

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського  
Національна академія наук України  
Одеський національний медичний університет  
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Карпова Ольга Вікторівна**

УДК 612.81:615.099.08

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**Експериментальна оцінка дезінтоксикаційної та гепатопротекторної дії  
метадоксина при його профілактичному введенні**

14.03.05 – Фармакологія

09 – Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

 О. В. Карпова

Науковий керівник Борисюк Ірина Юріївна, доктор фармацевтичних наук

Одеса – 2019

## АНОТАЦІЯ

*Карнова О. В.* Експериментальна оцінка дезінтоксикаційної та гепатопротекторної дії метадоксина при його профілактичному введенні. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук (доктора філософії) за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія» (09 – Біологія). – Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України; Одеський національний медичний університет МОЗ України, Одеса, 2019.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню актуального завдання фармакології, яке полягає у теоретичному та експериментальному обґрунтуванні доцільності розширення сфер медичного застосування метадоксину (піридоксин–L–2–пірролідон–5–карбоксилату), а саме застосування метадоксину як дезінтоксикаційного та гепатопротекторного засобу для попередження розвитку гострої алкогольної інтоксикації та уражень печінки алкогольної й неалкогольної етіології.

Встановлено, що метадоксин (200 мг/кг, внутрішньоочеревинно (в/о)), введений мишам та щурам за 1 год до введення етанолу (миші – 1 г/кг, внутрішньошлунково (в/ш), щури – 6 г/кг, в/ш), зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу. Введення метадоксину прискорює відновлення до вихідного рівня зниженої спонтанної рухової активності у щурів (у тварин групи контрольної патології через 24 год після введення етанолу значення показників «кількість пересічень секторів поля» та «кількість вертикальних стійок» є нижчими на 42 та 53 % відповідно порівняно до вихідних значень даних показників,  $p < 0,05$ ). Застосування метадоксину знижує частоту розвитку етаноліндукованої міорелаксації у мишей (відносна кількість тварин з міорелаксацією із групи контрольної патології через 2 год після введення етанолу становить 86 проти 17 % тварин із дослідної групи,  $p < 0,05$ ), знижує частоту розвитку потягу до блювання у мишей (відносна кількість тварин з потягом до блювання із групи контрольної патології через 90 хв після

введення етанолу становить 100 проти 33 % тварин із дослідної групи,  $p < 0,05$ ). Введення метадоксину попереджує порушення формування умовних реакцій, що забезпечують процеси навчання у щурів (у тварин групи контрольної патології тривалість латентного періоду після навчання є довшою в 1,6 раз порівняно до латентного періоду до навчання, в той час як у тварин дослідної групи на тлі дії метадоксину тривалість латентного періоду після навчання є довшою в 3,5 раза порівняно до латентного періоду до навчання,  $p < 0,05$ ). Метадоксин не чинить впливу на показник емоційного реагування «кількість актів дефекацій та уринацій» у щурів через 1 год після введення етанолу та на фізичну працездатність у щурів.

Метадоксин (200 мг/кг, в/о), введений щурам за 30 хв до введення  $^{14}\text{C}$ -етанолу (3,5 г/кг, в/ш), прискорює ренальне виведення із організму щурів незміненого етанолу та його метаболітів (через 30 год після введення етанолу сумарна відносна кількість виведеного незміненого етанолу та його метаболітів у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, перевищує в 1,4 раза даний показник у тварин групи контрольної патології,  $p < 0,05$ ) та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату (через 12 год після введення етанолу рівень ацетату у сечі тварин, яким вводили метадоксин, є меншим в 3,9 раза порівняно до даного показника у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ).

Метадоксин (90 мг/кг, в/ш), введений щурам за 30 хв до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) протягом 7 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестазу, а також показників синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспаратамінотрансферази ( $238,13 \pm 2,77$  Од/л,  $p < 0,05$ ),  $\gamma$ -глутамілтранспептидази ( $1,01 \pm 0,14$  Од/л,  $p < 0,05$ ), зниження активності каталази ( $1,83 \pm 0,08$  мкмоль/хв·мг білка,  $p < 0,05$ ), підвищення рівня церулоплазміну ( $457,9 \pm 28,5$  мг/л,  $p < 0,05$ ), зниження рівнів сечовини ( $4,18 \pm 0,47$  ммоль/л,

$p < 0,05$ ), креатиніну ( $36,22 \pm 2,64$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ), запобігає розвитку гіпохолестеринемії ( $2,2 \pm 0,19$  ммоль/л проти  $0,92 \pm 0,12$  ммоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ); статистично невірогідно зменшує вираженість порушень рівнів загального білірубіну ( $2,78 \pm 0,60$  мкмоль/л проти  $3,72 \pm 0,75$  мкмоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ), тригліцеридів ( $3,0 \pm 0,49$  ммоль/л проти  $3,94 \pm 0,66$  ммоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ), але не запобігає порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня глюкози.

Метадоксин (90 мг/кг, в/ш), введений щурам за 30 хв до введення тетрахлорметану (0,4 мл/100 г, підшкірно) протягом 4 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних показників цитолізу та холестази у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази ( $180,76 \pm 7,10$  Од/л,  $p < 0,05$ ),  $\gamma$ -глутамілтранспептидази ( $7,62 \pm 0,43$  Од/л,  $p < 0,05$ ) та лужної фосфатази ( $208,08 \pm 5,21$  Од/л,  $p < 0,05$ ), запобігає значному порушенню активності аланінамінотрансферази ( $201,94 \pm 2,60$  Од/л проти  $215,14 \pm 4,91$  Од/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ) та рівня загального холестерину ( $2,20 \pm 0,07$  ммоль/л проти  $2,44 \pm 0,08$  ммоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ). Оцінити профілактичний вплив метадоксину на рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника неалкогольного генезу виявилось неможливим.

З метою профілактики розвитку патологічних станів доцільним є введення метадоксину у вигляді твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії за 30–60 хв до введення чинників гострої алкогольної інтоксикації та токсичних уражень печінки, оскільки із таблеток метадоксину у розчинах із значеннями рН 1,2, 4,5 та 6,8, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, протягом 35–60 хв вивільняється 54–79 % від вказаної у маркуванні кількості метадоксину, який у фізіологічному діапазоні рН існує у вигляді динамічної системи певних

іонізованих/неіонізованих форм його компонентів – пірролідон карбоксилату та піридоксину, що визначає його розчинність та біопроникність.

Новизна роботи полягає у наступному. У дослідженні вперше встановлено, що профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації зменшує вираженість токсичної дії етанолу на центральну нервову систему, забезпечуючи прискорення відновлення зниженої спонтанної рухової активності у щурів, знижуючи частоту розвитку етаноліндукованої міорелаксації та потягу до блювання у мишей в 5 разів та 3 рази відповідно та попереджуючи порушення формування умовних реакцій, що забезпечують процеси навчання у щурів. Вперше показано, що профілактичне введення метадоксину за умов гострої алкогольної інтоксикації прискорює ренальне виведення із організму щурів незміненого етанолу та ацетальдегіду та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату. Вперше виявлено, що при профілактичному введенні метадоксин попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних показників цитолізу та холестазу, а також синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки та зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестазу у сироватці крові щурів за умов дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольної етіології.

Розроблено та обґрунтовано режим профілактичного введення твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії шляхом оцінки можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів метадоксину (пірролідон карбоксилата та піридоксину) у фізіологічному діапазоні рН та визначення профілів розчинення *in vitro* таблеток метадоксину у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, а саме встановлено, що доцільним є введення таблеток метадоксину за 30–60 хв до введення чинників гострої алкогольної інтоксикації та токсичних уражень печінки.

Результати проведених експериментальних досліджень профілактичної дії метадоксину було включено до матеріалів реєстраційних досьє на генеричні препарати метадоксину «Алкодез® ІС» та «Ліверія ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ» (р/п №№ UA/12717/01/01, UA/13164/01/01), на підставі яких МОЗ України затверджено інструкції для медичного застосування відтворених лікарських засобів із розширеним (порівняно до оригінального лікарського засобу) переліком показань для медичного застосування.

Отримані результати впроваджено у наукову роботу відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», науково-дослідного інституту медико-біологічних проблем ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та у навчальний процес кафедри органічних та фармацевтичних технологій Одеського національного політехнічного університету МОН України.

*Ключові слова:* метадоксин, гостра алкогольна інтоксикація, ураження печінки алкогольного та неалкогольного генезу, профілактика.

*Список публікацій здобувача*

1. Експериментальна оцінка профілактичного впливу алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2012. № 1 (21). С. 36–41. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення статті.)*

2. Експериментальна оцінка ефективності алкодезу в профілактиці етаноліндукованого зниження здатності білих щурів до навчання / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Одеський медичний журнал*. 2012. № 6 (134). С. 42–45. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення статті.)*

3. Карпова О. В., Борисюк И. Ю., Головенко Н. Я. Метадоксил (АЛКОДЕЗ® IC): от молекулы к лекарственному средству. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2013. № 2 (24). С. 4–10. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення статті.)

4. Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих лікарських форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ® IC» з використанням тесту «Розчинення» / З. О. Гіхер, А. В. Єгорова, Д. І. Александрова, М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова. *Одеський медичний журнал*. 2014. № 5 (145). С. 25–29. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)

5. Гепатозахисна дія метадоксину при експериментальному алкогольному гепатиті в щурів / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17, № 4 (65). С. 54–58. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)

6. Стан біохімічних систем крові білих щурів в умовах алкогольного ураження печінки та профілактичної дії метадоксину / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 2 (43). С. 22–25. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)

7. Golovenko N. Ya., Larionov V. B., Karpova O. V. Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88, No. 2. P. 73–81. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, в аналізі та інтерпретації результатів.)

8. Golovenko M. Ya., Karpova O. V., Borisyuk I. Yu. Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical*

*pharmacy*. 2016. Vol. 20, No. 3. P. 24–28. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів.)

9. Овчаренко Н. В., Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Профілактичний вплив Алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу. *Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології*: матеріали наук.–практ. конф. з міжн. уч., м. Дніпропетровськ, 26–27 вересня 2013 р. Дніпропетровськ, 2013. С. 157–158. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення тез.)

10. Борисюк І. Ю., Овчаренко Н. В., Карпова О. В. Влияние Алкодеза (метадоксина) на скорость экскреции этанола и его метаболитов. *Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України*: матеріали наук.–практ. конф., присвяченої 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на півдні України, м. Одеса, 6–7 грудня 2013 р. Одеса, 2013. С. 172–174. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення тез.)

11. Borisyyuk I. Yu., Karpova O. V. Neurotransmitter profile of metadoxine. *XVI conference of young scientists and student-chemists of southern region of Ukraine with international participation: Dedicated to the 85th anniversary of academician of AS USSR A. V. Bogatsky*: the materials of conf. with int. part., Odessa, 28–30 April 2014. Odessa, 2014. P. 42. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення тез.)

12. Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Возможности клинического применения метадоксина (Алкодеза). *Сучасний вимір медичної науки та практики*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 червня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 85–86. (Внесок здобувача: літературний пошук, оформлення тез.)

13. Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Сравнительная оценка таблетированных лекарственных форм препаратов «МЕТАДОКСИЛ» и



«АЛКОДЕЗ® ІС» с использованием теста «Растворение». *Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 11–12 липня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 88–90. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення тез.)*

14. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Перспективи використання Алкодезу ІС в лікуванні алкоголізму. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Одеса, 20–21 лютого 2015 р. Одеса, 2015. С. 20–22. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел.)*

15. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Підходи до моделювання уражень печінки у експериментальних тварин. *Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 лютого 2015 р. Львів, 2015. С. 113–115. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)*

16. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Проблеми вибору ліків при алкогольній залежності. *Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Київ, 6–7 березня 2015 р. К., 2015. С. 24–26. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)*

17. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Метадоксин (АЛКОДЕЗ/ЛИВЕРИЯ): механізм действия. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 березня 2015 р. Дніпропетровськ, 2015. С. 92–96. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення тез.)*

18. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Профілактика детского алкоголізма как шаг к формированию здорового образа жизни. *Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу*

*життя*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 березня 2015 р.  
Львів, 2015. С. 82–84. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)

## SUMMARY

*Karpova O. V.* Experimental evaluation of detoxicative and hepatoprotective action of metadoxine prophylactic administration. – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis of scientific degree of Candidate of biological sciences (Doctor of Philosophy) in specialty 14.03.05 – “Pharmacology” (09 – Biology). – A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine; Odessa National Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Odessa, 2019.

The thesis is devoted to solving the urgent task of pharmacology, which consists in theoretical and experimental substantiation of the feasibility of extension of the scope of medical use of metadoxine (pyridoxine-L-2-pyrrolidone-5-carboxylate), namely, the use of metadoxine as a detoxicative and hepatoprotective agent to prevent the development of acute alcohol intoxication and liver injury of alcoholic and non-alcoholic etiology.

It was found that metadoxine administration (200 mg/kg, intraperitoneally (i.p.)) to mice and rats 1 hr prior to ethanol administration (mice – 1 g/kg, intragastrically (i.g.)), rats – 6 g/kg, i.g.) reduces the severity of ethanol neurotoxicity. Metadoxine administration accelerates recovery to the initial levels of reduced spontaneous locomotor activity in rats (in animals of the control pathology group 24 hr after ethanol administration the indicators “the number of field sectors crossings” and “the number of rearings” are 42 and 53 % lower, respectively, than the initial levels of these indicators,  $p < 0,05$ ). Metadoxine administration reduces the frequency of ethanol induced muscle relaxation in mice (the relative number of the animals with muscle relaxation in the control pathology group 2 hr after ethanol administration is 86 versus 17 % of the animals in the experimental group,  $p < 0,05$ ), reduces the urge for vomiting in mice (the relative number of the animals with the urge for vomiting in the control pathology group 90 min after ethanol administration is 100 versus 33 % of the animals in the experimental group,  $p < 0,05$ ).

Metadoxine administration prevents the inadequate formation of conditioned reactions causing learning processes in rats (in the animals of the control pathology group the latent period after training is 1,6 times longer than the latent period before training, while in the animals of the experimental group on the background of the metadoxine action the duration of the latent period after training is 3,5 times longer than the latent period after training,  $p < 0,05$ ). Metadoxine doesn't affect on the indicator "the number of acts of defecation and urination" of the emotional response in rats 1 hr after ethanol administration and on the physical performance in rats.

Metadoxine administration (200 mg/kg, i.p.) to rats 30 min prior to  $^{14}\text{C}$ -ethanol administration (3,5 g/kg, i.g.) accelerates the renal elimination of unchanged ethanol and its metabolites in rats (30 hr after ethanol administration the total relative amount of eliminated unchanged ethanol and its metabolites in animals were previously administered metadoxine, is 1,4 times higher than this indicator in animals of the control pathology group,  $p < 0,05$ ) and prevents the metabolic disorder of recycling of acetate (12 hr after ethanol administration the levels of acetate in the urine of the animals were administered metadoxine is 3,9 times less than this indicator in the control pathology group,  $p < 0,05$ ).

Metadoxine administration (90 mg/kg, i.g.) to rats 30 min prior to ethanol administration (6 g/kg, i.g.) for 7 days prevents or reduces the severity of the pathological changes of the biochemical markers of cytolysis and cholestasis and the indicators of the synthetic liver function in blood serum of rats, namely, statistically significantly prevents the increase in activity of aspartate aminotransferase ( $238,13 \pm 2,77$  U/l,  $p < 0,05$ ),  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase ( $1,01 \pm 0,14$  U/l,  $p < 0,05$ ), the decrease in catalase activity ( $1,83 \pm 0,08$   $\mu\text{mol} (\text{min} \cdot \text{mg protein})^{-1}$ ,  $p < 0,05$ ), the increase of ceruloplasmin levels ( $457,9 \pm 28,5$  mg/l,  $p < 0,05$ ), the decrease of urea levels ( $4,18 \pm 0,47$  mmol/l,  $p < 0,05$ ), creatinine levels ( $36,22 \pm 2,64$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $p < 0,05$ ), prevents the development of hypocholesterolemia ( $2,2 \pm 0,19$  mmol/l versus  $0,92 \pm 0,12$  mmol/l in the control pathology group,  $p < 0,05$ ); statistically insignificantly reduces the severity of abnormalities in the total bilirubin levels

( $2,78 \pm 0,60 \mu\text{mol/l}$  versus  $3,72 \pm 0,75 \mu\text{mol/l}$  in the control pathology group,  $p < 0,05$ ), in the triglycerides levels ( $3,0 \pm 0,49 \text{ mmol/l}$  versus  $3,94 \pm 0,66 \text{ mmol/l}$  in the control pathology group,  $p < 0,05$ ), but doesn't prevent abnormalities in alanine aminotransferase activity and glucose levels.

Metadoxine administration (90 mg/kg, i.g.) to rats 30 min prior to carbon tetrachloride administration (0,4 ml/100 g, subcutaneously) for 4 days prevents or reduces the severity of the pathological changes of the biochemical markers of cytolysis and cholestasis in blood serum of rats, namely, statistically significantly prevents the increase in activity of aspartate aminotransferase ( $180,76 \pm 7,10 \text{ U/l}$ ,  $p < 0,05$ ),  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase ( $7,62 \pm 0,43 \text{ U/l}$ ,  $p < 0,05$ ) and alkaline phosphatase ( $208,08 \pm 5,21 \text{ U/l}$ ,  $p < 0,05$ ), prevents significant abnormalities in alanine aminotransferase activity ( $201,94 \pm 2,60 \text{ U/l}$  versus  $215,14 \pm 4,91 \text{ U/l}$  in the control pathology group,  $p < 0,05$ ) and in total cholesterol levels ( $2,20 \pm 0,07 \text{ mmol/l}$  versus  $2,44 \pm 0,08 \text{ mmol/l}$  in the control pathology group,  $p < 0,05$ ). It wasn't possible to evaluate the metadoxine prophylactic effect on the total protein levels and albumin levels in blood serum of rats on the background of the action of the toxic liver damage non-alcoholic genesis factor.

In order to prevent the development of pathological conditions, it is appropriate to administer immediate release solid oral dosage forms with systemic action of metadoxine 30–60 min prior to administration of acute alcohol intoxication and toxic liver damage factors, since in the solutions with pH of 1,2, 4,5 and 6,8, which correspond to the pH values in main parts of the gastrointestinal tract, from metadoxine tablets is released within 35–60 min 54–79 % of the labelled amount of metadoxine, which in the physiological pH range exists in the form of the dynamic system of the certain ionized/non-ionized forms of its components – pyrrolidone carboxylate and pyridoxine, that determines its solubility and biopermeability.

The novelty of the thesis is as follows. For the first time, it has been established that metadoxine prophylactic administration on the background of the action of the acute alcohol intoxication factor reduces the severity of the central nervous system ethanol toxic effect by providing acceleration of recovery of reduced

spontaneous locomotor activity in rats, by reducing the frequency of ethanol induced muscle relaxation and the urge for vomiting in mice of 5 times and 3 times, respectively, and by preventing the inadequate formation of conditioned reactions causing learning processes in rats. For the first time, it has been shown that metadoxine prophylactic administration the background of the action of the acute alcohol intoxication factor accelerates the renal elimination of unchanged ethanol and its metabolites in rats and prevents the metabolic disorder of recycling of acetate. For the first time, it has been established that metadoxine prophylactic administration prevents or reduces the severity of the pathological changes of the biochemical indicators of cytolysis, cholestasis and the synthetic liver function in blood serum of rats on the background of the action of alcoholic liver damage factor and prevents or reduces the severity of the pathological changes of the biochemical markers of cytolysis and cholestasis in blood serum of rats on the background of the action of toxic liver damage non-alcoholic etiology factor.

The regimen of the prophylactic administration of immediate release solid oral dosage forms of metadoxine with systemic action has been developed and justified by evaluating possible ionized/nonionized forms of metadoxine components (pyrrolidone carboxylate and pyridoxine) in the physiological pH range and by defining *in vitro* dissolution profiles of metadoxine tablets in the solutions with pH values, which correspond to pH values in main parts of the gastrointestinal tract, namely, it has been established that it is appropriate to administer metadoxine tablets 30–60 min prior to administration of acute alcohol intoxication and toxic liver damage factors.

The results of experimental studies of metadoxine prophylactic action were included in the materials of registration dossier for the generic metadoxine-containing medicinal products “Alkodez IC” and “Liveria IC”, 0,5 g tablets, produced by “InterChem SLC”, Ukraine (r/c №№ UA/12717/01/01, UA/13164/01/01), on the basis of which the Ministry of Health of Ukraine was approved the instructions for medical use of the reproduced medicinal products with extended (compared to the original medicinal product) list of indications for the medical use.

The research findings were integrated into the scientific work of the Department of Medical Chemistry of the State Enterprise «Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», the Scientific Research Institute of Medical and Biological Problems of the Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine and into the educational process of the Department of Organic and Pharmaceutical Technologies of the Odessa National Polytechnic University of the Ministry of Education and Science of Ukraine.

*Key words:* metadoxine, acute alcohol intoxication, alcohol-induced and non-alcoholic liver damage, prevention.

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП.....	20
РОЗДІЛ 1 ПАТОГЕНЕЗ ТА ФАРМАКОТЕРАПІЯ ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ, УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ АЛКОГОЛЬНОГО ТА НЕАЛКОГОЛЬНОГО ҐЕНЕЗУ.....	27
1.1 Патогенез гострої алкогольної інтоксикації, уражень печінки алкогольного та неалкогольного ґенезу.....	27
1.2 Фармакотерапія гострої алкогольної інтоксикації, уражень печінки алкогольного та неалкогольного ґенезу.....	34
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	54
2.1 Характеристика лабораторних тварин.....	54
2.2 Реактиви та сполуки.....	55
2.3 Прилади.....	56
2.4 Патофізіологічні методи дослідження.....	56
2.5 Фармакологічні методи дослідження.....	58
2.6 Біохімічні методи дослідження.....	60
2.7 Фізико-хімічні методи дослідження.....	66
2.7.1 Метод рідинної сцинтиляційної спектрофотометрії.....	66
2.7.2 Метод УФ-спектрофотометрії.....	68
2.8 Біофармацевтичний метод дослідження.....	69
2.9 Статистична обробка експериментальних даних.....	71
РОЗДІЛ 3 ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ВПЛИВ МЕТАДОКСИНУ НА ДИНАМІКУ ПОКАЗНИКІВ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ У ТВАРИН НА ТЛІ ДІЇ ЧИННИКА ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ.....	73
3.1 Профілактичний вплив метадоксину на динаміку показників спонтанної рухової, орієнтовно-дослідницької активності та емоційного реагування у щурів на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.....	74



3.2 Профілактичний вплив метадоксину на частоту розвитку міорелаксації у мишей на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації..... 77

3.3 Профілактичний вплив метадоксину на фізичну працездатність щурів на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації..... 78

3.4 Профілактичний вплив метадоксину на потяг до блювання у мишей на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації..... 80

3.5 Профілактичний вплив метадоксину на розумову працездатність щурів на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації..... 81

РОЗДІЛ 4 ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ВПЛИВ МЕТАДОКСИНУ НА ЕЛІМІНАЦІЮ ЕТАНОЛУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ У ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ ЧИННИКА ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ..... 87

РОЗДІЛ 5 ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ВПЛИВ МЕТАДОКСИНУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ У ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ ЧИННИКА ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ АЛКОГОЛЬНОГО ТА НЕАЛКОГОЛЬНОГО ГЕНЕЗУ..... 97

5.1 Профілактичний вплив метадоксину на біохімічні показники сироватки крові у щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу..... 98

5.2 Профілактичний вплив метадоксину на біохімічні показники сироватки крові щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу..... 112

РОЗДІЛ 6 МОЖЛИВІ ІОНІЗОВАНІ/НЕІОНІЗОВАНІ ФОРМИ КОМПОНЕНТІВ МЕТАДОКСИНУ ТА КІНЕТИКА РОЗЧИНЕННЯ *IN VITRO* ТВЕРДИХ ДОЗОВАНИХ ПЕРОРАЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ МЕТАДОКСИНУ НЕГАЙНОГО ВИВІЛЬНЕННЯ СИСТЕМНОЇ ДІЇ У РОЗЧИНАХ ІЗ ЗНАЧЕННЯМИ pH, ЯКІ ВІДПОВІДАЮТЬ ПОКАЗНИКАМ pH В ОСНОВИХ ВІДДІЛАХ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ..... 120

6.1 Структура, фізико-хімічні властивості, потенційна реакційна здатність пірролідонкарбонової та глютамінової кислот та їх протолітичних форм..... 121

6.2 Структура, фізико-хімічні властивості, потенційна реакційна здатність піридоксину, піридоксалу, піридоксаміну та їх протолітичних форм.....	125
6.3 Типи хімічних взаємодій складових компонентів молекули метадоксину – пірролідон карбоксилату та піридоксину.....	130
6.4. Кінетика розчинення <i>in vitro</i> твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту.....	135
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	144
ВИСНОВКИ.....	168
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	171
ДОДАТКИ.....	194

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

- ААС – алкогольний абстинентний синдром;  
АДГ – алкогольдегідрогеназа;  
АлДГ – ацетальдегіддегідрогеназа;  
АлАТ – аланінамінотрансфераза;  
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;  
АТФ – аденозинтрифосфат;  
АХП – алкогольна хвороба печінки;  
ГАМК –  $\gamma$ -аміномасляна кислота;  
ГГТ –  $\gamma$ -глутамілтранспептидаза;  
ДАФ – дігідроксиацетонфосфат;  
ЕФЛ – есенціальні фосфоліпіди;  
КТ – каталаза;  
ЛФ – лужна фосфатаза;  
НАЖХП – неалкогольна жирова хвороба печінки;  
НАД<sup>+</sup> – нікотинамідаденіндинуклеотид окислений;  
НАДН – нікотинамідаденіндинуклеотид відновлений;  
ПОЛ – перекисне окислення ліпідів;  
ФНП- $\alpha$  – фактор некрозу пухлини  $\alpha$ ;  
ЦНС – центральна нервова система;  
УДХК – урсодезоксихолева кислота;  
УРПУ – умовна реакція пасивного уникнення;  
LD<sub>50</sub> – median lethal dose;  
LD<sub>100</sub> – absolute lethal dose.

## ВСТУП

### **Обґрунтування вибору теми дослідження.**

За останніми даними, у всьому світі близько 1,4 % населення має психічні розлади, спричинені вживанням алкоголю [1]. В Україні поширеність даних розладів наближається до максимальних світових значень (5,0 %) та становить 4,7 %, що означає, що майже 1 з 20 українців має алкогольну залежність [1]. Серед численних вісцеральних уражень, які впливають на загальну тривалість життя при алкоголізмі, патології печінки відводиться провідне місце. За останніми оцінками, у країнах з високим рівнем доходу близько 60–80 % випадків смерті від хвороб печінки пов'язано з надмірним вживанням алкоголю [2]. Поряд із алкогольною хворобою печінки до найбільш значущих її метаболічних уражень відносять неалкогольну жирову хворобу печінки, глобальна поширеність якої становить 20–46 % [3].

Існуючі на сьогодні методи фармакотерапії психічних розладів, спричинених вживанням алкоголю, своєю кінцевою метою мають модуляцію функціонування дофамін- та серотонінергічної систем [4]. Сучасні підходи до лікування хвороб печінки алкогольного та неалкогольного генезу спрямовані на усунення або послаблення провокуючих чинників, які призводять до розвитку метаболічних уражень печінки, та на проведення патогенетичної терапії шляхом застосування гепатопротекторів [5,6]. Переважній більшості критеріїв «ідеального» нейро- і гепатопротектора відповідає метадоксин, який має унікальний спектр фармакологічної дії [7]. Дезінтоксикаційний, антистеатозний, антихолестатичний, протизапальний, анксіолітичний та інші ефекти метадоксину забезпечують широкі можливості його застосування у наркологічній та терапевтичній практиці, але роль метадоксину у профілактиці алкогольної інтоксикації та хвороб печінки на сьогодні вивчена мало. Отже, дослідження профілактичної дії метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації, а також на тлі дії чинників алкогольного та неалкогольного ураження печінки на сьогодні є предметом наукового інтересу та стало підставою для проведення даного дослідження.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Матеріали дисертації є фрагментом планової науково-дослідної роботи відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України на тему: «Молекулярні механізми дії та конструювання біологічно активних речовин (нейротропних, противірусних, антимікробних)» (№ держреєстрації 0102U001629). Дисертант є співвиконавцем зазначеної науково-дослідної роботи.

### **Мета і завдання дослідження.**

*Мета роботи* – на підставі експериментальних досліджень обґрунтувати доцільність застосування метадоксину для попередження розвитку гострої алкогольної інтоксикації та уражень печінки алкогольної та неалкогольної етіології.

Відповідно до поставленої мети сформульовано такі *завдання* дослідження:

1. Визначити профілактичну дію метадоксину на динаміку поведінкових показників спонтанної рухової, орієнтовно-дослідницької активності та емоційного реагування у щурів, на частоту розвитку міорелаксації та потягу до блювання у мишей, на фізичну та розумову працездатність у щурів за умов дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.

2. Дослідити вплив метадоксину при його попередньому введенні на елімінацію етанолу та його метаболітів у щурів на тлі гострої алкогольної інтоксикації.

3. Оцінити профілактичну дію метадоксину на біохімічні показники цитолізу та холестазу, а також синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки.

4. Дослідити вплив метадоксину при його профілактичному введенні на біохімічні показники цитолізу, холестазу та білковосинтетичної функції печінки у сироватці крові щурів за умов дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу.

5. Визначити можливі іонізовані/неіонізовані форми компонентів

метадоксину – пірролідон карбоксилату та піридоксину – у фізіологічному діапазоні рН.

6. Дослідити кінетику розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту.

*Об'єкт дослідження* – фармакологічне попередження розвитку гострої алкогольної інтоксикації та уражень печінки токсичними агентами на тлі дії чинників цих патологічних станів.

*Предмет дослідження* – профілактична дія метадоксину на тлі дії чинників розвитку гострої алкогольної інтоксикації, токсичного ураження печінки алкогольного та неалкогольного генезу.

**Методи дослідження:** патофізіологічні, фармакологічні, біохімічні, фізико-хімічні, біофармацевтичні, статистичні.

Патофізіологічні методи дослідження використовували для моделювання гострої алкогольної інтоксикації, алкогольного ураження печінки та тетрахлорметанового ураження печінки.

Фармакологічні методи застосовували для дослідження профілактичної дії метадоксину на динаміку показників поведінкових реакцій у тварин. Метод «Відкрите поле» використовували для визначення спонтанної рухової активності, орієнтовно-дослідницької поведінки та емоційного реагування, метод «Натягнута проволока» – для оцінки частоти розвитку міорелаксації, «Ротор-тест» – для оцінки фізичної працездатності, метод «Умовна реакція пасивного уникнення» – для оцінки розумової працездатності тварин.

За допомогою біохімічних методів визначали вплив метадоксину при його профілактичному введенні на біохімічні показники цитолізу, холестазу та синтетичної функції печінки у сироватці крові тварин. Ферментативно-колориметричні методи використовували для визначення активності аспаратамінотрансферази, аланінамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептідази, каталази, лужної фосфатази, вмісту загального холестерину, тригліцеридів,

сечовини, глюкози. Прямі колориметричні методи використовували для визначення концентрації загального білка, альбуміну, загального білірубіну, креатиніну, церулоплазміну.

Фізико-хімічний метод рідинної сцинтиляційної спектрофотометрії використовували для дослідження впливу метадоксину при його попередньому введенні на елімінацію  $^{14}\text{C}$ -етанолу та його метаболітів у тварин.

За допомогою фізико-хімічного методу УФ-спектрофотометрії оцінювали можливі іонізовані/неіонізовані форми пірролідон карбоксилату та піридоксину (компонентів метадоксину) у фізіологічному діапазоні рН.

Біофармацевтичний тест «Розчинення» із застосуванням спектрофотометричного методу визначення метадоксину, використовували для дослідження кінетики розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину.

Для обробки отриманих даних використовували методи описової статистики (для кількісних змінних – середнє арифметичне, стандартне відхилення; для категоріальних – частота). Для кількісних змінних перевіряли гіпотезу щодо нормальності розподілення значень досліджуваного показника у групах за допомогою критерію Шапіро – Уїлка. Порівняння груп за кількісними змінними здійснювали за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента, порівняння за категоріальними змінними – за допомогою непараметричного U-критерію Манна – Уїтні. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 6.0». Відмінності між групами визнавалися достовірними при  $p < 0,05$ .

### **Наукова новизна отриманих результатів.**

У дослідженні вперше встановлено, що профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації зменшує вираженість токсичної дії етанолу на центральну нервову систему, забезпечуючи прискорення відновлення зниженої спонтанної рухової активності у щурів, знижуючи частоту розвитку етаноліндукованої міорелаксації та потягу

до блювання у мишей в 5 разів та 3 рази відповідно та попереджуючи порушення формування умовних реакцій, що забезпечують процеси навчання у щурів.

Вперше показано, що профілактичне введення метадоксину за умов гострої алкогольної інтоксикації прискорює ренальне виведення із організму щурів незміненого етанолу та його метаболітів та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату.

Вперше виявлено, що при профілактичному введенні метадоксин попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних показників цитолізу та холестазу, а також синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки та зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестазу у сироватці крові щурів за умов дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольної етіології.

Розроблено та обґрунтовано режим профілактичного введення твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії шляхом оцінки можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів метадоксину (пірролідон карбоксилату та піридоксину) у фізіологічному діапазоні рН та визначення профілів розчинення *in vitro* таблеток метадоксину у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, а саме встановлено, що доцільним є введення таблеток метадоксину за 30–60 хв до введення чинників гострої алкогольної інтоксикації та токсичних уражень печінки.

#### **Практичне значення отриманих результатів.**

Результати проведених експериментальних досліджень профілактичної дії метадоксину було включено до матеріалів реєстраційних досьє на генеричні препарати метадоксину «Алкодез® ІС» та «Ліверія ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ» (р/п №№ UA/12717/01/01, UA/13164/01/01), на підставі яких МОЗ України затверджено інструкції для медичного застосування відтворених лікарських засобів із розширеним (порівняно



до оригінального лікарського засобу) переліком показань для медичного застосування.

Отримані результати впроваджено у наукову роботу відділу медичної хімії ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», науково-дослідного інституту медико-біологічних проблем ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» та у навчальний процес кафедри органічних та фармацевтичних технологій Одеського національного політехнічного університету МОН України.

### **Особистий внесок здобувача.**

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею здобувача. Дисертантом разом з науковим керівником було окреслено об'єкт та предмет дослідження, визначено мету і завдання наукової роботи, розроблено загальні методики дослідження. Особисто здобувачем проведено патентно-інформаційний та літературний пошук, виконано експериментальні дослідження, проведено узагальнення, аналіз та систематизацію отриманих результатів, подано їх наукову інтерпретацію, сформульовано висновки роботи. Результати дослідження профілактичного впливу метадоксину на біохімічні показники сироватки крові у щурів на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки отримано завдяки консультативній допомозі провідних наукових співробітників відділу загальної токсикології ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» д.б.н. Шаяхметової Г. М. та к.б.н. Вороніної А. К., за що автор висловлює їм подяку.

### **Апробація матеріалів дисертації.**

Основні результати дисертаційної роботи оприлюднено на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології» (Дніпропетровськ, 2013); науково-практичній конференції, присвяченій 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на півдні України «Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України» (Одеса, 2013); XVI конференції молодих вчених та студентів-хіміків південного регіону України з міжнародною участю, присвяченій

85-річчю з дня народження академіка АН УРСР О. В. Богатського (Одеса, 2014); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасний вимір медичної науки та практики» (Дніпропетровськ, 2014); міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні» (Дніпропетровськ, 2014); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства» (Одеса, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки» (Львів, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики» (Київ, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики» (Дніпропетровськ, 2015); міжнародній науково-практичній конференції «Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу життя» (Львів, 2015).

#### **Публікації за темою дисертації.**

За матеріалами дисертації опубліковано 7 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України (з них 1 оглядова, 1 у наукометричному журналі, 1 у наукометричному журналі бази Scopus), 1 наукова стаття в іншому виданні, 10 тез доповідей на науково-практичних конференціях.

#### **Обсяг та структура дисертації.**

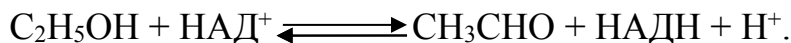
Дисертаційна робота викладена на 207 сторінках комп'ютерного тексту, складається з анотацій, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», чотирьох розділів результатів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків, списку використаних джерел, який містить 199 джерел (з них 103 українських та російськомовних, 96 іноземних) та додатків. Робота проілюстрована 25 таблицями, 14 рисунками.

**РОЗДІЛ 1**  
**ПАТОГЕНЕЗ ТА ФАРМАКОТЕРАПІЯ ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ**  
**ІНТОКСИКАЦІЇ, УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ АЛКОГОЛЬНОГО ТА**  
**НЕАЛКОГОЛЬНОГО ГЕНЕЗУ**  
**(Огляд літератури)**

1.1 Патогенез гострої алкогольної інтоксикації, уражень печінки алкогольного та неалкогольного генезу

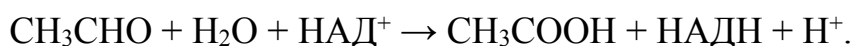
Наявні на сьогодні відомості про механізми токсичної дії екзогенного етанолу дозволяють більш-менш чітко виділити його прямі і опосередковані ефекти [8]. Прямі токсичні ефекти етанолу обумовлені його мембранотропною і конформаційною дією, а також здатністю взаємодіяти з неестерифікованими жирними кислотами. Опосередкована токсична дія етанолу проявляється каскадом різноманітних метаболічних розладів, що виникають при його окисненні, а також токсичними ефектами ацетальдегіду і продуктів його метаболізму.

Основну роль в метаболізмі етанолу відіграє НАД<sup>+</sup>-залежна алкогольдегідрогеназа (АДГ), яка каталізує оборотну реакцію утворення ацетальдегіду з етанолу:



Відновлений нікотинамідаденіндинуклеотид (НАДН) бере участь в якості переносника водню, відіграючи важливу роль модифікатора напрямку ензиматичної реакції [9]. Тому достатня кількість нікотинамідаденіндинуклеотида і співвідношення окисленої і відновленої форми цього коферменту (НАД<sup>+</sup>/НАДН) дозволяють характеризувати перебіг ферментативної реакції окислення. При підвищенні концентрації ацетальдегіду і НАДН напрямок реакції змінюється, і утворюється етанол.

За участю окисленої форми нікотинамідаденіндинуклеотида (НАД<sup>+</sup>) ацетальдегіддегідрогеназа (АлДГ) окислює ацетальдегід до ацетату:



Значення АлДГ в системі АДГ–НАД<sup>+</sup>–НАДН–АлДГ визначається кількістю НАД<sup>+</sup>, регенерація якого відбувається в процесі відновлення ацетальдегіду, утвореного у надлишкових кількостях. З цього приводу у літературі є різні судження, які зводяться до наступного: метаболізм ацетальдегіду залежить від інтенсивності окислення етанолу; швидкість окислення ацетальдегіду визначається активністю АлДГ, яка еквівалентна рівню вільного НАД<sup>+</sup>; реокислення НАДН починається після окислення основної маси етанолу і ацетальдегіду в організмі і відбувається в мітохондріях незалежно від окислення алкоголю і ацетальдегіду [9].

Серед структур, особливо чутливих до токсичної дії етанолу, центральна нервова система (ЦНС) займає одне з перших місць. Дія екзогенного етанолу на нервову систему проявляється метаболічними, нейромодуляторними і нейротоксичними ефектами [9]. Етанол чинить пригнічувальний вплив на нервову тканину і обмін речовин в ній, викликаючи порушення окислювальних процесів в тканині головного мозку, у т. ч. зниження утилізації аденозинтрифосфата (АТФ), глюкози – найбільш специфічного субстрату обміну речовин у головному мозку, порушення транспорту амінокислот (у т. ч. нейромедіаторної глутамінової кислоти) і обміну амінокислот (процеси трансамінування) в нервових клітинах [10]. Безпосередньо зв'язуючись з білками нейрональних мембран, етанол блокує синаптичні рецептори, інгібує активність ферментів, змінює збудливість нейронів. Пошкоджені мембрани втрачають енергетичний потенціал, електрозбуджувальну функцію, контроль за іонними потоками та медіаторними системами, виникають патологічні (запальні, нейродегенеративні, злоякісні) зміни у тканині [11].

Дія етанолу на ЦНС біфазна: в малих дозах він чинить стимулюючу дію, при більш високих дозах відбувається загальне пригнічення сенсорно-рухової функції [12]. У експериментальних тварин по мірі збільшення концентрації етанолу в крові послідовно спостерігаються активація локомоторної активності, гіпотермія, кома, аж до летального наслідку [8]. На моделях гострої алкогольної інтоксикації продемонстровано посилення дофамінергічної провідності

у деяких відділах ЦНС, що супроводжується підвищенням концентрації екстраинаптичного дофаміну, що є основною причиною стимулюючої дії невеликих доз етанолу. Згідно з деякими даними, безпосередньою причиною підвищення рівня дофаміну в ЦНС при гострій алкогольній інтоксикації може бути пряме збудження дофамінергічних нейронів етанолом у вентральній ділянці покривки. За альтернативною гіпотезою, активація дофамінергічних нейронів етанолом може відбуватися через його взаємодію з ГАМК<sub>A</sub>-ергічними іонотропними рецепторами [13]. На думку H.L. June et al., нейротоксична дія етанолу полягає в його властивостях агоніста ГАМК-ергічної системи, стимуляції функцій дофамінергічної, норадреналінергічної, серотонінергічної, ацетилхолінергічної та опіатної систем [9]. Припускають, що дія етанолу проявляється в зменшенні вмісту у головному мозку ацетилхоліну та зниженні активності холінацетилази. Стресовий вплив етанолу викликає порушення балансу між синтезом та утилізацією  $\gamma$ -аміномасляної кислоти (ГАМК) з вираженим зниженням активності глутаматдекарбоксилази, яка каталізує перетворення глутамату в ГАМК. Показники вмісту серотоніну у головному мозку при гострій інтоксикації етанолом свідчать про появу різних ефектів. Так, рядом авторів виявлено, що одноразове введення етанолу викликає зниження вмісту серотоніну, поряд з цим в інших роботах встановлено збільшення його рівня [10].

В тканині головного мозку окислюється менш 1 % етанолу, що потрапляє до організму [14]. Отже, метаболічні порушення в мозковій тканині при алкогольній інтоксикації неможна пояснити прямими наслідками біотрансформації етанолу, як це відзначається для печінки. Однак порушення редокс-стану у головному мозку можуть бути обумовлені окисленням ацетальдегіду, який транспортується кров'ю з печінки та окислюється до ацетату під дією ацетальдегіддегідрогенази. Конкуруючи за фермент ацетальдегіддегідрогеназу з біогенними альдегідами, ацетальдегід порушує метаболізм біогенних амінів. При конденсації останніх з ацетальдегідом утворюються речовини з морфіноподібною дією, що діють як

псевдонеуротрансмітери. Крім того, в процесі метаболізму самого ацетальдегіду можуть утворюватися вільні радикали, безпосередній вплив яких на тканину мозку може призвести до набряку тканини, загибелі нейронів, порушення гематоенцефалічного бар'єру [13]. Ацетальдегід легко зв'язується з карбонільними і сульфгідрильними групами білків, викликаючи їх конформаційні зміни і порушення активності багатьох ферментів, білків-транспортів і рецепторів. Ацетальдегід здатний чинити пряму шкідливу дію на мітохондріальні системи клітини.

У метаболічному циклі етанолу, що надходить до організму, печінка несе основне навантаження. Тривале введення етанолу максимально завантажує шлях його метаболізму, перетворюючи печінку в основний «орган-мішень». Алкогольна хвороба печінки (АХП) – це різні морфологічні форми метаболічного ураження печінки, що виникають при вживанні гепатотоксичних доз алкоголю і обумовлені цим клінічні прояви [15]. Виділяють такі основні форми АХП – жирова дистрофія (стеатоз), алкогольний стеатогепатит, гострий та хронічний гепатит, цироз печінки.

Поряд із алкогольною хворобою печінки до найбільш значущих метаболічних уражень печінки відносять неалкогольну жирову хворобу печінки [16-18].

Неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП) – патологічний стан, що характеризується значним відкладенням ліпідів в паренхімі печінки у пацієнтів, в анамнезі яких немає згадок про надмірне вживання алкоголю. НАЖХП протікає в кілька стадій і являє собою спектр клініко-морфологічних змін паренхіми печінки, що послідовно розвиваються: жирова дистрофія (стеатоз), неалкогольний стеатогепатит – жирова дистрофія з запаленням і пошкодженням гепатоцитів, фіброз і цироз печінки на тлі прогресуючих функціональних порушень органу.

АХП і НАЖХП відрізняються за етіологією, однак у них простежується спільність патогенетичних факторів розвитку ураження печінки, однотипність морфологічних і біохімічних критеріїв [19-21]. Механізм прогресування

алкогольної хвороби печінки та неалкогольної жирової хвороби печінки описується моделлю «подвійного удару» [22,23].

«Перший удар» – формування стеатозу через токсичну дію етанолу, а також при ожирінні призводить до того, що у печінці порушується обмін ліпідів, що супроводжується збільшенням вмісту вільних жирних кислот, зниженням швидкості  $\beta$ -окислення останніх у мітохондріях, підвищенням продукції тригліцеридів, холестерину. По мірі накопичення жиру печінкова клітина стає все більш вразливою і чутливою до токсичних впливів.

«Другий удар» – гепатоцити з ознаками стеатозу самостійно продукують прооксиданти, що обумовлено активацією CYP 2E1- і CYP 4A-залежного окислення надлишку вільних жирних кислот, що супроводжується формуванням пулу дикарбоксильних кислот, які служать субстратом для  $\beta$ -окислення з підвищенням утворенням активних форм кисню; крім того, етанол та інші токсини, включаючи кишкову ендотоксемію, в реакціях окислення також індукують надлишкову продукцію і накопичення в гепатоциті вільних радикалів [23-25]. Вільні радикали запускають реакції перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [26], а також продукцію прозапальних цитокінів, включаючи фактор некрозу пухлини  $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), інтерлейкін-6 та інтерлейкін-8. В умовах оксидативного стресу ФНП- $\alpha$  сприяє апоптозу гепатоцитів, розвитку некрозу і запальної клітинної інфільтрації, потім – фіброзу.

