

УДК 635.655:581.192.7

ВИКОРИСТАННЯ ПРОДУКТУ ПЕРЕРОБКИ БОБІВ СОЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ РОЗПОДІЛЕННЯ ГЕНІСТЕЇНУ В ОРГАНАХ ЩУРІВ

П.С. Тихонов

Одеський державний аграрний університет

Визначено розподілення геністеїну продукту переробки бобів сої в органах щурів.

Ключові слова: соя, щурі, геністеїн.

Вступ. Ізофлавонолігнани справляють різний вплив на обмін речовин залежно від їх концентрації та взаємодії з іншими речовинами [1,2]. Геністеїн може діяти в неестрогенний спосіб через пригнічення тирозинкінази [3]. Це дає змогу впливати на метаболізм без залучення гормональної системи організму, що за певних умов є більш доцільним.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г. Продукт переробки бобів сої, який містить геністеїн, одержували методом водної екстракції [4]. Препарати зазначеного продукту (20 мг у розрахунку на загальний вміст ізофлавонолів/кг маси тварин) вводили у шлунок тварин за допомогою зонду у вигляді водної суспензії в об'ємі 2 мл. Після введення препарату тваринам не давали їжі протягом 2 годин. Через певні інтервали часу після введення препарату (1,2,4,6,18,30, 48 годин) тварин декапітували під легким ефірним наркозом і відбирали наступні тканини й органи: кров, з якої одержували сироватку, печінку, нирки, матку, сім'яники, яєчники. Збирали також фекалії тварин. Екстракцію геністеїну із зразків проводили за методом Supko і Phillips [5]. Вміст геністеїну визначали як зазначено раніше [4]. На рисунках по осі абсцис цифрами 1,2,3,4,5,6,7 позначені відповідні інтервали часу 1,2,4,6,18,30,48 годин після введення препарату.

Результати дослідження та їх обговорення. Динаміка концентрації геністеїну у сироватці крові описується добре відомою фармакокінетичною кривою для позасудинного введення препарату (рис. 1). На цій кривій можна виділити ділянку, що описує процес всмоктування препарату в кров – висхідна частина уявляємої кривої в інтервалі від 0 до 2 годин. На низхідній частині кривої можна бачити перш за все фазу швидкого зменшення концентрації у діапазоні 2-4 годин, так звану α -фазу. Повільна β -фаза практично відсутня, оскільки в інтервалі 4-48 годин концентрація геністеїну надзвичайно низька. Для більш детального вивчення β -фази слід збільшити кількість відборів проб крові в інтервалі 2-4 годин. Як правило, для кривих «концентрація – час» використовують напівлогарифмічну залежність $\lg C - t$, у координатах якої для β -фази найчастіше одержують пряму лінію. Кут нахилу цієї прямої до осі абсцис визначає величину спостережаної швидкості елімінації препарату. У зв'язку з цим вважається доцільним більш детально дослідити β -фазу фармакокінетичної кривої. Проте, одержані результати дозволяють дійти висновку щодо достатньо інтенсивної елімінації геністеїну з організму щурів протягом перших чотирьох годин після введення препарату.

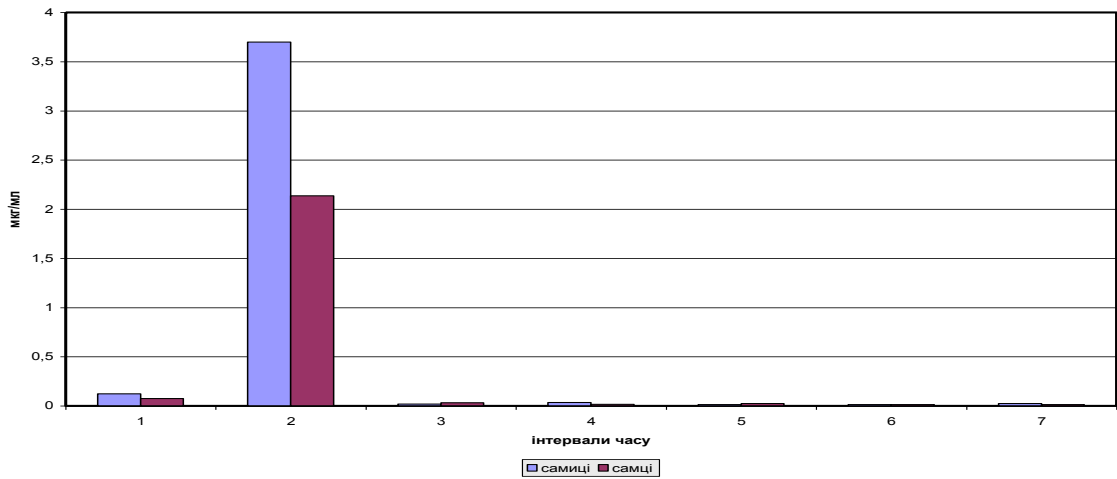


Рис. 1. Динаміка концентрації геністеїну (мкг/мл) у сироватці крові.

Цей висновок підтверджують дані щодо динаміки концентрації геністеїну у фекаліях тварин. Максимальну кількість цього ізофлавонолу визначили у фекаліях через 2 і 4 години після введення продукту переробки бобів сої (рис. 2). Визначення геністеїну у фекаліях в першу годину може, напевно, пояснюватися посиленою перистальтикою кишечника, що обумовлена введенням водної суспензії продукту переробки бобів сої.

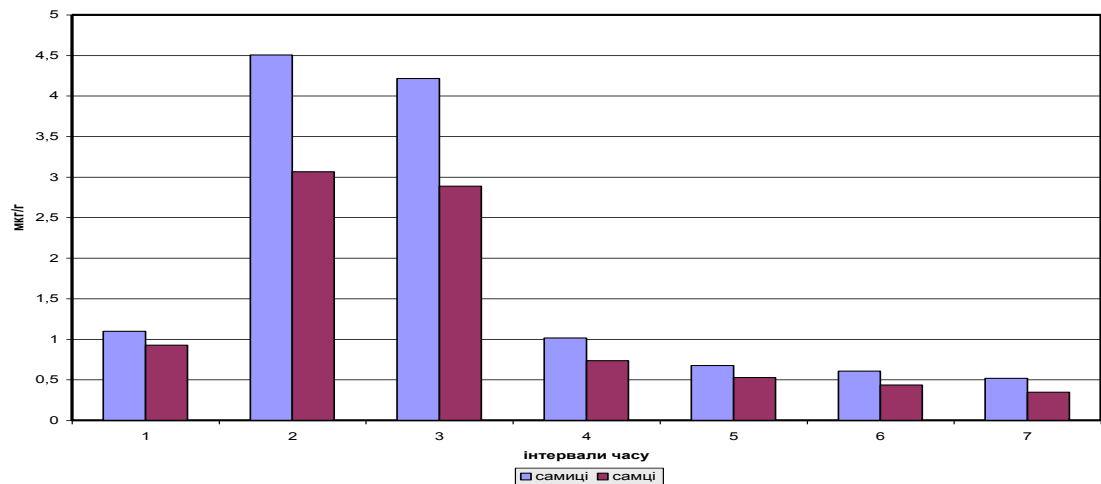


Рис. 2. Динаміка концентрації геністеїну (мкг/г) у фекаліях.

Фармакокінетична крива, що описує динаміку концентрації геністеїну в печінці, має типову форму (рис. 3). До того ж на відміну від такої для сироватки крові в ній присутня чітко визначена β -фаза. Слід зазначити, що концентрація геністеїну у печінці у декілька разів, а в деяких випадках на порядок вище, ніж в інших органах, що досліджувалися (виключення становить тільки сироватка крові, де концентрація геністеїну в декілька разів вище). До того ж це стосується не тільки часу, в якому спостерігається максимальний вміст цього ізофлавонолу, але й інших інтервалів часу.

