

УДК 615.012.8

А. Е. ШАХМАЕВ¹, И. В. Волчик², Ю. М. КРАСНОПОЛЬСКИЙ¹¹Национальный технический университет
«Харьковский политехнический институт»²Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр
качества лекарственных средств»

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА, СОДЕРЖАЩЕГО ГИДРОФОБНЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ АКТИВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ

Авторами проведено изучение комбинированного препарата, состоящего из гидрофобных компонентов: лецитина, витамина Е, кверцетина, хлорофиллипта. В работе изучена острая токсичность препарата, а также его влияние на слизистую оболочку желудка. В ходе исследования установлено, что данный препарат является практически нетоксичным и предотвращает появление органических поражений слизистой желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: комбинированный препарат, витамин Е, кверцетин, хлорофиллипт, острая токсичность, фармакологическая активность, препарат сравнения.

ВВЕДЕНИЕ

Вопросы использования препаратов, содержащих фосфолипиды, для лечения лекарственных поражений в организме больного сегодня становятся весьма актуальными. Возможность использования таких препаратов, прежде всего, связана с уникальностью структуры фосфолипидов и их ролью в биологических мембранах [13].

Лекарственные поражения внутренних органов происходят при различных путях введения препаратов (парентеральное, энтеральное и др.) Хорошо известно, что многие лекарственные препараты могут вызывать поражения печени, желудка, сердца, почек и других органов человека. Например, такие лекарственные средства, как антрациклиновые антибиотики, кетоконазол, галотан, изониазид, диклофенак натрия приводят к острому гепатозу и некрозу гепатоцитов, появлению язвенных поражений желудка, кардиотоксичности и т.п. [2].

Значимость препаратов, содержащих фосфолипиды, определяется ролью последних в биологических мембранах: торможением процессов перекисного окисления липидов; ускорением регенерации поврежденных клеточных

мембран, например, гепатоцитов; использованием фосфолипидов в качестве «строительного» материала для поврежденных органов [3, 7, 13]. Однако, применение фосфолипидов, в основном, направлено на лечение патологии печени. В связи с этим, вполне оправданным является использование эссенциальных фосфолипидов, в частности, высокоочищенного фосфатидилхолина в качестве носителя – основного мембранообразующего липида. Включение в основу носителя жирорастворимых природных компонентов позволяет создать оригинальные лекарственные средства, обладающие комплексным лечебным действием, направленным на снижение токсических свойств лекарственных препаратов, например, при проведении противоопухолевой химиотерапии.

Проведя анализ гидрофобных биологически активных веществ, нами предложен препарат, содержащий кроме фосфатидилхолина: кверцетин (биофлавоноид – способствует уменьшению объема некротизации миокарда и активации репаративных процессов, а также обладает противовоспалительным механизмом действия [4, 9]); витамин Е (снижает потребность миокарда в кислороде, предупреждает повышение проницаемости и ломкости капилляров, улучшает репродуктивные процессы и нормализует функцию половых желез [5]); хлорофиллипт (антимикробный

© Шахмаев А. Е., Волчик И. В.,
Краснопольский Ю. М., 2013

препарат – обладает противовоспалительным и мембраностабилизирующим действием [6, 10, 12]). Особо необходимо отметить, что все компоненты препарата обладают антиоксидантным действием [3, 6, 14, 15-17].

Целью данного исследования является изучение противоязвенной активности предлагаемого комбинированного препарата и его острой токсичности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Комбинированный препарат содержал фосфатидилхолин, кверцетин, хлорофиллипт и витамин Е. Содержание основного вещества в каждом компоненте не менее 95-99 %. Примеси в фосфатидилхолине представлены только компонентами фосфолипидной природы. Технология получения представлена следующими стадиями: получение указанных компонентов в растворе этанола; смешивание компонентов в известных соотношениях; фильтрация раствора через мембраны с размером пор 0,45 и 0,2 мкм; концентрация раствора в вакууме при температуре 37-43 °С; расфасовка полученной массы в желатиновые капсулы; контроль продукта. В полученном препарате проводили определение отдельных компонентов, индекса окисленности, микробиологической чистоты (соответствует требованиям ДФУ), остаточного количества этанола, которое не превышало 1,0 %. Индекс окисленности образцов не превышал 0,32, что свидетельствует о минимальном окислении двойных связей жирных кислот. Полученный продукт в капсулах хранили при температуре 4-8 °С. При эмульгировании содержимого капсулы в воде очищенной – образуется гомогенная стабильная эмульсия и не обнаруживается выпадения в осадок отдельных компонентов препарата.