Крім прямої гепатотоксичної дії етанолу на печінку, мають місце токсична дія ацетальдегіду, затримка білків і води в гепатоцитах, імунне ураження печінки і порушення кишково-портального бар'єру внаслідок підвищення проникності кишкової стінки, що супроводжується транслокацією бактеріальних продуктів в мезентеріальний кровообіг та викликає місцеву та системну продукцію ФНП- $\alpha$ , інтерлейкінів-6, -8, -12 [25,27].

При ураженнях печінки алкогольної та неалкогольної етіології збільшення пероксидації ліпідів, що супроводжується накопиченням продуктів ПОЛ і зниженням синтезу глутатіону, призводить до переваги процесів

вільнорадикального окислення над активністю антиоксидантних систем (рис. 1.1).

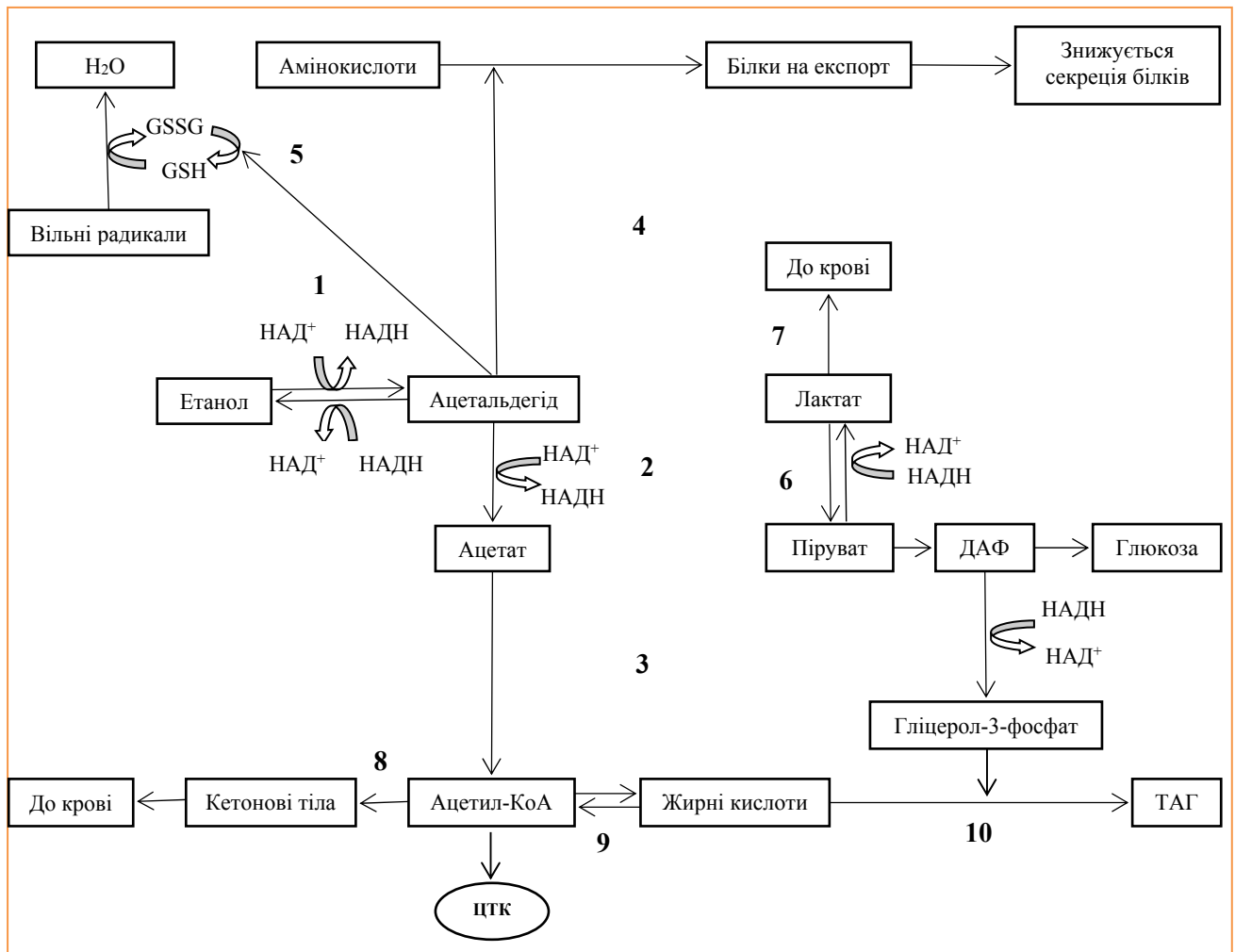


Рис. 1.1 Механізм розвитку алкогольного ураження печінки

1 → 2 → 3 – окислення етанолу до ацетату і перетворення його в ацетил-КоА (1 – реакція каталізується АДГ, 2 – реакція каталізується АлДГ). Швидкість утворення ацетальдегіду (1) часто при прийомі великої кількості етанолу вища, ніж швидкість його окислення (2), тому ацетальдегід накопичується і впливає на синтез білків (4), пригнічуючи його, а також знижує концентрацію відновленого глутатіону (5), в результаті чого активується ПОЛ. Швидкість глюконеогенезу (6) знижується, так як висока концентрація НАДН, утвореного в реакціях окислення етанолу (1, 2), пригнічує глюконеогенез (6). Лактат виділяється в кров (7), і розвивається лактоацидоз. Підвищення концентрації НАДН уповільнює швидкість циклу трикарбонових кислот (ЦТК); ацетил-КоА накопичується, активується синтез кетонових тіл (кетоз) (8).



Окислення жирних кислот також сповільнюється (9), збільшується синтез жирів (10), що призводить до ожиріння печінки і гіпертриацилгліцеролемії.

Можна зробити висновок, що незважаючи на те, що в розвитку АХП і НАЖХП грають роль різні фактори, для обох захворювань є загальними два основні патогенетичні механізми – порушення системної та клітинної ланок ліпідного обміну та окислювальний стрес, які характеризуються клітинним пошкодженням, що супроводжується запальною реакцією, цитолізом, холестазом і, в кінцевому випадку, розвитком і прогресуванням фіброзу. У таблиці 1.1 наведено типові синдроми захворювань печінки та механізми, що лежать в їх основі.

*Таблиця 1.1*

**Патогенетичні механізми та динаміка лабораторних показників  
плазми крові при захворюваннях печінки**

Основні клінічні синдроми захворювань печінки	Патогенетичний механізм	Лабораторні показники плазми крові
1	2	3
Синдром цитолізу	Руйнування гепатоцитів (некроз і дистрофія)	↑ аланінамінотрансферази, ↑ аспаратамінотрансферази, ↑ лактатдегідрогенази, ↑ заліза, ↑ феритину, ↑ білірубину (за рахунок обох фракцій)
Синдром холестазу	Позаклітинний – порушення просування жовчі у вигляді застою в жовчних протоках. Внутрішньоклітинний – ультраструктурні зміни гепатоцитів, накопичення компонентів жовчі у гепатоциті	↑ лужної фосфатази, ↑ γ-глутамілтранспептидази, ↑ холестерину, ↑ білірубину (переважно прямої фракції), ↑ жовчних кислот

Продовж. табл. 1.1

1	2	3
Мезенхімально-запальний синдром	Внутрішньопечінкові і системні зміни показників клітинних і гуморальних імунних реакцій	↑ ШОЕ, ↑ С-реактивного білка, ↑ рівня імуноглобулінів (IgA, IgM, IgG), ↑ титру аутоантитіл
Синдром печінково-клітинної недостатності	Зниження антитоксичних і синтетичних функцій гепатоцитів	↓ загального білка, ↓ альбуміну, ↓ холестерину, ↓ протромбінового індекса, ↓ фібриногену, ↑ протромбінового часу, ↑ білірубину (переважно непрямой фракції)
Утворення фіброзу печінки	Заміщення гепатоцитів рубцевою сполучною тканиною аж до розвитку цирозу печінки	↑ сироваткових маркерів фіброзу (гіалуронова кислота, пропептид-III-проколаген та ін.)

Основні морфологічні риси, що характеризують НАЖХП, подібні до тих, що спостерігаються при алкогольних ураженнях і об'єднують стеатоз, поєднання макровізулярного і мікровізулярного ожиріння гепатоцитів, ознаки гепатиту, фіброз різного ступеня вираженості [16,19]. Зважаючи на це, диференційний діагноз між алкогольним і неалкогольним ураженням печінки часто утруднений навіть за умови проведення пункційної біопсії.

### 1.2 Фармакотерапія гострої алкогольної інтоксикації, уражень печінки алкогольного та неалкогольного генезу

Література останніх років рясніє даними щодо різноманітних змін у головному мозку, часто взаємопов'язаних, що викликаються етанолом у кругообігу ацетилхоліну,  $\gamma$ -аміномасляної кислоти, дофаміну, норадреналіну, серотоніну, метенкефаліну та циклічних нуклеотидів. На цій основі запропоновано ефективні антиалкогольні препарати, одні з яких пригнічують активність дофамінергічних або серотонінергічних структур мозку [4], інші

перешкоджають руйнуванню ендогенних енкефалінів та ендорфінів [9]. Курсове лікування хворих на алкоголізм неможливо без застосування вітамінів – тіаміна (В1), піридоксину (В6), фолієвої кислоти (В9), цианкобаламіна (В12), пангамата кальцію (В15) – і гепатопротекторів [28,29].

Сучасні підходи до лікування АХП та НАЖХП спрямовані на усунення або послаблення провокуючих чинників, які призводять до розвитку і прогресування стеатогепатита (відмова від прийому алкоголю, використання редуційних гіпокалорійних дієт, застосування гіполіпідемічних препаратів при НАЖХП), та проведення патогенетичної терапії [5,6,30]. Вплив на патогенетичні механізми уражень печінки можливий шляхом застосування гепатопротекторів. Препарати цієї групи підвищують стійкість печінки до патологічних впливів, посилюють її знешкоджувальну функцію шляхом активації різних ферментних систем, а також сприяють відновленню її функції при різних ураженнях. На жаль, точні механізми дії представників групи гепатопротекторів вивчені недостатньо, і, у більшості випадків, є лише передбачуваними, що обумовлює складності у визначенні показань до їх застосування. Окрім того, часто відсутні достовірні дані з високим рівнем доказовості (масштабні багатоцентрові рандомізовані плацебо-контрольовані дослідження і їх мета-аналізи / систематичні огляди), які б підтверджували позитивний вплив цих засобів на організм людини. Внаслідок цього застосування більшості засобів цієї групи в широкій клінічній практиці є спірним.

Єдиної класифікації препаратів групи гепатопротекторів не існує, тому що ця група гетерогенна і включає речовини різної хімічної будови з різноспрямованим впливом на метаболічні процеси. Найбільш часто їх класифікують в залежності від походження і хімічного складу на наступні групи [31]:

1. Гепатопротектори рослинного походження, які містять природні або напівсинтетичні флавоноїди.
2. Фосфоліпідні препарати.

3. Гепатопротектори – похідні амінокислот.
4. Препарати урсодезоксихолевої кислоти.
5. Селеновмісні препарати.
6. Препарати тваринного походження (органопрепарати).
7. Синтетичні препарати.
8. Препарати інших груп.

Біофлавоноїдні гепатопротектори. На сьогоднішній день найбільш вивчені препарати, що містять в якості основної діючої речовини силімарин – суміш алкалоїдів розторопші плямистої [32]. Механізм дії силімарина не з'ясований, але вважається, що його мембраностабілізуюча дія забезпечується його здатністю пригнічувати кальцій-залежний процес активації фосфоліпаз. Метаболічна дія пов'язана зі стимуляцією біосинтезу білка і прискоренням регенерації пошкоджених гепатоцитів [32,33]. Антиоксидантну дію силімарина і підвищення знешкоджуючої функції гепатоцитів пов'язують з його здатністю зменшувати витрати глутатіону і підвищувати активність ферментів, які беруть участь в окисленні ксенобіотиків (у т. ч. супероксиддисмутази). Антифібротична дія обумовлена підвищенням кліренсу вільних радикалів і безпосереднім пригніченням синтезу колагену. До недоліків клінічного застосування препаратів силімарина відносять низьку біодоступність основної діючої речовини – силібініну – при пероральному застосуванні генеричних препаратів силімарина, діюча речовина яких не зазнала спеціальної обробки; можливе посилення вираженості синдрому холестазу під дією флавоноїдів розторопші. Проведені клінічні дослідження мають II рівень доказовості ефективності клінічного застосування [30].

Фосфоліпідні гепатопротектори. До числа найбільш широко застосовуваних гепатопротекторів відносяться препарати, що містять есенціальні фосфоліпіди (ЕФЛ) – високо очищений екстракт з бобів сої, основним компонентом якого є поліненасичений фосфатиділхолін – 1,2-дилінолеол-фосфатидилхолін. Передбачуваним механізмом впливу ЕФЛ є екзогенне восповнення дефіциту фосфоліпідів клітинної стінки, стабілізація

мембран гепатоцитів. Окрім того, передбачається антиоксидантний ефект за рахунок участі фосфоліпідів в реакціях ПОЛ. Висока активність щодо мембран дозволяє назвати застосування ЕФЛ «мембранною терапією» [34,35]. Уповільнення швидкості утворення фіброзу печінки і прискорення регресії передіснуючого фіброзу під впливом ЕФЛ частково обумовлені унікальною здатністю основного компонента активувати колагеназу ліпоцитів. Недоліки мембранної терапії: пошкодження мембрани гепатоцитів відбувається при будь-якому запальному процесі у печінці, однак реалізується воно через більш складні і тонкі механізми (шляхом взаємодії з циркулюючими імунними комплексами, аутоантителами та ін.), тому часто не вдається досягти припинення запалення, лише зміцнюючи мембрани гепатоцита шляхом постачання екзогенних фосфоліпідів, не усунувши при цьому основну патогенетичну причину пошкодження; при прийомі внутрішньо ЕФЛ можуть накопичуватися в інших органах і системах, не досягаючи основного місця своєї дії – тканини печінки. Препарати ЕФЛ мають IV (нижчий) рівень доказовості ефективності клінічного застосування [30].

Похідні амінокислот. В останні роки в гастроентерології, наркології і психіатрії знайшов широке застосування препарат, активним компонентом якого є S-аденозил-L-метіонін (адеметіонін) – природна речовина, яка ендогенно синтезується з аденозину і метіоніну [36,37]. Це кофермент, який бере участь у таких метаболічних шляхах, як трансметилування, транссульфування і амінопропілювання [38]. Реакції трансметилування є важливим етапом синтезу ендогенних фосфоліпідів. Порушення метилування фосфоліпідів веде до зменшення активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФ-азного насоса і порушення транспорту жовчних кислот, як наслідок, виникнення внутрішньопечінкового холестазу [39]. Порушення транссульфування призводить до дефіциту глутатіону. Зниження вмісту таурину – метаболіту адеметіоніна, який приймає участь у процесі кон'югації жовчних кислот, призводить до накопичення токсичних жовчних кислот в гепатоцитах. Детоксикація жовчних кислот відбувається також шляхом безпосереднього

сульфурування. Сульфуровані жовчні кислоти захищають мембрани клітин від руйнівної дії нессульфурованих жовчних кислот, які у високих концентраціях присутні в гепатоцитах при внутрішньопечінковому холестази [40]. Синтез поліамінів (амінопропілювання) має безпосереднє відношення до процесів проліферації гепатоцитів і регенерації печінки [36]. Окрім гепатопротективних і антихолестатичних властивостей адеметіонін чинить також антидепресивний ефект, механізм якого залишається нез'ясованим. Слід зазначити, що при пероральному прийомі адеметіонін має низьку біодоступність. Даний факт, з одного боку, обумовлений можливим накопиченням адеметіоніну у печінці під час первинного проходження, де він і чинить свою терапевтичну дію. При цьому виникає питання про механізми нейротропної дії препарату. Рівень доказовості проведених клінічних досліджень адеметіоніна відповідає III рівню [30].

Препарати урсодезоксихолевої кислоти. Серед препаратів, що впливають на певні ланки патогенезу холестазу, на даний час широко використовується урсодезоксихолева кислота (УДХК) – речовина, що відноситься до групи гідрофільних жовчних кислот. Механізми дії УДХК складні та на сьогоднішній день остаточно не вивчені. Здатність УДХК знижувати вираженість цитолізу і внутрішньопечінкового холестазу пов'язують з її цитопротективними і холеретичними ефектами, які реалізуються за рахунок зниження пулу токсичних гідрофобних жовчних кислот внаслідок стимуляції екзоцитоза у гепатоцитах, а також за рахунок запобігання виходу цитохрому С з мітохондрій, що, в свою чергу, блокує активацію каспаз і апоптоз холангіоцитів [41,42]. УДХК знижує насиченість жовчі холестерином за рахунок пригнічення його абсорбції в кишечнику, пригнічення синтезу холестерину у печінці і зменшення його секреції у жовч; підвищує розчинність холестерину в жовчі шляхом утворення з ним рідких кристалів. Крім цього, УДХК має імуномодулюючу дію, знижуючи продукцію прозапальних цитокінів. Рівень доказовості проведених клінічних досліджень УДХК відповідає I-II рівню доказовості [30].

Препарати селену. Гепатопротекторна активність препаратів селену пояснюється їх антиокисною активністю в умовах вільнорадикального окислення ліпідів [43]. Як кофактор глутатіонпероксидази селен бере участь у детоксикації перекису водню і гідроперекисів ненасичених жирних кислот, тим самим перешкоджаючи їх розпаду з утворенням надзвичайно реакційноздатного гідроксильного радикала. Серед селеновмісних препаратів на сьогоднішній день найбільш вивчений селеніт натрію. Однак дослідження селеніту натрію як гепатопротектора носять переважно експериментальний і епізодично клінічний характер.

Гепатопротектори тваринного походження. Гепатопротекторні препарати тваринного походження (органопрепарати) отримують з печінки тварин шляхом сублімаційного сушіння. Механізм дії органопрепаратів комплексний, який включає прямий та опосередкований активуючий вплив на процеси регенерації. Активація синтезу білка препаратами тваринного походження може здійснюватися за рахунок дії речовин пептидної або нуклеїнової природи, які входять до їх складу. Певне значення має включення компонентів органопрепаратів до синтезованих сполук [44]. Органопрепарати неможна застосовувати при гострому гепатиті, оскільки це підвищує ризик розвитку цитолітичного, мезенхімально-запального та імунопатологічного синдромів.

Синтетичні препарати. Серед синтетичних гепатопротекторів звертають на себе увагу синтетичні аналоги антиоксидантного ферменту супероксиддисмутази та препарати, які створені на основі координаційних сполук. Обґрунтуванням для створення таких препаратів стали принципи лігандоутворення, як одного з напрямів моделювання ферментних систем [32]. Синтетичні гепатопротектори чинять відносно вибіркову дію на ферменти печінки.

Препарати інших груп. Як гепатопротектори часто застосовують препарати вітамінів і вітамінних комплексів. Токоферолу ацетат (вітамін Е) як антиоксидант і мембраностабілізатор перешкоджає репресії ферментів гідроксилуючої системи, попереджує порушення складу жирних кислот

у ліпідній фракції мікросомальних мембран [45]. Регулюючий вплив на обмін ліпідів і інтенсивність ПОЛ у печінці чинить ретинол (вітамін А) за рахунок пригнічення синтезу холестерину, вільнорадикального окислення, інгібування ферментативного і неферментативного ПОЛ [46]. Кислота аскорбінова (вітамін С) при ураженнях печінки сприяє збереженню нормального рівня церулоплазміну і цитохромоксидазної активності мітохондрій печінки, підвищує активність сукцинатдегідрогенази і цитохромоксидази, відновлюючи процеси тканинного дихання. Антиоксидантна дія кислоти аскорбінової пов'язана з антирадикальною активністю і здатністю відновлювати резерви глутатіону, токоферолу, SH-вмісних білків [47]. У регуляції метаболічних процесів у печінці істотна роль належить  $\alpha$ -ліпоєвій кислоті, яка бере участь у процесах окислення жирних кислот в мітохондріях, та в реакціях відновлення аскорбату в аскорбінову кислоту, вітаміну Е і генерації убихінону Q<sub>10</sub> [48].

На думку О. А. Ушкалової [44] «ідеальний» гепатопротектор повинен відповідати наступним вимогам: добре всмоктуватися в шлунково-кишковому тракті, мати ефект першого проходження через печінку, зберігати здатність до природного метаболізму при патології печінки, піддаватися ентерогепатичній циркуляції, мати невисоку токсичність, протизапальні властивості, здатність попереджати утворення або зв'язувати високоактивні ушкоджуючі сполуки, пригнічувати фіброгенез, стимулювати регенерацію печінки.

Переважній більшості критеріїв «ідеального» гепатопротектора відповідає метадоксин, який володіє унікальним спектром фармакологічної дії щодо центральної нервової системи та печінки [7]. На сьогоднішній день багатогранність вивчених властивостей метадоксину робить його вкрай перспективним препаратом як в психонаркології, так і в гастроентерології.

Метадоксин був вперше дозволений до медичного застосування у 1984 р. в Італії, а згодом – ще в 17 країнах [30]. Незважаючи на тривалий період успішного застосування метадоксину у світовій медичній практиці для України препарати метадоксину є новими. На сьогодні в Україні зареєстровано два лікарські засоби з діючою речовиною метадоксин. Це імпортозаміщуючі



генеричні препарати «Алкодез® ІС» та «Ліверія ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна (р/п №№ UA/12717/01/01, UA/13164/01/01). Оригінальний лікарський засіб «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва «Laboratori Baldacci SpA», Італія, на національному фармацевтичному ринку не представлений.

Метадоксин (піридоксин–L–2–пірролідон–5–карбоксилат) – еквімолярна комбінація пірролідон карбоксилату і піридоксину (рис. 1.2), які пов'язані один з одним шляхом саліфікації, в такій формі їх фармакологічні властивості синергічні, про що свідчить їх висока активність при спільному введенні у порівнянні з окремим введенням компонентів [49,50].

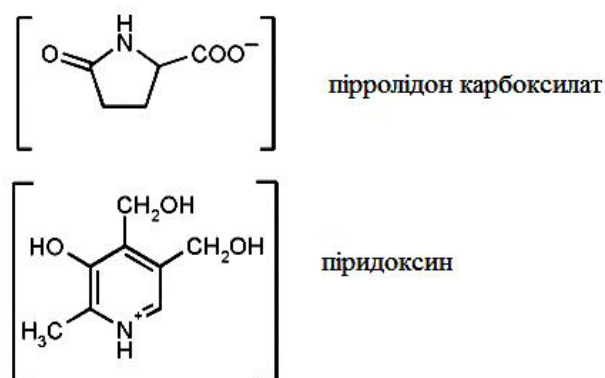


Рис. 1.2 Структурна формула метадоксину

Пірролідонкарбоксильна кислота зазвичай присутня в споживаній їжі та виробляється ендогенно шляхом ферментативного перетворення  $\gamma$ -глутамілової амінокислоти в пірролідон карбоксилат і вільні амінокислоти у деяких тканинах ссавців, включаючи ЦНС, де вона виконує свої функції у складі нейроактивних молекул [51]. Пірролідонкарбоксильна кислота є проміжною ланкою в  $\gamma$ -глутаміловому циклі, в якому вона перетворюється у глутатіон шляхом двох наступних реакцій, які каталізуються  $\gamma$ -глутамілцистеїнсинтетазою і глутатіонсинтетазою відповідно. Ендогенний синтез пірролідон карбоксилату впливає на активність  $\gamma$ -глутамілтрансферази мембран гепатоцитів, а також на рівні відновленого глутатіону. Окрім того, було показано, що пірролідонкарбоксильна кислота полегшує синтез АТФ шляхом стимуляції синтезу пуринового нуклеотиду *de novo* [52]. Пірролідонкарбоксильна кислота активує холін- і ГАМК-ергічні системи,

підвищуючи концентрації ацетилхоліну і ГАМК в синаптичному просторі; пригнічує вивільнення дофаміну, індуковане етанолом [53,54].

Піридоксин – похідне 3-оксіпірідина, який має вітамінну активність (одна з трьох форм вітаміну В<sub>6</sub>), є попередником коферменту піридоксальфосфату, який прискорює катаболізм етанолу і попереджує інактивацію АТФ ацетальдегідом – основним метаболітом етанолу [55]. Піридоксин має антиоксидантну дію, обмежуючи ПОЛ [56], регулює процеси азотистого обміну: трансамінування, дезамінування і декарбоксилювання амінокислот. Відомо, що піридоксин грає важливу роль в метаболізмі триптофана, гістаміна, цистеїна, метіоніна, а також в транспорті амінокислот крізь клітинну мембрану. Шляхом стимуляції синтезу таурину піридоксин забезпечує нейтралізацію і детоксикацію жовчних кислот [57]. Піридоксин бере участь в обміні вітаміну В<sub>12</sub>, фолієвої кислоти, в синтезі порфіринів, в обміні ненасичених жирних кислот. Він необхідний для активації глікогенфосфорилази. Встановлено, що піридоксин бере участь в процесах забезпечення зростання і розвитку нейронів, в синаптогенезі, зокрема, дофамінергічної системи [54]. Окрім того, активна форма піридоксину грає важливу роль у синтезі гліцину, глутамінової кислоти, ГАМК, серотоніну, дофаміну, адреналіну, норадреналіну [58-60].

*Механізм дії.* Метадоксин чинить метаболічний ефект, вираженість якого залежить від наявності двох компонентів, пірролідонкарбоксильної кислоти та піридоксину [50]. Результатами численних досліджень встановлено, що комбінована дія пірролідон карбоксилату та піридоксину у складі метадоксину чинить мембраностабілізуючий ефект, попереджаючи процеси ПОЛ у ліпідному бішарі мембран. Дана здатність метадоксину обумовлена як його безпосередньою антиоксидантною активністю (у тканинах молекула сполуки дисоціює з утворенням N-окису, який виконує функції пастки, що зв'язує активні форми кисню [57,61,62]), так і його здатністю підтримувати на високому рівні запаси відновленого глутатіону – найважливішого антиоксиданту клітини [62,63]. Так, згідно з даними наукових досліджень, метадоксин, введений щурам за 1 год до розвитку гострої алкогольної

інтоксикації, достовірно запобігав етаноліндукованому зниженню рівня відновленого глутатіону [63], а також вмісту АТФ [49], реалізуючи позитивний вплив на процеси енергозабезпечення тканин печінки і мозку. Крім того, у дослідженнях [64,65] показана здатність метадоксину, введеного щурам за 1 год до введення етанолу, пригнічувати за рахунок підвищення активності десатураз зниження рівня ненасиченості жирних кислот мембранних ліпідів, індуковане етанолом. У дозі 160 мг/кг метадоксин також попереджав розвиток жирової дистрофії печінки у 50 % щурів, яким була введена доза етанолу, що викликає жирову дистрофію печінки у 100 % щурів контрольної групи [66]. Таким чином, метадоксин, підтримуючи баланс між насиченими і ненасиченими жирними кислотами, стабілізує мембрану і перешкоджає первинній структурній дегенерації клітини [67].

Доведено, що метадоксин дозозалежно збільшує швидкість дегідратації етанолу за участю НАД<sup>+</sup>-залежних алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази, що прискорює елімінацію метаболітів етанолу з організму і скорочує тривалість проявів гострої алкогольної інтоксикації [66,68,69].

Розглядаючи механізм реалізації метадоксином антиалкогольного, детоксикаційного ефектів, слід взяти до уваги особливості метаболізму етанолу. Метаболізм однієї молекули етанолу потребує 2 молекули НАД<sup>+</sup>, які відновлюються до НАДН в процесі окислення етанолу. Деградація етанолу може припинитися, якщо НАДН не буде постійно реокислюватися. Окрім того, підвищення в клітині концентрації НАДН пригнічує активність триптофанпірролази, яка каталізує процеси синтезу НАД<sup>+</sup> з триптофану. Ragusa N. et al. встановлено, що за рахунок піридоксिनного компоненту метадоксин перешкоджає інгібуванню триптофанпірролази, тим самим, забезпечуючи синтез НАД<sup>+</sup>-коферментів АДГ і АлДГ [70]. Також результати досліджень ряду вчених підтвердили здатність метадоксину полегшувати окислення НАДН в НАД<sup>+</sup>, тим самим, усувати виражену зміну співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> в бік збільшення, забезпечуючи таким чином активність АДГ і

АлДГ, та, отже, високу швидкість біотрансформації етанолу у клітині [50,66,69]. Окрім того, усунення метадоксином підвищеної концентрації НАДН запобігає активації синтезу кетонів, а також підвищенню концентрації лактату (див. рис. 1.1), що попереджує розвиток кетозу та лактоацидозу при алкогольної інтоксикації. Було показано, що прискорення ренального кліренсу етанолу може також здійснюється за рахунок пригнічення метадоксином формування макроагрегатів між альбуміном і ацетальдегідом [50].

Метадоксин гальмує етаноліндуковане підвищення вмісту триацилгліцеролів в гепатоцитах, тобто запобігає утворенню жирової інфільтрації печінки [65]. Дана фармакологічна дія заснована на розглянутій вище здатності метадоксино підтримувати в клітині баланс між НАДН і НАД<sup>+</sup>. Усуваючи надлишок НАДН, що утворюється при окисненні етанолу, метадоксин попереджує зниження швидкості гліколізу і, як наслідок, синтезу гліцерол-3-фосфату, а також синтезу жирних кислот за участю ацетил-КоА (див. рис. 1.1). У дослідженнях Calabrese V. et al. показано, що застосування щурям метадоксино за 1 год до введення етанолу запобігає індукованому збільшенню вмісту триацетилгліцеролів в гепатоцитах [65]. Таким чином, отриманими експериментальними даними доведена здатність метадоксино забезпечувати значний захист окислювально-відновного гомеостазу у клітинах.

Метадоксин опосередковано підтримує гомеостаз клітини, прискорюючи утилізацію ацетальдегіду – токсичного, високо реакційноздатного метаболіту етанолу, що запобігає модифікації внаслідок ацетилювання структурних білків мембран, а також білків, що мають ферментативну активність. Перешкоджання модифікації білків клітини забезпечує її структурно-функціональну цілісність та й попереджує розвиток гуморальної та клітинної імунної відповіді на неоантигени (модифіковані білки), і, як наслідок, аутоімунне пошкодження печінки. Встановлено, що інактивація метадоксином вільних радикалів, а також скорочення часу шкідливої дії ацетальдегіду запобігає надлишковому синтезу колагену і продукції прозапальних цитокінів, включаючи фактор некрозу

пухлини  $\alpha$ , інтерлейкіни-6 і -8, які є потужними прозапальними цитокінами та індукторами багатьох патологічних процесів у печінці, зокрема, фіброгенезу [71]. Зв'язуючи вільні радикали і забезпечуючи окислення ацетальдегіду до ацетату, метадоксин пригнічує синтез колагену також шляхом зниження активності пролінгідроксидази, яка сприяє перетворенню розчинного проколагену у колаген [67]. Окрім того, на моделі  $\text{CCl}_4$ -індукованого фіброзу печінки у щурів було виявлено безпосередній вплив метадоксину на синтез фібронектину та проколагену: метадоксин знижував експресію генів, що кодують структуру даних білків [72]. Антифібротичні властивості метадоксину були також показані на моделі фіброзу печінки з застосуванням лігатури жовчної протоки [73]. Особливість цієї моделі полягає в тому, що у даному випадку фіброзоутворення у печінці не пов'язане з окислювальним навантаженням (як в  $\text{CCl}_4$ -моделі) або впливом алкоголю на печінку, що підтверджує здатність метадоксину безпосередньо впливати на рівні фібронектину та проколагену незалежно від його антиоксидантної та метаболічної дії. Дані механізми пояснюють здатність метадоксину запобігати некрозапаленню печінки, фіброзу і прогресуванню в цироз при хронічному надходженні в організм гепатотоксичних агентів [72,74].

Окрім того, є дані, що метадоксин чинить антиліпогенну дію за допомогою інгібування стадії пізнього диференціювання адипоцитів з преадипоцитів, перешкоджаючи формуванню і накопиченню жирової тканини [75].

Активність метадоксину щодо ЦНС була вивчена на таких показниках, як концентрація АТФ в ЦНС, вивільнення нейромедіаторів і нейропсихологічні ефекти. Felicioli R. et al. було показано, що попереднє введення метадоксину щурам (50 мг/кг) не тільки повністю попереджує етаноліндуковане зниження церебральної концентрації АТФ, а й призводить до її підвищення протягом більш ніж 2-х год [49]. У дослідженнях на морських свинках було показано, що метадоксин підвищує рівні ацетилхоліну і ГАМК у лобно-тім'яній частині кори головного мозку тварин [53,76], покращуючи функції короткої пам'яті. Окрім

того, здатність метадоксину посилювати вивільнення ГАМК і ацетилхоліну обумовлює його виражений анксиолітичний ефект, що підтверджено результатами конфлікт-тесту у щурів [76,77].

Знижуючи концентрацію етанолу у клітині, а також за рахунок прямої дії пірролідон карбоксилату на дофамінергічні нейрони метадоксин при попередньому введенні попереджує етаноліндукований викид дофаміну, який викликає рухове, вегетативне збудження, стан ейфорії при вживанні невеликих доз алкоголю [78]. Запобігання виникненню розгальмування, ейфорії внаслідок вживання етанолу, у свою чергу, попереджує розвиток алкогольної залежності, знижує потяг до алкоголю. При середньому та важкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації за рахунок активації піридоксином біосинтезу дофаміну, який має дефіцитарні рівні, відбувається більш швидке відновлення рухової активності, нормалізується психоемоційний фон, усувається загальмованість пізнавальних психічних процесів [54]. Метадоксин, беручи участь у біосинтезі дофаміну, норадреналіну, адреналіну, які посилено руйнуються при тривалому вживанні етанолу, компенсує їх дефіцит, розриваючи, тим самим, «порочне коло», що лежить в основі психічної залежності від алкоголю. У той час як при алкогольному абстинентному синдромі, стимулюючи синтез таурину і ГАМК, метадоксин пригнічує гіперсекрецію збуджуючих нейромедіаторів – дофаміну, норадреналіну, адреналіну, тим самим покращуючи показники самопочуття і настрою. Крім того, серотонінергічна активність піридоксिनного компонента метадоксину при хронічному вживанні алкоголю попереджує зниження рівня серотоніна, що запобігає розвитку депресії, станів дратівливості, імпульсивності, агресивності.

*Фармакокінетичний профіль.* Фармакокінетичні дослідження метадоксину були проведені на щурах, собаках, мавпах і здорових добровольцях [50]. Дані дослідження показали, що метадоксин швидко абсорбується в шлунково-кишковому тракті, має високу біодоступність (60–80 %), широкий розподіл у тканинах, на що вказує великий сталий об'єм розподілу. Зв'язування з білками плазми становить приблизно 50 %. Період

напіввиведення становить 40–60 хв без значних відмінностей між пероральним або внутрішньовенним шляхами введення. Метадоксин має характерний для нього кінетичний профіль. За даними досліджень, екстемпоральне введення двох окремих компонентів – пірролідон карбоксилату і піридоксину – не може бути співставним з метадоксином за рівнями концентрації цих компонентів в крові, а, значить, і за розподілом в тканинах і, нарешті, за терапевтичним ефектом [50]. У дослідженні щодо порівняння кінетичного профілю піридоксину, введеного у складі метадоксину, з таким піридоксину, введеного в якості самостійного компонента, встановлено, що рівні концентрації у крові піридоксину, введеного у складі монопрепарату, нижче і досягаються за набагато більш тривалий проміжок часу [50].

Виявлені метаболіти метадоксину є, як передбачалося, продуктами метаболізму глутамату та піридоксину. Зокрема, радіоактивні ізотопи, введені в метадоксин, були виявлені у глутаматі, глутаміні, глутамілцистеїні, глутатіоні,  $\alpha$ -кетоглутараті, піридоксалі, піридоксальфосфаті та піридоксаміні. Приблизно 12 % радіоізотопних міток від їх загального вмісту було виявлено в пептидних похідних, можливо синтезованих у  $\gamma$ -глутаміловому циклі. Екскреція здійснюється з сечею та калом приблизно в рівній пропорції – 40–45 % метадоксину виводиться з сечею протягом 24 год, 35–50 % метадоксину виводиться з калом протягом 96 год [50].

За даними перехресного дослідження метадоксину на здорових добровольцях достовірних відмінностей у фармакокінетичних профілях різних доз препарату (600 мг, 900 мг і 1200 мг) при внутрішньовенному краплинному одноразовому введенні немає [79]. Порівняльне дослідження на здорових добровольцях основних фармакокінетичних параметрів при повторних внутрішньовенних крапельних введеннях 900 мг метадоксину 1 раз на добу протягом 7 днів показало, що значення максимальної концентрації метадоксину у плазмі крові ( $C_{max}$ ) та площа під кривою «концентрація – час» (AUC) на 7-ий день застосування препарату були співставними з такими, які були отримані в перший день його застосування, а значення періоду напіввиведення

та кліренсу метадоксину, отримані у першу добу застосування препарату, були співставними зі значеннями цих показників, отриманих наприкінці дослідження (Доба 7). Таким чином, повторне введення метадоксину не впливає на його фармакокінетичний профіль, отже, не викликає кумуляції препарату в організмі [80].

*Токсикологічний профіль.* Метадоксин відноситься до низькотоксичних речовин. Встановлено, що полулетальна доза ( $LD_{50}$ ) метадоксину при внутрішньовенному введенні мишам становить 3480 мг/кг, а при введенні щурам – більше 6 г/кг. Дослідження підгострої токсичності протягом 40 днів на 3-х видах тварин при пероральному введенні метадоксину у дозах, що перевищують 1,5 г/кг не виявили функціональних та/або морфологічних відхилень від норми. У дослідженнях хронічної токсичності на собаках при пероральному застосуванні метадоксину протягом 26 тижнів в дозі 0,5 г/кг були зареєстровані розлади моторики тварин. У дослідженнях *in vitro* метадоксин не виявив мутагенної активності. Метадоксин не чинив побічних ефектів у самок щурів і кроликів протягом вагітності, не виявляв тератогенної дії [81].

*Клінічні дослідження.* Згідно даних клінічних досліджень при гострій алкогольній інтоксикації метадоксин протягом декількох год після однократного внутрішньовенного введення у дозі 300 мг у складі традиційної дезінтоксикаційної терапії [82-86] або після внутрішньовенного болюсного введення у дозі 900 мг у складі монотерапії [87] зменшує або повністю усуває клінічні прояви алкогольної інтоксикації, прискорює кліренс алкоголю у пацієнтів.

При хронічній алкогольній інтоксикації пероральне застосування метадоксину у складі монотерапії у добовій дозі 1500 мг протягом 7–10 днів [88,89] або тривале застосування всередину у дозі 1000 мг/добу протягом 3-х місяців [90] забезпечує зниження кількості вжитого алкоголю або повне утримання від його вживання.

При алкогольному абстинентному синдромі (ААС) одночасно зі стандартною детоксикаційною та бензодіазепіновою терапією внутрішньовенне



введення 300 мг метадоксину протягом 3–5 днів або застосування перорально у добовій дозі 1500 мг протягом 10 днів; в подальшому – у дозі 1000 мг/добу при загальній тривалості лікування 2 місяці покращує психофізичний стан, усуває соматовегетативні та неврологічні, психопатологічні розлади, знижує лабораторні показники печінкової активності [91,92]. Застосування метадоксину ефективно у складі монотерапії ААС при внутрішньовенному введенні у дозі 900 мг 2 рази на добу протягом 10 днів [93] або при пероральному введенні у добовій дозі 1000–1500 мг на протязі 3-х місяців [94].

Введення метадоксину до стандартної схеми лікування опійної наркоманії прискорює процес купування гострого синдрому відміни, чинить гепатопротективну дію [95,96].

При лікуванні жирового гепатозу, гострого хронічного гепатиту без цирозу печінки, хронічного алкогольного гепатиту з переходом в цироз печінки, алкогольного цироза печінки пероральне застосування метадоксину по 1500-2000 мг/добу протягом 1 місяця у складі монотерапії [97] або протягом 3 місяців у складі традиційної та метаболічної терапії АХП [98,99] покращує біохімічні показники цитолізу та холестазу, знижує патологічний потяг до алкоголю, усуває прояви печінкової енцефалопатії. Позитивний терапевтичний ефект метадоксину на динаміку печінкової енцефалопатії є унікальним для метадоксину і відсутній у інших гепатопротекторів. При більш тривалій комплексній терапії алкогольних гепатитів високо ефективним є застосування метадоксину за схемою: внутрішньовенне введення по 600 мг/добу протягом 1 тижня з подальшим переходом на пероральний прийом по 1500 мг/добу протягом 3-х місяців [67,100]. При лікуванні початкових стадій розвитку АХП метадоксин ефективний у складі монотерапії. При алкогольному жировому гепатозі печінки пероральне застосування метадоксину у добовій дозі 1500 мг протягом 1,5–3 місяців забезпечує нормалізацію клініко-лабораторних показників печінки навіть на тлі періодичного вживання алкоголю [101,102]. Поряд з цим при подагрі і жировому гепатозі печінки, як алкогольної, так і неалкогольної етіології, застосування метадоксину у дозі 300 мг

внутрішньовенно або внутрішньом'язово протягом 7 днів, далі перорально у дозі 1500 мг/добу протягом 20 днів, на відміну від інших гепатопротекторів, які містять вітамін В, попереджує розвиток етаноліндукованої гіперурикемії [103,104].

Метадоксин в комплексному лікуванні гастропатій при АХП сприяє більш ранній епітелізації ерозивно-виразкових дефектів, а також позитивно впливає на місцевий ендокринний гомеостаз [105].

При неалкогольному жировому гепатозі печінки із розвиненим на його фоні стеатогепатитом внутрішньом'язове введення метадоксину по 600 мг/добу протягом 10 днів з подальшим переходом на пероральне застосування по 1000 мг/добу протягом 80 днів значно знижує вираженість астеновегетативного, больового, диспепсичного синдромів, холестазу та цитолізу, індекс фіброзу, прояви порушеного мікробіоценоза кишечника, покращує процеси ліпідного і вуглеводного обміну, чинить антидепресивну дію [106].

Пероральне застосування метадоксину у комплексній терапії хронічного гепатиту С у добовій дозі 1500–2000 мг протягом 1 місяця забезпечує нормалізацію біохімічних показників холестазу, покращує переносимість противірусних препаратів [107].

При токсичних гепатитах внаслідок отруєння сурогатами алкоголю внутрішньовенне крапельне введення метадоксину по 600 мг на добу протягом 1,5 місяців як доповнення до стандартної дезінтоксикаційної терапії прискорює зниження рівня загального білірубину до нормальних значень у порівнянні з застосуванням тільки базисної дезінтоксикаційної терапії [108].

Застосування метадоксину з метою корекції гепатотоксичного ефекту хіміотерапії у онкологічних хворих у дозі 300 мг внутрішньом'язово 3 рази на добу або перорально по 1500 мг/добу протягом 7–12 днів забезпечує зниження вираженості цитолізу та холестазу печінки на тривалий період [109].

Одноразове застосування метадоксину внутрішньо у дозі 500 мг за 40 хв до початку стоматологічного втручання з метою премедикації чинить виражену анксиолітичну дію і незначний седативний ефект [110,111].

Вивчення різноспрямованих властивостей метадоксину триває. Беручи до уваги дані актуальних клінічних досліджень, прогнозованим є розширення можливостей клінічного застосування метадоксину у новій терапевтичній сфері – у лікуванні пацієнтів з синдромом дефіциту уваги з гіперактивністю (СДУГ) [112].

Висока ефективність і безпека застосування метадоксину при психічних і поведінкових розладах внаслідок вживання алкоголю, при алкогольній хворобі печінки зумовили включення метадоксину у міждисциплінарні стандарти лікування даних захворювань в Європі і Росії [113]. Окрім того, останнім часом метадоксин як препарат, який має унікальне поєднання гепатопротекторної дії та центральної й периферичної нейропротекторної дії, які є незалежними одна від одної, успішно застосовується у лікуванні хвороб печінки неалкогольної етіології [81,114]. Особливий інтерес представляє можливість застосування метадоксину з метою попередження розвитку алкогольної інтоксикації, уражень печінки алкогольного і неалкогольного генезу. Актуальність цієї проблеми визначила мету і завдання проведеного наукового дослідження.

### **Резюме**

Серед структур, особливо чутливих до токсичної дії етанолу, ЦНС займає одне з перших місць. Дія екзогенного етанолу на нервову систему проявляється метаболічними, нейромодуляторними і нейротоксичними ефектами. У метаболічному циклі екзогенного етанолу основне навантаження несе печінка. Тривале введення етанолу максимально завантажує шлях його метаболізму, перетворюючи печінку в основний «орган-мішень». Внаслідок метаболічної маніфестації при алкогольній або медикаментозній інтоксикації, порушеннях ліпідного або вуглеводного обміну розвиваються метаболічні ураження печінки.

На сьогодні точні механізми дії більшості антиалкогольних і гепатопротекторних лікарських засобів вивчені недостатньо і є лише передбачуваними. Тому застосування більшості засобів цієї групи в широкій клінічній практиці є спірним. Переважній більшості критеріїв «ідеального» нейро- та гепатопротектора відповідає метадоксин (піридоксин-L-2-пірролідон-5-карбоксилат), який володіє унікальним спектром фармакологічної дії. Антиалкогольний, дезінтоксикаційний, антиоксидантний, енергетичний, антиліпогенний, антистеатозний, протизапальний, антифібротичний, антихолестатичний, ноотропний, анксиолітичний, антидепресантний ефекти метадоксину, ідентичність фармакокінетичних профілів різних доз метадоксину, відсутність його кумуляції у тканинах організму при повторних введеннях, низька токсичність забезпечують широкі можливості його застосування в наркологічній і терапевтичній практиці, але роль метадоксину у профілактиці алкогольної інтоксикації і хвороб печінки на сьогодні вивчена мало. Так, у літературі є дані лише декількох доклінічних досліджень фармакологічних властивостей метадоксину при його попередньому введенні на тлі гострої алкогольної інтоксикації. У дослідженнях Felicioli R. et al. було показано, що попереднє введення метадоксину щурам попереджує етаноліндуковане зниження концентрації АТФ у головному мозку та печінці. За даними Calabrese V. et al., застосування тваринам метадоксину за 1 год до введення етанолу запобігає етаноліндукованому зниженню рівня відновленого глутатіону, підвищенню вмісту триацетилгліцеролів у гепатоцитах та попереджує зниження рівня ненасиченості жирних кислот мембранних ліпідів, індуковане етанолом. У дослідженнях Garau B. et al. було встановлено, що попереднє введення метадоксину попереджує етаноліндукований викид дофаміну, який викликає локомоторну гіперактивність у мишей. Отже, подальше дослідження профілактичної дії метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації, а також на тлі дії чинників алкогольного та неалкогольного ураження печінки на сьогодні є предметом наукового інтересу.

