

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ДЕЯКИХ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ КРЕМУ З ЕКСТРАКТОМ ЛИСТЯ ГОРІХА ВОЛОСЬКОГО

О.Ю.Кошова, Т.Д.Губченко*, Є.М.Горбань**, Н.А.Домар*, Т.К.Юдкевич

Національний фармацевтичний університет
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації
Національного фармацевтичного університету*
ДУ "Інститут геронтології АМН України"**

Ключові слова: крем з екстрактом листя горіха волоського; поліфеноли; контактний дерматит; сенсibiliзуючі властивості; термічне запалення

З метою насичення вітчизняного ринку ефективними та доступними за ціною косметичними засобами розроблено склад та технологію отримання нового крему для обличчя з екстрактом листя горіха волоського. Дослідження фармакологічної активності крему показало, що засіб виявляє виражену протизапальну активність на різних моделях запалення (опіку лапи у мишей та контактного дерматиту у морських свинок, індукованого скипидаром), яка за виразністю не поступається препаратів порівняння крему "Евелін", і легку зволожуючу дію. Комплекс токсикологічних досліджень показав відсутність у крему з екстрактом листя горіха волоського сенсibiliзуючих та дерматотоксичних властивостей. Отримані дані характеризують крем з екстрактом листя горіха волоського як перспективний засіб для використання у косметології.

Кожен рік на косметичний ринок виходять нові, більш сучасні засоби, які повинні подовжити "молодість" шкіри. Їх поява прямо пов'язана з відкриттям інгредієнтів, здатних розгладжувати вже існуючі зморшки, підтримувати волокна колагену та еластину, захищати шкіру від негативного впливу оточуючого середовища.

Вітчизняний ринок косметичних засобів, призначених для догляду за сухою змарнілою шкірою, що мають зволожуючий ефект, достатньо широкий. Але аналіз асортименту пропозицій даної про-

дукції показує, що значну частку займає продукція закордонних виробників, які пропонують її по досить високій ціні. Цінова характеристика кремів вітчизняних виробників набагато нижча, але й їх асортимент невеликий.

Вищенаведене стало підґрунтям для розробки нового профілактичного косметичного засобу з екстрактом листя горіха волоського, призначеного для догляду за сухою змарнілою шкірою обличчя і доступного за ціною для пересічного українського громадянина.

Вибір екстракту листя горіха волоського як діючої речовини у

складі косметичного засобу обумовлений досвідом народної та традиційної медицини. Листя горіха волоського є джерелом різноманітних біологічно активних сполук (вітамінів Р, В, Е, РР, С, каротину, а також інозиту, флавоноїдів: рутину, югланіну і кверцетину, ефірної олії, дубильних речовин), завдяки чому настої та настойки з цієї рослини широко використовуються не тільки в народній і традиційній медицині, а також у косметології [9, 13, 15].

Комплекс фармакологічних властивостей (протизапальні, ранозагоювальні, бактерицидні, антимікробні, дезінфікуючі, епітелізуєчі) обумовлює ефективність при лікуванні різних захворювань шкіри (вугрів, екзем, фурункулів, туберкульозу шкіри, піодермії тощо). У дерматологічній практиці використовують також мазі, до складу яких входить настойка листя горіха волоського [12, 14, 16].

О.Ю.Кошова — молодший науковий співробітник Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Т.Д.Губченко — канд. фармацевт. наук, старший викладач кафедри технології ліків та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Є.М.Горбань — доктор мед. наук, професор, завідувач лабораторії радіобіології ДУ "Інститут геронтології АМН України" (м. Київ)

