

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРОФИЛАКТИКЕ ВЫЗВАННЫХ АСПИРИНОМ ЭРОЗИВНО-ЯЗВЕННЫХ ПОРАЖЕНИЙ У КРЫС

К.В. Кудрявцев, А.А. Маркевич, А.В. Вирченко, Т.М. Фалалеева,
Т.В. Береговая, Л.И. Остапченко

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко*

Введение

Нормальный пищеварительный процесс возможен лишь при сохранении оптимального баланса между агрессивными свойствами пищеварительных соков и механизмами защиты [1]. Этот баланс обеспечивается сложной системой нервных и гуморальных регуляторных факторов. Нарушение точности регуляции приводит к повреждениям слизистой оболочки, выражающимся в развитии воспалительных процессов – гастритов, дуоденитов, колитов и, в конечном счете, к появлению эрозий и язв различной степени выраженности. Язвенная болезнь является одним из наиболее массовых заболеваний, которым страдает огромное число людей во всем мире [2]. Особенно широко она распространена в высокоразвитых странах. Это одна из так называемых «болезней цивилизации» [3]. В связи с этим одной из важных проблем современной медицины является разработка методов эффективной профилактики и лечения язвенной болезни. Язвенная болезнь – мультифакторное заболевание. Одним из этиологических факторов эрозивно-язвенных поражений в слизистой оболочке желудка (СОЖ) и двенадцатиперстной кишки является прием нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) [4]. Хроническое применение НПВС вызывает гастродуоденальные эрозии слизистой в 35-60% пациентов, язвы в 10-25%, острые геморрагии и перфорации в <1% пациентов [5]. Эпидемиологические исследования показали, что НПВС повышают риск острых язвенных осложнений, таких как, кровотечения и перфорации, госпитализации и смертности примерно в 3-10 раз [5, 6].

НПВС являются одними из наиболее часто применяемых препаратов [6]. Поэтому актуальным является поиск эффективных

средств, которые оказывают профилактическое действие поражений слизистой оболочки желудка, вызванных НПВС. В предыдущей работе нами был показан профилактический эффект новых низкомолекулярных органических соединений на стресс-индуцированные поражения СОЖ крыс [7].

Связь работы с научными планами, темами. Работа выполнена в рамках научно-исследовательской темы "Исследование механизмов функционирования органов пищеварительного тракта и разработка методов их коррекции" (№ государственной регистрации 0106U005755) Киевского национального университета имени Тараса Шевченко, как составляющей комплексной государственной научной программы "Здоровье человека".

Целью нашей работы было изучить влияние низкомолекулярных органических соединений KUD 142, KUD 259, KUD 284, KUD 550, KUD 772, KUD 836, KUD 837, KUD 796 на эрозивно-язвенные поражения в слизистой оболочке желудка (СОЖ) крыс, вызванные введением аспирина.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены в условиях острого эксперимента на 60 белых нелинейных крысах массой 220-250 г. За сутки до проведения эксперимента животных подвергали пищевой депривации со свободным доступом к воде. Язвенно-эрозивные поражения СОЖ крыс вызывали введением аспирина [8]. Аспирин, разведенный в 0,2 М гидрохлоридной кислоте, вводили интрагастрально в дозе 100 мг/кг с расчета 250 мкл/100 г массы крысы.

Животные были разделены на 10 групп по 6 крыс в каждой:

1 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили внутривентриально (в/б) 0,2 мл/100 г массы крысы физиологического раствора (плацебо);

2 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б 0,2 мл/100 г массы крысы 1% раствора диметилсульфоксида ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора);

3 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD142 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы;

4 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиоло-

гического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD259 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы;

5 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD284 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы;

6 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD550 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы;

7 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD772 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы;

8 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD836 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы;

9 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD837 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы;

10 – животным за 15 минут до введения аспирина вводили в/б растворенное в 1% растворе ДМСО (10 мкл ДМСО в 1 мл физиологического раствора) низкомолекулярное органическое соединение KUD796 объемом 0,2 мл/100 г массы крысы.

Исследуемые низкомолекулярные органические соединения вводились в дозе 1 мг/кг. KUD796 был водорастворимый, а KUD 142, KUD 259, KUD 284, KUD 550, KUD 772, KUD 836, KUD 837 были растворены в ДМСО. В работе использованы вещества KUD 142, KUD 259, KUD 284, KUD 550, KUD 772, KUD 836, KUD 837, KUD 796, синтезированные в МГУ имени М.В. Ломоносова (Москва, Россия).