*Публікації здобувача за темою розділу:*

1. Карпова О. В., Борисюк І. Ю., Головенко Н. Я. Метадоксил (АЛКОДЕЗ® ІС): от молекулы к лекарственному средству. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2013. № 2 (24). С. 4–10. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення статті.)
2. Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Возможности клинического применения метадоксина (Алкодеза). *Сучасний вимір медичної науки та практики: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 червня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 85–86. (Внесок здобувача: літературний пошук, оформлення тез.)*
3. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Перспективи використання Алкодезу ІС в лікуванні алкоголізму. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Одеса, 20–21 лютого 2015 р. Одеса, 2015. С. 20–22. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел.)*
4. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Проблеми вибору ліків при алкогольній залежності. *Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Київ, 6–7 березня 2015 р. К., 2015. С. 24–26. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)*
5. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Профилактика детского алкоголизма как шаг к формированию здорового образа жизни. *Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу життя: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 березня 2015 р. Львів, 2015. С. 82–84. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)*

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Характеристика лабораторних тварин

Експериментальні дослідження проведено на 40 білих нелінійних самцях мишей масою 18–23 г та 153 білих статевозрілих самцях щурів лінії Вістар масою 200–240 г. Розподіл тварин по групах відповідно до експериментального дослідження наведено у таблиці 2.1.

*Таблиця 2.1*

#### Розподіл тварин по групах відповідно до експериментального дослідження

Назва дослідження	Вид тварин	Кількість тварин (n)		
		Контроль	Контрольна патологія	Дослідна група
Дослідження спонтанної рухової, орієнтовно-дослідницької активності та емоційного реагування	Щури	–	10	10
Дослідження частоти розвитку міорелаксації	Миші	7	7	6
Дослідження фізичної працездатності	Щури	9	9	10
Дослідження частоти розвитку потягу до блювання	Миші	7	7	6
Дослідження розумової працездатності:				
– введення етанолу до формування УРПУ;	Щури	10	9	8
– введення етанолу після формування УРПУ	Щури	10	10	10
Дослідження елімінації етанолу та його метаболітів	Щури	–	6	6
Дослідження біохімічних показників крові:				
– модель алкогольного ураження печінки	Щури	6	6	6
– модель CCl <sub>4</sub> -ураження печінки	Щури	6	6	6

Усі тварини утримувались в умовах природного освітлення на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі.

Маніпуляції з тваринами поводити відповідно до вимог комісії з біоетики Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України та з дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 18 березня 1986 р.). У дослідженні було використано достатню мінімально припустиму кількість лабораторних тварин відповідно до застосовуваних методів статистичної обробки отриманих результатів.

## 2.2 Реактиви та сполуки

Експериментальні дослідження було проведено з використанням метадоксину, порошок (субстанція), виробництва «Shandong Qidu Pharmaceutical Co., LTD», Китай.

У дослідженнях в якості чинника гострої алкогольної інтоксикації, токсичного ураження печінки алкогольного генезу використовували 40 %-ний водний розчин етанолу  $C_2H_5OH$ , в якості чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу – 50 %-ний олійний розчин тетрахлорметану  $CCl_4$ . Дослідження елімінації етанолу та його метаболітів на тлі профілактичної дії метадоксину було проведено з використанням радіоактивної сполуки  $^{14}C$ -етанол з питомою радіоактивністю 104 мКи/мл. Для проведення радіохроматографічних досліджень використовували рідинну сцинтиляційну суміш (Canberra Packard).

Біохімічні дослідження було проведено з використанням стандартних наборів реагентів ТОВ НВП «Філіст-Діагностика» (Україна) та «PZ Cormay S.A.» (Польща).

Для оцінки кінетики розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення використовували імпортозаміщуючий генеричний препарат «Алкодез<sup>®</sup> ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна, (серії 0050710, 010111), та

оригінальний препарат «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва «Laboratori Baldacci SpA», Італія, (серія 0407 SCAD).

У ході науково-дослідницьких робіт були використані наступні реактиви: Тритон Х-100 (ч.д.а, Merck, Німеччина), Твін-80 (ч.д.а, Merck, Німеччина), мурашина кислота (ч.д.а, Merck, Німеччина), 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти, ацетатний буферний розчин рН 4,5, 0,05 М фосфатний буферний розчин рН 6,8.

### 2.3 Прилади

У дослідженнях використовувались прилади: ваги лабораторні ВЛР-200, ваги лабораторні електронні АН-200 г-М (верхня межа зважування – 200 г, помилка зважування  $\pm 0,000075$  г); рН-метр-мілівольтметр рН-121 (діапазон вимірювання рН від  $-1$  до  $+14$ , основна абсолютна похибка вимірювань  $\pm 5$  мВ); тестер «лопатева мішалка» для визначення розчинності таблеток, тип DT 706 Н (ERWEKA, Німеччина); мембранний фільтр, тип Minisart RC 15 (Sartorius); напівавтоматична система для тестування розчинення PHARMA TEST, тип PT-DT70 (Pharma Test Apparatebau GmbH, Німеччина); спектрофотометр Lambda-9 (Perkin-Elmer), UV-2401PC (Shimadzu) (спектральний діапазон вимірювань від 190 нм до 900 нм, точність:  $\pm 0,003$  А (поглинання), відтворюваність:  $\pm 0,001$  А); установка для тесту «Відкрите поле», апарат для проведення «Ротор-тесту» (Rat RotaRod for motory coordination studies, Ugo Bazile, Італія), установка для тесту «Натягнута проволока», апарат для проведення тесту «Умовна реакція пасивного уникнення» (Passive avoidance set-up, rat, Ugo Bazile, Італія); термостат ТП, центрифуга лабораторна медична ОПН-8, сцинтиляційний фотометр TRI-CARB 2700 (Canberra Packard, США).

### 2.4 Патолофізіологічні методи дослідження

Для визначення профілактичної дії метадоксину на динаміку поведінкових реакцій у тварин відтворювали експериментальну модель гострої



алкогольної інтоксикації шляхом внутрішньошлункового (в/ш) введення 40 %-ного водного розчину етанолу мишам у дозі 1 г/кг (1/3 від LD<sub>100</sub>) та щурам у дозі 6 г/кг (1/2 від LD<sub>100</sub>). Водний розчин метадоксину вводили тваринам дослідної групи внутрішньоочеревинно (в/о) у дозі 200 мг/кг за 1 год до введення етанолу. Дозу та режим введення метадоксину було встановлено на підставі даних літератури щодо застосування метадоксину з метою дослідження його профілактичного впливу на етаноліндуковану локомоторну гіперактивність у мишей [78]. Тваринам контрольної групи в/о вводили стерильну дистильовану воду. Свіжоприготований водний розчин метадоксину або стерильну дистильовану воду вводили із розрахунку 0,01 мл/г маси тіла тварини.

Для дослідження впливу метадоксину при його попередньому введенні на елімінацію етанолу та його метаболітів відтворювали експериментальну модель гострої алкогольної інтоксикації шляхом введення 40 %-ного водного розчину <sup>14</sup>C-етанолу щурам у дозі 3,5 г/кг, в/ш [115]. Водний розчин метадоксину вводили в профілактичному режимі у дозі 200 мг/кг, в/о, за 30 хв до введення етанолу. Для введення метадоксин розчиняли у стерильній дистильованій воді та вводили в/о із розрахунку 0,01 мл/г маси тіла тварини.

Для оцінки профілактичної дії метадоксину на біохімічні показники цитолізу, холестази та синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки відтворювали експериментальну модель «алкогольного гепатиту» шляхом повторного введення 40 %-ного водного розчину етанолу у дозі 6 г/кг, в/ш, щурам протягом 7 днів [116,117]. Водний розчин метадоксину вводили у профілактичному режимі у дозі 90 мг/кг, в/ш, за 30 хв до введення етанолу. Дозу та режим введення метадоксину було встановлено на підставі даних літератури щодо застосування метадоксину з метою дослідження його профілактичного впливу на деякі біохімічні показники у тварин [49,66]. Тваринам контрольної групи вводили в/ш дистильовану воду. Свіжоприготований водний розчин

метадоксину або дистильовану воду вводили із розрахунку 0,01 мл/г маси тіла тварини.

Для дослідження впливу метадоксину при його профілактичному введенні на біохімічні показники цитолізу, холестазу та білковосинтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу відтворювали експериментальну модель гострого токсичного ураження печінки шляхом повторного введення 50 %-ного олійного розчину тетрахлорметана у дозі 0,4 мл/100 г підшкірно щурам протягом 4 днів [118-120]. Метадоксин вводили у профілактичному режимі у дозі 90 мг/кг, в/ш, за 30 хв до введення етанолу. Тваринам контрольної групи вводили в/ш дистильовану воду. Свіжоприготований водний розчин метадоксину або дистильовану воду вводили із розрахунку 0,01 мл/г маси тіла тварини.

## 2.5 Фармакологічні методи дослідження

Фармакологічні методи застосовували для дослідження профілактичної дії метадоксину на динаміку показників поведінкових реакцій у тварин.

Метод «Відкрите поле» використовували для визначення спонтанної рухової активності, орієнтовно-дослідницької поведінки та емоційного реагування у щурів [121-124]. «Поле» являло собою ділянку  $100 \times 100$  см, яка була обмежена по периметру непрозорим бортом висотою 40 см, розділена на 25 рівних квадратів ( $5 \times 5$  см) та мала норки. Тестування у «відкритому полі» проводили у відносно звукоізолюваній камері впродовж 5 хв після індивідуального розміщення щурів у «полі». До введення етанолу та через 1 та 24 год після введення етанолу у тварин реєстрували наступні поведінкові паттерни: кількість пересічених тваринами секторів поля (горизонтальна активність), кількість вертикальних стійок (вертикальна активність), кількість зазирань у норки (орієнтовно-дослідницька активність) та кількість актів грумінгу, дефекації та уринації (емоційне реагування).

Метод «Натягнута проволока» застосовували для оцінки частоти розвитку міорелаксації у мишей [125]. Мишей підвішували за передні лапи до горизонтально натягнутого металевого дроту. Критерієм розвитку міорелаксантного ефекту була відсутність здатності тварини протягом 5 с, утримуючись передніми лапами за натягнутий дріт, підтягнути принаймні одну із задніх лап та зачепитися за дріт або відсутність здатності навіть зачепитися за натягнутий дріт передніми лапами. У тварин групи контрольної патології та дослідної групи реєстрували наявність або відсутність міорелаксації через 1, 2, 3 та 4 год після введення етанолу.

«Ротор-тест» використовували для оцінки фізичної працездатності у щурів [116,126,127]. Для цього визначали час утримання тварин на циліндрі, що обертається з максимальною швидкістю 26 об/хв. Протягом 2 днів щурів тренували по 5 хв на добу утримуватися на циліндрі. На третій день локомоторну працездатність щурів оцінювали індивідуально, вимірюючи тривалість (в секундах) утримання тварини на циліндрі при максимальній швидкості його обертання. Спостереження тривало 3 хв. У тварин групи контрольної патології та дослідної групи реєстрували час утримання на циліндрі через 1, 3, та 24 год після введення етанолу.

Потяг тварин до блювання оцінювали у дослідах на мишах [125,128]. Мишей розміщували в окремі клітини із тирсою на підлозі і скляним вікном для спостереження. У тварин групи контрольної патології та дослідної групи відзначали наявність або відсутність симптому мимовільного жування тирси протягом 60 с через 90, 110, 120 та 180 хв після введення етанолу. Відсутність цього паттерну поведінки у мишей вважали показником відсутності потягу до блювання. У досліді оцінювали кількість тварин із типовими жувальними рухами у кожний період спостереження.

За методом «Умовна реакція пасивного уникнення» оцінювали розумову працездатність у щурів [123,124,129]. Етап ознайомлення. Кожного щура поодиноці розміщували в освітленому відсіку камери спиною до темного відсіку та реєстрували латентний період переміщення тварини до темряви.

Через 10 с після входу щура до темного відсіку його виймали із камери. Процедуру ознайомлення повторювали 3 рази з 30-хвилинними інтервалами. Етап навчання. Коли під час останньої спроби ознайомлення щур переміщався до темного відсіку камери, подавали удар електричним струмом (1,5 мА, 50 Гц) протягом 1 с та виймали тварину із камери. Етап тестування. Через 24 год після навчання, щура розміщували в освітленому відсіку камери та встановлювали латентний період переміщення тварини до темного відсіку. Дослідження завершували, коли тварина переходила до темної частини камери або коли вона залишалась у освітленому відсіку протягом 3-х хв. У досліді щодо оцінки здатності тварин до навчання етанол вводили щурам за 1 год до навчання. У експерименті щодо дослідження консолідації слідів пам'яті етанол вводили безпосередньо після навчання. В обох дослідях метадоксин вводили за 1 год до введення етанолу.

## 2.6 Біохімічні методи дослідження

За допомогою біохімічних методів визначали вплив метадоксину при його профілактичному введенні на біохімічні показники цитолізу, холестази та синтетичної функції печінки у сироватці крові тварин. Для цього у щурів з алкогольним ураженням печінки через 24 год після останнього введення етанолу і нічного періоду голодування, а у щурів з тетрахлорметановим ураженням печінки через 3 доби після останнього введення тетрахлорметану і нічного періоду голодування під легким ефірним наркозом зі стегнової вени відбирали кров, після цього тваринам підшкірно вводили підігрітий до температури тіла стерильний ізотонічний розчин хлориду натрію в обсязі, в якому було відібрано кров [130]. Для отримання сироватки кров центрифугували при 3000 об/хв протягом 15 хв. Кількісне визначення досліджуваних біохімічних показників здійснювали шляхом мікроаналізу досліджуваного матеріалу.

### Визначення активності аланінамінотрансферази у сироватці крові

*Принцип методу.* Внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюється L-глутамінова та піровиноградна кислоти. При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину у лужному середовищі утворюється забарвлений гідразин піровиноградної кислоти, інтенсивність забарвлення якого пропорційна активності аланінамінотрансферази [131,132].

Величину активності аланінамінотрансферази у сироватці крові визначали за калібрувальним графіком.

### Визначення активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові

*Принцип методу.* Внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке відбувається під дією аспартатамінотрансферази, утворюється L-глутамінова та щавелевооцтова кислоти, остання самовільно декарбоксілюється з утворенням піровиноградної кислоти. При додаванні 2,4-динітрофенілгідразину у лужному середовищі утворюється забарвлений гідразон піровиноградної кислоти, інтенсивність забарвлення якого пропорційно активності аспартатамінотрансферази [131,132].

Величину активності аспартатамінотрансферази у сироватці крові визначали за калібрувальним графіком.

### Визначення активності $\gamma$ -глутамілтранспептидази у сироватці крові

*Принцип методу.*  $\gamma$ -глутамілтранспептидаза каталізує реакцію переносу L- $\gamma$ -глутамілового залишку з L- $\gamma$ -глутаміл-4-нітроаніліда на гліцилгліцин. У цьому разі звільнюється 4-нітроанілін, кількість якого прямо пропорційна активності  $\gamma$ -глутамілтранспептидази [132-134].

Величину активності  $\gamma$ -глутамілтранспептидази у сироватці крові розраховували за формулою (2.1):

$$C = \Delta E \times 1158, \quad (2.1)$$

де C – активність  $\gamma$ -глутамілтранспептидази у дослідній пробі, Од/л;  
 $\Delta E$  – середнє змінення екстинції за 1 хв для дослідної проби, од. опт. щільності;  
 1158 – коефіцієнт перерахунку, Од/л.

### Визначення активності каталази у сироватці крові

*Принцип методу.* Метод заснований на здатності пероксиду водню – субстрату каталази – утворювати з молібдатом амонію стійкий забарвлений комплекс. Інтенсивність жовтого забарвлення реакційної суміші прямопропорційна концентрації перекису водню [124,135].

Розрахунок активності каталази здійснювали за формулою (2.2):

$$C = \frac{(E_{хол.} - E_{дослід.}) \times V \times t \times 22,2 \times 10^3}{C_{білка}}, \quad (2.2)$$

де  $C$  – активність каталази, мкмоль/хв·мг білка у дослідній пробі;  
 $E$  – оптична щільність холостої та дослідної проб, од. опт. щільності;  
 $V$  – об'єм досліджуваного матеріалу, мл;  $(22,2 \times 10^3)$  – коефіцієнт молярної екстинції перекису водню, мкмоль;  
 $t$  – час реакції, хв;  $C_{білка}$  – концентрація білка, мг/мл.

### Визначення активності лужної фосфатази у сироватці крові

*Принцип методу.* Лужна фосфатаза розщеплює 4-нітрофенілфосфат з утворенням 4-нітрофенолу, швидкість утворення якого прямо пропорційна активності лужної фосфатази [132,136].

Розрахунок активності лужної фосфатази здійснювали за формулою (2.3):

$$C = \Delta E \times 2764, \quad (2.3)$$

де  $C$  – активність лужної фосфатази у дослідній пробі, Од/л;  $\Delta E$  – середнє змінення екстинції за 1 хв для дослідної проби, од. опт. щільності;  
 2764 – коефіцієнт перерахунку, Од/л.

### Визначення концентрації загального білірубіну у сироватці крові

*Принцип методу.* В кислому середовищі у присутності детергенту загальний білірубін (прямий і непрямий) окислюється ванадатом до білівердину. Дана реакція призводить до зміни жовтого забарвлення, характерною для білірубіну, на зелене, характерне для білівердину. Інтенсивність зеленого забарвлення дослідного розчину прямо пропорційна концентрації загального білірубіну в пробі [137].

Розрахунок концентрації загального білірубіну здійснювали за формулою (2.4):

$$C = (E_{\text{дослід.1}} - E_{\text{дослід.2}}) / (E_{\text{калібр.1}} - E_{\text{калібр.2}}) \times 93,7, \quad (2.4)$$

де  $C$  – концентрація загального білірубіну у дослідній пробі, мкмоль/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;  
 93,7 – концентрація загального білірубіну у калібрувальному розчині, мкмоль/л.

#### Визначення вмісту тригліцеридів у сироватці крові

*Принцип методу.* Метод ґрунтується на реакції ферментативного гідролізу триацилгліцеринів під дією ліпази з утворенням вільних жирних кислот і гліцерину. Під дією гліцерокінази гліцерин, що утворився, перетворюється на гліцерил-3-фосфат, який окислюється киснем повітря за участю гліцерофосфатоксидази у діоксиацетон фосфат і перокис водню. В результаті взаємодії перекису водню з 4-амінофеназоном, 4-хлорфенолом і під дією пероксидази утворюється забарвлена речовина хінонімін. Концентрацію хіноніміну визначають фотометрично, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації тригліцеридів у дослідному зразку [138-140].

Розрахунок вмісту тригліцеридів здійснювали за формулою (2.5):

$$C = E_{\text{дослід.}} / E_{\text{калібр.}} \times 2,26, \quad (2.5)$$

де  $C$  – концентрація тригліцеридів у дослідній пробі, ммоль/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;  
 2,26 – концентрація тригліцеридів у калібрувальному розчині, ммоль/л.

#### Визначення вмісту загального холестерину у сироватці крові

*Принцип методу.* Цей метод ґрунтується на реакції гідролізу ефірів холестерину за участі холестеринестерази з утворенням неетерифікованого холестерину, який в подальшому під дією холестериноксидази окислюється киснем повітря з утворенням еквімолярної кількості перекису водню. Останній під дією пероксидази окислює хромогенні субстрати з утворенням забарвленого продукту. Інтенсивність рожево-червоного або бузкового забарвлення

реакційного розчину пропорційна концентрації вмісту загального холестерину [141,142].

Розрахунок вмісту загального холестерину здійснювали за формулою (2.6):

$$C = E_{\text{дослід.}}/E_{\text{калібр.}} \times 5,17, \quad (2.6)$$

де  $C$  – концентрація холестерину у дослідній пробі, ммоль/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;  
 $5,17$  – концентрація холестерину у калібрувальному розчині, ммоль/л.

#### Метод визначення концентрації церулоплазміну у сироватці крові

*Принцип методу.* Церулоплазмін проби утворює імунокомплекси зі специфічними антитілами. Збільшення мутності після додавання антисироватки, яку вимірюють при довжині хвилі 340 нм, пропорційне концентрації церулоплазміну у пробі [140,143].

Приріст абсорбції розраховували за формулами (2.7, 2.8):

$$\Delta E_{\text{дослід.}} = (E_{\text{дослід.2}} - E_{\text{дослід.1}}) - (E_{\text{хол.2}} - E_{\text{хол.1}}) \quad (2.7)$$

$$\Delta E_{\text{калібр.}} = (E_{\text{калібр.2}} - E_{\text{калібр.1}}) - (E_{\text{хол.2}} - E_{\text{хол.1}}) \quad (2.8)$$

Розрахунок концентрації церулоплазміну здійснювали за формулою (2.9):

$$C = \Delta E_{\text{дослід.}} / \Delta E_{\text{калібр.}} \times 450, \quad (2.9)$$

де  $C$  – концентрація церулоплазміну у дослідній пробі, мг/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;  
 $450$  – концентрація церулоплазміну у калібрувальному розчині, мг/л.

#### Визначення вмісту загального білка у сироватці крові

*Принцип методу.* Білки реагують з сірчаною кислотою міддю в лужному середовищі з утворенням сполук фіолетового забарвлення (біуретова реакція). Інтенсивність забарвлення реакційного розчину прямо пропорційна концентрації білків в аналізованій сироватці [132,144].

Розрахунок концентрації загального білка здійснювали за формулою (2.10):



$$C = E_{\text{дослід.}} / E_{\text{калібр.}} \times 50, \quad (2.10)$$

де  $C$  – концентрація загального білка у дослідній пробі, г/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності;  
 50 – концентрація загального білка у калібрувальному розчині, г/л.

#### Визначення вмісту альбуміну у сироватці крові

*Принцип методу.* Альбумін утворює у слабокислому середовищі з індикатором бромкрезоловим зеленим в присутності детергенту забарвлену сполуку, інтенсивність забарвлення якої пропорційна концентрації альбуміну у сироватці крові [132,145].

Розрахунок концентрації альбуміну здійснювали за формулою (2.11):

$$C = E_{\text{дослід.}} / E_{\text{калібр.}} \times 50, \quad (2.11)$$

де  $C$  – концентрація альбуміну у дослідній пробі, г/л;  $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. опт. щільності;  $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. опт. щільності; 50 – концентрація альбуміну у калібрувальному розчині, г/л.

#### Визначення концентрації сечовини у сироватці крові

*Принцип методу.* Сечовина піддається уреазному гідролізу з утворенням аміаку і вуглекислого газу. Аміак, що виділився, реагує з 2-оксоглутаратом за участю глутаматгідрогенази з утворенням L-глутамінату. Швидкість зміни оптичної щільності реакційного розчину, яку виміряють при довжині хвилі 340 нм, прямо пропорційна концентрації сечовини [140,146].

Розрахунок концентрації сечовини здійснювали за формулою (2.12):

$$C = (E_{\text{дослід.1}} - E_{\text{дослід.2}}) / (E_{\text{калібр.1}} - E_{\text{калібр.2}}) \times 18,1, \quad (2.12)$$

де  $C$  – концентрація сечовини у дослідній пробі, ммоль/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;  
 18,1 – концентрація сечовини у калібрувальному розчині, ммоль/л.

### Визначення концентрації креатиніну у сироватці крові

*Принцип методу.* В результаті реакції пікратів з креатиніном у лужному середовищі утворюється похідне 2,4,6-тринітроциклогексодієну жовто-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації креатиніну [132,147].

Розрахунок концентрації креатиніну здійснювали за формулою (2.13):

$$C = (E_{\text{дослід.1}} - E_{\text{дослід.2}}) / (E_{\text{калібр.1}} - E_{\text{калібр.2}}) \times 323, \quad (2.13)$$

де  $C$  – концентрація креатиніну у дослідній пробі, мкмоль/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;  
 323 – концентрація креатиніну у калібрувальному розчині, мкмоль/л.

### Визначення концентрації глюкози у сироватці крові

*Принцип методу.* Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-аміноантипірином з утворенням 4-(п-бензохінономоноіміно)-феназону червоного забарвлення. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози [148,149].

Розрахунок концентрації глюкози здійснювали за формулою (2.14):

$$C = E_{\text{дослід.}} / E_{\text{калібр.}} \times 5,5, \quad (2.14)$$

де  $C$  – концентрація глюкози у дослідній пробі, ммоль/л;  
 $E_{\text{дослід.}}$  – оптична щільність дослідної проби, од. оптичної щільності;  
 $E_{\text{калібр.}}$  – оптична щільність калібрувальної проби, од. оптичної щільності;  
 5,5 – концентрація глюкози у калібрувальному розчині, ммоль/л.

## 2.7 Фізико-хімічні методи дослідження

### 2.7.1 Метод рідинної сцинтиляційної спектрофотометрії

Метод рідинної сцинтиляційної спектрофотометрії [150] використовували для дослідження впливу метадоксину при його попередньому введенні на елімінацію  $^{14}\text{C}$ -етанолу та його метаболітів у щурів. Ефективність

профілактичного впливу метадоксину оцінювали за показниками елімінації незміненого етанолу, ацетальдегіду та ацетату з сечею та калом.

Тварин поміщали у метаболічні комірочки та здійснювали відбір проб калу та сечі при природному сечовиділенні через 3; 7,5; 12; 24 та 30 год після введення етанолу.

При зборі сечі воронку промивали 4 рази дистильованою водою по 10 мл, реєструючи отриманий загальний обсяг проби (зі сливами). Для визначення загального радіоактивного матеріалу відбирали по 2 см<sup>3</sup> проби в сцинтиляційні флакони. Для визначення ацетату із загального об'єму відбирали по 10 мл проби і додавали по 1 мл 10 %-ного водного розчину карбоната натрію Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, після цього пробу випарювали до отримання напівсухого залишку. Для визначення ацетальдегіду із залишку загальної проби відбирали по 10 мл у флакон і додавали по 2 мл перекису водню H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> для окислення ацетальдегіду, що міститься в пробі, до оцтової кислоти. Окислення проводили протягом 20 хв, після цього додавали 1 мл 10 %-ного водного розчину карбонату натрію Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> і випарювали до отримання напівсухого залишку.

Кал збирали та висушували в сушильній шафі, після чого зважували зразки. Після подрібнення зразків відбирали по 50 мг у флакони та додавали по 1 см<sup>3</sup> мурашиної кислоти з подальшим гідролізуванням на водяній бані протягом 2 год.

У всіх випадках до відібраних зразків додавали по 1 см<sup>3</sup> Тритона X-100 та по 10 см<sup>3</sup> сцинтилятора фірми Canberra Packard.

Кількість радіоактивного матеріалу виражали як відсотковий вміст від загальної (сумарної) кількості радіоактивного матеріалу.

Вміст загальної радіоактивності у зразках сечі визначали за формулою (2.15):

$$Q_{\text{заг.}} = \frac{V \cdot a}{V_{\text{алікв.}}}, \quad (2.15)$$

де  $Q_{\text{заг.}}$  – кількість загальних радіоактивних продуктів, імп/хв;

$V$  – загальний об'єм сечі, мл;

$a$  – активність аліквоти, імп/хв;

$V_{\text{алікв.}}$  – об'єм аліквоти, см<sup>3</sup>.

Вміст загальної радіоактивності у зразках калу визначали за формулою (2.16):

$$Q_{\text{заг.}} = \frac{m \cdot a}{m_{\text{проби}}}, \quad (2.16)$$

де  $Q_{\text{заг.}}$  – кількість загальних радіоактивних продуктів, імп/хв;

$m$  – маса калу, мг;

$a$  – активність проби, імп/хв;

$m_{\text{проби}}$  – маса проби, мг.

Максимальну кількість речовини, що виводиться з організму при нескінченному часу експозиції ( $Q_{\text{max}}$ , у % від введеної дози етанолу) було розраховано за методом О. О. Фірсова.

### 2.7.2 Метод УФ-спектрофотометрії

Метод УФ-спектрофотометрії [151] використовували для визначення можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів метадоксину (пірролідон карбоксилату та піридоксину), які існують у фізіологічному діапазоні рН. Для цього 0,05 г метадоксину поміщали в мірну колбу об'ємом 100 мл, розчиняли в 50 мл дистильованої води, доводили об'єм розчину до мітки тим же розчинником і перемішували. 2 мл отриманого розчину доводили буферним розчином до 100 мл і перемішували. В якості буферних розчинів використовували 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої (рН 1,0), ацетатний буферний розчин (рН 4,5) та 0,05 М фосфатний буферний розчин (рН 6,8). Оптичну щільність досліджуваного розчину вимірювали на спектрофотометрії в кюветі з товщиною шару 1 см.

Для оцінки спектрів поглинання метадоксину в різних середовищах розчинення попередньо на основі структурних формул пірролідон карбоксилату та піридоксину за допомогою комп'ютерної програми ACD/pK<sub>a</sub>DB та бази даних фізико-хімічних властивостей сполук PubMed

розраховували/отримували фізико-хімічні параметри даних сполук, а саме: константу іонізації ( $pK_a$ ), ліофільність ( $\log P$ ), ліпофільність при певному рівні рН ( $\log D$ ), кількість донорів та акцепторів протонів, розчинність (г/л). З урахуванням даних показників оцінювали здатність сполук розчинятись у гідрофільному середовищі (кількість донорів та акцепторів, здатність до іонізації при фізіологічному рН ( $\log D$ )), здатність проникати крізь біологічні бар'єри та розчинятись у неполярних регіонах ліпідних мембран ( $\log P$ ,  $\log D$ ,  $pK_a$ ). У разі неможливості розрахунку величини ліпофільності ( $\log P$ ) для іонізованих форм даний показник розраховували лише для формальної неіонізованої структури, а величини  $\log D$  розраховували на підставі рівняння Хендерсона-Хассельбаха.

## 2.8 Біофармацевтичний метод дослідження

Оцінку кінетики розчинення *in vitro* генеричного лікарського засобу «Алкодез<sup>®</sup> ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна, та оригінального препарату «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва «Laboratori Baldacci SpA», Італія, у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, проводили за методичними рекомендаціями щодо дослідження кінетики розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії [152].

Тест «Розчинення» проводили за допомогою приладу «лопатева мішалка» зі швидкістю обертання 75 об/хв. В якості середовища розчинення використовували 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої (рН 1,0), ацетатний буферний розчин (рН 4,5) та 0,05 М фосфатний буферний розчин (рН 6,8); об'єм середовища розчинення становив 900 мл; температура середовища –  $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ .

Випробування проводили на 12 таблетках кожної серії препаратів: дві дослідно-промислові серії генеричного препарату «Алкодез<sup>®</sup> ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ» (серії 0050710, 010111), та одна

промислова серія препарату порівняння «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва Laboratori Baldacci SpA, Італія (серія 0407 SCAD).

Відбір проб здійснювали через 5, 10, 15, 25, 35, 45, 60 хв після початку випробування. Об'єм відбираємої проби становив 1 мл, після відбору середовище розчинення восповнювали в тому ж об'ємі. Відібрані проби фільтрували через мембранний фільтр з розміром пор 0,2 мкм.

В тесті «Розчинення» кількість метадоксину, яка перейшла у розчин з таблетки в кожній часовій точці пробовідбору, визначали спектрофотометрично методом стандарту, оскільки розчин метадоксину має характерні максимуми поглинання при довжині хвилі  $291 \pm 2$  нм в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти (рН 1,2) та в ацетатному буферному розчині (рН 4,5), а також при довжині хвилі 330 нм та в 0,05 М фосфатному буферному розчині (рН 6,8). «Плацебо» (допоміжні речовини) при даних значеннях довжини хвилі не заважає спектрофотометричному визначенню метадоксину, що вказує на специфічність запропонованого методу визначення вмісту метадоксину у генеричному препараті.

Кількість метадоксину, яка перейшла в розчин з таблетки в кожній часовій точці пробовідбору, у відсотках ( $X_n$ ), обчислювали за формулою (2.17):

$$X_n = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot V_n \cdot 2 \cdot 50 \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot (a - \sum_1^n b_n) \cdot 1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot V_n \cdot P}{A_0 \cdot (a - \sum_1^n b_n) \cdot 100}, \quad (2.17)$$

де  $n$  – порядковий номер пробовідбору;  $A_0$  – оптична щільність розчину порівняння;  $A_1$  – оптична щільність досліджуваного розчину;  $m_0$  – маса наважки метадоксину, взята для приготування розчину порівняння, г;  $a$  – вміст метадоксину в одній таблетці (0,5 г);  $P$  – вміст метадоксину у робочому стандартному зразку метадоксину, %;  $V_n$  – об'єм розчинника в  $n$  точці пробовідбору, мл;  $b_n$  – зменшення вмісту речовини в розчині при здійсненні пробовідбору, яке обчислюється за формулою (2.18):

$$b_n = \frac{a \cdot X_{n-1} \cdot d \cdot 0,01}{V_{n-1}}, \quad (2.18)$$

де:  $d$  – об'єм аліквоти, в мл (в даному випадку – 1,0 мл).

Таким чином, при розрахунку кількості метадоксину у кожній часовій точці враховувалось зменшення об'єму розчину і зменшення вмісту речовини у розчині при пробовідборі.

Значення відносної похибки середнього результату  $\varepsilon$ , у відсотках обчислювали за формулою (2.19):

$$\varepsilon = \frac{\Delta \bar{X}}{\bar{X}} \cdot 100, \quad (2.19)$$

де  $\Delta \bar{X}$  – абсолютна похибка середнього результату;  $\bar{X}$  – середнє значення результату із 12 паралельних вимірювань.

Подібність кінетики розчинення досліджуваних лікарських засобів оцінювали за допомогою коефіцієнта подібності, методика визначення якого була схвалена Center for Drug Evaluation and Research (FDA) та Human Medicines Evaluation Unit of The European Agency for the Evaluation of Medicinal Product (EMA). Коефіцієнт подібності обчислювали за формулою (2.20):

$$f_2 = 50 \cdot \log \left[ \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_{t=1}^{t=n} (\bar{R}_{(t)} - \bar{T}_{(t)})^2}{n}}} \right], \quad (2.20)$$

де  $R_{(t)}$  – середнє значення кількості метадоксину, який перейшов у розчин у часовій точці (x) для препарату серії 0407 SCAD, %;  $T_{(t)}$  – середнє значення кількості метадоксину, який перейшов у розчин у часовій точці (x) для препарату серії 0050710 та 010111, %;  $n$  – кількість часових точок.

## 2.9 Статистична обробка експериментальних даних

Для обробки отриманих даних використовували методи описової статистики (для кількісних змінних – середнє арифметичне, стандартне відхилення; для категоріальних – частота). Для кількісних змінних перевіряли гіпотезу щодо нормальності розподілення значень досліджуваного показника у групах за допомогою критерію Шапіро – Уїлка. Порівняння груп за кількісними змінними здійснювали за допомогою параметричного t-критерію

Ст'юдента, порівняння за категоріальними змінними – за допомогою непараметричного U-критерію Манна – Уїтні [153]. Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 6.0». Відмінності між групами визнавалися достовірними при  $p < 0,05$ .



### РОЗДІЛ 3

## ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ВПЛИВ МЕТАДОКСИНУ НА ДИНАМІКУ ПОКАЗНИКІВ ПОВЕДІНКОВИХ РЕАКЦІЙ У ТВАРИН НА ТЛІ ДІЇ ЧИННИКА ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Серед структур, особливо чутливих до токсичної дії етанолу, ЦНС займає одне з перших місць. Дія екзогенного етанолу на нервову систему проявляється метаболічними, нейротоксичними і нейромодуляторними ефектами [9]. На моделях гострої алкогольної інтоксикації середнього ступеня продемонстровано, що у експериментальних тварин виникають порушення моторики, що включають втрату координації рухів, седацію, аж до снодійного ефекту етанолу [8]. Припускають, що патологічна дія етанолу проявляється в зменшенні вмісту у головному мозку ацетилхоліну та зниженні активності холінацетилази. Стресовий вплив етанолу викликає порушення балансу між синтезом та утилізацією  $\gamma$ -аміномасляної кислоти з вираженим зниженням активності глутаматдекарбоксилази, яка каталізує перетворення глутамату в ГАМК [10].

Активність метадоксину щодо ЦНС на сьогодні є мало вивченою. У літературі є дані лише декількох доклінічних досліджень фармакологічних властивостей метадоксину при його попередньому введенні на тлі гострої алкогольної інтоксикації. Так, Felicioli R. et al. було показано, що попереднє введення метадоксину щурам не тільки повністю попереджує етаноліндуковане зниження концентрації АТФ у головному мозку, а й призводить до підвищення рівня АТФ протягом більш ніж 2-х год [49]. У дослідженнях Garau V. et al. було встановлено, що попереднє введення метадоксину попереджує етаноліндукований викид дофаміну, який викликає локомоторну гіперактивність у мишей [78]. На сьогодні науковий інтерес представляє подальше вивчення впливу метадоксину на ЦНС при його попередньому введенні на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.

3.1 Профілактичний вплив метадоксину на динаміку показників спонтанної рухової, орієнтовно-дослідницької активності та емоційного реагування у щурів на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації

Через 1 год після введення етанолу (6 г/кг, в/ш) щурам спостерігалось статистично вірогідне зниження кількості пересічень тваринами секторів поля, вертикальних стійок та кількості актів дефекації та уринації порівняно до вихідного стану. Значно знижувалась кількість зазирань у норки та актів грумінгу, але статистично вірогідної різниці порівняно з вихідними даними не було.

Через 24 год після введення етанолу спонтанна рухова активність щурів була статистично вірогідно зниженою порівняно до вихідного стану, тоді як знижені показники орієнтовно-дослідницької активності та емоційного реагування відновилися до початкових рівнів (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

**Динаміка показників спонтанної рухової, орієнтовно-дослідницької активності та емоційного реагування у щурів у відкритому полі на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Досліджувані показники, кількість паттернів	Вихідний стан	Через 1 год після введення етанолу	Через 24 год після введення етанолу
Пересічення секторів поля	63,6±10,4	29,7±8,1*	37,0±6,8*
Вертикальні стійки	6,4±1,2	1,4±0,4*	3,0±0,8*
Зазирання у норки	2,7±0,8	1,4±0,2	3,0±1,1
Грумінг	5,0±1,0	3,2±0,8	2,9±0,6
Дефекація та уринація	1,7±0,4	0,4±0,1*	1,6±0,7

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , відносно вихідного стану

Профілактичне введення метадоксину (200 мг/кг, в/о) щурам за 1 год до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) не попереджувало етаноліндукованих негативних змін досліджуваних показників спонтанної рухової активності, які реєстрували через 1 год після введення етанолу (табл. 3.2), однак через 24 год спостерігалось повне відновлення даних показників до початкових рівнів (див. табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Профілактичний вплив метадоксину на динаміку спонтанної рухової, орієнтовно-дослідницької активності та емоційного реагування у щурів у відкритому полі на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Досліджувані показники, кількість паттернів	Вихідний стан	Через 1 год після введення етанолу	Через 24 год після введення етанолу
Пересічення секторів арили	55,7±11,2	19,2±5,4*	61,8±12,6
Вертикальні стійки	7,0±2,4	0,2±0,04*	7,7±1,8
Зазирання у норки	2,3±1,1	0,9±0,06	2,4±1,1
Грумінг	3,3±1,6	2,6±0,7	3,2±0,9
Дефекація та уринація	0,7±0,3	0,0±0,0*	0,8±0,3

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , відносно вихідного стану

Отже, у тварин контрольної патології через 24 год після введення етанолу значення досліджуваних показників спонтанної рухової активності «кількість пересічень секторів поля» та «кількість вертикальних стійок» є статистично вірогідно нижчими на 42 та 53 % відповідно порівняно до вихідних значень ( $p < 0,05$ ), в той час як у тварин дослідної групи на тлі застосування метадоксину значення досліджуваних показників, які були статистично вірогідно нижчими за вихідні рівні через 1 год після введення етанолу, через 24 год сягають

вихідних рівнів ( $p < 0,05$ ). Таким чином, профілактичне введення метадоксину за 1 год до введення етанолу статистично вірогідно зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу, забезпечуючи прискорення відновлення зниженої спонтанної рухової активності у щурів протягом 24 год після введення етанолу [154,155]. Відновлення рухової активності щурів при попередньому введенні метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації можна пояснити як прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину [50,66,68,69], так і його нейромедіаторною активністю – безпосереднім впливом компонентів метадоксину на активацію біосинтезу дофаміну у головному мозку, який має дефіцитарні рівні при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації [54,78,156,157].

Введення етанолу щурам не призводить до статистично вірогідного зниження значень показників «кількість зазирань у норки» та «кількість актів грумінгу» порівняно з вихідними значеннями ( $p < 0,05$ ). Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на орієнтовно-дослідницьку активність тварин та емоційне реагування тварин за показником «кількість актів грумінгу» виявилось неможливим через відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу на досліджувані поведінкові показники у відтворених умовах експериментальної моделі гострої алкогольної інтоксикації.

Показник емоційного реагування «кількість актів дефекації та уринації» зазнає статистично вірогідного зниження у часовій контрольній точці  $T = 1$  год порівняно з вихідним рівнем в обох досліджуваних групах, в другій часовій точці виміру  $T = 24$  год, як у групі контрольної патології (Етанол, 6 г/кг), так і у дослідній групі (Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 6 г/кг), відбувається нормалізація значень показника ( $p < 0,05$ ). Оскільки динаміка значень показника «кількість актів дефекації та уринації» у тварин контрольної патології та дослідної групи подібна, можна зробити висновок щодо відсутності позитивного впливу профілактичного введення метадоксину на даний показник у щурів через 1 год після введення етанолу [154,155]. З огляду на дані

літератури щодо здатності метадоксину нормалізувати психоемоційний фон тварин за рахунок катехолергічної активності, зокрема при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації [54,78], відсутність позитивного впливу метадоксину на емоційну компоненту поведінки тварин «кількість актів дефекації та уринації» через 1 год після введення етанолу можна пояснити нечутливістю досліджуваного показника до дії метадоксину у відтворених умовах його профілактичного введення на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.

**3.2 Профілактичний вплив метадоксину на частоту розвитку міорелаксації у мишей на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Через 1 та 2 год після введення етанолу (1 г/кг, в/ш) мишам у тварин спостерігалася виражена етаноліндукована міорелаксація (табл. 3.3).

*Таблиця 3.3*

**Профілактичний вплив метадоксину на частоту розвитку міорелаксації у мишей на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Умови досліджу	Час реєстрації (год)			
	1	2	3	4
Контроль	0/7 <sup>♦</sup>	0/7	0/7	0/7
Етанол, 1 г/кг	6/7*	6/7*	1/7	0/7
Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 1 г/кг	2/6	1/6**	0/6	0/6

Примітки:

1. ♦ – у чисельнику зазначена кількість тварин з наявністю міорелаксації, у знаменнику – загальна кількість тварин у групі;
2. \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю;
3. \*\* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 1 г/кг)

Профілактичне введення метадоксину (200 мг/кг, в/о) мишам за 1 год до введення етанолу (1 г/кг, в/ш) призводить до значного зниження частоти розвитку міорелаксантичного ефекта у тварин через 1 год після введення етанолу та до статистично вірогідного зниження даного показника через 2 год після введення етанолу ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 3.3). Так, через 2 год після введення етанолу індуковану міорелаксацію реєстрували у 86 % тварин групи контрольної патології, відносна кількість тварин із наявністю зазначеного показника у дослідній групі була в 5 разів нижчою порівняно до групи контрольної патології та становила 17 % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 3.3).

Отримані результати показали, що профілактичне введення метадоксину попереджує розвиток етаноліндукованої міорелаксації у мишей через 2 год після введення етанолу, забезпечуючи нейропротекторний ефект та зменшуючи вираженість нейротоксичної дії етанолу [154,155]. Нейропротекторний ефект метадоксину щодо попередження розвитку міорелаксації, індукованої введенням етанолу, забезпечується прямою антиалкогольною, дезінтоксикаційною та дофаміною активністю метадоксину [50,54,66,68,69,78,156,157].

3.3 Профілактичний вплив метадоксину на фізичну працездатність щурів на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації

Через 3 год після введення етанолу (6 г/кг, в/ш) щурам спостерігалось статистично вірогідне зниження фізичної працездатності у тварин: тривалість утримання тварин на стержні, що обертається, достовірно знижувалась порівняно до контролю. Через 24 год після введення етанолу реєстрували повне відновлення фізичної працездатності у щурів за досліджуваним показником (табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Профілактичний вплив метадоксину на фізичну працездатність у щурів  
на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Умови досліджу	Час утримування на стержні, що обертається, с		
	Через 1 год	Через 3 год	Через 24 год
Контроль	175,0±1,2		
Етанол, 6 г/кг	34,6±9,1*	54,2±8,6*	175,5±3,8
Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 6 г/кг	18,1±7,3*	30,0±10,4*	177,7±2,4

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю

Профілактичне введення метадоксину (200 мг/кг, в/о) щурам за 1 год до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) не впливає на тривалість утримування тварин на стержні, що обертається, а отже не попереджує етаноліндуковане зниження фізичної працездатності у щурів у перші 3 год гострої нейротоксичної дії етанолу ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 3.4).

Отримані результати показали, що профілактичне введення щурам метадоксину не попереджує етаноліндуковане зниження фізичної працездатності у тварин [154,155].

З огляду на позитивний вплив метадоксину при його попередньому введенні на етаноліндуковане зниження спонтанної рухової активності, на розвиток етаноліндукованої міорелаксації, а також з урахуванням даних літератури щодо нейромедіаторного профілю дії метадоксину [54,78], відсутність позитивного впливу метадоксину на знижену фізичну працездатність та порушення координації рухів тварин на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації можна пояснити нечутливістю досліджуваного

показника до дії метадоксину у відтворених умовах його профілактичного введення на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.

