

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ КОМБИНИРОВАННОГО АЭРОЗОЛЯ «КРИОБИОЗОЛЬ»

Шпичак О.С., Тихонов А.И., Зупанец И.А., Шебеко С.К., Семенов А.Н.

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Аннотация

В статье представлены результаты экспериментального изучения противовоспалительной активности экспериментальных образцов комбинированного аэрозоля «Криобиозоль» охлаждающего и противовоспалительного действия, содержащего фенольный гидрофобный препарат прополиса и местные анестетики. Исследуемые образцы разработанного препарата в форме аэрозоля рекомендуется применять с целью профилактики и лечения острых травм мышц и суставов, подвергающимся повышенным физическим нагрузкам преимущественно в спортивной медицине и экстремальных условиях.

В ходе исследования было установлено, что наивысший уровень противовоспалительной активности (51,8 %) проявляет образец аэрозоля, содержащий 10 % раствор фенольного гидрофобного препарата прополиса в пропиленгликоле и 3 % лидокаина гидрохлорида. Таким образом, образец данного состава является наиболее перспективным для проведения дальнейших исследований с целью разработки на его основе лекарственного препарата, обладающего эффективным противовоспалительным и местноанестезирующим действием. Помимо этого, полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что наиболее значимый вклад в итоговую противовоспалительную активность исследуемых образцов аэрозолей осуществляет именно комплекс биологически активных веществ фенольного гидрофобного препарата прополиса.

Ключевые слова: аэрозоль, фенольный гидрофобный препарат прополиса, местные анестетики, противовоспалительное действие, спортивная медицина.

В настоящее время физическая культура и спорт являются неотъемлемой частью жизни современного общества. Спорт высших достижений с его предельными физическими и психоэмоциональными нагрузками, безусловно, требует от организма человека новых приспособительных уровней, достижение которых без вмешательства извне нередко становится крайне сложным, а иногда – практически невозможным [4].

Этот аспект определяет роль спортивной медицины в планировании нагрузки спортсменов, установлении её пределов, наблюдении за влиянием физических упражнений на организм, а также предупреждении возможных отрицательных воздействий. Учитывая всевозрастающие нагрузки, а также интенсивность выполнения упражнений, в профессиональном спорте достаточно часто возникает риск травматизма, что в свою очередь приводит к потерям тренировочных дней, спортивной формы, а в некоторых случаях и к окончательному уходу из спорта [1, 7]. В связи с этим профилактика спортивных

травм, их своевременная диагностика и неотложное лечение являются важнейшими задачами спортивной медицины [8, 12].

При всем многообразии травм встречающихся в спорте высших достижений, в том числе в атлетических и силовых видах спорта, значительная часть принадлежит повреждениям крупных суставов и мышечной ткани органов двигательного аппарата [11]. Среди наиболее распространенных спортивных травм чаще всего возникают разрывы и воспаления (разрыв мениска), вывихи и переломы (перелом плеча, перелом запястья), травмы кисти (вывихи пальцев), травмы голени, травмы позвоночника, травмы колена и другие. В связи с этим, фармакотерапия спортивных травм в основном должна быть направлена на сведение к минимуму воспалительной фазы травмированного участка тела таким образом, чтобы как можно быстрее и эффективнее ускорить общий процесс её заживления [3].

В связи с вышеизложенным, научный интерес представляет разработка эффективных средств охлаждающего, противовоспалительного и анальгетического действия для использования в спортивной медицине.

Целью данной работы было исследование противовоспалительной активности экспериментальных образцов комбинированного аэрозоля под условным названием «Криобиозоль», содержащего стандартизованную субстанцию фенольного гидрофобного препарата прополиса (ФГПП), местные анестетики и хладагенты (смесь фреонов) [13]. Представленная работа посвящена изучению противовоспалительной активности данных фармацевтических композиций с целью обоснования наиболее рационального состава и разработки технологии аэрозольного лекарственного препарата, обладающего высокой фармакологической активностью и низкой токсичностью.

Материалы и методы

Сравнительное изучение противовоспалительных свойств исследуемых композиций проводилось на 70 белых беспородных крысах обоих полов массой 180,0-200,0 г. Подопытные животные находились на содержании в виварии Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) Национального фармацевтического университета, которая сертифицирована ГП «ГЭЦ МЗ Украины» в качестве базы по исследованиям в области экспериментальной фармакологии, согласно стандартным санитарным нормам на необходимом пищевом рационе [6]. Исследования были проведены в соответствии с директивой Совета ЕС 86/609 ЕЕС от 24 ноября 1986 г. о соблюдении законов, постановлений и административных положений стран ЕС по вопросам защиты прав животных, используемых для экспериментальной и другой научной цели [5, 15].

