

УДК 615.456.3:615.276:547.972.35:616-001.186

Н.А. Домар, С.Ю. Штриголь

*Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету*

## ПОШУК ПОТЕНЦІЙНИХ ФРІГОПРОТЕКТОРІВ СЕРЕД ВОДОРОЗЧИННИХ І ЛІПОСОМАЛЬНИХ ФОРМ КВЕРЦЕТИНУ

*Представлені результати експериментальної верифікації фрігопротекторної дії у водорозчинних та ліпосомальних формах кверцетину в умовах гострого загального охолодження. Вивчено вплив допоміжних речовин на фрігопротекторну активність досліджуваних препаратів. Отримані дані свідчать про виражену фрігопротекторну дію ліпосомальних препаратів ліпофлакону та ліпіну. Встановлено, що допоміжні речовини, які входять до складу досліджуваних препаратів, не відіграють ролі у фрігопротекторній активності препаратів.*

**Ключові слова:** холодова травма; фрігопротектори; кверцетин; ліпосомальні препарати

### ВСТУП

Профілактика та лікування холодкових травм є однією з актуальних проблем сучасної медицини, оскільки, незважаючи на відносно м'які кліматичні умови України, загальні та місцеві ураження населення низькими температурами є частими для осінньо-зимового періоду [10]. Так, згідно з даними МОЗ зимою 2009-2010 рр. за період з 18 грудня по 13 лютого в Україні від переохолодження і відмороження загинуло 395 осіб. Загалом за лікарською допомогою звернулося 6230 осіб, госпіталізовано з переохолодженням і відмороженням 4079 постраждалих [2]. Для країн із суворішим кліматом ця проблема ще більш актуальна.

Арсенал лікарських засобів, що використовуються для профілактики та лікування холодкових травм, є обмеженим. При локальних ураженнях (відмороженнях) застосовують хірургічні методи лікування, засоби місцевої дії, такі як от відвар свіжої вівсяної соломи, примочки та компреси з відварів квітів ромашки [1, 8]. Але зазвичай такі засоби малоефективні і діють лише місцево. Лікарські препарати, що пропонуються для лікування холодкових травм — це переважно нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) та актопротектори [9, 10].

З групи НПЗЗ як фрігопротектор використовують ацетилсаліцилову кислоту (АСК), дія якої пов'язана з гальмуванням синтезу простагландинів. Однак цей препарат має небезпечні побічні ефекти: подразнювальний вплив на шлунок, уль-

церогенний ефект, геморагії, ураження слуху, нирок тощо [7].

Препаратом з групи актопротекторів, який також застосовується в терапії холодкових травм, є бемітил, що сприяє утворенню ферментів енергетичного обміну, глюконеогенезу та антиоксидантного захисту. Він проявляє помірну психостимулювальну дію, підвищує стійкість організму до гіпоксії і працездатність при фізичних навантаженнях, чинить імуностимулювальну дію. Недоліком при застосуванні препарату є ризик виникнення нудоти, рідко блювання, неприємних відчуттів в області шлунка, головного болю, гіперемії обличчя [8].

Специфічні препарати для лікування холодкових травм (фрігопротектори) як окрема фармакологічна група на теперішній час відсутні. Таким чином, існує значна потреба в лікарських препаратах, які захищають організм від переохолодження, підвищують його стійкість до дії низьких температур та можуть бути застосовані для профілактики і лікування холодкових травм. Пошук засобів фрігопротекторної дії є досить важливим, тому що не вжиті вчасно профілактичні та лікувальні заходи при виникненні холодкових травм можуть призвести до тяжких наслідків аж до летальних випадків [12].

Метою дослідження є експериментальне з'ясування наявності фрігопротекторної дії у відомих препаратів: корвітину, ліпофлакону та ліпіну, а також складових відповідних лікарських форм.

З літературних джерел відомо, що корвітин використовують у комплексній терапії при гострому порушенні коронарного кровообігу та

© Н.А. Домар, С.Ю. Штриголь, 2010



інфаркті міокарда, для лікування та профілактики реперфузійного синдрому при хірургічному лікуванні хворих з облітеруючим атеросклерозом черевної аорти і периферичних артерій [6]. Ліпофлавон звичайно використовують як кардіопротектор при ішемічній хворобі серця і в офтальмологічній практиці при кератитах, у післяопераційному періоді [3, 4]. Ліпін широко використовується у складі комплексної терапії в пульмонології, кардіології, акушерстві, гастроентерології, нефрології як антигіпоксичний, антиоксидантний, мембранопротекторний засіб [13]. Фрігопротекторні властивості досліджуваних препаратів невідомі з джерел літератури.

Підґрунтям для пошуку потенційних фрігопротекторів серед зазначених препаратів слугувало наступне. По-перше, препаратам кверцетину притаманна протизапальна дія. Медіатори запалення беруть участь у патогенезі холодового ураження, а НПЗЗ виявляють фрігопротекторні властивості [9]. Корвітин є водорозчинним препаратом кверцетину, що містить також полівінілпіролідон (ПВП). По-друге, холодова травма пов'язана з ураженням мембран. Сучасні нанотехнологічні ліпосомальні препарати є потужними мембранопротекторами. У складі ліпофлаону, з одного боку, присутній кверцетин, з іншого — фосфатидилхолін, а ліпосомальна форма, як свідчать чисельні дані, має значні фармакотерапевтичні переваги. Ліпін є препаратом порожніх ліпосом, і його порівняльне вивчення необхідне для з'ясування ролі лікарської форми в терапевтичному ефекті. Крім того, для оцінки можливого внеску допоміжних речовин доцільно дослідити можливу ефективність ПВП, що входить до складу корвітину і лактози, що міститься в ліпофлавіні та ліпіні.

Використано корвітин виробництва «Борщівського ХФЗ» (Україна), ліпофлавон та ліпін — ЗАТ «Біолік» (Україна), ПВП низькомолекулярний медичний молекулярної маси  $8000 \pm 2000$ , що відповідає складу корвітину, виробництва ТОВ «АК Сінтвіта» (Російська Федерація), лактозу («Alpavit Kaserei Champignon Hofmeister GmbH & Co. KG. Heising», Німеччина), субстанцію бемітилу, синтезовану в Інституті органічної хімії НАН України, АСК — «Bayer» (Німеччина).

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Вивчення фрігопротекторної дії препаратів та допоміжних речовин, що входять до їх складу, проводили на білих мишах-самцях із використанням моделі гострого загального охолодження при  $-18^\circ\text{C}$  [11] у співставленні з препаратами по-

рівняння АСК та бемітилом. Тварини були вміщені до морозильної камери, в якій підтримувалася постійна температура  $-18^\circ\text{C}$ , та знаходилися там під час досліду в індивідуальних пластикових контейнерах.

Для визначення фрігопротекторної активності використано режим одноразового профілактичного введення препаратів (за 30 хв до охолодження). Корвітин вводили у вигляді водного розчину внутрішньоочеревинно в дозі 100 мг/кг, що еквівалентно 10 мг/кг за кверцетином. Дозу кверцетину 10 мг/кг обрано на підставі її органопротекторної ефективності [3]. ПВП використовували в дозі 90 мг/кг, що відповідає вмісту даної речовини в корвітині, взятому в дозі 100 мг/кг. Ліпофлавон вводили внутрішньоочеревинно у вигляді ліпосомальної емульсії в дозі 590 мг/кг, що становить 10 мг/кг за кверцетином. Ліпін вводили внутрішньоочеревинно у вигляді ліпосомальної емульсії в дозі 734 мг/кг, що відповідає дозі 367 мг/кг у ліпофлавіні. Лактозу вводили в дозі 213 мг/кг, що відповідає її вмісту в препараті ліпофлавон. Препарати порівняння АСК та бемітил вводили також внутрішньоочеревинно одноразово. АСК використовували в дозах 250 мг/кг, яку рекомендує [9], та 25 мг/кг. Доза бемітилу становила 50 мг/кг [5]. Контрольні тварини отримували відповідний об'єм 0,9% розчину натрію хлориду.

Лабораторні тварини (миші-самці масою 16–27 г) були розподілені на групи відповідно до препарату, який вони одержували, та його дози:

1. Контрольна група — холодовий вплив,  $n=14$ .
2. Корвітин 100 мг/кг + холодовий вплив,  $n=7$ .
3. ПВП 90 мг/кг + холодовий вплив,  $n=5$ .
4. Ліпофлавон 590 мг/кг + холодовий вплив,  $n=7$ .
5. Ліпін 734 мг/кг + холодовий вплив,  $n=7$ .
6. Лактоза 213 мг/кг + холодовий вплив,  $n=5$ .
7. АСК 25 мг/кг + холодовий вплив,  $n=8$ .
8. АСК 250 мг/кг + холодовий вплив,  $n=7$ .
9. Бемітил 50 мг/кг + холодовий вплив,  $n=10$ .

В якості критерію фрігопротекторної дії обрано час виживання тварин (тривалість життя тварин в умовах холоду). Активність препаратів розраховували як відсоток збільшення часу життя під впливом холодової травми за формулою:

$$Fr = \frac{\bar{O}_1}{\bar{O}_0} \times 100 - 100,$$

де: Fr — фрігопротекторна активність, %;

$T1$  — середній час виживання тварин дослідної групи, хв;

$T0$  — середній час виживання тварин контрольної групи, хв.



**ВПЛИВ ДОСЛІДЖУВАНИХ ПРЕПАРАТІВ КВЕРЦЕТИНУ ТА ЇХ СКЛАДОВИХ,  
ВВЕДЕНИХ ПАРЕНТЕРАЛЬНО, НА ЧАС ВИЖИВАННЯ МИШЕЙ  
ПРИ ГОСТРОМУ ОХОЛОДЖЕННІ ПРИ — 18°C**

№ п/п	Група тварин	Кількість тварин	Час виживання, хв	Фрігопротекторна активність, %
1	Контроль — холодовий вплив	n=14	49,8±3,11	—
2	Корвітин 100 мг/кг + холодовий вплив	n=7	58,1±0,35*#@	16,7
3	ПВП 90 мг/кг + холодовий вплив	n=5	50,6±2,69	1,61
4	Ліпофлавіон 590 мг/кг + холодовий вплив	n=7	78,6±6,24*#^	57,8
5	Ліпін 734 мг/кг + холодовий вплив	n=7	79,3±6,56*#^	59,2
6	Лактоза 213 мг/кг + холодовий вплив	n=5	49,0±3,56	-1,61
7	АСК 25 мг/кг + холодовий вплив	n=8	71,6±4,94*#^	43,8
8	АСК 250 мг/кг + холодовий вплив	n=7	46,6±9,42	-6,4
9	Бемітил 50 мг/кг + холодовий вплив	n=10	48,3±2,80	-3,0

Примітка: \* — достовірно до контрольної групи ( $p < 0,05$ ); # — достовірно до дослідної групи, що отримувала препарат порівняння бемітил ( $p < 0,05$ ); ^ — достовірно до дослідної групи, що отримувала препарат порівняння АСК в дозі 250 мг/кг ( $p < 0,05$ ); @ — достовірно по відношенню до дослідної групи, що отримувала препарат порівняння АСК в дозі 25 мг/кг ( $p < 0,05$ )

Статистичну достовірність відмінностей розраховували за критерієм Стюдента. Результати дослідження наведені в таблиці.

Привертає увагу той факт, що бемітил, незважаючи на рекомендації щодо використання в якості фрігопротектора, в умовах гострого загального охолодження виявився неефективним. Він не збільшив час виживання мишей (табл.). На відміну від даного актопротектора АСК чинила помітну фрігопротекторну дію. Але в рекомендованій дозі 250 мг/кг стабільний фрігопротекторний ефект був відсутній: час виживання коливався від 15 до 68 хв. З урахуванням цих результатів, а також високої нейро- та гастротоксичності даної дози (до речі, 150 мг/кг АСК викликає модельні виразки шлунка [14]) протестовано дозу 25 мг/кг. Вона виявилася високоефективною: час виживання зріс на 43,8 %.