3.4 Профілактичний вплив метадоксину на потяг до блювання у мишей на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації

Через 90 хв після введення етанолу мишам (1 г/кг, в/ш) у тварин відзначався потяг до блювання, показником якого вважали мимовільне жування тваринами тирси протягом 60 с (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Профілактичний вплив метадоксину на потяг до блювання у мишей на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Умови досліджу	Час реєстрації (хв)			
	90	110	120	180
Контроль	0/7 <sup>♦</sup>	0/7	0/7	0/7
Етанол, 1 г/кг	7/7*	3/7	2/7	0/7
Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 1 г/кг	2/6**	1/6	1/6	0/6

Примітки:

1. ♦ – у чисельнику зазначена кількість тварин з наявністю потягу до блювання, у знаменнику – загальна кількість тварин у групі;

2. \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю;

3. \*\* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 1 г/кг)

Профілактичне введення метадоксину (200 мг/кг, в/о) мишам за 1 год до введення етанолу (1 г/кг, в/ш) привело до статистично вірогідного зниження частоти розвитку етаноліндукованого потягу до блювання у мишей через 90 хв після введення етанолу ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 3.5). Так, через 90 хв після



введення етанолу поїдання тирси протягом 60 с реєстрували у 100 % тварин групи контрольної патології, відносна кількість тварин із наявністю даного показника у групі тварин, яким попередньо вводили метадоксин, була нижчою в 3 рази порівняно до групи контрольної патології та становила 33 % ( $p < 0,05$ ).

Отримані результати показали, що профілактичне введення метадоксину зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу, забезпечуючи зменшення потягу до блювання у мишей через 90 хв після введення етанолу. Протиблювотна дія метадоксину при його профілактичному введенні на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації обумовлена як прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину [50,66,68,69], так і його нейромедіаторною активністю, а саме здатністю регулювати в структурах головного мозку рівні дофаміну, ацетилхоліну, ГАМК, серотоніну, які приймають участь у нейрохімічних механізмах блювання [53,54,76-78,156,157].

3.5 Профілактичний вплив метадоксину на розумову працездатність щурів на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації

Введення етанолу (6 г/кг, в/ш) щурам за 1 год до навчання призводило до порушення розумової працездатності тварин. Так, якщо у тварин контрольної групи тривалість латентного періоду (тобто часу перебування тварини у світлій камері до переміщення до темного відсіку приладу) після формування умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) є довшою в 2,1 рази порівняно до тривалості латентного періоду до навчання, то у тварин групи контрольної патології тривалість латентного періоду після навчання є довшою в 1,6 рази ( $p < 0,05$ ) порівняно до тривалості латентного періоду до формування УРПУ (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Профілактичний вплив метадоксину на розумову працездатність  
на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Умови досліджу	Латентний період до навчання, с	Кількість тварин, які виконували УРПУ після навчання, %	Латентний період після навчання, с
Контроль	4,9±1,2	90	10,2±1,8
Етанол, 6 г/кг	10,2±1,9*	44	16,3±0,7*
Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 6 г/кг	3,7±0,4**	88	12,8±0,6**

Примітки:

1. \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю;
2. \*\* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 6 г/кг)

Профілактичне введення щурам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 1 год до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) попереджує негативну дію етанолу на здатність до навчання тварин. Так, профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації забезпечило утримання значень показників «Латентний період до навчання», «Латентний період після навчання» на рівні значень цих показників для контрольної групи тварин ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 3.6). Тривалість латентного періоду після формування УРПУ у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, є довшою в 3,5 раза порівняно до латентного періоду до навчання ( $p < 0,05$ ).

Отримані результати показали, що профілактичне введення метадоксину щурам за 1 год до введення етанолу, який вводили за 1 год до формування УРПУ, попереджує етаноліндуковане порушення здатності до навчання тварин,

забезпечуючи нейропротекторний ефект [158]. Попередження розвитку етаноліндукованої загальмованості пізнавальних психічних процесів у тварин та порушення формування УРПУ при профілактичному введенні метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації, ймовірно, обумовлено прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину [50,66,68,69], а також його здатністю підвищувати вивільнення дофаміну, ГАМК і ацетилхоліну у головному мозку, рівні яких є дефіцитарними при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації [53,54,76-78,156,157].

Введення етанолу (6 г/кг, в/ш) щурам одразу після навчання (формування УРПУ) не впливає на консолідацію слідів пам'яті у тварин ( $p < 0,05$ ) (табл. 3.7).

*Таблиця 3.7*

**Профілактичний вплив метадоксину на консолідацію слідів пам'яті у щурів на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації**

Умови досліджу	Кількість тварин, які виконували УРПУ, %	Латентний період після навчання, с
Контроль	90	169,7±12,6
Етанол, 6 г/кг	80	146,0±9,3
Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 6 г/кг	90	162,4±7,5

Профілактичне введення щурам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 1 год до навчання тварин та послідуєчого введення етанолу (6 г/кг, в/ш) привело до утримання значень досліджуваних показників на рівні значень цих показників для контролю, у той час, як у групі контрольної патології реєстрували тенденцію до скорочення часу латентного періоду та зменшення кількості тварин, які виконували УРПУ ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 3.7). З огляду на відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу на консолідацію слідів пам'яті у щурів, оцінити профілактичний вплив

метадоксину на даний показник розумової працездатності у тварин виявилось неможливим [158].

### Резюме

Профілактичне введення щурам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 1 год до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) забезпечує прискорення відновлення зниженої спонтанної рухової активності у щурів протягом 24 год після введення етанолу. Оцінити профілактичний вплив метадоксину на орієнтовно-дослідницьку активність тварин та емоційне реагування тварин за показником «кількість актів грумінгу» виявилось неможливим через відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу на досліджувані поведінкові показники у відтворених умовах моделі гострої алкогольної інтоксикації. Метадоксин, введений щурам у профілактичному режимі, не чинить впливу на показник емоційного реагування «кількість актів дефекацій та уринацій» у щурів через 1 год після введення етанолу.

Попереднє введення мишам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 1 год до введення етанолу (1 г/кг, в/ш) знижує частоту розвитку міорелаксантного ефекта у тварин через 2 год після введення етанолу.

Введення щурам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 1 год до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) не впливає на етаноліндуковане зниження фізичної працездатності у тварин.

Профілактичне введення мишам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 1 год до введення етанолу (1 г/кг, в/ш) знижує частоту розвитку етаноліндукованого потягу до блювання у мишей через 90 хв після введення етанолу.

Попереднє введення щурам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 1 год до введення етанолу (6 г/кг, в/ш), який вводили за 1 год до формування умовної реакції пасивного уникнення у щурів, попереджує етаноліндуковане порушення здатності до навчання у тварин. Оцінити профілактичний вплив метадоксину на консолідацію слідів пам'яті у щурів виявилось неможливим через відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу

на досліджуваний показник у відтворених умовах моделі гострої алкогольної інтоксикації.

Таким чином, метадоксин, попередньо введений мишам та щурам за 1 год до введення етанолу у дозах 1 г/кг та 6 г/кг відповідно, зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу, забезпечуючи прискорення відновлення зниженої спонтанної рухової активності у щурів, знижуючи частоту розвитку міорелаксації та потягу до блювання у мишей та попереджуючи порушення формування умовних реакцій, що забезпечують процеси навчання у щурів, але не впливає на показник емоційного реагування «кількість актів дефекації та уринації» у щурів через 1 год після введення етанолу та показник фізичної працездатності у щурів. Позитивний вплив профілактичного введення метадоксину на досліджувані показники можна пояснити як прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину, так і його нейромедіаторною активністю – безпосереднім впливом компонентів метадоксину на активацію біосинтезу дофаміну, ацетилхоліну та ГАМК у головному мозку, які мають дефіцитарні рівні при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Експериментальна оцінка профілактичного впливу алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2012. № 1 (21). С. 36–41. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення статті.)*

2. Експериментальна оцінка ефективності алкодезу в профілактиці етаноліндукованого зниження здатності білих щурів до навчання / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Одеський медичний журнал*. 2012. № 6 (134). С. 42–45. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних*

досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення статті.)

3. Овчаренко Н. В., Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Профілактичний вплив Алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу. *Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології: матеріали наук.–практ. конф. з міжн. уч., м. Дніпропетровськ, 26–27 вересня 2013 р. Дніпропетровськ, 2013. С.157–158. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення тез.)*

4. Borisyuk I. Yu., Karpova O. V. Neurotransmitter profile of metadoxine. *XVI conference of young scientists and student-chemists of southern region of Ukraine with international participation: Dedicated to the 85th anniversary of academician of AS USSR A. V. Bogatsky: the materials of conf. with int. part., Odessa, 28–30 April 2014. Odessa, 2014. P. 42. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення тез.)*

5. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Метадоксин (АЛКОДЕЗ/ЛИВЕРИЯ): механізм действия. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 березня 2015 р. Дніпропетровськ, 2015. С. 92–96. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення тез.)*

## РОЗДІЛ 4

### ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ВПЛИВ МЕТАДОКСИНУ НА ЕЛІМІНАЦІЮ ЕТАНОЛУ ТА ЙОГО МЕТАБОЛІТІВ У ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ ЧИННИКА ГОСТРОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Лімітуючою стадією дії етанолу є процес всмоктування, який здійснюється в основному в проксимальному відділі шлунково-кишкового тракту – у шлунку (70 %) та у дванадцятипалій кишці (25 %), в той час як 5 % етанолу всмоктується у дистальних відділах кишечника [159]. У слизовій оболонці шлунка здійснюється перший етап метаболізму алкоголю за участю шлункової фракції алкогольдегідрогенази. У шлунку метаболізується до 10 % етанолу, що надходить до організму. Однак слід зазначити, що на сьогодні питання про шлунок як орган, де здійснюється перша фаза метаболізму етанолу, є дискусійним. Висловлюється припущення, що перша фаза метаболізму етанолу відбувається у печінці, однак вона залежить від швидкості всмоктування в шлунку і тонкому кишечнику [160].

Відомо, що системне окислення етанолу відбувається у печінці паралельно за трьома метаболічними шляхами: 1) алкогольдегідрогеназою, що забезпечує метаболізм переважної більшості (90 %) етанолу, який надійшов до печінки, 2) мікросомальною етанолокислювальною системою (МЕОС) (окислення 8–10 % етанолу), 3) каталазою піроксисом (окислення до 2 % етанолу) [161]. Дані метаболічні шляхи призводять до окислення етанолу до ацетальдегіду.

Окислення етанолу за участю алкогольдегідрогенази потребує наявності окисленого  $\text{НАД}^+$  та супроводжується перенесенням протона з молекули етанолу на кофермент  $\text{НАД}^+$  з послідуочим його відновленням до  $\text{НАДН}$  і утворенням ацетальдегіду. Далі ацетальдегід також в  $\text{НАД}^+$ -залежній реакції перетворюється в мітохондріях за допомогою ацетальдегіддегідрогенази в оцтову кислоту, яка, в свою чергу, за участю ацетилкоензим А синтетази перетворюється у ацетил-КоА, який надходить до циклу трикарбонних кислот або до циклу жирних кислот (див. рис. 1.1). Утворений при цьому  $\text{НАДН}$

повторно окислюється. Таким чином, швидкість деградації етанолу за допомогою алкогольдегідрогенази і ацетальдегіддегідрогенази залежить від інтенсивності повторного окислення НАДН до НАД<sup>+</sup>. Метаболізм однієї молекули етанолу потребує дві молекули НАД<sup>+</sup>. Це значно змінює окислювально-відновний потенціал гепатоцитів в сторону відновних реакцій. Деградація етанолу може припинитись, якщо НАДН постійно не буде реокислюватися. Підвищення концентрації НАДН уповільнює швидкість реакцій ЦТК. У цих умовах надлишок ацетил-КоА йде на синтез кетонів тіл, що надходять до крові (див. рис. 1.1). Окрім того, підвищення в клітині концентрації НАДН пригнічує активність триптофанпіролази, яка каталізує процеси синтезу НАД<sup>+</sup> з триптофану [70].

На сьогодні відомо, що метадоксин прискорює метаболізм та виведення етанолу та його метаболітів з сечею із організму [50]. Ragusa N. et al. встановлено, що метадоксин за рахунок піридоксिनного компоненту перешкоджає інгібуванню триптофанпіролази, тим самим, забезпечуючи синтез НАД<sup>+</sup>-коферментів алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази [70]. Також результати досліджень ряду вчених підтвердили здатність метадоксину полегшувати окислення НАДН в НАД<sup>+</sup>, тим самим, усувати виражену зміну співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> в бік збільшення, забезпечуючи таким чином активність алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази, та, отже, високу швидкість біотрансформації етанолу у клітині [50,66,69]. Було показано, що прискорення ренального кліренсу етанолу може також здійснюється за рахунок пригнічення метадоксином формування макроагрегатів між альбуміном і ацетальдегідом [50]. Але на сьогодні у літературі відсутні дані щодо впливу метадоксину на елімінацію етанолу та його метаболітів при його профілактичному введенні.

Профілактичне введення метадоксину (200 мг/кг, в/о) щурам за 30 хв до введення <sup>14</sup>C-етанолу (3,5 г/кг, в/ш) призводить до статистично вірогідного збільшення загальної кількості радіоактивних продуктів, виведених ренальним шляхом, починаючи з другої часової точки пробовідбору – 7,5 год, порівняно



до тварин групи контрольної патології. В останній часовій точці пробовідбору, яка відповідає 30 год, сумарна відносна кількість виведеного незміненого етанолу та його метаболітів у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, перевищує в 1,4 раза даний показник у тварин, яким вводили тільки етанол ( $p < 0,05$ ) (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

**Профілактичний вплив метадоксину на ренальне виведення етанолу та його метаболітів з організму щурів**

Час, год	Експериментальні групи	
	Етанол, 3,5 г/кг	Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 3,5 г/кг
	Загальна кількість радіоактивних продуктів, що виводяться з сечею, % введеної дози етанолу	
3	19,6±2,3	13,9±1,3
7,5	25,7±0,6	29,6±1,2*
12	29,3±1,0	37,5±1,4*
24	32,2±1,5	43,6±1,7*
30	32,6±3,6	46,1±4,5*

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 3,5 г/кг)

Для інтегральної характеристики процесів ренальної елімінації з урахуванням загальної кількості виведеного з сечею незміненого етанолу та його метаболітів (див. табл. 4.1) було розраховано максимальні кількості речовин, що виводяться при нескінченній експозиції ( $Q_{max}$ , у % від введеної дози етанолу) (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

**Відносна сумарна кількість виведеного незміненого етанолу та його метаболітів при теоретично нескінченному часі експозиції**

Речовини	Експериментальні групи	
	Етанол, 3,5 г/кг	Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 3,5 г/кг
	Максимальна кількість речовини, що виводиться при нескінченній експозиції, $Q_{max}$ , % від введеної дози етанолу	
Етанол та його метаболіти	29,8±4,7	47,4±4,9*

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 3,5 г/кг)

Теоретично розраховані дані узгоджуються з експериментальними даними, які наведено у таблиці 4.1. При теоретично нескінченному часі експозиції відносна сумарна кількість виведеного незміненого етанолу та його метаболітів у тварин, яким вводили метадоксин, перевищує в 1,6 раза даний показник тварин групи контрольної патології ( $p < 0,05$ ).

Дані щодо відносного кількісного вмісту незміненого етанолу та його метаболітів у сечі у кожній часовій точці пробовідбору – через 3; 7,5; 12; 24 та 30 год після введення етанолу – зазнали найбільш виражених міжгрупових змін (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

**Профілактичний вплив метадоксину на динаміку відносного кількісного вмісту незміненого етанолу та його метаболітів у пробах сечі щурів (% виведеної загальної радіоактивності для кожної часової точки пробовідбору)**

Час, год	Експериментальні групи					
	Етанол, 3,5 г/кг			Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 3,5 г/кг		
	Етанол	Ацетальдегід	Ацетат	Етанол	Ацетальдегід	Ацетат
3	15,9±0,40	24,4±1,4	59,6±0,8	77,8±0,6*	9,9±0,7*	12,5±0,8*
7,5	0,54±0,04	23,9±2,7	75,5±2,8	58,8±0,6*	28,4±0,8	12,8±0,4*
12	0,73±0,01	18,2±2,8	81,1±2,9	37,1±4,3*	42,3±2,7*	20,7±2,1*
24	0,32±0,17	16,9±2,8	82,7±3,0	32,6±5,3*	40,4±4,3*	27,1±0,9*
30	0,28±0,09	15,5±1,7	84,2±1,8	32,6±5,8*	38,8±5,1*	28,1±0,8*

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 3,5 г/кг)

Як видно з представлених даних (див. табл. 4.3), у групі контрольної патології відбувався інтенсивний метаболізм етанолу. Починаючи з 3-ої год після введення, етанол виводиться переважно у вигляді ацетату. Вже з ~ 7-ої год після введення етанолу кількість елімінованого незміненого етанолу не перевищує 1 % від введеної дози, тоді як переважну частину радіоактивних продуктів складають його метаболіти – ацетальдегід (16–24 %) та ацетат (60–84 %).

Активне окислення етанолу та ацетальдегіду призводить до підвищеної витрати НАД<sup>+</sup> та, як наслідок, до підвищення співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup>, що знижує активність НАД<sup>+</sup>-залежних ферментів. Рівновага наступних реакцій зміщується вправо (див. рис. 1.1):



Збільшення концентрації НАДН порівняно до НАД<sup>+</sup> уповільнює реакцію окислення лактату, збільшується співвідношення лактат/піруват, знижується швидкість глюконеогенезу (див. рис. 1.1). У крові зростає концентрація лактату, це призводить до гіперлактацидемії та лактоцидозу. Зниження концентрації пірувата та дефіцит НАД<sup>+</sup> уповільнює НАД<sup>+</sup>-залежні реакції окислювального декарбокسيلювання – реакції окислення пірувата до ацетил-КоА – основного субстрату циклу трикарбонових кислот, який протікає у мітохондріях. Відомо, що 80 % ацетальдегіддегідрогенази локалізовано у матриксі мітохондрій. Тому в умовах активного окислення екзогенного етанолу та етаноліндукованого дефіциту пірувата субстратом для ЦТК є кінцевий метаболіт етанолу – ацетат, який активується включенням до структури ацетил-КоА. Але висока концентрація НАДН, утвореного в реакціях окислення етанолу, знижує швидкість ЦТК (для одного циклу якого необхідно 3 НАД<sup>+</sup>). У таких умовах шлях метаболізму ацетил-КоА відхиляється у бік утворення кетонових тіл, це призводить до розвитку кетозу (див. рис. 1.1).

Відновлення дігидроксиацетонфосфата (ДАФ), проміжного метаболіту гліколізу та глюконеогенезу, до гліцерин-3-фосфату призводить до ще більшого зниження швидкості глюконеогенезу. Синтез гліцерин-3-фосфату, накопичення вільних жирних кислот у цитозолі гепатоцитів через зниження швидкості НАД<sup>+</sup>-залежного β-окислення жирних кислот, надлишок ацетил-КоА призводять до збільшення синтезу жирів у печінці та гіпертриацилгліцеролемії (див. рис. 1.1).

На тлі попереднього введення метадоксину відзначається значний перерозподіл у кількісному співвідношенні виведеного незміненого етанолу та його метаболітів (див. табл. 4.3). Так, на тлі дії метадоксину вже через 3 год після введення етанол виводиться переважно у вигляді незміненого етанолу, його відносна кількість перевищує в 4,9 раза даний показник у групі контрольної патології (p<0,05). Через 12 год після введення етанол виводиться

переважно у вигляді ацетальдегіду, рівень якого у пробах сечі перевищує в 2,3 раза даний показник у тварин контрольної патології ( $p < 0,05$ ). В тій же контрольній часовій точці рівень ацетату у сечі тварин, яким вводили метадоксин, є меншим в 3,9 раза порівняно до даного показника для групи контрольної патології ( $p < 0,05$ ). Подібне співвідношення продуктів метаболізму етанолу зберігається до 30-ої год з моменту введення етанолу [162,163].

Отримані результати щодо прискорення на тлі профілактичної дії метадоксину швидкості ренального виведення етанолу та його метаболітів та дані щодо відносного кількісного розподілу незміненого етанолу, ацетальдегіду та ацетату у ренальних біопробах протягом всього періоду пробозабору можна пояснити здатністю метадоксину полегшувати окислення НАДН в НАД<sup>+</sup> та попереджувати зміну співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> в бік збільшення [50,69,70]. При попередньому введенні метадоксину забезпечується нормальне співвідношення концентрацій відновленого та окисленого нікотинамідаденіндинуклеотида у всіх компартментах клітини, що попереджує пов'язане із дефіцитом НАД<sup>+</sup> гальмування основних метаболічних шляхів – глюконеогенезу, окислювального декарбоксілювання пірувата, ЦТК,  $\beta$ -окислення жирних кислот. Отже, метадоксин забезпечує нормальну концентрацію НАД<sup>+</sup>-коферментів ферментативних комплексів ключових метаболічних блоків, в яких не задіяні НАД<sup>+</sup>-залежні алкогольдегідрогеназа та ацетальдегіддегідрогеназа. Цим можна пояснити переважне виведення етанолу на тлі дії метадоксину у вигляді неметаболізованого етанолу протягом ~ 7 год після введення етанолу. Зменшення рівня незміненого етанолу та відповідне підвищення рівнів ацетальдегіду та ацетату у ренальних біопробах щурів, починаючи з 12 год після введення етанолу, вказує на метадоксин-індуковану інтенсифікацію процесів метаболізму етанолу за рахунок підтримання активності алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази на тлі підвищеної витрати НАД<sup>+</sup>. Ацетат, який утворюється як кінцевий продукт метаболізму етанолу, на тлі дії метадоксину включається до структури ацетил-КоА та окислюється у циклі трикарбонних кислот до вуглекислого газу.

Саме цим, можна пояснити статистично вірогідно знижені рівні ацетату у сечі щурів, яким вводили метадоксин, порівняно до цього показника у щурів групи контрольної патології. Встановлення статистично вірогідно підвищеного рівня ацетальдегіду у сечі щурів на тлі дії метадоксину, починаючи з 12-ої год після введення етанолу, порівняно до групи контрольної патології, ймовірно, пов'язано зі здатністю метадоксину пригнічувати формування макроагрегатів між альбуміном і ацетальдегідом [50].

Таким чином, попереднє введення метадоксину за 30 хв до введення етанолу прискорює ренальне виведення із організму незміненого етанолу та ацетальдегіду, тим самим зменшуючи їх пошкоджуючий вплив на структуру та функціонування клітин, та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату та розвиток патологічних станів, асоційованих із цим порушенням.

Оцінити профілактичний вплив метадоксину на виведення етанолу та його метаболітів з калом виявилось неможливим, оскільки вміст радіоактивного матеріалу у біопробах обох груп тварин був слідовим та не перевищував гранично мінімальний вміст загальної радіоактивності, який можна було детектувати за допомогою проведеного сцинтиляційного спектрофотометричного аналізу.

### **Резюме**

Профілактичне введення щурам метадоксину (200 мг/кг, в/о) за 30 хв до введення  $^{14}\text{C}$ -етанолу (3,5 г/кг, в/ш) призводить до збільшення загальної кількості радіоактивних продуктів, виведених ренальним шляхом, порівняно до тварин групи контрольної патології.

На тлі попереднього введення метадоксину відзначається значний перерозподіл у кількісному співвідношенні виведеного незміненого етанолу та його метаболітів порівняно до тварин групи контрольної патології. Так, якщо у тварин контрольної патології етанол виводиться переважно у вигляді ацетату, то у тварин, яким вводили метадоксин, вже через 3 год після введення етанол

виводиться переважно у вигляді незміненого етанолу, через 12 год – переважно у вигляді ацетальдегіду.

Отримані результати щодо прискорення на тлі профілактичної дії метадоксину швидкості ренального виведення етанолу та його метаболітів та дані щодо кількісного розподілу незміненого етанолу, ацетальдегіду та ацетату у ренальних біопробах протягом всього періоду пробозабору можна пояснити здатністю метадоксину пригнічувати формування макроагрегатів між альбуміном і ацетальдегідом та полегшувати окислення НАДН в НАД<sup>+</sup>, попереджуючи зміну співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> в бік збільшення. При попередньому введенні метадоксину забезпечується нормальне співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> у всіх компартментах клітини, що попереджує пов'язане із дефіцитом НАД<sup>+</sup> гальмування ключових метаболічних шляхів – глюконеогенезу, окислювального декарбоксілювання пірувата, ЦТК, β-окислення жирних кислот, в яких не задіяні НАД<sup>+</sup>-залежні алкогольдегідрогеназа та ацетальдегіддегідрогеназа. Цим можна пояснити переважне виведення етанолу на тлі дії метадоксину у вигляді неметаболізованого етанолу протягом 7 год після введення етанолу. Зменшення рівня незміненого етанолу та відповідне підвищення рівнів ацетальдегіду та ацетату у сечі щурів, починаючи з 12-ої год після введення етанолу, вказує на метадоксин-індуковану інтенсифікацію процесів метаболізму етанолу за рахунок підтримання активності алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази на тлі підвищеної витрати НАД<sup>+</sup>. Ацетат, який утворюється як кінцевий продукт метаболізму етанолу, на тлі дії метадоксину піддається метаболічному шляху утилізації, окислюючись у нормально функціонуючому ЦТК до вуглекислого газу.

Таким чином, попереднє введення метадоксину за 30 хв до введення етанолу прискорює ренальне виведення із організму незміненого етанолу та ацетальдегіду, тим самим зменшуючи їх пошкоджуючий вплив на клітини, та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату та розвиток асоційованих із цим порушенням патологічних станів.

Оцінити профілактичний вплив метадоксину на виведення етанолу та його метаболітів з калом виявилось неможливим через дуже низьку (слідову) концентрацію радіоактивного матеріалу у біопробах обох груп тварин.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Golovenko M. Ya., Karpova O. V., Borisyuk I. Yu. Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical pharmacy*. 2016. Vol. 20, No. 3. P. 24–28. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів.)

2. Борисюк И. Ю., Овчаренко Н. В., Карпова О. В. Влияние Алкодеза (метадоксина) на скорость экскреции этанола и его метаболитов. *Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України: матеріали наук.–практ. конф., присвяченої 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на півдні України, м. Одеса, 6–7 грудня 2013 р. Одеса, 2013. С. 172–174. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення тез.)*



**РОЗДІЛ 5**  
**ПРОФІЛАКТИЧНИЙ ВПЛИВ МЕТАДОКСИНУ**  
**НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ У ЩУРІВ**  
**НА ТЛІ ДІЇ ЧИННИКА ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ**  
**АЛКОГОЛЬНОГО ТА НЕАЛКОГОЛЬНОГО ГЕНЕЗУ**

У метаболічному циклі етанолу, що надходить до організму, основне навантаження несе печінка. При вживанні гепатотоксичних доз алкоголю, при медикаментозній інтоксикації, порушеннях ліпідного або вуглеводного обміну виникають різні клініко-морфологічні форми метаболічного ураження печінки, що характеризується значним відкладенням ліпідів в паренхімі печінки на тлі прогресуючих функціональних порушень органу. Метадоксин чинить метаболічний ефект, вираженість якого залежить від наявності двох компонентів, пірролідон карбоксилату та піридоксину, які здатні активувати характерні для них метаболічні біотрансформації [50]. На сьогодні у літературі є дані лише декількох доклінічних досліджень фармакологічних властивостей метадоксину при його попередньому введенні на тлі дії чинника токсичного ураження печінки. Так, згідно з даними наукових досліджень [49,63] метадоксин, введений щурам за 1 год до введення етанолу, достовірно запобігає етаноліндукованому зниженню рівня відновленого глутатіону, а також рівня АТФ, реалізуючи позитивний вплив на процеси енергозабезпечення тканин печінки. Крім того, у дослідженнях [64,65] показана здатність метадоксину, введеного щурам за 1 год до введення етанолу, пригнічувати за рахунок підвищення активності десатураз зниження рівня ненасиченості жирних кислот мембранних ліпідів, індуковане етанолом. У дослідженнях Calabrese V. et al. показано, що прийом тваринами метадоксину за 1 год до введення етанолу запобігає індукованому збільшенню вмісту триацетилгліцеролів в гепатоцитах [65]. Метадоксин попереджує розвиток жирової дистрофії печінки у 50 % щурів, яким була введена доза етанолу, що викликає жирову дистрофію печінки у 100 % щурів контрольної групи [66]. На сьогодні науковий інтерес

представляє подальше вивчення впливу метадоксину на розвиток уражень печінки при його попередньому введенні на тлі дії гепатотоксичних чинників.

5.1 Профілактичний вплив метадоксину на біохімічні показники сироватки крові у щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу

Повторне введення етанолу щурам (6 г/кг, в/ш) протягом 7 днів призвело до патологічних змін досліджуваних показників структурно-функціонального стану печінки, що свідчить про етаноліндуковане ураження печінки, асоційоване з цитолітичним та холестатичним синдромами та порушенням синтетичної функції печінки (табл. 5.1 – 5.3).

Відомо, що цитолітичний синдром виникає внаслідок порушення структурної цілісності клітин печінки, передусім гепатоцитів, та швидкого надходження внутрішньоклітинних компонентів у кровообіг [164]. Тому ступінь порушення проникності плазматичних мембран гепатоцитів оцінюють за активністю у сироватці крові ферментів, які локалізуються переважно у цитоплазмі клітини – аспартатамінотрансферази (АсАТ) та аланінамінотрансферази (АлАТ), та на внутрішньоклітинних мембранах та плазматичній мембрані гепатоцитів –  $\gamma$ -глутамілтранспептидази (ГГТ). Активність ГГТ є одним з найважливіших критеріїв інтоксикації етанолом. Етанол викликає у сироватці крові гіперферментемію ГГТ.

У групі тварин, яким вводили етанол, відмічається статистично вірогідне підвищення активності АсАТ на 21 %, ГГТ – в 2,8 раза та тенденція до підвищення активності АлАТ порівняно до контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.1) [165]. Отримані результати відповідають даним літератури. Так, вважається, що рівень активності АлАТ є більш чутливим та специфічним маркером пошкодження клітин печінки. Разом з тим переважне підвищення концентрації АсАТ характерно для алкогольного ураження печінки, особливо при поєднанні зі значним підвищенням рівня ГГТ [166]. Достовірно вірогідне підвищення активності АсАТ та ГГТ підтверджує, що у тварин, яким вводили етанол,

відбулося пошкодження гепатоцитів активними формами кисню, що супроводжувалося цитолізом і виходом ферментів у кров.

У групі тварин контрольної патології відмічається статистично вірогідне зниження активності КТ на 27 % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.1) [165]. Активність каталази – один із значущих показників активності антиоксидантної системи. Каталаза (КТ) локалізована у пероксисомах та відповідає за детоксикацію перекису водню  $H_2O_2$ , який утворюється під дією супероксиддисмутази. Моніторинг активності КТ в організмі має прогностичне значення в оцінці мембранодеструктивних процесів, які відбуваються під впливом активізації процесів вільнорадикального окислення [167]. Інтенсифікація вільнорадикального окислення на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки призводить до вільнорадикальної модифікації білків клітини, зокрема каталази, що супроводжується інактивацією антиоксидантного фермента [168,169].

Отже, введення щурам етанолу (6 г/кг, в/ш) протягом 7 діб призвело до розвитку алкогольного ураження печінки, яке супроводжувалося цитолітичним синдромом.

*Таблиця 5.1*

**Профілактичний вплив метадоксину на біохімічні маркери цитолізу у сироватці крові щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу**

Показник	Експериментальні групи		
	Контроль	Етанол, 6 г/кг	Метадоксин, 90 мг/кг + Етанол, 6 г/кг
1	2	3	4
АсАТ, Од/л	227,23±6,00	275,46±12,80*	238,13±2,77**
АлАТ, Од/л	55,83±3,68	59,17±4,01	73,00±3,89*/**

Продовж. табл. 5.1

1	2	3	4
ГГТ, Од/л	0,99±0,21	2,74±0,53*	1,01±0,14**
КТ, мкмоль/хв·мг білка	2,07±0,08	1,51±0,10*	1,83±0,08**

Примітки:

1. \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю;
2. \*\* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 6 г/кг)

Профілактичне введення протягом 7 днів метадоксину (90 мг/кг, в/ш) за 30 хв до введення чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу (Етанол, 6 г/кг, в/ш) статистично вірогідно попереджує етаноліндуковані зміни активності АсАТ, ГГТ та КТ та забезпечує утримання значень досліджуваних показників тварин групи «Метадоксин, 90 мг/кг + Етанол, 6 г/кг» на рівні значень цих показників для тварин контрольної групи ( $p < 0,05$ ). Проте у групі тварин, які отримували метадоксин, поряд із нормальними рівнями активності ферментів АсАТ, ГГТ, КТ активність АлАТ є статистично вірогідно підвищеною на 31 та 23 % порівняно до групи контролю та групи контрольної патології відповідно, що свідчить про етаноліндуковані порушення структурної цілісності клітин печінки на тлі застосування метадоксину ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.1) [165].

Позитивний профілактичний вплив метадоксину на активність цитозольного ферменту АсАТ та мембранного ферменту ГГТ та забезпечення стабільного функціонування антиоксидантного ферменту каталази на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу пояснюється мембраностабілізуючою дією метадоксину. Даний ефект метадоксину обумовлений його здатністю знижувати інтенсивність процесів ПОЛ та вільнорадикальної модифікації білків як за рахунок власної антиоксидантної активності [57,61,62], так за рахунок підтримання на високому рівні запасів відновленого глутатіону – найважливішого антиоксиданту клітини [62,63]. Крім того, при профілактичному введенні метадоксин пригнічує за рахунок

підвищення активності десатураз зниження рівня ненасиченості жирних кислот мембранних ліпідів, викликане етанолом, отже, підтримуючи баланс між насиченими і ненасиченими жирними кислотами, метадоксин стабілізує мембрану і перешкоджає первинній структурній дегенерації клітини [64].

Беручи до уваги відсутність порушення активності інших ензиматичних маркерів цитолізу (АсАТ, ГГТ, КТ) у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, можна припустити, що у цієї групи тварин за біохімічними показниками вираженість цитолізу є значно меншою порівняно до тварин контрольної патології. Таким чином, отримані дані демонструють здатність метадоксину впливати на певні ланки патогенезу алкогольного ураження печінки із синдромом цитолізу при його профілактичному введенні.

Як відомо, при порушенні секреції жовчі гепатоцитами, обструкції жовчних проток виникає гострий або хронічний холестаза, пов'язаний з накопиченням у крові речовин, які у фізіологічних умовах екскретуються у жовч [170]. Морфологічним субстратом холестазу служать порушення транспортних систем гепатоцитів, у тому числі  $\text{Na}^+$ - і  $\text{K}^+$ -АТФази, компонентів цитоскелета і підвищення проникності клітин з виходом жовчних кислот у плазму, що призводить, у кінцевому рахунку, до накопичення у крові жовчних кислот, лужної фосфатази, ГГТ (переважно), АсАТ, АлАТ (меншою мірою), церулоплазміну, білірубину, фракції ліпідів, а при каналікулярному холестазі – до порушення відтоку жовчі з жовчних ходів з депонуванням її компонентів у холангіолах і клітинах Купфера, а також у гепатоцитах, яке може приводити до появи відкладення ліпідних включень у макрофагах і розвитку ксантоматозу [170].

Лужна фосфатаза (ЛФ) – один з основних ензиматичних маркерів холестазу. ЛФ локалізується на каналікулярній мембрані гепатоцита. Як правило, при внутрішньопечінковому холестазі через порушення виведення ЛФ у жовч спостерігається підвищення рівня ЛФ у крові в результаті детергентної дії жовчних кислот, що призводить до регургітації ферменту до кровообігу через печінкові синусоїди [171]. У нашому дослідженні введення

етанолу тваринам групи контрольної патології не привело до статистично вірогідних змін активності ЛФ ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2), що можна пояснити нечутливістю досліджуваного показника до відтвореної експериментальної моделі алкогольного ураження печінки [165]. Але відсутність статистично вірогідного підвищення активності ЛФ не виключає холестаза [172]. Для підтвердження холестазу, як правило, додатково досліджують інші показники, у тому числі активність ГГТ, рівні білірубіну, холестерину, тригліцеридів, церулоплазміну.

ГГТ локалізуються на каналікулярній мембрані гепатоцита. ГГТ є етаноліндукованим ферментом [173] та ферментом синтезу, якого інтенсифікується під впливом жовчних кислот [174]. При гострих гепатитах активність ГГТ підвищується раніше, ніж активність АсАТ і АлАТ, що ми й спостерігаємо у наших дослідженнях. Як зазначалося раніше, порівняно до контролю у групі тварин з алкогольним ураженням печінки відмічається статистично вірогідне підвищення активності ГГТ в 2,8 раза, АсАТ – на 21 %, а підвищення активності АлАТ є статистично невірогідним ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.1) [165].

Також у тварин контрольної патології відзначається статистично вірогідне підвищення вмісту у сироватці крові загального білірубіну в 5,2 раза порівняно до групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2), що свідчить про порушення резорбції білірубіну із крові клітинами печінки, подальшого зв'язування з глюкуроновою кислотою та виведення [175].

У тварин контрольної патології спостерігається статистично вірогідне підвищення вмісту тригліцеридів 3,2 раза порівняно до групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2). Підвищення рівня тригліцеридів у крові на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки пов'язане зі збільшенням співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> у гепатоцитах, що призводить до сповільнення β-окислення жирних кислот та зниження швидкості глюконеогенезу та супроводжується тригліцеридемією [165,175].

Однак на тлі підвищеного рівня тригліцеридів очікуваного підвищення рівня загального холестерину через розвиток ліпідного дистрес-синдрому за В. С. Савельєвим не відбулось [176], навпаки, у тварин контрольної патології рівень холестерину статистично вірогідно знижувався на 43 % порівняно до рівня холестерину у сироватці крові тварин групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2) [165,175]. Розвиток гіпохолестеринемії, можливо, пов'язаний з інтенсивною витратою загального холестерину як компонента клітинних мембран на ущільнення мембран, проникність яких порушується під дією продуктів перекисного окислення ліпідів, як результат переважаючих катаболічних процесів в організмі на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки [177].

У тварин з алкогольним ураженням печінки відбувається статистично вірогідне підвищення на 65 % концентрації церулоплазміну порівняно до контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2) [175]. Церулоплазмін є мідьвмісним білком, який синтезується та секретується у печінці та являє собою реагент гострої фази захворювання («білок гострої фази») [178]. Як відомо, гострий алкогольний гепатит супроводжується цитокіновою відповіддю з гіперпродукцією прозапальних цитокінів [179]. Підвищення концентрації церулоплазміну у крові може бути пов'язано з активацією транскрипції гена церулоплазміну  $\alpha$ -інтерфероном і цитокінами на тлі інфламації ділянок печінки [180]. Крім того, рівень церулоплазміну підвищується при холестази [178].

З огляду на отримані дані можна заключити, що введення щурам етанолу (6 г/кг, в/ш) протягом 7 діб призвело до розвитку алкогольного ураження печінки з холестатичним синдромом.

Таблиця 5.2

**Профілактичний вплив метадоксину на біохімічні маркери холестазу у сироватці крові щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу**

Показник	Експериментальні групи		
	Контроль	Етанол, 6 г/кг	Метадоксин, 90 мг/кг + Етанол, 6 г/кг
ЛФ, Од/л	252,69±18,34	213,78±13,39	284,70±16,25**
Загальний білірубін, мкмоль/л	0,72±0,26	3,72±0,75*	2,78±0,60*
Тригліцериди, ммоль/л	1,23±0,41	3,94±0,66*	3,00±0,49*
Загальний холестерин, ммоль/л	1,61±0,06	0,92±0,12*	2,20±0,19**/**
Церулоплазмін, мг/л	440,4±28,8	727,9±39,0*	457,9±28,5**

Примітки:

- \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю;
- \*\* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 6 г/кг)

Профілактичне введення протягом 7 днів метадоксину (90 мг/кг, в/ш) за 30 хв до введення чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу (Етанол, 6 г/кг, в/ш) статистично вірогідно попереджує етаноліндуковану зміну активності ГГТ ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.1) [165]. Позитивний вплив метадоксину на рівень ГГТ можна пояснити його цитопротективним, мембраностабілізуючим, антихолестатичним, енергетичним, антиалкогольним та дезінтоксикаційним ефектами. Ці ефекти реалізуються зокрема на рівні запобігання пошкодження цитоскелету гепатоцитів внаслідок детергентної дії



жовчних кислот, що забезпечує функціонування транспортної системи жовчних кислот та скоротливість каналікулярної мембрани клітин печінки. Піридоксинний компонент метадоксину грає важливу роль в синтезі гліцину та стимулює синтез таурину, які утворюють кон'юганти з мембранотоксичними жовчними кислотами, тим самим запобігаючи їх детергентній дії щодо біомембран з послідувачим порушенням цитосклету [57]. Підтримуючи структурно-функціональну цілісність мембран мітохондрій гепатоцитів, запобігаючи накопиченню токсичних жовчних кислот за рахунок їх кон'югації та полегшуючи синтез АТФ, метадоксин попереджує виснаження енергетичних ресурсів, які необхідні для підтримки повноцінного функціонування біологічних мембран і клітини у цілому [49,52]. Також метадоксин попереджує вихід цитохрому С із мітохондрій, що, в свою чергу, блокує активацію каспаз і апоптоз клітин печінки. Крім того, враховуючи те, що ГГТ є етаноліндукованим ферментом, підтриманню його нормальної активності у печінці сприяє пряма антиалкогольна та дезінтоксикаційна дія метадоксину. Метадоксин прискорює утилізацію ацетальдегіду та таким чином запобігає модифікації внаслідок ацетилювання структурних білків мембран, а також білків, що мають ферментативну активність [50]. Перешкоджання модифікації білків клітини забезпечує її структурно-функціональну збереженість та попереджує розвиток гуморальної та клітинної імунної відповіді на неоантигени (модифіковані білки), і, як наслідок, аутоімунне пошкодження печінки.

У групі тварин, яким вводили метадоксин, активність ЛФ є статистично невірогідно підвищеною порівняно до групи контролю та є статистично вірогідно вищою на 33 % порівняно до зниженого рівня активності ЛФ у тварин групи контрольної патології ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2.) [165]. З огляду на відсутність статистично вірогідних порушень активності ЛФ у групі тварин контрольної патології та групі тварин, яким застосовували метадоксин, порівняно до групи контролю, оцінити профілактичний вплив метадоксину на даний біохімічний маркер розвитку внутрішньопечінкового холестазу виявилось неможливим.

На тлі профілактичного введення метадоксину рівень загального білірубину у сироватці крові тварин дослідної групи є статистично вірогідно вищим в 3,9 раза (ймовірно, за рахунок прямого білірубину) порівняно до даного показника групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2.) [175]. Зазначаємо, що рівень загального білірубину у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю в 5,2 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 5.2.). Таким чином, у тварин, яким вводили метадоксин, відмічається підвищення рівня загального білірубину у сироватці крові порівняно до контролю, але у меншому ступені, ніж у тварин контрольної патології. Тенденція до зниження рівня жовчного пігменту у сироватці крові тварин, які піддавалися впливу метадоксину, порівняно до групи контрольної патології, пояснюється мембраностабілізуючою дією метадоксину, який за рахунок підвищення активності десатураз попереджує етаноліндуковане зниження рівня ненасиченості жирних кислот мембранних ліпідів [64,65], а також за рахунок антиоксидантної активності попереджує процеси перекисного окислення ліпідів мембран, таким чином знижує мембранотоксичний вплив білірубину та зменшує вихід у системний кровоток прямого білірубину [57,61-63].

У тварин, яким попередньо вводили метадоксин, рівень тригліцеридів у сироватці крові статистично вірогідно перевищує в 2,4 раза даний показник у тварин групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2.) [165,175]. Як було зазначено вище, рівень тригліцеридів у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю в 3,2 раза ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2.). Таким чином, у тварин дослідної групи при профілактичному введенні метадоксину на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки відмічається підвищення рівня тригліцеридів у сироватці крові порівняно до контролю, але у меншому ступені, ніж у тварин контрольної патології. Тенденцію до зниження вмісту тригліцеридів у крові тварин на тлі дії метадоксину порівняно до групи контрольної патології можна пояснити здатністю метадоксину підтримувати у клітині баланс НАДН/НАД<sup>+</sup> [50,66,69,70]. Так, реалізуючи антистеатозну дію, метадоксин усуває надлишок НАДН, що утворюється при окисленні етанолу, та

попереджує сповільнення  $\beta$ -окислення жирних кислот та зниження швидкості глюконеогенезу, тим самим запобігає синтезу тригліцеридів із гліцерол-3-фосфату та жирних кислот (див. рис. 1.1) [65].

Рівень загального холестерину у групі тварин, які отримували метадоксин, є статистично вірогідно вищим в 2,4 раза порівняно до тварин контрольної патології, які мали знижений рівень загального холестерину порівняно до контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2) [165,175]. Отже, профілактичне введення метадоксину попереджує розвиток гіпохолестеринемії на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольної етіології, ймовірно, за рахунок антиоксидантної та мембраностабілізуючої дії метадоксину [57,61,63-65], а також за рахунок здатності метадоксину підтримувати нормальне співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup>, що забезпечує окислення етанолу до ацетату, який активується включенням до структури ацетил-КоА з подальшою участю у біосинтезі холестерину. Статистично вірогідне підвищення на 37 % рівня загального холестерину у сироватці крові тварин, які отримували метадоксин, порівняно до контролю, пов'язано із встановленням на тлі дії етанолу підвищеної концентрації ендogenous тригліцеридів, які, як відомо [181], у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) транспортують холестерин із печінки до системного кровотоку ( $p < 0,05$ ).

Профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу статистично вірогідно попереджує патологічне підвищення рівня церулоплазміну та забезпечує утримання значень досліджуваного показника тварин групи «Метадоксин, 90 мг/кг + Етанол, 6 г/кг» на рівні значень цього показника для тварин контрольної групи ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.2) [175]. Позитивний вплив метадоксину на рівень церулоплазміну можна пояснити його цитопротективним, мембраностабілізуючим, енергетичним та протизапальним ефектами. Так, інактивація метадоксином вільних радикалів, а також скорочення часу шкідливої дії ацетальдегіду запобігає гіперпродукції прозапальних цитокінів, включаючи фактор некрозу пухлини  $\alpha$ , інтерлейкіни-6 і -8 [61-63,66,68,69,71].

Враховуючи те, що профілактичне введення метадоксину попереджує розвиток гіпохолестеринемії, зміни активності ГГТ, рівня церулоплазміну та зменшує вираженість змін рівнів білірубіну та тригліцеридів у сироватці крові тварин, можна припустити, що у тварин, які отримували метадоксин, за біохімічними показниками вираженість синдрому внутрішньопечінкового холестазу є меншою порівняно до тварин контрольної патології. Таким чином, отримані дані демонструють здатність метадоксину впливати на певні ланки патогенезу алкогольного ураження печінки з синдромом внутрішньопечінкового холестазу при його профілактичному введенні.

