

УДК [615.276:615.453.42]:57.084.1

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРЕПАРАТУ «ДИКЛОКОР»

О.С.Попов, С.К.Шебеко, О.І.Шевченко, А.С.Шаламай***

Національний фармацевтичний університет
Харківська медична академія післядипломної освіти*
ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ»**

Ключові слова: Диклокор; диклофенак; кверцетин; запалення

THE EXPERIMENTAL STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY PROPERTIES OF THE DRUG "DICLOCOR"

O.S.Popov, S.K.Shebeko, O.I.Shevchenko, A.S.Shalamay***

National University of Pharmacy, Kharkov Medical Academy of Post-graduate Education,
PJSC SIC "Borshchahivskiy CPP"****

Key words: Dicloror; diclofenac; quercetin; inflammation

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) are among the most widely used groups of medicines. Despite the undeniable clinical effectiveness, their use is associated with the risk of side effects. This fact directs scientific research to searching combinations of NSAIDs with other substances in order to identify compositions which will allow reducing the dose of the NSAID without losing its anti-inflammatory effectiveness. In view of all this, a new combined drug "Dicloror" developed by "Borshchahivskiy CPP" (Ukraine) is of interest. The article presents the results of the experimental study of the anti-inflammatory effect of the combined drug "Dicloror" in comparison with its active monocomponents – diclofenac sodium and quercetin. The alterative stage of inflammation was studied on the model of scarified wounds, the exudative stage – on the model of carrageenin edema, and the proliferative stage – on the model of cotton pellet-induced granuloma. All studies were conducted in rats. The experimental results have shown the superiority of Dicloror in influencing on all three stages of inflammation compared to the reference drugs in the appropriate doses. Dicloror has exhibited the most pronounced effect on the stages of alteration and exudation, and can be described as a promising drug for the treatment of proliferative and destructive inflammatory diseases.

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) є однією з найбільш широко застосовуваних груп лікарських засобів у клінічній практиці, проте не дивлячись на безперечну клінічну ефективність, їх застосування пов'язане з високим ризиком розвитку побічних ефектів, які, в цілому, зустрічаються в 25% випадків, а в 5% складають серйозну загрозу життю [1].

Тому актуальним напрямком наукового дослідження є пошук таких комбінацій НПЗП з іншими речовинами, які б дозволили зменшити дозування НПЗП без зниження терапевтичної ефективності лікарського засобу. Одним з таких комбінованих препаратів є «Диклокор», що містить

НПЗП диклофенак натрію і біофлавоноїд кверцетин, відомий своєю протизапальною дією за рахунок блокування лейкотрієнового шляху біотрансформації арахідонової кислоти [2, 9, 10-13].

Беручи до уваги наявність трьох патогенетично різних стадій в процесі запалення (альтерація, ексудація, проліферація), представилося доцільним послідовно порівняти вплив досліджуваних препаратів на кожну з цих стадій.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження став оригінальний препарат «Диклокор» – капсули для перорального застосування (270 мг капсульної маси) виробництва ПАТ

НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (Україна). Склад (на 1 капсулу):

- кверцетин – 40 мг
- диклофенак натрію – 25 мг.

В якості референтних об'єктів були використані: «Кверцетин» – гранули для перорального застосування, що містять 4 г кверцетину у 100 г гранул, виробництва ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (Україна); Диклофенак натрію – таблетки, вкриті оболонкою, що містять 50 мг диклофенаку натрію (ДН), виробництва «Novartis Pharma» (Швейцарія).

Досліджувані препарати вводили тваринам у вигляді суспензій, виготовлених з використанням необхідної кількості фізіологічного розчину та стабілізатора ТВІН-80. Тварини з контрольною патологією та з групи інтактного контролю отримували відповідний об'єм фізіологічного розчину.

Для кожного етапу дослідження було відібрано 40 білих

О.С.Попов – асистент кафедри клінічної фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

О.І.Шевченко – канд. мед. наук, доцент кафедри перинатології, акушерства та гінекології Харківської медичної академії післядипломної освіти

А.С.Шаламай – канд. хім. наук, директор з науки ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (м. Київ)

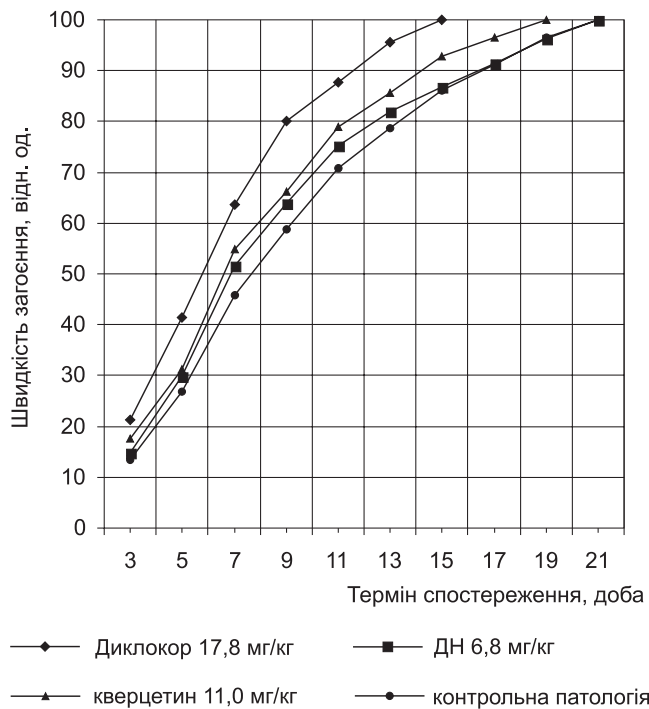


Рис. Вплив препарату «Диклокор» і референтних об'єктів на репарацію скарифікованих ран у щурів

нелінійних щурів обох статей масою 150-180 г, які були розподілені на 4 дослідні групи: 1 група – контрольна патологія; 2 група – тварини, які отримували Диклокор у дозі 17,8 мг/кг за сумою діючих речовин (ED_{50} за протизапальною активністю); 3 група – тварини, які отримували кверцетин у дозі 11,0 мг/кг (відповідає дозі кверцетину у складі препарату «Диклокор») та 4 група – тварини, які отримували ДН у дозі 6,8 мг/кг (відповідає дозі ДН у складі препарату «Диклокор»).

Дослідження антиальтеративних властивостей проводилось на моделі скарифікованих ран [4]. Під гексеналовим наркозом на попередньо депільовану поверхню шкірних покривів наносили стандартного розміру і глибини рани шляхом обертання до щільно притиснутої шкіри скарифікованого пристрою діаметром 9 мм і глибиною 5 мм. Ранозагоювальну здатність визначали планіметрично за динамікою площі ран. Ефективність препаратів оцінювали за показниками швидкості загоєння, часом повного рубцю-

вання та антиальтеративною активністю при призначенні досліджуваних препаратів, яку розраховували загальноприйнятим методом.

Асептичне ексудативне запалення викликали шляхом субплантарного введення у праву задню лапу 0,1 мл 1% розчину λ -карагеніну («Fluka», Швейцарія). Досліджувані препарати вводили перорально одноразово за 1 годину до відтворення патології.

Об'єм набряку вимірювали в динаміці через 0,5, 1, 2 та 3 години після введення флогогену з використанням цифрового плетизмометра (ИТС Life Science, США) та відображували у $см^3$.

Протизапальну активність (ПЗА) виражали у відсотках за ступенем зменшення набряку у тварин, які отримують дослідні препарати, в порівнянні з тваринами групи контрольної патології та розраховували за формулою:

$$ПЗА = \frac{\Delta V_k - \Delta V_d}{\Delta V_k} \cdot 100\%$$

де: ПЗА – протизапальна активність (%);

ΔV_k – середня величина набряку в групі контрольної патології; ΔV_d – середня величина набряку в дослідній групі.

Дослідження антипроліферативних властивостей проводилось на моделі «ватної» гранульоми [6]. У тварин, що знаходилися під легким ефірним наркозом, на спині депільовали ділянку шкіри та в асептичних умовах робили поздовжній розріз шкіри і підшкірної клітковини довжиною 1,5 см, куди поміщали стерильну ватну кульку масою 20 мг. На 8 добу тварин виводили з експерименту, виділяли гранульому, що утворилася, висушували до постійної маси при температурі 60°C. Масу грануляційно-фіброзної тканини, що утворилася, визначали за різницею між масою висушеної гранульоми та імплантованої ватної кульки. Результати виражали в мг і в процентах пригнічення утворення сполучної тканини в порівнянні з контролем.

