

УДК 635.655:581.192.7

РОЗПОДІЛЕННЯ ГЕНІСТЕЇНУ І ДАЇДЗЕЇНУ ПРОДУКТУ ПЕРЕРОБКИ БОБІВ СОЇ В ОРГАНАХ ЩУРІВ

П.С.ТИХОНОВ, В.О.НАЙДА, І.П.ЛІСОВИЙ
Одеський державний аграрний університет

Встановлено розподілення геністеїну і даїдзеїну продукту переробки бобів сої в органах щурів. Визначено, що динаміка концентрації ізофлавонів у сироватці крові описується фармакокінетичною кривою для позасудинного введення препарату. Фармакокінетична крива, що описує динаміку концентрації геністеїну і даїдзеїну в печінці, має типову форму. Нетиповий характер фармакокінетичних кривих в яєчниках, матці і нирках свідчить за можливе накопичення ізофлавонів в цих органах.

Ключові слова: ізофлавоон, геністеїн, даїдзеїн, розподілення в органах щурів.

Вступ. Рослинні фітоестрогени, до яких належать геністеї та даїдзеїн можуть впливати на репродуктивну функцію тварин і людини.

На клітинних культурах і експериментальних тваринах було показано, що фітоестрогени здатні модулювати специфічні гормональні відповіді репродуктивних органів, а також впливати на рецепцію, продукцію і метаболізм ендогенних естрогенів. Залежно від стану тканин, концентрації ендогенних гормонів, екзогенних фітоестрогенів, способів їх введення рослинні ізофлавоони можуть бути агоністами та антагоністами власних естрогенів організму [1,2].

Фітоестрогени заважають ендогенним естрогенам зв'язуватися з рецепторами пухлинних клітин, взаємодіючи з рецепторами і не активуючи їх у достатній ступені для спричинення пухлинного росту[3,4,5,6]. Фітоестрогени здатні зменшувати активність ключових ферментів, таких як тирозинкіназа, що контролюють проліферацію клітин [7].

В останні роки з'являється все більше даних щодо впливу ізофлавонів на полегшення перебігу та зниження ризику виникнення деяких серцево-судинних захворювань, що пов'язують з антиоксидантними властивостями цих речовин [8].

Метою цієї роботи є вивчення розподілення зазначених ізофлавонів в органах щурів при позасудинному їх введенні.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проводили на білих щурах лінії Вістар масою 180-200 г. Продукт переробки бобів сої, який містить даїдзеїн та геністеїн, одержували методом водної екстракції [9]. Препарати зазначеного продукту (20 мг у розрахунку на загальний вміст ізофлавонів/ кг маси тварин) вводили у шлунок тварин як зазначено раніше [10]. 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 [11]. Вміст геністеїну і даїдзеїну визначали за допомогою високоефективної рідинної хроматографії HPLC [12]: прилад фірми Gilson, колонка Zorbax ODS, рухома фаза – 60%-вий метанол, $t^0 = 25^0$ C; швидкість потоки 1 мл/хв. Детекцію проводили при 260 нм. На рисунках на вісі 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 і даїдзеїну у сироватці крові описується фармакокінетичною кривою для позасудинного введення препарату (рис. 1). В інтервалі 4 – 48 годин концентрація ізофлавонів дуже низька і наближається до контрольних значень.