В качестве препарата сравнения использовали таблетки «Кверцетин» 0,04 г (НПЦ «Борщевский химфармзавод»).

Исследования проведены на модели язвенной болезни. В качестве ulcerогенного фактора при определении влияния препаратов на слизистую оболочку желудка в работе использовали раствор натрия диклофенака. Диклофенак натрия широко применяется при лечении воспалений различного генеза, в том числе и наиболее распространенных заболеваниях опорно-двигательного аппарата. Причем, наиболее выраженным побочным действием является отрицательное влияние на слизистую желудочно-кишечного тракта.

В экспериментах были использованы белые нелинейные крысы массой 190-220 г, обоих полов. Крысы содержали в соответствии с общепри-

нятыми правилами (Страсбург, 1986). Отбор животных и формирование групп проводили методом «случайных чисел» [1, 8].

При изучении влияния препаратов на слизистую оболочку желудка испытуемых животных распределяли на 4 группы: контрольную, группу отрицательного контроля, группу, леченную испытуемым препаратом и группу, леченную препаратом сравнения. Накануне опыта животных в течение суток переводили на голодную диету, оставляя свободным доступ к воде. Животным в желудок через металлический зонд вводили 2,5 % раствор диклофенака натрия из расчета 25 мг/кг. Лечение начинали через 60 мин и проводили в течение 3 суток, вводя препараты ежедневно в два приема. Животные контрольных групп получали воду. Эвтаназию крыс эфирным наркозом проводили через 1 и 3 суток после начала лечения.

Критериями терапевтического действия препаратов было состояние слизистой оболочки желудка. У подопытных крыс выделяли желудки, проводили вскрытие по большой кривизне, промывали желудок 0,9 % раствором натрия хлорида. С помощью бинокулярной лупы определяли наличие и количество язв, эрозий, петехий, степень поражения и индекс Паулса. Степень поражения рассчитывали по количеству язв, эрозий и петехий, которые приходились на одно животное, а индекс Паулса – по формуле:

$$I_n = \frac{C_n \cdot \%_{жсж}}{100\%}$$

где, I_n – индекс Паулса; C_n – степень поражения; $\%_{жсж}$ – процент животных с язвами.

При изучении острой токсичности экспериментальные животные были разделены на две группы: первой группе вводили препарат сравнения, а второй группе вводили исследуемый комбинированный препарат. При определении острой токсичности исследуемые препараты вводили в желудок, натоцак в следующих дозах, исходя из общей массы содержимого капсулы: 2000, 2500, 3160, 3980, 5000 мг/кг. Наблюдение за экспериментальными животными проводили в течение 14 дней. При оценке острой токсичности препаратов при пероральном введении учитывали количество погибших животных (основной показатель токсичности), их общее состояние, поведенческие реакции, реакции на внешние раздражители и др. Средние смертельные дозы вычисляли по методу В.Б. Прозоровского и соавт. [11].

Статистическую обработку полученного материала проводили с использованием *t* критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При изучении острой токсичности испытуемого препарата и препарата сравнения установлено, что в течение 14 суток наблюдения за животными – их гибели не происходило. Общее состояние крыс экспериментальных групп не отличалось от контрольной группы: все животные имели нормальный аппетит, кожа и слизистые сохраняли обычный цвет, шерсть гладкая и блестящая, температура тела и тургор тканей – без изменений. Изменений в поведенческих реакциях не обнаружено. Наблюдение за массой тела животных также не выявило негативных изменений в течение всего срока наблюдения: происходил нормальный физиологический прирост массы тела. Однако, у животных как одной, так и другой группы происходило изменение частоты и глубины дыхания; двигательная активность у одних животных была повышенной, а у других пониженной, наблюдалась раздражительность.