Через 3 часа после введения животных умертвляли методом цервикальной дислокации шейных позвонков, доставали желудок, разрезали его по малой кривизне, выворачивали слизистой наружу и тщательно промывали физиологическим раствором. При помощи гастроскопа при трансиллюминационном освещении исследовали состояние СОЖ (x4). В каждом желудке рассчитывали площадь и количество язв. Также по 5 бальной шкале оценивали характер кровоиз-

лияний. После чего рассчитывали площадь, количество язв и характер кровоизлияний в среднем на один желудок в каждой группе крыс.

Результаты исследований проверяли на нормальность распределения при помощи W теста Шапиро-Уилкоксона. Данные не соответствовали закону нормального распределения, поэтому их сравнение производили по критерию Манна-Уитни для несвязанных выборок. Данные представляли в виде $M \pm m$. Значимыми считали отличия при $p \leq 0,05$.

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного контракта № 11.519.11.2032 (Министерство образования и науки РФ).

Полученные результаты и их обсуждение

В результате введения аспирина через 3 часа после введения в слизистой оболочке желудка крыс появлялись эрозивно-язвенные поражения. Их суммарная площадь на один желудок составляла $55,5 \pm 15,3$ мм². Кровоизлияния были оценены на $1,9 \pm 0,6$ баллов. При введении ДМСО суммарная площадь эрозивно-язвенных поражений составляла $67,6 \pm 13,9$ мм². Интенсивность кровоизлияний составляла на $2,5 \pm 0,4$ баллов. Показатели поражений СОЖ при введении ДМСО значимо не отличались от таковых в контрольной группе.

Внутрибрюшинные инъекции низкомолекулярных органических соединений KUD 259, KUD 284 и KUD 772 перед введением аспирина значительно уменьшали площадь эрозивно-язвенных поражений на 73% ($p < 0,05$), 70,5% ($p < 0,05$) и 74% ($p < 0,05$) соответственно по сравнению с контрольной группой (рис. 1). Статистически значимых отличий в поражениях СОЖ между контролем и группой крыс, которым вводили KUD 837, не было зарегистрировано. При этом KUD 837 значимо уменьшал площадь поражений на 49,7% ($p < 0,05$) по сравнению с группой, которой вводили ДМСО. Также было выявлено профилактическое действие данных веществ на интенсивность кровоизлияний. Так, при введении KUD 259, KUD 284 и KUD 772 кровоизлияния уменьшались соответственно на 57,9% ($p < 0,05$), 47,4% ($p < 0,05$) и 73,7% ($p < 0,05$) по сравнению с контролем (рис. 2).

KUD 142, KUD 550, KUD 836 и KUD 796 не оказывали значимого действия на эрозивно-язвенные поражения в СОЖ крыс, вызванные введением аспирина (рис.1). При этом был выявленный позитивный эффект KUD 142 и KUD 796 на интенсивность кровоизлияний в СОЖ крыс (рис 2). KUD 142 и KUD 796 снижал интенсивность кровоизлияний по сравнению с группой крыс, которым вводили физиологический раствор, на 36,8% ($p < 0,05$) и 42,1% ($p < 0,05$) соответственно.

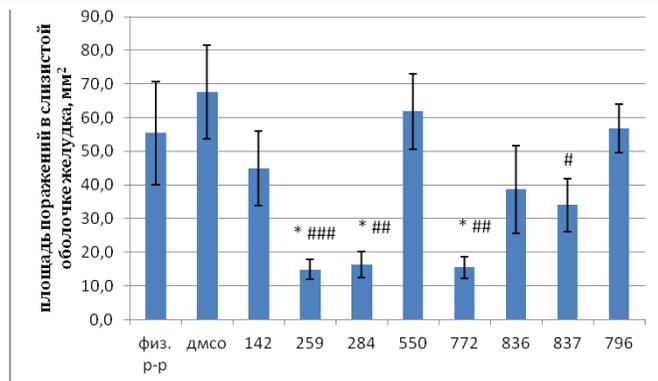


Рис. 1. Влияние KUD 142, KUD 259, KUD 284, KUD 550, KUD 772, KUD 836, KUD 837, KUD 796 (1 мг/кг, в/б) на площадь эрозивно-язвенных поражений в слизистой оболочке желудка крыс, вызванных аспирином.

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой крыс, которым вводили плацебо, #, ##, ### - $p < 0,05$, $p < 0,01$, $p < 0,001$ по сравнению с группой крыс, которым вводили ДМСО.