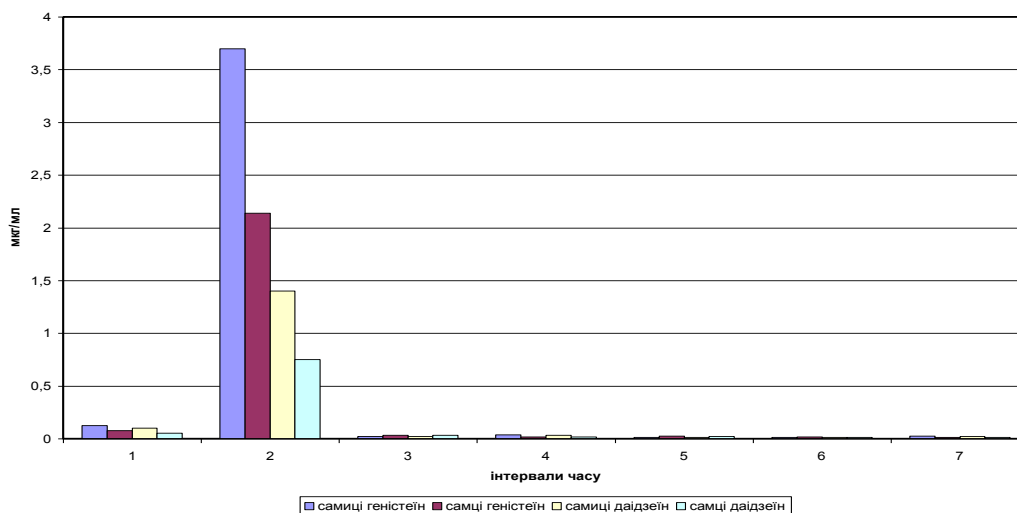


Рис. 1. Динаміка концентрації геністеїну і даїдзеїну (мкг/мл) у сироватці крові.

Одержані результати свідчать про інтенсивну елімінацію даїдзеїну з організму щурів протягом перших чотирьох годин після введення препарату. Подібні дані одержано раніше для геністеїну [10].

На користь цього висновку свідчить аналіз результатів визначення вмісту даїдзеїну і геністеїну у сечі тварин. Основна маса цих ізофлавонів виводиться з організму щурів у перші 4 години. Цей висновок, крім того,

підтверджують дані щодо динаміки концентрації цих ізофлавонів у фекаліях тварин. Максимальну кількість даїдзеїну і геністеїну визначали у фекаліях через 2 і 4 години після введення препарату (рис. 2) [10].

Фармакокінетична крива, що описує динаміку концентрації даїдзеїну має два максимуми. Причому наявність цих максимумів характерна тільки для самиць. У самців можна виділити один максимум на 2 години після введення препарату. В літературі описані статеві відмінності в кінетиці деяких лікарських засобів [13,14,15]. Проте інтерпретація цих даних дуже важка через наявність багатьох ускладнюючих обставин. Слід зазначити, що технічні складнощі, які пов'язані з відбором проб сечі, не дозволили відібрати її у всі досліджувані часові інтервали і в достатній кількості повторних відборів, що ускладнює інтерпретацію одержаних результатів.

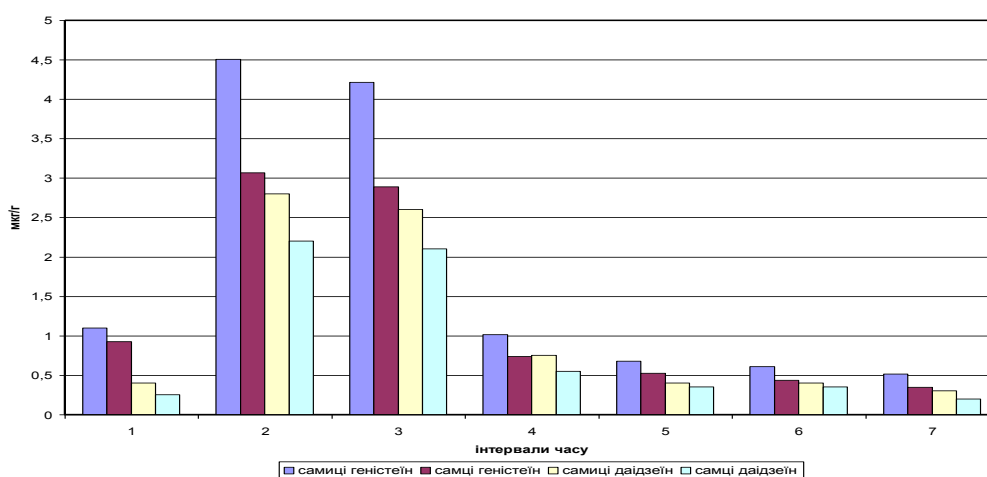


Рис. 2. Динаміка концентрації геністеїну і даїдзеїну (мкг/г) у фекаліях.