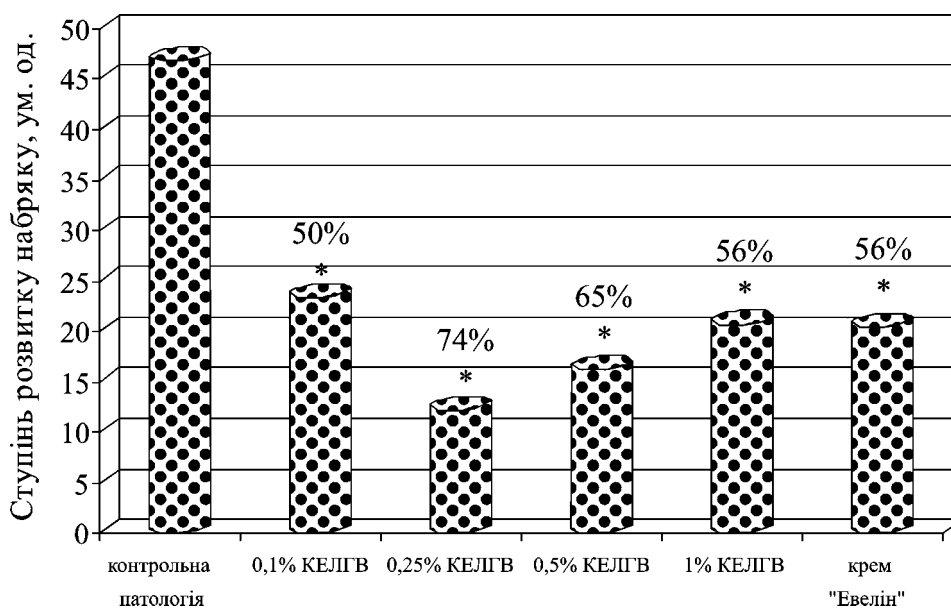


Рис. Протизапальна активність крему з різним вмістом екстракту листа горіха волоського у порівнянні з кремом "Евелін"(Польща) на моделі термічного опіку лапи у мишей

Примітки:

- 1) * — відхилення вірогідні щодо значень контрольної патології, $p < 0,05$;
- 2) $n=7$ — кількість тварин у кожній групі.

Метою даного дослідження було вивчення фармакологічної активності та деяких токсикологічних властивостей нового крему з екстрактом листа горіха волоського (КЕЛГВ).

Матеріали та методи

Досліди проведені на 42 мишах масою 18-22 г, 29 морських свинках масою 350-500 г і 12 щурах масою 180-200 г. Дослідження протизапальної дії КЕЛГВ проводили на моделі термічного запалення лапи у мишей [2, 11]. З метою вибору оптимальної концентрації екстракту досліджували крем із 0,1; 0,25; 0,5 та 1% вмістом екстракту листа горіха. Як референтний препарат застосовували крем для обличчя "Евелін"(Польща). Досліджувані засоби наносили на травмовані лапи тварин тричі: одразу і через дві та чотири години після моделювання термічного запалення. Тварин контрольної групи не лікували. Через 24 години мишей виводили з експерименту дислокацією шийних хребців під ефірним наркозом. Протизапальну активність препаратів оцінювали за здатністю зменшувати набряк лапи в порівнянні з показниками тварин контрольної групи.

Поглиблене дослідження протизапальних властивостей КЕЛГВ у порівнянні з кремом для обличчя "Евелін" проводили на моделі неалергічного контактного дерматиту, викликаного щоденними аплікаціями скипидару (3 краплі на вистрижену ділянку шкіри тварини розміром 2 x 2 см) протягом 10 днів. На 11-ту, 13-ту 15-ту добу експерименту визначали інтенсивність запальної реакції шкіри за товщиною шкірної згортки та бальною системою [10]. Також визначали кількість лейкоцитів у периферичній крові. Нанесення засобів починали на другу добу після останньої аплікації скипидару (11-та доба експерименту) та продовжували протягом 5-ти днів. Тварин контрольної групи не лікували.

Дослідження потенційних сенсибілізуючих властивостей КЕЛГВ за умов місцевого застосування проводили за методичними рекомендаціями [1]. Дослідження параметрів вологості шкіри та кількості виділення ліпідів шкірою при тривалому нанесенні морським свинкам КЕЛГВ проводили за загальноприйнятими методами [3, 5].

Утримання тварин та всі маніпуляції з ними здійснювали згідно з санітарно-гігієнічними нор-

мами та принципами Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин відповідно до норм GLP (Strasbourg, 1986) [6]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили методами дисперсійного аналізу із застосуванням критерію Ньюмана-Кейлса для множинних порівнянь або критерію Манна-Уїтні [8] за допомогою стандартного пакету статистичних програм "Statistica v.6,0".