У групі тварин з алкогольним ураженням печінки відзначається статистично вірогідне підвищення рівня загального білка на 8 % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175]. Відомо, що токсичний метаболіт етанолу – ацетальдегід – інактивує структурні, транспортні та ферментативні білки клітин печінки шляхом ацетилювання за SH-, NH<sub>2</sub>-групами, крім того, інактивація білків також відбувається за рахунок їх вільнорадикальної модифікації активними формами кисню, що призводить до зниження рівня синтезованих та експортованих печінкою у кров білків [168,169,182]. Враховуючи те, що у відтвореній моделі алкогольного ураження печінки розвиток цитолізу та холестазу підтверджено статистично вірогідними змінами активності АсАТ, ГГТ, КТ, рівнів загального білірубіну, тригліцеридів, загального холестерину, церулоплазміну, а також враховуючи статистично вірогідно знижені рівні сечовини та креатиніну, можна припустити, що у печінці тварин контрольної патології відбувалося пригнічення білковосинтетичної функції, а зареєстрований нами підвищений рівень загального білка у крові забезпечуються вкладом у цей показник білкових маркерів цитолітичного та холестатичного синдромів, які вийшли у кров. З огляду на це можна заключити, що цей показник не є індикатором білковосинтетичної функції печінки у відтвореній моделі алкогольного ураження печінки.

Із літератури відомо, що при гострих запальних процесах у печінці, які можуть супроводжуватися синдромом холестазу, концентрація альбуміну може

знаходиться у межах нормальних значень [183]. Отже, отримані нами дані щодо відсутності статистично вірогідних змін рівня альбуміну у тварин групи контрольної патології порівняно до контролю узгоджуються із даними літератури ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175].

У групі тварин контрольної патології відзначається статистично вірогідне зниження рівнів сечовини та креатиніну на 34 та 29 % відповідно порівняно до контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175]. Відомо, що сечовина синтезується у печінці при знешкодженні аміаку, який утворюється в реакціях дезамінування амінокислот. Отже, концентрація сечовини у плазмі залежить від інтенсивності процесів азотистого обміну. Тому індикатором зниженої білковосинтетичної функції печінки є знижені рівні сечовини у плазмі [184]. Креатинін – один з кінцевих продуктів азотистого обміну в організмі – є продуктом розпаду креатину, який синтезується у печінці, а потім з кров'ю транспортується у м'язи. Зниження синтетичної функції печінки призводить до зниження рівня креатину, а отже і креатиніну у сироватці крові.

У групі контрольної патології спостерігалось статистично вірогідне зниження концентрації глюкози у крові на 63,4 % порівняно до групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175]. Зниження концентрації глюкози у крові на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки пояснюється збільшенням співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup>, що призводить до зміщення рівноваги у реакції утворення лактату із пірувата вправо:



В результаті сповільнюється реакція окислення лактату, збільшується співвідношення лактат/піруват, що знижує швидкість глюконеогенезу (біосинтезу глюкози) (див. рис. 1.1).

Отже, введення щурам етанолу (6 г/кг, в/ш) протягом 7 діб призвело до розвитку алкогольного ураження печінки, яке супроводжувалося порушенням синтетичної функції печінки.

Таблиця 5.3

**Профілактичний вплив метадоксину на показники синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу**

Показник	Експериментальні групи		
	Контроль	Етанол, 6 г/кг	Метадоксин, 90 мг/кг + Етанол, 6 г/кг
Загальний білок, г/л	63,17±0,70	68,33±1,41*	66,67±1,04*
Альбумін, г/л	41,55±0,38	42,77±0,55	41,17±0,59
Сечовина, ммоль/л	4,25±0,48	2,82±0,37*	4,18±0,47**
Креатинін, мкмоль/л	30,50±2,50	21,53±3,03*	36,22±2,64**
Глюкоза, ммоль/л	5,33±0,39	1,95±0,46*	1,93±0,20*

Примітки:

- \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю;
- \*\* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Етанол, 6 г/кг)

При профілактичному введенні щурам протягом 7 днів метадоксину (90 мг/кг, в/ш) за 30 хв до введення чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу (Етанол, 6 г/кг) рівні сечовини та креатиніну утримувались на рівні даних показників контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175]. Отже, метадоксин при його попередньому введенні попереджує етаноліндуковане зниження рівнів сечовини та креатиніну у сироватці крові тварин. Позитивний вплив метадоксину на дані показники білковосинтетичної функції печінки реалізується метадоксином за рахунок його здатності попереджувати модифікацію функціональних білків клітини та тим самим підтримувати структурно-функціональну цілісність клітини [57,61-63], а також за рахунок піридоксिनного компоненту метадоксину, який як кофермент у формі

піридоксальфосфату регулює процеси азотистого обміну (трансамінування, дезамінування і декарбоксилювання амінокислот) та грає важливу роль у транспорті амінокислот крізь клітинну мембрану [50,60].

Рівень загального білка у крові тварин, яким вводили метадоксин, статистично вірогідно перевищує на 5,5 % даний показник у групі контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175]. Як було зазначено вище, рівень загального білка у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю на 8 % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3.). Таким чином, у тварин дослідної групи при профілактичному введенні метадоксину відмічається підвищення рівня загального білка у сироватці крові порівняно до контролю, але у меншому ступені, ніж у тварин контрольної патології. Підвищений рівень загального білка у сироватці крові тварин, які отримували метадоксин, пояснюється вкладом у цей показник підвищеного порівняно до контролю вмісту АлАТ у сироватці крові тварин. З огляду на вищенаведене, оцінити профілактичний вплив метадоксину на рівень загального білка виявилось неможливим.

З огляду на відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу на рівень альбуміну у сироватці крові тварин, оцінити профілактичний вплив метадоксину на даний показник білковосинтетичної функції печінки виявилось неможливим ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175].

Враховуючи відсутність порушення рівнів сечовини та креатиніну у сироватці крові тварин, які отримували метадоксин, можна припустити, що у цієї групи тварин вираженість порушення білковосинтетичної функції печінки є значно меншою порівняно до тварин контрольної патології. Таким чином, отримані дані демонструють здатність метадоксину впливати на певні ланки патогенезу алкогольного ураження печінки із порушенням білковосинтетичної функції при його профілактичному введенні.

Концентрація глюкози у крові тварин, яким вводили метадоксин, є статистично вірогідно нижчою на 63,8 % за даний показник у групі контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.3) [175]. Як зазначалось, даний показник у групі контрольної патології порівняно до групи контролю становить 63,4 % ( $p < 0,05$ )

(див. табл. 5.3). Отже, згідно отриманих результатів профілактичне введення метадоксину не запобігає етанол-індукованому порушенню процесів синтезу глюкози у печінці. Ймовірно, тривалості експозиції метадоксину, яка склала 7 днів, було недостатньо для попередження за рахунок нормалізації співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> етаноліндукованого порушення процесів глюконеогенезу через збільшення співвідношення лактат/піруват.

Отримані результати показали, що метадоксин (90 мг/кг, в/ш), введений щурам за 30 хв до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) протягом 7 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестази, а також показників синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази, зниження активності каталази, підвищення рівня церулоплазміну, зниження рівнів сечовини, креатиніну, запобігає розвитку гіпохолестеринемії; статистично невірогідно зменшує вираженість порушень рівнів загального білірубіну, тригліцеридів, але не запобігає порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня глюкози [165,175]. Рівень загального білка у відтвореній моделі алкогольного ураження печінки не є індикатором білковосинтетичної функції печінки. Введення етанолу щурам не привело до статистично вірогідних відхилень у значеннях активності лужної фосфатази та вмісту альбуміну порівняно до групи контролю, як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин. Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на активність лужної фосфатази, рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного генезу виявилось неможливим.

5.2 Профілактичний вплив метадоксину на біохімічні показники сироватки крові щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу

Повторне введення тетрахлорметана щурам (0,4 мл/100 г, п/ш) протягом 4 днів призвело до патологічних порушень досліджуваних показників



структурно-функціонального стану печінки, що свідчить про токсичне ураження печінки, асоційоване з цитолізом та холестаазом (див. табл. 5.4) [185].

У групі тварин, яким вводили тетрахлорметан, через індукцію вільнорадикального окислення відмічаються статистично вірогідні патологічні зміни біохімічних індикаторів цитолізу та холестазу, а саме: підвищення активності АсАТ на 20 %, АлАТ в 4,2 раза, ГГТ на 48,5 %, ЛФ на 21 %, підвищення рівня загального холестерину на 65% порівняно до контролю ( $p < 0,05$ ) (табл. 5.4).

Рівень загального білка у тварин групи контрольної патології є статистично вірогідно вищим на 29 % порівняно до даного показника групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Враховуючи те, що у відтвореній моделі тетрахлорметанового ураження печінки розвиток цитолізу та холестазу підтверджено статистично вірогідними змінами активності АсАТ, АлАТ, ГГТ, ЛФ та рівня загального холестерину, можна припустити, що у печінці тварин контрольної патології відбувалося пригнічення білковосинтетичної функції, а зареєстрований нами підвищений рівень загального білка у крові забезпечуються вкладом у цей показник білкових маркерів цитолітичного та холестатичного синдромів, які вийшли у кров. З огляду на це можна заключити, що цей показник не є індикатором білковосинтетичної функції печінки у відтвореній моделі токсичного ураження печінки неалкогольного генезу.

Різниця у рівні альбуміну у сироватці крові тварин групи контрольної патології та групи контролю не є статистично вірогідною, але у групі тварин контрольної патології відмічається тенденція до зниження даного показника, що, ймовірно, свідчить про зниження синтезу білка у печінці ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4).

Таблиця 5.4

**Профілактичний вплив метадоксину на біохімічні маркери цитолізу,  
холестази та показники синтетичної функції печінки у сироватці крові  
щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки  
неалкогольного генезу**

Показник	Експериментальні групи		
	Контроль	Тетрахлорметан, 0,4 мл/100 г	Метадоксин, 90 мг/кг + Тетрахлорметан, 0,4 мл/100 г
АсАТ, Од/л	172,08±11,52	207,33±9,31*	180,76±7,10**
АлАТ, Од/л	51,15±3,35	215,14±4,91*	201,94±2,60*/**
ГГТ, Од/л	6,55±0,89	9,73±0,70*	7,62±0,43**
ЛФ, Од/л	187,22±13,19	227,08±6,56*	208,08±5,21**
Загальний холестерин, ммоль/л	1,48±0,18	2,44±0,08*	2,20±0,07*/**
Загальний білок, г/л	50,39±4,13	65,00±2,77*	61,87±3,07*
Альбумін, г/л	45,65±1,46	42,06±0,70	43,76±1,53

Примітки:

1. \* –  $p < 0,05$ , відносно контролю;
2. \*\* –  $p < 0,05$ , відносно контрольної патології (Тетрахлорметан, 0,4 мл/100 г)

При профілактичному введенні щурам протягом 4 днів метадоксину (90 мг/кг, в/ш) за 30 хв до введення чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу (Тетрахлорметан, 0,4 мл/100 г) рівень активності АсАТ утримується на рівні значення цього показника у контрольній групі тварин

( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Отже, профілактичне введення метадоксину попереджує патологічну зміну активності АсАТ.

У групі тварин, яким вводили метадоксин, активність АлАТ є статистично вірогідно вищою в 3,9 раза порівняно до контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Як зазначалось вище, активність АлАТ у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю в 4,2 раза ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Отже, профілактичне введення метадоксину не попереджує порушення активності АлАТ, але зменшує вираженість даного біохімічного порушення статистично вірогідно порівняно до групи контрольної патології та статистично невірогідно порівняно до групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4).

Отримані результати свідчать, що профілактичне введення метадоксину на тлі дії тетрахлорметану не спроможне повністю запобігти розвитку токсичного ураження печінки з синдромом цитолізу, проте введення метадоксину значно зменшує вираженість даного патологічного процесу, ймовірно, завдяки антиоксидантній, енергетичній, мембраностабілізуючій дії. Підтримуючи структурно-функціональну цілісність мембран мітохондрій гепатоцитів та полегшуючи синтез АТФ, метадоксин попереджує виснаження енергетичних ресурсів, які необхідні для підтримки повноцінного функціонування біологічних мембран і клітини у цілому [56,57].

У тварин, яким вводили метадоксин, статистично вірогідної різниці у рівнях активності ГГТ та ЛФ порівняно до даних показників у групі контролю не було ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Отже, профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу попереджує патологічні зміни активності ГГТ та ЛФ – біохімічних маркерів холестазу.

У групі тварин, які отримували метадоксин, рівень загального холестерину є статистично вірогідно вищим на 49 % порівняно до даного показника у групі контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Як відзначалось вище, рівень загального холестерину у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю на 65 % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Отже,

профілактичне введення метадоксину не попереджує розвиток гіперхолестеринемії, але зменшує вираженість даного біохімічного порушення статистично вірогідно порівняно до групи контрольної патології та статистично невірогідно порівняно до групи контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4).

Отримані результати свідчать, що профілактичне введення метадоксину на тлі дії тетрахлорметану, ймовірно, не спроможне повністю попередити токсичне ураження печінки із розвитком синдрому холестазу, але введення метадоксину значно зменшує вираженість даного патологічного процесу за рахунок антихолестатичної, дезінтоксикаційної, антиоксидантної, мембраностабілізуючої, енергетичної дії. Так, піридоксиновий компонент метадоксину грає важливу роль в синтезі гліцину та стимулює синтез таурину, які утворюють кон'юганти з мембранотоксичними жовчними кислотами, тим самим запобігаючи їх детергентній дії щодо біомембран з послідуочим порушенням цитосклету [57]. Метадоксин як мембраностабілізатор запобігає гибелі гепатоцитів через мембранотоксичну дію жовчних кислот. Здатність метадоксину пов'язувати активні форми кисню, які утворюються внаслідок атаки токсичних агентів, а також підтримувати на високому рівні запаси відновленого глутатіону забезпечує антиоксидантний захист зовнішньої мембрани клітини, мембран клітинних органел та попереджує процеси перекисного окислення ліпідів мембран, антиоксидантної модифікації білків і, як наслідок, порушення транспортної функції мембран, редокс-потенціалу клітини, процесів синтезу АТФ [52,56,57].

Рівень загального білка у крові тварин, яким вводили метадоксин, статистично вірогідно перевищує на 23 % даний показник у групі контролю ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4). Як зазначалось вище, рівень загального білка у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю на 29 % ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4.). Таким чином, у тварин дослідної групи при профілактичному введенні метадоксину відмічається підвищення рівня загального білка у сироватці крові порівняно до контролю, але у меншому ступені, ніж у тварин контрольної патології. Підвищений рівень загального

білка у сироватці крові тварин, які отримували метадоксин, на тлі розвитку цитолізу та холестазу пояснюється вкладом у цей показник підвищеного порівняно до контролю вмісту АлАТ у крові тварин. З огляду на це, оцінити профілактичний вплив метадоксину на рівень загального білка виявилось неможливим.

З огляду на відсутність статистично вірогідного патологічного впливу тетрахлорметану на рівень альбуміну у сироватці крові тварин, оцінити профілактичний вплив метадоксину на даний показник білковосинтетичної функції печінки виявилось неможливим ( $p < 0,05$ ) (див. табл. 5.4).

Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на білковосинтетичну функцію печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника неалкогольного генезу виявилось неможливим.

Отримані результати показали, що метадоксин (90 мг/кг, в/ш), введений щурам за 30 хв до введення тетрахлорметану (0,4 мл/100 г, п/ш) протягом 4 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестазу у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази, запобігає значному порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня загального холестерину. Рівень загального білка у відтвореній моделі неалкогольного ураження печінки не є індикатором білок-синтетичної функції печінки. Введення тетрахлорметану щурам не привело до статистично вірогідної зміни рівня альбуміну порівняно до групи контролю, як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин. Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника неалкогольного генезу виявилось неможливим.

## Резюме

Профілактичне введення щурам протягом 7 днів метадоксину (90 мг/кг, в/ш) за 30 хв до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази, зниження активності каталази, підвищення рівня церулоплазміну, зниження рівнів сечовини, креатиніну, запобігає розвитку гіпохолестеринемії; статистично невірогідно зменшує вираженість порушень рівнів загального білірубіну, тригліцеридів, але не запобігає порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня глюкози у сироватці крові щурів. Рівень загального білка у відтвореній моделі алкогольного ураження печінки не є індикатором білковосинтетичної функції печінки. Введення етанолу щурам не привело до статистично вірогідних відхилень у значеннях активності лужної фосфатази та вмісту альбуміну порівняно до групи контролю, як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин. Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на активність лужної фосфатази, рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного генезу виявилось неможливим.

Профілактичне введення щурам протягом 4 днів метадоксину (90 мг/кг, в/ш) за 30 хв до введення тетрахлорметану (0,4 мл/100 г, п/ш) статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази, запобігає значному порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня загального холестерину. Рівень загального білка у відтвореній моделі неалкогольного ураження печінки не є індикатором білок-синтетичної функції печінки. Введення тетрахлорметану щурам не привело до статистично вірогідної зміни рівня альбуміну порівняно до групи контролю, як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин. Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника неалкогольного генезу виявилось неможливим.

Отримані результати свідчать, що метадоксин при профілактичному введенні на тлі дії чинника ураження печінки алкогольного або неалкогольного генезу повністю не запобігає метаболічному ураженню печінки, але значно зменшує вираженість біохімічних порушень у печінці завдяки антиалкогольній, дезінтоксикаційній, антиоксидантній, енергетичній, мембраностабілізуючій, антихолестатичній, антистеатозній та протизапальній дії.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Гепатозахисна дія метадоксину при експериментальному алкогольному гепатиті в щурів / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17, № 4 (65). С. 54–58. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)*

2. Стан біохімічних систем крові білих щурів в умовах алкогольного ураження печінки та профілактичної дії метадоксину / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 2 (43). С. 22–25. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)*

3. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Підходи до моделювання уражень печінки у експериментальних тварин. *Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 лютого 2015 р. Львів, 2015. С. 113–115. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)*

## РОЗДІЛ 6

### **МОЖЛИВІ ІОНІЗОВАНИ/НЕІОНІЗОВАНИ ФОРМИ КОМПОНЕНТІВ МЕТАДОКСИНУ ТА КІНЕТИКА РОЗЧИНЕННЯ *IN VITRO* ТВЕРДИХ ДОЗОВАНИХ ПЕРОРАЛЬНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМ МЕТАДОКСИНУ НЕГАЙНОГО ВИВІЛЬНЕННЯ СИСТЕМНОЇ ДІЇ У РОЗЧИНАХ ІЗ ЗНАЧЕННЯМИ pH, ЯКІ ВІДПОВІДАЮТЬ ПОКАЗНИКАМ pH В ОСНОВИХ ВІДДІЛАХ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ**

Розробка сольових форм є одним з найпоширеніших методів підвищення розчинності, біопроникності та стабільності лікарських засобів. Метадоксин (піридоксин–L–2–пірролідон–5–карбоксилат) – еквімолярна комбінація пірролідон карбоксилату та піридоксину, які пов'язані один з одним шляхом саліфікації (утворення солі), в такій формі їх фармакологічні властивості синергічні (див. рис. 1.2). На сьогодні відомо, що при екстемпоральному введенні двох окремих компонентів метадоксину – пірролідон карбоксилату та піридоксину – в крові встановлюються більш низькі концентрації діючих речовин, які досягаються за набагато більш тривалий проміжок часу, порівняно до введення даних компонентів у складі метадоксину [50]. Отже, окреме введення пірролідон карбоксилату та піридоксину не може бути співставним із введенням метадоксину за рівнями концентрації цих компонентів в крові, а, значить, і за розподілом у тканинах і, нарешті, за терапевтичним ефектом.

Визначення структури можливих іонізованих форм пірролідон карбоксилату і піридоксину та їх реакційної здатності у хімічних та біохімічних процесах є необхідним для розуміння фізико-хімічних та фармакологічних властивостей метадоксину, які забезпечують ефективність та безпеку застосування лікарського засобу, зокрема при його профілактичному введенні.

Терапевтична ефективність будь-якого лікарського засобу системної дії багато в чому пов'язана з його надходженням до системного кровотоку. Як відомо, для оральних твердих дозованих лікарських форм надходження у кров певної кількості діючої речовини за фіксований інтервал часу визначається наступними етапами: кінетика вивільнення діючої речовини



з лікарської форми, розчинення або солубілізація діючої речовини в умовах шлунково-кишкового тракту і всмоктування.

6.1 Структура, фізико-хімічні властивості, потенційна реакційна здатність пірролідонкарбонової та глутамінової кислот та їх протолітичних форм

Аніонна група метадоксину представлена пірролідон карбоксилатом. Попередником пірролідонкарбонової кислоти є глутамінова кислота, яка є фармакологічно активною речовиною. Рухомість вуглеводневого скелету глутамінової кислоти, а також присутність у молекулі двох карбоксильних груп обумовлюють можливість її циклізації. Якщо глутамінова кислота присутня у N-термінальному кінці пептидного ланцюгу, то вона утворює пірролідонкарбонову кислоту, що відіграє важливу роль у процесінгу та фолдінгу синтезу білків. Утворення глутамінової кислоти з пірролідонкарбонової кислоти є спонтанним хімічним процесом, проте в умовах *in vivo* реакція є енергозалежною і каталізується 5-оксопроліназою [186]. Оборотна реакція (циклізація глутамінової кислоти з утворенням L-пірролідонкарбоксилату) каталізується глутамілциклазою [187] (рис. 6.1).

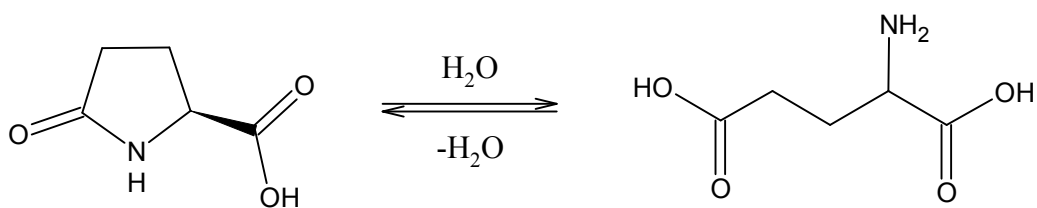
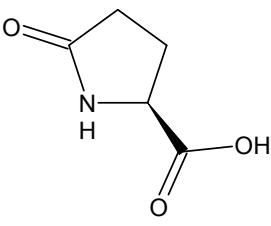
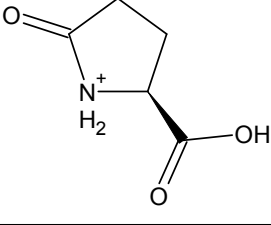
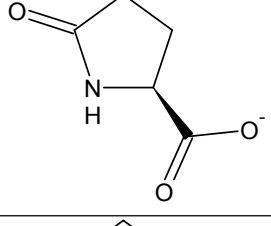
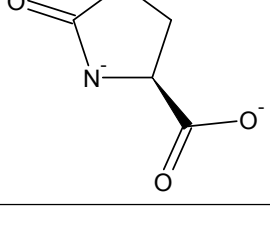


Рис. 6.1 Схема зворотної реакції утворення глутамінової кислоти з пірролідонкарбонової кислоти

Значущим параметром для пірролідон карбонової та глутамінової кислот в умовах фізіологічного рН є іонізація карбоксильної групи. Іонізація карбоксильних груп глутамінової кислоти здійснюється при значно більш високому рН ( $pK_a = 9,76 \pm 0,16$ ), ніж іонізація карбоксильної групи пірролідон карбонової кислоти ( $pK_a = 3,47 \pm 0,2$ ) (табл. 6.1, 6.2).

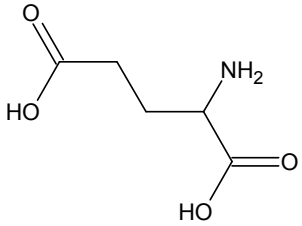
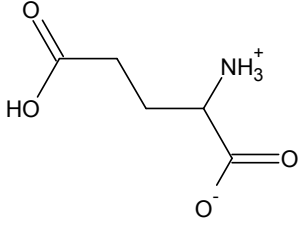
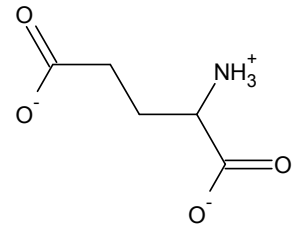
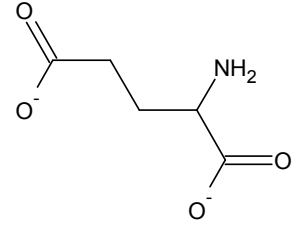
Таблиця 6.1

**Структура, фізико-хімічні властивості пірролідонкарбонової кислоти та її протолітичних форм**

Форма	Константа іонізації, pKa	Ліпофільність, logP	Ліпофільність при певному рівні рН, logD	Кількість донорів протонів	Кількість акцепторів протонів	Розчинність, г/л, (розрах.)
	—	2,39±0,27 (теор.) -0,86 (експ.)	—	2	4	476 (експ.)
	-1,88±0,4 -1,76 (експ.)	—	-2,39	2	3	485,69 (теор.)
	3,47±0,2 (3,48)	—	-2,7	1	4	987 (теор.)
	16,96±0,2 (12,76)	—	-6,14	0	4	>900 (теор.)

Таблиця 6.2

**Структура, фізико-хімічні властивості глутамінової кислоти та її протолітичних форм**

Форма	Константа іонізації, рKa	Ліпофільність, logP	Ліпофільність при певному рівні рН, logD	Кількість донорів протонів	Кількість акцепторів протонів	Розчинність, г/л, (розр.)
	—	-1,43±0,31 (теор.) -3,7 (експ.)		3	5	8,57 (експ.)
	2,17±0,1	—	-4,13	2	3	96,87
	4,57±0,1	—	-4,21	1	4	103,43
	9,76±0,16	—	-5,23	1	5	>200

Отже, при фізіологічному рН від ~ 4,4 до ~ 8 більша частина пірролідонкарбонової кислоти існує в іонізованій формі, що значно покращує її розчинність у водному середовищі. Протонізація амідного атому азоту

пірролідонкарбонової кислоти відбуваються при дуже низьких значеннях рН ( $pK_a = -1,88 \pm 0,4$ ), депротонізація – при дуже високих значеннях ( $pK_a = 16,96 \pm 0,2$ ) (див. табл. 6.1). Це визначає присутність пірролідонкарбонової кислоти у гідрофільному середовищі організму переважно у вигляді аніону, а наявність у даної форми тільки однієї групи, здатної до акцепції протону (карбоксилат-аніон), передбачає присутність також і неіонізованої форми. Даний факт відображено на профілях  $\log D$  цих кислот (рис. 6.2).

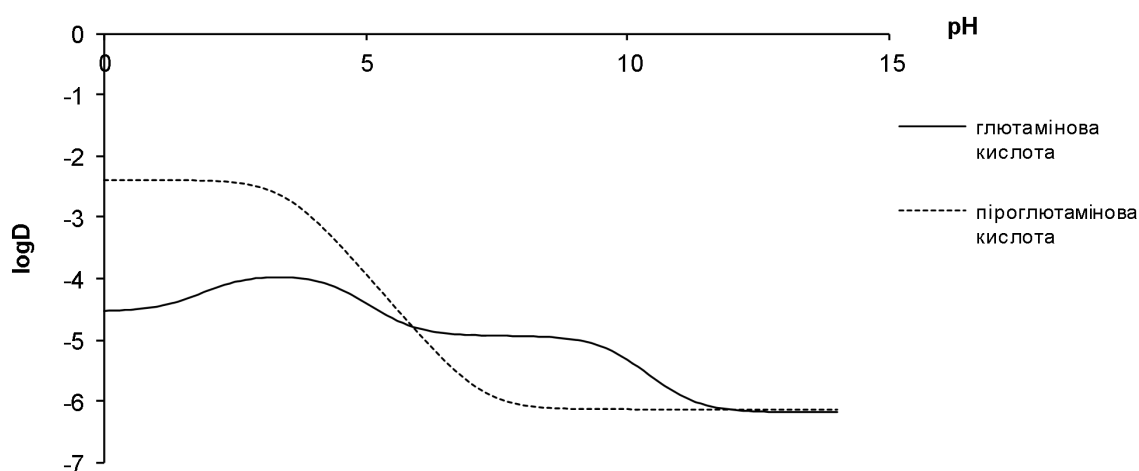


Рис. 6.2 Зміна величини  $\log D$  для глютамінової кислоти та пірролідонкарбонової (піроглютамінової) кислоти залежно від величини рН

Виходячи з вищенаведеного, більш доцільним з фармакологічної точки зору є включення до складу молекули метадоксину в якості її аніонного компоненту саме пірролідонкарбонової кислоти. Крім того, на відміну від пірролідонкарбонової кислоти глютамінова кислота інтенсивно використовується у біохімічних процесах (утилізація аміаку, переамінування, поповнення пулу кетоглутарату та ін.). Застосування пірролідонкарбонової кислоти забезпечує можливість підтримки її концентрації у крові на більш високому рівні (порівняно до глютамінової кислоти) та подальше надходження до головного мозку для реалізації нейропротекторної дії [188].

## 6.2 Структура, фізико-хімічні властивості, потенційна реакційна здатність піридоксину, піридоксалу, піридоксаміну та їх протолітичних форм

Катіонна група метадоксину представлена однією із форм вітаміну В<sub>6</sub> – піридоксином. Вітамін В<sub>6</sub> – загальна назва похідних 3-гідрокси-2-метилпіридину (піридоксин, піридоксаль, піридоксамін), які мають фармакологічну активність [189]. Різні форми вітаміну В<sub>6</sub> в організмі людини перетворюються у піридоксальфосфат – кофактор ферментів, які каталізують низку метаболічних процесів (рис. 6.3).

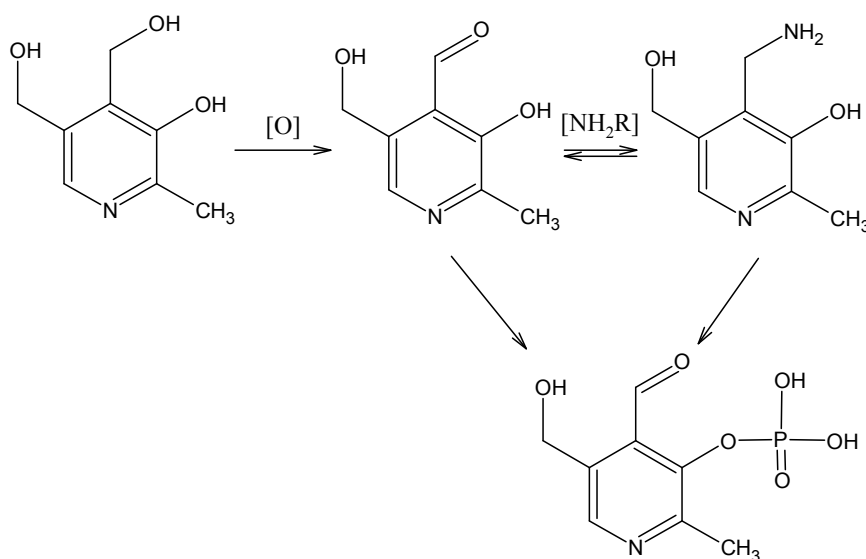


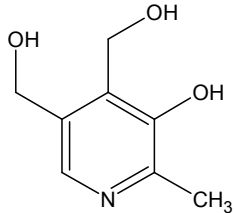
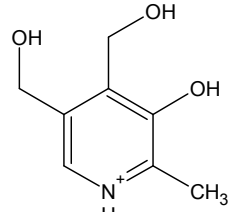
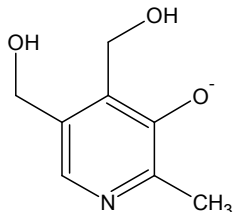
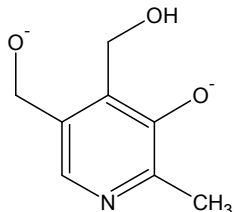
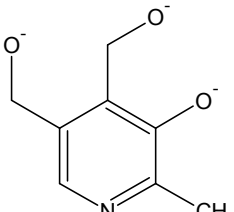
Рис. 6.3 Схема взаємозв'язків різних форм вітаміну В<sub>6</sub> в умовах *in vivo*

Піридоксаль та піридоксамін безпосередньо взаємодіють (у складі ензимів) з амінокислотами, здійснюючи реакції дезамінування, декарбоксілювання та окислювального трансамінування [190]. Піридоксин є попередником піридоксалу та піридоксаміна, його активація має місце внаслідок окислення гідроксигрупи до альдегідної.

Оскільки іонізація (протонування по азоту гетерокільця) піридоксину здійснюється при більш високому рН ( $pK_a = 5,06 \pm 0,28$ ), ніж іонізація піридоксалу та піридоксаміна ( $pK_a = 3,26 \pm 0,28$  та  $pK_a = 2,45 \pm 0,46$  відповідно), при фізіологічному рН від  $\sim 4,4$  до  $\sim 8$  більша частина піридоксину існує в іонізованій формі, що значно покращує його розчинність у водному середовищі (табл. 6.3 – 6.5).

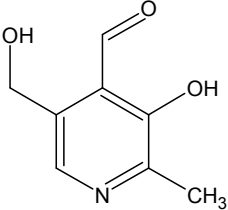
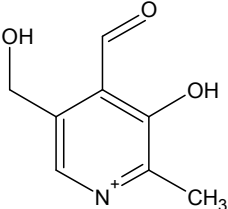
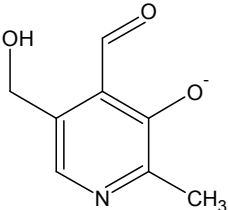
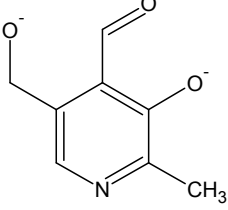
Таблиця 6.3

**Структура, фізико-хімічні властивості піридоксину та  
його протолітичних форм**

Форма	Константа іонізації, рKa	Ліпофільність, logP	Ліпофільність при певному рівні рН, logD	Кількість донорів протонів	Кількість акцепторів протонів	Розчинність, г/л, (розрах.)
	—	-1,1±0,25	—	3	4	220 (експер.)
	5,06±0,28	—	-1,5	4	3	144,96
	8,37±0,2	—	-1,53	2	4	154,74
	13,96±0,2	—	-4,74	1	4	>250
	14,18±0,1	—	-4,82	0	4	>250

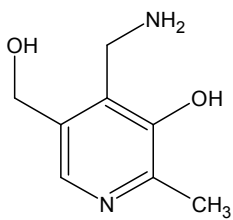
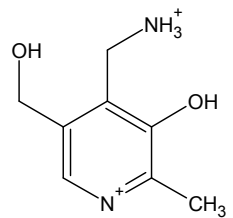
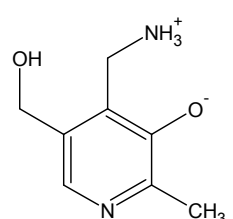
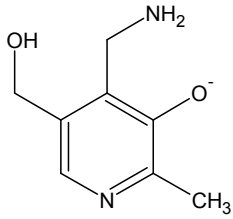
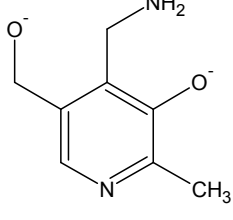
Таблиця 6.4

**Структура, фізико-хімічні властивості піридоксалу та його протолітичних форм**

Форма	Константа іонізації, рКа	Ліпофільність, logP	Ліпофільність при певному рівні рН, logD	Кількість донорів протонів	Кількість акцепторів протонів	Розчинність, г/л, (розрах.)
	—	0,32±0,29 (теор.)	—	2	4	500 (експер.)
	3,26±0,28	—	0,037	3	3	41,2
	8,12±0,58	—	0,031	1	4	41,6
	13,46±0,1	—	-3,14	0	4	>500

Таблиця 6.5

**Структура, фізико-хімічні властивості піридоксаміну та його протолітичних форм**

Форма	Константа іонізації, рКа	Ліпофільність, logP	Ліпофільність при певному рівні рН, logD	Кількість донорів протонів	Кількість акцепторів протонів	Розчинність, г/л, (розрах.)
	—	1,04±0,25	—	4	4	550 (експер.)
	2,45±0,46	—	-4,25	4	2	41,2
	6,54±0,5	—	-2,02	2	3	41,6
	8,97±0,46	—	-2,1	2	4	>500
	13,93±0,1	—	-4,47	1	4	>500



Для піридоксину наявність донорів та акцепторів протону найбільша при вищому рН (серед зазначених сполук найвище значення  $pK_a$  відповідає  $5,06 \pm 0,28$ ), тому рівновага між протолітичними формами для нього встановлюється більш швидко в умовах фізіологічного рН (див. табл. 6.3). Слід зазначити, що наявність більшої кількості потенційних донорів протону у цих межах рН є більш значним чинником розчинності у біологічних рідинах, ніж кількість акцепторів протону (рис. 6.4).

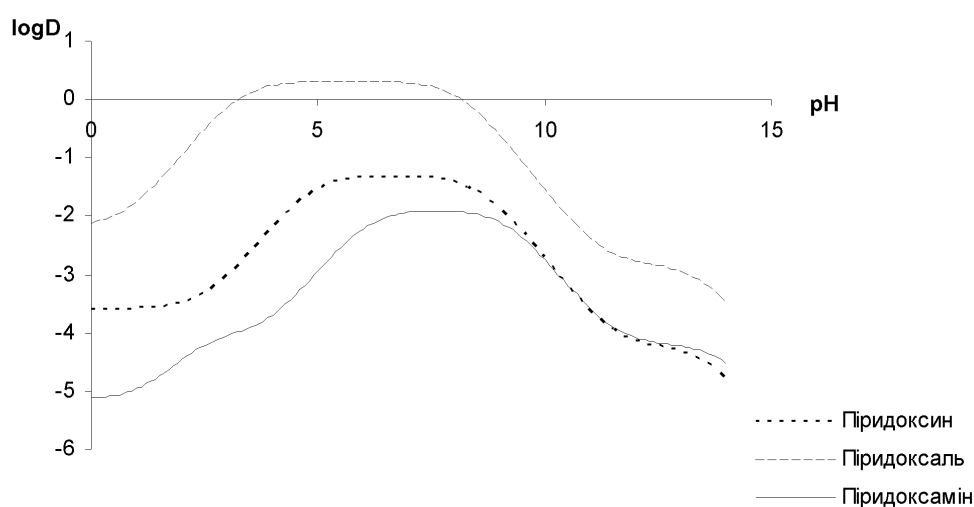


Рис. 6.4 Зміна величини  $\log D$  для піридоксину, піридоксалу та піридоксаміну залежно від величини рН

Окрім того, альдегідна група піридоксалу більш здатна до окислення з утворенням карбоксилату, який не має вітамінної активності.

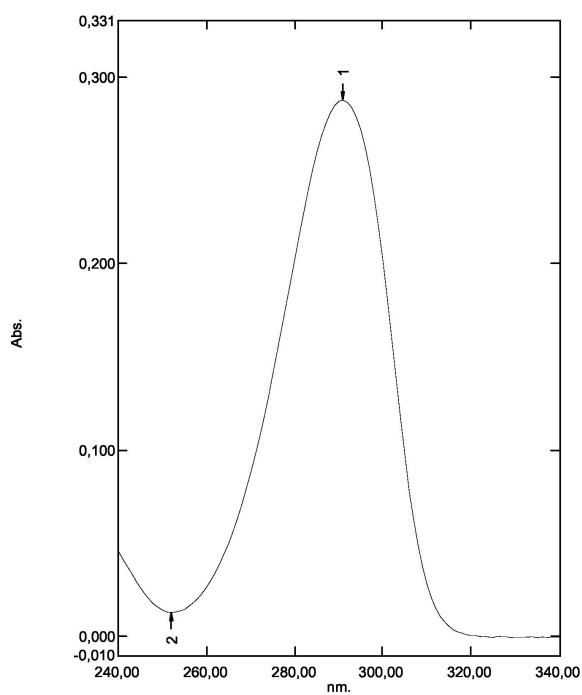
Виходячи з вищенаведеного, більш доцільним з фармакологічної точки зору є включення до складу молекули метадоксину в якості її катіонного компонента саме піридоксину [188].

### 6.3 Типи хімічних взаємодій складових компонентів молекули метадоксину – пірролідон карбоксилату та піридоксину

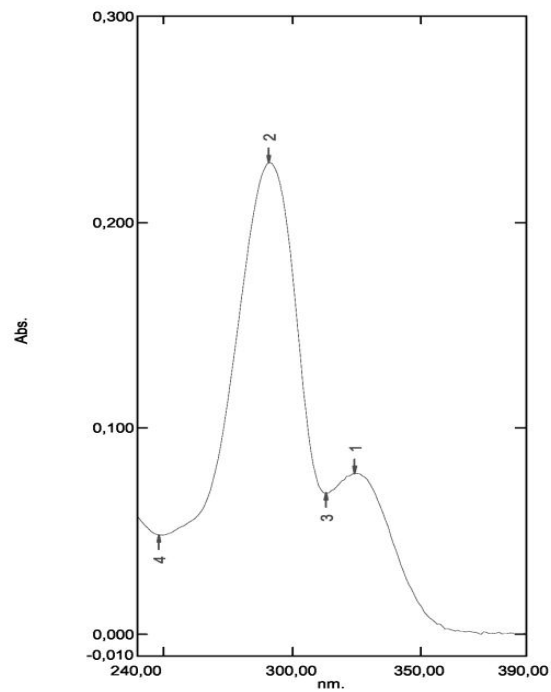
Складові компоненти метадоксину у водному середовищі дисоціюють та утворюють відповідні гідратовані іони, які можуть знаходитись на певній відстані один від одного. Протонізація/депротонізація пірролідон карбоксилату та піридоксину у значній мірі впливає на фізико-хімічні показники сполук та зворотно змінює їх структуру, що відображується на їх спектрах поглинання в УФ-області. Оскільки ступінь всмоктування з різних відділів шлунково-кишкового тракту значною мірою залежить від балансу присутніх іонізованих та неіонізованих форм діючої речовини, необхідною є характеристика фізико-хімічних властивостей досліджуваної сполуки. Для цього було проаналізовано спектри поглинання субстанції метадоксину у розчинах із різними значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту (тобто рН 1,2, 4,5 і 6,8).

Так у кислому середовищі (розчин 0,1 М хлористоводневої кислоти, рН 1,2, рис. 6.5, А) спостерігається лише один пік поглинання в області 290 нм, що може відповідати  $n \rightarrow \pi^*$  переходу електронів карбонілу (C=O) пірролідонкарбонової кислоти ( $pK_a = 3,47 \pm 0,2$ ) (див. табл. 6.1).

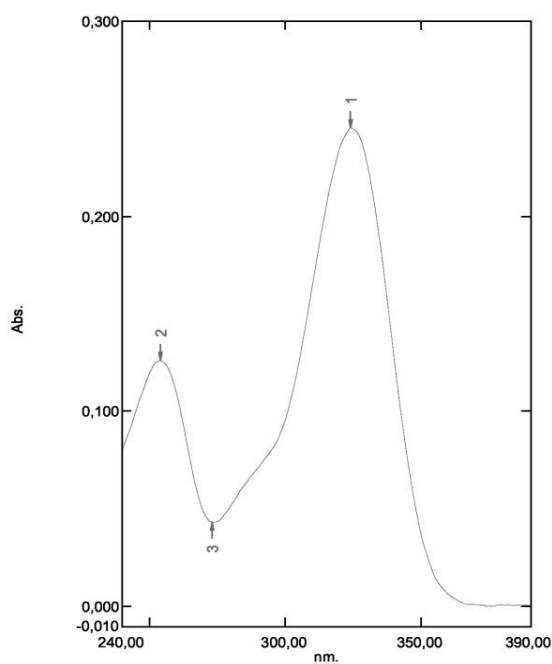
Підвищення рН середовища (ацетатний буферний розчин, рН 4,5, рис. 6.5, Б) призводить до зсуву цієї полоси поглинання у низькоенергетичну область (батохромний зсув), зменшенню її інтенсивності за рахунок зменшення концентрації іонізованої форми. Зміна співвідношення іонізованих форм пірролідонкарбонової кислоти та піридоксину ( $pK_a = 5,06 \pm 0,28$ ) виявляє іншу смугу поглинання при 290 нм, яка може бути віднесена до  $n \rightarrow \pi^*$  переходів ароматичної системи піридоксину, протонованого за атомом азоту (див. табл. 6.3). При більш високому значенні рН (фосфатний буфер, рН 6,8) відбувається депротонування гетероатому ароматичної системи (гіпсохромний зсув до 240 нм), пірролідонкарбонова кислота присутня у формі аніону (смуга поглинання при 330 нм, рис. 6.5, В).



А



Б



В

Рис. 6.5 Спектри поглинання метадоксину у фізіологічному діапазоні рН (А – 0,1 М розчин хлористоводородної кислоти, рН 1,2, Б – ацетатний буферний розчин, рН 4,5, В – 0,05 М фосфатний буферний розчин, рН 6,8)

Наведені дані характеризують метадоксин, як динамічну систему іонізованих та неіонізованих форм пірролідон карбоксилату та піридоксину, у якій можлива кислотно-лужна взаємодія. Але, окрім зазначених взаємодій, компоненти здатні до інших типів взаємодій, що визначає необхідність характеристики реакційної здатності хімічних груп та умов перебігу можливих реакцій.

