© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2010
УДК 661.718.6: 616.36

Розробка оптимального режиму дозування ліофілізованого порошку аронії чорноплідної як найбільш активного гепатопротектора за умов гострого токсичного гепатиту методом двофакторного експерименту

Л.В.Савченкова, В.В.Рокотянська

Луганський державний медичний університет
Луганськ, Україна

Проведено фармакометричне дослідження, спрямоване на розробку дозового режиму застосування ліофілізованого порошку аронії чорноплідної при токсичному гепатиті тетрахлорметанового ґенезу. Методом математичного моделювання з використанням двофакторного експерименту встановлено, що найбільш оптимальний режим дозування препарату полягає в його введенні в дозі 257,6 мг/кг протягом 10 днів з моменту моделювання токсичного ураження печінки.

Ключові слова: токсичний гепатит, аронія чорноплідна, двофакторний експеримент.

ВСТУП

Виходячи із сучасних уявлень про патогенез токсичного гепатиту (ТГ), основними ланцюгами ураження печінки в першу чергу є порушення ферментативних, окислювальних та обмінних процесів у клітинах печінки, що проявляється в ушкодженні мітохондрій гепатоцитів, ферментних систем ендоплазматичного ретикулуму, надлишковому утворенні вільних радикалів з активацією перекисного окислення есенціальних фосфоліпідів клітинних мембран. При цьому суттєве значення має порушення внутрішньопечінкового кровообігу з подальшою ішемізацією та дегенеративними змінами відповідних ділянок печінки.

Саме тому високоефективні гепатопротектори повинні володіти багатовекторною фармакодинамікою та бути здатні впливати на різні ланки патогенезу ТГ. Крім того, враховуючи роль печінки в організмі і в першу чергу її детоксикуючі властивості, препарати з гепатопротекторною дією самі по собі повинні проявляти мінімум небажаних реакцій при їх тривалому застосуванні. Саме тому при пошуку високоефективних потенційних гепатопротекторів ми звернулись до лікарської рослинної сировини, і в першу чергу нашу увагу привернула аронія чорноплідна. Завдяки вмісту пектинових речовин чорноплідна горобина сприяє виведенню з організму важких металів і радіоактивних речовин. Пектини нормалізують функціонування кишківника, чинять спазмолітичну і жовчогінну дію. Лікувальні властивості чорноплідної горобини сприяють зміцненню стінок кровоносних судин, покращуючи їх пружність і еластичність, знижують артеріальний тиск і нормалізують шлункову секрецію.

Проведеними раніше нами скринінговими дослідженнями виявлено, що найбільшою гепатопротекторною активністю володіє ліофілізований порошок аронії чорноплідної. Проте подальше поглиблене фармакологічне дослідження вказаного препарату не представляється можливим без розробки режиму його дозування.

Оптимальний дозовий режим передбачає перш за все визначення мінімальної дози й оптимального часу введення з'єднання, що вивчається, що може забезпечити максимальний фармакотерапевтичний ефект в умовах конкретного патологічного стану.

Нині існує безліч методів математично-

ТАБЛИЦЯ 1

Залежність рівня SH-груп у сироватці крові і тривалості тіопенталового сну від дози і часу введення аронії чорноплідної щурам з гострим токсичним гепатитом (n=5-10)

№ серії	d_1	d_2	Рівень SH-груп, нмоль/л	Тест «тіопенталовий сон», хв.
1	+1	+1	5,19	86,5
2	+1	-1	6,18	25,5
3	-1	+1	4,59	171,2
4	-1	-1	6,18	25,5
5	0	0	5,26	66,83
6	+1	0	5,38	90,2
7	-1	0	4,94	187,6
8	0	+1	5,26	66,00
9	0	-1	6,18	25,5

го моделювання біологічних процесів, проте найбільш досконалим у плані високої міри достовірності й інформативності є двофакторний експеримент [1], заснований на покроковому регресійному аналізі.

Метою дослідження була розробка режиму дозування аронії чорноплідної як найбільш активного гепатопротектора в умовах гострого токсичного гепатиту у лабораторних тварин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліди виконані на 56 білих безпородних щурах обох статей масою 180-200 г в лабораторії фармацевтичного факультету Луганського державного медичного університету з урахуванням методичних рекомендацій Державного фармакологічного центру МОЗ України [2].

Експериментальною моделлю служив патологічний процес, що розвивається у експериментальних тварин при внутрішньоочеревинному введенні 50% олійного розчину тетрахлорметану в дозі 4 мл/кг протягом 4 діб. Аронію чорноплідну вводили перорально протягом 14 днів, починаючи з першого дня моделювання патологічного стану в різних дозах (150,0 і 300,0 мг/кг). В якості критерію ефективності порошку аронії в умовах експерименту, що вивчаються, нами обрані рівень сульфгідрильних груп у сироватці крові та тривалість тіопенталового сну, які визначали за допомогою методів [3] і [4] відповідно.

Математичне моделювання залежності фармакотерапевтичного ефекту від дози і часу введення препарату аронії щурам проводили методом двофакторного експерименту за допомогою екстраполяції дослідних даних на поліном 2-го порядку виду $a_0+a_1 d_2+a_2d_2+a_{11}d_{12}+a_{22}d_{22}+a_{12}d_1d_2$ з наступним розрахунком його коефіцієнтів за допомогою спеціально розробленої на кафедрі фармакології ЛугДМУ комп'ютерної програми [5-6] з використанням стандартних констант [1]. При цьому для уніфікації розрахунків цих показників і усунення можливості математичної помилки час введення препарату і його дозу переводили в умовні одиниці. Так, змінною d_1 означали дозу препарату, що вводився. При цьому значення -1 відповідало введенню води очищеної; 0 — аронії чорноплідної з розрахунку 150 мг/кг; +1 — аронії чорноплідної 300 мг/кг. Аналогічним чином величина d_2 вказувала на відповідний час введення препарату: значення -1 — момент до моделювання гострого токсичного гепатиту; 0 — сьома доба; +1 — чотирнадцята доба.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведеної серії фармакометричних досліджень наведені в табл. 1, в якій з метою спрощення наступних розрахунків отримані експериментальні дані розподілені на дві групи.

На першому етапі дослідження з використанням спеціальної таблиці зробили розрахунок коефіцієнтів шуканого полінома, залежності рівня SH-груп та тривалості тіопенталового сну від часу введення аронії чорноплідної і її доз, який математично в загальному вигляді виражається таким чином: $E(d_1,d_2)=a_0+a_1d_1+a_2d_2+a_1{}_1d_{12}+a_{22}d_{22}+a_{12}d_1d_2$ (1), де d_1 — доза досліджува-

ТАБЛИЦЯ 2

Константи, вживані для обчислення коефіцієнтів полінома двофакторного експерименту

№ досліду	$*C_J$	9	6	6	6	6	4
	a_i	a_0	a_1	a_2	a_{11}	a_{22}	a_{12}
1	(+1;+1)	-1	+1	+1	+1	+1	+1
2	(+1;-1)	-1	+1	-1	+1	+1	-1
3	(-1;+1)	-1	-1	+1	+1	+1	-1
4	(-1;-1)	-1	-1	-1	+1	+1	+1
5	(0;0)	+5	0	0	-2	-2	0
6	(+1;0)	+2	+1	0	+1	-2	0
7	(-1;0)	+2	-1	0	+1	-2	0
8	(0;+1)	+2	0	+1	-2	+1	0
9	(0;-1)	+2	0	-1	-2	+1	0

Примітка: *$*C_J$ — константи, необхідні для розрахунку коефіцієнтів полінома (1).*

ТАБЛИЦЯ 3

Рівняння регресії, що описують залежність рівня SH-груп у сироватці крові і тривалості тіопенталового сну від доз і часу введення аронії чорноплідної щурам з гострим токсичним гепатитом

Показник, що аналізується	Рівняння регресії
Рівень SH-груп, нмоль/л	$5{,}192 - 0{,}248d_1 + 0{,}583d_2 - 0{,}228d_1^2 - 0{,}557d_2^2 - 0{,}150d_1d_2$
Тест «тіопенталовий сон»	$0{,}517 + 4{,}133d_1 + 4{,}200d_2 - 3{,}190d_1^2 + 8{,}610d_2^2 + 2{,}175d_1d_2$

ного препарату; d_2 — час введення; Е — залежність гепатопротекторної ефективності аронії чорноплідної при її пероральному застосуванні від дози (d_1) і часу введення (d_2); a_1, a_2, a_{11}, a_{12}, a_{22} — коефіцієнти.

Для отримання коректної математичної залежності необхідно було визначити значення змінних a_i і a_{ij}, які обчислювали з використанням описаних у літературі [1] констант (табл. 2).

При цьому коефіцієнти полінома (1) визначали як частку від ділення суми помноження результатів кожної серії експериментів на вектор, наведений у відповідному стовпці таблиці 2, на відповідне значення C_j.

Так, наприклад, при аналізі гепатопротекторної ефективності аронії чорноплідної при досліджуваній формі гострого токсичного гепатиту коефіцієнт полінома a_0 визначається таким чином:

$$a_0 = \frac{(-1\times A_1)+(-1\times A_2)+(-1\times A_3)+(-1\times A_4)+(5\times A_5)+(2\times A_6)+(2\times A_7)+(2\times A_8)+(2\times A_9)}{9}, \quad (2)$$

де E_1 .... E_9 - ефективності ліофілізованого порошку аронії чорноплідної у відповідній серії досліду.

Розрахунок інших коефіцієнтів (a_1, a_2, a_{11}, a_{12}, a_{22}) проводили аналогічним чином.

У результаті відповідної комп'ютерної обробки результатів експериментальних фармакометричних досліджень (табл. 1) отримана інформативна математична модель ($P_{\text{інформативності}}$ >95%) [1], яка дозволяє досить адекватно описати в кодованому виді вплив часу ведення препарату і його дози на перебіг гострого токсичного гепатиту.

ТАБЛИЦЯ 4

Оптимальні відносні значення змінних величин d_1 і d_2

Показники	d_1	d_2
Рівень SH-груп, нмоль/л	0,68564	0,43102
Тест «тіопенталовий сон», хв.	0,749	0,476

Після усунення статистично незначущих членів отримані моделі у вигляді рівнянь регресії, які дають можливість достатньою мірою коректно характеризувати залежність гепатопротекторної дії аронії чорноплідної від її дози і часу введення тваринам із цією патологією, математично описувані різними функціями (табл. 3).

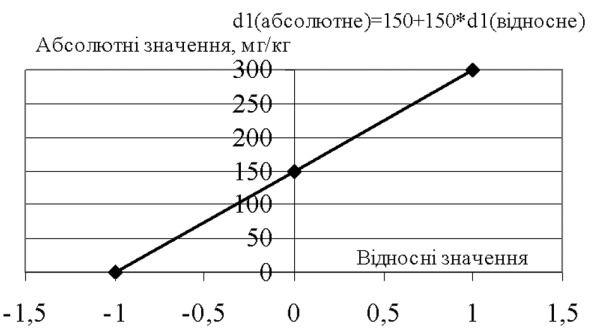
Як видно з наведених в табл. 3 даних, математична модель, що вивчається, описується рівняннями регресії 2-го порядку. Наступні математичні обчислення проводили, виходячи із загальноприйнятих підходів, заснованих на визначенні екстремумів отриманих поліномів, шляхом прирівнювання часних похідних 1-го порядку до нуля і обчисленням отриманих коренів лінійного рівняння:

$$\begin{cases} \partial F'_{d1} = a_1 + 2a_1 d_1 + a_2 d_2 = 0 \\ \partial F_{d2} = a_2 + 2a_2 d_2 + a_2 d_1 = 0 \end{cases},$$

звідки після нескладних математичних перетворень визначили в загальному вигляді залежність між змінними полінома, тобто

$$\begin{cases} d_2 = \dfrac{-a_1 - 2a_1 d_1}{a_2} \\ d_1 = \dfrac{-a_2 - 2a_2 d_2}{a_2} \end{cases}.$$

Після рішення цих систем рівняння були встановлені формули, необхідні для обчислен-



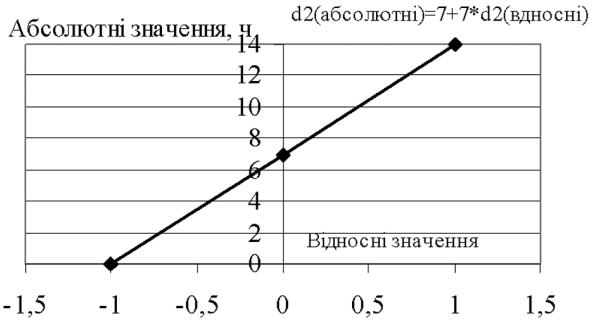


Рис. 1. Графік переводу відносних значень d1 і d2 в абсолютні.

ТАБЛИЦЯ 5

Оптимальні абсолютні значення змінних d_1 і d_2

Показники	Змінні величини	
	d_1 (доза, мг/кг)	d_2 (час, доба)
SH-групи	262,35	10,3
Тіопенталовий сон	252,85	10,02

ня оптимальних параметрів режиму дозування (доза, час):

$$\begin{cases} d_1 = \dfrac{-a_2 - 2a_2 d_2}{a_1} \\ d_2 = \dfrac{-a_1 a_2 + 2a_2 a_1}{(a_1)^2 - 4a_1 a_2} \end{cases}$$

Наступним етапом досліджень представляло безперечний інтерес безпосередньо вичислити значення оптимальних доз і часу введення потенційного засобу фармакологічної корекції в умовах гострого токсичного гепатиту. Для цього, враховуючи залежність (2), проведено аналіз визначених раніше рівнянь регресії (табл. 3), на підставі яких розраховані значення змінних d_1 і d_2 (табл. 4).

Враховуючи умови використаного в роботі методу математичного моделювання, отримані дані носять відносний характер, з метою перекладу яких в абсолютні одиниці, зважаючи на параметри регресійного аналізу і рівняння прямої, проведеної через дві точки ($\frac{y-y_1}{y_2-y_1}=\frac{x-x_1}{x_2-x_1}$), побудована графічна залежність між відносними й абсолютними значеннями змінних полінома (рис. 1).

Це дозволило вичислити абсолютні значення d_1 і d_2, а саме дози і час введення аронії чорноплідної в умовах токсичного гепатиту (табл. 5).

Наступний аналіз отриманих в експерименті даних дозволив вичислити середні значення змінних величин, які склали,: d_1 =257,6 мг/кг; d_2=10,16 дня.

Таким чином, проведені нами фармакометричні дослідження, спрямовані на розробку оптимального режиму дозування ліофілізованого порошку аронії чорноплідної в умовах гострого токсичного гепатиту, дозволили встановити, що найбільш оптимальний режим дозування препарату, що вивчається, полягає в його введенні в дозі 257,6 мг/кг упродовж 10 діб з моменту початку моделювання форми токсичного ураження печінки, що вивчається.

ЛІТЕРАТУРА

1. Рафаэлес Э.Э., Николаев Н.И. Некоторые методы планирования математического анализа биологических экспериментов. — К.: Наукова думка, 1971. — 157 с.
2. Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. рек. / Под ред. члена-кор. АМН Украины А.В.Стефанова. — К., 2002. — 567 с.
3. Ellman G.L. Gissue sulfhydril group // Arc. Biochem. Biophys. — 1959. — Vol. 82. — P. 70-77.
4. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів: Метод. рек. / Под ред. І.Я.Коцюмбаса. — Львів: Тріада плюс, 2006. — 360 с.
5. Лукьянчук В.Д., Болгов Д.М., Кравец Д.С. Разработка оптимального режима дозирования тиотриазолина при синдроме длительного раздавливания // Буковинський медичний вісник. — 2002. — Т. 6, №3. — С. 177-181.
6. Разработка режима дозирования координационного соединения германия с никотиновой кислотой / О.Д.Немятых, И.Й.Сейфуллина, А.П.Гудзенко, Д.С.Кравець // Фармацевтичний журнал. — 2002. — №4. — С. 86-90.

Л.В.Савченкова, В.В.Рокотянская. Разработка оптимального режима дозирования лиофилизированного порошка аронии черноплодной как наиболее активного гепатопротектора в условиях острого токсического гепатита методом двухфакторного эксперимента. Луганськ, Украина.

***Ключевые слова**: токсический гепатит, аронія черноплодная, двухфакторный эксперимент.*

Проведены фармакометрические исследования, направленные на разработку дозового режима применения лиофилизированного порошка аронии черноплодной при токсическом гепатите тетрахлорметанового генеза. Методом математического моделирования с использованием двухфакторного эксперимента установлено, что наиболее оптимальный режим дозирования препарата заключается в его введении в дозе 257,6 мг/кг на протяжении 10 дней с момента моделирования токсического поражения печени.

L.V.Savchenkova, V.V.Rokotanskaya. Optimal dose regimen of lyophilized powder of aronia melanocarpa as a most effective hepatoprotector at acute toxic hepatitis by double-factor analysis. Lugansk, Ukraine.

***Key words:** toxic hepatitis, aronia melanocarpa, double-factor experiment.*

The pharmacometric researches directed on the working out of a dosage regime of application of the Aronia's melanocarpa lyophilized powder at a toxic hepatitis caused by tetrachlormethan influence were made. By a method of mathematical modeling with use of two-factor experiment is positioned that the optimal dosage regime of a drug consists in its entering in a dose of 257,6 mg/kg during 10 days from the moment of modeling of a toxic hepatic damage.

Надійшла до редакції 17.10.2010 р.