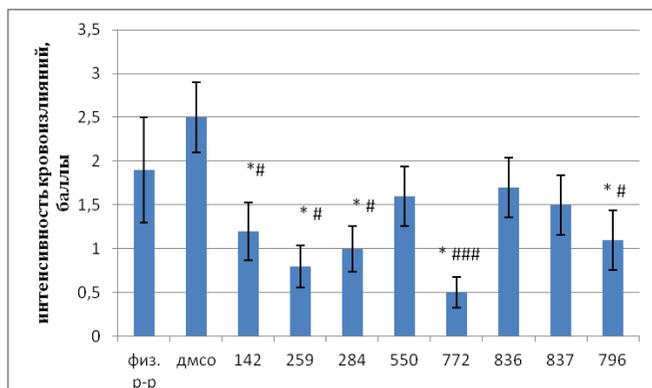


Рис. 2. Влияние KUD 142, KUD 259, KUD 284, KUD 550, KUD 772, KUD 836, KUD 837, KUD 796 (1 мг/кг, в/б) на интенсивность кровоизлияний в слизистой оболочке желудка крыс, вызванных аспирином.

Примечание: * - $p < 0,05$ по сравнению с группой крыс, которым вводили плацебо, #, ### - $p < 0,05$, $p < 0,001$ по сравнению с группой крыс, которым вводили ДМСО.

Выводы

1. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о гастропротекторной активности низкомолекулярных органических соединений KUD 259, KUD 284 и KUD 772 при моделировании аспи-

риновой язвы. Несколько меньший профилактический эффект был показан для соединений KUD 142, KUD 837 и KUD 796. KUD 550 и KUD 836 не оказывали профилактического действия на эрозивно-язвенные поражения СОЖ крыс, вызванные введением аспирина.

2. Результаты работы позволяют рекомендовать соединения KUD 259, KUD 284 и KUD 772, а также KUD 142, KUD 837 и KUD 796 для дальнейшего изучения механизмов их действия при язвообразовании, вызванном применением НПВС.

Литература

1. Tarnawski A.S. Molecular mechanisms of epithelial regeneration and neovascularization during healing of gastric and esophageal ulcers / A.S. Tarnawski, A. Ahluwalia // *Curr Med Chem.* – Vol. 19, № 1. – P. 16-27.
2. Філінов Ю.О. Захворюваність основними хворобами органів травлення в Україні: аналітичний огляд офіційних даних Центру статистики МОЗ України / Ю.О. Філінов // *Гастроентерологія: міжвід. зб.* – 2007. – № 38. – С. 13-15.
3. Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents / P. Bittencourt, G. Rocha, F. Penna [et al.] // *J. Pediatr.* – 2006. – № 82. – P. 325-334.
4. Cann P.A. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcers / P.A. Cann // *BMJ.* – 1990. – Vol. 300, № 6728. – P. 875-876.
5. Hawkey C.J. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and peptic ulcers / C.J. Hawkey // *BMJ.* – 1990. – Vol. 300, № 6720. – P. 278-284.
6. Cyclooxygenase 2-implications on maintenance of gastric mucosal integrity and ulcer healing: controversial issues and perspectives / F. Halter, A.S. Tarnawski, A. Schmassmann [et al.] // *Gut.* – 2001. – Vol. 49, № 3. – P. 443-453.
7. Novel drug-like small molecules protect from stress-induced gastric ulceration in vivo / K.V. Kudryavtsev, M.I. Kucherenko, T.M. Falalyeyeva [et al.] // *European Journal of Clinical Investigation.* – 2012. – Vol. 42, Suppl. 1. – P. 6.
8. Effect of probiotics on aspirin-induced gastric mucosal lesions / A. Senol, M. Isler, A.G. Karahan [et al.] // *Turk J Gastroenterol.* – Vol.22, № 1. – P. 18-26.

Резюме

Кудрявцев К.В., Маркевич А.О., Вірченко О.В., Фалалеева Т.М., Берегова Т.В., Остапченко Л.І. Використання нових низкомолекулярних органічних сполук в профілактиці ерозивно-виразкових уражень, викликаних аспирином у щурів.

