



УКРАЇНА

(19) UA (11) 52461 (13) A

(51) 6 A61B10/00, G09B23/28

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВИДАЄТЬСЯ ПІД
ВІДПОВІДАЛЬНІСТЬ
ВЛАСНИКА
ПАТЕНТУ

(54) СПОСІБ ПРОФІЛАКТИКИ УЛЬЦЕРОГЕННИХ УСКЛАДНЕНЬ

1

2

(21) 2002064670

(22) 07 08 2002

(24) 16 12 2002

(46) 16 12 2002, Бюл. № 12, 2002 р.

(72) Загородний Максим Іванович, Свінціцький
Анатолій Станіславович(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб профілактики ulcerогенних ускладнень шляхом застосування лікарських препаратів, який відрізняється тим, що після триденного введення розчину кверцетину в дозі 100мг/кг маси тіла вводять 2,5% розчин диклофенаку натрію одноразовою

Винахід, що заявляється відноситься до експериментальної медицини, зокрема до гастроентерології, і призначений для профілактики ulcerогенної дії диклофенаку натрію на слизову оболонку шлунка.

На сьогодні нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) відносяться до лікарських засобів, що найбільш часто застосовуються в медичній практиці. За даними різних авторів доля їх прийому складає близько 20% (1). Щоденно близько трьох мільйонів людей у світі приймають НПЗП (2). Поряд із вираженою терапевтичною дією (протизапальною, аналізуючою, жарознижуючою) дані препарати мають низку побічних ефектів, провідне місце з яких посідає ерозивно-виразкове ураження переважно верхніх відділів шлунково-кишкового тракту (3, 4, 5). Це ускладнення фармакотерапії отримало назву гастропатія, яка пов'язана з прийомом НПЗП або НПЗП-гастропатія (6).

Відкриття J Vane (7) ізоферментів циклооксигенази-1 (ЦОГ-1) та циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) допомогло зрозуміти механізм лікувальної та побічної дії НПЗП. На сьогоднішній день відомо, що у організмі людини існують дві ферментні системи, що приймають участь у синтезі простагландинів з арахідонової кислоти. Фермент ЦОГ-1 функціонує в організмі людини, виконуючи фізіологічні функції при участі даного ферменту утворюються простагландини, що приймають участь у стимуляції захисного шару слизової оболонки шлунка, зсідання крові таке інше. Інший фермент - ЦОГ-2 синтезується в організмі тільки при запальному процесі і стимулює синтез прозапальних простагландинів. НПЗП пригнічують синтез ЦОГ-2, зменшуючи запальні явища в тканинах, але разом з цим вони і

пригнічують синтез ЦОГ-1, що і призводить до виникнення побічних ефектів (8). В теперішній час пошук методів по зменшенню побічних явищ ведеться в двох напрямках: перший - це синтез НПЗП, що мають здатність селективно пригнічувати тільки один з ізомерів циклооксигенази (ЦОГ) - ЦОГ-2, не впливаючи на ЦОГ-1. Здавалося, що синтез препаратів, які б інгібували тільки ЦОГ-1 вирішить проблему побічних ефектів (в першу чергу їх ulcerогенну дію), але застосування у клінічній практиці селективного інгібітора ЦОГ-1 Мелоксикаму (Моваліс®) показало, що частота побічних ефектів при його приміненні вище, ніж у 3,05-3,8% хворих, що суттєво не відрізнялась від такої при застосуванні диклофенаку натрію - препарату, що не відноситься до селективних інгібіторів ЦОГ-1 (9, 10). В зв'язку з цим існує необхідність у пошуку інших методів по зменшенню побічної дії НПЗП. Один з перспективних шляхів - це метод комбінованої фармакотерапії з препаратами, які б проявляли гастропротективну активність. Отже, виходячи з вищезазначеного, пошук нових комбінацій препаратів, які були б ефективними в комплексній терапії ревматичних захворювань є надзвичайно актуальною проблемою медицини.

