

## ФАРМАЦЕВТИЧНІ НАУКИ

УДК 615.03+615.038

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.47015

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ ДІЇ ТАБЛЕТОК ЖУВАЛЬНИХ НА ОСНОВІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ ВІВСА ТА КВЕРЦЕТИНА**

© Я. Р. Андрійчук, Л. Л. Давтян

*Розробка нових лікарських засобів – одна із найважливіших задач вітчизняної фармацевтичної науки. Так було створено лікарських засіб у формі таблеток жувальних на основі сухого екстракту вівса та кверцетину. Була досліджена протипухлинна активність лікарського засобу. Експериментально було доказано наявність протипухлинної дії досліджуваного лікарського засобу на основі сухого екстракту вівса та кверцетину*

**Ключові слова:** жувальні таблетки, екстракт вівса, кверцетин, протипухлинні агенти, карцинома легень, розробка лікарського засобу

*One of the main goals of domestic pharmaceutical science is development of new medicines. Thus, new tablet drug was created based on dry oat extract and quercetin. Investigation of antineoplastic activity was performed. Antineoplastic activity of investigational drug based on dry oat extract and quercetin was experimentally proved*

**Keywords:** chewing tablets, oat extract, quercetin, antineoplastic agents, lung carcinoma, drug development

**1. Вступ**

Фармакологічні дослідження є невід'ємною складовою розробки будь-якого лікарського засобу. Так, нами було розпочато створення нового вітчизняного лікарського засобу на основі сухого екстракту вівса та кверцетину. Вивчення протипухлинної активності лікарського засобу – стратегічний елемент у подальшій розробці лікарського засобу.

**2. Постановка проблеми**

Оскільки не має жодних літературних даних щодо наявності протипухлинної активності лікарських засобів, які б містили сухий екстракт вівса та кверцетин – дослідження протипухлинної активності лікарського засобу є актуальним та перспективним. Метою нашої роботи стало дослідження фармакологічної активності препарату у формі таблеток жувальних з сухим екстрактом вівса та кверцетином, який розробляється на базі ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ».

**3. Літературний огляд**

Так, розробка лікарського засобу є поетапним процесом, що включає отримання даних щодо його безпеки та оцінку ефективності препарату на тваринах і людях. Завдання доклінічної оцінки безпеки зазвичай включають характеристику токсичного впливу на органи-мішені, дозозалежність, взаємозв'язок з експозицією, і, за необхідності, потенціал зворотності дії. Ці дані використовуються для встановлення безпечної стартової (початкової) дози, діапазону доз для клінічних випробувань, а також визначення параметрів клінічного моніторингу потенційних побічних ефектів.

Сучасне суспільство прагне гуманізувати наукові дослідження, заохочує зменшення кількості тварин, які використовуються в експериментах, та застосування альтернативних методів. Але використання традиційних експериментів на тваринах складає значну частину досліджень у фармакології [1]. Ці випробування проводяться з урахуванням етичних та морально-правових принципів, які гарантують захист інтересів суб'єктів дослідження, тобто забезпечення гуманного поводження з експериментальними тваринами та раціональне їхнє використання з науковою та навчальною метою [2].

В Україні доклінічні дослідження проводяться відповідно до статті 6 закону України «Про лікарські засоби» [3], «Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» [4] та настанови з належної лабораторної практики [5].

**4. Експериментальні фармакологічні дослідження протипухлинної дії таблеток жувальних на основі сухого екстракту вівса та кверцетину**

Об'єктами наших досліджень є жувальні таблетки з сухим екстрактом вівса посівного та кверцетином. В проведених дослідженнях протипухлинну дію Кверцетину вивчали з використанням карциноми легені Льюїс (КЛЛ або LLC). Дана модель є метастазуючою та достатньо рефрактерною до традиційної цитотоксичної терапії. Високометастатичний вихідний варіант карциноми легені Льюїс є експериментальною пухлинною моделлю з метастатичним потенціалом, що регламентовано Державним Експертним центром МОЗ України для проведення доклінічних досліджень протипухлинних агентів.

Дослідження проводились на мишах-самцях лінії C57/BL<sub>6</sub> розводки віварію ІЕПОР, віком 2–2,5 міс., вагою 19–23 г. Всі дослідження на тваринах було виконано згідно правил, прийнятих Етичним Комітетом ІЕПОР.

Всі тварини були одержані з розплідника віварію ІЕПОР ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Утримання мишей та робота з ними здійснювались у відповідності до міжнародних прийнятих правил проведення робіт з експериментальними тваринами.

Характеристика ліній мишей [6]: утримання мишей та робота з ними проводилися у відповідності до загальноприйнятих міжнародних правил виконання робіт з експериментальними тваринами [7].

В якості експериментальних пухлинних моделей було використано культуру клітин LLC.