Результати та їх обговорення

Враховуючи те, що провідним патогенетичним процесом багатьох захворювань, у тому числі й захворювань шкіри є запалення, вибір найбільш оптимальної концентрації КЕЛГВ проводили на моделі термічного запалення лапи у мишей. Як показали проведені дослідження (рис.), КЕЛГВ з різним вмістом екстракту виявив виразні протизапальні властивості, пригнічуючи набряк лапи на 50-74%, але найбільшу активність (74%) препарату встановлено у групі тварин, яким наносили крем з 0,25% вмістом екстракту листа горіха. Слід зазначити, що за протизапальною активністю 0,25% КЕЛГВ дещо перевищував ефективність пре-

Таблиця

Протизапальна активність крему з 0,25% вмістом екстракту листа горіха волоського за умов неалергічного контактного дерматиту, викликаного скипидаром у морських свинок

Досліджувані показники	Термін спостереження	Групи тварин		
		контрольна патологія	0,25% КЕЛГВ	крем "Евелін"
Запальна реакція шкіри, бали	11 доба	1,67 (1±3)	1,50 (1±3)	1,50 (1±3)
	13 доба	1,83 (1±3)	0,16 (0±1)**	0,83 (0±2)**
	15 доба	1,00 (0±2)	0,00 (0±0)**	0,00 (0±0)**
Товщина шкірної згортки, мм	Вихідні дані	1,58±0,12	2,20±0,19	2,00±0,15
	11 доба	3,18±0,16*	3,12±0,10*	3,77±1,30*
	13 доба	3,30±0,19*	2,72±0,12*/**	2,92±0,18*
	15 доба	2,77±0,06*	2,49±0,14	2,35±0,16
Кількість лейкоцитів у крові, 10 ⁹ /л	Вихідні дані	7,63±1,29	7,21±0,96	6,64±0,50
	11 доба	11,00±1,76*	9,13±1,68*	8,95±1,58
	15 доба	10,42±1,80	7,38±0,82**	7,64±0,62**

Примітки:

- 1) * — відхилення вірогідні щодо вихідних даних, $p < 0,05$;
- 2) ** — відхилення вірогідні щодо показників групи контрольної патології, $p < 0,05$;
- 3) $n=5$ — кількість тварин у кожній групі.

парату порівняння крему "Евелін" (рис.).

Отже, отримані дані дозволяють констатувати виразну протизапальну активність крему з 0,25% вмістом екстракту листа горіха на моделі термічного запалення лапи у мишей. Для подальших досліджень був вибраний крем із 0,25% вмістом екстракту.

На другому етапі дослідження вивчали протизапальні властивості КЕЛГВ на моделі контактного дерматиту (КД), викликаного скипидаром. Модель скипидарного дерматиту дозволяє відтворити такі клінічні прояви уражень шкіри як подразнення, гіперемію, запалення, набряк тощо.

Щоденне нанесення скипидару на шкіру морських свинок призводило до розвитку локальної запальної реакції, яка супроводжувалася свербжем: спостерігали гіперемію, набряк тканин та утворення щільних кірок, на що вказує достовірне підвищення товщини шкірної згортки. Виразність клінічних проявів місцевої реакції шкіри складала 1,67-1,5 балів (табл.). Патологія також характеризувалася достовірним підвищенням кількості лейкоцитів у периферичній крові порівняно з вихідними даними, що свідчить

про розвиток системного запалення.

Нанесення 0,25% КЕЛГВ та препарату порівняння крему "Евелін" сприяло зникненню гіперемії, набрякості, скорішому відновленню шкірного покриву тварин, усувало свербіж та ознаки подразнення. У дослідних тварин, яким наносили на місце ураження 0,25% КЕЛГВ, спостерігали зниження ознак запалення, що підтверджувалось достовірним щодо показників контрольної патології зменшенням товщини шкірної згортки. Позитивна динаміка досліджуваних показників відбувалася вже з 13-ої доби експерименту. Інтенсивність ураження шкіри в балах у тварин, яким наносили крем з екстрактом горіха на 13-ту добу складала 0,16 балів у порівнянні з 1,83 балами у групі тварин контрольної патології та 0,83 балами у групі тварин, які отримували аплікації крему "Евелін" (табл.). На 15 добу у тварин, яким щоденно наносили 0,25% КЕЛГВ, ознаки запалення шкіри повністю зникали, товщина шкірної згортки хоча й не досягала вихідних значень, але була достовірно нижчою за значення відповідного показника контрольної патології. Відмічено

також достовірне зниження кількості лейкоцитів у крові порівняно зі значеннями контрольних тварин. Препарат порівняння виявляв аналогічний за виразністю та динамікою терапевтичний ефект.

