МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

АНДРЄЄВА ОЛЕНА ОЛЕКСАНДРІВНА

УДК: 615.243.4:616.33-002.2:547.459.5:547.972.35

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОМБІНАЦІЇ ПОХІДНИХ ГЛЮКОЗАМІНУ З КВЕРЦЕТИНОМ ПРИ ВИРАЗКОВИХ УРАЖЕННЯХ ШЛУНКА

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2010

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана на кафедрі клінічної фармакології з фармацевтичною опікою Національного фармацевтичного університету МОЗ України, м. Харків

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
ЗУПАНЕЦЬ Ігор Альбертович,
Національний фармацевтичний університет (м. Харків),
завідувач кафедри клінічної фармакології
з фармацевтичною опікою

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
МАСЛОВА Наталія Федорівна,
Державне підприємство
«Державний науковий центр лікарських
засобів і медичної продукції» (м. Харків),
завідувачка лабораторії біохімічної фармакології

доктор медичних наук, професор
СТЕПАНЮК Георгій Іванович,
Вінницький національний медичний університет
ім. М.І. Пирогова МОЗ України,
завідувач кафедри фармакології

Захист відбудеться «__» _____ 2010 року о ____ год на засіданні спеціалізованої вченої ради Д.64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «__» травня 2010 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради
доктор біологічних наук, професор Л.М. Малоштан

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Виразка шлунка (ВШ) зустрічається найчастіше серед захворювань шлунково-кишкового тракту: у світі на цю патологію страждає від 1,5% до 10% дорослого населення, у країнах Західної Європи 3% населення потребує тривалого лікування внаслідок ВШ (В. А. Шкитин, 2008). Найчастіше на цю патологію хворіють люди працездатного віку, що завдає значних економічних втрат (О. И. Карпов, 2003). Захворювання на ВШ, зокрема виразку шлунка та дванадцятипалої кишки (ВШ та ДПК) потребує адекватного, ефективного, нешкідливого та економічно вигідного лікування. Існуючий на сьогодні в Україні асортимент лікарських засобів для лікування ВШ та ДПК не зовсім задовольняє вищезазначеним вимогам, оскільки вона є поліетіологічним захворюванням, а лікарських засобів, дія яких спрямована на всі ланки її патогенезу, серед представлених на фармацевтичному ринку України майже немає. Це спонукає вчених до розробки та створення нових комбінацій лікарських засобів, які б впливали на більшість ланок етіопатогенезу ВШ та ДПК. Відомо, що провідна роль у маніфестації, формуванні та прогресуванні виразкового процесу у шлунку належить нейрогуморальним та місцевим механізмам, які спричиняють до розбалансування факторів «захисту» і «агресії» слизової оболонки шлунка (СОШ) і дванадцятитипалої кишки. Наприклад, розвиток ВШ та ДПК часто асоційований з прийомом нестероїдних протизапальних засобів (НПЗП), застосування яких, особливо у пацієнтів похилого віку, підвищує ризик розвитку виразки та кровотечі з гастродуоденальної зони в 10 разів (Н. В. Харченко, 2009). Така гастротоксичність НПЗП обумовлена їх місцевим механізмом дії – пригніченням синтезу та вивільнення простагландинів (ПГ) за рахунок інгібування ЦОГ, що призводить до порушення мікроциркуляції в СОШ, пошкодження гідрофобного шару та порушення складу фосфоліпідів СОШ, пригнічення секреції компонентів слизу – глюкозамінів та мукополісахаридів (А. С. Свінцицький, 2004).

Зважаючи на те, що на сьогодні поряд з місцевими та нейрогуморальними механізмами розвитку ВШ доведена важлива патогенетична роль активації перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) та вільнорадикальних процесів, доцільним є створення нового комбінованого лікарського засобу, компоненти якого забезпечували б вплив на більшість ланок патогенезу ВШ. Такими компонентами можуть бути антиоксидант природного походження кверцетин та похідні аміноцукру глюкозаміну – глюкозаміну гідрохлорид та N-ацетилглюкозамін. Кверцетин у складі комбінованого препарату буде виявляти мембраностабілізувальні, протизапальні властивості та сприяти відновленню мікроциркуляції у СОШ (О. А. Юр’єва, 2007). Екзогенні аміноцукри – глюкозаміну гідрохлорид та N-ацетилглюкозамін – можуть відновлювати рівень ендогенних глюкозаміногліканів і таким чином сприяти продукції компонентів слизу в осередку дефекту СОШ. Також аміноцукри виявляють протизапальні та репаративні властивості, що буде прискорювати відновлення СОШ та загоєння виразки (В. В. Пропісно-ва, 2007).

Все це та досвід сучасних учених стали підґрунтям для створення комбінації, компонентами якої обрані кверцетин та похідні глюкозаміну – глюкозаміну гідрохлорид та N-ацетилглюкозамін, показаної для лікування ВШ.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертація виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету «Фармакологічні дослідження біологічноактивних речовин і лікарських засобів синтетичного і природного походження, їх застосування в медичній практиці» (№ державної реєстрації 0103U000478).

Мета і завдання роботи. *Мета* роботи – експериментальне обґрунтування доцільності створення комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином як гастропротекторного лікарського засобу.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *завдання*:

1) порівняти гастротропні властивості різних груп нестероїдних протизапальних засобів на інтактних тваринах та в умовах, відповідних клінічному застосуванню НПЗП;
2) дослідити гастропротекторні властивості комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином та умовно-терапевтичну дозу;
3) визначити параметри гострої токсичності оригінальної комбінації на основі похідних глюкозаміну з кверцетином;
4) дослідити вплив комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином на функціональний стан шлунково-кишкового тракту інтактних лабораторних тварин;
5) визначити вплив комбінації на вміст ендогенного N-ацетилглюкозаміну при експериментальній НПЗП-гастропатії у порівнянні з окремими складовими;
6) провести поглиблене вивчення гастропротекторної активності комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином на моделі ацетатної виразки шлунка білих щурів у порівнянні із сукральфатом і кверцетином;
7) дослідити особливості гастропротекторної дії комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином на моделі серотонінового ураження слизової оболонки шлунка білих щурів та порівняти вираженість дії з референтними препаратами.

Об'єкт дослідження. Фармакологічне вивчення комбінації на основі глюкозаміну гідрохлориду, N-ацетилглюкозаміну з кверцетином.

Предмет дослідження. Гастропротекторні властивості похідних аміноцукру глюкозаміну, флавоноїду кверцетину та комбінації на їх основі при моделюванні експериментальних уражень шлунка у лабораторних тварин.

Методи дослідження. При виконанні дисертаційної роботи використовували фармакологічні, фізико-хімічні, фізичні, токсикологічні, гістоморфологічні методи дослідження та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність створення комбінації на основі похідних глюкозаміну: глюкозаміну гідрохлориду та N-ацетилглюкозаміну з кверцетином для профілактики та лікування виразкових уражень шлунка.

Встановлено, що комбінація яка вивчалась, є нешкідливою, не впливає на рухову активність шлунково-кишкового тракту та на секреторну активність шлунка лабораторних тварин. Доведена значна гастропротекторна дія комбінації, яка за ступенем вираженості переважає приблизно в 2 рази аналогічний ефект окремих компонентів комбінації. Макроскопічний аналіз показників, які характеризують стан СОШ щурів в умовах експериментальної патології виразкового ураження, свідчить про те, що профілактично-лікувальне введення комбінації похідних глю-

козаміну з кверцетином в умовно-терапевтичній дозі 100 мг/кг сприяє ефективному відновленню СОШ щурів, яке виражається в поліпшенні мікроциркуляції, інгібуванні запальних процесів і репарації дефектів слизової оболонки, які були морфологічно підтверджені на моделях серотонінової та ацетатної виразки.

Показано, що гастропротекторна дія комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином переважає препарати порівняння «Кверцетин» (гранули) та «Сукральфат» (таблетки) і реалізується за рахунок впливу на місцевий (шляхом відновлення ендогенного пулу ГАГ і, як наслідок, стану захисного шару слизу) та нейрогуморальний механізми пошкодження СОШ.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи є фрагментом доклінічного вивчення комбінації на основі похідних глюкозаміну – глюкозаміну гідрохлориду та N-ацетилглюкозаміну з кверцетином – з метою створення на її основі нового гастропротекторного препарату та його упровадження в медичну практику для профілактики та лікування виразкових захворювань шлунково-кишкового тракту.

За результатами дослідження видано методичні рекомендації «Модифікація фармакологічних властивостей нестероїдних протизапальних препаратів аміноцукром глюкозаміну гідрохлоридом» (2007 р.), які упроваджені у практику Національного наукового центру «Інститут кардіології ім. М. Д. Стражеска» АМН України (м. Київ), Інституту патології хребта та суглобів ім. проф. М.І. Ситенка АМН України (м. Харків), а також інформаційний лист «Профілактика НПЗП-гастропатій при виборі препаратів хондропротекторної дії» (2009 р.).

Особистий внесок здобувача. Робота виконана на базі ЦНДЛ НФаУ. Разом з науковим керівником визначені мета і завдання дослідження, розроблені методичні підходи до фармакологічного вивчення препарату. Особисто проведені патентно-інформаційний пошук, аналіз даних літератури з досліджуваної проблеми, експериментальні дослідження, статистична обробка, аналіз і узагальнення отриманих результатів, сформульовані основні положення та висновки дисертації. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведені результати власних експериментальних досліджень, проведені аналіз та узагальненні отриманих даних. Морфологічні дослідження здійснювалися за консультативної допомоги ст. н. с. ЦНДЛ НФаУ Ю.Б. Лар'яновської. Також дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація роботи. Результати наукових досліджень, що увійшли до дисертації, оприлюднені на науково-практичних конференціях, з'їздах та симпозіумах: V Всеукраїнській науково-практичній конференції "Клінічна фармація в Україні" (Харків, 2004); IV Українській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології "Актуальні питання фармакології" (Вінниця, 2004); Всеукраїнському науково-практичному семінарі "Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії" (Харків, 2004); VI Національному з'їзді фармацевтів України "Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України" (Харків, 2005); 1-ї Міжнародній науково-практичний конференції "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2006); VII Всеукраїнській науково-практичній конференції. "Клінічна фармація в Україні" (Харків, 2007); Всеукраїнській науково-

практичній конференції студентів та молодих учених “Актуальні питання створення нових лікарських засобів” (Харків, 2008); Всеукраїнському конгресі “Сьогодення та майбутнє фармації” (Харків, 2008); VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції “Клінічна фармація в Україні” (Харків, 2008).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових праць, з них 4 статті у фахових виданнях, 9 тез доповідей, 1 методичні рекомендації та 1 інформаційний лист.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 173 сторінках машинописного тексту і складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», трьох розділів експериментальних досліджень, аналізу і узагальнення результатів дослідження, висновків і списку використаних джерел; робота містить 22 таблиці та 40 рисунків, а також 256 літературних джерел, з них 137 кирилицею, 119 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Об’єктом дослідження була обрана принципово нова оригінальна комбінація (вироблена та надана ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ») на основі похідних глюкозаміну з кверцетином (пГА+Кв). У якості похідних глюкозаміну було використано – глюкозаміну гідрохлорид (ГА г/хл) та N-ацетилглюкозамін (N-ацГА). Вибір методів дослідження для виконання експериментальної частини цієї роботи здійснювався відповідно до поставленої мети, яка передбачає фармакологічне вивчення гастропротекторних властивостей нового комбінованого препарату і зіставлення особливостей його фармакологічної дії з окремими компонентами та відомими гастропротекторами, які знайшли застосування у медичній практиці, сукральфатом (таблетки) і кверцетином (гранули).

Усі дослідження були проведені на 747 лабораторних тваринах: 112 безпородних білих мишах і 635 безпородних білих щурах. Характеристика тварин наведена нижче при описі експериментальних моделей. Щури були вирощені у віварії ЦНДЛ НФаУ (м. Харків) згідно з методичними рекомендаціями ДФЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів» (2001) і перед початком експерименту проходили акліматизацію в умовах кімнати для проведення випробувань протягом 7-ми днів. Миші були отримані з розплідника лабораторних тварин СПДФО «О. Ю. Шаповалов» (м. Харків) і згідно з діючими нормами проходили карантин і акліматизацію протягом 14-и днів. Утримання тварин відповідало діючим правилам щодо пристроїв, обладнання та утримання віваріїв. Тварини отримували стандартне харчування відповідно до діючих норм (Ю. М. Кожем’якін і співавт., 2002). Усі втручання та умертвіння тварин здійснювали з дотриманням принципів “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей” (Страсбург, 1986 р., із змінами, внесеними в 1998 р.) та ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2001). Комісією з біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протокол № 4 від 15.11.2007 р.). Фармакологічні дослідження проводили у ЦНДЛ НФаУ, яка сертифікована ДФЦ МОЗ України як база досліджень з експериментальної фармакології (посвідчення № 21 від 30.04.2009 р.).

Основні етапи фармакологічних досліджень наведені на рис 1.

Етапи експериментального дослідження

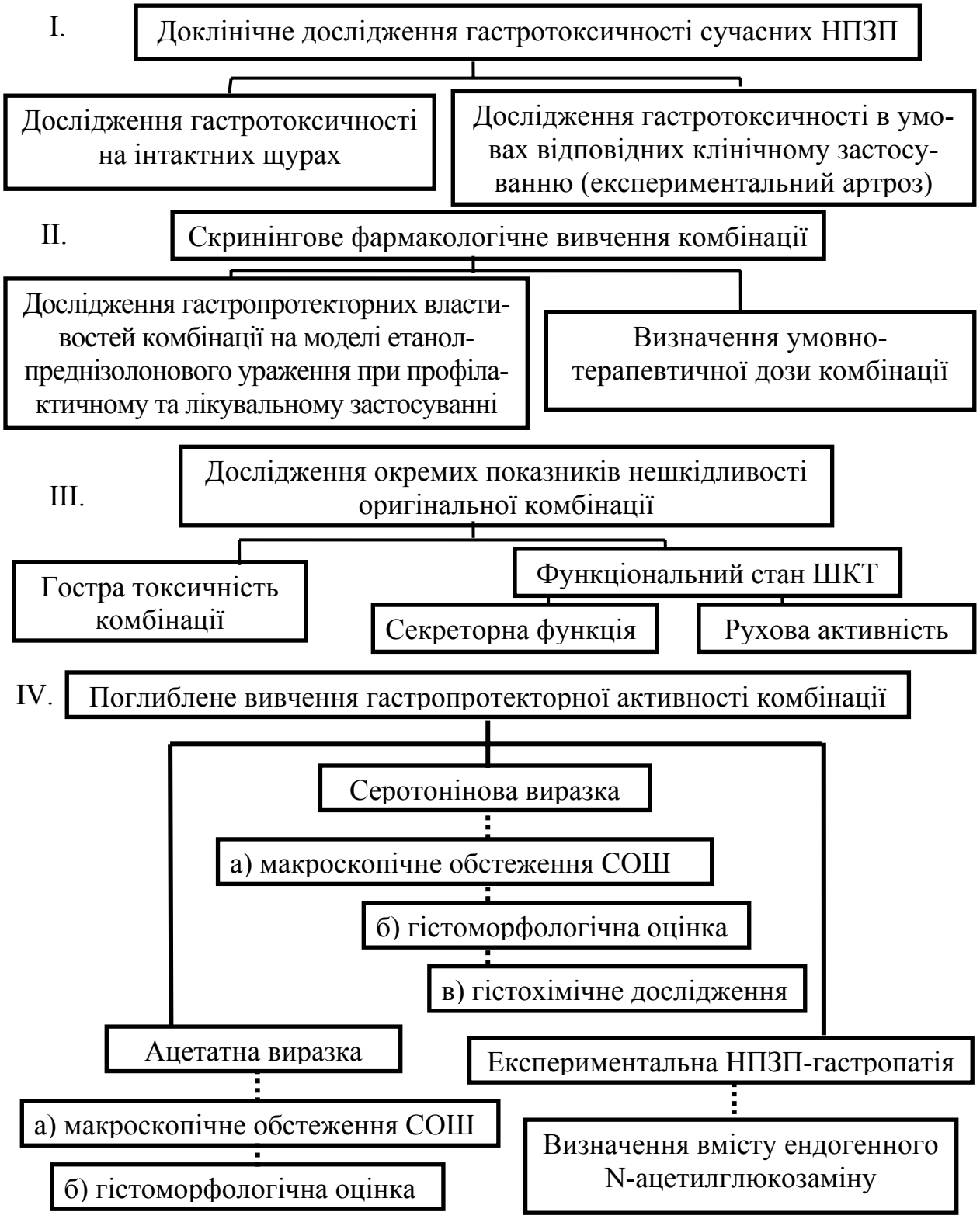

Рис. 1. Основні етапи та методи фармакологічних досліджень

На 1-ому етапі було доцільно довести необхідність застосування гастроцитопротекторів для профілактики та лікування одного з найбільш поширених різновидів виразкового ураження шлунка – НПЗП-асоційованої гастропатії. Для цього в експериментальних умовах вивчали ризик виникнення гастропатій при

тривалому застосуванні специфічних та селективних інгібіторів ЦОГ-2 рофекоксибу (денебол, виробництва Мілі Хелскере Лтд., Велика Британія) та німесуліду (месулід, «Sanofi-Synthelabo», Франція) у порівнянні з неселективним НПЗП диклофенаком натрію (ортофен, ФФ «ФК «Здоров'я», Україна). Дози препаратів, що досліджувались, були перераховані з добової дози для людини на дозу для щурів з використанням коефіцієнта видової чутливості за Ю. Р. Риболовлевим (Ю. Р. Риболовлев та співавт., 1979).

