

Н. А. СТАНИСЛАВЧУК, А. А. ПЕНЮК, Г. З. ЛЬВИК, А. П. ЛЬВИК, Н. В. ЛУЦЬО
**ВЛИЯНИЕ ИНДУКТОРОВ И ИНГИБИТОРОВ ФЕРМЕНТОВ МЕТАБОЛИЗМА
 КСЕНОБИОТИКОВ, КОФЕРМЕНТНЫХ ФОРМ ВИТАМИНОВ В₁ И В₆,
 НА ПРОТИВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ ВОЛЬТАРЕНА**

Валовской медицинской институт им. Н. П. Паронова

Вольтарен относится к числу быстро метаболизирующихся соединений. Он подвергается гидроксилированию, а образующиеся при этом фенольные метаболиты конъюгируются с глюкуроновой кислотой и сульфатом [14]. За сутки у крыс экскретируется в виде глюкуроновых и сульфатных метаболитов около 70% препарата [11]. В работе изучено влияние индуктора ферментов метаболизма ксенобиотиков фенобарбитала и ингибитора микросомальных монооксигеназ хлорида кобальта на противовоспалительный эффект вольтарена. Кроме того, с этой же целью исследовано действие коферментных форм витаминов В₁ и В₆ — тиаминдифосфата (ТДФ) и флавинмононуклеотида (ФМН), которые также оказывают выраженное влияние на метаболизм чужеродных веществ [4, 8, 10].

Методы исследования. Опыт проведен на 245 крысах-самках Вистар с массой тела 120—220 г в весенне-летний период года. Все

измерения выполнены в светлом ярком свете.

Адьювантный артрит вызывали субдугартарным введением 0,5 мл убитой вакцины ВДЖ. Животных с экспериментальным артритом разделили на 10 групп. Через 2 нед после развития артрита части животных вводили фенобарбитал (70 мг/кг внутривенно, 1 раз в день в течение 4 дней), хлорид кобальта (10 мг/кг под кожу двукратно, ТДФ (10 мг/кг внутривенно, 1 раз в день в течение недели), ФМН (0,4 мг/кг внутривенно, 1 раз в день в течение недели). Крысы 11-й группы не подвергались какому-либо воздействию. Начиная с 20-го дня развития адьювантного артрита части животных получали вольтарен (4 мг/кг внутривенно, 1 раз в день в течение недели).

У части животных 1—10-й групп вызвали острый отек путем субдугартарного введения 0,1 мл 6% раствора декстрана. Вольтарен этим животным вводили однократно, за 1,5 ч до введения декстрана. Остальные условия опыта были аналогичны описанным выше. Характеристика групп приведена в табл. 1.

Объем лапы в период максимальной ее набухлости измеряли, как описано ранее [6]. Точечность вольтарена оценивали по длительности жизни и подвижности крыс после

ТАБЛИЦА 1. Эффективность лечения вольтареном воспалительного отека и адьювантного артрита у крыс при модификации активности ферментов метаболизма ксенобиотиков (n = 8—10, M ± m)