Статистична обробка результатів проводилась методами варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента і непараметричних методів аналізу (Mann-Whitney U Test) за допомогою комп'ютерних програм STATISTICA 7.0, StatPlus 2009 та MS Excel 2007 [3-5] і представлялась у вигляді порівняльних таблиць із результатами різних груп.

Усі дослідження проводились у відповідності з директивою Ради ЄС 2010/63/EU про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, які використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [4, 7].

Результати та їх обговорення

Стадія альтерації – це початкова пускова стадія запалення, що характеризується пошкодженням тканин та включає різноманітні зміни клітинних та

Таблиця 1

Вплив препарату «Диклор» та референтних об'єктів на перебіг карагенінового набряку стопи у щурів (n=40)

Об'єкт дослідження	Доза, мг/кг	0,5 години		1-ша година		2-га година		3-тя година	
		приріст об'єму стопи, см ³	активність, %	приріст об'єму стопи, см ³	активність, %	приріст об'єму стопи, см ³	активність, %	приріст об'єму стопи, см ³	активність, %
Контрольна патологія	–	0,83±0,06	–	1,34±0,01	–	2,65±0,14	–	3,68±0,21	–
Диклор	17,8	0,67±0,04 */**	19,3±1,2 **	0,94±0,04 */**	29,8±1,4 **/*	1,58±0,08 */**	40,4±2,0 **	1,41±0,06 */**/*	61,7±2,7 **/*
Кверцетин	11,0	0,80±0,04	3,6±0,2	1,20±0,05*	10,5±0,5	2,10±0,12*	20,8±1,2	3,10±0,07*	15,8±0,4
ДН	6,8	0,69±0,04	16,9±0,9	1,00±0,05*	25,4±1,2	1,63±0,04*	38,5±0,9	1,76±0,06*	52,2±1,7

Примітки:

- 1) * – p<0,05 відносно групи контрольної патології;
- 2) ** – p<0,05 відносно тварин, які отримували кверцетин;
- 3) * – p<0,05 відносно тварин, які отримували ДН.

позаклітинних компонентів у місці пошкодження, в тому числі активацію фізіологічних процесів. Дану стадію можна вважати діалектичною єдністю змін, викликаних дією агресорів, і відповідних захисних місцевих реакцій організму на ці зміни у вигляді реакцій судин мікроциркуляції та некрозу тканин в осередку пошкодження, а також інтегральних регуляторних систем всього організму [8].

Аналіз результатів досліджень показав, що Диклор виявляє більший ранозагоювальний ефект при зіставленні з референтними об'єктами – кверцетином та ДН. Дану закономірність ілюструють розраховані площі ран, швидкість загоєння і показники антиальтеративної активності, які оцінювали в динаміці лікування на 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 та 21 добу.

Процес повного рубцювання в дослідних групах значно відрізнявся. Повна епітелізація в контрольній групі відбувалася на 21 добу; у групі тварин, які одержували Диклор, – на 15 добу; кверцетин – на 19 добу; ДН – на 21 добу експерименту. За розрахованими показниками антиальтеративної активності Диклор вірогідно перевищував кверцетин (в середньому в 2,4 рази) та ДН (в середньому в 4,2 рази).

Таблиця 2

Антипроліферативна активність препарату «Диклор» та референтних об'єктів на моделі «ватної» гранульоми у щурів (n=40)

Дослідна група	Доза, мг/кг	Кількість грануляційної тканини, мг	Активність, %
Контрольна патологія	–	45,2±1,7	–
Диклор	17,8	34,3±1,3*/*	24,12±0,88**/*
Кверцетин	11,0	37,0±1,4*	18,14±0,66
ДН	6,8	39,1±1,4*	13,50±0,49

Примітки:

- 1) * – p ≤ 0,05 відносно контрольної патології;
- 2) ** – p ≤ 0,05 відносно тварин, які отримували кверцетин;
- 3) * – p ≤ 0,05 відносно тварин, які отримували ДН.