Проведений літературний пошук виявив методи, які наближаються до запропонованого авторами, але містять певні відмінності та недоліки. Так відомий спосіб (11), в основу якого покладено вивчення впливу кверцетину та плантаглюциду на перебіг ulcerогенного пошкодження слизової шлунка, які викликали ацетилсаліциловою кислотою. Досліди проводились на 74 пацієнтах вагою 150-180г. Ацетилсаліцилову кислоту вводили всередину в дозі 150мг/кг двічі на добу, кверцетин

(19) UA (11) 52461 (13) A

одночасно з нею в дозах 50 та 100мг/кг, плантаглюцид за 1 год до ацетилсаліцилової кислоти в дозах 100-1000мг/кг. Через 17-18 год після другого введення ацетилсаліцилової кислоти тварин забивали і досліджували шлунок макро- та мікроскопічне. Під впливом кверцетину зменшувались явища геморагічного запалення і знижувалась інтенсивність виразкового ураження в 1,7-4 рази, особливо вираженим була дія більшої дози. Дані результати свідчать про захисний противиразковий ефект кверцетину на виразки, викликані ацетилсаліциловою кислотою. За припущенням дослідників кверцетин проявляє противиразковий ефект, шляхом підвищення стійкості слизової оболонки шлунка до безпосереднього впливу ацетилсаліцилової кислоти. Основним фактором гастропротективної дії вважається зниження проникності капілярів. Однак даною способом притаманні певні недоліки.

1 В сучасній клінічній практиці не застосовується ацетилсаліцилова кислота для лікування ревматологічних захворювань. Серед препаратів групи нестероїдних протизапальних препаратів сьогодні перше місце посідають похідні арилоцтової кислоти (диклофенак натрію), похідні арилпропіонової кислоти (ібупрофен, напроксен), оксиками (пироксикам, мелоксикам) та НПЗП інших груп (німесулід, целекоксіб). Отже у сучасній ревматології застосування ацетилсаліцилової кислоти є не таким актуальним, а вивчення сумісного впливу інших НПЗП є більш доцільним.

2 В вищевказаному експерименті не вивчали профілактичну та лікувальну дію кверцетину. Кверцетин вводили разом з ацетилсаліциловою кислотою тільки двічі, не вивчаючи профілактичного (захисного) ефекту даного препарату, а також його лікувальну активність. Відомо, що при деяких захворюваннях, лікарі для зменшення больового, запального та суглобового синдрому вимушені призначати НПЗП досить тривалий час, отже виникає необхідність також у вивченні як профілактичного, так і лікувального застосування кверцетину. Цього можна досягти, вводючи кверцетин декілька днів до та декілька днів після ульцерогенного фактора.

3 Не вказано, що тварини знаходились на голодній дієті 24 години до застосування препаратів. Відсутність даного фактора не дозволяє судити про чистий ульцерогенний ефект ацетилсаліцилової кислоти та протективний ефект досліджуваних препаратів.

4 В даному способі не вивчали динаміку розвитку виразок, як у контрольній групі, так і в групах, яким застосовували досліджувані препарати. Відсутність динаміки не дозволяє повно характеризувати протективний ефект кверцетину.

Так відомий спосіб (12) попередження трофічних порушень слизової оболонки, викликаних ацетилсаліциловою кислотою з допомогою кверцетину, в основі якого авторами покладено вивчення впливу кверцетину на пошкодження шлунка ацетилсаліциловою кислотою та дослідження дії на лямкість та проникність капілярів і ексудативну фазу запалення суміші ацетилсаліцилової кислоти з кверцетином (в співвідношенні 15:1), визначали жарознижуючі властивості і токсичність їх комбінації. В даній роботі пошкодження слизової оболонки

викликали введенням всередину 100-150мг/кг ацетилсаліцилової кислоти, кверцетин у цих дослідках давали 50 та 100мг/кг. В інших серіях вводили ацетилсаліцилову кислоту з розрахунку 300 мг/кг та кверцетин з розрахунку 20 та 50мг/кг.

У всіх тварин результати оцінювали макро- та мікроскопічне. У 98 щурів, які отримували великі дози ацетилсаліцилової кислоти відмічали значні ураження слизової оболонки. При дворазовому застосуванні ацетилсаліцилової кислоти ураження були значними, але зворотними. При сумісному застосуванні ацетилсаліцилової кислоти з кверцетином ульцерогенна дія ацетилсаліцилової кислоти зменшувалась, що проявлялось в зменшенні набряку слизової оболонки, величини і кількості виразок, площі та розміру крововиливів.

Результати досліджень свідчать про те, що кверцетин володіє здатністю зменшувати пошкоджуючий вплив ацетилсаліцилової кислоти на слизову оболонку шлунка, зменшуючи явища геморагічного запалення і число виразок.

Незважаючи на те що у даному способі використовуються більша кількість досліджень ніж у попередньому, але зберігаються ті ж недоліки, що і у попередньому і не розв'язуються питання профілактичного та лікувального впливу кверцетину на слизову оболонку шлунка.

Задача, яку вирішує винахід, що заявляється, полягає в експериментальному доведенні профілактичної та лікувальної дії кверцетину при сумісному застосуванні його з диклофенаком натрієм. Технічно, результат, що досягається винаходом полягає у зменшенні частоти ускладнень, які виникають внаслідок застосування диклофенаку натрію, що найбільш часто застосовується в ревматологічній практиці.

Експериментальні тварини усіх груп утримували у віварі на стандартному харчуванні при вільному доступі до води. Методика експерименту для усіх 4 груп була схожою, відрізняючись тільки схемами введення досліджуваних препаратів.

Хронологія експериментальних досліджень. Тварини кожної групи протягом доби (24 години) знаходились на голодній дієті при вільному доступі до води. Потім тваринам внутрішньошлунково вводили досліджувані препарати. Евтаназію тварин проводили декапітацією через 24 та 72 години під ефірним "рауш наркозом". Критеріями терапевтичної дії кверцетину були візуальний огляд зовнішнього вигляду тварин, а також об'єктивні характеристики стану слизової оболонки шлунка. Для цього у піддослідних тварин виділяли шлунок, робили розтин по великій кривизні, виміряли масу вмісту шлунка, обережно промивали шлунок 0,9% розчином натрію хлориду і проводили макроскопічне дослідження слизової оболонки шлунка. За допомогою біокулярної лупи визначали кількість виразок, ерозій, петехій. При цьому підраховували кількість виразок і ерозій, що припадала на одну тварину (так званий ступінь ураження), та індекс Паулса. Останній вираховували за формулою

$$\text{ступінь ураження} \times \% \text{ тварин з виразками}$$

трально плацебо розчин диклофенаку натрію за допомогою шприца зі спеціальним зондом, поперечно зафіксувавши їх

Тваринам групи негативного контролю вводили аналогічним способом 2,5% розчин диклофенаку натрію фірми "Фармак" з розрахунку 25 мг/кг (1/10 LD₅₀ для щурів)

Щурам профілактичної групи вводили поперечно щоденно на протязі 3 діб розчин гранул кверцетину (Борщатівський хіміко-фармацевтичний завод) Для цього гранули подрібнювали в керамічній ступці для отримання однорідного порошку, потім їх розчиняли в дистильованій воді і вводили шприцом зі спеціальним металевим зондом в шлунок в дозі 100 мг/кг маси тіла (з розрахунку на активний інгредієнт) в об'ємі 5 мл/кг - вказану дозову дозу ділили на два прийоми

Щурам лікувальної групи вводили розчин гранул кверцетину в такий же дозі щоденно на протязі 3 днів після індукування виразок диклофенаком натрієм

Дослідження проведені на базі відділення експериментальної фармакології (зав. відділом - проф. Мохорт М. А.) Інституту фармакології та токсикології АМН України при консультативній допомозі к.б.н. Кіричок Л. М.

Згідно отриманих результатів було встановлено, що диклофенак натрію через 24 год після одноразового введення в шлунок щурам другої піддослідної групи (негативний контроль), призводить до ураження слизової шлунка в усіх дослідних тварин. Спостерігаються виражені органічні пошкодження, що проявляється виникненням великої кількості булавовидних виразок. Виразки шлунка та петехії зустрічаються у 100%, ерозії 87,5% щурів. Через 72 год кількість виразок та петехій зменшується, але зростає кількість ерозій. Макроскопічне слизова шлунка місцями складчаста, на інших ділянках блідо-рожевого кольору, є дефекти слизової оболонки у вигляді дрібних ерозій слизового шару. Індекс Паулса, через 24 год складав 4,05, а через 72 год - 6,25, що пояснюється збільшенням кількості ерозій.

У групі тварин, яким профілактично вводили кверцетин, через 24 години виразки проявилися лише у 25% тварин з групи, ерозії у 82,5% тварин, а петехії спостерігались у 87,5%. Макроскопічне слизова була розірвана та еритематозна, відмічалось мало петехій при наявності виразки слизова навколо неї була ціанотичною. Аналогічні пошкодження спостерігались і через 72 год при зменшенні кількості виразок, петехій та ерозій. У порівнянні з групою від'ємного контролю зменшився індекс Паулса 2,27 через 24 год та 1,75 через 72 год.

У тварин, які отримували кверцетин на фоні розвитку диклофенак натрієвих виразок макроскопічно дефекти слизової оболонки через 24 год виявлені у трьох тварин з групи, що складало 37,5%. Кількість ерозій та петехій була меншою ніж у тварин, яким профілактично застосовувався кверцетин. У одного щура поряд з наявністю виразок слизова оболонка еритематозна, в іншого - виражена складчастість слизової. Виразки не носять такого проникаючого характеру, як у контрольних тварин.

Через 72 год виразка виявлена тільки в одній тварині. В порівнянні з 24 год зменшилась кількість ерозій та петехій.

Проведеними дослідженнями встановлений гастропротективний ефект кверцетину, як при профілактичному, так і при лікувальному застосуванні. Захисний ефект на слизову оболонку верхніх відділів шлунково-кишкового тракту можна пояснити фармакологічними властивостями фенольних речовин (до яких відноситься кверцетин), які проявляють антиоксидантну, протизапальну, мембраностабілізуючу, протиалергічну та імуномодулюючу дію. Отримані результати дозволяють рекомендувати впровадження кверцетину для сумісного застосування з диклофенаком натрієм в клінічній практиці з профілактичною та лікувальною метою.

Висновки

1 Диклофенак при пероральному введенні через 24 год у щурів призводить до виникнення виразок, ерозій та петехій. Через 72 год кількість виразок та петехій зменшується, а кількість ерозій збільшується.

2 Кверцетин при профілактичному та лікувальному введеннях попереджає виникнення виразок, викликаних диклофенаком натрію.

Література

1 Дадажани Э.З. (Dajani E. Z.) Токсичность в отношении желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) безрецептурных анальгетиков. Журн. практ. пикар. - 2000 - № 1 - С. 53-55.

2 George Baltoyiannis, Nathanael Christodoulos, Michael Mitsis, Dimitris Stephanou, Hristos Ioannou, Vasilios Noutsias, Angelos M. Kappas. A comparative experimental study of the effects of diclofenac and ketoprofen on the small-bowel mucosa of canines. Res Exp Med, 2001; 200: 125-135.

3 Дзяк Г.В., Викторов А.П., Гришина Е.И. Нестероидные противовоспалительные препараты. - К: Морион, 1999 - 122 с.

4 Свиницький А.С., Бабак О.Я. Фармакотерапевтический справочник гастроэнтеролога. - Киев: "Плеяда", 2000 - 422 с.

5 Allison M. C., Howatson A. G., Torrance C. J., Lee F. D., Russell R. I. Gastrointestinal damage associated with the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs. N Engl J Med 1992, № 327: 749-754.

6 Roth S. H. Non-steroidal anti-inflammatory drug gastropathy, we start it, can we stop it? Arch Intern Med 1986, № 146: 1075-1076.

7 Vane J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. Nature (New Biol.) 1971, № 231 - С. 232-235.

8 Vane J. R. Introduction: mechanism of action of NSAIDs. Br J Rheum 1996, № 35 (Suppl. 1): 1-3.

9 Дзяк Г.В. Клиническое значение селективного ингибирования циклооксигеназы-2 нестероидный противовоспалительный препарат нового поколения. - мовалис // Мат. Другого Нац. Конгр. Ревматологів України. - Київ, 1997 - С. 137-141.

10 Dequeker J., Hawkey C., Kahan A. et al. Improvement in gastrointestinal tolerability of the selective cyclooxygenase (COX)-2 inhibitor, meloxicam, compared with piroxicam: results of the safety and efficacy large-scale evaluation of COX-inhibiting

therapies (Select) trial in osteoarthritis Br J Rheumatol 1998, № 37 946-951

11 Г В Оболенцева, Я И Хаджай, А И Видюкова, Ю Б Ларьяновская Влияние природных веществ на язвенное поражение желудка крыс, вызванное ацетилсалициловой кислотой Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 1974, № 3 39-41

12 Я И Хаджай, Г В Оболенцева, А И Видюкова Предупреждение трофических нарушений слизистой желудка, вызываемых ацетилсалициловой кислотой, с помощью кверцетина Республиканський міжвідомчий збірник "Фармакологія і токсикологія" -К "Здоров'я", випуск 10, 1975 р - С 45-48