| Группы животных | Условия опыта | Отек воспалительный, % и объем жидкости в полости сустава | | Адьювантный артрит | | | |
|-----------------|--------------------------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| | | при ДНК-стрессовом состоянии | при АДМ-ингибитором артрита | большая чувствительность, % | фундаментальность, мг/л | молочный диализат, амоль/кг | аскорбинокислотное ПОСВ, моль/кг |
| 1-я | Артрит | 112 ± 4,0 | 118 ± 3,2 | 185 ± 9,4 | 247 ± 6,6 | 252 ± 16,9 | 285 ± 27,7 |
| 2-я | Артрит + вольтарен | 84 ± 7,0 | 97 ± 1,7 | 188 ± 4,9 | 175 ± 8,9 | 127 ± 7,7 | 238 ± 18,9 |
| | р | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 |
| 3-я | Артрит + фенобарбитал | 104 ± 2,7 | 111 ± 2,7 | 179 ± 5,2* | 232 ± 19,2 | 204 ± 16,9 | 242 ± 32,8 |
| 4-я | Артрит + фенобарбитал + вольтарен | 97 ± 2,9* | 109 ± 4,6* | 152 ± 7,1 | 206 ± 13,6* | 209 ± 23,1 | 220 ± 24,4 |
| | р | 0,1 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| 5-я | Артрит + хлорид кобальта | 105 ± 5,2 | 111 ± 1,9 | 167 ± 11,2 | 216 ± 7,3* | 181 ± 11,2* | 249 ± 18,5* |
| 6-я | Артрит + хлорид кобальта + вольтарен | 77 ± 4,4 | 92 ± 1,4* | 92 ± 3,8* | 145 ± 7,0* | 149 ± 7,7 | 205 ± 12,3 |
| | р | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 |
| 7-я | Артрит + ТДФ | 106 ± 2,7 | 107 ± 3,1* | 137 ± 7,5* | 198 ± 8,6* | 186 ± 11,5* | 223 ± 12,4* |
| 8-я | Артрит + ТДФ + вольтарен | 71 ± 2,7* | 84 ± 1,4* | 88 ± 5,3* | 110 ± 8,7* | 147 ± 7,4 | 212 ± 9,9* |
| | р | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 | 0,001 |
| 9-я | Артрит + ФМН | 113 ± 4,4 | 112 ± 3,0 | 159 ± 8,5* | 219 ± 6,7* | 189 ± 11,5* | 229 ± 18,3 |
| 10-я | Артрит + ФМН + вольтарен | 70 ± 3,9 | 94 ± 2,3 | 124 ± 8,1 | 168 ± 8,1 | 185 ± 14,4 | 207 ± 14,1 |
| | р | 0,001 | 0,001 | 0,01 | 0,001 | 0,3 | 0,2 |
| 11-я | Контроль | — | — | — | 137 ± 9,1* | 146 ± 17,2* | 228 ± 17,4* |

Примечание. * — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 1-й группе; ** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 2-й группе; *** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 3-й группе; **** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 4-й группе; ***** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 5-й группе; * — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 6-й группе; ** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 7-й группе; *** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 8-й группе; **** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 9-й группе; ***** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 10-й группе; * — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 11-й группе; ** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 12-й группе; *** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 13-й группе; **** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 14-й группе; ***** — достоверность различия с контролем (р < 0,05) в 15-й группе.

перорального жевательного введения в течение 4 дней 30 мг/кг препарата.

В сыворотке крови измеряли количество фукозы [1]. Выделение постмитохондриальной фракции печени и определение п-гидроксилирования долами выполняли в соответствии с рекомендацией А. И. Арчакова [1]. Содержание малонового диальдегида и активность аскорбатзависимого пероксидного окисления липидов (ПОЛ) определяли, как описано ранее [2].

Метаболизм ацетангида изучали следующим образом: животным внутривенно вводили 74 мкмоль/100 г препарата и в суточной моче определяли количество метаболитов. Общее их количество определяли по реакции дитазирования с последующим выосотением, а долю аминифолатных метаболитов определяли по специфической для этого класса соединений реакции образования гидролизного красителя [3-5].

Результаты и их обсуждение. Исследования показали (см. табл. 1), что вольтарен оказывает лечебное действие у крыс с декомпенсированным отеком и адьювантным артритом, что проявляется торможением нарастания отека лапки, снижением болевой чувствительности и уровня фукозы в сыворотке крови. Фенобарбитал, хлорид кобальта, ФМН не оказывали существенного влияния на выраженность отека конечности у крыс, однако ТДФ уменьшал степень отека у животных с адьювантным артритом. Болевая чувствительность уменьшалась под влиянием фенобарбитала, ТДФ и ФМН. Уровень фукозы снижался под влиянием хлорида кобальта и коферментов.

Введение вольтарена на фоне предварительной обработки животных фенобарбиталом практически не оказывало лечебного действия. В то же время хлорид кобальта и ТДФ усиливали эффект вольтарена.