Таким образом, при однократном введении в желудок комбинированного препарата в дозах до 5000 мг/кг гибели животных не наблюдалось. Аналогичные данные получены и при введении препарата сравнения. Полученные данные при изучении острой токсичности исследуемых препаратов при пероральном введении крысам позволяют охарактеризовать их как практически нетоксичные ($LD_{50} > 5000$ мг/кг).

При изучении влияния исследуемых препаратов на слизистую желудка было установлено, что 24-часовое голодание крыс не приводит к появлению органического повреждения слизистой желудка: никаких проявлений его раздражения в виде язв, эрозий или даже петехий не наблюдалось. В то же время однократное введение в желудок раствора диклофенака натрия на фоне голодания вызывало тяжелое поражение слизистой у животных, которое проявлялось появлением язв у 100 % животных, эрозий у 80 % и петехий у 100 %. При этом, степень поражения животных с язвами составила $2,15 \pm 0,12$, индекс Паулса $2,15 \pm 0,12$; у животных с эрозиями степень поражения составила $6,45 \pm 0,12$, а у животных с петехиями – $11,4 \pm 1,1$.

При профилактическом введении разработанного комбинированного препарата и препарата сравнения, частота возникновений язв, эрозий и петехий существенно снижалась. Были получены следующие данные: при введении комбинированного препарата – животные с язвами –

40 %, с эрозиями – 60 % и петехиями – 50 %; при введении препарата сравнения – животные с язвами – 60 %, с эрозиями – 60 % и петехиями – 60 %. Причем, главным являлось не столько частота, сколько уменьшение тяжести пораженной слизистой, что подтверждается отсутствием желудочных кровотечений и величины исследуемых показателей. При лечении комбинированным препаратом, степень поражения животных с язвами составила $1,2 \pm 0,1$; индекс Паулса – 0,48; степень поражения животных с эрозиями составила $2,2 \pm 0,18$, степень поражения животных с петехиями составила $5,2 \pm 0,6$. При лечении препаратом сравнения, степень поражения животных с язвами составила $1,8 \pm 0,1$, индекс Паулса – 1,08; степень поражения животных с эрозиями составила $3,2 \pm 0,22$, степень поражения животных с петехиями составила $7,4 \pm 0,8$.

Таким образом, проведенные исследования и полученные результаты дают основание предположить, что комбинированный препарат, обладающий минимальной токсичностью, имеет спектр фармакологических свойств, позволяющий значительно снизить побочное действие лекарственных средств на слизистую желудка.

ВЫВОДЫ

1. Исследование острой токсичности предложенного комбинированного препарата при пероральном введении белым крысам позволяют оценить его как практически нетоксичным.
2. При изучении комбинированного препарата на слизистую желудка установлено, что препарат предотвращает появление органических поражений слизистой желудка.
3. Установлены репаративные свойства предложенного комбинированного препарата.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ИНФОРМАЦИИ

1. Доклинические исследования лекарственных препаратов. Методические рекомендации / под ред. А.В. Стефанова – К: Авиценна, – 2002. – 527 с.
2. Дроговоз С. М. Побочное действие лекарств / С. М. Дроговоз, В. И. Покрышкин, В. В. Дроговоз. – Х. : СИМ, 2010. – 480 с.
3. Дудниченко А. С. Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике / А. С. Дудниченко, Ю. М. Краснопольский, В. И. Швец. – Х. : РА-Каравелла, – 2001. – 143 с.
4. Загородний М.І. Вплив кверцетину на ультрогенний ефект диклофенаку натрію / М. І. Загородний // Лікарські справи. – 2002. – № 1. – С. 98-101.

5. Иваненко Е.Ф. Биохимия витаминов / Е. Ф. Иваненко. – К. : Вища школа, 1970. – 212 с.
6. Кошовий В.М. Сучасні підходи до створення лікарських засобів на основі рослин родів Евкالیпт та Шавлія : автореф. дис. на здобуття наук. ступ. док. фарм. наук: спец. 15.00.02 «Фармацевтична хімія та фармакогнозія» / В.М. Кошовий – Х., 2013. – 39 с.
7. Краснопольский Ю.М. Фармацевтическая биотехнология: бионанотехнология в фармации и медицине. / Ю. М. Краснопольский, А. С. Дудниченко, В. И. Швец. – Х. : Издательский центр НТУ «ХПИ», 2011. – 227 с.
8. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария [и др.]. – К. : Вища школа, – 1983. – 380 с.
9. Мохорт М. А. Фармакодинамика кверцетину та його лікарських форм / М. А. Мохорт, І. В. Данова, С. О. Мисливець // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – № 6 (13). – С. 3-7.
10. Надтока В. Л. Применение хлорофиллипта для лечения и предупреждения стафилококковых заболеваний: метод. рекомендации / В. Л. Надтока. – Х. –1975. – 23 с.
11. Прозоровский В. Б. Экспресс-метод определения средней эффективной дозы и ее ошибки / В. Б. Прозоровский, М. П. Прозоровская, М. В. Демченко // Фармакология и токсикология. – 1978. – Т. 41, № 4. – С. 497-502.
12. Сравнительная химиотерапевтическая активность Галенофиллипта и Хлорофиллипта / Г. Е Афиногенов, Т. А. Балаев // Фармация из века в век. Тр. науч.-практ. конф. СПбХФА, ч. 5. – 2008. – С. 23-30.
13. Степанов А. Е. Физиологически активные липиды / А. Е. Степанов, Ю. М. Краснопольский, В. И. Швец. – М. : Наука, 1991. – 136 с.
14. Суханкин В. К. Отчет о доклиническом экспериментальном изучении общетоксической, аллергенной и специфической фармакологической активности препарата «Галенофиллипт» / В. К. Суханкин. – СПб. : Институт токсикологии. – 2006. – 158 с.
15. Antioxidant properties of quercetin / M. Zhang, S. G. Swarts, L. Yin [et al]. // Adv. Exp. Med. Biol. – 2011. – Vol. 701, Part 10. – P. 283-289
16. Effects of vitamin C and vitamin E on in vivo lipid peroxidation: results of a randomized controlled trial / H.Y. Huang, L.J. Appel, K. D. Croft [et al] // Am. J. Clin. Nutr. – 2002. – Vol. 76, № 3. – P. 549-555.
17. Tappel A. L. Vitamin E as the biological lipid antioxidant / Tappel A. L. // Vitam. Horm. – 1962. – № 20. – P. 493-510.

УДК 615.012.8

А.С. Шахмаєв, І.В. Волчик, Ю.М. Краснопольський

**ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ, ЯКИЙ
МІСТИТЬ ГІДРОФОБНІ БІОЛОГІЧНІ АКТИВНІ КОМПОНЕНТИ**

Авторами проведено вивчення комбінованого препарату, який містить гідрофобні компоненти: лецитин, вітамін Е, кверцетин, хлорофіліпт. У роботі вивчена гостра токсичність препарату, а також його вплив на слизову оболонку шлунка. У ході дослідження встановлено, що даний препарат є практично нетоксичним і запобігає появі органічних уражень слизової шлунково-кишкового тракту.

Ключові слова: комбінований препарат, вітамін Е, кверцетин, хлорофіліпт, гостра токсичність, фармакологічна активність, препарат порівняння.

UDC 615.012.8

A.E. Shakhmaiev, I.V. Volchik, Yu.M. Krasnopol'sky

**THE STUDY OF PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF DRUG COMPRISING
HYDROPHOBIC BIOLOGICALLY ACTIVE COMPONENTS**

The authors have studied a combined drug comprising hydrophobic components: lecithin, vitamin E, quercetin, chlorophyllipt. The acute toxicity of the drug and its effect on the gastric mucosa have been investigated in the study. It was found that the drug is practically non-toxic and prevents the formation of organic mucosal lesions of the gastrointestinal tract.

Key words: combined drug, vitamin E, quercetin, chlorophyllipt, acute toxicity, pharmacological activity, the reference drug.

Адреса для листування:
61002 м. Харків, вул. Фрунзе, 21
Кафедра біотехнології НТУ «ХПІ»

Надійшла до редакції:
15.05.2013