Обидва препарати кверцетину чинили фрігопротекторний ефект (табл.). Але водорозчинний препарат корвітин збільшив час виживання лише на 16,7 % ( $p < 0,05$  відносно контролю). Присутність ПВП в лікарській формі не має значення в даному ефекті, оскільки окреме застосування ПВП в еквівалентній дозі не вплинуло на час виживання.

Ліпосомальна форма кверцетину (ліпофлавіон) значно перевищила корвітин та препарат порів-

няння АСК за ефективністю — час виживання зріс на 57,8 %. Можна було очікувати, що в даному ефекті бере участь лактоза, яка як вуглевод може бути джерелом метаболічної енергії. Але внесок лактози відсутній, оскільки час виживання не відрізнявся від контрольного значення. Фрігопротекторну роль ліпосомальної форми доводить висока ефективність ліпіну. Він сприяв зростанню часу життя тварин на 59,2%, тобто так само як ліпофлавіон в еквівалентній дозі. Це дає підставу вважати, що вирішальну роль у фрігопротекторному ефекті ліпофлавіону відіграють саме наночастки фосфатидилхоліну, дія якого, очевидно, маскує фрігопротекторну дію кверцетину.

Таким чином, отримані результати дозволяють зробити висновок, що всі досліджувані препарати кверцетину мають фрігопротекторну дію. Проте найбільш виражений фрігопротекторний ефект при однократному введенні на моделі гострого охолодження мишей при — 18°C мають препарати ліпофлавіон в дозі 10 мг/кг (за кверцетином) та ліпін у дозі 367 мг/кг (за лецитином), оскільки вони значно збільшують час виживання тварин. Їх можна рекомендувати для застосування за новим призначенням — при гострій холодовій травмі. Подальші дослідження дозволять з'ясувати вплив цих препаратів на стан метаболізму та окремих фізіологічних систем при



профілактичному та лікувальному використанні в якості фрігопротекторів, що важливо для розуміння механізму дії.

### ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що ліпосомальні препарати ліпофлаву у дозі 10 мг/кг (за кверцетином) та ліпін у дозі 367 мг/кг (за лецитином) при внутрішньоочеревинному введенні виявляють виражену фрігопротекторну дію в порівнянні з ацетилсаліциловою кислотою та бемітилом на моделі гострого загального охолодження.
2. Показано, що допоміжні речовини, які входять до складу лікарських форм кверцетину (полівінілпіролідон, лактоза), не чинять впливу на фрігопротекторний ефект препаратів.
3. Бемітил (50 мг/кг) при одноразовому профілактичному застосуванні не захищає тварин від впливу гострого загального охолодження.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Архангельская А. 200 самых полезных лекарственных растений / А. Архангельская. — Донецк: ООО «Агентство Мультипресс», 2007. — 288 с.
2. В Україні від переохолодження загинуло 395 осіб [Електронний ресурс] // <http://zaxid.net/newsua/2010/2/15/84705/>.
3. Горошко О.М. Лікувальні властивості ліпофлавуноу і корвітину при експериментальній нирковій недостатності: автореф. дис... канд. фармац. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / О.М. Горошко. — Чернівці, 2009. — 20 с.
4. Заремба Є.Х. Застосування препарату «Ліпофлавон» у хворих на нестабільну стенокардію / Є.Х. Заремба, О.О. Капустинський // *Biomedical and Anthropology*. — 2008. — №10. — С. 316.
5. Квітчата Г.І. Вестибулопротекторна активність і механізм дії бемітилу і етоксибемітилу: автореф. дис... канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Г.І. Квітчата. — К., 2001. — 23 с.

6. Компендиум 2009 — лекарственные препараты / Под ред. В.М. Коваленко, А.П. Викторова. — К.: МОРИОН, 2009. — С. Л-675.
7. Машковский М.Д. Лекарственные средства. — 15-е изд., перераб., испр. и доп. — М.: РИА «Новая Волна»: Издатель Умеренков, 2007. — С. 124-125, 164-166.
8. Морфологическое обоснование операций реваскуляризации как органосохраняющего способа лечения глубоких обморожений в эксперименте / [В.В. Бойко, А.Э. Миловидова, Ю.И. Исаев и др.] // *Вісник морфол.* — 2008. — №14 (1). — С. 65-68.
9. Назаренко Н.А. Эффективность нестероидных противовоспалительных средств для профилактики и лечения холодовой травмы: автореф. дис... на соискание степени докт. мед. наук: спец. 05.26.02 «Безопасность в чрезвычайных ситуациях», спец. 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» / Н.А. Назаренко. — Архангельск, 2001. — 38 с.
10. Новиков В.С. Фармакологическая коррекция гипертермии и гипотермии / В.С. Новиков, Е.Б. Шустов, В.В. Горанчук // *ЦЭМПИ-НОРМ*. — 2001. — №4 (46). — С.15-16.
11. Увеличение продолжительности жизни мышей при остром охлаждении под воздействием препарата, выделенного из *Laminaria sacchara* / [Ю.В. Дрозд, С.В. Бондаренко, В.В. Яснецов и др.] // *Биол., эксперим. биол. и мед.* — 1991. — Т. 111, №4. — С.383-384.
12. Шаповалов К.Г. Холодовая травма как причина стойкого изменения состояния микроциркуляторного русла / К.Г. Шаповалов, В.А. Сизоненко // *Хирургия*. — 2009. — №2. — С. 28-31.
13. Швец В.И. Липосомы в фармации. Продукты нанобиотехнологии / В.И. Швец, Ю.М. Краснопольский // *Провизор*. — 2008. — №6. — С. 34-37.
14. Яковлева Л.В. Экспериментальне вивчення нових противиразкових препаратів / Л.В. Яковлева, Г.В. Оболенцева, Л.П. Брюзгінова // *Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації]* За ред. О.В. Стефанова. — К., 2001. — С. 321-333.

УДК 615.456.3:615.276:547.972.35:616-001.186

Н.А. Домар, С.Ю. Штрыгол

**ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ФРИГОПРОТЕКТОРОВ СРЕДИ ВОДОРАСТВОРИМЫХ И ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ФОРМ КВЕРЦЕТИНА**

Представлены результаты экспериментальной верификации фригопротекторного действия у водорастворимых и липосомальных форм кверцетина в условиях острого общего охлаждения. Изучено влияние вспомогательных веществ на фригопротекторную активность препаратов. Полученные данные свидетельствуют о выраженном фригопротекторном действии липосомальных препаратов липофлавона и липина. Установлено, что вспомогательные вещества, входящие в состав исследуемых препаратов, не играют роли в фригопротекторной активности препаратов.

**Ключевые слова:** холодовая травма; фригопротекторы; кверцетин; липосомальные препараты

UDC 615.456.3:615.276:547.972.35:616-001.186

N.A. Domar, S.Yu. Shtrygol

**FINDING OF POTENTIAL FRIGOPROTECTORS AMONG WATER-SOLUBLE AND LIPOSOMAL FORM OF QUERCETINUM**

The results of experimental determination availability frigoprotectory action in water-soluble and liposomal form of quercetinum quercetin in an acute general cooling in this article have been presented. The influence of excipients on frihoprotektory activity of drugs have been studied. The reseived results witness about prononced frihoprotektory action of liposomal drugs lipoflavon and lipinum. It has been staded that excipients included in the composition of the drugs investigated don't influence on the frihoprotektory activity of drugs.

**Key words:** cold injury; frigoprotectors; quercetinum; liposomal drugs

*Адреса для листування:*

61001, м. Харків,

пл. Повстання, 17.

Кафедра технології ліків

та клінічної фармакології

з фармацевтичною опікою УПКСФ.

тел. (057)733-92-06;

e-mail shtrygol@mail.ru

Надійшла до редакції:

03.05.10