Швидкість загоєння ран у динаміці лікування представлена на рисунку. Так, за даним показником на всі періоди спостереження Диклор перевищував відповідні показники референтних об'єктів та контрольних тварин.

За результатами проведених досліджень можна стверджувати, що сумісне застосування ДН з кверцетином у складі оригінального препарату Диклор сприяє модифікації його антиальтеративних властивостей по типу потенціюючого ефекту.

Екссудація – це друга стадія запалення, яка характеризується виходом рідини і клітин крові з судин у тканини і органи [8].

Отримані дані свідчать про те, що Диклор чинить виражену інгібуючу дію на циклооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти і таким чином знижує інтенсивність синтезу простагландинів та інших медіаторів в осередку запалення, вірогідно перевершуючи ДН через 1 та 3 години експерименту, та кверцетин – на всіх етапах. Активність Диклору на даній моделі обумовлена, головним чином, наявністю ДН у його складі та адитивним впливом кверцетину.

Кверцетин суттєво поступався Диклору та ДН на даній моделі запалення. На нашу думку, це явище пояснюється відсутністю у механізмі протиза-

пальної дії кверцетину впливу на ЦОГ-залежну ланку запальної реакції, оскільки даний засіб впливає, перш за все, на ліпооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти та на синтез лейкотрієнів. Результати дослідження наведені в табл. 1.

Проліферація є завершальною ланкою запального процесу і супроводжується розвитком молоді сполучної тканини – грануляційної, що характеризується особливою архітектонікою судин з утворенням капілярних петель поблизу осередку запалення [8].

Дані проведеного дослідження антипроліферативної активності на моделі «ватної» гранульоми показали, що досліджувані об'єкти мають помірну антипроліферативну активність, що підтверджувалось достовірними показниками пригнічення утворення грануляційної

тканини у порівнянні зі щурями з контрольною патологією.

Результати вивчення антипроліферативної активності представлені в табл. 2.

Диклокор володіє помірно вираженими антипроліферативними властивостями, оскільки на моделі «ватної» гранульоми виявляє антипроліферативну активність, яка перевищує активність кверцетину та диклофенаку натрію в 1,3 і 1,8 рази, відповідно. Різниця показників Диклокору та референтних об'єктів носила вірогідний характер.

ВИСНОВКИ

Таким чином, порівнюючи здатність Диклокору впливати на три стадії запальної реакції, можна констатувати, що найбільш високі показники препарату виявив на моделях ексудативного та альтеративного запалення. Незначний вплив препарат чинив на проліферативну ланку запального процесу.

Дана закономірність повністю узгоджується з кореляційною залежністю між антиальтеративною та антипроліферативною активністю даного НПЗП, що може бути пояснено його здатністю пригнічувати біосинтез колагену. Така здатність є позитивною при лікуванні ревматоїдного артрити та негативною при лікуванні остеоартрозу і травматичних артритів.

У нашому випадку модифікуючий вплив кверцетину на антифлогістичний потенціал диклофенаку натрію відкриває перспективи даній комбінації в лікуванні проліферативних та деструктивних захворювань. А отже, цілком очевидною є необхідність подальшого вивчення впливу даного композиційного поєднання у формі препарату «Диклокор» на перебіг експериментальної патології з перевагою альтеративних та проліферативних процесів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Коваленко В.М., Борткевич О.П., Проценко Г.О. // *Укр. ревматол. журн.* – 2006. – Т. 23, №1. – С. 17-29.
2. Ковалев В.Б., Ковган В.В., Колчина Е.Ю. // *Укр. мед. альманах.* – 1999. – Т. 2, №4. – С. 176-182.
3. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. *Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel.* – К.: Морион, 2000. – 320 с.
4. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств.* Ч. I. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
5. Прозоровский В.Б. *Практическое пособие по ускоренному определению средних эффективных доз и концентрации биологически активных веществ.* – С.Пб., 1992. – 42 с.
6. Стефанов А.В. *Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. рекоменд.* / Под ред. А.В.Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 528 с.
7. Стефанов О., Бухтіарова Т., Коваленко В. та ін. *Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне).* – К.: Морион, 2009. – С. 37-68.
8. Струков А.И., Серов В.В. *Патологическая анатомия.* – 5-е изд. – 2010. – 848 с.
9. Chi-Yu Y., Su-Lan H., Kuo-Ching W. et al. // *J. of Food and Drug Analysis.* – 2005. – Vol. 13. – P. 244-250.
10. Das N. // *Food & Function.* – 2013. – Vol. 4 (6). – P. 889-898. Available at: <http://dx.doi.org/10.1039/C3FO30241E>.
11. Gardi C. // *Archives of biochemistry and biophysics.* – 2015. – Vol. 583. – P. 150-157.
12. Marcolin E. // *J. of Nutrition.* – 2012. – Vol. 142 (10). – P. 1821-1828.
13. Rogerio A.P. // *Inflamm. Res.* – 2007. – Vol. 56. – P. 402-408.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ПРЕПАРАТУ «ДИКЛОКОР»**О.С.Попов, С.К.Шебеко, О.І.Шевченко*, А.С.Шаламай******Національний фармацевтичний університет, Харківська медична академія післядипломної освіти*, ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ»*****Ключові слова:* Диклокор; диклофенак; кверцетин; запалення