У структурі молекули піридоксину (А) можна виділити три види реакційних груп: 1– спиртова аліфатична, 2 – фенольний гідроксил та 3 – азот ароматичної системи, тоді як в молекулі пірролідонкарбонової кислоти (Б) це лише амідна група (1) та карбоксильна (2), які обумовлюють потенційність наступних реакцій (рис. 6.6):

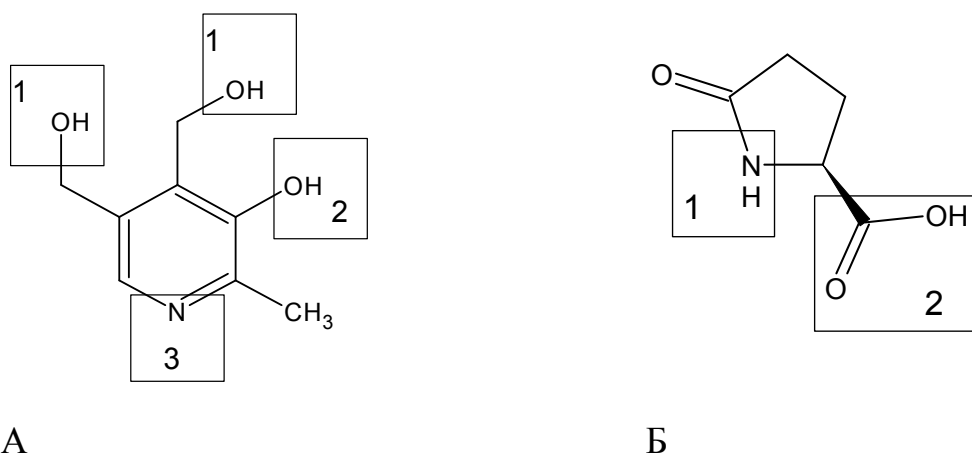


Рис. 6.6 Структурні формули молекули піридоксину та пірролідонкарбонової кислоти із зазначенням реакційних груп (А – піридоксин, Б – пірролідонкарбонова кислота)

#### Реакції естерифікації за участю аліфатичного гідроксилу піридоксину

В реакціях нуклеофільного заміщення, яким передуює протонування аліфатичного гідроксилу піридоксину, можливим є утворення складних естерів при взаємодії з карбоксилат-аніоном (рис. 6.7):

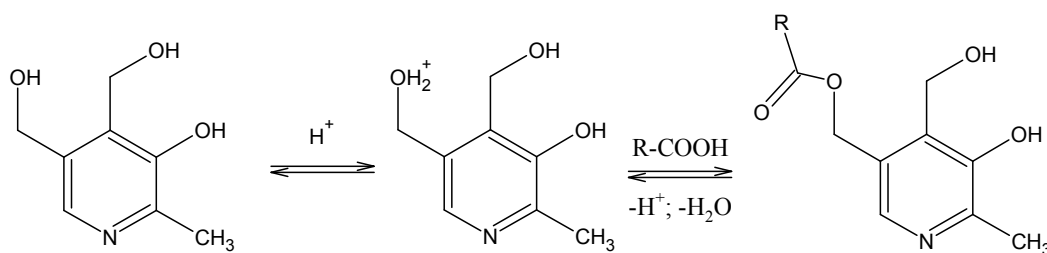


Рис. 6.7 Схема утворення складних естерів при взаємодії протонovanого гідроксила піридоксину з карбоксилат-аніоном

В умовах *in vivo* та при зберіганні метадоксину протягом терміну придатності у складі готового лікарського засобу більш очікуваною є реакція естерифікації між пірролідонкарбоною кислотою та піридоксином. Однак, оскільки естери, що утворюються, є лабільними сполуками, в умовах організму (як на етапі всмоктування, так й розподілу) слід очікувати зсув рівноваги реакції вліво та гідроліз естерів, що утворилися.

#### Окислення аліфатичного гідроксилу піридоксину

Завдяки хімічній стабільності аліфатичної гідроксигрупи реакція окислення спиртової аліфатичної групи піридоксину не має місця в умовах зберігання метадоксину протягом терміну придатності у складі готового лікарського засобу, однак в умовах *in vivo* вона обумовлює фармакологічний ефект піридоксину, оскільки вітамінну активність має лише альдегідна форма, яка здатна утворювати шифові луги (як проміжний інтермедіат у реакціях переамінування, декарбоксилювання тощо) (рис. 6.8).

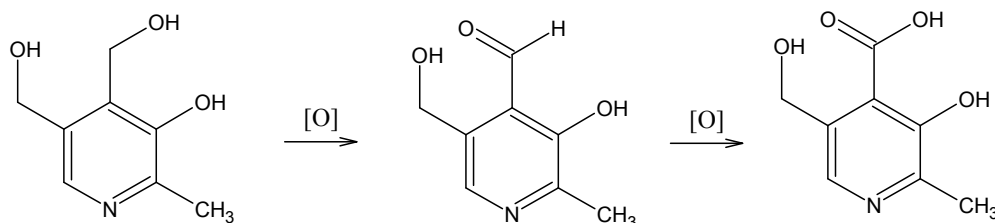


Рис. 6.8 Схема окислення спиртової аліфатичної групи піридоксину

### Окислення за участю фенольного гідроксилу піридоксину

Фенольний гідроксил є досить стабільною групою у кислому середовищі та чутливий до окислювальних агентів у лужному (підвищення концентрації фенолят-аніону). В умовах зберігання метадоксину у складі готового лікарського засобу протягом терміну придатності іонізація піридоксину за участю фенольного гідроксилу значно зменшена завдяки наявності кислого протону карбоксильної групи пірролідонкарбонової кислоти ( $pK_a = 8,37 \pm 0,2$  та  $pK_a = 3,47 \pm 0,2$  відповідно табл. 6.3, 6.1). В умовах організму окислення піридоксину до відповідного хінону може бути одним з напрямків інактивації цього вітаміну (рис. 6.9).

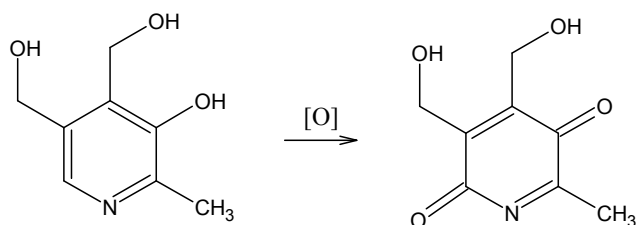


Рис. 6.9 Окислення за участю фенольного гідроксилу піридоксину

Реакції гідролізу можуть мати місце лише для пірролідонкарбонової кислоти, у молекулі якої присутня циклічна амідна група. Проте, як зазначалося, ферментативне утворення глутамінової кислоти також є одним із процесів, що обумовлює реалізацію фармакологічної дії метадоксину (див. рис. 6.1) [188].

Отримані дані характеризують молекулу метадоксину як динамічну систему пірролідон карбоксилату та піридоксину, в якій можлива кислотно-лужна взаємодія та інші типи взаємодій, що визначають біотрансформацію пірролідон карбоксилату та піридоксину у їх фармакологічно активні метаболіти – глутамінову кислоту та піридоксаль відповідно. Саме баланс іонізованих/неіонізованих форм пірролідон карбоксилату та піридоксину визначає такі фармакологічні параметри метадоксину, як всмоктування, біопроникаємість, метаболізм, розподіл речовин між органами та тканинами, здатність перетинати біологічні бар'єри та взаємодіяти з відповідними

біомішенями, та забезпечує високу фармакологічну активність пірролідон карбоксилату та піридоксину при їх спільному введенні у складі молекули метадоксину порівняно до окремого введення компонентів в якості монопрепаратів.

6.4. Кінетика розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту

Тест «Розчинення» дозволяє визначити наскільки швидко розчиниться препарат у шлунково-кишковому тракті та теоретично припустити через який час почне проявлятися його терапевтична дія. В якості середовища для розчинення використовують буферні розчини, значення рН яких відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту (тобто рН 1,2, 4,5 і 6,8).

Оцінку кінетики розчинення *in vitro* генеричного лікарського засобу «Алкодез® ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна (дослідно-промислові серії препарату 0050710, 010111), та оригінального препарату «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва «Laboratori Baldacci SpA», Італія (промислова серія 0407 SCAD), проводили за методичними рекомендаціями щодо дослідження кінетики розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії [152], згідно з якими до уваги береться лише одне з розрахованих середніх значень кількості вивільненої речовини для кожного зразка, яке перевищує 85 %, і враховується величина стандартного відхилення для кожного середнього значення, яка, за винятком першої точки контролю, повинна бути не більше 10 %.

На рисунках 6.10 – 6.12 наведено криві профілів розчинення таблеток метадоксину для двох дослідно-промислових серій генеричного препарату та однієї промислової серії референтного препарату у різних середовищах.

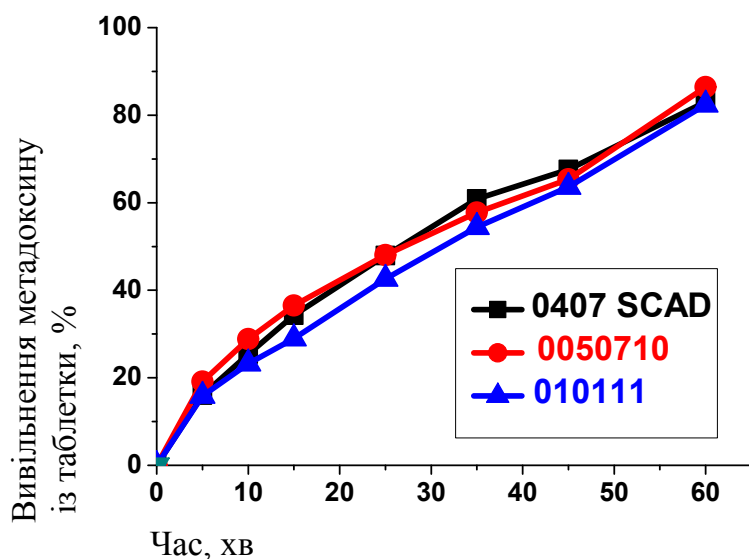


Рис. 6.10 Профілі розчинення таблеток препарату «Метадоксил» (серія 0407 SCAD) та препарату «Алкодез® IC» (серії 0050710 та 010111) в 0,1 М розчині хлористоводородної кислоти

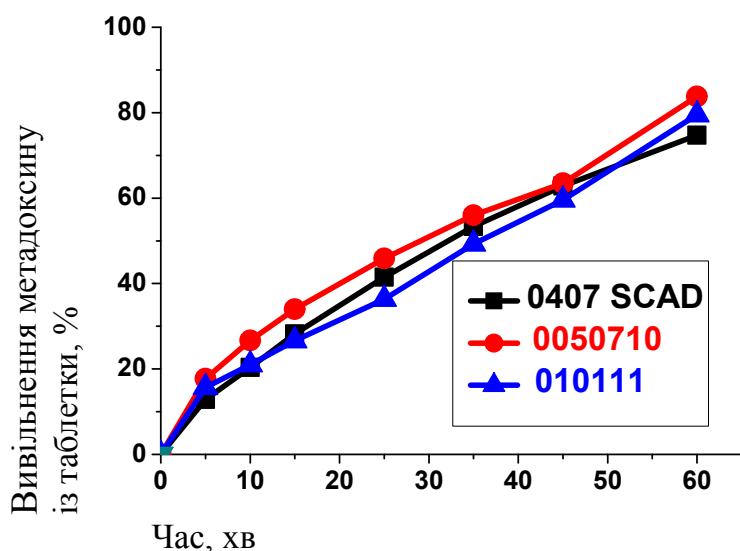


Рис. 6.11 Профілі розчинення таблеток препарату «Метадоксил» (серія 0407 SCAD) та препарату «Алкодез® IC» (серії 0050710 та 010111) в ацетатному буферному розчині рН 4,5



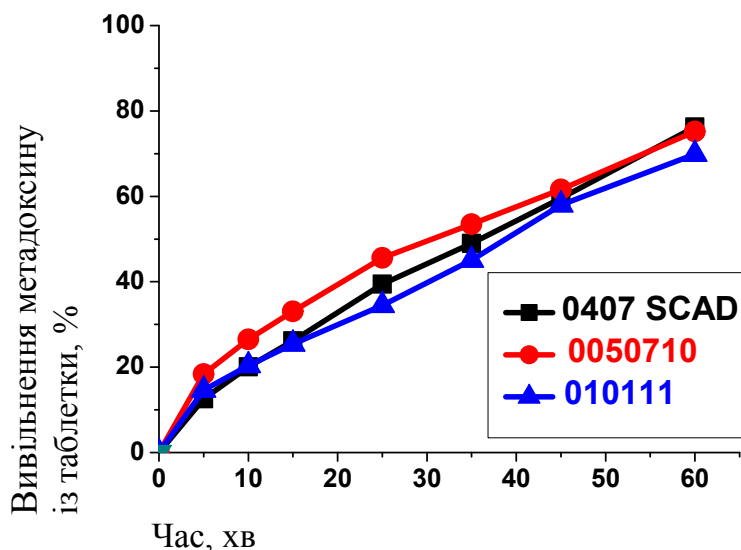


Рис. 6.12 Профілі розчинення таблеток препарату «Метадоксил» (серія 0407 SCAD) та препарату «Алкодез<sup>®</sup> IC» (серії 0050710 та 010111) в 0,05 М фосфатному буферному розчині рН 6,8

Відносну кількість метадоксину (від вказаної у маркуванні кількості метадоксину), яка перейшла із таблетки у розчин, для кожної із 12 таблеток трьох досліджуваних серій препаратів (двох дослідно-промислових серій 0050710, 010111 генеричного лікарського засобу «Алкодез<sup>®</sup> IC», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна, та однієї промислової серії 0407 SCAD оригінального препарату «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва «Laboratori Baldacci SpA», Італія) при розчиненні у розчинах із значеннями рН 1,2, 4,5 та 6,8, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, наведено у таблицях 6.6 – 6.8.

Таблиця 6.6

**Кількість вивільненого метадоксину із таблеток препарату «Метадоксил»  
(серія 0407 SCAD) та препарату «Алкодез® ІС» (серії 0050710 та 010111)  
в 0,1 М розчині хлористоводородної кислоти**

№ серії	№ таблетки	Кількість метадоксину, %						
		5 хв	10 хв	15 хв	25 хв	35 хв	45 хв	60 хв
0407 SCAD	1	15,06	23,83	32,58	47,27	61,95	67,55	79,72
	2	16,95	26,97	36,03	48,53	59,77	67,56	86,29
	3	16,35	25,78	33,23	47,33	58,66	68,33	84,19
	4	15,65	24,66	32,13	45,87	60,45	68,11	81,22
	5	16,25	26,55	34,12	48,13	59,63	66,26	82,33
	6	16,66	25,61	36,02	48,24	62,74	67,52	83,36
	7	15,24	23,86	35,25	48,11	64,17	67,99	84,57
	8	17,03	26,89	36,41	47,55	58,76	68,13	83,26
	9	15,77	25,36	33,03	46,78	63,28	67,81	83,11
	10	15,15	24,51	34,27	51,15	59,19	66,33	82,03
	11	15,11	23,79	32,54	47,21	61,99	67,61	79,76
	12	16,90	26,99	36,09	48,59	59,72	67,52	86,33
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		16,01±0,49	25,40±0,80	34,31±1,01	47,90±0,82	60,86±1,20	67,56±0,41	83,01±1,38
ε, %		3,06	3,15	2,96	1,71	1,97	0,61	1,66
0050710	1	19,46	29,16	36,98	48,84	58,52	65,68	82,23
	2	18,83	28,53	36,35	47,28	56,95	65,06	90,67
	3	20,33	29,21	36,98	46,33	58,64	65,13	86,35
	4	21,47	28,32	36,79	46,48	59,55	67,10	87,39
	5	20,07	30,24	35,66	49,67	56,02	64,55	87,02
	6	17,66	28,11	38,92	50,15	57,73	63,22	86,25
	7	17,65	28,46	37,42	47,55	59,94	67,88	85,58
	8	20,88	28,28	34,18	48,19	56,64	66,58	87,33
	9	18,03	27,11	36,55	49,66	58,13	65,15	86,46
	10	17,14	31,03	35,26	46,45	55,25	63,35	85,21
	11	19,39	30,45	36,22	48,94	58,59	65,71	82,25
	12	18,88	27,29	36,77	47,20	56,92	65,03	90,66
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		19,15±0,87	28,85±0,77	36,51±0,74	48,06±0,87	57,74±0,90	65,37±0,87	86,45±1,66
ε, %		4,55	2,68	2,03	1,81	1,88	1,33	1,92
010111	1	15,38	21,95	27,26	41,32	58,64	62,53	80,95
	2	16,32	24,46	30,70	43,83	59,55	64,73	83,77
	3	16,35	24,09	28,97	43,10	56,02	65,13	84,05
	4	15,85	24,21	29,67	42,25	57,73	63,21	80,99
	5	16,44	22,97	28,91	43,66	59,94	64,55	81,98
	6	16,22	23,51	29,05	41,18	56,64	63,22	83,01
	7	15,24	23,03	29,53	40,17	58,13	63,37	82,25
	8	17,00	23,26	27,64	44,58	55,25	62,48	81,89
	9	15,77	22,13	28,94	42,18	58,52	62,25	83,03
	10	14,03	22,49	29,11	43,56	56,95	64,78	81,66
	11	15,31	21,98	27,29	41,29	55,36	62,59	81,00
	12	16,28	24,44	30,69	43,85	52,56	64,69	83,73
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		15,85±0,49	23,21±0,60	28,98±0,72	42,58±0,87	57,10±1,33	63,63±0,68	82,36±0,72
ε, %		3,11	2,56	2,50	2,05	2,33	1,07	0,88

Таблиця 6.7

**Кількість вивільненого метадоксину із таблеток препарату «Метадоксил»  
(серія 0407 SCAD) та препарату «Алкодез® ІС» (серії 0050710 та 010111)  
в ацетатному буферному розчині рН 4,5**

№ серії	№ таблетки	Кількість метадоксину, %						
		5 хв	10 хв	15 хв	25 хв	35 хв	45 хв	60 хв
0407 SCAD	1	12,55	20,69	28,82	41,32	52,55	61,91	75,01
	2	13,18	20,07	27,57	41,63	54,12	63,78	74,38
	3	11,07	21,35	29,55	42,22	54,63	64,59	76,69
	4	12,04	22,15	30,17	44,69	53,28	65,29	75,20
	5	13,22	20,57	28,41	41,18	51,02	61,25	74,15
	6	14,31	17,91	29,67	42,34	52,84	61,38	72,33
	7	12,47	20,25	27,13	41,79	53,46	63,55	74,25
	8	14,02	21,45	25,07	41,08	53,87	62,37	75,61
	9	13,70	20,48	28,66	41,83	53,55	63,22	76,03
	10	12,11	18,89	26,98	36,71	54,11	61,12	73,35
	11	12,61	20,73	28,86	41,42	52,49	61,88	74,97
	12	13,13	20,01	27,51	41,55	54,17	63,87	74,43
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		12,87±0,58	20,38±0,72	28,20±0,90	41,48±1,13	53,34±0,63	62,85±0,88	74,70±0,74
ε, %		4,52	3,52	3,20	2,72	1,18	1,41	1,00
0050710	1	17,26	26,97	33,52	45,40	54,76	63,17	88,47
	2	18,20	26,34	34,46	46,34	57,26	63,80	79,09
	3	18,66	27,34	36,01	46,66	54,73	64,62	86,36
	4	17,44	27,00	34,12	46,09	56,33	65,31	82,67
	5	18,53	26,98	33,45	45,92	56,48	62,00	82,11
	6	18,94	26,98	33,02	44,63	57,09	63,53	84,08
	7	16,33	28,48	32,63	45,67	55,17	63,38	83,52
	8	18,19	27,12	34,51	47,66	56,64	62,53	82,13
	9	17,64	24,99	34,24	46,38	57,05	63,31	83,77
	10	16,13	24,16	33,97	43,93	54,61	63,24	85,67
	11	17,21	27,12	33,47	45,48	54,81	63,11	88,38
	12	18,25	26,44	34,49	46,29	57,20	63,89	79,11
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		17,73±0,56	26,66±0,71	33,99±0,55	45,87±0,61	56,01±0,70	63,49±0,55	83,78±1,95
ε, %		3,20	2,67	1,64	1,34	1,24	0,87	2,33
010111	1	15,38	21,32	26,63	36,94	49,11	58,46	76,87
	2	16,01	20,70	26,63	35,69	49,42	60,65	82,18
	3	14,55	22,34	28,52	37,52	51,24	59,38	78,22
	4	13,89	20,18	29,33	37,89	50,38	61,49	81,64
	5	18,54	21,19	26,18	36,23	49,11	60,37	78,34
	6	14,75	22,54	27,65	34,77	48,72	60,14	79,36
	7	15,63	21,13	25,64	36,35	50,34	59,66	80,35
	8	16,42	20,89	24,16	37,16	47,82	57,15	81,66
	9	15,22	18,64	25,22	35,22	49,64	58,44	79,48
	10	16,59	21,17	26,33	36,86	47,15	59,63	78,91
	11	15,31	21,40	26,57	34,99	49,62	60,13	80,94
	12	16,13	20,61	26,72	36,25	48,17	59,22	76,39
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		15,70±0,76	21,01±0,63	26,63±0,88	36,32±0,63	49,27±0,73	59,56±0,73	79,53±1,20
ε, %		4,82	3,02	3,31	1,75	1,49	1,23	1,51

Таблиця 6.8

**Кількість вивільненого метадоксину із таблеток препарату «Метадоксил»  
(серія 0407 SCAD) та препарату «Алкодез® ІС» (серії 0050710 та 010111) )  
в 0,05 М фосфатному буферному розчині рН 6,8**

№ серії	№ таблетки	Кількість метадоксину, %						
		5 хв	10 хв	15 хв	25 хв	35 хв	45 хв	60 хв
0407 SCAD	1	12,24	19,75	24,75	37,87	46,92	56,27	73,43
	2	12,87	20,38	27,57	41,01	50,99	62,84	79,07
	3	12,24	20,89	26,22	38,22	51,18	54,78	76,72
	4	12,87	22,04	26,89	40,55	50,29	56,44	75,21
	5	10,99	20,21	26,46	40,39	48,97	56,56	76,36
	6	11,24	18,01	26,52	39,08	48,62	57,18	77,29
	7	12,08	19,98	28,23	37,68	50,27	55,19	75,41
	8	12,49	20,77	26,99	40,11	47,39	56,71	75,76
	9	12,48	20,11	24,81	38,99	48,12	57,11	76,23
	10	14,04	18,54	23,55	39,32	47,01	54,68	75,25
	11	13,76	20,36	26,35	38,83	49,23	54,83	77,10
	12	12,13	19,79	25,52	41,19	48,56	57,23	77,11
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		12,56±0,59	20,07±0,66	26,16±0,82	39,44±0,76	48,96±0,94	59,56±1,38	76,25±0,89
ε, %		4,67	3,31	3,17	1,93	1,92	2,44	1,17
0050710	1	18,83	24,77	31,96	44,77	52,25	59,10	70,64
	2	17,89	28,22	34,15	46,34	54,76	64,11	79,72
	3	20,05	28,48	33,41	46,13	54,69	61,48	77,13
	4	21,13	29,31	33,98	45,94	53,37	60,28	77,33
	5	18,97	26,11	33,02	45,82	51,13	62,27	74,18
	6	17,11	27,82	32,94	44,39	52,91	61,29	72,63
	7	17,41	25,61	32,13	45,43	53,53	60,95	74,52
	8	19,89	24,09	32,25	47,03	53,92	60,53	76,19
	9	17,47	25,07	33,96	46,12	53,62	62,25	76,32
	10	16,33	26,22	33,33	43,67	54,21	61,86	73,11
	11	19,01	26,47	32,16	45,07	53,35	62,35	75,44
	12	16,23	25,83	33,45	46,03	54,37	62,89	74,98
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		18,36±0,97	26,50±1,03	33,06±0,48	45,56±0,60	53,51±0,66	61,61±0,83	75,18±1,54
ε, %		5,32	3,88	1,50	1,31	1,24	1,36	2,04
010111	1	14,44	20,38	25,06	33,81	41,91	57,52	69,36
	2	14,75	20,38	25,69	35,06	48,17	58,46	70,31
	3	15,97	20,96	25,76	33,29	46,13	56,77	70,83
	4	12,36	22,35	26,54	32,24	46,03	57,79	70,64
	5	16,04	20,54	24,63	34,18	45,18	60,00	67,48
	6	15,99	17,22	25,59	36,10	45,09	56,48	68,26
	7	14,26	20,13	23,87	35,31	45,11	58,66	71,49
	8	14,75	20,88	26,87	36,48	45,44	55,97	69,69
	9	15,05	20,55	25,33	33,12	44,33	59,67	69,01
	10	12,25	19,16	24,48	34,33	43,12	58,25	70,41
	11	14,68	20,37	23,77	32,65	45,04	59,03	68,66
	12	14,63	21,64	26,96	36,71	44,89	57,22	71,99
$\bar{X} \pm \Delta \bar{X}$		14,60±0,79	20,38±0,80	25,38±0,68	34,44±0,95	45,04±0,98	57,99±0,79	69,84±0,85
ε, %		5,38	3,95	2,69	2,77	2,17	1,38	1,22

Отже, згідно з отриманими даними, для кожної досліджуваної серії препарату метадоксину у кожному із трьох рН-середовищ протягом 30 хв вивільняється із твердої дозованої форми менше 85 % від вказаної у маркуванні кількості метадоксину, що свідчить про те, що досліджувані лікарські засоби не є швидкорозчинними. У розчинах із значеннями рН 1,2, 4,5 та 6,8 із твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії протягом 35–60 хв вивільняється 54–79 % від вказаної у маркуванні кількості метадоксину.

Коефіцієнт подібності ( $f_2$ ) може приймати значення від 0 до 100. По мірі зменшення еквівалентності профілів розчинення значення коефіцієнта подібності наближається до 0. Профілі розчинення прийнято вважати подібними, якщо значення  $f_2$  знаходиться в межах діапазону від 50 до 100.

Результати порівняння профілів розчинення генеричного лікарського засобу «Алкодез® ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна (дослідно-промислові серії препарату 0050710, 010111), та оригінального препарату «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва «Laboratori Baldacci SpA», Італія (промислова серія 0407 SCAD), наведено у табл. 6.9.

Таблиця 6.9

**Значення коефіцієнту подібності для двох серій препарату «Алкодез® ІС»**

Середовище розчинення	Коефіцієнт подібності, $f_2$	
	0050710	010111
0,1 М розчин хлористоводородної кислоти	76,68	68,65
Ацетатний буферний розчин рН 4,5	62,93	71,66
Фосфатний буферний розчин рН 6,8	63,98	71,59

Отримані значення коефіцієнтів подібності підтверджують подібність профілів розчинення ( $50 < f_2 < 100$ ) референтного препарату «Метадоксил»,

таблетки по 0,5 г (Laboratori Baldacci SpA, Італія), та генеричного препарату «Алкодез<sup>®</sup> ІС», таблетки по 0,5 г (ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна) [191,192].

Отже, з метою профілактики розвитку патологічних станів доцільним є введення метадоксину у вигляді твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії за 30–60 хв до введення чинників гострої алкогольної інтоксикації та токсичних уражень печінки.

### Резюме

Висока фармакологічна активність пірролідон карбоксилату та піридоксину при їх спільному введенні у складі молекули метадоксину порівняно до окремого введення компонентів пояснюється тим, що метадоксин в організмі являє собою динамічну систему іонізованих та неіонізованих форм пірролідон карбоксилату та піридоксину, яка визначає такі фармакологічні параметри, як всмоктування, біопроникаємість, метаболізм, розподіл речовин між органами та тканинами, здатність перетинати біологічні бар'єри та взаємодіяти з відповідними біомішенями.

За даними дослідження кінетики розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії за тестом «Розчинення», у розчинах із значеннями рН 1,2, 4,5 та 6,8, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, із таблеток метадоксину протягом 35–60 хв вивільняється 54–79 % від вказаної у маркуванні кількості метадоксину. Отже, з метою профілактики розвитку патологічних станів доцільним є введення метадоксину у вигляді твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії за 30–60 хв до введення чинників гострої алкогольної інтоксикації та токсичних уражень печінки.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях:*

1. Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих лікарських форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ<sup>®</sup> ІС» з використанням тесту

«Розчинення» / З. О. Гіхер, А. В. Єгорова, Д. І. Александрова, М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова. *Одеський медичний журнал*. 2014. № 5 (145). С. 25–29. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)

2. Golovenko N. Ya., Larionov V. B., Karpova O. V. Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88, No. 2. P. 73–81. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, в аналізі та інтерпретації результатів.)

3. Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Сравнительная оценка таблетированных лекарственных форм препаратов «МЕТАДОКСИЛ» и «АЛКОДЕЗ® IC» с использованием теста «Растворение». *Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 11–12 липня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 88–90. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення тез.)*

## АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Зростаюча алкогольна смертність в Україні, яка прийняла характер гуманітарної катастрофи, алкоголізація населення, що призводить до зростання показників захворюваності психоневрологічними порушеннями, внутрішніми хворобами алкогольного генезу та інвалідизації осіб працездатного віку, що знижує рівень народжуваності в суспільстві, представляє найважливішу державну і соціальну проблему. Одним із заходів захисту і збереження здоров'я населення є скорочення тягаря патологій, пов'язаних з вживанням алкоголю, за рахунок їх профілактики, а також своєчасної діагностики та лікування.

Алкоголь є третім за значимістю фактором ризику тягаря хвороб в світі. Класифікація тягаря захворювань, обумовлених вживанням алкоголю, включає нейропсихіатричні захворювання, пов'язані з вживанням алкоголю (у т. ч. гостра алкогольна інтоксикація, алкоголізм, алкогольні психози), захворювання шлунково-кишкового тракту (у т. ч. панкреатит, алкогольна хвороба печінки), серцево-судинні захворювання (у т. ч. геморагічний інсульт, артеріальна гіпертензія), онкологічні захворювання (рак ротової порожнини, глотки, стравоходу, прямої і товстої кишки, печінки, молочної залози), захворювання в перинатальному періоді (низька маса тіла при народженні, алкогольний синдром плоду). Значна частка тягаря хвороб, обумовленого шкідливим вживанням алкоголю, пов'язана з ненавмисними і навмисними травмами. Шкідливе вживання алкоголю асоціюється також з деякими інфекційними хворобами, такими як ВІЛ/СНІД, туберкульоз, пневмонія.

За даними ВООЗ, в Україні поширеність психічних розладів, викликаних прийомом алкоголю (зловживання алкоголем і алкогольна залежність), в 6 раз перевищує даний усереднений показник в таких європейських країнах, як Бельгія, Франція, Німеччина, Італія, Нідерланди та Іспанія [193]. У 2017 р. Україна була єдиною країною у світі, в якій поширеність залежності від алкоголю була вищою серед жінок, ніж серед чоловіків [1]. Поширеність



зловживання алкоголем і алкогольної залежності в європейських країнах серед чоловіків переважає в молодому і літньому віці, тоді як в Україні більшу частину чоловіків з алкогольними розладами складають чоловіки середнього віку. Більш того, серед українських чоловіків, що зловживають алкоголем, переважають ті, хто працюють і мають сім'ю, в той час як для європейських і американських чоловіків дані фактори є значущими проєктивними факторами [194].

Алкогольна хвороба печінки виявляється у 10–25 % чоловічого населення більшості розвинених країн і дещо рідше у жінок [15]. Поряд із алкогольною хворобою печінки до найбільш значущих метаболічних уражень печінки відносять неалкогольну жирову хворобу печінки, яка розвивається внаслідок метаболічної маніфестації при медикаментозній інтоксикації, порушеннях ліпідного або вуглеводного обміну [17,18,195]. На сьогодні НАЖХП є найпоширенішим дифузним захворюванням печінки. Щорічно внаслідок росту випадків ожиріння та діабету II типу захворюваність на НАЖХП зростає [196,197]. Незважаючи на відмінності у етіологічному факторі, структурні та функціональні порушення у печінці дуже схожі при АХП і НАЖХП, і їх прогресування зазвичай закінчується цирозом печінки [198,199].

Зростаюча алкоголізація населення та значне поширення метаболічних уражень печінки алкогольного та неалкогольного генезу викликає велику стурбованість серед світової медичної громадськості у багатьох країнах світу.

На сьогодні точні механізми дії більшості антиалкогольних і гепатопротекторних лікарських засобів вивчені недостатньо і є лише передбачуваними. Тому застосування більшості засобів цієї групи в широкій клінічній практиці є спірним. Переважній більшості критеріїв «ідеального» нейро- і гепатопротектора відповідає метадоксин, який має унікальний спектр фармакологічної дії [7]. Дезінтоксикаційний, антистеатозний, антихолестатичний, протизапальний, анксіолітичний та інші ефекти метадоксину забезпечують широкі можливості його застосування в наркологічній і терапевтичній практиці, але роль метадоксину у профілактиці

алкогольної інтоксикації і хвороб печінки на сьогодні мало вивчена.

Отже, медико-соціальна актуальність проблеми зростаючої поширеності станів гострої алкогольної інтоксикації та алкоголь-індукованих та неалкогольних уражень печінки серед населення та недостатня ефективність існуючих методів попередження їх розвитку визначили необхідність експериментального вивчення цих патологічних станів з опрацюванням ефективного методу профілактики їх розвитку та прогресування із застосуванням метадоксину (піридоксин-L-2-пірролідон-5-карбоксилату), що визначило мету і завдання проведеного наукового дослідження.

Серед структур, особливо чутливих до токсичної дії етанолу, ЦНС займає одне з перших місць. Активність метадоксину щодо ЦНС на сьогодні є мало вивченою. У літературі є дані лише декількох доклінічних досліджень фармакологічних властивостей метадоксину при його попередньому введенні на тлі гострої алкогольної інтоксикації [49,78]. На сьогодні науковий інтерес представляє подальше вивчення впливу метадоксину на ЦНС при його попередньому введенні на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.

Для визначення профілактичної дії метадоксину на динаміку поведінкових реакцій у тварин відтворювали експериментальну модель гострої алкогольної інтоксикації шляхом в/ш ведення 40 %-ного водного розчину етанолу мишам у дозі 1 г/кг (1/3 від LD<sub>100</sub>) та щурам у дозі 6 г/кг (1/2 від LD<sub>100</sub>). Водний розчин метадоксину вводили тваринам дослідної групи в/о у дозі 200 мг/кг за 1 год до введення етанолу.

Метод «Відкрите поле» використовували для визначення спонтанної рухової активності, орієнтовно-дослідницької поведінки та емоційного реагування у щурів [121-124].

Було показано, що у тварин контрольної патології через 24 год після введення етанолу значення досліджуваних показників спонтанної рухової активності «кількість пересічень секторів поля» та «кількість вертикальних стійок» є статистично вірогідно нижчими на 42 та 53 % відповідно порівняно до вихідних значень, в той час як у тварин дослідної групи на тлі застосування

метадоксину значення досліджуваних показників, які були статистично вірогідно нижчими за вихідні рівні через 1 год після введення етанолу, через 24 год сягають вихідних рівнів ( $p < 0,05$ ). Таким чином, профілактичне введення метадоксину за 1 год до введення етанолу статистично вірогідно зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу, забезпечуючи прискорення відновлення зниженої спонтанної рухової активності у щурів протягом 24 год після введення етанолу [154,155]. Відновлення рухової активності щурів при попередньому введенні метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації можна пояснити як прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину [50,66,68,69], так і його нейромедіаторною активністю – безпосереднім впливом компонентів метадоксину на активацію біосинтезу дофаміну у головному мозку, який має дефіцитарні рівні при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації [54,78].

Оцінити профілактичний вплив метадоксину на орієнтовно-дослідницьку активність тварин за показником «кількість зазирань у норки» та на емоційне реагування тварин за показником «кількість актів грумінгу» виявилось неможливим через відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу на досліджувані поведінкові показники у відтворених умовах експериментальної моделі гострої алкогольної інтоксикації.

Показник емоційного реагування «кількість актів дефекації та уринації» зазнає статистично вірогідного зниження у часовій контрольній точці  $T = 1$  год порівняно з вихідним рівнем в обох досліджуваних групах, в другій часовій точці виміру  $T = 24$  год, як у групі контрольної патології (Етанол, 6 г/кг), так і у дослідній групі (Метадоксин, 200 мг/кг + Етанол, 6 г/кг), відбувається нормалізація значень показника ( $p < 0,05$ ). Оскільки динаміка значень показника «кількість актів дефекації та уринації» у тварин контрольної патології та дослідної групи подібна, можна зробити висновок щодо відсутності позитивного впливу профілактичного введення метадоксину на даний показник у щурів через 1 год після введення етанолу [154,155]. З огляду на дані

літератури щодо здатності метадоксину нормалізувати психоемоційний фон тварин за рахунок катехолергічної активності, зокрема при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації [54,78], відсутність позитивного впливу метадоксину на емоційну компоненту поведінки тварин через 1 год після введення етанолу можна пояснити нечутливістю досліджуваного показника до дії метадоксину у відтворених умовах його профілактичного введення на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.

Метод «Натягнута проволока» застосовували для оцінки частоти розвитку міорелаксації у мишей [125]. Профілактичне введення метадоксину мишам за 1 год до введення етанолу призводить до статистично вірогідного зниження даного показника через 2 год після введення етанолу. Так, через 2 год після введення етанолу індуковану міорелаксацію реєстрували у 86 % тварин групи контрольної патології, відносна кількість тварин із наявністю зазначеного показника у дослідній групі була в 5 разів нижчою порівняно до групи контрольної патології та становила 17 % ( $p < 0,05$ ) [154,155]. Нейропротекторний ефект метадоксину щодо попередження розвитку міорелаксації, індукованої введенням етанолу, забезпечується прямою антиалкогольною, дезінтоксикаційною та дофаміною активністю метадоксину [50,54,66,68,69,78,156,157].

«Ротор-тест» використовували для оцінки фізичної працездатності у щурів [116,126,127]. Профілактичне введення метадоксину щурам за 1 год до введення етанолу не попереджує етаноліндуковане зниження фізичної працездатності у щурів в перші 3 год гострої нейротоксичної дії етанолу ( $p < 0,05$ ) [154,155]. З огляду на позитивний вплив метадоксину при його попередньому введенні на етаноліндуковане зниження спонтанної рухової активності, на розвиток етаноліндукованої міорелаксації, а також з урахуванням даних літератури щодо нейромедіаторного профілю дії метадоксину [54,78], відсутність позитивного впливу метадоксину на знижену фізичну працездатність та порушення координації рухів тварин на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації можна пояснити нечутливістю

досліджуваного показника до дії метадоксину у відтворених умовах його профілактичного введення на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації.

Потяг тварин до блювання оцінювали у дослідах на мишах [125,128]. Профілактичне введення метадоксину мишам за 1 год до введення етанолу привело до статистично вірогідного зниження частоти розвитку етаноліндукованого потягу до блювання у мишей через 90 хв після введення етанолу. Так, через 90 хв після введення етанолу поїдання тирси протягом 60 с реєстрували у 100 % тварин групи контрольної патології, відносна кількість тварин із наявністю даного показника у групі тварин, яким попередньо вводили метадоксин, була нижчою в 3 рази порівняно до групи контрольної патології та становила 33 % ( $p < 0,05$ ). Протиблювотна дія метадоксину при його профілактичному введенні на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації обумовлена як прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину [50,66,68,69], так і його нейромедіаторною активністю, а саме здатністю регулювати у структурах головного мозку рівні дофаміну, ацетилхоліну, ГАМК, серотоніну, які приймають участь у нейрохімічних механізмах блювання [53,54,76-78,156,157].

Розумову працездатність оцінювали у щурів за методом «Умовна реакція пасивного уникнення» [123,124,129]. У досліді щодо оцінки здатності тварин до навчання етанол вводили щурам за 1 год до навчання. У експерименті щодо дослідження консолідації слідів пам'яті етанол вводили безпосередньо після навчання. В обох дослідах метадоксин вводили за 1 год до введення етанолу.

Встановлено, що тривалість латентного періоду після формування УРПУ у тварин групи контролю є довшою в 2,1 рази порівняно до латентного періоду до навчання, у групі тварин контрольної патології – в 1,6 рази, в той час як у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, тривалість латентного періоду після навчання є довшою в 3,5 рази порівняно до латентного періоду до формування УРПУ ( $p < 0,05$ ). Таким чином, профілактичне введення метадоксину щурам за 1 год до введення етанолу, який вводили за 1 год до формування УРПУ, попереджує етаноліндуковане порушення здатності

до навчання тварин, забезпечуючи нейропротекторний ефект [158]. Попередження розвитку етаноліндукованої загальмованості пізнавальних психічних процесів у тварин та порушення формування УРПУ при профілактичному введенні метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації, ймовірно, обумовлено прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину [50,66,68,69], а також його здатністю підвищувати вивільнення дофаміну, ГАМК і ацетилхоліну у головному мозку, рівні яких є дефіцитарними при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації [53,54,76-78].

Встановлено, що введення етанолу щурам одразу після навчання не впливає на консолідацію слідів пам'яті у тварин ( $p < 0,05$ ). Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на консолідацію слідів пам'яті у щурів виявилось неможливим через відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу на досліджуваний показник у відтворених умовах експериментальної моделі гострої алкогольної інтоксикації.

Таким чином, метадоксин, попередньо введений мишам та щурам за 1 год до введення етанолу у дозах 1 г/кг та 6 г/кг відповідно, зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу, забезпечуючи прискорення відновлення зниженої спонтанної рухової активності у щурів, знижуючи частоту розвитку міорелаксації та потягу до блювання у мишей та попереджуючи порушення формування умовних реакцій, що забезпечують процеси навчання у щурів, але не впливає на показник емоційного реагування «кількість актів дефекації та уринації» у щурів через 1 год після введення етанолу та показник фізичної працездатності у щурів. Позитивний вплив профілактичного введення метадоксину на досліджувані показники можна пояснити як прямою антиалкогольною та дезінтоксикаційною дією метадоксину, так і його нейромедіаторною активністю – безпосереднім впливом компонентів метадоксину на активацію біосинтезу дофаміну, ацетилхоліну та ГАМК у головному мозку, які мають дефіцитарні рівні при середньому та тяжкому ступені тяжкості алкогольної інтоксикації.

Відомо, що метадоксин прискорює метаболізм та виведення етанолу та його метаболітів з сечею із організму [50,66,69,70]. Але на сьогодні у літературі відсутні дані щодо впливу метадоксину на елімінацію етанолу та його метаболітів при його профілактичному введенні.

Для дослідження впливу метадоксину при його попередньому введенні на елімінацію етанолу та його метаболітів відтворювали експериментальну модель гострої алкогольної інтоксикації шляхом ведення 40 %-ного водного розчину  $^{14}\text{C}$ -етанолу щурам у дозі 3,5 г/кг, в/ш [115]. Водний розчин метадоксину вводили в профілактичному режимі у дозі 200 мг/кг, в/о, за 30 хв до введення етанолу. Метод рідинної сцинтиляційної спектрофотометрії використовували для визначення кількості радіоактивного матеріалу у пробах [150].

Встановлено, що профілактичне введення метадоксину щурам за 30 хв до введення  $^{14}\text{C}$ -етанолу у дозі 3,5 г/кг призводить до статистично вірогідного збільшення загальної кількості радіоактивних продуктів, виведених ренальним шляхом, починаючи ~ 7-ої год після введення етанолу порівняно до тварин групи контрольної патології. Так, в останній часовій точці пробовідбору, яка відповідає 30 год, сумарна відносна кількість виведеного незміненого етанолу та його метаболітів у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, перевищує в 1,4 раза даний показник у тварин, яким вводили тільки етанол ( $p < 0,05$ ). З отриманими експериментальними даними узгоджуються теоретично розраховані параметри елімінації. Так, при теоретично нескінченному часі експозиції відносна сумарна кількість виведеного незміненого етанолу та його метаболітів у тварин, яким вводили метадоксин, статистично вірогідно перевищує в 1,6 раза даний показник тварин групи контрольної патології ( $p < 0,05$ ) [162,163].

На тлі попереднього введення метадоксину відзначається значний перерозподіл у кількісному співвідношенні виведеного незміненого етанолу та його метаболітів порівняно до тварин контрольної групи. Так, у тварин контрольної патології, починаючи з 3-ої год після введення, етанол виводиться переважно у вигляді ацетату, з ~ 7-ої год після введення етанолу кількість

елімінованого незміненого етанолу не перевищує 1 % від введеної дози ( $p < 0,05$ ), тоді як переважну частину радіоактивних продуктів складають його метаболіти – ацетальдегід (16–24 %) та ацетат (60–84 %) ( $p < 0,05$ ). У той же час у тварин, яким вводили метадоксин, вже через 3 год після введення етанол виводиться переважно у вигляді незміненого етанолу, його відносна кількість перевищує в 4,9 раза даний показник у групі контрольної патології ( $p < 0,05$ ), через 12 год після введення етанол виводиться переважно у вигляді ацетальдегіду, рівень якого у пробах сечі перевищує в 2,3 раза даний показник у тварин групи контрольної патології ( $p < 0,05$ ), в тій же контрольній часовій точці рівень ацетату є меншим в 3,9 раза порівняно до даного показника для групи контролю ( $p < 0,05$ ); подібне співвідношення продуктів метаболізма етанолу зберігається до 30 год з моменту введення етанолу. Отже, якщо у тварин контрольної групи етанол виводиться переважно у вигляді ацетату, то у тварин, яким вводили метадоксин, вже через 3 год після введення етанол виводиться переважно у вигляді незміненого етанолу, через 12 год – переважно у вигляді ацетальдегіду [162,163].

Прискорення швидкості ренального виведення етанолу та його метаболітів, виведення етанолу, починаючи з 3-ої год після введення етанолу, переважно у вигляді неметаболізованого етанолу, а, починаючи з 12-ої год, переважно у вигляді ацетальдегіду на тлі профілактичної дії метадоксину можна пояснити здатністю метадоксину полегшувати окислення НАДН в НАД<sup>+</sup> та пригнічувати формування макроагрегатів між альбуміном і ацетальдегідом. Так, при попередньому введенні метадоксину до введення етанолу забезпечується нормальне співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> у всіх компартментах клітини, що попереджує пов'язане із дефіцитом НАД<sup>+</sup> гальмування ключових метаболічних шляхів – глюконеогенезу, окислювального декарбоксилювання пірувата, ЦТК,  $\beta$ -окислення жирних кислот, в яких не задіяні НАД<sup>+</sup>-залежні алкогольдегідрогеназа та ацетальдегіддегідрогеназа. Цим можна пояснити переважне виведення етанолу на тлі дії метадоксину у вигляді



неметаболізованого етанолу протягом ~ 7 год після введення етанолу. Зменшення рівня незміненого етанолу та відповідне підвищення рівнів ацетальдегіду та ацетату у сечі щурів, починаючи з 12 год після введення етанолу, вказує на метадоксин-індуковану інтенсифікацію процесів метаболізму етанолу за рахунок підтримання активності алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази на тлі підвищеної витрати НАД<sup>+</sup>. Ацетат, який утворюється як кінцевий продукт метаболізму етанолу, на тлі дії метадоксину піддається метаболічному шляху утилізації, окислюючись у нормально функціонуючому ЦТК до вуглекислого газу.