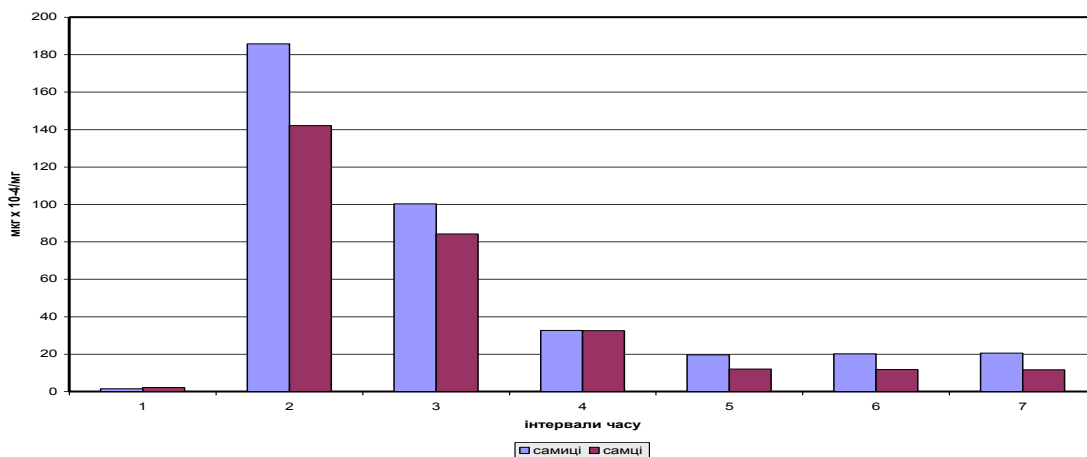


Рис. 3. Динаміка концентрації геністеїну (мкг x 10⁻⁴/мг) у печінці.

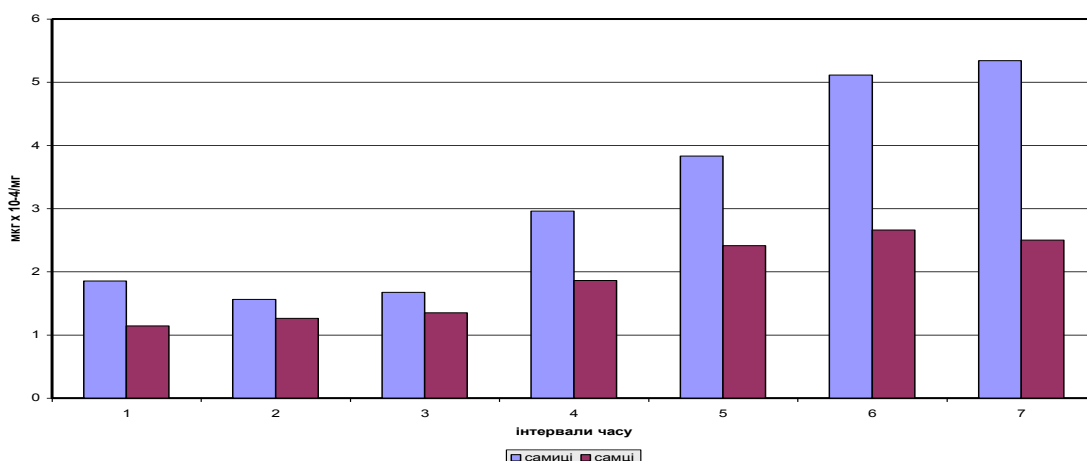


Рис. 4. Динаміка концентрації геністеїну (мкг x 10⁻⁴/мг) у нирках.

Крива, що характеризує динаміку концентрації геністеїну в нирках, не є типовою фармакокінетичною кривою. Аналогічні висновки можна зробити для таких органів як матка та яєчники (рис. 5,6). Найбільша концентрація геністеїну о 48-й годині після введення продукту переробки бобів сої зареєстрована в яєчниках, потім в порядку зменшення концентрації ізофлавоноу розташовані наступні органи: печінка, матка та нирки. Зазначені вище закономірності характерні для самиць. У самців послідовність органів в порядку зменшення концентрації геністеїну наступна: печінка, нирки сім'яники. До того ж концентрації ізофлавоноу в нирках самиць були в 1,5-2 рази вище, ніж у самців. В літературі описані статеві відмінності у кінетиці деяких лікарських препаратів. Проте інтерпретації цих даних перешкоджає наявність багатьох ускладнюючих обставин [6,7,8].