З метою оцінки тривалого впливу на стан СОШ інтактних щурів денеболу, месуліду та ортофену їх уводили внутрішньошлунково один раз на добу протягом 30 та 60 діб. Денебол досліджували у трьох дозах – 0,75; 1,5 та 3,0 мг/кг; месулід – у дозі 12,0 мг/кг; ортофен – у дозі 4 мг/кг. Контрольним групам тварин уводили еквівалентний їхній масі об'єм питної води. Після закінчення експериментів на 30-й та 60-й день тварин виводили з досліду, виймали шлунок та макроскопічно оцінювали стан СОШ за такими показниками: відсоток тварин із виразковими ураженнями СОШ, наявність складчастості та гіперемії у відсотках, кількість та площа виразок, ерозій та геморагій у балах; розраховували інтегральний показник стану СОШ – виразковий індекс (ВІ) (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

Аналогічні дослідження були проведені також в умовах патології опорно-рухового апарату, для лікування якої ці НПЗП найчастіше призначаються, а саме – експериментального артрозу у щурів. Артроз моделювали у тварин усіх дослідних та контрольної груп згідно з методикою (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Препарати вводили у тих же дозах, що й у попередньому експерименті. Оцінку стану СОШ здійснювали за вищенаведеними показниками.

Наступним етапом нашої роботи (рис. 1) було вивчення специфічних фармакологічних властивостей комбінації пГА+Кв та визначення умовно-терапевтичної дози при експериментальному пошкодженні СОШ на моделі етанол-преднізолонової виразки шлунка у щурів, а також окремих параметрів її нешкідливості, а саме: гострої токсичності та впливу на секреторну функцію шлунка і рухову активність ШКТ.

З метою визначення $ЛД_{50}$ та відтворення клініки гострого отруєння гостру токсичність комбінації на основі кверцетину та похідних глюкозаміну вивчали відповідно до методичних рекомендацій (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001) на мишах обох статей за умов триразового внутрішньошлункового введення.

Оцінку ступеня вираженості гастропротекторної дії комбінації пГА+Кв та визначення її умовно-терапевтичної дози проводили на моделі етанол-преднізолонової виразки шлунка у щурів (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Для визначення профілактичної ефективності комбінації пГА+Кв у порівнянні з окремими компонентами їх уводили внутрішньошлунково одноразово щодня протягом 7 діб, на 8-му добу моделювали виразкове ураження СОШ внутрішньошлунковим уведенням суміші преднізолону зі спиртом етиловим. Лікувальна ефективність нового комбінованого препарату та його окремих компонентів оцінювалася при такому режимі введення: досліджувані речовини вводили внутрішньошлунково за 1 годину до та через 3 години після моделювання етанол-преднізолонової виразки шлунка у щурів. Щурам дослідних груп уводили кверце-

тин у дозі 13 мг/кг, ГА г/хл у дозі 42 мг/кг, N-ацГА у дозі 42 мг/кг, комбінацію пГА+Кв уводили в трьох дозах: 50, 100 та 200 мг/кг. Тваринам контрольних груп уводили еквівалентну їхній масі кількість води. Через добу після маніфестації етанол-преднізолонового пошкодження СОШ тварин виводили з досліду під ефірним наркозом, виймали шлунок, візуально оцінювали стан СОШ за вищенаведеними показниками та визначали гастропротекторну активність у % (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

Вплив комбінації пГА+Кв, а також окремих її компонентів (ГА г/хл, N-ацГА та кверцетину) на секрецію шлункового соку і на рухову активність ШКТ проводили за загальноприйнятими методами (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

На третьому етапі досліджень здійснювали поглиблене фармакологічне вивчення комбінації пГА+Кв та з'ясовували можливі механізми її гастропротекторної активності (рис. 1). Для вивчення впливу комбінації пГА+Кв на пул ендогенних глюкозаміну були відтворені умови виразкового ураження шлунка за типом НПЗП-гастропатії, викликаного ацетилсаліциловою кислотою (АСК). АСК уводили в дозі 150 мг/кг п'ятикратно протягом 3-х діб (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Препарати, що досліджуються – ГА г/хл, N-ацГА та комбінацію пГА+Кв – вводили внутрішньошлунково 1 раз на добу протягом 15 та 30 діб (лікувально-профілактичний режим введення). Наприкінці дослідів тварин виводили з експерименту, збирали кров, вилучали шлунок і здійснювали біохімічне визначення ендогенного N-ацГА у сироватці та гомогенаті тканини шлунка за методом І. А. Зупанця (1996).

Для визначення можливих механізмів гастропротекторної дії комбінації пГА+Кв відтворювали експериментальні моделі виразки шлунка, патогенез яких обумовлений нейрогуморальними (центральними) та гастродуоденальними (місцевими) механізмами пошкодження СОШ. Нейрогуморальний механізм виразкового пошкодження СОШ характерний для моделі гострої виразки шлунка у щурів, викликаної серотоніном (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Модель виразки шлунка у щурів, викликана уведенням оцтової кислоти в стінку шлунка при оперативному втручанні, відображає гастродуоденальний механізм розвитку виразкової патології шлунка.

Як препарати порівняння в цих дослідах використовували кверцетин (гранули) (виробництва ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м.Київ) та сукральфат (виробництва ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», м. Київ).

Гостру серотонінову виразку шлунка у щурів викликали однократним внутрішньочеревинним уведенням серотоніну в дозі 30 мг/кг. Досліджувані препарати (комбінацію пГА+Кв в дозі 100 мг/кг, кверцетин у дозі 180 мг/кг та сукральфат в дозі 240 мг/кг) уводили внутрішньошлунково в профілактично-лікувальному режимі один раз на добу протягом 7 діб до маніфестації виразки шлунка та через 2 години після (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Для оцінки вираженості патології та лікувальної дії досліджуваних препаратів проводили макроскопічне, гістологічне та гістоморфологічне обстеження структурно-функціонального стану СОШ з використанням загальноприйнятих методів. У ході гістоморфологічного аналізу ставили ШІК-реакцію за Мак-Манусом для виявлен-

ня глікопротеїнів (нейтральних мукополісахаридів), проводили виявлення глікозаміногліканів (ГАГ) – кислих мукополісахаридів – за допомогою колоїдного гідроокису заліза за методом Хейла (Г. А. Меркулов). На препаратах проводили напівкількісну оцінку деструктивних порушень та запальних явищ у СОШ за бальною шкалою. Статистичну обробку результатів гістоморфологічного аналізу проводили, застосовуючи непараметричний аналог однофакторного дисперсійного аналізу – критерій Крускала-Уоліса, після чого застосовували критерій Мана-Уїтні (стандартний пакет статистичних програм "Statistica 4.3") (Р. М. Салимов, 2000; С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич, 2001). Перегляд мікропрепаратів проводили під мікроскопом Mikros 400 (Австрія), мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровим фотоапаратом Nicon Cool Pix 4500. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Nicon Viw 5.

Особливості лікувальної ефективності комбінації вивчали в умовах хронічної моделі оцтовокислого виразкового ураження шлунка в порівнянні з кверцетином та сукральфатом (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Виразку шлунка у щурів моделювали безпосереднім уведенням 30% розчину оцтової кислоти у підсерозний шар шлунка при оперативному втручанні. Спостереження за тваринами та введення препаратів у визначених дозах після моделювання виразкового ураження шлунка тривало 12 діб, починаючи з першої післяопераційної доби. Після завершення експерименту щурів усіх груп умертвляли під ефірним наркозом, вилучали шлунки, які досліджували макроскопічно та за допомогою гістоморфологічних методів, застосовуючи критерії оцінки, описані в попередньому дослідженні на моделі серотонінової виразки шлунка у щурів.

Усі отримані експериментальні дані обробляли методами параметричної та непараметричної статистики (С. М. Лапач зі співавт., 2001) за допомогою стандартного пакета статистичних програм «Statistica, v. 6,0» (StatSoft inc.USA).

Результати досліджень та їх обговорення.

Зважаючи на обмеженість та суперечливість даних щодо впливу на стан СОШ сучасних НПЗП з групи селективних інгібіторів ЦОГ-2, на І етапі нашої роботи було доцільно дослідити ризик виникнення гастропатій при тривалому їх застосуванні в дослідах на інтактних щурах та в умовах, адекватних клінічним. Встановлено, що тривале, протягом 30 та 60 діб уведення терапевтичних доз денеболу, месуліду та ортофену здоровим щурам призводить до розвитку у тварин пошкоджень СОШ різного ступеня, яке поглиблюється із збільшенням як дози, так і терміну застосування препаратів. Гастротоксичний потенціал препаратів зростає у такому ряду: денебол у дозі 0,75 мг/кг < денебол у дозі 1,5 мг/кг < денебол у дозі 3,0 мг/кг < месулід у дозі 12 мг/кг < ортофен у дозі 4 мг/кг.

В умовах експериментальної патології опорно-рухового апарату (експериментальний артроз) відбувається зниження резистентності організму щурів до дії ульцерогенних факторів. Тенденції та закономірності прояву гастротоксичності обраних НПЗП, які застосовуються при артрозі, зберігаються такими ж, як і в умовах інтактного організму. Таким чином, тривалий (протягом 30 та 60 діб) вплив специфічних та селективних інгібіторів ЦОГ, які вважаються більш гастроентерологічно безпечними, ніж неселективні інгібітори ЦОГ, не виключає розвитку патологічних змін в СОШ як здорових щурів, так і щурів з

експериментальною патологією опорно-рухового апарату. В останньому випадку вираженість таких змін більш глибока, ніж у здорових щурів, що свідчить про системність даної патології та відображається зниженням резистентності всього організму дослідних тварин. Отримані результати обґрунтовують доцільність використання гастропротекторних лікарських засобів на тлі застосування як неселективних, так і селективних НПЗП, особливо при їх тривалому застосуванні.

Відповідно до загальноприйнятих вимог у процесі створення нового лікарського засобу на етапі доклінічних досліджень обов'язковим є вивчення параметрів гострої токсичності (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). У дослідах на мишах обох статей встановлено, що після внутрішньошлункового введення комбінації пГА+Кв у дозі 5000 мг/кг ознак інтоксикації у тварин не виявлено, загибелі тварин протягом всього періоду спостереження (14 діб) не зареєстровано. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К. К. Сидорова (1973) комбінація пГА+Кв при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – «практично нетоксичні» речовини.

Скринінгові дослідження гастропротекторної дії комбінації пГА+Кв у різних дозах у порівнянні з її окремими компонентами проводили на моделі етанол-преднізолонової виразки шлунка у щурів (рис. 2).

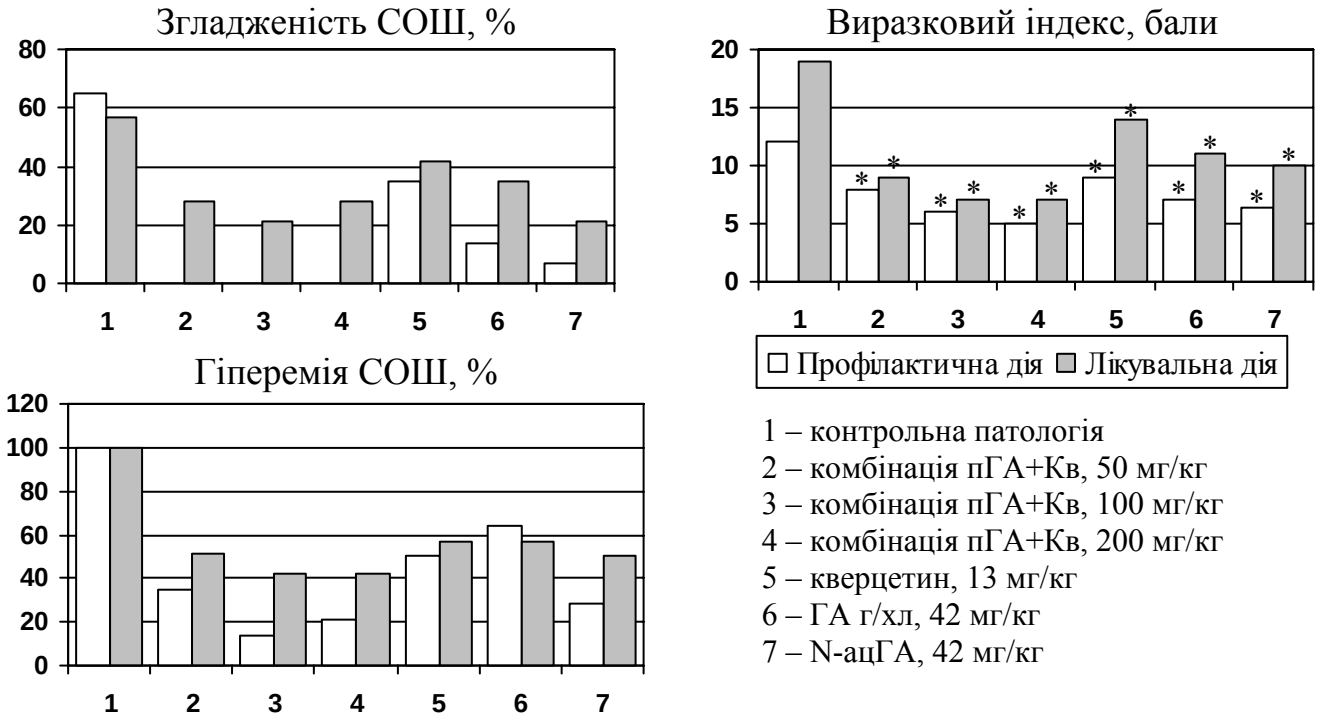

Рис. 2. Гастропротекторні властивості дослідної комбінації при етанол-преднізолоновій виразці шлунка у щурів (профілактична та лікувальна дія)

Примітка. * – відхилення вірогідні щодо контрольної патології, $p \leq 0,05$.

Вибір моделі обґрунтований відомими властивостями компонентів комбінації пГА+Кв, які корелюють з механізмом розвитку пошкодження СОШ сумішшю преднізолону та спирту етилового. Преднізолон є глюкокортикостероїдом і пригнічує біосинтез та вивільнення простагландинів, які беруть участь у регуляції мікроциркуляції крові. Спирт етиловий 80% концентрації механічно пошкоджує СОШ за рахунок денатурації протеїнів і таким чином поглиблює

порушення мікроциркуляції та деструкцію мембран, у тому числі і їх глюкозамінвмісних компонентів, що призводить до втрати слизовою оболонкою шлунка та гідрофобним шаром ендогенних глюкозамінів. При профілактичному/лікувальному режимі введення враженість дії комбінації пГА+Кв у дозах 50, 100 та 200 мг/кг переважає аналогічну дію кверцетину у 1,3/1,6; 1,7/2,0 та 1,7/1,8 рази відповідно, ГА г/хл – 1,2/1,3;1,4/1,5 та 1,5/1,2 рази відповідно, N-ацГА – 0/0; 1,1/1,1 та 1,1/1,1 рази відповідно. Аналізуючи виразність гастропротекторної дії комбінації пГА+Кв у трьох дозах (50, 100 та 200 мг/кг) ми дійшли висновку, що найбільш ефективною за сумарним рейтингом показників є доза 100 мг/кг, яка була обрана за умовно-терапевтичну В умовах цих дослідів показано, що гастропротекторна дія обраних об'єктів була вираженішою при профілактичному введенні, ніж при лікувальному. Такий факт можна пояснити тим, що при профілактичному введенні комбінація пГА+Кв та її окремі компоненти підвищують загальну резистентність організму тварин. Так, кверцетин покращує мікроциркуляцію крові та функціональний стан СОШ завдяки притаманним йому антиоксидантним та мембраностабілізувальним властивостям (А. А. Мойбенко, 2004). Екзогенні похідні глюкозаміну – ГА г/хл та N-ацГА – поповнюють пул ендогенних глюкозамінів, у тому числі в слизовій оболонці шлунка, а також за рахунок відомих протизапальних властивостей попереджають розвиток виразкового ураження СОШ щурів. Отже, комбінація виявляє виражену гастропротекторну дію, яка є результатом синергічної дії її компонентів – кверцетину, ГА г/хл та N-ацГА.

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що комбінація пГА+Кв та її окремі компоненти не впливають на об'єм ШС, тобто не стимулюють його секрецію. Також препарати не змінюють, вірогідно до контрольної групи, ні загальну, а зв'язану кислотність. Це свідчить про нешкідливість комбінації пГА+Кв та похідних глюкозаміну – ГА г/хл та N-ацГА відносно секреторної функції шлунка лабораторних тварин. Отже, установлені властивості комбінації пГА+Кв дають змогу рекомендувати її для лікування в клінічних умовах захворювань шлунка не тільки з підвищеною кислотністю, а й з нормацидними станами, і навіть зі зниженою кислотоутворювальною функцією, яка також супроводжує виразки шлунка.

Спираючись на те, що комбінація пГА+Кв має внутрішньошлунковий шлях уведення, доцільно було вивчити її вплив у порівнянні з окремими компонентами (кверцетином, ГА г/хл і N-ацГА) на рухову активність ШКТ. На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що одноразове введення комбінації пГА+Кв у умовно-терапевтичній дозі 100 мг/кг та її окремих компонентів (кверцетину у дозі 13 мг/кг, ГА г/хл у дозі 42 мг/кг та N-ацГА у дозі 42 мг/кг) не впливає на рухову активність ШКТ, тобто не змінює перистальтику кишечника.

Відомо, що основними етіопатогенетичними механізмами маніфестації та розвитку ВШ та ДПК є нейрогуморальний (центральний) і місцевий (гастродуоденальний), а ВШ та ДПК є поліетіологічним захворюванням і визначається як сумісне порушення нервових, гуморальних і місцевих механізмів функціонування СОШ (Ю. С. Малов, 1991). Виходячи з цього необхідно обирати і адекватну етіопатогенезову фармакотерапію. Пошук та вивчення противиразкових

лікарських засобів здійснюється в доклінічних умовах за допомогою моделювання патологічного процесу у лабораторних тварин. Але різноманітність етіопатогенетичних факторів ВШ у людини ускладнює розроблення однієї збірної моделі у тварин, яка найбільш повно відображає ознаки патологічного процесу. Найчастіше вдається моделювати окремі прояви захворювання, а не всю хворобу в цілому. Отже, фармакологічне вивчення противиразкових засобів необхідно проводити на декількох моделях патології з різним механізмом маніфестації та розвитку.

У попередньому дослідженні нами установлено гастропротекторну дію комбінації пГА+Кв на моделі етанол-преднізолонової виразки шлунка у щурів, яка характеризується комбінованим (нейрогуморальним та місцевим) механізмом розвитку дефекту СОШ.

Аналогічні механізми задіяні й у розвитку виразкового ураження шлунка, викликаного НПЗП ацетилсаліциловою кислотою. Відомо, що НПЗП викликають виразкове ураження шлунка за рахунок пригнічення синтезу та вивільнення ПГ інгібуванням ЦОГ, таким чином порушуючи мікроциркуляцію крові в СОШ, що призводить до пошкодження гідрофобного шару та порушення складу фосфоліпідів СОШ, до пригнічення секреції компонентів слизу, які містять глюкозаміни: гексозамінів та мукополісахаридів. На підставі вищевикладеного та з метою підтвердження одного з механізмів дії комбінації пГА+Кв – відновлення пулу ендогенних глюкозамінів – було доцільно дослідити можливість корекції рівня ендогенного глюкозаміну в умовах виразкового ураження шлунка, викликаного НПЗП (ацетилсаліциловою кислотою), компонентами комбінації пГА+Кв екзогенними похідними глюкозаміну – ГА г/гх та N-ацГА (рис. 3).

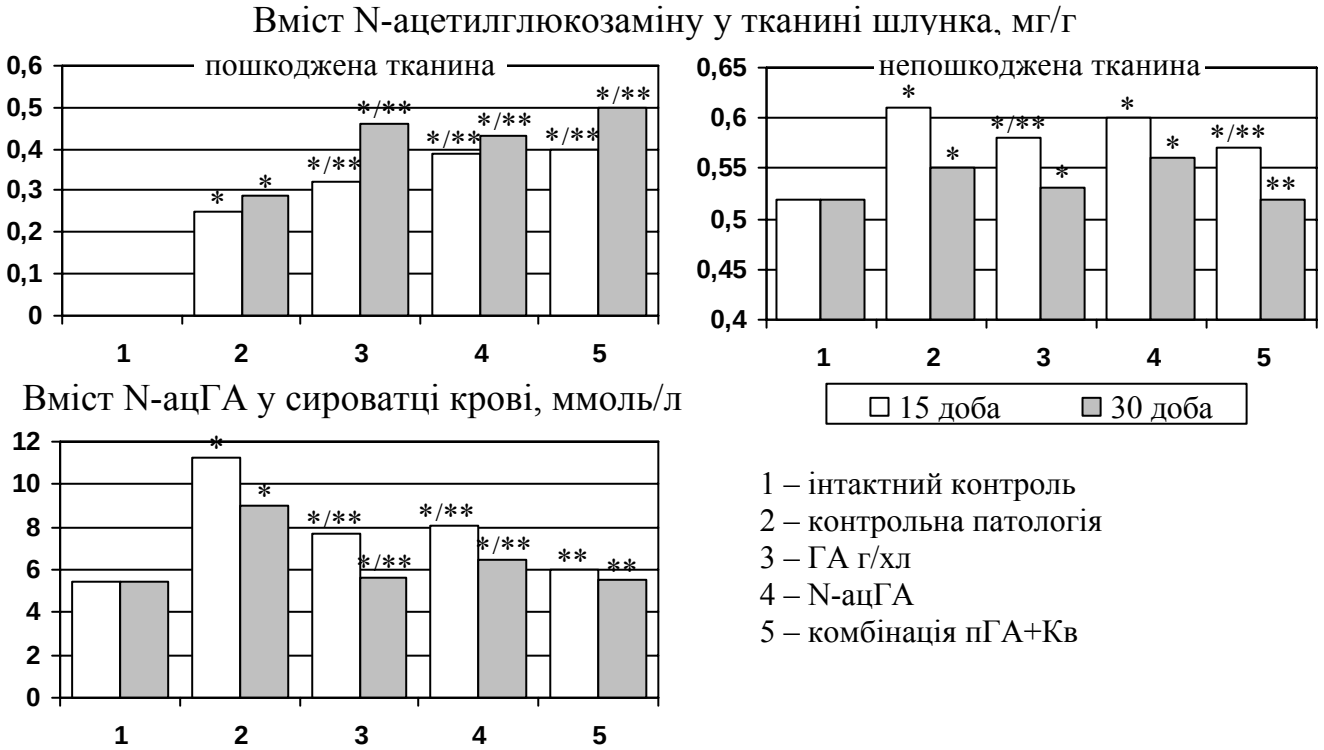

Рис. 3. Вплив комбінації на рівень ендогенного N-ацГА в умовах розвитку експериментальної НПЗП-гастропатії у щурів

Примітки: 1. * – відхилення вірогідні щодо інтактного контролю, $p \leq 0,05$;
2. ** – відхилення вірогідні щодо контрольної патології, $p \leq 0,05$.

Деструкція СОШ та її глюкозамінвмісних структур, призводила до зниження пулу ендогенного N-ацГА в пошкодженій ділянці шлунка, та збільшення рівня вивільненого з цих ділянок ендогенного N-ацГА в сироватці крові дослідних щурів. Лікування НПЗП-індукованої виразки шлунка у щурів екзогенними компонентами комбінації пГА+Кв – ГА г/хл та N-ацГА сприяє достовірному відновленню ендогенних резервів глюкозамінів в організмі тварин та використанню їх для відновлення слизової оболонки шлунка. Враховуючи ці дані, можна зробити висновок, що один з механізмів дії комбінації пГА+Кв опосередковується її компонентами ГА г/хл та N-ацГА, які, поповнюючи пул ендогенних резервів N-ацГА та сприяючи його включенню до біологічних мембран, компонентів слизу та інших сполучнотканинних структур, сприяють корекції рівня ендогенного глюкозаміну в пошкодженій ділянці шлунка та її відновленню. У відновленні СОШ, а саме швидшому загоєнні виразкового дефекту та відновленні функціонального стану СОШ, і самого органа в умовах цієї експериментальної патології, крім відновлення ендогенного пулу глюкозаміну, відіграють певну роль протизапальні та цитопротекторні властивості компонентів комбінації пГА+Кв – ГА г/хл та N-ацГА.

Нейрогуморальні механізми пошкодження СОШ характерні для моделі гострої виразки шлунка у щурів, викликаної серотоніном, оскільки серотонін є нейромедітором з групи біогенних амінів і міститься майже в усіх органах і тканинах, але близько 90% його визначається в ентерохромафінних клітинах шлунково-кишкового тракту. Ендогенний серотонін, збуджуючи відповідні рецептори, викликає вазоконстрикцію, підвищує АТ, активує агрегацію тромбоцитів, підсилює тонус та перистальтику ШКТ, стимулює розвиток болю, запалення й алергічної реакції тощо. Зважаючи на те, що мішенню для дії екзогенного серотоніну є ШКТ, з метою визначення механізму дії комбінації пГА+Кв в порівнянні з кверцетином та сукральфатом проводили визначення їх профілактично-лікувальної дії на моделі гострого нейрогуморального пошкодження СОШ, викликаного внутрішньочеревинним уведенням серотоніну (Л. В. Яковлева, 2001).

Макроскопічний аналіз показників, які характеризують стан СОШ щурів в умовах серотонінової виразки шлунка, свідчить про те, що профілактично-лікувальне введення комбінації пГА+Кв в умовно-терапевтичній дозі 100 мг/кг сприяло ефективному відновленню СОШ дослідних щурів, яке виявлялося у покращенні мікроциркуляції, трофічних процесів, інгібуванні запального процесу та репарації дефектів СОШ (рис. 4). Визначено значущу перевагу комбінації пГА+Кв над препаратами порівняння кверцетином та сукральфатом за вираженістю гастропротекторної дії в умовах серотонінової виразки шлунка у щурів: комбінація пГА+Кв (74,60%) має перевагу над кверцетином (47,91%) у 1,6 рази та над сукральфатом (63,58%) у 1,2 рази.

До аналогічних висновків дозволяє дійти і аналіз результатів гістоморфологічного якісного та напівкількісного дослідження. Установлено, що під впливом комбінації пГА+Кв у дозі 100 мг/кг спостерігається зменшення в порівнянні з групою контрольної патології показника деструкції СОШ у 5,1 рази, тоді як під впливом кверцетину в дозі 180 мг/кг – у 2,49 рази, а сукральфату в дозі 240 мг/кг – у 1,6 рази. Протизапальна дія комбінації пГА+Кв та препаратів порівняння виявилася в зниженні набряку та запальної реакції в СОШ.

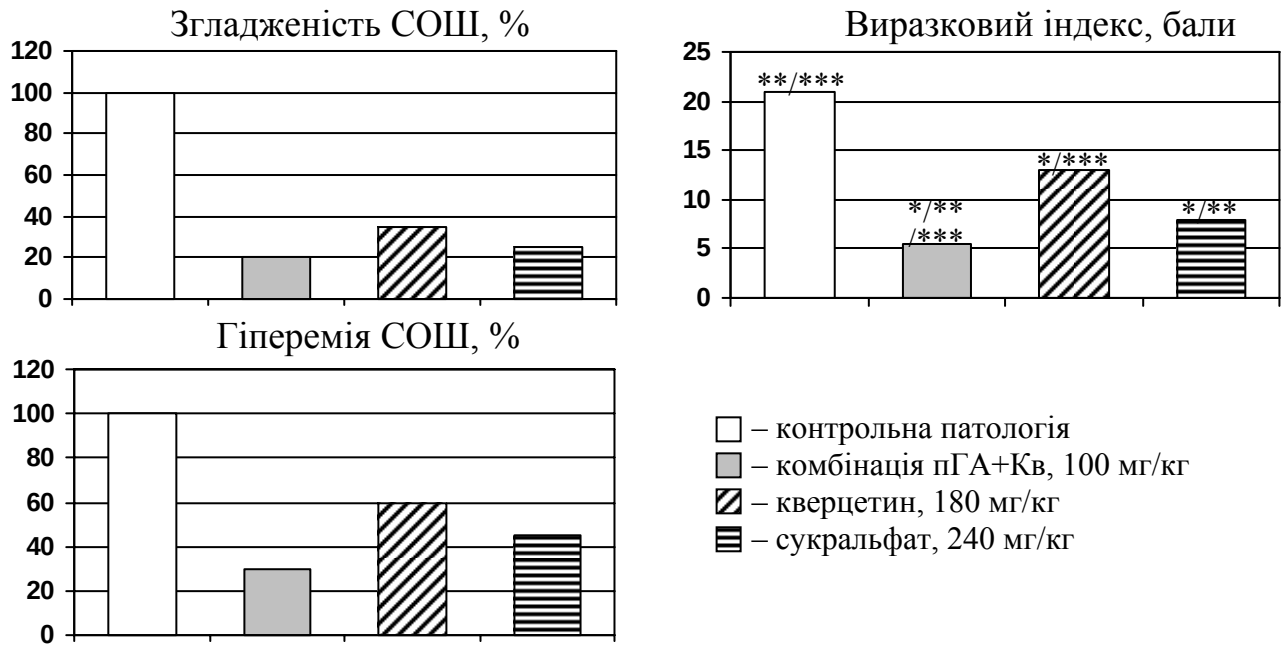

Рис. 4. Гастропротекторні властивості дослідної комбінації в умовах розвитку серотонінового ураження шлунка у щурів

Примітки:

1. * – відхилення вірогідні щодо групи контрольної патології, $p \leq 0,05$;
2. ** – відхилення вірогідні щодо групи, яка отримувала кверцетин, $p \leq 0,05$;
3. *** – відхилення вірогідні щодо групи, яка отримувала сукральфат, $p \leq 0,05$.

Комбінація пГА+Кв та препарати порівняння відновлювали мікроциркуляцію крові в пошкоджених ділянках СОШ, про що свідчить зменшення в порівнянні з групою контрольної патології проявів порушення кровообігу в СОШ та підслизовому шарі. Про вираженість гастропротекторної дії препаратів, що вивчаються, свідчить пригнічення відповідно до контрольних значень проліферативних процесів. Збільшення потужності ШІК-позитивної реакції в порівнянні з групою контрольної патології свідчить про те, що комбінація пГА+Кв і менше за неї кверцетин, на відміну від сукральфату, сприяють відновленню захисного муцинового шару, функціональної активності пепсинутворювальних клітин. Цей висновок перекликається з результатами вивчення стану секреторної активності шлунка, які засвідчили, що комбінація пГА+Кв не впливає на секреторну активність шлунка лабораторних тварин. Взагалі за вираженістю терапевтичної ефективності в умовах гострої серотонінової виразки шлунка комбінація пГА+Кв у дозі 100 мг/кг має перевагу в середньому над кверцетином в дозі 180 мг/кг у 1,7 рази, а над сукральфатом у дозі 240 мг/кг – у 2,2 рази.

Отже, аналіз результатів макроскопічних гістоморфологічних якісних та напівкількісних досліджень стану СОШ щурів в умовах серотонінової виразки шлунка свідчить про те, що профілактично-лікувальне введення препаратів, що вивчалися, сприяло значному в порівнянні з групою контрольної патології зниженню вираженості деструктивних змін у СОШ, але найефективнішою виявилась комбінація пГА+Кв у дозі 100 мг/кг (рис. 5).

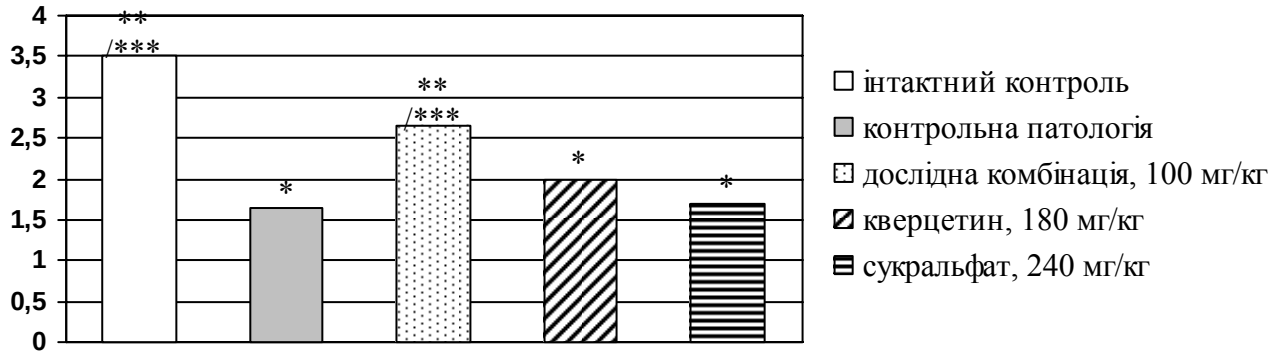

Рис. 5. Гістохімічний аналіз вмісту полісахаридів у СОШ щурів в умовах розвитку серотонінової виразки шлунка

Примітки:

1. * – відхилення вірогідні щодо групи інтактного контролю, $p \leq 0,05$;
2. ** – відхилення вірогідні щодо групи, яка отримувала кверцетин, $p \leq 0,05$;
3. *** – відхилення вірогідні щодо групи, яка отримувала сукральфат, $p \leq 0,05$.

Спираючись на це, ми дійшли висновку, що одним з механізмів гастропротекторної дії комбінації пГА+Кв є вплив на нейрогуморальну ланку етіопатогенезу ВШ та ДПК, що дозволяє рекомендувати застосування в клінічних умовах комбінації пГА+Кв для лікування випадків гострої виразки шлунка.

Найбільш адекватною до ВШ у людини з місцевим (гастродуоденальним) механізмом є хронічна (з тривалим перебігом) модель виразки шлунка у щурів, викликана уведенням оцтової кислоти в стінку шлунка при оперативному втручанні. Перебіг оцтовокислої виразки шлунка у щурів відрізняється від перебігу інших моделей тим, що до виразкового процесу залучаються усі шари шлункової стінки, відзначається ексудація і лейкоцитарна інфільтрація слизового, підслизового і м'язового шарів шлунка поблизу виразки. На підставі вищенаведеного з метою визначення механізму гастропротекторної дії комбінації пГА+Кв на основі кверцетину й похідних ГА при тривалому впливі доцільним та необхідним є проведення дослідження лікувальної дії комбінації пГА+Кв у порівнянні з кверцетином та сукральфатом на моделі хронічного (з місцевим механізмом) ураження слизової оболонки шлунка, викликаного оцтовою кислотою.

За результатами макроскопічного дослідження установлено, що в групі тварин, яких в умовах оцтовокислої виразки шлунка лікували комбінацією пГА+Кв в умовно-терапевтичній дозі 100 мг/кг, спостерігали відновлення мікроциркуляції й трофічних процесів у СОШ, пригнічення запалення й репарацію дефектів СОШ, що відображалось в інтегральному показникові – гастропротекторній активності, значення якої становить 64,24% (рис. 6). Ці висновки підтверджують результати гістоморфологічного дослідження. Порівняльний аналіз макроскопічних та морфологічних показників, які характеризують стан СОШ щурів в умовах оцтовокислої виразки шлунка, дозволяє зробити висновок про значущу перевагу комбінації пГА+Кв над препаратами порівняння кверцетином та сукральфатом. Аналіз макроскопічних показників свідчить, що за вираженістю гастропротекторної дії в умовах хронічної оцтовокислої виразки шлунка у щурів комбінація пГА+Кв (64,24%) має перевагу над кверцетином (38,89%) у 1,7 рази та над сукральфатом (43,44%) у 1,5 рази. Також морфологі-

чно доведена значуща гастропротекторна дія комбінації пГА+Кв, яка за вираженістю переважає гастропротекторну дію препаратів порівняння кверцетину та сукральфату.

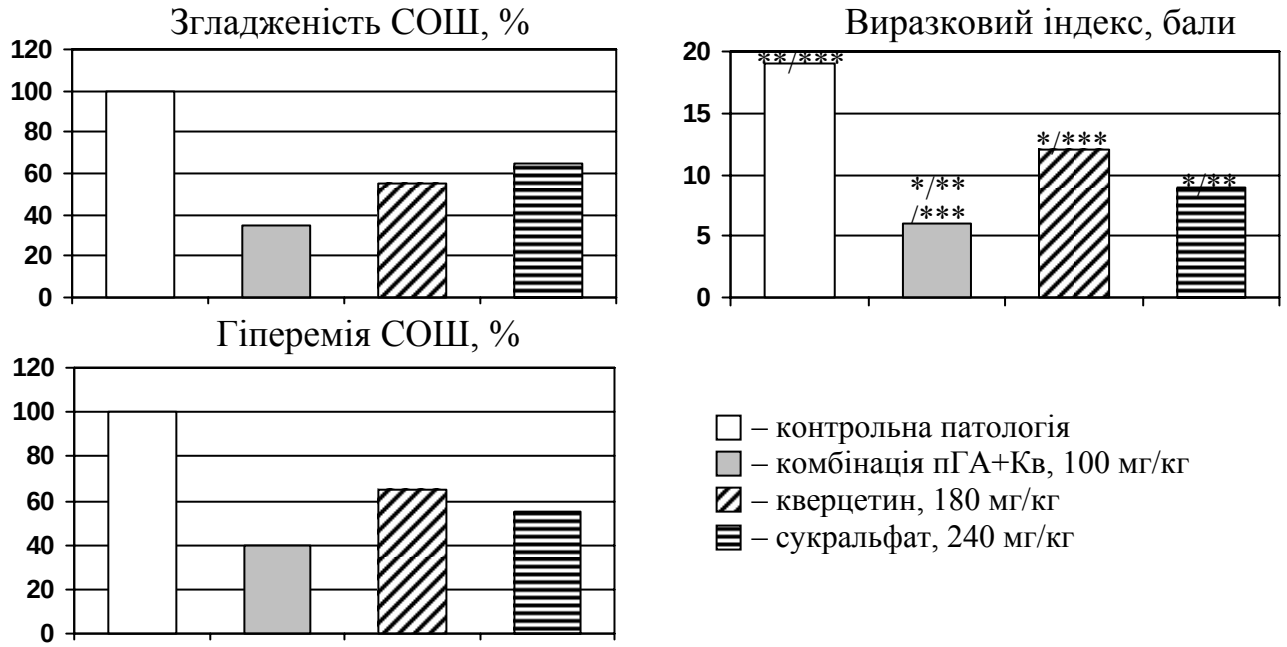

Рис. 6. Гастропротекторні властивості дослідної комбінації в умовах розвитку ацетатної виразки шлунка у щурів

Примітки:

1. * – відхилення вірогідні щодо групи контрольної патології, $p \leq 0,05$.
2. ** – відхилення вірогідні щодо групи, яка отримувала кверцетин, $p \leq 0,05$;
3. *** – відхилення вірогідні щодо групи, яка отримувала сукральфат, $p \leq 0,05$.

Отже, вищевикладене дозволяє зробити висновок, що одним з шляхів реалізації гастропротекторної дії комбінації пГА+Кв є вплив на місцевий (гастродуоденальний) механізм маніфестації та розвитку ВШ та ДПК, що дає змогу рекомендувати застосування комбінації на основі кверцетину та похідних глюкозаміну для лікування в клінічних умовах виразки шлунка.

Таким чином, на підставі власних дослідних результатів експериментально обґрунтовано створення комбінації на основі флавоноїду кверцетину та похідних глюкозаміну ГА г/хл та N-ацГА для профілактики та лікування виразки шлунка. Встановлено, що комбінація пГА+Кв є нешкідливою, не впливає на секреторну функцію шлунка та рухову активність шлунково-кишкового тракту лабораторних тварин. Доведена значна гастропротекторна дія комбінації пГА+Кв, яка за ступенем вираженості переважає приблизно в 2 рази гастропротекторні властивості окремих компонентів комбінації та препаратів порівняння кверцетину (гранули) та сукральфату (таблетки), яка реалізується за рахунок впливу на місцевий (шляхом відновлення ендогенного пулу глюкозаміну і, як наслідок, – стану захисного шару слизу) та нейрогуморальний механізми пошкодження СОШ.

Отже, результати проведених нами досліджень дозволяють рекомендувати проведення решти доклінічних досліджень з метою створення на основі комбінації кверцетину та похідних глюкозаміну (ГА г/хл та N-ацГА) нового препарату й упровадження його в медичну практику для профілактики та лікування виразкових захворювань шлунка.

ВИСНОВКИ

1. Сучасні нестероїдні протизапальні засоби виявляють гастротоксичні властивості незалежно від селективності до ЦОГ-1. Вираженість гастротоксичної дії збільшується з підвищенням дози та тривалості застосування у такому ряді: неселективні > селективні > високо селективні. Ця дія вірогідно підсилюється за умов відповідних клінічному застосуванню НПЗП.
2. Комбінація на основі глюкозаміну гідрохлориду та N-ацетилглюкозаміну з кверцетином виявляє виражену гастропротекторну дію як при лікувальному так і, особливо, при профілактичному введенні. Вираженість дії комбінації переважає активність окремих компонентів, що входять до її складу. За сумарним рейтингом показників гастропротекторної активності умовно-терапевтична доза комбінації, що досліджувалась, становить 100 мг/кг.
3. За значенням $ЛД_{50}$ оригінальна комбінація на основі глюкозаміну гідрохлориду, N-ацетилглюкозаміну та кверцетину (> 5000 мг/кг) належить до V класу токсичності – «практично нетоксичні» речовини.
4. Комбінація глюкозаміну гідрохлориду та N-ацетилглюкозаміну з кверцетином не чинить впливу на секреторну функцію шлунка та рухову активність шлунково-кишкового тракту лабораторних тварин.
5. При експериментальній НПЗП-гастропатії гастропротекторна дія комбінації глюкозаміну гідрохлориду та N-ацетилглюкозаміну з кверцетином реалізується виразніше за її окремі складові завдяки підвищенню вмісту ендогенного N-ацетилглюкозаміну в тканині шлунка.
6. Гастропротекторна дія комбінації виразніша за референт препарати кверцетин та сукральфат в умовах як гострого (серотонінового), так і хронічного (ацетатного) виразкового ураження шлунка.
7. Проведене дослідження є експериментальним обґрунтуванням доцільності створення оригінального ефективного та безпечного вітчизняного комбінованого гастропротекторного засобу, призначеного для профілактики та лікування виразкового ураження шлунка, у тому числі НПЗП-гастропатії.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Динаміка вмісту ендогенного N-ацетилглюкозаміну при запально-деструктивних процесах різної етіології та під впливом експериментальної терапії / І.А. Зупанець, С.Б. Попов, С.К. Шебеко, І.А. Отрішко, О.О. Андрєєва // Клінічна фармація. – 2004. – Т. 8, № 4. – С. 34–37. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
2. Зупанець І.А. До характеристики гастротоксичної дії нестероїдних протизапальних засобів – неселективних, селективних і специфічних інгібіторів ЦОГ-2 / І.А. Зупанець, О.О. Андрєєва // Ліки України. – 2005. – Т. 4, № 4. – С. 113–114. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
3. Андрєєва О.О. Вивчення гастропротекторної дії комбінації кверцетину та похідних глюкозаміну на моделі етанол-преднізолонового ураження шлунка щурів / О.О. Андрєєва, І.А. Зупанець, А.С. Шаламай // Клінічна фармація. –

2009. – Т. 13., № 3. – С. 32–34. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
4. Андрєєва О.О. Фармакологічне вивчення гастропротекторної дії комбінації кверцетину та похідних глюкозаміну при серотоніновому ураженні шлунка щурів / О.О. Андрєєва, В.Ф. Усенко, І.А. Зупанець // Медична хімія. – 2010. – Т. 12, № 1 (42). – С. 98–104. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
5. Модифікація фармакологічних властивостей нестероїдних протизапальних препаратів аміноцукром глюкозаміну гідрохлориду: метод. рек. / С.Б. Попов, С.К. Шебеко, К.О. Зупанець, І.А. Отрішко, Н.П. Безугла, О.О. Андрєєва – Х., 2007. – 22 с. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
6. Андрєєва О.О. Профілактика НПЗП-гастропатій при виборі препаратів хондропротекторної дії (інформаційний лист) / О.О. Андрєєва, Н.В. Харченко, І.А. Зупанець. К.: Укрмендпатентінформ, 2009. – 4 с. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
7. До питання про використання глюкозаміну для модифікації гастротоксичних властивостей нестероїдних протизапальних засобів / І.А. Зупанець, В.В. Пропіснова, Н.П. Безугла, О.О. Андрєєва // Актуальні питання фармакології: матеріали IV Укр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю з клінічної фармакології. Ч. II – Вінниця, 2004. – С. 4. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
8. Зупанець І.А. Вивчення гастротоксичної дії специфічних (високоселективних) блокаторів ЦОГ-2 та неселективних інгібіторів ЦОГ / І.А. Зупанець, О.О. Андрєєва // Клінічна фармація в Україні: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. – Х., 2004. – С. 89. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
9. Порівняльне вивчення залежності репаративної та протизапальної активності різних препаратів із групи НПЗП / І.А. Зупанець, С.Б. Попов, Н.П. Безугла, І.А. Отрішко, С.К. Шебеко, О.О. Андрєєва // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії: матеріали Всеукр. наук.-практ. семінару – Х., 2004. – С. 370–373. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
10. Андрєєва О.О. Обґрунтування доцільності використання комбінації глюкозаміну з кверцетином для модифікації гастротоксичних властивостей нестероїдних протизапальних засобів / О.О. Андрєєва // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: матеріали VI Нац. з'їзду фармацевтів України. Х., 2005. – С. 473. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
11. Зупанець І.А. Перспективи використання комбінації глюкозаміну та кверцетину для зниження гастротоксичних властивостей нестероїдних протизапальних засобів / І.А. Зупанець, О.О. Андрєєва, В.С. Хурсал // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: тез. доп. 1-ї Між нар. наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2006. –

С. 139. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
12. Андрєєва О.О. Вплив комбінації глюкозаміну та кверцетину при етанол–преднізолоновому ураженні шлунку у щурів / О.О. Андрєєва, І.А. Зупанець // Клінічна фармація в Україні: матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю. – Х., 2007. – С. 145. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
13. Андреева Е.А.Теоретическое обоснование экспериментального изучения гастропротекторного действия комбинации N-ацетилглюкозамина и кверцетина / Е.А. Андреева, А.С. Русскин // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених. – Х., 2008. – С. 255. (Особистий внесок здобувача: участь у проведенні досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
14. Андреева Е.А. Теоретическое обоснование необходимости проведения фармацевтической опеки при отпуске препаратов с гастроцитопротекторной активностью / Е.А. Андреева // матеріали Сьогодення та майбутнє фармації: Всеукр. конгр. – Х., 2008. – С. 331. (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).
15. Андрєєва О.О. Деякі аспекти вивчення гастропротекторних властивостей комбінації похідних глюкозаміну та кверцетину при експериментальній виразці шлунка щурів / О.О. Андрєєва // Клінічна фармація в Україні: матеріали VIII Всеукр. наук.-практ. конф. – Х., 2008. – С. 126–127. (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень, аналіз та узагальнення отриманих результатів).

АНОТАЦІЯ

Андрєєва О.О. «Експериментальне дослідження ефективності комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином при виразкових ураженнях шлунка». – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2010.

Уперше теоретично та експериментально обґрунтована доцільність створення комбінації на основі глюкозаміну гідрохлориду, N-ацетилглюкозаміну з кверцетином (пГА+Кв), яка виявляє гастропротекторні властивості та може застосовуватися для профілактики та лікування виразки шлунка.

Доведена значна гастропротекторна дія комбінації пГА+Кв, яка за ступенем вираженості переважає приблизно в 2 рази гастропротекторні властивості окремих компонентів комбінації. Аналіз показників, які характеризують стан слизової оболонки шлунка щурів в умовах експериментальної виразкової патології, свідчить то те, що профілактично-лікувальне введення комбінації пГА+Кв в умовно-терапевтичній дозі 100 мг/кг сприяє ефективному відновленню СОШ щурів, яке виражається в поліпшенні мікроциркуляції, інгібуванні запальних процесів і репарації дефектів слизової оболонки, які були морфологічно підтверджені на моделях серотонінової та ацетатної виразки.

Показано, що комбінація пГА+Кв є нешкідливою, не впливає на рухову активність шлунково-кишкового тракту та на секреторну функцію шлунка лабораторних тварин. Гастропротекторна дія комбінації пГА+Кв переважає ефективність препаратів порівняння кверцетину та сукральфату. Лікувальний ефект комбінації реалізується за рахунок впливу на місцевий (шляхом відновлення ендогенного пулу глікозаміногліканів, і як наслідок, стану захисного шару слизу) та нейрогуморальний механізми пошкодження СОШ.

Ключові слова: виразка шлунка, гастропротекторна дія, глюкозаміну гідрохлорид, N-ацетилглюкозамін, кверцетин.

АННОТАЦИЯ

Андреева Е.А. «Экспериментальное исследование эффективности комбинации производных глюкозамина с кверцетином при язвенных поражениях желудка». Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2010.

Впервые теоретически и экспериментально обоснована целесообразность создания комбинации на основе глюкозамина гидрохлорида (ГА г/хл), N-ацетилглюкозамина (N-ацГА) с кверцетином (пГА+Кв), которая проявляет гастропротекторные свойства и может применяться для профилактики и лечения язвы желудка.

Доказано значительное гастропротекторное действие комбинации ПГА+Кв, которое по степени выраженности превышает аналогичный эффект отдельных компонентов примерно в 2 раза. Установлено, что гастропротекторная активность оригинальной комбинации реализуется за счет влияния на местный механизм повреждения СОЖ. Изучена возможность коррекции уровня эндогенного глюкозамина в условиях язвенного поражения желудка, вызванного НПВП ацетилсалициловой кислотой, компонентами комбинации пГА+Кв экзогенными производными глюкозамина – ГА г/хл и N-ацГА. Установлено, что одним из механизмов действия комбинации пГА+Кв является пополнение пула эндогенных резервов N-ацГА. Это способствует его включению в биологические мембраны, компоненты слизи и другие соединительнотканные структуры, коррекции уровня эндогенного глюкозамина в поврежденном участке стенки желудка и ее восстановлению.

Доказано, что по значению $ЛД_{50}$ комбинация пГА+Кв относится к классу практически нетоксичных веществ, не влияет на двигательную активность желудочно-кишечного тракта и на секреторную функцию желудка лабораторных животных. Анализ показателей, характеризующих состояние слизистой оболочки желудка (СОЖ) крыс в условиях серотониновой язвы желудка, свидетельствует о том, что профилактически-лечебное введение комбинации пГА+Кв в условнотерапевтической дозе 100 мг/кг способствует эффективному восстановлению СОЖ крыс, которое выражается в улучшении микроциркуляции, трофических процессов, ингибировании воспалительного процесса и репарации дефектов СОЖ. Данное заключение подтверждается результатими исс-

ледований на експериментальных моделях серотонинового и ацетатного язвенного поражения желудка лабораторних животных.

Установлено, что под воздействием комбинации пГА+Кв в дозе 100 мг/кг наблюдается уменьшение по сравнению с группой контрольной патологии показателя деструкции СОЖ в 5,1 раза, в то время как при применении препарата сравнения кверцетина в дозе 180 мг/кг – в 2,49 раза, а сукральфата в дозе 240 мг/кг – в 1,6 раза. Результаты макроскопических, гистоморфологических качественных и полуколичественных исследований состояния СОЖ крыс в условиях серотониновой язвы желудка свидетельствует о том, что лечебно-профилактическое введение изучаемых препаратов способствовало значительному по сравнению с группой контрольной патологии снижению выраженности деструктивных изменений в СОЖ. Данный експериментальный материал показывает, что одним из механизмов гастропротекторного действия комбинации пГА+Кв является влияние на нейрогуморальное звено этиопатогенеза язвы желудка, что обосновывает клиническое применение комбинации пГА+Кв для лечения острой язвы желудка.

По результатам проведеного исследования сделан взвод, что гастропротекторное действие комбинации пГА+Кв по степени выраженности превосходит препараты сравнения кверцетин и сукральфат и реализуется за счет влияния на местный (путем возобновления эндогенного пула гликозаминогликанов и, как следствие, состояния защитного слоя слизи) и нейрогуморальный механизмы повреждения слизистой оболочки желудка.

Ключевые слова: язва желудка, гастропротекторная активность, глюкозамина гидрохлорид, N-ацетилглюкозамин, кверцетин.

SUMMARY

Andreeva O.O. «Experimental research of efficiency the combination of glucosamine derivatives with quercetine at ulcerative legions of stomach». – Manuscript.

The thesis for a scientific degree of the candidate of pharmaceutical sciences in speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2010.

For the first time theoretically and experimentally the expedience of creation of combination on the basis of glucosamine hydrochloride, N-acetylglucosamine and quercetine (GAD+Qu) with gastroprotective properties for prophylaxis and treatment of stomach ulcer have been grounded.

The significant gastroprotective action of combination GAD+Qu, which exceeded approximately in 2 times the gastroprotective properties of separate components of combination have been proved. The macroscopic analysis of indexes which characterize the state of mucus coat of stomach (MCS) in rats at the conditions of experimental pathology of ulcerative lesions testifies that medical preventive administration of combination GAD+Qu in therapeutic dose 100 mg/kg promote the effective renewal of MCS in rats, which is expressed in the improvement of microcirculation, inhibition of inflammatory processes and reparation of defects mucus coat, which were morphologically confirmed on the models of serotonin and acetate ulcer.

It has been showed that combination GAD+Qu is harmless, does not influence on motor activity of gastrointestinal tract and on secretory function of stomach in laboratory animals. Gastroprotective action of combination GAD+Qu prevails the preparations of comparison «quercetine» (granules) and «sucralfate» (tablets), and realized due to the influence on local (by proceeding the endogenous pool of GA and as a result – to the state of protective layer of mucus) and neurohumoral mechanisms of MCS damage.

Keywords: stomach ulcer, gastroprotection, glucosamine hydrochloride, N-acetylglucosamine, quercetine.

Підписано до друку 12.05.2010. Формат 60х 84/16.
Папір офсетний. Гарнітура Times ET. Друк ризографія.
Умов. друк. арк. 1,28. Наклад 100 пр. Зам. № .

Надруковано з оригінал-макета у типографії ФОП Азамаєв В. Р.
м. Харків, вул. Познанська, 6, к. 84 тел. (057) 362-01-52

Свідоцтво про держреєстрацію
серія ВО2 № 229278 від 25.11.1998 р.