Таким чином, попереднє введення метадоксину за 30 хв до введення етанолу прискорює ренальне виведення із організму незміненого етанолу та його метаболітів, тим самим зменшуючи їх пошкоджуючий вплив на клітини, та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату та розвиток патологічних станів, асоційованих із цим порушенням.

Оцінити профілактичний вплив метадоксину на виведення етанолу та його метаболітів з калом виявилось неможливим через дуже низьку (слідову) концентрацію радіоактивного матеріалу у біопробах обох груп тварин.

У метаболічному циклі етанолу, що надходить до організму, основне навантаження несе печінка. При вживанні гепатотоксичних доз алкоголю, при медикаментозній інтоксикації, порушеннях ліпідного або вуглеводного обміну виникають різні клініко-морфологічні форми метаболічного ураження печінки. Метадоксин чинить метаболічний ефект, вираженість якого залежить від наявності двох компонентів, пірролідон карбоксилату та піридоксину, які здатні активувати характерні для них метаболічні біотрансформації [50]. На сьогодні у літературі є дані лише декількох доклінічних досліджень фармакологічних властивостей метадоксину при його попередньому введенні на тлі дії чинника токсичного ураження печінки [49,63-66]. На сьогодні науковий інтерес представляє подальше вивчення впливу метадоксину на розвиток уражень печінки при його попередньому введенні на тлі дії гепатотоксичних чинників.

Для оцінки профілактичної дії метадоксину на біохімічні показники цитолізу, холестазу та синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного ураження печінки відтворювали експериментальну модель «алкогольного гепатиту» шляхом повторного введення 40 %-ного водного розчину етанолу у дозі 6 г/кг, в/ш, щурам протягом 7 днів [116,117]. Водний розчин метадоксину вводили у профілактичному режимі у дозі 90 мг/кг, в/ш, за 30 хв до введення етанолу.

Ферментативно-колориметричні методи застосовували для визначення активності аспартатамінотрансферази, аланінамінотрасферази [131,132],  $\gamma$ -глутамілтранспептідази [132-134], каталази [124,135], лужної фосфатази [132,136], рівнів тригліцеридів [138-140], загального холестерину [141,142], сечовини [140,146] та глюкози [148,149]; прямими колориметричними методами визначали рівень загального білірубіну [137], церулоплазміну [140,143], загального білка [132,144], альбуміну [132,145] та креатиніну [132,147].

Метадоксин при профілактичному введенні на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестазу, а також показників синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів.

Так, у групі тварин з алкогольним ураженням печінки відмічається статистично вірогідне підвищення активності аспартатамінотрансферази на 21 %,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази в 2,8 раза, зниження активності каталази на 27 %, підвищення рівня церулоплазміну на 65 %, зниження рівня сечовини на 34 %, креатиніну на 29 % порівняно до контролю, в той час як у групі тварин, яким вводили метадоксин, значення досліджуваних показників утримуються на рівні значень цих показників у контрольній групі тварин ( $p < 0,05$ ) [165,175].

Позитивний профілактичний вплив метадоксину на досліджувані біохімічні показники на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу пояснюється мембраностабілізуючим, цитопротективним, антихолестатичним, енергетичним, антиалкогольним, дезінтоксикаційним та

протизапальним ефектами метадоксину. За даними літератури, мембраностабілізуючий ефект метадоксину обумовлений його здатністю знижувати інтенсивність процесів перекисного окислення ліпідів та процесів вільнорадикальної модифікації білків як за рахунок власної антиоксидантної активності [57,61,62], так за рахунок підтримання на високому рівні запасів відновленого глутатіону [62,63]. Здатність метадоксину пов'язувати активні форми кисню, які утворюються внаслідок атаки етанолу та інших токсичних агентів, а також підтримувати на високому рівні запаси відновленого глутатіону забезпечує антиоксидантний захист зовнішньої мембрани клітини, мембран клітинних органел та попереджує процеси перекисного окислення ліпідів мембран, і, як наслідок, порушення транспортної функції мембран, редокс-потенціалу клітини, процесів синтезу АТФ. Крім того, метадоксин пригнічує за рахунок підвищення активності десатураз зниження рівня ненасиченості жирних кислот мембранних ліпідів, викликане етанолом, отже, підтримуючи баланс між насиченими і ненасиченими жирними кислотами, метадоксин стабілізує мембрану і перешкоджає первинній структурній дегенерації клітини [64]. Цитопротективний та антихолестатичний ефекти метадоксину реалізуються зокрема на рівні запобігання пошкодження цитоскелету гепатоцитів внаслідок детергентної дії жовчних кислот. Так, піридоксиновий компонент метадоксину грає важливу роль в синтезі гліцину та стимулює синтез таурину, які утворюють кон'юганти з мембранотоксичними жовчними кислотами, тим самим запобігаючи їх детергентній дії щодо біомембран з послідувачим порушенням цитоскелету [57]. Підтримуючи структурно-функціональну цілісність мембран мітохондрій гепатоцитів, запобігаючи накопиченню токсичних жовчних кислот за рахунок їх кон'югації та полегшуючи синтез АТФ, метадоксин попереджує виснаження енергетичних ресурсів, які необхідні для підтримки повноцінного функціонування біологічних мембран і клітини у цілому [49,52]. Крім того, за рахунок прямої антиалкогольної та дезінтоксикаційної дії метадоксин прискорює утилізацію ацетальдегіду [50] та таким чином запобігає модифікації

внаслідок ацетилювання структурних білків мембран, а також білків, що мають ферментативну активність. Піридоксиновий компонент метадоксину як кофермент у формі піридоксальфосфату регулює процеси азотистого обміну (трансамінування, дезамінування і декарбоксілювання амінокислот) та грає важливу роль в транспорті амінокислот крізь клітинну мембрану [50,60]. Інактивація метадоксином вільних радикалів, а також скорочення часу шкідливої дії ацетальдегіду запобігає гіперпродукції прозапальних цитокінів, що попереджує активацію транскрипції гена, кодуючого структуру церулоплазміну – білка гострої фази інфламації печінки [71].

Проте у групі тварин, які отримували метадоксин, поряд із нормальними рівнями активності ферментів аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та каталази активність аланінамінотрансферази є статистично вірогідно підвищеною на 31 та 23 % порівняно до групи контролю та групи контрольної патології відповідно, що свідчить про етаноліндуковані порушення структурної цілісності клітин печінки на тлі застосування метадоксину ( $p < 0,05$ ) [165].

Беручи до уваги відсутність порушення активності інших ензиматичних маркерів цитолізу (аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та каталази) у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, можна припустити, що у цієї групи тварин за біохімічними показниками вираженість цитолізу є значно меншою порівняно до тварин контрольної патології. Таким чином, отримані дані демонструють здатність метадоксину впливати на певні ланки патогенезу алкогольного ураження печінки із синдромом цитолізу при його профілактичному введенні.

З огляду на відсутність статистично вірогідних порушень активності лужної фосфатази – біохімічного маркера синдрому холестазу – у групі тварин контрольної патології та групі тварин, яким застосовували метадоксин, порівняно до групи контролю, оцінити профілактичний вплив метадоксину на даний біохімічний маркер розвитку внутрішньопечінкового холестазу виявилось неможливим ( $p < 0,05$ ) [165].

Метадоксин при попередньому введенні зменшує вираженість порушень рівня загального білірубину. Рівень загального білірубину у групі контрольної патології є вищим в 5,2 раза за даного показника у групі контролю, в той час як рівень загального білірубину у групі тварин, які отримували метадоксин, перевищує даний показник у групі контролю в 3,9 раза ( $p < 0,05$ ) [175]. Тенденція до зниження рівня мембранотоксичного жовчного пігменту у сироватці крові тварин, які піддавалися впливу метадоксину, порівняно до групи контрольної патології, пояснюється мембраностабілізуючою та антиоксидантною активністю метадоксину [57,61-65].

Метадоксин при профілактичному введенні зменшує вираженість порушень рівня тригліцеридів. Так, рівень тригліцеридів у тварин, які отримували етанол, перевищує контрольне значення в 3,2 раза, проте рівень тригліцеридів у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, є вищим за даний показник у групі контролю в 2,4 раза ( $p < 0,05$ ) [165,175]. Тенденцію до зниження вмісту тригліцеридів у крові тварин на тлі дії метадоксину порівняно до групи контрольної патології можна пояснити антистеатозною дією метадоксину [50,66,69,70]. Так, метадоксин, реалізуючи антистеатозну дію, усуває надлишок НАДН, що утворюється при окисленні етанолу, та тим самим попереджує сповільнення  $\beta$ -окислення жирних кислот та зниження швидкості глюконеогенезу, тим самим запобігає синтезу тригліцеридів із гліцерол-3-фосфату та жирних кислот [65].

Рівень загального холестерину у групі тварин, які отримували метадоксин, є статистично вірогідно вищим в 2,4 раза порівняно до тварин контрольної патології, які мали знижений рівень загального холестерину порівняно до контролю ( $p < 0,05$ ) [165,175]. Отже, профілактичне введення метадоксину попереджує розвиток гіпохолестеринемії на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольної етіології, ймовірно, за рахунок антиоксидантної та мембраностабілізуючої дії метадоксину [57,61-65], а також за рахунок здатності метадоксину підтримувати нормальне співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup>, що забезпечує окислення етанолу до ацетату, який активується включенням

до структури ацетил-КоА з подальшою участю у біосинтезі холестерину. Статистично вірогідне підвищення на 37 % рівня загального холестерину у сироватці крові тварин, які отримували метадоксин, порівняно до контролю, пов'язано із встановленням на тлі дії етанолу підвищеної концентрації ендогенних тригліцеридів, які у складі ліпопротеїнів дуже низької щільності транспортують холестерин із печінки до системного кровотоку ( $p < 0,05$ ).

Враховуючи те, що профілактичне введення метадоксину попереджує розвиток гіпохолестеринемії, зміни активності  $\gamma$ -глутамілтранспептидази, рівня церулоплазміну та зменшує вираженість змін рівнів білірубіну та тригліцеридів у сироватці крові тварин, можна припустити, що у тварин, які отримували метадоксин, за біохімічними показниками вираженість синдрому внутрішньопечінкового холестази є меншою порівняно до тварин контрольної патології. Таким чином, отримані дані демонструють здатність метадоксину впливати на певні ланки патогенезу алкогольного ураження печінки з синдромом внутрішньопечінкового холестази при його профілактичному введенні.

Рівень загального білка у крові тварин, яким вводили метадоксин, статистично вірогідно перевищує на 5,5 % даний показник у групі контролю, у той час як рівень загального білка у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю на 8 % ( $p < 0,05$ ) [175]. Таким чином, у тварин дослідної групи при профілактичному введенні метадоксину відмічається підвищення рівня загального білка у сироватці крові порівняно до контролю, але у меншому ступені, ніж у тварин контрольної патології. Як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин, підвищений рівень загального білка забезпечується вкладом у цей показник білкових маркерів цитолізу та холестази, які вийшли у кров ( $p < 0,05$ ). З огляду на це можна заключити, що цей показник не є індикатором білковосинтетичної функції печінки у відтвореній моделі алкогольного ураження печінки.

З огляду на відсутність статистично вірогідного патологічного впливу етанолу на рівень альбуміну у сироватці крові тварин, оцінити профілактичний

вплив метадоксину на даний показник білковосинтетичної функції печінки виявилось неможливим ( $p < 0,05$ ) [175].

Враховуючи відсутність порушення рівнів сечовини та креатиніну у сироватці крові тварин, які отримували метадоксин, можна припустити, що у цієї групи тварин вираженість порушення білковосинтетичної функції печінки є значно меншою порівняно до тварин контрольної патології. Таким чином, отримані дані демонструють здатність метадоксину впливати на певні ланки патогенезу алкогольного ураження печінки із порушенням білковосинтетичної функції при його профілактичному введенні.

Концентрація глюкози у крові тварин, яким вводили метадоксин, є статистично вірогідно нижчою на 63,8 % за даний показник у групі контролю ( $p < 0,05$ ), даний показник у групі контрольної патології порівняно до групи контролю становить 63,4 % ( $p < 0,05$ ) [175]. Отже, згідно отриманих результатів профілактичне введення метадоксину не запобігає етанол-індукованому порушенню процесів синтезу глюкози у печінці. Ймовірно, тривалості експозиції метадоксину, яка склала 7 днів, було недостатньо для попередження за рахунок нормалізації співвідношення НАДН/НАД<sup>+</sup> етаноліндукованого порушення процесів гліюконеогенезу через збільшення співвідношення лактат/піруват.

Отримані результати показали, що метадоксин (90 мг/кг, в/ш), введений щурам за 30 хв до введення етанолу (6 г/кг, в/ш) протягом 7 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестази, а також показників синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази, зниження активності каталази, підвищення рівня церулоплазміну, зниження рівнів сечовини, креатиніну, запобігає розвитку гіпохолестеринемії; статистично невірогідно зменшує вираженість порушень рівнів загального білірубіну, тригліцеридів, але не запобігає порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня глюкози [165,175]. Рівень загального білка у відтвореній моделі алкогольного ураження

печінки не є індикатором білковосинтетичної функції печінки. Введення етанолу щурам не привело до статистично вірогідних відхилень у значеннях активності лужної фосфатази та вмісту альбуміну порівняно до групи контролю, як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин. Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на активність лужної фосфатази, рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника алкогольного генезу виявилось неможливим.

Отримані результати свідчать, що профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника ураження печінки алкогольного генезу повністю не запобігає розвитку синдрому цитолізу, внутрішньопечінкового холестазу та порушенню синтетичної функції печінки, але значно зменшує вираженість біохімічних порушень у печінці завдяки антиалкогольній, дезінтоксикаційній, антиоксидантній, енергетичній, мембраностабілізуючій, антихолестатичній, антистеатозній та протизапальній дії.

Для дослідження впливу метадоксину при його профілактичному введенні на біохімічні показники цитолізу, холестазу та білковосинтетичної функції печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника токсичного ураження печінки неалкогольного генезу відтворювали експериментальну модель гострого токсичного ураження печінки шляхом повторного введення 50 %-ного олійного розчину тетрахлорметану у дозі 0,4 мл/100 г підшкірно щурам протягом 4 днів [118-120]. Метадоксин вводили у профілактичному режимі у дозі 90 мг/кг, в/ш, за 30 хв до введення етанолу.

Ферментативно-колориметричні методи застосовували для визначення активності аспартатамінотрансферази, аланінамінотрансферази [131,132],  $\gamma$ -глутамілтранспептідази [132-134], лужної фосфатази [132,136], загального холестерину [141,142]; прямими колориметричними методами визначали рівень загального білка [132,144] та альбуміну [132,145].

Метадоксин при профілактичному введенні на тлі дії чинника токсичного ураження печінки алкогольного генезу попереджує або зменшує вираженість



патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестази, а також показників синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів.

У групі тварин з тетрахлорметановим ураженням печінки відмічається статистично вірогідне підвищення активності аспартатамінотрансферази на 20 %,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази на 48,5 % та лужної фосфатази на 21 %, в той час як у групі тварин, яким вводили метадоксин, значення досліджуваних показників утримуються на рівні значень цих показників у контрольній групі тварин ( $p < 0,05$ ).

Рівень активності аланінамінотрансферази у групі контрольної патології перевищує в 4,2 раза даний показник у групі контролю, в той час як активність аланінамінотрансферази у групі тварин, які отримували метадоксин, перевищує даний показник у контрольній групі в 3,9 раза ( $p < 0,05$ ). Отже, профілактичне введення метадоксину не попереджує порушення активності аланінамінотрансферази, але зменшує вираженість даного біохімічного порушення статистично вірогідно порівняно до групи контрольної патології та статистично невірогідно порівняно до групи контролю ( $p < 0,05$ ).

Беручи до уваги відсутність порушення активності аспартатамінотрансферази та  $\gamma$ -глутамілтранспептидази, а також статистично вірогідне зниження активності аланінамінотрансферази порівняно до групи контрольної патології, у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, можна припустити, що у цієї групи тварин за біохімічними показниками вираженість синдрому цитолізу є значно меншою порівняно до тварин контрольної патології. Таким чином, отримані дані демонструють здатність метадоксину впливати на певні ланки патогенезу токсичного ураження печінки неалкогольного генезу із синдромом цитолізу при його профілактичному введенні. Отримані результати можна пояснити антиоксидантною, енергетичною, мембраностабілізуючою дією метадоксину при його профілактичному введенні [56,57].

Рівень загального холестерину у тварин, які отримували тетрахлорметан, перевищує контрольне значення на 65 %, проте рівень загального холестерину у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, є вищим за даний показник

у групі контролю на 49 % ( $p < 0,05$ ). Отже, профілактичне введення метадоксину не попереджує розвиток гіперхолестеринемії, але зменшує вираженість даного біохімічного порушення статистично вірогідно порівняно до групи контрольної патології та статистично невірогідно порівняно до групи контролю ( $p < 0,05$ ).

З огляду на те, що у тварин, яким вводили метадоксин, статистично вірогідної різниці у рівнях активності  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази порівняно до даних показників у групі контролю не було, а також з урахуванням статистично вірогідного зниження рівня загального холестерину порівняно до групи контрольної патології, можна зробити висновок, що профілактичне введення метадоксину на тлі дії тетрахлорметану не спроможне повністю запобігти розвитку токсичного ураження печінки з синдромом холестази, проте введення метадоксину значно зменшує вираженість даного патологічного процесу, ймовірно, завдяки антихолестатичній, дезінтоксикаційній, антиоксидантній, мембраностабілізуючій та енергетичній дії [52,56,57].

Рівень загального білка у крові тварин, яким вводили метадоксин, статистично вірогідно перевищує на 23 % даний показник у групі контролю, у той час як рівень загального білка у групі контрольної патології перевищує даний показник у групі контролю на 29 % ( $p < 0,05$ ). Таким чином, у тварин дослідної групи при профілактичному введенні метадоксину відмічається підвищення рівня загального білка у сироватці крові порівняно до контролю, але у меншому ступені, ніж у тварин контрольної патології. Як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин, підвищений рівень загального білка забезпечується вкладом у цей показник білкових маркерів цитолізу та холестази, які вийшли у кров ( $p < 0,05$ ). З огляду на це можна заключити, що цей показник не є індикатором білковосинтетичної функції печінки у відтвореній моделі токсичного ураження печінки неалкогольного генезу.

З огляду на відсутність статистично вірогідного патологічного впливу тетрахлорметану на рівень альбуміну у сироватці крові тварин, оцінити

профілактичний вплив метадоксину на даний показник білковосинтетичної функції печінки виявилось неможливим ( $p < 0,05$ ).

Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на білковосинтетичну функцію печінки у сироватці крові щурів на тлі дії чинника неалкогольного генезу виявилось неможливим.

Отримані результати показали, що метадоксин (90 мг/кг, в/ш), введений щурам за 30 хв до введення тетрахлорметану (0,4 мл/100 г, п/ш) протягом 4 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестазу у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази,  $\gamma$ -глутамілтранспептидази та лужної фосфатази, запобігає значному порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня загального холестерину. Рівень загального білка у відтвореній моделі неалкогольного ураження печінки не є індикатором білок-синтетичної функції печінки. Введення тетрахлорметану щурам не привело до статистично вірогідної зміни рівня альбуміну порівняно до групи контролю, як у групі контрольної патології, так і у групі тварин, які отримували метадоксин. Отже, оцінити профілактичний вплив метадоксину на рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника неалкогольного генезу виявилось неможливим.

Отримані дані свідчать, що профілактичне введення метадоксину на тлі дії гепатотоксичного чинника неалкогольного генезу повністю не запобігає розвитку цитолізу та внутрішньопечінкового холестазу, але значно зменшує вираженість біохімічних порушень у печінці завдяки антиоксидантній, енергетичній, мембраностабілізуючій, холестатичній та дезінтоксикаційній дії метадоксину.

Терапевтична ефективність будь-якого лікарського засобу системної дії багато в чому пов'язана з його надходженням до системного кровотоку. Як відомо, для оральних твердих дозованих лікарських форм надходження в кров певної кількості діючої речовини за фіксований інтервал часу визначається наступними етапами: кінетика вивільнення діючої речовини

з лікарської форми, розчинення або сольобілізація діючої речовини в умовах шлунково-кишкового тракту і всмоктування.

На підставі оцінки можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів метадоксину (пірролідон карбоксилату та піридоксину) у фізіологічному діапазоні рН та кінетики розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, було розроблено та обґрунтовано режим профілактичного введення таблеток метадоксину.

Оцінку можливих іонізованих/неіонізованих форм пірролідон карбоксилату та піридоксину у фізіологічному діапазоні рН і типів взаємодії між ними було проведено за допомогою комп'ютерної програми ACD/pK<sub>a</sub>DB та УФ-спектрофотометричного методу [151]. Згідно отриманим розрахунковим даним при фізіологічному рН від ~ 4,4 до ~ 8 більша частина пірролідонкарбонової кислоти існує в іонізованій формі (у формі аніону) (рK<sub>a</sub> = 3,47 ± 0,2), що значно покращує її розчинність у водному середовищі, але наявність у пірролідонкарбонової кислоти однієї групи, здатної до акцепції протону (карбоксилат-аніон), передбачає присутність у гідрофільному середовищі також і неіонізованої форми, здатної дифундувати крізь клітинні мембрани. В умовах фізіологічного рН від ~ 4,4 до ~ 8 більша частина піридоксину існує в іонізованій формі (у формі катіону) (рK<sub>a</sub> = 5,06 ± 0,28), що значно покращує його розчинність у біологічних рідинах. Аналіз спектрів поглинання в УФ-області зразків метадоксину у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, показав, що у кислому середовищі (рН 1,2) пірролідонкарбонова кислота існує переважно у формі аніону (рK<sub>a</sub> = 3,47 ± 0,2), підвищення рН середовища до значення 4,5 призводить до зменшення концентрації пірролідон карбоксилату, у цьому середовищі відбувається зміна у співвідношенні іонізованих форм пірролідонкарбонової кислоти та піридоксину

( $pK_a = 5,06 \pm 0,28$ ), при ще більш високому значенні рН (рН 6,8) через депротонування гетероатому ароматичної системи пірролідонкарбонова кислота присутня у формі аніону.

Атом азота гетерокільця піридоксину та карбоксильна група пірролідонкарбонової кислоти забезпечують кислотно-лужну взаємодію між компонентами метадоксину. Крім кислотно-лужної взаємодії пірролідон карбоксилат та піридоксин здатні до інших типів хімічних взаємодій, а саме до реакцій естерифікації за участю протонowanego гідроксилу піридоксину, реакцій окислення спиртової аліфатичної групи піридоксину, реакцій окислення за участю фенольного гідроксилу піридоксину, реакцій гідролізу за участю пірролідонкарбонової кислоти. Значущим в умовах *in vivo* є окислення спиртової аліфатичної групи піридоксину до альдегідної групи з утворенням піридоксалу, який обумовлює фармакологічні ефекти піридоксину. У фізіологічних умовах шляхом гідратації пірролідонкарбонової кислоти за участю 5-оксопролінази утворюється глютамінова кислота – активний метаболіт, який реалізує фармакологічні ефекти пірролідон карбоксилату.

Отримані дані характеризують молекулу метадоксину у фізіологічному діапазоні рН як динамічну систему іонізованих та неіонізованих форм пірролідон карбоксилату та піридоксину, в якій можлива кислотно-лужна взаємодія та інші типи взаємодій, що визначають біотрансформацію пірролідон карбоксилату та піридоксину у їх фармакологічно активні метаболіти – глютамінову кислоту та піридоксаль відповідно. Саме баланс іонізованих/неіонізованих форм пірролідон карбоксилату та піридоксину визначає такі фармакологічні параметри метадоксину, як всмоктування, біопроникаємість, метаболізм, розподіл речовин між органами та тканинами, здатність перетинати біологічні бар'єри та взаємодіяти з відповідними біомішенями, та забезпечує високу фармакологічну активність пірролідон карбоксилату та піридоксину при їх спільному введенні у складі молекули метадоксину порівняно до окремого введення компонентів [188].

Аналіз спектрів поглинання розчину метадоксину в УФ-області виявив характерні максимуми поглинання при довжині хвилі  $291 \pm 2$  нм в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти (рН 1,2) та в ацетатному буферному розчині (рН 4,5), а також при довжині хвилі 330 нм в 0,05 М фосфатному буферному розчині (рН 6,8). Так, характерний максимум поглинання при довжині хвилі  $291 \pm 2$  нм в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти (рН 1,2) може відповідати  $n \rightarrow \pi^*$  переходу електронів карбонілу (C=O) пірролідонкарбонової кислоти ( $pK_a = 3,47 \pm 0,2$ ). Підвищення рН середовища до рН 4,5 призводить до зміщення цієї смуги поглинання в низькоенергетичну область і зменшення її інтенсивності за рахунок зменшення концентрації іонізованої форми пірролідонкарбонової кислоти. Зміна співвідношення іонізованих форм пірролідонкарбонової кислоти та піридоксину виявляє іншу смугу поглинання при 290 нм, яка може бути віднесена до  $n \rightarrow \pi^*$  переходів ароматичної системи піридоксину, протонованого за атомом азоту ( $pK_a = 5,06 \pm 0,28$ ). При рН 6,8 відбувається гіпсохромний зсув спектра за рахунок депротонування гетероатому ароматичної системи, пірролідонкарбонова кислота присутня у формі аніону (смуга поглинання при 330 нм). «Плацебо» (допоміжні речовини) при даних значеннях довжини хвилі не заважає спектрофотометричному визначенню метадоксину, що вказує на специфічність пропонованого методу визначення вмісту метадоксину у відтворюваному препараті.

Оцінку кінетики розчинення *in vitro* генеричного лікарського засобу «Алкодез<sup>®</sup> ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна, та оригінального препарату «Метадоксил», таблетки по 0,5 г, виробництва «Laboratori Baldacci SpA», Італія, у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, проводили за методичними рекомендаціями щодо дослідження кінетики розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії [152]. В тесті «Розчинення» кількість метадоксину, яка перейшла в розчин з таблетки в кожній часовій точці пробовідбору, визначали

спектрофотометрично методом стандарту.

Встановлено, що у буферних розчинах із значеннями рН 1,2, 4,5 та 6,8, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, із твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії протягом 35–60 хв вивільняється 54–79 % від вказаної у маркуванні кількості метадоксину [191,192]. Отже, з метою профілактики розвитку патологічних станів доцільним є введення метадоксину у вигляді твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії за 30–60 хв до введення чинників гострої алкогольної інтоксикації та токсичних уражень печінки.

## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено вирішення актуального завдання фармакології, яке полягає у теоретичному та експериментальному обґрунтуванні доцільності розширення сфер медичного застосування метадоксину, а саме застосування метадоксину як дезінтоксикаційного та гепатопротекторного засобу для попередження розвитку гострої алкогольної інтоксикації та уражень печінки алкогольної й неалкогольної етіології.

1. Метадоксин (200 мг/кг), введений внутрішньоочеревинно мишам та щурам за 1 год до внутрішньошлункового застосування етанолу (миші – 1 г/кг, щури – 6 г/кг), зменшує вираженість його нейротоксичної дії. Введення метадоксину прискорює відновлення до вихідного рівня зниженої спонтанної рухової активності у щурів (у тварин групи контрольної патології через 24 год після введення етанолу значення показників «кількість пересічень секторів поля» та «кількість вертикальних стійок» є нижчими на 42 та 53 % відповідно порівняно до вихідних значень даних показників,  $p < 0,05$ ). Застосування метадоксину знижує частоту розвитку етаноліндукованої міорелаксації та потягу до блювання у мишей в 5 разів та 3 рази відповідно,  $p < 0,05$ . Введення метадоксину попереджує порушення формування умовних реакцій, що забезпечують процеси навчання у щурів (у тварин контрольної патології тривалість латентного періоду після навчання є довшою в 1,6 раз порівняно до латентного періоду до навчання, в той час як у тварин дослідної групи на тлі дії метадоксину тривалість латентного періоду після навчання перевищує в 3,5 рази тривалість латентного періоду до навчання,  $p < 0,05$ ). Метадоксин не чинить впливу на показник емоційного реагування «кількість актів дефекацій та уринацій» у щурів через 1 год після введення етанолу та на фізичну працездатність у щурів.

2. Метадоксин (200 мг/кг), введений внутрішньоочеревинно щурам за 30 хв до внутрішньошлункового застосування  $^{14}\text{C}$ -етанолу (3,5 г/кг), прискорює ренальне виведення із організму щурів незміненого етанолу та його



метаболітів (через 30 год після введення етанолу сумарна відносна кількість виведеного незміненого етанолу та його метаболітів у тварин, яким попередньо вводили метадоксин, перевищує в 1,4 раза даний показник у тварин групи контрольної патології,  $p < 0,05$ ) та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату (через 12 год після введення етанолу рівень ацетату у сечі тварин, яким вводили метадоксин, є меншим в 3,9 раза порівняно до даного показника у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ).

3. Метадоксин (90 мг/кг), введений внутрішньошлунково щурам за 30 хв до внутрішньошлункового застосування етанолу (6 г/кг) протягом 7 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних маркерів цитолізу та холестазу, а також показників синтетичної функції печінки у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності аспартатамінотрансферази ( $238,13 \pm 2,77$  Од/л,  $p < 0,05$ ),  $\gamma$ -глутамілтранспептидази ( $1,01 \pm 0,14$  Од/л,  $p < 0,05$ ), зниження активності каталази ( $1,83 \pm 0,08$  мкмоль/хв·мг білка,  $p < 0,05$ ), підвищення рівня церулоплазміну ( $457,9 \pm 28,5$  мг/л,  $p < 0,05$ ), зниження рівнів сечовини ( $4,18 \pm 0,47$  ммоль/л,  $p < 0,05$ ), креатиніну ( $36,22 \pm 2,64$  мкмоль/л,  $p < 0,05$ ), запобігає розвитку гіпохолестеринемії ( $2,20 \pm 0,19$  ммоль/л проти  $0,92 \pm 0,12$  ммоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ); статистично невірогідно зменшує вираженість порушень рівнів загального білірубіну ( $2,78 \pm 0,60$  мкмоль/л проти  $3,72 \pm 0,75$  мкмоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ), тригліцеридів ( $3,00 \pm 0,49$  ммоль/л проти  $3,94 \pm 0,66$  ммоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ), але не запобігає порушенню активності аланінамінотрансферази та рівня глюкози.

4. Метадоксин (90 мг/кг), введений внутрішньошлунково щурам за 30 хв до підшкірного введення тетрахлорметану (0,4 мл/100 г) протягом 4 днів, попереджує або зменшує вираженість патологічних змін біохімічних показників цитолізу та холестазу у сироватці крові щурів, а саме: статистично вірогідно попереджує підвищення активності

аспартатамінотрансферази ( $180,76 \pm 7,10$  Од/л,  $p < 0,05$ ),  $\gamma$ -глутамілтранспептидази ( $7,62 \pm 0,43$  Од/л,  $p < 0,05$ ) та лужної фосфатази ( $208,08 \pm 5,21$  Од/л,  $p < 0,05$ ), запобігає значному порушенню активності аланінамінотрансферази ( $201,94 \pm 2,60$  Од/л проти  $215,14 \pm 4,91$  Од/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ) та рівня загального холестерину ( $2,20 \pm 0,07$  ммоль/л проти  $2,44 \pm 0,08$  ммоль/л у групі контрольної патології,  $p < 0,05$ ). Оцінити профілактичний вплив метадоксину на рівні загального білка та альбуміну у сироватці крові щурів на тлі дії чинника неалкогольного генезу виявилось неможливим.

5. З метою профілактики розвитку патологічних станів доцільним є введення метадоксину у вигляді твердих дозованих пероральних лікарських форм негайного вивільнення системної дії за 30–60 хв до введення чинників гострої алкогольної інтоксикації та токсичних уражень печінки, оскільки із таблеток метадоксину у розчинах із значеннями рН 1,2, 4,5 та 6,8, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту, протягом 35–60 хв вивільняється 54–79 % від вказаної у маркуванні кількості метадоксину, який у фізіологічному діапазоні рН існує у вигляді динамічної системи певних іонізованих/неіонізованих форм його компонентів – пірролідон карбоксилату та піридоксину, що визначає його розчинність та біопроникність.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- 1 Ritchie H., Roser M. Alcohol consumption. *Our World in Data*. 2019. URL: <https://ourworldindata.org/alcohol-consumption> (Last accessed: 07.10.2019).
- 2 Treating alcohol-related liver disease from a public health perspective / T. Hydes, W. Gilmore, N. Sheron, I. Gilmore. *Journal of Hepatology*. 2019. Vol. 70, No. 2. P. 223–236.
- 3 Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease / Q. Li, M. Dhyani, J. R. Grajo, C. Sirlin, A. E. Samir. *World Journal of Hepatology*. 2018. Vol. 10, No. 8. P. 530–542.
- 4 Копытов А. В. Фармакотерапия алкогольной зависимости с учетом клинико-генетических особенностей серотониновой нейромедиаторной системы. *Медицинский журнал*. 2015. № 4. С. 70–76.
- 5 Pharmacotherapy for alcohol use disorder in the context of liver disease / T. M. Stoklosa, K. C. Morley, A. Volovets, P. S. Haber. *Current Addiction Reports*. 2018. 5. P. 287–296.
- 6 Профиль безопасности фармакотерапии у пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени / Е. И. Пересада, П. В. Селиверстов, Т. В. Вавилова, В. А. Башарин, В. Г. Радченко. *Медицинский совет*. 2019. № 3. 69–75.
- 7 Редькин Р. Г., Николенко Е. Я. Гепатопротекторы: современные аспекты фармакологии. *Новости медицины и фармации*. № 7(538). 2015. С. 8–11.
- 8 Лелевич С. В. Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации : монография. Гродно: ГрГМУ, 2015. 252 с.
- 9 Пиголкин Ю. И., Морозов Ю. Е. Нейрогистохимические исследования ферментов в судебной медицине. *Тихоокеанский медицинский журнал*. № 2. 2012. С. 89–93.
- 10 Полянская О. В. Влияние алкоголя на нервную ткань. *Вопросы медицинской химии*. 1998. № 7. С. 27–29.

11 Новые возможности лечения алкогольной болезни. Перспективы применения Цереброкурина® / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов, Е. П. Соколик, Н. В. Бухтиярова. *Международный неврологический журнал*. 2009. №1(23). С. 21–34.

12 Борисюк И. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Профилактика детского алкоголизма как шаг к формированию здорового образа жизни. *Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу життя*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 березня 2015 р. Львів, 2015. С. 82–84.

13 Лелевич А. В., Лелевич С. В. Нарушения метаболизма при введении этанола в организм: монография. Гродно: ГрГМУ, 2017. 132 с.

14 Zimatkin S., Liopo A., Deitrich R. Distribution and kinetics of ethanol metabolism in rat brain. *Alcoholism, Clinical and Experimental research*. 1998. Vol. 22, No. 8. P. 1623–1627.

15 Белякин С. А. Алкогольная болезнь печени: автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.05/ГИУВ МО РФ. М., 2009. 47 с.

16 Лопаткина Т. Н. Алкогольная болезнь печени. М.: Форте-принт, 2012. 44 с.

17 Буеверов А. О. Многоликий стеатогепатит. *Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии*. 2012. № 3. С. 3–9.

18 Звягинцева Т. Д., Чернобай А. И. Хронические заболевания печени: руководство для врачей. 2-е изд. Харьков, 2014. 236 с.

19 Гриневич В. Б., Сас Е. И. Неалкогольная жировая болезнь печени: клиничко-соціальні аспекти проблеми. *Російські медичні весті*. 2010. Т. 15, № 1. С. 54–62.

20 Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации / В. Т. Ивашкин, М. В. Маевская, Ч. С. Павлов, И. Н. Тихонов, Е. Н. Широкова, А. О. Буеверов,

О. М. Драпкина, Ю. О. Шульпекова, В. В. Цуканов, С. Н. Маммаев, И. В. Маев, Л. К. Пальгова. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2016. Т. 26, № 2. С. 24–42.

21 Махов В. М. Алкогольная болезнь печени и неалкогольная жировая болезнь печени – общность и различия. *Лечащий врач*. 2012. №7. С. 7–13.

22 Гастроэнтерология. Национальное руководство: краткое издание / под ред. В. Т. Ивашкина, Т. Л. Лапиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 480 с.

23 Tilg H., Diehl A. M. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *The New England Journal of Medicine*. 2000. Vol. 343, No. 20. P. 1467–1476.

24 Dey. A., Cederbaum A. I. Alcohol and oxidative liver injury. *Hepatology*. 2006. Vol. 43, No. 2, Suppl 1. P. 556–574.

25 Solga S. F., Diehl A. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role for probiotics. *Journal of Hepatology*. 2003. Vol. 38, No. 5. P. 681–687.

26 Increased circulating products of lipid peroxidation in patients with alcoholic liver disease / S. I. Aleynir, M. A. Leo, M. K. Aleynik, C. S. Lieber. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 1998. Vol. 22, No. 1. P. 192–196.

27 Буеверов А. О., Богомолов П. О., Маевская М. В. Патогенетическое лечение неалкогольного стеатогепатита: обоснование, эффективность, безопасность. *Терапевтический архив*. 2007. № 8. С. 88–92.

28 Медикаментозная терапия зависимостей от ПАВ: Лучшие практики диагностики, лечения и реабилитации зависимости от психоактивных веществ / ред. С. А. Алтынбекова. Павлодар, 2004. Т. 1. 331 с.

29 Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Проблеми вибору ліків при алкогольній залежності. *Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Київ, 6–7 березня 2015 р. К., 2015. С. 24–26.

30 Кучерявый Ю. А., Морозов С. В. Гепатопротекторы: рациональные аспекты применения: учеб. пособие для врачей. М.: Форте Принт, 2012. 36 с.

31 Новиков В. Е., Климкина Е. И. Фармакология гепатопротекторов. *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2005. Т. 4, № 1. С. 2–20.

32 Природные антиоксиданты – как гепатопротекторы / Н. Д. Бунятян, О. А. Герасимова, Т. С. Сахарова, Л. В. Яковлева. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1999. Т. 62, № 4. С. 64–67.

33 Шульпекова Ю. О. Флавоноиды расторопши пятнистой в лечении заболеваний печени. *Русский медицинский журнал*. 2004. Т. 12, № 5. С. 248–250.

34 Гундерманн К. Й. Новейшие данные о механизмах действия и клинической эффективности эссенциальных фосфолипидов. *Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии*. 2002. № 2. С. 28–31.

35 Ушкалова Е. А. Место эссенциальных фосфолипидов в современной медицине. *Фарматека*. 2003. № 10. С. 40–47.

36 Горбаков В. В., Галик В. П., Кириллов С. М. Опыт применения гептрала в лечении диффузных заболеваний печени. *Терапевтический архив*. 1998. Т. 70, № 10. С. 82–86.

37 Гептрал – новое средство лечения диффузных заболеваний печени / В. В. Горбаков, А. В. Калинин, В. П. Галик, А. В. Каршиева. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 1998. Т. 8, № 4. С. 98–102.

38 Яковенко Э. П., Григорьев П. Я. Гептрал в лечении внутрипеченочного холестаза. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2002. Т. 12, № 1. С. 84–87.

39 Рейзис А. Р., Нурмухаметова Е. А. Возможности и перспективы применения гептрала при лечении поражений печени у детей

с онкогематологическими заболеваниями. *Терапевтический архив*. 1998. Т. 70, № 10. С. 48–51.

40 Подымова С. Д., Надинская М. Ю. Оценка эффективности препарата гептрал у больных с хроническими диффузными заболеваниями печени с синдромом внутрипеченочного холестаза. *Клиническая медицина*. 1998. Т. 76, № 10. С. 45–48.

41 Буеверов А. О. Место гепатопротекторов в лечении заболеваний печени. *Болезни органов пищеварения*. 2001. № 1. С. 16–18.

42 Использование препарата «Урсосан» в лечении больных с гипомоторной дисфункцией желчного пузыря / В. Т. Ивашкин, С. А. Иноземцев, В. И. Педь, И. И. Жирков, В. Л. Кузьмичев, О. В. Паринов. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2004. Т. 14, № 1. С. 41–46.

43 Combs G. F., Combs S. B. The role of selenium in nutrition. Orlando: Academic Press: 1986, 532 p.

44 Ушкалова Е. А. Проблемы применения гепатопротекторов. *Фарматека*. 2004. № 4. С. 45–55.

45 Воронов Т. Г., Лукиенко П. И. Стабилизирующее действие  $\alpha$ -токоферола при постишемическом повреждении гидроксилирующей системы мембран эндоплазматического ретикулума печени крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1983. Т. 95, № 4. С. 33–34.

46 Скакун Н. П., Шманько В. В., Охримович Л. М. Клиническая фармакология гепатопротекторов: монография. Тернополь: Збруч, 1995. 272 с.

47 Хворостинка В. Н., Моисеенко Т. А. Антиоксиданты в экспериментальной и клинической гепатологии. *Врачебное дело*. 1991. № 7. С. 17–21.

48 Метаболические заболевания печени: проблемы терапии / Э. П. Яковенко, П. Я. Григорьев, Н. А. Агафонова, А. В. Яковенко,

А. С. Прянишникова, Б. И. Обуховский, Л. А. Гусейнова, С. В. Мардарьева, М. А. Рафаэлова. *Фарматека*. 2003. № 10. С. 47–52.

49 Effects of pyridoxine-pyrrolidone-carboxylate on hepatic and cerebral ATP levels in ethanol treated rats / R. Felicioli, I. Saracchi, A. M. Flagiello, C. Bartoli. *International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology*. 1980. Vol. 18, No. 6. P. 277–280.

50 Metadoxine in the treatment of acute and chronic alcoholism: a review / G. Addolorato, C. Ancona, E. Capristo, G. Gasbarrini. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2003. Vol. 16, No. 3. P. 207–214.

51 Wilk S., Orłowski M. The occurrence of free L-pyrrolidone carboxylic in body fluids and tissues. *FEBS letters*. 1973. Vol. 33, No. 22. P. 157–160.

52 Shull K. H., Kisilevsky R. Effects of L-2-Pyrrolidone-5-carboxylate on hepatic adenosine triphosphate levels in the ethionine treated rat. *Biochemical Pharmacology*. 1971. Vol. 20, No. 10. P. 2781–2785.

53 Pyroglutamic acid administration modifies the electrocorticogram and increases the release of acetylcholine and GABA from the guinea-pig cerebral cortex / T. Antonelli, V. Carla, L. Lambertini, F. Moroni, C. Bianchi. *Pharmacological Research Communications*. 1984. Vol. 16, No. 2. P. 189–197.

54 Effect of metadoxine on striatal dopamine levels in C57 black mice / F. Fornai, Alessandri M. Grazia, U. Bonuccelli, V. Scalori, G. U. Corsini. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1993. Vol. 45, No. 5. P. 476–478.

55 Lumenhs L. The role of acetaldehyde in mediating the deleterious effect of ethanol on pyridoxal's-5-phosphate metabolism. *The Journal of Clinical Investigation*. 1978. Vol. 62, No. 2. P. 286–293.

56 Piulats E. Pyridoxine as a protector against oxidative stress. *European Journal of Biochemistry*. 2001. Vol. 268, S1. P. 139–143.

57 The beneficial effect of metadoxine (pyridoxine-pyrrolidone-carboxylate) in the treatment of fatty liver diseases / J. Feher, L. Vali, A. Blazovics, G. Lengyel. *Clinical and Experimental Medical Journal*. 2009. Vol. 3, No. 1. P. 65–79.



58 Горчакова Н. А. Эффективность комбинированных препаратов, содержащих магний и пиридоксин, в экспериментальных и клинических условиях. *Therapia. Український медичний вісник*. 2007. № 6. С. 58–62.

59 Важнича О. М. Антистрессорна дія піридоксину як прояв його фармакодинамічної активності. *Сучасні аспекти нейрофармакології*. 2012. Т. 6, № 31. С. 3–7.

60 Vitamin B6 (Pyridoxine; Pyridoxal 5'-Phosphate): monograph [No authors listed] *Alternative Medicine Review*. 2001. Vol. 6, No. 1. P. 87–92.

61 Calabrese V., de Bernardis E., Rizza V. Metadoxine in the control of oxidative stress caused by acute and chronic ethanol poisoning [Article in Italian]. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*. 1986. Vol. 62, No. 11. P. 1357–1363.

62 Monitoring oxidative damage in patients with liver cirrhosis and different daily alcohol intake / P. Clot, M. Tabone, S. Arico, E. Albano. *Gut*. 1994. Vol. 35, No. 11. P. 1637–1643.

63 Effects of metadoxine on cellular status of glutathione and of enzymatic defence system following acute ethanol intoxication in rats / V. Calabrese, A. Calderone, N. Ragusa, V. Rizza. *Drugs Under Experimental and Clinical Research*. 1996. Vol. 22, No. 1. P. 17–24.

64 Effects of metadoxine on cellular free fatty acid levels in ethanol treated rats / V. Calabrese, G. Bombaci, A. Calderone, V. Rizza. *International Journal of Tissue Reactions*. 1993. Vol. 15, No. 6. P. 235–243.

65 Effects of metadoxine on cellular formation of fatty acid ethyl esters in ethanol treated rats / V. Calabrese, A. Calderone, N. Ragusa, V. Rizza. *International Journal of Tissue Reactions*. 1995. Vol. 17, No. 3. P. 101–108.

66 Action of metadoxine on isolated human and rat alcohol and aldehyde dehydrogenases. Effect on enzymes in chronic ethanol fed rats / X. Parés, A. Moreno, J. M. Peralba, M. Font, L. Bruseghini, A. Esteras. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. 1991. Vol. 13, No. 1. P. 37–42.

67 Мехтиев С. Н., Кравчук Ю. А., Карпов С. В., Широких А. В. Патогенез и подходы к терапии при остром алкогольном гепатите. *Человек и алкоголь (алкогольные болезни)*: материалы 3-го междисциплинарного российского конгресса, г. Санкт-Петербург, 23–24 апреля 2009 г. г. Санкт-Петербург, 2009. – С. 12–22.

68 Calabrese V., Ragusa N., Rizza V. Effects of pyrrolidone carboxylate (PCA) and pyridoxine on liver metabolism during ethanol intake in rats. *International Journal of Tissue Reactions*. 1995. Vol. 17, No. 1. P. 15–20.

69 La metadoxina modula le cinetiche di assorbimento, metabolismo ed eliminazione dell'etanolo / V. Calabrese, S. Carlino, V. Chinnici, E. De Bernardis, V. Rizza. *Revista Italiana di Alcolologia*. 1986. No. 5. P. 44–49.

