

І.А. Зупанець¹
В.Ф. Усенко²
А.С. Шаламай²

¹Національний
фармацевтичний
університет, Харків

²ЗАТ НВЦ «Борщагівський
ХФЗ», Київ

Ключові слова:

вуглеводмодифікований препарат кверцетину, кверцетин, диклофенак натрію, колаген-індукований артрит, ефективність застосування.

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НОВОГО ВУГЛЕВОДМОДИФІКОВАНОГО ПРЕПАРАТУ КВЕРЦЕТИНУ НА ПЕРЕБІГ КОЛАГЕН-ІНДУКОВАНОГО АРТРИТУ У ЩУРІВ

Резюме. Наведено результати вивчення впливу вуглеводмодифікованого препарату кверцетину (ВМПК) на колаген-індукований артрит у щурів на фоні його лікувального застосування та порівняно з референс-об'єктами — кверцетином та диклофенаком натрію. Показано позитивний вплив ВМПК на перебіг аутоімунного колаген-індукованого артрити, що підтверджено нормалізацією функціонального стану суглобів та клініко-біохімічних показників. Все це свідчить про зниження інтенсивності імунзапальних процесів у сполучній тканині тварин під впливом досліджуваного препарату. За ступенем фармакологічного впливу на більшість досліджуваних показників ВМПК перевершує референс-об'єкт — субстанцію кверцетину. Досліджуваний оригінальний ВМПК є перспективним коректором запально-деструктивних захворювань суглобів з аутоімунним компонентом і може бути рекомендований до застосування у складі комплексної терапії пацієнтів з імунзапальними та запально-деструктивними захворюваннями суглобів.

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті в розробці протизапальних засобів, їхнє вивчення інтенсивно триває. Пояснюється це досить високою потребою в засобах цієї групи та їх широким застосуванням у різних галузях медицини (Серов В.В., Пауков В.С. (ред.), 1995).

Так, на сьогодні перспективним є розробка засобів протизапальної дії на основі природних флавоноїдів, зокрема кверцетину.

Кверцетин — потужний антиоксидант, інгібітор синтезу лейкотрієнів, комплексний блокатор проведення та реалізації сигналу в кальцій-мобілізуєчій поліфосфоінозитидній системі та активатор аденілатциклазного каскаду. Ці механізми є визначальними для більшості фармакологічних ефектів кверцетину, деякі з яких відкрито нещодавно і на сьогодні інтенсивно вивчаються. Вищезазначені фармакологічні ефекти кверцетину мають велике значення при лікуванні захворювань запального характеру і дозволяють припустити доцільність включення препаратів на його основі до схем лікування пацієнтів цієї групи (Максютіна Н.П., 1993; Ковалев В.Б. і соавт., 1999; Ader P. et al., 2000; Duarte J. et al., 2001; Мойбенко А.А. і соавт., 2003; Anjaneyulu M., Chopra K., 2004; Chi-Yu Y. et al., 2005; García-Saura M.F. et al., 2005; Guerrero J.A. et al., 2005).

Науковцями ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ» розроблено новий лікарський препарат на основі модифікованої субстанції кверцетину, таблетки жувальні по 40 мг, що містять у своєму складі вуглеводмісні модулятори розчинності цього флавоноїду. Запропонована модифікація розчинності кверцетину, за-

дяки утворенню відповідних комплексів, забезпечить достатньо високу біодоступність активної речовини з лікарської форми, а отже, препарат буде мати більш виражені фармакодинамічні ефекти.

Мета дослідження — вивчення впливу нового вуглеводмодифікованого препарату кверцетину на перебіг колаген-індукованого артрити (КІА) у щурів.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження впливу вуглеводмодифікованого препарату кверцетину (ВМПК) на перебіг КІА проведено на 50 білих щурах обох статей масою тіла 180–220 г, що розподілялися на 5 дослідних груп по 10 тварин у кожній: 1-ша група — інтактний контроль; 2-га група — контрольна патологія; 3-тя група — тварини, що отримували ВМПК у дозі 10,0 мг/кг маси тіла; 4-та група — тварини, що отримували кверцетин у дозі 12,8 мг/кг та 5-та група — тварини, що отримували диклофенак натрію у дозі 8,0 мг/кг.