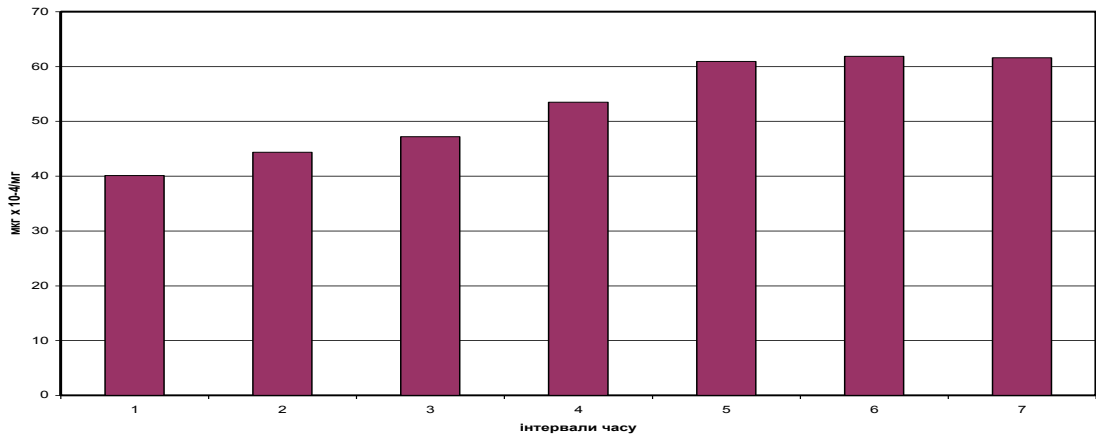


Рис. 5. Динаміка концентрації геністеїну (мкг x 10⁻⁴/мг) у яєчниках.

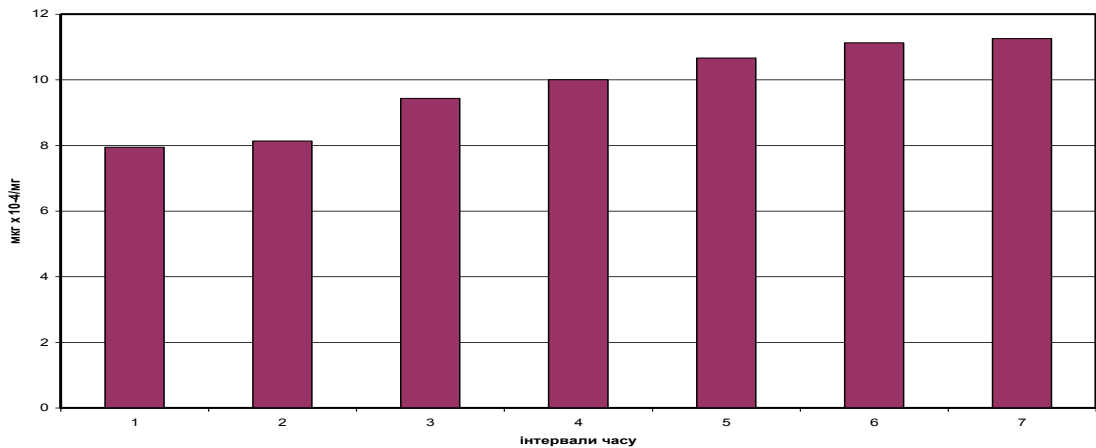


Рис. 6. Динаміка концентрації геністеїну (мкг x 10⁻⁴/мг) у матці.

Аналіз вмісту геністеїну в сім'яниках показав, що динаміка його концентрації описується звичайною фармакокінетичною кривою, де, проте, α -фаза виражена менше, ніж β -фаза (рис. 7).

Для матки та яєчників відмічено деяке збільшення вмісту ізофлавону з часом, що минув після введення продукту переробки бобів сої (рис. 5,6). Проте різниця між першим і останнім інтервалами часу не є суттєвою при $p=0,05$.

Фармакокінетика ізофлавону в нирках виявляє статеві розбіжності (рис. 4). Показано достовірне збільшення концентрації геністеїну між двома першими та останнім інтервалами часу після введення продукту тільки для самиць, але не для самців.