Таким чином, 0,25 % КЕЛГВ виявляє виразну протизапальну дію, за виразністю якої не поступається препаратів порівняння крему "Евелін". Враховуючи те, що екстракт листа горіха волоського містить у своєму складі багато флавоноїдів та поліфенолів, можна припустити, що основним механізмом у прояві протизапальної дії є мембранопротекторні властивості. Завдяки вираженим комплексуючим властивостям, здатності зв'язуватися з білками мембран, антиокиснювальній дії флавоноїди і дубильні речовини стабілізують мембрани клітин, ущільнюють цитоплазму і міжклітинну рідину, що на мікроциркуляторному рівні приводить до гальмування обміну рідиною і електролітами між судинами і тканиною [9, 12, 15]. Також дубильні речовини здатні пригнічувати вивільнення серотоніну і кінінів [7]. Стабілізація внутрішніх (особливо лізосомальних) і зовнішніх клітинних мембран приводить до зменшення виходу ме-

діаторів запалення, що сприяє пригніченню запального процесу та зменшенню набряку лапи тварин на моделі термічного запалення і шкіри при ураженні скипидаром. Крім того, екстракт листя горіха волоського містить велику кількість вітамінів, зокрема РР, який у поєднанні з вітаміном С виявляє відновлюючі властивості щодо шкіри експериментальних тварин [4].

При доклінічному вивченні важливим етапом є встановлення параметрів токсичності потенційного засобу. З огляду на специфіку дії косметичного засобу нами проведено дослідження спроможності 0,25% КЕЛГВ викликати сенсibilізацію у морських свинок, а також визначення вологості шкіри та здатності впливати на секрецію жиру сальними залозами шкіри вušних раковин щурів.

Як показали проведені дослідження, нанесення завершальної

аплікації 0,25% КЕЛГВ після серії нанесень засобу не викликало у дослідних тварин ознак сенсibilізації (у вигляді гіперемії та інфільтрації, товщина шкірної згортки не відрізнялась від значень інтактних тварин). Рівень лейкоцитів у крові експериментальних тварин також дорівнював інтактним значенням, що вказує на відсутність запальної реакції на фоні тривалого нанесення 0,25% КЕЛГВ.

Дослідження вологості шкіри показало, що 0,25% КЕЛГВ чинить легкий зволожуючий ефект, свідченням якого є значення вологості шкіри, які достовірно відрізняються від показників тварин інтактної групи, але знаходяться у межах фізіологічної норми ($55,71 \pm 1,52\%$ проти $49,06 \pm 2,15\%$ в інтактній групі, $p < 0,05$). За даними літератури [14] встановлений зволожуючий ефект крему обумовлений наявністю у складі ек-

тракту великої кількості поліфенолів, яким притаманні саме ці властивості.

Тривале застосування 0,25% КЕЛГВ не змінювало інтенсивності виділення ліпідів сальними залозами шкіри вušних раковин, що свідчить про збереженість нормального фізіологічного стану шкіри.

ВИСНОВКИ

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено, що крем з 0,25% вмістом екстракту листя горіха волоського виявляє виразну протизапальну дію на різних моделях запалення (термічного запалення лапи у мишей та контактного дерматиту у морських свинок), чинить легкий зволожуючий ефект і не чинить сенсibilізуючої та дерматотоксичної дії, що характеризує КЕЛГВ як перспективний корегуючий засіб для використання у косметологічній практиці.