В качестве объектов исследования были использованы экспериментальные образцы комбинированных препаратов в аэрозольных лекарственных формах (аэрозоль № 1, № 2, № 3 и № 4), содержащие различные вещества противовоспалительного, анальгетического и охлаждающего действия, в том числе, 10 % раствор ФГПП в пропиленгликоле, местные анестетики (лидокаин или артикаин), а также смесь фреонов в качестве хладагентов. Составы всех исследуемых препаратов представлены в таблице.

В роли референтных объектов были использованы препарат «Пропосол» производства ООО «ФК «Здоровье» (Украина) (Регистрационное удостоверение UA/8215/02/01), а также аэрозоль, содержащий смесь фреонов без других активных фармацевтических ингредиентов.

В ходе эксперимента все подопытные животные были разделены на 7 групп по 10 крыс следующим образом:

1 группа – контрольная патология;

2 группа – крысы с отеком лапы, получающие накожно аэрозоль № 1;

3 группа – крысы с отеком лапы, получающие накожно аэрозоль № 2;

4 группа – крысы с отеком лапы, получающие накожно аэрозоль № 3;

5 группа – крысы с отеком лапы, получающие накожно аэрозоль № 4;

6 группа – крысы с отеком лапы, получающие накожно препарат сравнения «Пропосол»;

7 группа – крысы с отеком лапы, получающие накожно смесь фреонов.

Предварительно всем животным (за исключением контрольной группы) проводили однократное накожное нанесение исследуемых образцов аэрозолей на правую заднюю лапу на участок конечности от начала волосяного покрова, включая голеностопный сустав, и ниже в условно-терапевтической дозе 20 мг. Аэрозоли наносили с помощью тампона, предварительно помещая содержимое флакона в стеклянную емкость, при условии тщательного втирания и исключения их слизывания животными с поверхности кожи как минимум в течение 15 минут.

Через час после нанесения аэрозолей у всех животных воспроизводили асептическое экссудативное воспаление задней правой лапы путем субплантарного введения 0,1 мл 1 % р-ра λ -каррагинина (Fluka, Швейцария) [2]. Объем отека измеряли через 3 часа после воспроизведения патологии, что соответствует 4 часам после нанесения исследуемых аэрозолей с помощью цифрового плетизмометра (ИТС Life Science, США) [14, 16]. Далее рассчитывали противовоспалительную активность (ПА) по степени уменьшения отека у животных, получающих исследуемые аэрозоли в сравнении с группой контрольной патологии:

$$ПА = \frac{\Delta V_k - \Delta V_0}{\Delta V_k} \times 100\% , \text{ где}$$

ΔV_k – средняя процентная величина отека конечности в группе контрольной патологии;

ΔV_0 – процентная величина отека конечности для каждого животного в опытной группе под воздействием исследуемого геля.

Полученные величины противовоспалительной активности подвергали статистической обработке стандартными методами вариационной статистики с помощью компьютерных программ, а также с использованием критериев Фишера-Стьюдента [9] и представляли в виде сравнительных таблиц с результатами разных групп.

Результаты и их обсуждение

Основным элементом противовоспалительного действия лекарственных средств является их влияние на экссудативную фазу воспалительной реакции. В связи с этим, для объективной оценки их противовоспалительных свойств в эксперименте общепринятым является изучение антиэкссудативного действия на модели асептического экссудативного воспаления [10].

С этой целью в ходе представленного исследования была использована модель каррагенинового отека стопы у лабораторных крыс, как наиболее распространенная и показательная модель воспалительной реакции в экспериментальной фармакологии [2].

В ходе изучения противовоспалительных свойств модельных образцов фармацевтических композиций в аэрозольных лекарственных формах были получены результаты, представленные в таблице.

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что на протяжении трех часов после воспроизведения воспалительной реакции, в группе контрольной патологии происходило усиление экссудативных процессов в конечностях животных. Так, в сравнении с исходными значениями объем стопы крыс увеличился в среднем на $1,0 \text{ см}^3$ (с $1,61$ до $2,61 \text{ см}^3$), что составило $63,5 \%$ (табл.).

Согласно приведенным данным наиболее выраженное противовоспалительное действие было зафиксировано под воздействием аэрозоля № 2. Так, под его влиянием происходило достоверное уменьшение объема отека конечности у животных по сравнению с группой контрольной патологии и крысами, получавшими аэрозоль № 4 или смесь фреонов. При этом объем отека стопы составил $30,6 \%$ от исходного уровня, что обусловило показатель ПА – $51,8 \%$ (табл.).

В то же время, аэрозоли № 1 и № 3 проявили несколько меньший уровень активности – $49,4 \%$ и $46,8 \%$ соответственно, однако же, без достоверных отличий от образца аэрозоля № 2. Так, под их воздействием объем отека стопы у крыс составил $32,1 \%$ от исходного уровня для образца аэрозоля № 1 и $33,8 \%$ для образца аэрозоля № 3 (табл.). Следует отметить, что уровень ПА аэрозолей № 1, № 2 и № 3 не имел достоверных отличий от активности препарата сравнения «Пропосол», а также был достоверно выше по сравнению с группой крыс, получавших смесь фреонов или образец аэрозоля № 4 (табл.). Данное явление объясняется наличием в составах аэрозолей № 1, № 2 и № 3 общего компонента – раствора ФГПП в пропиленгликоле в концентрации 10% , который и обуславливает противовоспалительные свойства исследуемых препаратов.

Полученные результаты показали, что под воздействием препарата сравнения «Пропосол», объем конечности крыс увеличивался на $36,1 \%$ от исходных значений (от $1,62$ до $2,21 \text{ см}^3$), при этом показатель ПА составил $43,2 \%$, что достоверно превосходит активность образца аэрозоля № 4 или смеси фреонов (табл.).

Среди аэрозольных композиций, содержащих местные анестетики, наименее выраженные противовоспалительные свойства проявил образец аэрозоля № 4 – его показатель ПА составил всего лишь $25,9 \%$, при этом объем конечности крыс увеличивался на $47,1 \%$ по сравнению с исходным уровнем.

Такой незначительный уровень ПА вполне может объясняться отсутствием фенольных соединений прополиса в составе данного образца.

В ходе эксперимента также было установлено, что у животных, получавших смесь фреонов без содержания действующих веществ, объем отека стопы составил 51,8 %, что позволило зафиксировать самый низкий уровень ПА – 18,4 %, который является фармакологически незначимым показателем для средств, обладающих противовоспалительным действием.

Таблица

Сравнительная противовоспалительная активность фармацевтических композиций в аэрозольных лекарственных формах

Название	Объект							Объем конечности, см ³		Объем отека, %	ПА, %
	Содержание активных фармацевтических ингредиентов, %							исход	через 4 ч после нанесения пр-та		
	р-р ФГПП в ПП	арти каин	лидо-каин	мент ол	розм. масло	обл. масло	ала нто ин				
Контроль патологии	—	—	—	—	—	—	—	1,61±0,05	2,61±0,05	63,5±5,7	—
Аэрозоль № 1	10,0	3,0	—	1,0	1,0	5,0	—	1,60±0,05	2,11±0,05	32,1±1,7 ^{1, 2, 4}	49,4±2,7 ^{2, 4}
Аэрозоль № 2	10,0	—	3,0	1,0	1,0	5,0	—	1,54±0,04	2,01±0,05	30,6±2,5 ^{1, 2, 4}	51,8±3,9 ^{2, 4}
Аэрозоль № 3	10,0	5,0	—	2,0	2,0	—	1,0	1,57±0,04	2,10±0,05	33,8±1,7 ^{1, 2, 4}	46,8±2,7 ^{2, 4}
Аэрозоль № 4	—	—	3,0	1,0	1,0	—	—	1,52±0,04	2,24±0,06	47,1±1,4 ^{1, 3}	25,9±2,2 ³
«Пропосол»	10,0	—	—	—	—	—	—	1,62±0,04	2,21±0,05	36,1±1,3 ^{1, 2, 4}	43,2±2,1 ^{2, 4}
Смесь фреонов	—	—	—	—	—	—	—	1,54±0,05	2,34±0,08	51,8±1,5 ³	18,4±2,4 ³

Примечания:

1 – отличия достоверны по сравнению с группой контрольной патологии ($p \leq 0,05$);

2 – отличия достоверны по сравнению с животными, получавшими аэрозоль № 4 ($p \leq 0,05$);

3 – отличия достоверны по сравнению с животными, получавшими препарат сравнения «Пропосол» ($p \leq 0,05$);

4 – отличия достоверны по сравнению с животными, получавшими смесь фреонов ($p \leq 0,05$).

Выводы

1. В ходе изучения противовоспалительной активности экспериментальных образцов исследуемого аэрозоля «Артпромент» было установлено, что наивысший уровень противовоспалительной активности проявляет образец

аэрозоля № 2 – 51,8 %, содержащий 10 % раствор ФГПП в пропиленгликоле и 3 % лидокаина гидрохлорида.

2. При изучении противовоспалительных свойств достоверных отличий в уровнях активности образцов препаратов, содержащих ФГПП, обнаружено не было. Полученные данные позволяют сделать заключение, что наиболее значимый вклад в итоговую величину противовоспалительной активности осуществляет именно комплекс биологически активных веществ ФГПП, что также свидетельствует о целесообразности его включения в состав исследуемых образцов аэрозолей в качестве противовоспалительного компонента в концентрации 10 %.

3. По результатам сравнительного изучения противовоспалительной активности экспериментальных образцов исследуемого аэрозоля было установлено, что наиболее целесообразным для дальнейшей разработки аэрозольного лекарственного препарата является образец аэрозоля № 2, содержащий 10 % раствор ФГПП в пропиленгликоле и лидокаина гидрохлорид в количестве 3 %, поскольку именно данная фармацевтическая композиция проявила наиболее высокий уровень активности по противовоспалительному действию – 51,8 %.

4. На основании проведенных доклинических фармакологических исследований, был разработан оптимальный состав аэрозольного препарата «Криобиозоль» охлаждающего и противовоспалительного действия для лечения острых травм, встречающихся в спортивной медицине и экстремальных условиях.

Литература

1. Граевская Н.Д. Спортивная медицина : курс лекций и практические занятия: Уч. пособ. в 2-частях. Часть 1. / Н.Д. Граевская, Т.И. Долматова. – М. : Советский спорт, 2008. – 304 с.
2. Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. А.В. Стефанова. – К: Авиценна, 2002. – 528 с.
3. Епифанов В.А. Реабилитация в травматологии / В.А. Епифанов, А.В. Епифанов. – М. : Гэотар-Медиа, 2010. – 336 с.
4. Методы исследования и фармакологической коррекции физической работоспособности человека. / А.В. Богомолов, Л.А. Гридин, Ю.А. Кукушкин и др. – М : Медицина, 2007. – 104 с.
5. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика (видання офіційне) / О. Стефанов, Т. Бухтіарова, В. Коваленко та ін. – К.: Моріон, 2009. – С. 37–68.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю.М. Кожем'якін, О.С. Хромов, М.А. Філоненко, Г.А. Сайфетдінова. – Київ: Державний фармакологічний центр МОЗ України, 2002. – 155 с.
7. Павлов С.Е. Физиологические основы подготовки квалифицированных спортсменов : учебное пособие для студентов ВУЗов физической культуры / С. Е. Павлов. – Малаховка, 2010. – 88 с.
8. Поляев Б.А. Краткий справочник врача спортивной команды. Современные

- схемы фармакологического лечения отдельных заболеваний / Б.А. Поляев, Г.А. Макарова. – 3-е изд. стереот. – М. : Советский спорт, 2008. – 336 с.
9. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – 3-е изд. – М.: МедиаСфера, 2006. – 312 с.
 10. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
 11. Травматология : национальное руководство / Под ред. Г.П. Котельникова, С.П. Миронова. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 808 с.
 12. Фармакология спорта / Под ред. С.А. Олейника, Л.М. Гуниной, Р.Д. Сейфуллы. – К. : Олимпийская литература, 2010. – 640 с.
 13. Шпичак, О. С. Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу і розробка технології лікарських апіпрепаратів для застосування у спортивній медицині : автореферат ... д-ра фармацевт. наук: 15.00.01 / О. С. Шпичак. – Х., 2016. – 45 с.
 14. Amabeoku G.J. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of leaf methanol extract of *Cotyledon orbiculata* L. (Crassulaceae) / G.J. Amabeoku, J.Kabatende // *Advances in Pharmacological Sciences*. – 2012. – Vol. 2012. – ID 862625. – 6 p. – doi:10.1155/2012/862625.
 15. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
 16. Santhosh Kumar C.N. Anti-inflammatory activity of *Sapindus laurifolius* leaf extract in wistar rats / C.N. Santhosh Kumar, D. Ambika, G.R. Arun Raj // *Journal of Medicinal Plants Studies*. – 2014. – Vol. 2 (1). – P. 1-5.