Пухлинні клітини культивувалися у повному поживному середовищі RPMI 1640 (Sigma, США), що містило 10 % ембріональної сироватки телят великої рогатої худоби (Sigma, США), 2 мМ L-глутаміну (Sigma, США) і 40 мкг/мл сульфату гентаміцину за стандартних умов при 37°C, 5 % CO<sub>2</sub>, 100 % вологості.

Для отримання експериментальних пухлинних моделей клітини LLC інокулювали мишам внутрішньом'язово в праве стегно тварин у кількості 1,0x10<sup>6</sup> клітин в 0,1 мл розчину Хенкса.

В процесі дослідження проводили моніторинг фізіологічного стану та контроль ваги тварин (тричі на тиждень).

### 5. Апробація результатів дослідження

В даному експерименті було досліджено проти-пухлинні ефекти викликані застосуванням досліджуваного препарату в монорежимі у тварин з перещепленою карциномою легені Льюїс. Годування таблетками з кверцетином та екстрактом вівса починали на 10-ту добу після перещеплення пухлинних клітин (1x10<sup>6</sup> ПК/тварину), коли пухлинний вузол добре візуалізувався. Досліджуваний лікарський засіб давали протягом 14-ти днів із розрахунку 13 мг препарату/тварину на одне введення, що відповідало (0,5 мг препарату). Забій тварин проводили на 26-ту добу після перещеплення пухлинних клітин (2-га доба після закінчення терапії препаратом).

При аналізі середньої маси пухлин на момент забою було встановлено, що вживання таблеток з кверцетином та екстрактом вівса призвело до вірогідного зменшення маси пухлинного вузла, що вказує на наявність протипухлинної дії застосованого препарату (табл. 1).

Середня кількість метастазів була однаковою в досліджуваних групах і становила: 6,8±1,39 шт/тварину – у контролі пухлинного росту та 6,4±2,16 шт/тварину – у тварин, які отримували кверцетин. У тварин, які отримували кверцетин об'єм метастатичного враження був у

два рази нижчим порівняно з контрольною групою і становив 27,43±15,93 мм<sup>3</sup>/тварину – у тварин, які отримували кверцетин та 57,58±16,99 мм<sup>3</sup>/тварину – у тварин контрольної групи. Таки чином, з отриманих даних встановлено, що використання кверцетину мало значну протипухлинну дію, що проявлялась у затримці розвитку первинного пухлинного вузла та у зменшенні об'єму метастатичного враження тварин.

Таблиця 1

Середня маса первинного пухлинного вузла у тварин з перещепленою карциномою легені Льюїс

	Маса пухлинного вузла, г
Контроль ПР	7,36±0,54
Кверцетин	3,98±0,40

При дослідженні внутрішніх органів дослідних тварин, візуальних порушень не було виявлено. Вагові показники органів наведено в табл. 2.

Таблиця 2

Середня маса внутрішніх органів мишей-самців з перещепленою карциномою легені Льюїс

Органи	Контроль ПР	Кверцетин
Легені	0,21±0,02	0,25±0,024
Серце	0,11±0,01	0,12±0,003
Печінка	1,1±0,07	1,14±0,095
Органи	Контроль ПР	Кверцетин
Селезінка	0,21±0,01	0,26±0,023
Нирки	0,1±0	0,11±0,01

Як видно з табл. 2, у тварин, які отримували препарат відбулося незначне збільшення маси, всіх внутрішніх органів. Але при подальшому аналізі було встановлено, що збільшення масових показників відбулося за рахунок збільшення загальної маси тварин, оскільки у досліджуваних тварин спостерігали менш виражену інтоксикацію. Середня маса дослідних тварин становила 23±0,58 г – у контролі пухлинного росту та 24±0,58 г – у тварин, які отримували таблетки з кверцетином та екстрактом вівса.

При дослідженні окремих протипухлинних реакцій було встановлено, що у тварин, які отримували таблетки з кверцетином та екстрактом вівса в більшій мірі стимульована функціональна активність імунних клітин (табл. 3).

При аналізі отриманих даних було встановлено, що у тварин, які отримували таблетки з кверцетином та екстрактом вівса значно збільшені показники антитілозалежної цитотоксичної активності лімфоцитів та макрофагів. Активація цитотоксичної активності призвела до вираженої протипухлинної дії у дослідних тварин на термінальних етапах пухлинного росту (табл. 4).