ЛІТЕРАТУРА

1. Доклінічне вивчення сенсibilізуючої дії лікарських засобів: Метод. рекомендації. — К., 2002. — 27 с.
2. Дроговоз С.М., Зупанець І.А., Мохорт М.А. та ін. Експериментальне (доклінічне) вивчення фармакологічних речовин, які пропонуються як нестероїдні протизапальні засоби / У кн.: Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — С. 292-306.
3. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2-х т. — Т. 2. — Мн: Беларусь, 2000. — С. 106-113.
4. Ковальов В.М., Павлій О.І., Ісакова Т.І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин / За ред. проф. В.М. Ковальова. — Х.: Прапор, 2000. — 704 с.
5. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учеб. пособие / Под ред. М.И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.
6. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загоря, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. — К.: МОРИОН, 1999. — С. 508-545.
7. Насыров Х.М., Кондратенко З.М. // Пат. физиол. и эксперим. терапия. — 1992. — №3. — С. 12-14.
8. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов / В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2000. — С. 349-454.
9. Петровская Л.С., Серая Л.М., Киселева Н.П., Зинченко А.А. // ФАР. — 1999. — №2 (28). — С. 122-125.
10. Рабен А.С., Алексеева О.Г., Дуева Л.А. Экспериментальный аллергический контактный дерматит. — М.: Москва, 1970. — 192 с.
11. Яковлева Л.В., Ель Ділаті Кемаль Туфік. Фармакологічна активність нової лікарської форми анальбену на експериментальних моделях болю та гострого і хронічного запалення // "Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії: Матер. наук.-практ. семінару (26 листопада 2004 р., м. Харків) / За ред. проф. О.І. Тихонова. — Х.: Вид-во НФаУ, 2004. — С. 468-471.
12. Fitzpatrick T.B., Eisen A.Z., Wolff K. et al. Dermatology in General Medicine. — New York: McGraw-Hill, 1993. — 470 p.

13. Fulvio Ursini. *Polyphenols behind the antioxidant effect: insights for nutraceutical and cosmetic function / Third International Conference on Polyphenols Applications in Nutrition and Health. Satellite Symposium on Natural Antioxidants and Polyphenols: Valorization from Fruit and Vegetable Waster, St. Julian, Malta, October 26-27, 2006 //International Society of Antioxidants in Nutrition and Health. — Malta, 2006. — P. 10.*
14. Patrice Andre. *Polyphenols, skin ageing and cosmetics: Dream or Reality? / Third International Conference on Polyphenols Applications in Nutrition and Health. Satellite Symposium on Natural Antioxidants and Polyphenols: Valorization from Fruit and Vegetable Waster, St. Julian, Malta, October 26-27, 2006 //International Society of Antioxidants in Nutrition and Health. — Malta, 2006. — P. 15.*
15. Robak J., Gryglewski R.J. //Pol. J. Pharmacol. — 2000. — Vol. 48, №6. — P. 555-564.
16. Takeo Mitsui. *New Cosmetic Science. — Amsterdam: Elsevier Science B.V., 1998. — 487 p.*
17. Young J.F., Dragsted L.O., Lauridsen S.T. et al. //Brit. J. Nutr. — 2006. — Vol. 84, №4. — P. 505-513.

Адреса для листування: 61050, м. Харків,
пл. Повстання, 17. Тел. (57) 732-27-98.
Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів
фармації Національного фармацевтичного
університету

Надійшла до редакції 11.06.2009 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату, який містить **артикаїну гідрохлорид та епінефрину гідрохлорид** (Препарати для місцевої анестезії. Код АТС N 01B B58)

Хворій К. (22 роки) з метою проведення інфільтраційної анестезії при оперативному втручанні з приводу гіпертрофії ясневого сосочка було застосовано препарат, який містить артикаїну гідрохлорид та епінефрину гідрохлорид (1,7 мл одноразово). Через 20 хвилин після введення препарату, який містить артикаїну гідрохлорид та епінефрину гідрохлорид, у хворої почервоніла шкіра підборіддя, виникли відчуття свербіж, з'явився незначний набряк підборіддя. Препарат, який містить артикаїну гідрохлорид та епінефрину гідрохлорид, було відмінено, реакцію купірували за допомогою преднізолону та димедролу. Після вжитих заходів зазначені явища минули без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Кіровоградського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України