Фармакокінетична крива, що описує динаміку концентрації геністеїну і даїдзеїну в печінці, має типову форму (рис. 3). Співставлення даних, що стосуються цих ізофлавонів, дозволяє припустити наявність більш довготривалого періоду всмоктування у кров даїдзеїну, ніж геністеїну (максимуми спостерігалися відповідно через 4 і 2 години після введення препарату ізофлавонів). Причому дана тенденція більш чітко виявляється у самиць, ніж у самців. Так у самиць через 2 години після введення препарату концентрація даїдзеїну в печінці в 15 разів менша, ніж така у самців. В той же час максимальна концентрація даїдзеїну виявляється у тих і інших через 4 години після введення препарату ізофлавонів.

Крива, що характеризує динаміку концентрації ізофлавонів в нирках, описує скоріше процес зв'язування цих сполук даними органами і не є типовою фармакокінетичною кривою (рис. 4). Аналогічні висновки можна зробити для таких органів як матка та яєчники (рис. 5,6). Причому найбільше геністеїн накопичується до 48-ї години після введення

препарату в яєчниках, потім в порядку зменшення концентрації геністеїну розташовані наступні органи: печінка, матка та нирки. Для даїдзеїну характерна інша послідовність органів в порядку зменшення концентрації:

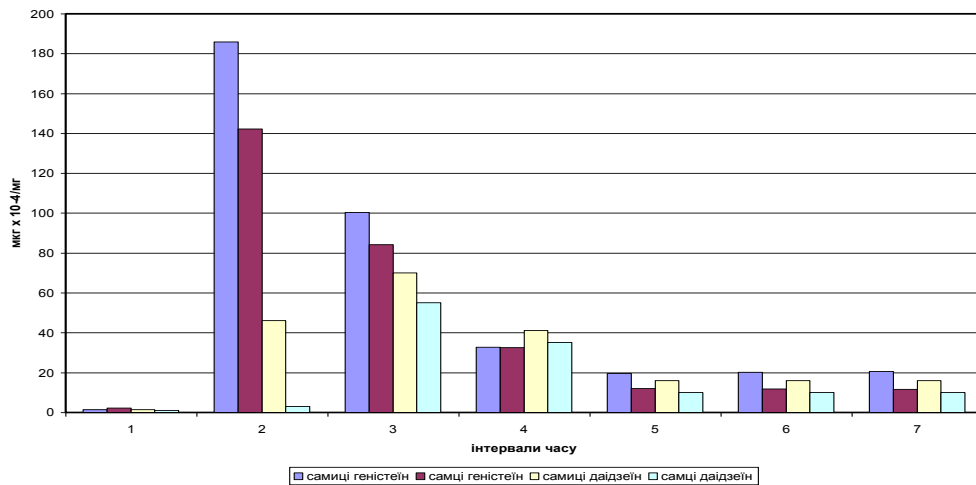


Рис. 3. Динаміка концентрації геністеїну і даїдзеїну ($\text{мкг} \times 10^{-4}/\text{мг}$) у печінці.

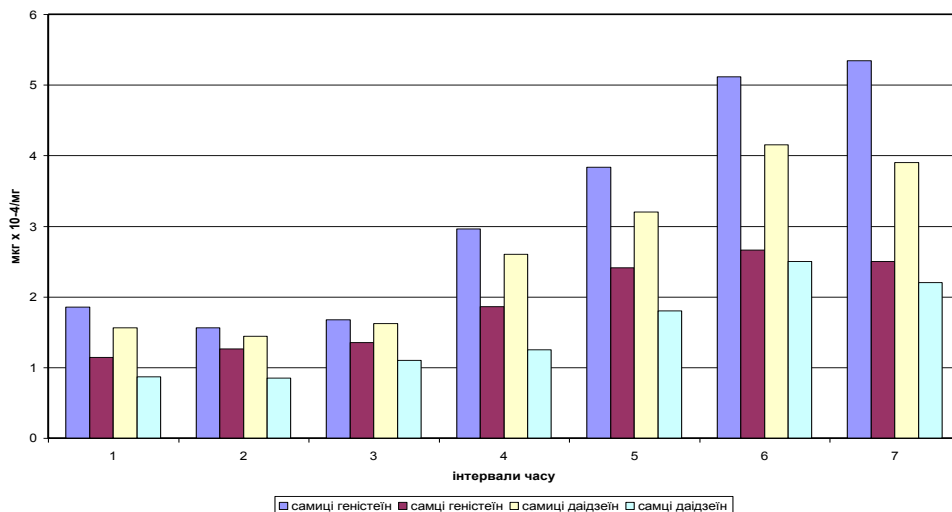


Рис. 4. Динаміка концентрації геністеїну і даїдзеїну ($\text{мкг} \times 10^{-4}/\text{мг}$) у нирках.

печінка, матка, нирки, яєчники. Зазначені результати характерні для самиць. У самців як у випадку геністеїну, так і даїдзеїну послідовність органів в порядку зменшення концентрації ізофлавонів наступна: печінка, нирки, сім'яники. Концентрації обох досліджуваних ізофлавонів в нирках самиць були в 1,5 – 2 рази вище, ніж у самців.

Різниця у фармакокінетиці геністеїну і даїдзеїну в сім'яниках не виявили (рис.7). Крім того слід зазначити, що вміст цих ізофлавонів приблизно однаковий. Аналогічний висновок можна зробити для матки, хоча вміст ізофлавонів в ній вище, ніж у сім'яниках. Що стосується фармакокінетики в яєчниках, то тут виявили розбіжності між геністеїном і

даїдзеїном. По-перше, концентрації геністеїну на порядок вищі, ніж такі даїдзеїну. По-друге, на кривій, що описує зміну концентрації даїдзеїну виявили два максимуми: на 2–4 та 18 годині після введення препарату ізофлавонів. Для геністеїну виявили один максимум з виходом на плато на

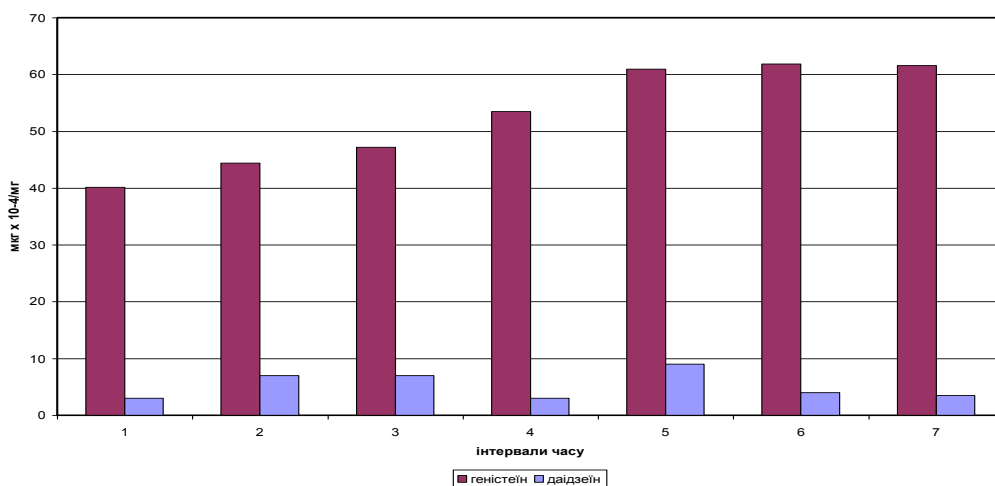


Рис. 5. Динаміка концентрації геністеїну і даїдзеїну (мкг × 10⁻⁴/мг) у яєчниках.

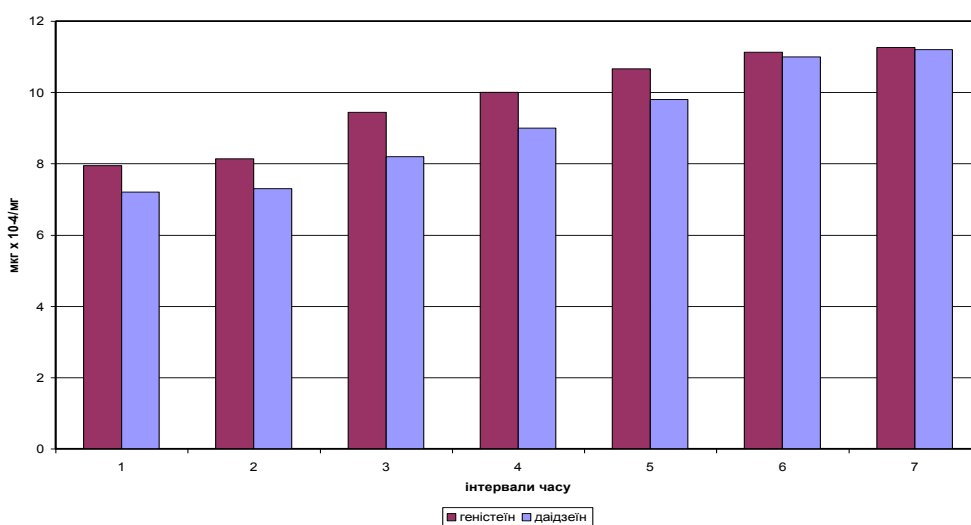


Рис. 6. Динаміка концентрації геністеїну і даїдзеїну (мкг × 10⁻⁴/мг) у матці.

18 годину після введення препарату.

Нетиповий характер фармакокінетичних кривих в яєчниках, матці і нирках свідчить за можливе накопичення ізофлавонів, що може бути обумовлене їх зв'язуванням з різними компонентами цих органів, в першу чергу білками.

Окремого дослідження, на наш погляд, заслуговує можлива фармакокінетична інтерференція між геністеїном і даїдзеїном. Відомо, що взаємодія різних лікарських препаратів в організмі грає важливу роль у

фармакотерапії, впливаючи на ефективність лікування. До цього часу накопичено багато даних, що свідчать за широке розповсюдження явища

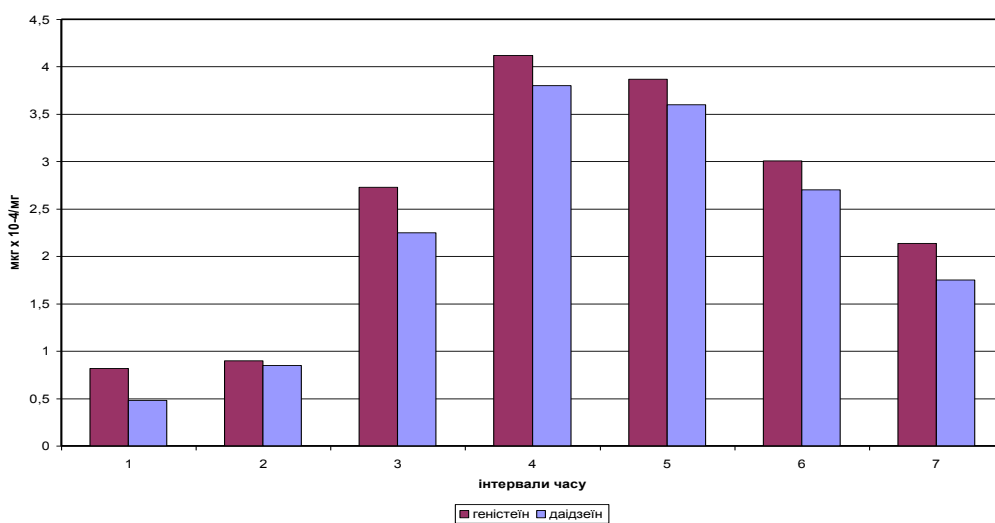


Рис. 7. Динаміка концентрації геністеїну і даїдзеїну (мкг x 10⁻⁴/мг) у сім'яниках.

фармакокінетичної взаємодії на різних етапах фармакокінетичного процесу, починаючи від етапу їх всмоктування з місця введення і закінчуючи їх виділенням органами екскреції. Ми вважаємо, що ці дослідження мають особливе значення саме для геністеїну і даїдзеїну через те, що ці ізофлавоїни по-різному впливають на ключові процеси в організмі тварин. Так геністеїн є інгібітором фосфорилування білків по тирозину, а даїдзеїн ні [7]. Даїдзеїн стимулює резорбцію кісток, а геністеїн не справляє такої дії [16]. Вивчення фармакокінетичної інтерференції цих сполук буде сприяти розробці методів оптимізації схем дозування ізофлавоїнів сої як лікувальних і профілактичних препаратів.

Висновки. З одного боку, у зв'язку з швидкою елімінацією ізофлавоїнів із сироватки крові необхідні періодичні прийоми ізофлавоїн-вмісних препаратів для підтримки терапевтичного ефекту.

З іншого боку, необхідна обережність у застосуванні цих препаратів (особливо це стосується особин жіночої статі), оскільки є тенденція накопичення ізофлавоїнів, що вивчалися, в органах мішенях (матці, яєчниках, у деякій ступені в сім'яниках), а також у нирках. Тобто необхідні додаткові дослідження можливого накопичення ізофлавоїнів в окремих органах за довготривалого прийому ізофлавоїн-вмісних препаратів.

Висловлюємо щиру вдячність професору А.П.Левицькому за сприяння у проведенні даного дослідження.

Список літератури

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. Takagi A., Kano M., Kaga C. Possibility of breast cancer prevention: use of soy isoflavones and fermented soy beverage produced using probiotics // Int J Mol Sci. – 2015. – V.16 – № 5. – P.10907-10920.
4. Rodríguez-Morató J., Farré M., Pérez-Mañá C., Papaseit E., Martínez-Riera R., de la Torre R., Pizarro N. Pharmacokinetic Comparison of Soy Isoflavone Extracts in Human Plasma // J Agric Food Chem. – 2015. – V.63– № 31. – P.6946-6953.
5. Kenneth DR Setchell, Marian S Faughnan, Tony Avades, Linda Zimmer-Nechemias, Nadine M Brown, Brian E Wolfe, Wayne T Brashear, Panjak Desai, Mark F Oldfield, Nigel P Botting, and Aedin Cassidy Comparing the pharmacokinetics of daidzein and genistein with the use of ¹³C-labeled tracers in premenopausal women // Am J Clin Nutr – 2003. – V.77. – P.411–419.
6. Douglas C.C., Johnson S.A., Arjmandi B.H. Soy and its isoflavones: the truth behind the science in breast cancer // Anticancer Agents Med Chem. – 2013. – V.13– № 8. – P.1178-1187.
7. 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.
8. Зверев Я.Ф., Федорев С.А., Кудинов А.В., Тарбеева Д.В., Кулеш Н.И., Григорчук В.П., Замятина С.В. Особенности фармакокинетики 7-О-гентиобиозида формонетина определяют его гемостатическую активность у крыс // Тромбоз гемостаз и реология. – 2018. – № 2. – С.78-87.
9. Тихонов П.С. Виділення та аналіз вмісту ізофлавону геністеїну продукту переробки бобів сої // Аграрний вісник Причорномор'я. – 2008. - № 43. – С.183-186.
10. Тихонов П.С. Використання продукту переробки бобів сої для визначення розподілення геністеїну в органах щурів // Аграрний вісник Причорномор'я. – 2011. – № 57. – С.152-157.
11. 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.
12. High Performans Liquid Chromatography // Macherey-Nagel. Duren., 1987. – 372 p.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. Tobe Hiroyasu, Komiyama Yoshiko, Maruyama Hiromi B. Daidzein stimulation of bone resorption in pit formation assay // Bioscience, Biotechnology and Biochemistry. – 1997. – V.61. – № 2. – P.370-371.

Тихонов П.С., Найда В.А., Лисовый И.П. Распределение генистеина и даидзеина продукта переработки бобов сои в органах крыс.

Установлено распределение генистеина и даидзеина продукта переработки бобов сои в органах крыс. Показано, что динамика концентрации изофлавонов в сыворотке крови описывается фармакокинетической кривой для внесосудистого введения препарата. Фармакокинетическая кривая, которая описывает динамику концентрации генистеина и даидзеина в печени имеет типичную форму. Нетипичный характер фармакокинетических кривых в яичниках, матке и почках свидетельствует о возможном накоплении изофлавонов в этих органах.

Ключевые слова: изофлавоны, генистеин, даидзеин, распределение в органах крыс.

Tykhonov P.S., Nayda V.O., Lisovii I.P. Distribution of genistein and daidzein from soybean products in rats' organs.

The distribution of genistein and daidzein from the soy bean product in rat organs has been established. It is shown that the dynamics of the concentration of isoflavones in serum is described by a pharmacokinetic curve for extravascular administration of the drug. The pharmacokinetic curve that describes the dynamics of the concentration of genistein and daidzein in the liver has a typical shape. The atypical nature of the pharmacokinetic curves in the ovaries, uterus and kidney suggests a possible accumulation of isoflavones in these organs.

Key words: isoflavone, genistein, daidzein, distribution in rats' organs