70 Effects of pyridoxine on hepatic tryptophan pyrrolase activity in rat during chronic ethanol administration / N. Ragusa, D. Zito, A. Vanella, C. Bondi, V. Rizza. *Biochemistry and Experimental Biology*. 1980. Vol. 16, No. 4. P. 391–396.

71 Metadoxine prevents damage produced by ethanol and acetaldehyde in hepatocyte and hepatic stellate cells in culture / M. C. Gutierrez-Ruiz, L. Bucio, A. Correa, V. Souza, E. Hernández, L. E. Gómez-Quiroz, D. Kershenovich. *Pharmacological Research*. 2001. Vol. 44, No. 5. P. 431–436.

72 Changes in expression of the albumin, fibronectin and type I procollagen genes in CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis: effect of pyridoxol L, 2-pyrrolidone-5 carboxylate / B. Arosio, D. Santambrogio, N. Gagliano, G. Annoni. *Pharmacology and Toxicology*. 1993. Vol. 73, No. 6. P. 301–304.

73 Муриэль П., Дехеза Р. Фиброз и истощение запасов гликогена, вызываемое длительной желчной закупоркой: улучшение состояния при приеме метадоксина. *Печень*. 2003. № 23. С. 262–268.

74 Pyridoxol 1, 2-pyrrolidone-5 carboxylate prevents active fibroplasia in CCl<sub>4</sub>-treated rats / G. Annoni, L. Contu, M. A. Tronci, A. Caputo, B. Arosio. *Pharmacological Research*. 1992. Vol. 25, No. 1. P. 87–93.

75 Metadoxine an ion-pair of pyridoxine and L-2-pyrrolidone-5-carboxylate, blocks adipocyte differentiation in association with inhibition of the PKA-CREB pathway / Y. M. Yang, H. E. Kim, S. H. Ki, S. G. Kim. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2009. Vol. 488, No. 2. P. 91–99.

76 Pyrrolidone-carboxylic acid in acute and chronic alcoholism. Preclinical and clinical studies / D. E. Pellegrini-Giampietro, F. Moroni, A. Pistelli, B. Palmerani, A. M. Zorn, S. Paruzzi, L. Caramelli, P. Botti, T. Valenza, M. Antonini. *Recenti Progressi in Medicina*. 1989. Vol. 80, No. 3 P.160–164.

77 A new endogenous anxiolytic agent: L-pyroglutamic acid / M. Beni, D. E. Pellegrini-Gimpietro, F. Moroni. *Fundamental and Clinical Pharmacology*. 1988. Vol. 2, No. 2. P. 77–82.

78 Metadoxine (Pyrrolidone carboxylate of pyridoxine) antagonizes the locomotor-stimulatory effect of ethanol in mice / B. Garau, F. Fadda, F. Melis, E. Gelso, G. L. Gessa. *Alcohol and Alcoholism*. 1992. Vol. 27, No. 5. P. 501–504.

79 Pharmacokinetics of metadoxine for injection in healthy volunteers / Y. Lü, Z. S Kang, Y. Liu, T. Y. Li, Y. H. Xiao. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*. 2006. No. 22. P. 55–58.

80 Pharmacokinetics of metadoxine for injection after repeated doses in healthy volunteers / Y. Lü, Z. S. Kang, Y. Liu, T. Y. Li , Y. H. Xiao. *Chinese Medical Journal*. 2007. Vol. 120, No. 2. P. 166–168.

81 Карпова О. В., Борисюк И. Ю., Головенко Н. Я. Метадоксил (АЛКОДЕЗ® IC): от молекулы к лекарственному средству. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2013. № 2 (24). С. 4–10.

82 Efficacy of metadoxine in the management of acute alcohol intoxication / M. C. Díaz Martínez, A. Díaz Martínez, V. Villamil Salcedo, C. Cruz Fuentes. *The Journal of International Medical Research*. 2002. Vol. 30, No. 1. P. 44–51.

83 Laprevote-Heully M. C., Larcen A. Treatment with metadoxine of acute ethanol intoxications [Article in French]. *Annales médicales de Nancy*. 1981. No. 20. P. 699–701.

84 Use of metadoxine in cases of acute alcohol intoxication / V. Bernik, C. B. Masei, P. D. Katz, M. A. Bernik, E. Maia. *Rassegna Internazionale di Clinica e Terapia*. 1982. No. 62. P. 728–731.

85 Effetto della metadoxina sull'alcolemia a sui livelli ematici di alcuni enzimi dopo ingestione di alcol / C. Di Ilio, G. Del Boccio, A. Arduini, G. Polidoro. *Ter Essenz Clin*. 1982. No. 12. P. 803–807.

86 Metadoxine in alcohol-related pathology [Article in Italian] / S. Santoni, P. Corradini, M. Zocchi, F. Camarri. *La Clinica Terapeutica*. 1989. Vol. 130, No. 2. P. 115–122.

87 Metadoxine in acute alcohol intoxication: a double-blind, randomized, placebo-controlled study alcoholism / L. S. Shpilenya, A. P. Muzychenko, G. A. Gasbarrini, G. Giovanni. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 2002. Vol. 26, No. 3. P. 340–346.

88 Preliminary findings on the use of metadoxine for the treatment of alcohol dependence and alcoholic liver disease / L. Leggio, G. A. Kenna, A. Ferrulli, W. H. Zywiak, F. Caputo, R. M. Swift, G. Addolorato. *Human Psychopharmacology*. 2011. Vol. 26, No. 8. P. 554–559.

89 Therapeutic use of metadoxine in chronic alcoholism. Double blind study of patients in a department of general medicine [Article in Italian] / A. Rizzo, A. Breda, F. Moretto, M. Pace, C. Dotta, E. Gelso, F. Sanzuol, C. Tossani. *La Clinica Terapeutica*. 1993. Vol. 142, No. 3. P. 243–250.

90 A follow up study on the efficacy of metadoxine in the treatment of alcohol dependence / I. Guerrini, C. Gentili, G. Nelli, M. Guazzelli. *Substance Abuse Treatment, Prevention, and Policy*. 2006. Vol. 1, No. 35. P. 35–40.

91 Метадоксил в комплексной терапии больных с алкогольной зависимостью (сравнительное исследование) / Н. Н. Иванец, М. А. Винникова, И. В. Жиров, Т. П. Небаракова, Д. В. Борисов *Вопросы наркологии*. 2005. № 2. С. 10–18.

92 Винникова М. А., Жиров И. В., Ненастьева А. Ю. Алкогольная болезнь печени: вопросы диагностики и лечения. *Уральский медицинский журнал*. 2007. № 5. С. 24–30.

93 Alcoholic abstinence syndrome: short-term treatment with metadoxine / G. Bono, E. Sinfioriani, P. Merlo, G. Belloni, M. Soldati, E. Gelso. *International Journal of Clinical Pharmacology Research*. 1991. Vol. 11, No. 1. P. 35–40.

94 Динамика некоторых психофизиологических параметров в процессе лечения Метадоксилем / М. Г. Чухрова, С. А. Курилович, Т. К. Гаскина, Е. А. Кулагина *Фарматека*. 2006. Т. 135, № 20. С. 86–89.

95 Добровольский А. П., Тактаров В. Г., Цыганков Д. Б. Эффективность лечения абстиненции и раннего постабстинентного состояния у лиц, страдающих героиновой наркоманией. *Российский медицинский журнал*. № 6. 2007. С. 10–14.

96 Метадоксил в комплексной терапии больных с опийным абстинентным синдромом / А. И. Клячин, С. А. Головин, Л. С. Шамов, Д. Б. Цыганков. *Российский медицинский журнал*. 2007. № 6. С. 41–42.

97 Опыт применения препарата Метадоксил у больных алкогольным циррозом печени / О. Н. Минушкин, Л. В. Масловский, А. А. Фролова, О. Ф. Шапошникова. *Русский медицинский журнал*. 2013. № 19. С. 968–973.

98 Ведрова Н. Н., Гнездилова Н. Ю. Опыт применения метадоксила в комплексном лечении алкогольных поражений печени. *Наркология*. 2005. № 4. С. 24–26.

99 Фирсова Л. Д., Федотова Т. Ф. Алкогольная болезнь печени: опыт применения в комплексном лечении препарата метадоксила. *Человек и алкоголь (алкогольные болезни): материалы 3-го междисциплинарного российского конгресса, г. Санкт-Петербург, 23–24 апреля 2009 г. г. Санкт-Петербург, 2009.* – С. 86.

100 Мехтиев С. Н., Кравчук Ю. А. Эффективность метадоксила в терапии больных алкогольным гепатитом. *Новый курс: консолидация усилий по охране*

здоровья нации: материалы I национального конгресса терапевтов, г. Москва, 1–3 ноября 2006 г. М., 2006. С. 140.

101 Capsule metadoxine in the treatment of alcoholic liver disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study [Article in Chinese] / Y. M. Mao, M. D. Zeng, Y. M. Li, B. Y. Wang, J. Shang, R. H. Shi, J. Y. Liu, L. G. Lu, A. P. Cao. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 2009. Vol. 17, No. 3. P. 213–216.

102 Metadoxine accelerates fatty liver recovery in alcoholic patients: results of a randomized double-blind, placebo-control trial. Spanish Group for the Study of Alcoholic Fatty Liver / J. Caballeria, A. Pares, C. Bru, J. Mercader, A. Garcia Plaza, L. Caballeria, G. Clemente, L. Rodrigo, J. Rodes. *Journal of Hepatology*. 1998. Vol. 28, No. 1. P. 54–60.

103 Кудаева Ф. М., Барскова В. Г., Насонов Е. Л. Применение метадоксила у больных подагрой и жировой болезнью печени, ассоциированной с алкоголем и метаболическим синдромом. *Уральский медицинский журнал*. 2008. № 6. С. 23–26.

104 Барскова В. Г. Метаболический синдром и кардиоваскулярные нарушения при подагре: автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.00.39/ГУИР РАМН. М., 2006. 44 с.

105 Козлова И. В., Сущенко М. А. Эффективность метадоксила в лечении патологии гастродуоденальной зоны при алкогольной болезни печени. *Фарматека*. 2010. Т. 209, № 15. С. 81–86.

106 Неалкогольная жировая болезнь печени: новое в патогенетической терапии / А. И. Пальцев, И. В. Шарапов, Е. Н. Горбунова, Т. Н. Хомченко, И. В. Курганова, Г. С. Солдатова, А. А. Еремина, Ю. А. Николаев. *Поликлиника*. 2011. № 1. С. 43–46.

107 Сологуб Т. В., Осиновец О. Ю., Токин И. И. Возможности использования препарата «Метадоксил» в комплексной терапии хронического гепатита С. *Terra Medica*. 2011. № 2(65). С. 13–18.

108 Абрамова М. В., Веровский В. Е. Особенности течения и оптимизация фармакотерапии токсического гепатита, вызванного отравлением суррогатами. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2008. Т. 26, № 2. С. 27–30.

109 Гершанович М. Л., Тихонова В. В. Применение метадоксила для коррекции гепатотоксического действия химиотерапии у онкологических больных. *Вопросы онкологии*. 2002. Т. 48, № 4–6. С. 598–600.

110 Новые аспекты премедикации в амбулаторной стоматологии / С. Г. Новикова, Е. Г. Лобанова, С. А. Рабинович, Д. В. Новиков. *Институт стоматологии*. 2007. Т. 2, № 35. С. 62–67.

111 Способ премедикации у пациентов с нарушениями функции печени при амбулаторных стоматологических вмешательствах: пат. 2286152 РФ: МПК А61К31/44, А61Р1/00. № 2005109799/14; заявл. 06.04.2005; опубл. 27.10.2006, Бюл. № 30.

112 Randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter study evaluating the efficacy, safety, and tolerability of extended-release metadoxine in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder / I. Manor, R. Ben-Hayun, J. Aharon-Peretz, D. Salomy, A. Weizman, Y. Daniely, D. Megiddo, J. H. Newcorn, J. Biederman, L. A. Adler. *The Journal of Clinical Psychiatry*. 2012. Vol. 73, No. 12. P. 1517–1523.

113 Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Перспективи використання Алкодезу ІС в лікуванні алкоголізму. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Одеса, 20–21 лютого 2015 р. Одеса, 2015. С. 20–22.

114 Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Возможности клинического применения метадоксина (Алкодеза). *Сучасний вимір медичної науки та практики*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 червня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 85–86.

115 Влияние аминоспиртов на сдвиги в содержании липидов печени и сыворотки крови при остром алкогольном отравлении / А. М. Котогян, Л. М. Аракелян, Л. Г. Казарян, Р. Г. Камалян. *Биологический журнал Армении*. 1985. Т. 38, № 6. С. 534–536.

116 Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. К.: Авіцена, 2001. 528 с.

117 Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р. У. Хабриева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005. 832 с.

118 Морфофункціональні зміни печінки щурів з експериментальним гепатитом в умовах дисбалансу оксиду азоту / В. І. Діденко, І. А. Кленіна, А. І. Руденко, В. А. Макарчук, Н. Ю. Ошмянська, О. О. Галінський. *Гастроентерологія*. 2014. Т. 54, № 4. С. 48–54.

119 Новиков В. Е., Климкина Е. И. Изучение гепатопротекторных свойств нового производного 3-оксипиридина. *Вестник Смоленской Медицинской Академии*. 2008. № 3. С. 14–18.

120 Новиков В. Е., Климкина Е. И. Влияние гипоксена на морфофункциональное состояние печени при экзогенной интоксикации. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2009. Т. 72, № 5. С. 43–45.

121 Hall C. S. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *Journal of Comparative Psychology*. 1934. Vol. 18, No. 3. P. 385–403.

122 Hall C. S. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *Journal of Comparative Psychology*. 1936. Vol. 22, No. 3. P. 345–352.

123 Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / под ред. А. С. Батуева; пер. с англ. Е. Н. Живописцевой. М.: Высшая школа, 1991. 399 с.



124 Доклиническое изучение специфической активности потенциальных препаратов первичной и вторичной нейропротекции: метод. рек. / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Е. А. Нагорная, Н. А. Горчакова, В. Д. Лукьянчук, Н. В. Бухтиярова, С. В. Горбачева. К.: ООО «Издательство «Юстон», 2016. 82 с.

125 Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М.: Медицина, 1974. 143 с.

126 Dunham N. W., Miya T. S. A note on a simple apparatus for detecting neurological deficit in rats and mice. *Journal of the American Pharmaceutical Association*. 1957. Vol. 46, No. 3. P. 208–209.

127 Jones B. J., Roberts D. J. The quantitative measurement of motor incoordination in naive mice using an accelerating rotarod. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1968. Vol. 20, No. 4. P. 302–304.

128 Janssen P. Pirinitramide (R 3365), a potent analgesic with unusual chemical structure. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 1961. No. 13. P. 513.

129 King R. A., Glasser R. L. Duration of electroconvulsive shock-induced retrograde amnesia in rats. *Physiology and Behavior*. 1970. Vol. 5, No. 3. P. 335–339.

130 Богомолов А. Ф., Лукьянов И. Ю., Горбачева Л. Р. Методические рекомендации по курсу экспериментальной физиологии для студентов биологического отделения биолого-химического факультета. Иваново: Изд-во ИГУ, 2005. 43 с.

131 Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases. *American Journal of Clinical Pathology*. 1957. Vol. 28, No. 1. P. 56–63.

132 Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. 3-е изд. М.: МЕДПресс-информ, 2009. 896 с.

133 Szasz G. New substrates for measuring gamma-glutamyl transpeptidase activity. *Zeitschrift für Klinische Chemie und Klinische Biochemie*. 1974. Vol. 12, No. 5. P. 228–233.

134 Szasz G. A kinetic photometric method for serum  $\gamma$ -glutamyltransferase. *Clinical Chemistry*. 1969. Vol. 15, No. 2. P. 124–136.

135 Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. К. Иванова, И. Г. Майорова, В. А. Токарева. *Лабораторное дело*. 1988. № 4. С. 44–47.

136 Bessey O. A., Lowry O. H., Brock M. J. A method for the rapid determination of alkaline phosphate with five cubic millimeters of serum. *The Journal of Biological Chemistry*. 1946. No. 164. P. 321–329.

137 Tokuda K. Tanimoto K. New method of measuring serum bilirubin using vanadic acid. *Japanese Journal of Clinical Chemistry*. 1993. Vol. 22, No. 2. P. 116–122.

138 Jacobs N. J., Van Denmark P. J. Strategies for the prevention of coronary heart disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 1960. No. 8. P. 250–255.

139 Kodischek L. K., Umbreit W. W. Principle method for the determination of triglycerides. *Journal of Bacteriology*. 1969. No. 98. P. 1063–1068.

140 Textbook of Clinical Chemistry / ed. by C. A. Burtis, E. R. Ashwood, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994. 2326 pp.

141 Siedel J., Hägele E. O., Ziegenhorn J., Wahlefeld A. W. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clinical Chemistry*. 1983. Vol. 29, No. 6. P. 1075–1080.

142 Clinical Guide to Laboratory Tests / ed. by N. W. Tietz. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995. 624 pp.

143 Bergstrom K., Lefvert A. K. An automated turbidimetric immunoassay for plasma proteins. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 1980. Vol. 40, No. 7. P. 637–640.

144 Gornall A. G., Bardawill C. J., David M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *The Journal of Biological Chemistry*. 1949. Vol. 177, No. 2. P. 751–766.

145 Doumas B. T., Watson W. A., Biggs H. G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clinica Chimica Acta*. 1971. Vol. 31, No. 1. P. 87–96.

146 Talke H., Schubert G. E. Enzymatic urea determination in the blood and serum in Warburg optical test [Article in German]. *Klinische Wochenschrift*. 1965. No. 41. P. 174–175.

147 Jaffé M. Concerning both the precipitation caused in normal urine by picric acid and a new reaction with creatinine [Article in German]. *Zeitschrift Fuer Physiologische Chemie*. 1886. No. 10. P. 391–400.

148 Barham D., Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. *The Analyst*. 1972. Vol. 97, No. 151. P. 142–145.

149 Tietz Textbook of Clinical Chemistry / ed. by C. A. Burtis, E. R. Ashwood. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999. 1915 pp.

150 A quantitative analysis of ethanol and acetaldehyde expired by inbred mouse strains / C. Fioriglio, J. Wood, R. A. Hartline, C. W. Schneider. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1980. Vol. 12, No. 3. P. 467–469.

151 Булатов М. И., Калинин И. П. Практическое руководство по фотометрическим методам анализа. Л.: Химия, 1986. 431 с.

152 Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності: Настанова СТ-Н МОЗУ 42–7.1:2014 / розроб. ДП «Державний експертний центр Міністерства охорони України», МОЗ України. Вид. оф. К: МОЗ України, 2014. 59 с.

153 Герасимов А. Н. Медицинская статистика. М.: МИА, 2007. 480 с.

154 Експериментальна оцінка профілактичного впливу алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк,

О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2012. № 1 (21). С. 36–41.

155 Овчаренко Н. В., Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Профілактичний вплив Алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу. *Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології*: матеріали наук.–практ. конф. з міжн. уч., м. Дніпропетровськ, 26–27 вересня 2013 р. Дніпропетровськ, 2013. С. 157–158.

156 Borisjuk I. Yu., Karpova O. V. Neurotransmitter profile of metadoxine. *XVI conference of young scientists and student-chemists of southern region of Ukraine with international participation: Dedicated to the 85th anniversary of academician of AS USSR A. V. Bogatsky*: the materials of conf. with int. part., Odessa, 28–30 April 2014. Odessa, 2014. P. 42.

157 Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Метадоксин (АЛКОДЕЗ/ЛИВЕРИЯ): механізм дії. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 березня 2015 р. Дніпропетровськ, 2015. С. 92–96.

158 Експериментальна оцінка ефективності алкодезу в профілактиці етаноліндукованого зниження здатності білих щурів до навчання / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Одеський медичний журнал*. 2012. № 6 (134). С. 42–45.

159 Marco C. A., Kelen G. D. Acute intoxication. *Emergency Medicine Clinics of North America*. 1990. Vol. 8, No. 4. P. 731–748.

160 Ethanol and the Liver Mechanisms and Management / ed. by D. I. N. Sherman, V. R. Preedy, R. R. Watson. N.Y.: Taylor & Francis, 2002. 689 p.

161 Lieber C. S. Hepatic metabolic and toxic effects of ethanol: 1991 uptake. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 1991. Vol. 15, No. 4. P. 573–592.

162 Golovenko M. Ya., Karpova O. V., Borisyuk I. Yu. Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical pharmacy*. 2016. Vol. 20, No. 3. P. 24–28.

163 Борисюк И. Ю., Овчаренко Н. В., Карпова О. В. Влияние Алкодеза (метадоксина) на скорость экскреции этанола и его метаболитов. *Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України: матеріали наук.–практ. конф., присвяченої 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на півдні України, м. Одеса, 6–7 грудня 2013 р. Одеса, 2013. С. 172–174.*

164 Болезни печени и желчевыводящих путей: рук. для врачей / Рос. о-во по изучению печени; под ред. В. Т. Ивашкина. изд. 2-е, испр. и доп. М.: М-Вести, 2005. 536 с.

165 Стан біохімічних систем крові білих щурів в умовах алкогольного ураження печінки та профілактичної дії метадоксину / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 2 (43). С. 22–25.

166 Курмуков И. А. Лекарственное поражение печени при лечении онкогематологических заболеваний. *Клиническая онкогематология*. 2010. Т. 3, № 1. С. 60–67.

167 Checha F, Kaplowitz N. Oxidative stress and alcoholic liver disease. *Alcohol Health and Research World*. 1997. Vol. 21, No. 4. P. 321–324.

168 Stadtman E. R., Oliver C. N., Starke-Reed P. E. Implication of metal catalyzed oxidation of enzymes in aging, protein turnover, and oxygen toxicity. *Korean Journal of Biochemistry*. 1991. Vol. 23, No. 1. P. 49–54.

169 Луцак В. И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма (обзор). *Биохимия*. 2007. Т. 72, №8. С. 995–1017.

170 Логинов А. С., Аруин Л. И. Клиническая морфология печени: монография. М.: Медицина, 1985. 240 с.

171 Mohd A. H., Marghoob H., Abdelmarouf H. M. Comparative Levels of ALT, AST, ALP and GGT in Liver associated Diseases. *European Journal of Experimental Biology*. 2013. Vol. 3, No. 2. P. 280–284.

172 Широкова Е. Н. Холестаза: вопросы патогенеза, диагностики и лечения. *Consilium Medicum*. 2007. № 7. С. 18–23.

173 Whitfield J. B. Gamma Glutamyl Transferase. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2001. Vol. 38, No. 4. P. 263–355.

174 Кляритская И. Л., Курченко М. Г. Синдром холестаза: патогенез, диагностические подходы, стратегии лечения. *Крымский терапевтический журнал*. 2004. № 1. С. 31–41.

175 Гепатозахисна дія метадоксину при експериментальному алкогольному гепатиті в щурів / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17, № 4 (65). С. 54–58.

176 Виноградов Д. Б., Паначев И. В., Изаровский Б. В. Изменения в липидограмме и особенности липопероксидации при алкогольном делирии и его коррекции с помощью физиотерапии. *Вестник Южно-Уральского государственного университета*. 2011. № 39. С. 80–82.

177 Молоков К. В., Ефремов А. В. Липидный спектр крови у лабораторных животных при росте опухоли Walker 256. *Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина*. 2012. Т. 10, № 4. С. 66–69.

178 Меланіч С. Л. Хвороба Вільсона – Коновалова: алгоритм діагностики та підходи до лікування. *Гастроентерологія*. 2015. № 4(58) С. 101–111.

179 Increased plasma tumor necrosis factor in severe alcoholic hepatitis / G. L. Bird, N. Sheron, A. K. Goka, G. J. Alexander, R. S. Williams. *Annals of Internal Medicine*. 1990. Vol. 112, No. 12. P. 917–920.

180 High ceruloplasmin levels are associated with obsessive compulsive disorder: a case control study / O. Virit, S. Selek, M. Bulut, H. A. Savas,

H. Celik, O. Erel, H. Herken. *Behavioral and Brain Functions*. 2008. Vol. 4, No. 52. P. 52–58.

181 Плотникова Е. Ю. Дислипидемия при неалкогольной жировой болезни печени как маркер сердечно-сосудистого риска. *Русский медицинский журнал «Медицинское обозрение»*. 2019. №1(II). С. 64–69.

182 Биохимия: учебник / Т. Л. Алейникова и соавт.; под ред. Е. С. Северина. 2-е изд., испр. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. 784 с.

183 Thapa B. R., Walia A. Liver Function Tests and their Interpretation. *Indian Journal of Pediatrics*. 2007. Vol. 74, No. 7. P. 663–671.

184 Андрушкевич В. В. Биохимические показатели крови, их референсные значения, причины изменения уровня в сыворотке крови. Новосибирск, 2006. 256 с.

185 Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Підходи до моделювання уражень печінки у експериментальних тварин. *Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 лютого 2015 р. Львів, 2015. С. 113–115.

186 Van der Werf P., Orłowski M., Meister A. Enzymatic conversion of 5-oxo-L-proline (L-pyrrolidone carboxylate) to L-glutamate coupled with cleavage of adenosine triphosphate to adenosine diphosphate, a reaction in the -glutamyl cycle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1971. Vol. 68, No. 12. P. 2982–2985.

187 Hazell A. S. Excitotoxic mechanisms in stroke: an update of concepts and treatment strategies. *Neurochemistry International*. 2007. Vol. 50, No. 7–8. P. 941–953.

188 Golovenko N. Ya., Larionov V. B., Karpova O. V. Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88, No. 2. P. 73–81.

189 Kaplowitz N. Mechanisms of liver cell injury. *Journal of Hepatology*. 2000. Vol. 32, No. 1. P. 39–47.

190 Johansson S., Lindstedt S., Tiselius H. Metabolic interconversions of different forms of Vitamin B6. *The Journal of Biological Chemistry*. 1973. Vol. 249, No. 19. P. 6040–6046.

191 Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих лікарських форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ® ІС» з використанням тесту «Розчинення» / З. О. Гіхер, А. В. Єгорова, Д. І. Александрова, М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова. *Одеський медичний журнал*. 2014. № 5 (145). С. 25–29.

192 Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Сравнительная оценка таблетированных лекарственных форм препаратов «МЕТАДОКСИЛ» и «АЛКОДЕЗ® ІС» с использованием теста «Растворение». *Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 11–12 липня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 88–90.*

193 Epidemiology of psychiatric and alcohol disorders in Ukraine Findings from the Ukraine World Mental Health survey / E. J. Bromet, S. F. Gluzman, V. I. Paniotto, C. P. M. Webb, N. L. Tintle, V. Zakhozha, J. M. Havenaar, Z. Gutkovich, S. Kostyuchenko, J. E. Schwartz. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*. 2005. Vol. 40, No. 9. P. 681–690.

194 The WHO World Mental Health Survey Consortium. Prevalence, Severity, and Unmet Need for Treatment of Mental Disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *JAMA*. 2004. Vol. 291, No. 21. P. 2581–2590.

195 Фадеєнко Г. Д. Жировая печень: этиопатогенез, диагностика, лечение. *Сучасна гастроентерологія*. 2003. № 3(13). С. 9–17.

196 Angulo P. GI Epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2007. Vol. 25, No. 8. P. 883–889.



197 Oh M.K., Winn J., Poordad F. Review article: diagnosis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 2008. Vol. 28, No. 5, P. 503–522.

198 Бабак О. Я. Алкогольная болезнь печени: научные достижения и клинические перспективы. *Сучасна гастроентерол*. 2005. № 6. С. 4–9.

199 Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: практич. рук. / пер. с англ. под ред. З. Г. Апросиной, Н. А. Мухина. М.: Гэотар Медицина, 1999. 864 с.

**ДОДАТКИ****СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Експериментальна оцінка профілактичного впливу алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2012. № 1 (21). С. 36–41. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення статті.)*
2. Експериментальна оцінка ефективності алкодезу в профілактиці етаноліндукованого зниження здатності білих щурів до навчання / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Одеський медичний журнал*. 2012. № 6 (134). С. 42–45. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення статті.)*
3. Карпова О. В., Борисюк І. Ю., Головенко Н. Я. Метадоксил (АЛКОДЕЗ® ІС): от молекулы к лекарственному средству. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2013. № 2 (24). С. 4–10. *(Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення статті.)*
4. Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих лікарських форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ® ІС» з використанням тесту «Розчинення» / З. О. Гіхер, А. В. Єгорова, Д. І. Александрова, М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова. *Одеський медичний журнал*. 2014. № 5 (145). С. 25–29. *(Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)*

5. Гепатозахисна дія метадоксину при експериментальному алкогольному гепатиті в щурів / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Медична та клінічна хімія*. 2015. Т. 17, № 4 (65). С. 54–58. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)

6. Стан біохімічних систем крові білих щурів в умовах алкогольного ураження печінки та профілактичної дії метадоксину / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 2 (43). С. 22–25. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення статті.)

7. Golovenko N. Ya., Larionov V. B., Karpova O. V. Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88, No. 2. P. 73–81. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, в аналізі та інтерпретації результатів.)

8. Golovenko M. Ya., Karpova O. V., Borisyuk I. Yu. Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical pharmacy*. 2016. Vol. 20, No. 3. P. 24–28. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів.)

9. Овчаренко Н. В., Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Профілактичний вплив Алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу. *Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології*: матеріали наук.–практ. конф. з міжн. уч., м. Дніпропетровськ, 26–27 вересня 2013 р. Дніпропетровськ, 2013. С. 157–158. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні

Продовж. дод. А

*експериментальних досліджень, статистична обробка результатів та їх інтерпретація, оформлення тез.)*

10. Борисюк І. Ю., Овчаренко Н. В., Карпова О. В. Влияние Алкодеза (метадоксина) на скорость экскреции этанола и его метаболитов. *Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України: матеріали наук.–практ. конф., присвяченої 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на півдні України, м. Одеса, 6–7 грудня 2013 р. Одеса, 2013. С. 172–174. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення тез.)*

11. Borisyuk I. Yu., Karpova O. V. Neurotransmitter profile of metadoxine. *XVI conference of young scientists and student-chemists of southern region of Ukraine with international participation: Dedicated to the 85th anniversary of academician of AS USSR A. V. Bogatsky: the materials of conf. with int. part., Odessa, 28–30 April 2014. Odessa, 2014. P. 42. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення тез.)*

12. Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Возможности клинического применения метадоксина (Алкодеза). *Сучасний вимір медичної науки та практики: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 червня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 85–86. (Внесок здобувача: літературний пошук, оформлення тез.)*

13. Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Сравнительная оценка таблетированных лекарственных форм препаратов «МЕТАДОКСИЛ» и «АЛКОДЕЗ® IC» с использованием теста «Растворение». *Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 11–12 липня 2014 р. Дніпропетровськ, 2014. С. 88–90. (Внесок здобувача: літературний пошук, участь у проведенні експериментальних досліджень, інтерпретація результатів, оформлення тез.)*

Продовж. дод. А

14. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Перспективи використання Алкодезу ІС в лікуванні алкоголізму. *Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Одеса, 20–21 лютого 2015 р. Одеса, 2015. С. 20–22. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел.)

15. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Підходи до моделювання уражень печінки у експериментальних тварин. *Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 лютого 2015 р. Львів, 2015. С. 113–115. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)

16. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Проблеми вибору ліків при алкогольній залежності. *Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Київ, 6–7 березня 2015 р. К., 2015. С. 24–26. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)

17. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Метадоксин (АЛКОДЕЗ/ЛИВЕРИЯ): механізм действия. *Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Дніпропетровськ, 13–14 березня 2015 р. Дніпропетровськ, 2015. С. 92–96. (Внесок здобувача: пошук і аналіз літературних джерел, оформлення тез.)

18. Борисюк І. Ю., Кутасевич Н. В., Карпова О. В. Профілактика детского алкоголізма как шаг к формированию здорового образа жизни. *Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу життя*: матеріали міжнар. наук.–практ. конф., м. Львів, 27–28 березня 2015 р. Львів, 2015. С. 82–84. (Внесок здобувача: участь у оформленні тез.)

## АПРОБАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

Основні матеріали та положення дисертаційної роботи представлено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. Науково–практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання біології, екології, медицини та фармакології» (м. Дніпропетровськ, 26–27 вересня 2013 р.). Форма участі – публікація тез.

2. Науково–практична конференція, присвячена 110-річчю з дня становлення фармацевтичної освіти на півдні України «Сучасні аспекти медицини і фармації півдня України» (м. Одеса, 6–7 грудня 2013 р.). Форма участі – стендова доповідь.

3. XVI конференція молодих вчених та студентів-хіміків Південного регіона України з міжнародною участю, присвячена 85-річчю з дня народження академіка АН УРСР О. В. Богатського (м. Одеса, 28–30 квітня 2014 р.). Форма участі – стендова доповідь.

4. Міжнародна науково–практична конференція «Сучасний вимір медичної науки та практики» (м. Дніпропетровськ, 13–14 червня 2014 р.). Форма участі – публікація тез.

5. Міжнародна науково–практична конференція «Проблеми та стан розвитку медичної науки та практики в Україні» (м. Дніпропетровськ, 11–12 липня 2014 р.). Форма участі – публікація тез.

6. Міжнародна науково–практична конференція «Сучасні проблеми світової медицини та її роль у забезпеченні здоров'я світового співтовариства» (м. Одеса, 20–21 лютого 2015 р.). Форма участі – публікація тез, усна доповідь.

7. Міжнародна науково–практична конференція «Нове та традиційне у дослідженнях сучасних представників медичної науки» (м. Львів, 27–28 лютого 2015 р.). Форма участі – публікація тез.

Продовж. дод. Б

8. Міжнародна науково–практична конференція «Рівень ефективності та необхідність впливу медичної науки на розвиток медичної практики» (м. Київ, 6–7 березня 2015 р.). Форма участі – публікація тез.

9. Міжнародна науково–практична конференція «Досягнення медичної науки як чинник стабільності розвитку медичної практики» (м. Дніпропетровськ, 13–14 березня 2015 р.). Форма участі – публікація тез.

10. Міжнародна науково–практична конференція «Роль сучасної медицини у житті людини та її місце у формуванні здорового способу життя» (м. Львів, 27–28 березня 2015 р.). Форма участі – публікація тез.

## АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор Інституту фармакології

та токсикології НАМН України

д.м.н., член-кор НАМН України

Бухтіярова Г. В.

« 10 » \_\_\_\_\_ 2019 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи О. В. Карпової «Експериментальна оцінка дезінтоксикаційної та гепатопротекторної дії метадоксина при його профілактичному введенні» в розробку дезінтоксикаційного (Алкодез® ІС) та гепатопротекторного (Ліверія ІС) лікарських засобів, створених на основі субстанції «Метадоксин»

## 1. Найменування пропозицій для впровадження:

Розроблено та обґрунтовано режим профілактичного введення лікарських засобів, на прикладі метадоксину шляхом оцінки можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів (пірролідон карбоксилата та піридоксина) та характеристик розчинення у водних розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в різних відділах шлунково-кишкового тракту. Профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу та змінює фармакокінетичні показники спирту тобто прискорює ренальне виведення із організму шурів незміненого етанолу та ацетальдегіду та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату.

**2. Ким запропоновано:** аспірантом відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України

**3. Джерело інформації:** матеріали дисертаційної роботи О. В. Карпової представлено в наступних роботах (статтях):

-Гіхер З. О., Єгорова А. В., Александрова Д. І., Головенко М. Я., Борисюк І. Ю., Карпова О. В. Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ® ІС» з використанням тесту «Розчинення». *Одеський медичний журнал*. 2014. № 5 (145). С. 25–29.



-N. Ya. Golovenko, V. B. Larionov, O. V. Karpova Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88. N 2. P. 73–81.

-M. Ya. Golovenko, O. V. Karpova, I. Yu. Borisyuk Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical pharmacy*. 2016. Vol. 20, N 3. P. 24–28.

**4. Де і коли впроваджено:** В Інституті фармакології та токсикології НАМН України

**5. Форма впровадження.** Використання показників іонізованих/неіонізованих форм компонентів лікарських засобів та характеристика їх розчинення у водних розчинах із значеннями  $pH$ , які відповідають показникам  $pH$  різних відділів шлунково-кишкового тракту. Зазначений метод дає можливість визначати фармакокінетичні показники твердих форм препаратів *in vitro*.

**6. Результати впровадження:** Результати наукових досліджень О. В. Карпової використані в науковій роботі відділу медичної хімії ІФТ НАМН України..

**7. Зауваження та пропозиції:** немає.

**Відповідальні за впровадження:**

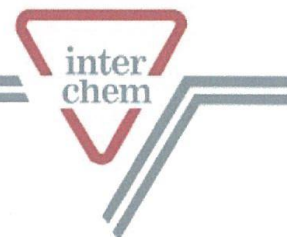
Головний науковий співробітник

д.м.н., професор

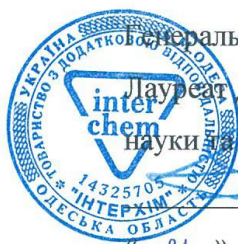


В. Д. Лукьянчук

ТОВАРИСТВО З ДОДАТКОВОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ «ІНТЕРХІМ»

**ТДВ "ІНТЕРХІМ"**

Україна, 65080, м. Одеса, Люстдорфська дорога, 86  
 тел. (048) 7772950, факс: (0482) 340803  
 E-mail: INFO@INTERCHEM.COM.UA

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Генеральний директор ТДВ «ІНТЕРХІМ»

Лауреат Державної премії в галузі  
науки та техніки України, к. х. н.

А.С. Редер

« 21 » січня 2019 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

**матеріалів дисертаційної роботи О. В. Карпової «Експериментальна оцінка дезінтоксикаційної та гепатопротекторної дії метадоксину при його профілактичному введенні» в розробку дезінтоксикаційного (Алкодез® ІС) та гепатопротекторного (Ліверія ІС) лікарських засобів, діючою речовиною яких є метадоксин**

**1. Найменування пропозицій для впровадження:**

Розроблено та обґрунтовано режим профілактичного введення метадоксину шляхом оцінки можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів метадоксину (пірролідон карбоксилату та піридоксину) у фізіологічному діапазоні рН та дослідження характеристик розчинення *in vitro* таблетованих форм метадоксину у буферних розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах ШКТ. Профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу та прискорює ренальне виведення із організму шурів незміненого етанолу та його метаболітів та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату. При профілактичному введенні метадоксин попереджує або зменшує вираженість патологічних порушень біохімічних показників цитолізу, холестазу та синтетичної функції печінки у сироватці крові шурів на тлі дії токсичних чинників уражень печінки.

**2. Ким запропоновано:** аспірантом відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України Карповою О.В.

**3. Джерело інформації:** матеріали дисертаційної роботи О. В. Карпової представлено в наступних роботах (**статтях**):

- Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих лікарських форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ® ІС» з використанням тесту «Розчинення» / З. О. Гіхер, А. В. Єгорова, Д. І. Александрова, М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова. *Одеський медичний журнал*. 2014. № 5 (145). С. 25–29.

- Експериментальна оцінка профілактичного впливу алкодезу на гостру нейротоксичну дію етанолу / М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова, А. П. Ворожбит. *Вісник психіатрії та психофармакотерапії*. 2012. № 1 (21). С. 36–41.

- Стан біохімічних систем крові білих щурів в умовах алкогольного ураження печінки та профілактичної дії метадоксину / Г. М. Шаяхметова, О. В. Карпова, А. К. Вороніна, М. Я. Головенко. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 2 (43). С. 22–25.

- Golovenko N. Ya., Larionov V. B., Karpova O. V. Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88, No. 2. P. 73–81.

- Golovenko M. Ya., Karpova O. V., Borisyuk I. Yu. Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical pharmacy*. 2016. Vol. 20, No. 3. P. 24–28.

**4. Де і коли введено:** В ТДВ «ІНТЕРХІМ» (08.02.2013 р. — Алкодез® ІС; 09.08.2013 р. — Ліверія ІС).

**5. Форма впровадження.** Результати проведених експериментальних досліджень профілактичної дії метадоксину було включено до матеріалів реєстраційних досьє на генеричні препарати метадоксину «Алкодез® ІС» та «Ліверія ІС», таблетки по 0,5 г, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ» (р/п №№ UA/12717/01/01, UA/13164/01/01), на підставі яких МОЗ України затверджено інструкції для медичного застосування відтворених лікарських засобів із розширеним (порівняно до оригінального лікарського засобу) переліком показань для медичного застосування.

**6. Результати впровадження:** Використання результатів наукових досліджень О. В. Карпової у реєстраційних матеріалах лікарських засобів Алкодез® ІС та Ліверія ІС, виробництва ТДВ «ІНТЕРХІМ».

**7. Зауваження та пропозиції:** немає.

**Відповідальні за впровадження:**

д.б.н., начальник відділу стратегічного розвитку  
ТДВ «ІНТЕРХІМ»

к.х.н., координатор проектів та програм  
ТДВ «ІНТЕРХІМ»

В. Б. Ларіонов

Г. В. Мальцев

Продовж. дод. В

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Проректор з науково-педагогічної  
та виховної роботи Одеського  
національного політехнічного  
університету

С.А. Нестеренко  
« 28 » *листопада* 2019 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ****1. Назва пропозиції для впровадження:**

Розроблено та обґрунтовано режим профілактичного введення лікарських засобів на прикладі метадоксину шляхом оцінки можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів метадоксину (пірролідон карбоксилату та піридоксину) та характеристик розчинення *in vitro* таблетованих лікарських форм метадоксину у буферних розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту.

**2. Установа, її адреса, виконавці:**

Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України; 65086, м. Одеса, Люстдорфська дор. 86; аспірант Карпова О.В.

**3. Джерела інформації:**

матеріали дисертаційної роботи О.В. Карпової «Експериментальна оцінка дезінтоксикаційної та гепатопротекторної дії метадоксина при його профілактичному введенні» представлено у наступних роботах (статтях):

1. Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих лікарських форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ® ІС» з використанням тесту «Розчинення» / З. О. Гіхер, А. В. Єгорова, Д. І. Александрова, М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова. *Одеський медичний журнал*. 2014. № 5 (145). С. 25–29.

2. Golovenko N. Ya., Larionov V. B., Karpova O. V. Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88, No. 2. P. 73–81.

3. Golovenko M. Ya., Karpova O. V., Borisjuk I. Yu. Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical pharmacy*. 2016. Vol. 20, No. 3. P. 24–28.

**4. Впроваджено:**

в навчальний процес кафедри органічних та фармацевтичних технологій в курсах лекцій «Фармакологія та основи токсикології».

5. **Термін впровадження:**  
2018/2019 навчальний рік.

6. **Ефективність впровадження:**

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, що впроваджує
<i>Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелі інформації.</i>		
<i>Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі органічних та фармацевтичних технологій</i>		

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри  
протокол № 4 від «22» листопаду 2018 р.

***Відповідальний за впровадження:***

Завідувач кафедри органічних  
та фармацевтичних технологій  
доктор біологічних наук, професор



І.А. Кравченко

Продовж. дод. В

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та клінічної  
роботи ДЗ Дніпропетровська  
медична академія МОЗ України  
проф. Мамчур В.Й.



03 2019 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

матеріалів дисертаційної роботи О. В. Карпової «Експериментальна оцінка дезінтоксикаційної та гепатопротекторної дії метадоксину при його профілактичному введенні» в розробку дезінтоксикаційного (Алкодез® ІС) та гепатопротекторного (Ліверія ІС) лікарських засобів, розроблених на основі субстанції метадоксин

#### 1. Найменування пропозицій для впровадження:

Розроблено та обґрунтовано режим профілактичного введення лікарських засобів на прикладі метадоксину шляхом оцінки можливих іонізованих/неіонізованих форм компонентів метадоксину (пірролідон карбоксилату та піридоксину) у фізіологічному діапазоні рН та дослідження розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії у розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН в основних відділах шлунково-кишкового тракту. Профілактичне введення метадоксину на тлі дії чинника гострої алкогольної інтоксикації зменшує вираженість нейротоксичної дії етанолу та змінює фармакокінетичні показники етанолу, а саме: прискорює ренальне виведення із організму шурів незміненого етанолу та ацетальдегіду та попереджує порушення метаболічного шляху утилізації ацетату.

**2. Ким запропоновано:** аспірантом відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України О.В. Карповою.

**3. Джерело інформації:** матеріали дисертаційної роботи О.В. Карпової представлено у наступних роботах (**статтях**):

1. Оцінка фармацевтичної еквівалентності таблетованих лікарських форм препаратів «МЕТАДОКСИЛ» та «АЛКОДЕЗ® ІС» з використанням тесту «Розчинення» / З. О. Гіхер, А. В. Єгорова, Д. І. Александрова, М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, О. В. Карпова. *Одеський медичний журнал*.

2014. № 5 (145). С. 25–29.

2. Golovenko N. Ya., Larionov V. B., Karpova O. V. Physical-chemical properties and the reactivity of pyridoxine and pyrrolidone carboxylate and their protolytic forms. *The Ukrainian Biochemical Journal*. 2016. Vol. 88, No. 2. P. 73–81.

3. Golovenko M. Ya., Karpova O. V., Borisyuk I. Yu. Metadoxine regulation of elimination of ethanol and its metabolites from the rat's body. *Clinical pharmacy*. 2016. Vol. 20, No. 3. P. 24–28.

**4. Де і коли введено:** В науково-дослідному інституті медико-біологічних проблем ДЗ Дніпропетровська медична академія МОЗ України.

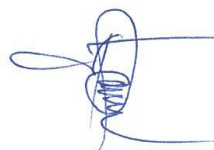
**5. Форма впровадження.** Використання оцінки іонізованих/неіонізованих форм компонентів лікарських засобів у фізіологічному діапазоні рН та показників розчинення *in vitro* твердих дозованих пероральних лікарських форм метадоксину негайного вивільнення системної дії у буферних розчинах із значеннями рН, які відповідають показникам рН основних відділів шлунково-кишкового тракту. Зазначений метод дає можливість визначати фармакокінетичні показники твердих дозованих пероральних лікарських форм препаратів *in vitro*.

**6. Результати впровадження:** Результати наукових досліджень О. В. Карпової використані в науковій роботі науково-дослідного інституту медико-біологічних проблем ДЗ Дніпропетровська медична академія МОЗ України.

**7. Зауваження та пропозиції:** немає.

**Відповідальні за впровадження:**

Директор  
Науково-дослідного інституту  
медико-біологічних проблем  
ДЗ Дніпропетровська медична  
академія МОЗ України  
професор



О.А. Шевченко