У 1-й день експерименту у щурів відтворювали аутоімунний артрит шляхом підшкірного введення в основу хвоста емульгованої суміші 0,2% розчину бичачого колагену II типу («Sigma-Aldrich», США) в 0,1 М оцтової кислоти та повного ад'юванта Фрейнда («Sigma-Aldrich», США) і співвідношенні 1:1 в дозі 2 мг/кг за колагеном (Remmers E.F. et al., 2002). Через 1 тиж для потенціювання аутоімунного процесу введення імунізуючої суміші повторювали таким же чином і в тій же дозі. Після закінчення латентного періоду (через 10–14 днів) у тварин розвивався поліартрит задніх і передніх кінцівок. Почина-

ючи з 14-го дня експерименту і впродовж 2 тиж усі тварини отримували відповідні лікарські препарати, щодня перорально 1 раз на добу у вигляді водних суспензій. Впродовж експерименту оцінювали стан суглобів передніх і задніх кінцівок тварин (ступінь рухливості, набряккості, гіперемії), а також інтенсивність перебігу запальної реакції в місці введення імунізуючої суміші.

На 28-му добу експерименту тварин піддавали декапітації під ефірним наркозом з метою отримання крові для клінічних і біохімічних досліджень. Далі проводили клінічні дослідження крові щурів (вихідні дані та станом на 28-му добу) і визначали кількість лейкоцитів, швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ) за допомогою стандартних методів (Зупанец І.А. (ред.), 2005); біохімічні дослідження показників сироватки крові, в ході яких визначали вміст сіалових кислот (СК) за методом Гесса (Камышников В.С., 2003), глікопротеїнів за реакцією з молібденово-сірчаноокислим реактивом (метод Штейнберга-Доценко) (Карпищенко А.І. (ред.), 2002) та С-реактивного білка за допомогою імунохімічних наборів «Іму-ЛА-Тест» виробництва «PLIVA-Lachema Diagnostika» (Чехія) (турбідиметричний метод) (Камышников В.С., 2003).

Одержані результати оброблялися методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера — Стьюдента за допомогою комп'ютерних програм (Лапач С.Н. і соавт., 2000).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

З метою поглибленого вивчення протизапальних властивостей ВМПК та можливостей його застосування у хворих із запально-деструктивними захворюваннями суглобів, такими як ревматоїдний артрит, проведено дослідження його впливу на перебіг КІА у щурів. Цю модельну патологію було вибрано як найбільш відповідну патофізіологічним механізмам розвитку ревматоїдного артриту у людини, у зв'язку з чим на сьогодні вона є одним із найпоширеніших методів моделювання аутоімунного артриту.

Після моделювання КІА у всіх тварин спостерігали розвиток поліартриту, що виявлявся появою гіперемії та набряком кінцівок, збільшенням їх розмірів та болісністю при напружуванні. Максимальний прояв ознак поліартриту спостерігався на 12–14-й день експерименту після повторного введення імунізуючої суміші. Тварини були менш рухливими, знижувалося споживання їжі та води та їх загальна активність протягом дня.

Простежувалася пряма кореляційна залежність між візуально наявним ступенем збільшення обсягу суглобів і збільшенням кількості лейкоцитів у периферичній крові та ШОЕ (табл. 1).

На 28-му добу експерименту у тварин із контрольною патологією кількісний вміст лейкоцитів у 1,8 раза перевищував цей показник для інтактних тварин та в 2,1 раза — показник ШОЕ.

Найбільш значиму нормалізуючу дію на перебіг КІА мав диклофенак натрію, що підтверджено позитивним впливом препарату на вміст лейкоци-

тів та показник ШОЕ. Дещо поступалися диклофенаку натрію кверцетинвмісні дослідні об'єкти. Так, ВМПК проявив вірогідний рівень відмінності стосовно тварин із контрольною патологією, а за вмістом лейкоцитів — і субстанцію кверцетину.

Таблиця 1
Деякі показники клінічного аналізу крові щурів із КІА під впливом ВМПК та референс-об'єктів (n=50)

Дослідна група	Лейкоцити, 10 ⁹ /л	ШОЕ, мм/год
Вихідні дані		
Інтактний контроль	10,14±0,42	4,34±0,25
28-ма доба		
Контрольна патологія	18,61±0,48*	8,94±0,59*
ВМПК 10,0 мг/кг	11,04±0,32**,&	5,13±0,31**
Кверцетин 12,8 мг/кг	13,29±0,99*,**	5,74±0,40*,**
Диклофенак натрію 8,0 мг/кг	9,62±0,76**	4,86±0,31**

У табл. 1 і 2: *p<0,05 відносно інтактних тварин; **p<0,05 відносно групи контрольної патології; &p<0,05 відносно тварин, що отримували кверцетин.

Таким чином, вищевикладена закономірність ілюструє більш вагомий протизапальний потенціал диклофенаку натрію, що підтверджено нормалізуючим впливом на маркерні показники розвитку запальної реакції і водночас ілюструє наявні переваги ВМПК перед субстанцією кверцетину.

У експерименті показана також позитивна динаміка біохімічних показників на фоні лікування досліджуваними об'єктами (табл. 2). Так, маркерними показниками запальної складової патологічного процесу були С-реактивний білок та СК. Рівень глікопротеїнів є неспецифічним показником, що відображує як інтенсивність запального процесу, так і деструктивні зміни в органах сполучнотканинного походження.

Таблиця 2
Динаміка біохімічних показників щурів із КІА під впливом ВМПК (n=50)

Дослідна група	С-реактивний білок, мг/л	СК, ммоль/л	Глікопротеїни, г/л
Вихідні дані			
Інтактний контроль	3,65±0,34	3,35±0,32	2,85±0,15
28-ма доба			
Контрольна патологія	20,19±0,65*	4,46±0,36*	3,86±0,07*
ВМПК 10,0 мг/кг	10,11±0,27*.,**,&	3,87±0,34*	3,11±0,11**,&
Кверцетин 12,8 мг/кг	12,59±0,62*,**	4,21±0,23*	3,58±0,16*
Диклофенак натрію 8,0 мг/кг	8,59±0,65*,**	3,52±0,26**	3,20±0,10**

Так, у нелікованих щурів із КІА у 5,5 раза підвищувався рівень С-реактивного білка, в 1,3 раза — рівень СК та в 1,4 раза — рівень глікопротеїнів відносно тварин групи інтактного контролю, що свідчить про активний розвиток імунозапального патологічного процесу в сполучній тканині тварин, який призводить не лише до появи запальної реакції, а й до деструкції тканини.

На фоні лікувального застосування ВМПК відзначалася нормалізація вмісту С-реактивного білка, що мала вірогідний характер щодо інтактних тварин, а також його вміст вірогідно знижувався в 2 рази відносно нелікованих тварин. Під впливом препарату відбувалося зниження вмісту СК у 1,2 раза та глікопротеїнів в 1,2 раза. Слід відзна-

чити, що за ступенем нормалізуючого впливу на рівень С-реактивного білка та глікопротеїнів, ВМПК вірогідно перевершував субстанцію кверцетину.

При застосуванні кверцетину вміст С-реактивного білка у сироватці крові тварин знижувався до 12,59 мг/л, що вірогідно відрізнялося від щурів групи інтактного контролю та контрольної патології. За вмістом СК відзначалася тенденція до нормалізації показника, яка не мала вірогідного характеру. Аналогічна закономірність зберігалася також при аналізі вмісту глікопротеїнів у сироватці крові тварин.

На фоні застосування диклофенаку натрію показники сироватки крові тварин перебували на рівні показників інтактних тварин, за винятком вмісту С-реактивного білка, що підтверджує виражені антифлогістичні властивості цього НПЗП.

Таким чином, за результатами проведених клінічних та біохімічних досліджень доведено, що ВМПК — оригінальний препарат, який виявляє сприятливий вплив на показники обміну хрящової та кісткової тканини на фоні розвитку аутоімунного артриту та приводить до гальмування імунозапальних процесів у сполучній тканині тварин. Відзначено більшу вираженість лікувального ефекту ВМПК порівняно з вибраним референс-об'єктом — субстанцією кверцетину.

ВИСНОВКИ

1. Новий ВМПК зумовлює позитивний вплив на перебіг КІА, що супроводжується нормалізацією імунозапальних процесів у сполучній тканині тварин.

2. За ступенем фармакологічного впливу на більшість досліджуваних показників ВМПК перевершує референс-об'єкт — субстанцію кверцетину.

3. ВМПК — перспективний коректор запально-деструктивних захворювань суглобів з аутоімунним компонентом.

ЛІТЕРАТУРА

1. **Зупанец І.А. (ред.)** (2005) Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования. Золотые страницы, Харьков, 200 с.
2. **Камышников В.С.** (2003) Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник. Интерпрессервис, Минск, 495 с.
3. **Карпищенко А.И. (ред.)** (2002) Медицинские лабораторные технологии. Интермедика, Санкт-Петербург, 408 с.
4. **Ковалев В.Б., Ковган В.В., Колчина Е.Ю.** (1999) Механизмы лечебного действия биофлавоноида кверцетина (обзор литературы). Укр. мед. альманах, 2(4): 176–182.
5. **Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н.** (2000) Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. МОРИОН, Киев, 320 с.
6. **Максютина Н.П.** (1993) Рослинний антиоксидант кверцетин та перспективи його використання в медицині. Фармац. журн., 4: 80–83.
7. **Мойбенко А.А., Пархоменко А.Н., Кожухов С.Н.** (2003) Эффективность водорастворимой формы кверцетина (корвитина) при лечении острого коронарного синдрома с элевацией сегмента ST (результаты проспективного рандомизированного открытого исследования). Журн. АМН Украины, 9(2): 361–370.
8. **Серов В.В., Пауков В.С. (ред.)** (1995) Воспаление. Медицина, Москва, 640 с.

9. **Ader P., Wessmann A., Wolfram S.** (2000) Bioavailability and metabolism of the flavonoid quercetin in the pig. Free Radic. Biol. Med., 28: 1056–1067.

10. **Anjaneyulu M., Chopra K.** (2004) Quercetin, an Antioxidant bioflavonoid, Attenuates Diabetic Nephropathy in Rats. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 31: 244–248.

11. **Chi-Yu Y., Su-Lan H., Kuo-Ching W.** (2005) Bioavailability and Metabolic Pharmacokinetics of Rutin and Quercetin in Rats. J. Food Drug. Anal., 13: 244–250.

12. **Duarte J., Pérez-Palencia R., Vargas F.** (2001) Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin in spontaneously hypertensive rats. Br. J. Pharmacol., 133(1): 117–124.

13. **García-Saura M.F., Galisteo M., Villar I.C.** (2005) Effects of chronic quercetin treatment in experimental renovascular hypertension. Mol. Cell. Biochem., 270(1–2): 147–155.

14. **Guerrero J.A., Lozano M.L., Castillo J.** (2005) Flavonoids inhibit platelet function through binding to the thromboxane A2 receptor. J. Thromb. Haemos., 3: 369–376.

15. **Remmers E.F., Joe B., Griffiths M.M.** (2002) Modulation of Multiple Experimental Arthritis Models by Collagen-Induced Arthritis Quantitative Trait Loci Isolated in Congenic Rat Lines. Arthritis Rheum., 46(8): 2225–2234.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО УГЛЕВОДМОДИФИЦИРОВАННОГО ПРЕПАРАТА КВЕРЦЕТИНА НА ТЕЧЕНИЕ КОЛЛАГЕН-ИНДУЦИРОВАННОГО АРТРИТА У КРЫС

И.А. Зупанец, В.Ф. Усенко, А.С. Шаламай

Резюме. Приведены результаты изучения влияния углеводмодифицированного препарата кверцетина (УМПК) на коллаген-индуцированный артрит у крыс на фоне его лечебного применения и по сравнению с референтными объектами — кверцетином и диклофенаком натрия. Показано положительное влияние УМПК на течение аутоимунного коллаген-индуцированного артрита, что подтверждено нормализацией функционального состояния суставов и клинико-биохимических показателей. Все это свидетельствует о снижении интенсивности иммунновоспалительных процессов в соединительной ткани животных под воздействием исследуемого препарата. По степени фармакологического влияния на большинство исследуемых показателей УМПК превосходит референс-объект — субстанцию кверцетина. Исследуемый оригинальный УМПК является перспективным корректором воспалительно-деструктивных заболеваний суставов с аутоиммунным компонентом и может быть рекомендован к применению в составе комплексной терапии пациентов с иммунновоспалительными и воспалительно-деструктивными заболеваниями суставов.

Ключевые слова:

углеводмодифицированный препарат кверцетина, кверцетин, диклофенак натрия, коллаген-индуцированный артрит, эффективность применения, клинические исследования, биохимические исследования.

**RESEARCH OF THE NEW
CARBOHYDRATEMODIFIED MEDICINE
OF QUERCETINE INFLUENCE
ON THE FLOWING OF COLLAGEN-
INDUCED ARTHRITIS IN RATS****I.A. Zupanets, V.F. Usenko, A.S. Shalamay**

Summary. *The results of study of CMMQ influence on collagen-induced arthritis in rats are resulted in comparison with reviewer objects — quercetine and diclofenac sodium. Positive influence of CMMQ is rotined on the flowing of autoimmune collagen-induced arthritis, that is confirmed with normalization of the functional state of joints and clinical-biochemical indexes. All of it testifies to the decline of intensity of immune-inflammatory processes in connecting fabric of animals under act of the probed medicine. On the degree of pharmacological influence on majority of the probed index-*

es CMMQ is excelled the reviewer object — substance of quercetine. Probed original CMMQ is the perspective proof-reader of inflammatory-destructive diseases of joints with auto-immune component and can be recommended to application in complex therapy of patients with immune-inflammatory and inflammatory-destructive diseases of joints.

Key words: carbohydratemodified medicine of quercetine, quercetine, diclofenac sodium, collagen-induced arthritis, efficiency of application, clinical researches, biochemical researches.

Адреса для листування:

Зупанець Ігор Альбертович
61057, Харків, вул. Пушкінська, 27
Національний фармацевтичний університет,
кафедра клінічної фармакології
з фармацевтичною опікою