Таблиця 3

Функціональна активність імунних клітин тварин з перещепленою карциномою легені Льюїс

	Контроль ПР	Кверцетин
Цитотоксична активність Лф	73,73±18,88	92,11±15,91
Антитілозалежна цитотоксична активність Лф	14,81±8,20	75,28±14,20
Цитотоксична активність Мф	15,15±1,47	15,84±1,35
Антитілозалежна цитотоксична активність Мф	42,79±5,79	75,31±6,47

Показники морфологічного стану крові мишей -самок при нанесенні препарату на шкіру

Назва показників	Контроль ПР	Кверцетин	Інтакт
Гемоглобін, г/л	54±9	89±21	124±4
Еритроцити, $\times 10^6$ /мл	4,28±0,83	6,55±1,67	9,03±0,28
Лейкоцити, $\times 10^3$ /мл	4,35±0,55	13±3,2	11,1±0,6
Тромбоцити, $\times 10^6$ /мл	196±0	333±67	556±40
Лімфоцити, %	51,35±5,95	59,4±8,4	64,5±4,6
Моноцити, %	15,65±1,55	17,55±1,85	14±0,3
Гранулоцити, %	21,9±3,6	21,8±1,6	21,85±3,95

Аналізуючи, отримані дані було встановлено, що у тварин з пухлинним процесом на термінальних стадіях пухлинного процесу розвивається анемія, яка піддається корекції за рахунок постійного прийому препарату у тварин з пухлинним процесом. Анемія розвивається за рахунок зменшення інтоксикації спричиленої пухлинним процесом.

### 6. Висновки

Таким чином отримані дані вказують на те, що досліджуваний препарат проявляє виражену протипухлинну дію, що проявляється у гальмуванні розвитку первинного пухлинного вузла та в затримці розвитку метастазів з вихідним варіантом карциноми легені Льюїс.

### Література

- Добреля, Н. В. Розвиток європейського законодавства в сфері використання тварин у наукових експериментах [Текст] / Н. В. Добреля, Є. В. Стрелков, Т. А. Бухтіарова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2014. – № 2. – С. 88–91.
- Russel, W. M., Burch, R. L. (1992). The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Co. Ltd. 1959 [Text] / W. M. Russel, R. L. Burch // Universities Federation for Animal Welfare, Herts, England, 1992. – 238 p.
- Закон України «Про лікарські засоби» N 124/96-ВР (зі змінами) [Текст] // Відомості Верховної Ради України (ВВР). – 1996. – № 22.
- Наказ міністерства охорони здоров'я України від 14.12.09 № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», зареєстрований в Міністерстві юстиції України від 19.01.2010 р. за № 53/17348.

5. Стефанов, О. Настанова. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика [Текст] / О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – Київ, МОЗ України, 2009

6. Медведев, Н. Н. Линейные мыши [Текст] / Медведев Н. Н. – Ленинград: Медицина, 1964. – 179 с

7. Кожем'якін, Ю. М. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними [Текст] / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. Держ. фармакол. центр. – К. : Вид. дім "Авіцена", 2002. – 155 с.

### References

- Dobrelja, N. V., Strjelkov, J. V., Buhtiarova, T. A. (2014). Rozvytok jevropskejskogo zakonodavstva v sferi vykorystannja tvaryn u naukovykh eksperymentah. Farmakologija ta likars'ka toksykologija, 2, 88–91.
- Russel, W. M., Burch, R. L. (1992). The principles of humane experimental technique. London: Methuen & Co. Ltd. 1959. Universities Federation for Animal Welfare, Herts, England, 238.
- (1996). Zakon Ukrai'ny «Pro likars'ki zasoby» N 124/96-VR (zi zminamy). Vidomosti Verhovnoi' Rady Ukrai'ny (VVR), 22.
- (2010). Nakaz ministerstva ohorony zdorov'ja Ukrai'ny vid 14.12.09 № 944 «Pro zatverdzhennja Porjadku provedennja doklinichnogo vyvchennja likars'kyh zasobiv ta ekspertyzy materialiv doklinichnogo vyvchennja likars'kyh zasobiv», zarejestrovanyj v Ministerstvi justycii' Ukrai'ny vid 19.01.2010 r. za № 53/17348.
- Stefanov, O., Buhtiarova, T., Kovalenko, V. et. al (2009). Nastanova. Likars'ki zasoby. Nalezna laboratorna praktyka. Kyi'v, MOZ Ukrai'ny.
- Medvedev, N. N. (1964). Lynejnye myshy. Leningrad: Medycyna, 179.
- Kozhem'jakin, Ju. M., Hromov, O. S., Filonenko, M. A., Sajfetdinova, G. A. (2002). Naukovo-praktychni rekomendacii' z utrymannja laboratornyh tvaryn ta roboty z nymy. Derzh. farmakol. centr. Kyiv : Vyd. dim "Avicena", 155.

Дата находження рукопису 18.06.2015

**Давтян Лєна Левонівна**, доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри, кафедра фармацевтичної технології та біофармації, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, Україна, 04112  
E-mail: ldavtan@mail.ru

**Андрійчук Ярослав Ростиславович**, кафедра фармацевтичної технології та біофармації, Національна медична академія післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика, вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, Україна, 04112  
E-mail: iaroslav.andriichuk@gmail.com