



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 112287

(13) U

(51) МПК

A61K 31/135 (2006.01)

A61P 1/06 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**(21) Номер заявки: **u 2016 06113**(22) Дата подання заявки: **06.06.2016**(24) Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **12.12.2016**(46) Публікація відомостей
про видачу патенту: **12.12.2016, Бюл. № 23**

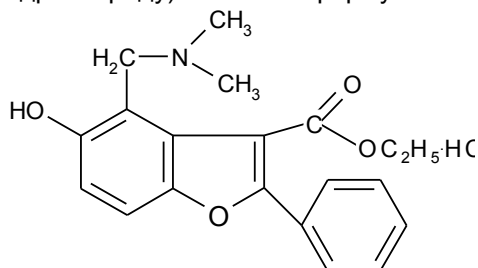
(72) Винахідник(и):

Гладких Федір Володимирович (UA),**Степанюк Наталія Георгіївна (UA),****Вернигородський Сергій Вікторович****(UA),****Степанюк Георгій Іванович (UA),****Сокирко Маргарита Володимирівна (UA)**

(73) Власник(и):

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ**МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М.І.****ПИРОГОВА,****вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018 (UA)****(54) ЗАСТОСУВАННЯ ВІНБОРОНУ ДЛЯ НІВЕЛЮВАННЯ АНТИПРОЛІФЕРАТИВНОГО ВПЛИВУ ІБУПРОФЕНУ НА ШЛУНКОВИЙ ЕПІТЕЛІЙ****(57) Реферат:**

Застосування вінборону (2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлориду) загальної формули:



як засобу, який здатний нівелювати антипроліферативний вплив ібупрофену на шлунковий епітелій.

UA 112287 U

Корисна модель належить до медицини, зокрема до фармакології, ревматології, гастроентерології, та може бути використана для попередження розвитку гастропатії, індукованої ібупрофеном.

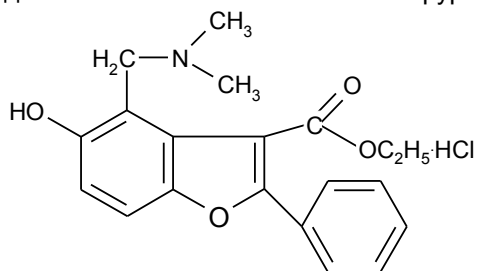
Найближчий аналог запропонованої корисної моделі невідомий.

Відомо, що проблема ульцерогенної дії нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) тісно пов'язана зі здатністю епітелію слизової оболонки шлунка (СОШ) до адекватної регенерації на тлі підвищення агресивності шлункового соку, викликаного застосуванням вищезазначених препаратів. [Свінцицький А.С. НПЗЗ-гастропатії: сучасний стан проблеми / А.С. Свінцицький // Кримський терапевтичний журнал. – 2010 - Т. 10, № 2. - С. 280-286.].

В основу корисної моделі поставлена задача - шляхом застосування вінборону як препарату з політропними фармакологічними ефектами нівелювати антипроліферативний вплив ібупрофену на шлунковий епітелій.

Вінборону притаманний цілий комплекс цінних поліфармакологічних властивостей: спазмолітична, протизапальна, знеболююча (місцева та центральна), протиішемічна, антиоксидантна, антиагрегантна, імуномодельююча, протимікробна, токолітична, кардіопротекторна, церебропротекторна, стимулюючий вплив на мікроциркуляцію [Степанюк Г.І. Вінборон - лікарський засіб з політропними фармакологічними властивостями: монографія / Г.І. Степанюк, О.О. Пентюк, Р.П. Піскун. - Вінниця: "Континент-Прим", 2007. - 243 с.], які добре співставляються з патогенезом НПЗЗ-гастропатії індукованої ібупрофеном [Карасєва Г.А. НПВП-індуцированная гастропатия: от понимания механизмов развития к разработке стратегии профилактики и лечения / Г.А. Карасєва // Медицинские новости. - 2012. - № 8. - С. 21-26; Свінцицький А.С. Механізми терапевтичної ефективності та побічної дії нестероїдних протизапальних препаратів / А.С. Свінцицький // Практикуючий лікар. - 2012. - №4. – С. 5-12].

Поставлена задача вирішується шляхом застосування вінборону (2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлориду) загальної формули:



як препарату з політропними фармакологічними ефектами, який здатний нівелювати антипроліферативний вплив ібупрофену на шлунковий епітелій.

Дослідження проведено на 28 статевозрілих нелінійних щурах-самцях з масою тіла 180-220 г., які знаходились в стандартних умовах віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. Всі експериментальні дослідження над лабораторними тваринами та їх утримання проводились згідно з Європейською конвенцією про захист хребетних тварин (Страсбург, 1986) та відповідно "Положення про використання тварин у біомедичних дослідках" [Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експер. та клін. фізіол. біохімія. - 2003. - №2 (22). – С. 108-109; Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте: методические рекомендации / под редакцией проф., академика РАМН П.И. Сидорова. - Архангельск, 2002. - 15 с.]. Піддослідні тварини були розділені на 4 групи: I - інтактні щури (n=7), II - щури зі змодельованим ад'ювантним артритом (АА) без лікування (контроль), III - щури з АА (n=7), які були ліковані ібупрофеном (218 мг/кг, внутрішньошлунково), IV - щури з АА (n=7), ліковані ібупрофеном внутрішньошлунково (218 мг/кг) в комбінації з вінбороном (11 мг/кг, внутрішньошлунково). Вінборон, розчинений у 0,9 % розчині NaCl, вводився за 60 хв. до введення ібупрофену. Ібупрофен вводили внутрішньошлунково у вигляді завису на 3 % крохмальному слизу двічі на добу (109 мг/кг на один прийом).

Вказані препарати застосовували в середньотерапевтичних дозах для людини, запозичених з літератури [Каратеев А.Е. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации / А.Е. Каратеев, Н.Н. Яхно, Л.Б. Лазебник, М.Л. Кукушкин, В.Н. Дроздов, В.А. Исаков, Е.Л. Насонов. - Москва: ИМА-ПРЕСС. - 2009. - 168 с.; Черноиван Н.Г. "Вінборон" - новий вітчизняний спазмолітик з гастропротекторною дією / Н.Г. Степанюк, В.М. Чернобровий, Г.І. Степанюк, А.С. Шаламай, А.Г. Степанюк // Сучасна гастроентерологія. - 2010. - №3 (53). – С. 54-57]. Перерахунок препаратів з дози людини на щурів здійснювали із використанням коефіцієнта видової чутливості за Ю.Р. Рыболовцевим [Рыболовцев Ю.Р.

Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // Доклады Академии Наук СССР. - 1979. - Т.247, №6. - С. 1513-1516].

5 АА моделювали шляхом субплантарного введення повного ад'юванту Фрейнда в задню праву лапку з розрахунку 0,1 мл на щура [Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод, рекоменд.; за ред. член-кор. АМН України О.В. Стефанова. - К.: ВД "Авіцена", 2001. - 527 с.].

Імуногістохімічне дослідження виконували на парафінових зрізах з використанням стрептавідин-біотинного методу ("DAKO", Данія, LSAB2 Systems, HRP). Демаскування антигену проводили в цитратному буфері з pH 6,0. Як первинні антитіла застосовували мишачі та кролячі
10 моноклональні антитіла. Ядра клітин дофарбовували гематоксиліном Майєра впродовж 15-60 сек.

Проліфераційну активність клітин оцінювали за допомогою мишачих моноклональних антитіл до ядерного антигену Ki-67 ("DAKO", клон MIB-1, Данія), як найчутливішого маркеру проліферації за методом T. Scholzen [The Ki-67 protein interacts with members of the heterochromatin protein 1 (HP1) family: a potential role in the regulation of higher-order chromatin
15 structure / T. Scholzen [et al.] // J. Pathol. - 2002. - Vol. 196. - P. 135-144.].

Для кількісної оцінки проліферативної активності використовували індекс проліферації (ІП), який розраховується відношенням кількості проліферуючих клітин до їх загальної кількості, з розрахунку на 100 клітин.

20 Імуногістохімічне дослідження проведене на базі Вінницького обласного бюро патологічної анатомії (м. Вінниця, Україна).

Мікроскопію і фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 при збільшеннях у 100 та 200 разів. Отримували і обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми "Quick PHOTO MICRO 2.3". Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1 мм²). При виконанні морфометричних досліджень керувалися основними засадами, викладеними в керівництві Г.Г. Автандилова [Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии / Автандилов Г.Г. // М.: Медицина, 2002. - 240 с.].

Цифрові дані наведені у вигляді "M±m", де M - середнє арифметичне значення, m - стандартна похибка. Вірогідність міжгрупових відмінностей визначали методом варіаційної статистики за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента. Розрахунки здійснювали за допомогою електронних таблиць Excel програмного забезпечення Microsoft Office-2010. Статистично достовірними вважали зміни при рівні вірогідності вище 95 % (p<0,05).

35 За нашими даним пошкодження СОШ, що виникало при застосуванні ібупрофену, призводило до зміни життєвого циклу епітеліоцитів та затримки їх диференціації, тобто, до порушення клітинного оновлення СОШ та її структурної дезорганізації. З метою оцінки клітинного оновлення СОШ як маркер проліферації нами був вибраний ядерний антиген Ki-67, оскільки він реєструється у всі активні фази клітинного циклу (G₁, S, G₂, та M), але відсутній у фазі спокою (G₀) [The Ki-67 protein interacts with members of the heterochromatin protein 1 (HP1) family: a potential role in the regulation of higher-order chromatin structure / T. Scholzen et al. // J. Pathol. - 2002. - Vol. 196. - P. 135-144; федченко С.Н. Роль маркеров клеточного обновления (Ki-67) и апоптоза в возникновении и прогрессировании нарушений клеточного гомеостаза эпителиоцитов желудка, ассоциированных с воздействием на организм паров толуола / С.Н. Федченко, Л.О. Галузина // Вісник проблем біології і медицини. - 2011. - Вип. 2, Т. 2. - С. 272-274.]. Йому надається перевага відносно Proliferating cell nuclear antigen (PCNA), який бере участь у репарації ДНК, що може відбуватися в G₀-фазі клітинного циклу.

При імуногістохімічному аналізі експресії регуляторного протеїну Ki-67 в СОШ щурів контрольної групи ІП був знижений на 5 % відносно інтактних тварин, що вказувало на системні зміни в організмі щурів при АА (табл.).

50

Таблиця

Проліфераційна активність епітеліоцитів СОШ (за Ki-67) в експериментальних групах (M±m)

Показники	Експериментальні групи			
	Інтактні (n=10)	Контроль АА без лікування (n=10)	АА+Ібупрофен(n=10)	АА+Ібупрофен+Вінборон(n=10)
Індекс проліферації	0,082±0,004	0,078±0,007	0,050±0,004	0,081±0,004
р відносно до групи монотерапії ібупрофеном	< 0,001	< 0,001	-	< 0,001

ІП тварин групи монотерапії ібупрофеном становив 0,05±0,004 (p<0,001 відносно інтактних тварин), що відповідало статистично достовірному зниженню ІП на 36 % щодо аналогічного показника тварин контрольної групи та узгоджується з літературними даними [Protective effect of Platycodin D in the acute gastric ulcer induced by Ibuprofen in rats / Ri Yu [et al.] // J. Vet. Clin. - 2013. - №30(1). - P. 5-11.].

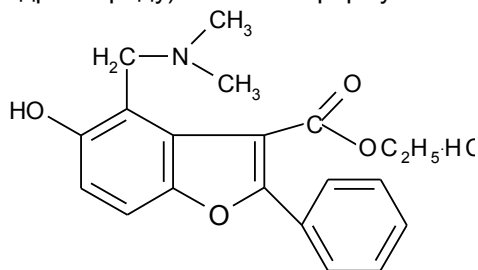
Експресія Ki-67 була достовірно (p<0,001) вищою в групі тварин, які отримували ібупрофен в комбінації з вінбороном, порівняно з групою тварин, яким був призначений тільки ібупрофен.

В інтактній групі, де індекс проліферації був найвищим, експресія Ki-67 спостерігалася на рівні зони типового проліфераційного компартмента СОШ і переважала саме в гермінативній зоні СОШ та місцями розповсюджувалася на ямковий епітелій (рис. 1 - виражена експресія Ki-67 в ядрах епітеліоцитів шлунка. Інтактна група, 28 день експерименту. ІГХ-маркування×100.). Позитивне маркування Ki-67 в ділянках СОШ в групі корекції вінбороном виявлено як в зоні перешийків залоз, так і в ямках та базальних відділах шлункових залоз (рис. 2 - помірна експресія Ki-67 в ядрах епітеліоцитів шлунка. Комбіноване застосування ібупрофену і вінборону, 28 день експерименту. ІГХ-маркування. ×100). В той час як при застосуванні ібупрофену без корекції спостерігали слабку експресію Ki-67 (рис. 3 - слабка експресія Ki-67 в ядрах епітеліоцитів шлунка. Монотерапія ібупрофеном, 28 день експерименту. ІГХ-маркування. ×200.).

ІП групи комбінованої фармакотерапії ібупрофеном та вінбороном (0081±0004) перевищував значення групи монотерапії ібупрофеном на 62 %, що практично зіставлялося з показниками інтактних тварин (0082±0004). Це вказувало на здатність вінборону нівелювати антипроліферативні властивості ібупрофену, що в свою чергу призводило до відновлення регенеративних властивостей епітелію СОШ.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Застосування вінборону (2-феніл-3-карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлориду) загальної формули:



як засобу, який здатний нівелювати антипроліферативний вплив ібупрофену на шлунковий епітелій.

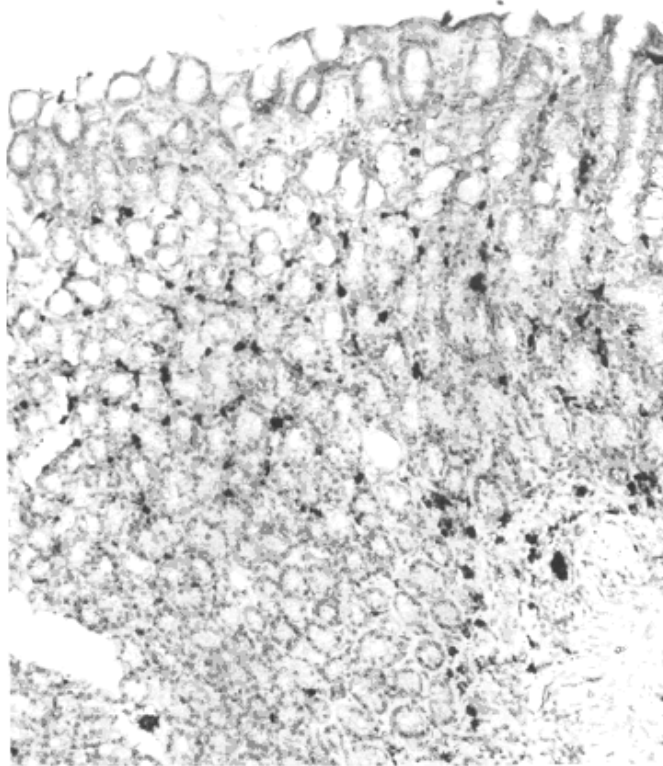


Рис. 1

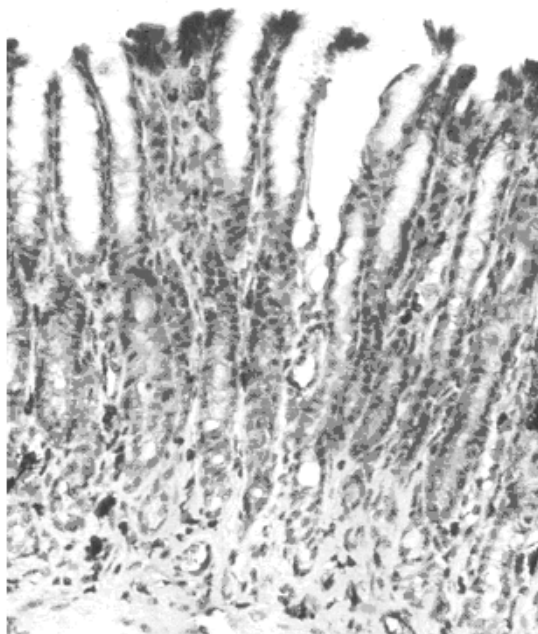


Рис. 2

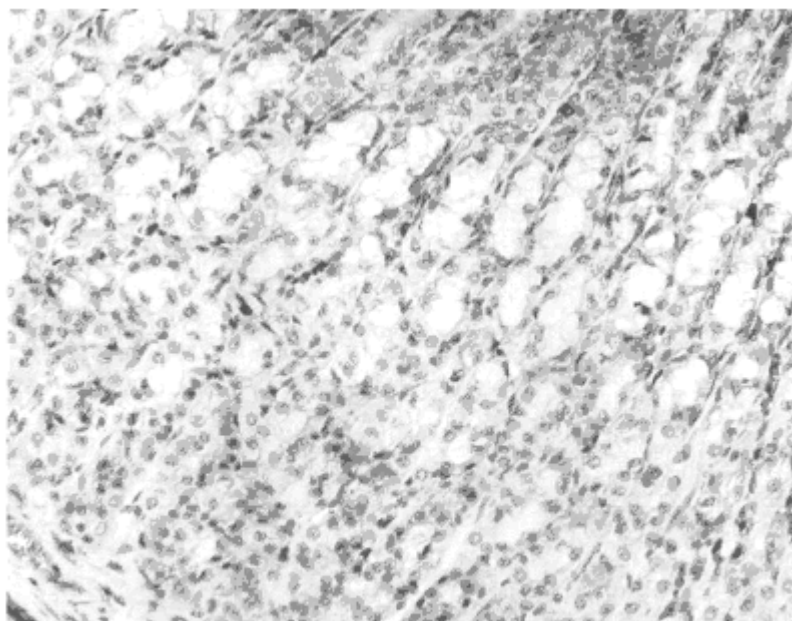


Рис. 3

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601