В последние годы в патогенезе воспаления существенное значение придается активации процессов ПОЛ [7, 9, 12]. По некоторым данным, продукция малонового диальдегида клетками может служить индикатором образования простагландинов [13], синтез которых протекает по химическим механизмам, близким к ПОЛ. Вольтарен уменьшал содержание малонового диальдегида и активность аскорбатзависимого ПОЛ в постмитохондриальной фракции печени. Небольшое подавление процессов ПОЛ у крыс с адьювантным артритом вызвали также хлорид кобальта и ТДФ. Фенобарбитал ослаблял ингибирующее действие вольтарена на ПОЛ, тогда как хлорид кобальта и ТДФ усиливали

этот эффект вольтарена. ФМН существенно не модифицировал действие препарата.

Ослабление противовоспалительного эффекта вольтарена под влиянием фенобарбитала, по-видимому, связано с тем, что последний, вызывая индукцию ферментов метаболизма ксенобиотиков, ускоряет метаболическую инактивацию препарата. Усиление лечебного действия вольтарена под влиянием хлорида кобальта связано, вероятно, с замедлением биотрансформации вольтарена.

Влияние коферментов на эффект вольтарена также можно объяснить их действием на метаболизм вольтарена. Оказалось, что ТДФ ингибирует метаболизм ксенобиотиков. Избыток витамина B₆ подавляет активность п-гидроксилирования анилина ($0,31 \pm 0,027$ нмоль/мин на 1 мг белка против $0,49 \pm 0,013$ нмоль/мин на 1 мг белка в контроле, $p < 0,01$). Нагрузка же витамином B₆ несколько активизирует п-гидроксилирование анилина (до $0,69 \pm 0,030$ нмоль/мин на 1 мг белка при $0,57 \pm 0,032$ нмоль/мин на 1 мг белка в контроле, $p < 0,05$). ТДФ угнетал, а ФМН усиливал биотрансформацию ацетангида (табл. 2). Биотрансформация этого препарата имеет много общего с метаболизмом вольтарена: ацетанид подвергается гидроксилированию, а фенольные метаболиты конъюгируются с глюкуроновой кислотой и сульфатом. Таким образом, усиление противовоспалительного эффекта вольтарена под влиянием ТДФ можно объяснить замедлением биотрансформации этого препарата, а уменьшение под влиянием ФМН ингибирующего действия вольтарена на процессы ПОЛ и отсутствие влияния кофермента на вызываемые вольтареном изменения других показателей, по-видимому, связаны с усилением биотрансформации вольтарена.

Коферментные формы витаминов B₆ и B₁₂ оказывая влияние на метаболизм ксенобиотиков, вероятно, будут модифицировать и токсичность вольтарена. Введение ФМН оказывает положительное действие при отравлении крыс вольтареном (продолжительность жизни животных составляет $5,5 \pm 0,37$ дня при $3,7 \pm 0,43$ дня в контроле, $p < 0,05$), а насыщение организма животных ТДФ не изменяет токсичность препарата (продолжительность жизни крыс составляет $3,0 \pm 0,43$ дня). Лечебный эффект ФМН при отравлении вольтареном мож-

Таблица 2. Влияние дополнительного введения ТДФ и ФМН на содержание аминокислотных и амидных метаболитов после введения 75 мкмоль 192 г витаминизированной у крыс за 24 ч (n=8-7, M±m)

| Метаболиты (каталитора) | Контроль | Введение ТДФ | Контроль | Введение ФМН |
|--|-------------|--------------|-------------|--------------|
| Свободный p-аминофенол, мкмоль/100 г | 0,250±0,014 | 0,120±0,016* | 0,346±0,041 | 0,619±0,038 |
| Свободный p-ацетиламинофенол, мкмоль/100 г | 1,92±0,095 | 1,23±0,110* | 2,47±0,127 | 3,38±0,084* |
| Свободный p-аминофенол, мкмоль/100 г | 35,3±1,11 | 25,4±1,31* | 38,2±1,76 | 47,0±2,02* |
| Общий p-аминофенол, мкмоль/100 г | 37,3±1,18 | 26,8±1,40* | 41,2±2,05 | 51,0±2,05* |
| Свободный p-аминофенол, % от общего p-аминофенола | 94,1±0,19 | 94,8±0,30 | 92,7±0,31 | 92,1±0,29 |
| Общие амидные метаболиты, мкмоль/100 г | 13,7±1,00 | 10,6±0,44* | 14,1±0,97 | 15,2±0,90 |
| % амидных метаболитов от общего количества метаболитов | 26,9±1,38 | 28,4±0,88 | 25,5±0,87 | 27,9±1,45 |
| Все метаболиты ацетилацета, мкмоль/100 г | 51,1±1,63 | 37,5±1,29* | 55,3±2,50 | 66,2±2,03* |

* Достоверные различия средних величин (p<0,05) при сравнении с контролем

но объяснить стимуляцию этим коферментом снижения voltarena из организма.

Выводы

1. Фенобарбитал ослабляет, а хлорид кобальта и ТДФ усиливают противовоспалительное действие voltarena.
2. ФМН существенно не модифицирует эффект voltarena, однако уменьшает его токсичность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Выдржин Г. В., Коляба Л. Г. Современное состояние методов в биохимии. — М., 1977. — С. 113—119.
2. Владимирю Ю. А., Арноков А. Н. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М., 1972.
3. Карпухин Н. И., Арноков А. Н. Современные методы в биохимии. — М., 1977. — С. 49—52.
4. Кордеман Н. Н. Методы определения органических соединений. — М., 1975.
5. Салто С., Аман Д. Г. Количественный органический анализ по функциональным группам. — М., 1983.
6. Гранс Ф. П. Нестероидные противовоспалительные средства. — Киев, 1978.
7. Dillard C. J., Kimm K. J., Tappin A. L. // *Rev. Comp. chem. Path. Pharmacol.* — 1982. — Vol. 17. N 1. — P. 143—146.
8. Ishida K., Nishimoto T., Arizono T., Mitsu A. // *J. Pharmacol.* — Дун. — 1984. — Vol. 7. N 4. — P. 73.
9. Rucley D., Gotschall J. M.C., Blah D. et al. // *Clin. Sci.* — 1984. — Vol. 66. N 6. — P. 601—605.

11. Miltenberger R., Osterhof U. // *Brit. J. Nutr.* — 1978. — Vol. 39. N 1. — P. 127—137.
12. Rian W., Sierlin H., Degen P., Faigle I. W. // *Scand. J. Rheum. — 1978. — Suppl. 22. — P. 17—29.*
13. Schalkwijk J., Van den Berg W. B., van den Broucke G. // *J. clin. Invest.* — 1980. — Vol. 76. N 1. — P. 198—205.
14. Smit J. B. // *J. clin. Med.* — 1975. — Vol. 88. — P. 167—172.
15. Sierlin H., Faigle I. W., Soliman A., Käng W. // *Xenobiotica.* — 1979. — Vol. 9. N 10. — P. 601—621.

Получено 30.01.87

EFFECTS OF INDUCTORS AND INHIBITORS OF ENZYMES OF METABOLISM OF XENOBIOTICS. COENZYMATIC FORMS OF VITAMINS B₁ AND B₂ ON THE ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF VOLTAREN

N. A. Stankivchuk, A. A. Pestiuk, G. Z. Lychik, A. P. Lybko, N. B. Lutnyak

In experiments on 245 male rats there was studied the influence of an inductor of anabolic metabolism enzymes, phenobarbital, an inhibitor of microsomal monooxygenase, cobalt chloride, and also coenzymatic forms of vitamins B₁ and B₂, thiamine diphosphate and flavine mononucleotide on the anti-inflammatory effect of voltaeren evaluated according to inhibition of an increase of the limb edema, a decrease of pain sensitivity, the blood level of fucose and the liver level of malon dialdehyde in rats with adjuvant arthritis. Phenobarbital weakens the anti-inflammatory action of voltaeren but at the same time cobalt chloride and thiamine diphosphate potentiate the therapeutic effect of voltaeren. Flavine mononucleotide fails to modify the effect of voltaeren but decreases however its toxicity.