Встановлено, що KUD 259, KUD 284 і KUD 772 ефективно захищали слизову оболонку шлунка (СОШ) щурів від ерозивно-виразкових уражень, викликаних аспирином. Деяко меншою противиразковою активністю володіли сполуки KUD 142, KUD 837 і KUD 796. KUD 550 і KUD 836 не чинили профілактичної дії на ерозивно-виразкові

ураження СОШ шурів, викликані введенням аспірину. Результати роботи дозволяють рекомендувати низькомолекулярні органічні сполуки KUD 259, KUD 284 і KUD 772, а також KUD 142, KUD 837 і KUD 796 для подальшого вивчення механізмів їх дії при виразкоутворенні, викликаному застосуванням НПЗЗ.

Ключові слова: слизова оболонка шлунка, ерозивно-виразкові ураження, аспірин, низькомолекулярні органічні сполуки.

Резюме

Кудрявцев К.В., Маркевич А.А., Вирченко А.В., Фалалеєва Т.М., Берегова Т.В., Остапченко Л.И. *Использование новых низкомолекулярных органических соединений в профилактике эрозивно-язвенных поражений, вызванных аспирином у крыс.*

Установлено, что KUD 259, KUD 284 и KUD 772 эффективно защищали слизистую оболочку желудка (СОЖ) крыс от эрозивно-язвенных поражений, вызванных аспирином. Несколько меньшей антиязвенной активностью обладали соединения KUD 142, KUD 837 и KUD 796. KUD 550 и KUD 836 не оказывали профилактического действия на эрозивно-язвенные поражения СОЖ крыс, вызванные введением аспирина. Результаты работы позволяют рекомендовать низкомолекулярные органические соединения KUD 259, KUD 284 и KUD 772, а также KUD 142, KUD 837 и KUD 796 для дальнейшего изучения механизмов их действия при язвообразовании, вызванном применением НПВС.

Ключевые слова: слизистая оболочка желудка, эрозивно-язвенные поражения, аспирин, низкомолекулярные органические соединения.

Summary

Kudryavtsev K.V., Markevich A.O., Virchenko O.V., Falalyeyeva T.M., Beregova T.V., Ostapchenko L.I. *Application of novel small-molecule organic compounds in the prevention of erosive and ulcerative lesions caused by aspirin in rats.*

It was established that KUD 259, KUD 284 and KUD 772 effectively protected the gastric mucosa rats from erosive and ulcerative lesions caused by aspirin. KUD 142, KUD 837 and KUD 796 demonstrated lower antiulcer activity. KUD 550 and KUD 836 did not have a preventive effect on the erosive and ulcerative lesions in gastric mucosa of rats induced by administration of aspirin. The results of the study allow to recommend low-molecular organic compounds KUD 259, KUD 284 and KUD 772, and also KUD 142, KUD 837 and KUD 796 for further study of the mechanisms of their action on ulceration caused by the use of NSAIDs.

Key words: gastric mucosa, erosive and ulcerative lesions, aspirin, low molecular weight organic compounds.

Рецензент: д.біол.н., проф. М.Е. Держинський

УДК: 615.454.1:54.061/.062

ВАЛІДАЦІЯ АНАЛІТИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ДІЮЧОЇ РЕЧОВИНИ У СКЛАДІ КРЕМУ «СТЕРОКОРТ»

Г.П. Кухтенко, О.О. Ляпунова, О.С. Назарова

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (Харків)

Вступ

Відповідно до вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ), методики кількісного визначення лікарських речовин, які входять до методик контролю якості (МКЯ) на лікарські засоби, повинні бути валідовані [1, 2]. А в умовах сертифікації українських фармацевтичних підприємств, відповідно до вимог належної виробничої практики, валідація аналітичних методик є обов'язковою [3].

До складу крему в якості діючої речовини входить глюкокортикоїд нового покоління – метилпреднізолону ацепонат, який поєднує в собі високу терапевтичну ефективність та незначну побічну дію. Даний препарат рекомендований до застосування при лікуванні atopічного дерматиту, нейродерміту, екземи та алергічного дерматиту, дозволений до застосування у педіатрії, що є значною перевагою перед іншими лікарськими засобами з вмістом глюкокортикоїдів. Тому, при розробці лікарського засобу «Стерокорт» у формі крему, на етапі хімічного аналізу лікарської форми, необхідним є розробка методики кількісного визначення діючої речовини метилпреднізолону ацепонату, антимикробного консерванту Euxyl® PE 9010 (еуксил) та проведення валідації аналітичної методики.

Сучасним методом аналізу готових лікарських форм є високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), яка дозволяє отримувати результати швидко, із високою точністю та надійністю. Тому при дослідженні кількісного складу крему було надано перевагу саме цьому методу.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконані відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Хімічний синтез, виділення та аналіз нових фармакологічно активних речовин,

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії