

NEAMON-HEPA, CAPSULE :
PREPARAT MEDICAMENTOS COMBINAT INDIGEN
ÎN TRATAMENTUL HEPATITELOR VIRALE CRONICE ȘI CIROZEI HEPATICE
Vladimir Valica¹, Sergiu Parii¹, , Liliana Rusnac¹,
Tatiana Petrova², Pavel Golovin¹, Mihail Todiraș¹

¹ USMF „Nicolae Testemițanu”, Centrul Științific în Domeniul Medicamentului

² Î.M. Eurofarmaco S.A.

**Elaborarea și implementarea preparatului Neamon-hepa a fost posibilă datorită
cercetărilor științifice a regretatului profesor Boris Parii.**

Summary

*Neamon-hepa capsules: combined indigenous medical preparation
in the treatment of chronic hepatitis and liver cirrhosis*

The combination drug Neamon-hepa capsules, elaborated at the Scientific Center of Drug Research from SUMP „Nicolae Testemițanu” contains active principles arginine aspartate, spironolactone and BioR and can be used for treatment of viral hepatitis and hepatic cirrhosis. The drug possesses polifunctional action, multidirectional spectrum of activity and a complex therapeutic effect.

Rezumat

Preparatul medicamentos combinat Neamon-hepa capsule, elaborat în cadrul Centrului Științific în Domeniul Medicamentului al USMF „Nicolae Testemițanu” conține principiile active aspartat de arginină, spironolacton, BioR și se recomandă a fi utilizat în tratamentul hepatitelor virale cronice și a cirozei virale. Preparatul posedă acțiune polifuncțională, un spectru de acțiune multidirecționat și este destinat să asigure un efect terapeutic complex.

Introducere

Problematica hepatitelor virale și a cirozei hepatice pentru Republica Moldova rămâne în centrul atenției prin prevalență, posibilități evolutive și costurile legate de diagnostic și tratament. În ultimii ani tendința de creștere a morbidității și mortalității prin ciroză hepatică a devenit evidentă și se discută tot mai frecvent despre noi strategii terapeutice, îmbunătățirea monitorizării terapiei, identificarea de factori predictivi ai răspunsului la tratament sau legați de durata optimă a medicației [1,2].

În prezent, în terapia și reabilitarea complexă a pacienților cu ciroză hepatică sunt utilizate preparate imunotrope cu rol de stimulare a forțelor de protecție a organismului, care totodată promovează și efecte antioxidante, antimicrobiene, antistresorii, etc. Printre acestea, sunt de menționat, preparatele policomponente cu conținut de aminoacizi și extracte vegetale, suplimente nutritive cu conținut de microelemente [2,3]. În același timp, tratamentul tradițional actual nu este suficient pentru instalarea unei remisiuni stabile și durabile [4,5,6]. Aceasta a determinat interesul multor cercetători în utilizarea unor medicamente, care să contribuie la încetinirea progresării cirozei și ameliorarea calității vieții pacienților.

În acest sens a fost conceput preparatul combinat Neamon-hepa, capsule, care conține următoarele *principii active*: aspartatul de arginină 450,0 mg, spironolactona 24,0 mg și BioR 9,0 mg, *substanțe auxiliare*: lactoză anhidră, amidon de cartofi, celuloză microcristalină, stearat de magneziu, în cantități bine stabilite, pentru prima dată propuse sub forma unei combinații de medicament. Elaborarea produsului medicamentos a avut loc în cadrul Proiectului de Inovare și Transfer Tehnologic al AȘM „Implementarea în practica medicală a capsulelor Neamon-hepa pentru tratamentul și profilaxia cirozei hepatice” la Centrul Științific în Domeniul Medicamentului (CȘDM) al USMF “Nicolae Testemițanu”, cofinanțator și producător S.A. Eurofarmaco [4].

Aspartatul de arginină a stat la bază datorită faptului că stimulează metabolismul celular și al ureei, contribuie la neutralizarea și eliminarea amoniacului, reglează nivelul zahărului în sânge. Manifestă acțiune nootropă și antiamezică, preîntâmpină modificările metabolice ale aminoacizilor mediatori, crește fosforilarea proteinelor în SNC. Arginina se folosește în tratamentul și profilaxia encefalopatiei hepatice cauzate de surplusul de amoniac în creier [7,8].