Деяко несподіваною є поява ізофлавону в перші інтервали часу після введення продукту переробки бобів сої. Проте, визначення вмісту геністеїну в першу годину після введення продукту показало, що його концентрація в сироватці крові була вище, ніж у таких органах як яєчники, матка, нирки та сім'яники відповідно у 31, 159, 678 та 951 раз. Тобто співвідношення концентрацій ізофлавону в органах і крові, що їх омиває у зазначені інтервали часу вказує, що виявлення геністеїну в перші терміни після введення продукту є цілком закономірним. У наступні інтервали часу не спостерігали суттєвого збільшення концентрації ізофлавону в цих органах. У деяких випадках це збільшення було

недостовірним. Ці дані можуть свідчити про ефект насичення органів із флавоном у перші терміни після введення продукту.

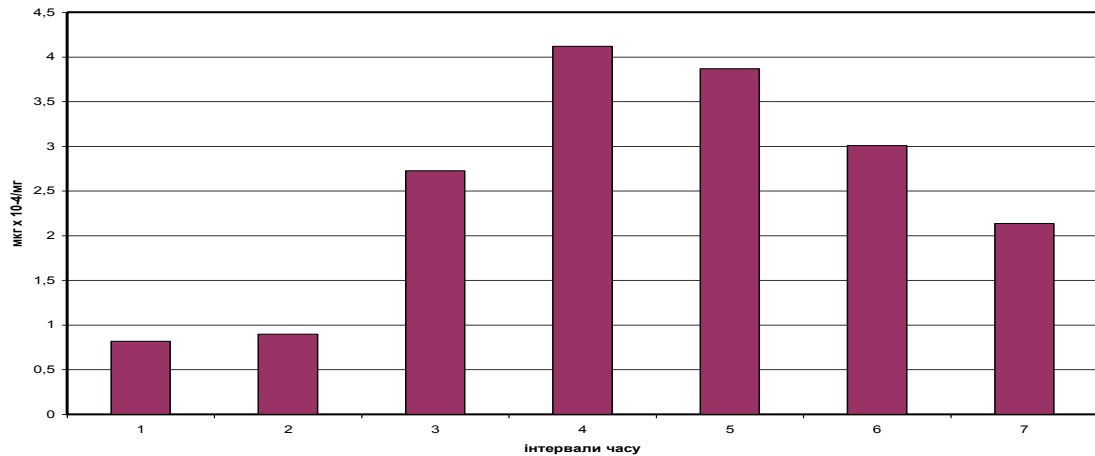


Рис. 7. Динаміка концентрації геністеїну (мкг x 10⁻⁴/мг) у сім'яниках.

Вище ми зазначали відхилення від стандартних параметрів, що спостерігаються у фармакокінетичних кривих геністеїну в нирках, яєчниках і матці. Звичайно фармакокінетична крива, що спостерігається після одноразової дози за умов позасудинного введення препарату, має один максимум. Експериментальні точки можуть відхилятися від типової форми кривої. Ці відхилення можуть мати випадковий характер, що пов'язано з похибками визначення концентрацій. Як правило, точки, які дуже відхиляються від типової кривої не беруть у розрахунок. Проте, до цього часу накопичилися дані, що свідчать про закономірний характер появи флуктуацій на фармакокінетичній кривій. Вони можуть мати характер коливань, що загасають, або можуть спостерігатися сплески у вигляді одного-двох додаткових максимумів. До того ж для аміназину показано, що додатковий максимум спостерігається не тільки для концентрації цієї сполуки у крові, але й на кривій динаміки м'якотичного ефекту час досягнення максимумів концентрації та ефекту співпадають [9]. Коливання та сплески після одноразової дози спостерігалися для концентрацій у крові перфеназину, фентанилу, метимазолу, теофіліну, нітразепаму, діазепаму, пропоксифену, фенітоїну [10].

Причинами цих незвичайних явищ можуть бути варіабельність зв'язування з білками плазми, ентерогепатична циркуляція, вплив фармакологічного ефекту на фармакокінетичні процеси, а також різні зовнішні чинники, наприклад споживання їжі з наступною зміною кінетики всмоктування або пресистемного метаболізму [11].

З наведених фактів впливає необхідність ретельного аналізу флуктуацій. Правильне врахування закономірних відхилень від очікуваного ходу фармакокінетичної кривої дозволить більш коректно розробляти схеми дозування препаратів.

Крім того, слід обов'язково враховувати факти наявності індивідуальних особливостей фармакокінетики окремих препаратів, які можуть визначатися як генетичними факторами так і факторами навколишнього середовища [12].

Зв'язування лікарських препаратів з білками, як правило, є зворотнім процесом. При елімінації частини лікарського препарату, що знаходиться у вільному стані, в результаті екскреції або метаболізму спостерігається дисоціація комплексу препарату з білком із звільненням вільного лікарського препарату. Показана зворотність зв'язування сироваткою крові людини сульфаніламідних препаратів пролонгованої дії [13]. У деяких випадках не вдається виявити до 20-30% зв'язаних препаратів за умов, які сприяють повній дисоціації комплексів препаратів з білком, що може пояснюватися нестабільністю цих препаратів та їх

метаболічними перетвореннями [14]. Слід зазначити, що в наших умовах екстракції визначали загальний вміст вільного та зв'язаного ізофлавону.

Висновки. Динаміка концентрації геністеїну в сироватці крові, печінці та сім'яниках описується типовою фармакокінетичною кривою.

Для нирок, матки та яєчників встановлено відхилення від типової форми фармакокінетичної кривої.

Література

1. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. – М.: Высшая школа. – 1974. – 214с.
2. Yamaguchi M., Gao Y.H., Ma Z.J. Synergistic effect of genistein and zinc on bone components in the femoral-metaphyseal tissues of female rats // J. Bone Mineral. Metab. – 2000. – V.18. – P.77-83.
3. Takura Taishin, Tajima Yoshifumi, Ishida Tokuro Effects of genistein on amylase release and protein tyrosine phosphorylation in parotid acinar cells // FEBS Letters. – 1996. – V.380. – N 1-2. – P.83-86.
4. Тихонов П.С. Виділення та аналіз вмісту ізофлавону геністеїну продукту переробки бобів сої // Аграрний вісник Причорномор'я. – 2008. - № 43. – С.183-186.
5. Supko J.G., Phillips L.R. High-performance liquid chromatographic assay for genistein in biological fluids // J. Chromatogr. B. Biomed. Appl. – 1995. – V.666. – P.157-167.
6. Zaske D.E, Cipolle R.J., Rotschafer J.C. Gentamicin pharmacokinetics in 1640 patients: method of control of serum concentrations // Antimicrob. Agents Chemother. – 1982. – V.21. – P.407-411.
7. Jack D.B., Quaterman C.P., Laman R., Kendall M.J. Variability of betablocker pharmacokinetics in young volunteers // Europ. J. Clin. Pharmacol. – 1982. – V.23. – P.37-42.
8. Routledge P.A., Stargel W.W., Kitchell B.B. Sex-related differences in the plasma protein binding of lignocaine and diazepam // Brit. J. Clin. Pharmacol. – 1981. – V.11. – P.245-250.
9. Smolen V.F., Weigand W.O., Erb R.G. In vitro drug product dissolution tests as substitutes for bioavailability studies in humans // Acta Pharm. Suec. – 1978. – V.15. – P.309-311.
10. Холодов Л.Е., Яковлев В.П. Клиническая фармакокинетика. – М.: Медицина. – 1985. – 464с.
11. Wood J.H., Lee A.J., Garrettson L.K. Periodicity during the distributive phase for drugs administered intravenously to human // Drug Metab. Rev. – 1979. – V.9. – P.119-128.
12. Sheiner J.B., Beal S.L. Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. II Bioexponential model and experimental pharmacokinetic data // J. Pharmacokinet. – 1981. – V.9. – P.635-651.
13. Бобров В.И., Яковлев В.П. Связывание сульфамидов длительного и сверхдлительного действия сывороткой крови .. Хим.-фарм. журнал. – 1978. - № 1. – С.25-28.
14. Климова В.С., Яковлев В.П. Сравнительное изучение взаимодействия цефалоспоринов с белками сыворотки крови и гомогенатами органов // Антибиотики. – 1979. – № 11. – С.835-838.

Аннотация

Тихонов П.С. Использование продукта переработки бобов сои для определения распределения генистеина в органах крыс. Установлено распределение генистеина продукта переработки бобов сои в органах крыс.

Ключевые слова: соя, крысы, генистеин.

Summary

Tykhonov P.S. Using of soybean products for determination of genistein distribution in rats' organs. Distribution of soybean product's genistein in rats' organs was determined.

Key words: soybean, rats, genistein.