість всмоктування масляної кислоти з ШКТ.

У головному мозку, на відміну від печінки, коливання вмісту масляної кислоти не є значно вираженими (див. табл. 2). При внутрішньовенному введенні її вміст незначно коливається та знаходиться на рівні приблизно 55–60 % від загальної кількості радіоактивного матеріалу, а при інтрагастральному введенні спостерігається посту-

пове збільшення кількості масляної кислоти від 6 до 70 % (до 1-ї години після введення), а потім — поступове зменшення до 24 % від загальної кількості радіоактивного матеріалу (див. табл. 2). Такі розбіжності між вмістом бутирату у головному мозку при різних способах введення ^{14}C -масляної кислоти можуть пояснюватися існуванням певних транспортних систем, за допомогою яких заряджений бутират-аніон долає ліпофільні структури ГЕБ. Для жирних кислот із кількістю атомів вуглецю більше 15 показана можливість пробенецид-гальмованого транспорту через ГЕБ [11], тому ймовірним є використання бутиратом аналогічних механізмів. Це пояснює те, що при внутрішньовенному введенні кількість масляної кислоти у головному мозку (в абсолютних значеннях (див. табл. 2)) залишається на майже постійному рівні — активний транспорт бутирату має бути насиченим і регулюватись ендогенними механізмами, що й призводить до підтримки його концентрації на сталому рівні. Поступове збільшення, а потім зменшення концентрації бутирату у крові після його інтрагастрального введення, навпаки, зумовлює аналогічні зміни у головному мозку, тому можливим є те, що за низьких концентрацій бутирату у крові його надходження до головного мозку може мати концентраційно-залежний характер.

При визначенні фармакокінетичних параметрів ^{14}C -масляної кислоти після її внутрішньовенного й інтрагастрального введення немодельним методом (метод статистичних моментів) помітно (табл. 3), що для мозку шлях уведення відіграє більш важливу роль у загальних процесах елімінації препарату (k_{el} дорівнює $(0,015 \pm 0,005)$ і $(0,25 \pm 0,05)$ год $^{-1}$ для внутрішньовенного й інтрагастрального введення відповідно), тимчасом як для печінки це не є важливим фактором (константи елімінації мають один порядок і невірогідно відрізняються). Аналогічні зміни



**Немодельне визначення
фармакокінетичних параметрів ^{14}C -масляної кислоти
в головному мозку (рис. 1, крива 1) та печінці (рис. 1, крива 2)
після її внутрішньовенного й інтрагастрального введення**

Параметр	Внутрішньовенне введення	Інтрагастральне введення
Мозок		
Площа під кривою, $\text{AUC}_{\text{заг}}$, (імп/хв/г)год	131 939±31 092	12 204±1734
Площа під кривою, $\text{AUMC}_{\text{заг}}$, (імп/хв/г)год ²	8 987 746±2 116 832	48 841±7974
Середній час утримання, MRT, год	68±23	4,0±0,9
Константа елімінації $k_{\text{ел}}$, год ⁻¹	0,015±0,005	0,25±0,05
Загальний кліренс $\text{Cl}_{\text{заг}}$, г/год·кг	4,1±0,2	41,1±1,9
Печінка		
Площа під кривою, $\text{AUC}_{\text{заг}}$, (імп/хв/г)год	77 141±21 629	67 424±9372
Площа під кривою, $\text{AUMC}_{\text{заг}}$, (імп/хв/г)год ²	457 381±78 328	208 577±31 804
Середній час утримання, MRT, год	5,9±1,9	3,1±0,6
Константа елімінації $k_{\text{ел}}$, год ⁻¹	0,17±0,06	0,32±0,07
Загальний кліренс $\text{Cl}_{\text{заг}}$, г/год·кг	7,1±0,3	7,4±0,3

характерні й для інших показників — середнього часу утримання (MRT) і загального кліренсу ($\text{Cl}_{\text{заг}}$).

Таким чином, розподіл масляної кислоти в організмі білих мишей не є рівномірним і значною мірою залежить від шляху введення. Надходження бутирату до головного мозку здійснюється шляхом активного транспорту та при низьких концентраціях масляної кислоти і є концентраційно-залежним.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Begley D. J.* Structural and functional aspects of the blood-brain barrier / D. J. Begley, M. W. Brightman // *Prog. Drug Res.* — 2003. — Vol. 63. — P. 40-78.
2. *A Functional Role for Sodium-Dependent Glucose Transport across the Blood-Brain Barrier during Oxygen Glucose Deprivation* / S. Vemula, K. E. Roder, T. Yang [et al.] // *J. Pharm. Exp. Theor.* — 2009. — Vol. 328, N 2. — P. 487-495.
3. *Smith Quentin R.* Transport of Glutamate and Other Amino Acids at

the Blood-Brain Barrier / Quentin R. Smith // *J. Nutrit.* — 2000. — Vol. 130. — P. 1016S-1022S.

4. *Hird F. J.* The mechanism of ketone-body formation from butyrate in rat liver / F. J. Hird, R. H. Symons // *Biochem J.* — 1962. — Vol. 84, N 7. — P. 212-216.

5. *Sodium butyrate enhances fetal globin gene expression in erythroid progenitors of patients with Hb SS and beta thalassemia* / S. P. Perrine, B. A. Miller, D. V. Faller [et al.] // *Blood.* — 1989. — Vol. 74, N 1. — P. 454-459.

6. *Kruh J.* Effects of sodium butyrate, a new pharmacological agent, on cells in culture / J. Kruh // *Mol. and Cell. Biol.* — 1981. — Vol. 42, N 3. — P. 65-82.

7. *Уильямс У. Дж.* Определение анионов : справочник / У. Дж. Уильямс ; пер. с англ. — М. : Химия, 1982. — 624 с.

8. *Транспорт ^{14}C -ацетата и его метаболитов через гистогематические барьеры нервной и пищеварительной систем белых мышей* / В. Б. Ларионов, Н. В. Овчаренко, И. Ю. Борисюк, Е. Б. Лихота // *Вісник психіатрії та психофармакотерапії.* — 2008. — № 2 (14). — С. 45-48.

9. *Scholte H. R.* Organ and intracellular localization of short-chain acyl-CoA synthetase in rat and guinea-pig / H. R. Scholte, P. H. Groot // *Biochimica et Biophys. Acta.* — 1975. — Vol. 409. — P. 283-296.

10. *Marioka K.* Butyrate-binding protein from rat and mouse liver / K. Marioka, T. Ono // *J. Biochem.* — 1978. — Vol. 83. — P. 349-356.

11. *Spector R.* Fatty Acid Transport Through the Blood-Brain Barrier / R. Spector // *J. Neurochem.* — 2006. — Vol. 50, N 2. — P. 639-643.

УДК 613.34.-008.87.+616.34-002-022-07:616.31.-018.73

А. П. Левицький¹, Ю. В. Цісельський², С. О. Дем'яненко¹, П. І. Пустовойт²

ВПЛИВ АНТИБІОТИКА ЛІНКОМІЦИНУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ

¹ДУ «Інститут стоматології НАМН України», Одеса,
²КУ «Одеська обласна клінічна лікарня МОЗ України»

Токсична дія антибіотиків на більшість органів і систем організму, у тому числі і на печінку, загальновідома [1–3]. У той же

час недостатньо даних про особливості негативних наслідків антибіотикотерапії залежно від типу антибіотичного препа-

рату, не повністю розкрито механізми їхньої токсичної дії.

Одним із суттєвих моментів у патогенезі токсикозу, спри-