BioR este un preparat obținut prin extragere și fracționare din biomasa tulpinei algei cianofite *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl. Prezența în componența lui a aminoacizilor, oligopeptidelor și a microelementelor Mn, Fe, Zn, Cu, Se, Cr, etc. stimulează procesele de regenerare a țesuturilor și influențează pozitiv asupra imunității celulare și humorale. De asemenea, manifestă acțiune antivirală în urma împiedicării pătrunderii virusului în celulă, fapt important în ciroza hepatică și hepatitele de etiologie virală [9].

Spironolactona reprezintă un produs medicamentos diuretic ce economisește potasiul. Este un antagonist specific al aldosteronului, legându-se competitiv cu receptorii acestuia la nivelul tubilor contorți distali. Stimulează excreția ionilor de sodiu și apă în schimbul celor de potasiu, magneziu și hidrogen. Are efect diuretic și antihipertensiv. Spironolactona este unul din cele mai eficiente diuretice ce mențin ionii de kaliu în celule [10].

Scopul cercetărilor constă în investigarea acțiunii preparatului Neamon-hepa în cadrul investigațiilor preclinice de laborator și aprecierea eficacității remediei la pacienți cu afecțiuni hepatice cronice.

Material și metode

1. Elaborarea formei medicamentoase

Modul de preparare a formei farmaceutice Neamon-hepa capsule, 834mg N30, a fost elaborat la Laboratorul Tehnologie Farmaceutică și Transfer Tehnologic al CȘDM, componentul activ BioR a fost elaborat la Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM. Au fost respectate următoarele etape: cercetarea materiei prime și excipienților, uscarea componentelor cernute, cântărirea și măsurarea volumului componentelor, impregnarea lactozei cu sol. BioR, uscarea lactozei cu BioR și pulverizarea amestecului uscat, pregătirea mixurilor: I (spironolactonă: lactoză anhidră în raport 1:2), II (se amestecă mixul I cu lactoza impregnată cu BioR), III (se amestecă mixul II, amidon de porumb, celuloză microcristalină, stearat de magneziu), IV- final (se amestecă mixul III cu aspartat de L-arginină uscată), condiționarea în capsule, ambalarea capsulelor în ambalaj primar (flacoane), amplasarea ambalajului primar în ambalaj secundar, ambalarea colectivă. Conținutul capsulei reprezintă pulbere de culoare albă cu nuanță gălbuie și miros caracteristic slab (fig 1).



Fig.1 Neamon-hepa, capsule

2. Investigații experimentale preclinice

Cercetările toxico-farmacologice au fost efectuate pe șoricei și șobolani de laborator.

Toxicitatea acută a fost testată la 250 șoricei de linia C57Bl6 de ambele genuri cu vârsta 12-16 săptămâni.

Modelarea hepatitei cronice s-a efectuat pe șoareci de laborator (linia C57/Bl6), masculi cu vârsta de 12 săptămâni și greutatea corporală 27-30 gr, la inițierea studiului.

Administrarea Neamon-hepa: Conținutul unei capsule (834 mg) a fost diluat inițial în 4,2 ml etanol (pentru a asigura solubilitatea spironolactonei), apoi adăugat la apa potabilă (2500 ml pentru Neamon-hepa 100 mg/kg). Doza de Neamon-hepa administrată a fost calculată reieșind din volumul mediu de apă băută zilnic, care a fost aproximativ 0,3 ml/g masă corporală. Animalele au fost tratate cu Neamon-hepa în dozele 10, 50 și 100 mg/kg pe tot parcursul experimentului cu înlocuirea zilnică a lichidului băut.

Modelarea hepatitei toxice și colectarea probelor: Animalele au fost tratate cronic cu CCl₄ (Sigma) 1 ml/kg diluat în volum egal cu ulei de susan (Sigma) administrat subcutanat de 2 ori pe săptămână timp de 3 săptămâni. În ziua a 5-a de la ultima tratare cu CCl₄ animalele au fost sacrificate. Masa corporală a fost monitorizată săptămânal. După decapitare au fost rapid prelevate sângele și ficatul în întregime, care a fost cântărit, divizat în mai multe fragmente, și stocate conform cerințelor protocolare ale parametrilor urmăriți.

Din ser s-au dozat: activitatea AlAT, AsAT, fosfataza alcalină (FA) și bilirubina totală apreciate cu ajutorul sistemului Beckman Synchron LX (Beckman Coulter, Villepinte, France); lactatdehidrogenaza (LDH)- apreciată prin metoda Bergmeyer & Bernt.

Cercetările asupra efectului antioxidant al preparatului Neamon-hepa au fost efectuate în cadrul Laboratorului de Biochimie LCCȘ al USMF „Nicolae Testemițanu”. Au fost evaluați următorii indici: hidroxiperoxizii lipidelor, dialdehida malonică, oxidul nitric, carnozina, enzimele anitoxidante: glutatationperoxidaza, glutatationreductaza, SOD, catalaza.

3. Investigații clinice

Cercetarea clinică a fost efectuată la IMSP Spitalul Clinic Republican (SCR), Catedra Medicină Internă Nr 4 (investigator principal - Vlada-Tatiana Dumbrava, prof. univ.) și IMSP Spitalul Republican de Boli Infecțioase (SBI) „Toma Ciorbă”, Catedra Boli Infecțioase FECMF (investigator principal - Victor Pânteș, prof. univ.). Studiul clinic a fost aprobat de către Agenția Medicamentului, Comisia Națională de Etică și Ministerul Sănătății al Republicii Moldova. Monitorizarea desfășurării studiului clinic a fost efectuată de personalul Laboratorului Evaluare Preclinică și Clinică a Medicamentelor al CȘDM. Toate investigațiile s-au efectuat cu acordul informativ scris al pacienților.

Studiul clinic s-a efectuat, conform protocolului elaborat, pe un lot 55 pacienți (bărbați și femei, vârsta 18-61 ani) cu hepatite virale cronice tip B, C, D și ciroză hepatică de etiologie virală, tip B,D stadiul Child-Pugh A (grupul I). Selectarea participanților a avut loc respectând criteriile de includere/excludere în studiul clinic. Lotul martor 30 pacienți (grupul II).

Pacienții au fost supuși unui examen clinic, instrumental și de laborator: determinarea evoluției sindroamelor clinice hepatice, semnelor de hipertensiune portală, a indicilor biochimici de citoliză, coleastă și hepatopriv, monitorizarea echografică a dimensiunilor ficatului, splinei, v.portae, v.lienalis, și a indicilor sistemului de peroxidare a lipidelor până și după efectuarea tratamentului. Toate investigațiile s-au efectuat cu acordul informativ scris al pacienților.

În conformitate cu protocolul studiului clinic pacienții din grupa de studiu (I) au primit tratamentul de bază în asociere cu preparatul medicamentos, a câte 1 capsulă (834 mg) o dată în zi, dimineața, timp de 30 zile. Bolnavii din grupa martor (II) au primit doar terapia de bază (vitamine din grupul B, C, riboxină, pentoxifilină, dezintoxicante etc).

Rezultate preclinice

Efectele medicamentului la animalele intacte

Pe parcursul tratamentului cu remediul Neamon-hepa n-au fost observate schimbări esențiale în comportamentul animalelor și în dinamica masei corporale. Determinarea greutateii ficatului la sacrificare a stabilit că raportul dintre masa ficatului și masa corporală nu diferă la animalele tratate cu Neamon-hepa de cele netratate. Investigarea nivelului seric al enzimelor citolizei a arătat o ușoară diminuare ne semnificativă ale AlAT, AsAT, precum și ale fosfatazei alcaline și bilirubinei totale la animalele tratate cu Neamon-hepa, îndeosebi la cele care au consumat doza 100 mg/kg. Totodată s-a constatat că preparatul nu modifică concentrațiile serice ale colesterolului și lactatdehidrogenazei.

Manifestările hepatitei toxice induse cu CCl₄

Expunerea animalelor la intoxicația cronică cu xenobioticul hepatotrop CCl₄ a decelat modificări semnificative a tuturor parametrilor investigați. Astfel, a scăzut în dinamică masa corporală, a crescut substanțial greutatea ficatului, fapt ce a augmentat de circa 2 ori raportul ficat/masă corporală comparativ cu lotul de referință. A crescut dramatic activitatea enzimelor hepatocitolizei AlAT și AsAT de circa 23 și 9 ori respectiv, FA de circa 3 ori, iar LDH și nivelul colesterolului seric sau dublat. La fel, în serul prelevat de la animalele expuse intoxicației cronice cu CCl₄ s-a atestat o augmentare de circa 3 ori a bilirubinei totale. Acest teren biologic profund alterat a servit drept model în investigarea acțiunii preparatului Neamon-hepa.

Efectele în tratamentul hepatitei toxice

Tratamentul cu Neamon-hepa a redus declinul masei corporale induse de CCl₄. S-a constatat ca ameliorarea declinului greutateii corporale a fost în corelație directă cu doza aplicată de Neamon-hepa. Totodată, s-a constatat o diminuare progresivă a masei ficatului. Astfel, în lotul tratat cu Neamon-hepa 100 mg/kg indicele ficat/masă corporală s-a redus aproximativ de 2 ori comparativ cu lotul intoxicat, care nu a consumat Neamon-hepa.

În serul prelevat de la animalele care au fost tratate cu doza maximală de Neamon-hepa a scăzut de 2 ori nivelul bilirubinei totale, s-a mixorat de circa 2 ori activitatea enzimelor citolizei AlAT și AsAT. Simultan Neamon-hepa 100 mg/kg a diminuat cu 35% activitatea fosfatazei alcaline, lactatdehidrogenazei cu 45% și nivelul colesterolului seric cu circa 30%.

La animalele tratate cu CCl₄ s-a micșorat activitatea superoxidismutazei (SOD), catalazei, glutatationperoxidazei cu 52.1%, 57.4% și 66.6% respectiv, iar nivelul acidului tiobarbituric a crescut de 2 ori. Tratamentul concomitent cu Neamon-hepa într-o manieră doza dependentă a preântâmpinat modificările acestor indici. La lotul de animale care a consumat zilnic 100 mg/kg s-a constatat o sporire cu 65% a nivelului SOD, cu 55% a catalazei și cu circa 30% a glutatationperoxidazei, iar nivelul acidului tiobarbituric s-a redus substanțial, atât în plasmă, cât și în ficat.

Rezultate clinice

Simptomele clinice în loturile I și II, au evaluat diferit. La toți pacienții cu ciroză hepatică de etiologie virală B și D stadiul Child-Pugh A, cărora li s-a administrat preparatul studiat, s-a constatat o evoluție pozitivă a sindroamelor clinice în comparație cu grupul martor. S-a ameliorat sindromul edematos (grupul I inițial au fost prezente la 98% pacienți, după tratament - la 10%, grupul II inițial au fost prezente la 80% pacienți, după tratament-la 30%), sindromul ascitic (grupul I inițial ascita a fost constatată la 20% pacienți, după tratament-la 10%, grupul II inițial - 25% pacienți, după tratament - la 20%) și a diminuat sindromul astenic (grupul I inițial determinat la 100% pacienți, după tratament - la 50%, grupul II inițial - 100% pacienți, după tratament - la 65%).

În grupul I s-a determinat o diminuare a dimensiunilor ficatului: lobul drept de la 14,2±0,45 cm la 13,3±0,37 cm, lobul stâng de la 8,64±0,3 la 7,8±0,21 cm, s-a constatat diminuarea splinei de la 16,0±0,85 la 14,3±0,81 cm, a v. portae de la 1,27±0,06 la 1,12±0,06 cm și v.lienalis de la 1,1±0,08 la 0,87±0,07 cm. În grupul II rezultatele sunt următoarele: lobul drept de la 14,2±2,3 cm la 13,9±2,1 cm, lobul stâng de la 7,9±2,4 la 7,6±0,98 cm, s-a constatat

diminuarea splinei de la $16,2 \pm 0,75$ la $14,6 \pm 0,71$ cm, a venei portae de la $1,26 \pm 0,10$ pînă la $1,21 \pm 0,08$ cm și a venei splenice de la $1,14 \pm 0,02$ la $0,98 \pm 0,03$ cm.

Tratamentul administrat a influențat benefic și evoluția indicilor biochimici la pacienții cu ciroză hepatică. S-a apreciat scăderea indicilor sindromului citolitic prin micșorarea activității AlAT de la $69,0 \pm 13,9$ pînă la $52,5 \pm 6,42$ U/l (grupul II de la $69,7 \pm 11,6$ pînă la $62,4 \pm 5,99$) a AsAT de la $85,08 \pm 14,4$ pînă la $54,2 \pm 5,9$ U/l (grupul II de la $79,8 \pm 9,5$ pînă la $68,7 \pm 5,2$). S-a ameliorat sindromul hepatodepresiv: indicele protrombinic s-a majorat de la $70,5 \pm 2,5\%$ pînă la $76,4\% \pm 2,5\%$ (grupul II de la $71,7 \pm 4,8$ g/l pînă la $74,6 \pm 2,7$ g/l), s-a constatat tendința de creștere a proteinei totale de la $72,4 \pm 2,9$ pînă la $76,4 \pm 2,1$ g/l, (grupul II de la $70,5 \pm 4,2$ pînă la $74,9 \pm 3,80$ g/l) și a albuminelor.

În urma terapiei efectuate în grupul de bază (I) s-au îmbunătățit parametrii sindromului colestatic: bilirubina s-a micșorat de la $20,9 \pm 2,7$ pînă la $19,5 \pm 2,1$ mcmol/l (grupul II de la $19,9 \pm 1,7$ pînă la $19,3 \pm 2,99$), fosfataza alcalină a scăzut de la $121,6 \pm 11,3$ pînă la $105,5 \pm 6,83$ U/l (grupul II de la $3,9 \pm 0,7$ pînă la $4,02 \pm 1,3$), GGTP s-a redus de la $56,2 \pm 9,2$ la $45,51 \pm 6$ U/l (grupul II de la $53,9 \pm 6,5$ pînă la $49,5 \pm 5,69$). De asemenea sa determinat o îmbunătățire a indicilor colesterolului și a parametrilor hematologici-hemoglobina, trombocitelor etc.

Veridicitate statistic semnificativă $p < 0,05$ s-a constatată la în cazul AlAT, AsAT, protrombinei și ale dimensiunilor venei lienalis.

Rezultatele indică faptul că la pacienții din lotul martor, care au primit numai terapia de bază, evoluția pozitivă a manifestărilor clinice și a indicilor de laborator nu este atât de sugestivă, îndeosebi a indicilor de hipertensiune portală și a sindromului de citoliză, ca în cazul pacienților din grupul martor.

Investigarea biochimică a enzimelor anitoxidante și ale hidroxiperoxizilor lipidelor a constatat o ameliorare substanțială a indicilor stresului oxidativ la pacienții din grupul tratat cu produsul studiat. Cercetările au confirmat efectul antioxidant al preparatului Neamon-hepa, stabilit și în cazul experimentelor preclinice.

Testările au stabilit o ameliorare în sistemul antioxidant, manifestat prin majorarea veridică a SOD inițial - $1096 \pm 23,5$ U/g după tratament - $1199 \pm 30,6$ U/g și ceruloplasminei, inițial - 243 ± 17 mg/l după tratament - $316 \pm 11,4$ ($p < 0,05$), cât și o creștere a activității antioxidante totale, a catalazei și Zn la pacienții tratați cu Neamon-hepa. Totodată, s-a constatat și micșorarea indicilor pro-oxidanti cum ar fi dialdehida malonică și reducerea activității hidroperoxizilor lipidici.

Astfel, în studiul realizat la pacienții cu hepatite virale cronice și ciroză hepatică de etiologie virală B și D stadiul Child-Pugh A s-a apreciat o evoluție favorabilă a sindroamelor clinice de bază: asteno-vegetativ, dispeptic, dolor. De asemenea s-a produs ameliorarea parametrilor biologici cu micșorarea intensității sindromului citolitic, colestatic, hepatopriv.

Reacții alergice, efecte adverse și complicații pe durata studiului la pacienții tratați cu Neamon-hepa nu s-au constatat. Toți subiecții participanți în investigația clinică au finalizat administrarea preparatului cercetat conform protocolului de cercetare, compatibilitatea și toleranța tratamentului fiind înaltă;

Concluzii

1. Cercetările farmaceutice demonstrează selectarea formei farmaceutice adecvate și procedeele farmacotehnologice corecte.
2. Experiențele preclinice au evidențiat faptul că în cadrul tratamentului cu Neamon-hepa contracarează intensitatea citolizei, reduce componentul inflamator, ameliorează metabolismul lipidic și circulația intrahepatică a bilei la animale care au suportat intoxicație cronică cu CCl_4 .
3. Datele obținute în studiul clinic indică că în tratamentul hepatitelor cronice de origine virală B, C și D și în tratamentul cirozei hepatice de etiologie virală B și D stadiul Child-Pugh A este indicat preparatul medicamentos Neamon-hepa, caracterizat prin proprietatea

sa de hepatoprotecție, evidențiată prin ameliorarea capacității funcționale hepatice (îmbunătățirea indicilor citolitici), precum și reducerea nivelului de hipertensiune portală.

4. Rezultatele administrării preparatului medicamentos combinat Neamon-hepa cu terapia standard este superioară administrării numai a tratamentului de bază. Acest fapt este benefic atât din punct de vedere clinic (doze mai mici și numărul redus de substanțe medicamentoase administrate, lipsa efectelor adverse, efect sinergic al substanțelor active) cât și economic.

Bibliografie

1. Spînu C, Iarvoi P, Vrânceanu-Beneș AM, ș.a. Programul Național de combatere a hepatitelor virale B, C și D în Republica Moldova. Akademos. 2009;1(12):76-80.
2. Hepatologie bazată pe dovezi. Ghid practic național. Sub redacția V-T. Dumbrava, Chișinău, 2005, 334 p.
3. Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. Gut. 2006 Oct;55 Suppl 6:vi1-12.
4. Parii B., Valica V., Rusnac L., Parii S. Some directions of pharmaceutical industry development in Republic of Moldova. Cruierul medical. Nr 1.-2009. P.61-66.
5. Runyon B. A. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis. Hepatology 2004;39:841-56.
6. Matcovschi C., Procopișin V., Parii B. Ghid farmacoterapeutic. Chișinău, 2006, 1157 p
7. Tajiri K, Miyakawa H, Izumi N, et al. Systemic hypotension and diuresis by L-arginine in cirrhotic patients with ascites: role of nitric oxide. Hepatology. 1995;22(5):1430-5.
8. Kakumitsu S, Shijo H, Yokoyama M, et al. Effects of L-arginine on the systemic, mesenteric, and hepatic circulation in patients with cirrhosis. Hepatology. 1998;27(2):377-82.
9. Rudic V. Bio R: Studii biomedicale si clinice. Chisinau.2007. 375 p.
10. Santos J, Planas R, Pardo A, et al. Spironolactone alone or in combination with furosemide in the treatment of moderate ascites in nonazotemic cirrhosis. A randomized comparative study of efficacy and safety. J Hepatol 2003;39:187-92.

UNELE PARTICULARITĂȚI FARMACOLOGICE ALE ACIDULUI HIALURONIC

**Veaceslav Gonciar¹, Corina Scutari¹, Rodica Peredelcu¹, Vasile Cazacu¹,
Cristina Popa¹, Oleg Scutari²**

Catedra Farmacologie și farmacie clinică¹, Dispensarul Dermatovenerologic Municipal²

Summary

Some pharmacological aspects of hyaluronic acid

Hyaluronic acid can be recommended as a drug for external and parenteral use as a rheological, inflammatory, protective, proliferative, immunomodulatory remedy, for stimulating the synthesis of hemoglobin and as an auxiliary pharmaceutical substance for topical use. Ever-growing needs of AH for pharmaceutical and cosmetic properties require pharmacological investigations and new clinical studies of the AH as auxiliary pharmaceutical substance for the elaboration of medicinal forms in association with other active substances.

Rezumat

Acidul hialuronic (AH) este recomandat ca remediu medicamentos cu proprietăți reologice, antiinflamatoare, protective, proliferative, imunomodulatoare, pentru stimularea sintezei hemoglobinei și în calitate de excipient pentru uz topic. Necesitățile mereu crescânde de AH pentru farmaceutică și cosmetică impun investigații în scopul cercetărilor proprietăților