Нестероїдні протизапальні препарати (НПЗП) є однією з найбільш широко застосовуваних груп лікарських засобів. Незважаючи на незаперечну клінічну ефективність, їх застосування пов'язане з ризиком розвитку ряду побічних ефектів, внаслідок чого актуальним напрямком наукового дослідження є пошук комбінацій НПЗП з іншими лікарськими речовинами з метою виявлення таких поєднань, які дозволять знизити дозування НПЗП без втрати ефективності впливу на запальний процес. У світлі вищесказаного інтерес представляє новий комбінований препарат «Диклокор», що розробляється ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» (Україна). У статті представлені результати експериментального дослідження протизапального ефекту комбінованого препарату «Диклокор» у порівнянні з його активними монокомпонентами – диклофенаком натрію та кверцетином. Альтернативна фаза запалення вивчалася на моделі скарифікованих ран, ексудативна – на моделі карагенинового набряку, а проліферативна – на моделі «ватної» гранульоми; всі дослідження проводилися на щурах. За результатами експерименту Диклокор проявив перевагу впливу на всі три стадії запалення в порівнянні з референс-препаратами у відповідних дозах. Найбільш виражену дію Диклокор чинив на фазі альтерації та ексудації, тому він може бути охарактеризований як перспективний препарат для лікування деструктивних і проліферативних запальних захворювань.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ ПРЕПАРАТА «ДИКЛОКОР»**А.С.Попов, С.К.Шебеко, О.И.Шевченко*, А.С.Шаламай******Национальный фармацевтический университет, Харьковская медицинская академия последипломного образования*, ПАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ»*****Ключевые слова:* Диклокор; диклофенак; кверцетин; воспаление

Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) являются одной из самых широко применяемых групп лекарственных средств. Несмотря на неоспоримую клиническую эффективность, их применение сопряжено с риском развития ряда побочных эффектов, вследствие чего актуальным направлением научного исследования является поиск комбинаций НПВП с другими лекарственными веществами с целью выявления таких сочетаний, которые позволят снизить дозировку НПВП без потери эффективности влияния на воспалительный процесс. В свете вышесказанного интерес представляет новый комбинированный препарат «Диклокор», разрабатываемый ПАО НПЦ «Борщаговский ХФЗ» (Украина). В статье представлены результаты экспериментального исследования противовоспалительного эффекта комбинированного препарата «Диклокор» в сравнении с его активными монокомпонентами – диклофенком натрия и кверцетином. Альтернативная фаза воспаления изучалась на модели скарифицированных ран, эксудативная – на модели карагенинового отека, а пролиферативная – на модели «ватной» гранулемы; все исследования проводились на крысах. По результатам эксперимента Диклокор проявил превосходство влияния на все три стадии воспаления в сравнении с референс-препаратами в соответствующих дозах. Наиболее выраженное действие Диклокор оказал на фазы альтерации и экссудации, поэтому он может быть охарактеризован как перспективный препарат для лечения деструктивных и пролиферативных воспалительных заболеваний.

Адреса для листування:

61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27.

Тел. (57) 706-30-72. E-mail: clinpharm@nuph.edu.ua.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 12.10.2015 р.