

ВИВЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ НОВОЇ МАЗІ НА МОДЕЛІ НЕАЛЕРГІЧНОГО КОНТАКТНОГО ДЕРМАТИТУ

Л.В.Яковлєва, О.В.Ткачова

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: експериментальне вивчення; мазь; запальний процес шкіри; дерматит

На моделі неалергічного контактного дерматиту у щурів вивчена специфічна активність нової комбінованої мазі, діючими речовинами якої є екстракт кори дуба та ефірна олія коріандра. Препаратором порівняння служила мазь "Альгофін" — аналог за лікарською формою, природним походженням діючих речовин та фармакологічною дією. Встановлено, що нова комбінована мазь сприяла вірогідному зменшенню запалення, інтенсивності ураження, товщини шкірної згортки та відновленню біохімічних показників. За впливом на біохімічні показники нова мазь є ідентичною препарату порівняння, а за протизапальною дією новий препарат перевищив активність мазі "Альгофін". Більш виразна протизапальна дія нової мазі обумовлена синергізмом антиоксидантної і мембрanoстабілізуючої активності діючих речовин препарату та його емульсійної основи. Отримані результати обґрунтують доцільність використання нового препарату для місцевого лікування неалергічних запальних захворювань шкіри.

Дерматит є одним із розповсюджених і частих захворювань шкіри, що проявляються у вигляді запальних реакцій шкіри у відповідь на вплив різноманітних факторів зовнішнього середовища. Контактний дерматит (КД) зустрічається у 5-10% населення. Показник захворювання на КД в різних країнах варіє в залежності від ступеня індустріалізації і впливу різних хімічних факторів як побутових, так і промислових викидів [6].

У медицині розрізняють 2 типи КД: простий (неалергічний) і алергічний. Неалергічний контактний дерматит (НКД) виникає виключно у місці впливу подразнюючого фактора. Обов'язковою складовою комплексного лікування НКД є терапія місцевими лікарськими засобами. Вибір адекватних засобів для лікування КД залежить в основному від механізму фармакологічної дії лікарських препаратів і стадії патогенезу запального процесу. Незважаючи на великий арсенал топічних глюко-

кортикостероїдних засобів для місцевої терапії алергічних захворювань шкіри, не всі вони однаково ефективні та безпечні. Стероїдні протизапальні препарати (СПП) для зовнішнього застосування мають ряд обмежень для хворих з підвищеною чутливістю, для людей похилого віку, дітей, вагітних жінок та тих, які годують груддю. До побічних ефектів, що мають місце при використанні СПП місцевого призначення, відносяться: свербіж, акнеподібні висипання, гіpopігментація, контактна екзема, гіпертрихоз, розвиток вторинних інфекційних уражень, атрофічних змін епідермісу і дерми [3]. Все це суттєво обмежує можливості застосування СПП для місцевого лікування дерматитів та створює умови для пошуку нових, безпечних та ефективних лікарських засобів.

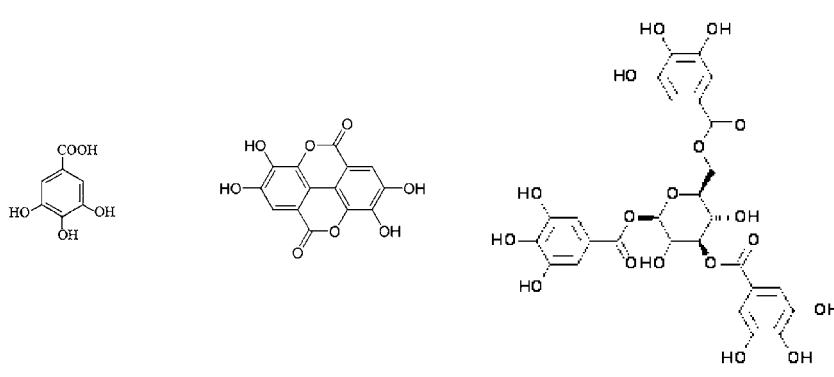
Альтернативою синтетичним протизапальним засобам є фіто-препарати, які завдяки широті фармакологічної дії та низькій токсичності проявляють м'яку ком-

плексну дію. Фітопрепарати рідше, ніж синтетичні викликають ускладнення, що дозволяє проводити тривале лікування при хронічних захворюваннях.

Нашу увагу привернув широкий спектр біологічної активності природної сировини — кори дуба, яку отримують із широко розповсюджених в Україні дерев — дуба звичайного, родини букових (Fagaceae), що містять близько 10-20% дубильних речовин (ДР), представлених в основному галотанінами, елаготанінами і катехіновими танінами [2]. Експериментально встановлено, що представники класу ДР виявляють найбільш виражені антиокиснювальні властивості [4, 8, 7]. Схильність до легкої віддачі електрона і протона за рахунок наявності великої кількості в структурі ОН-груп з рухливим атомом водню робить ДР здатними нейтралізовувати вільні радикали (див. рис. 1).

За даними закордонних авторів екстракти кори дуба (ЕКД), як і препарати, що містять танін, проявляють протизапальну, антимікробну та антиоксидантну активність [9, 10], що було підтверджено в експериментальних до-

Л.В.Яковлєва — доктор фармац. наук, професор, завідувачка Центральної науково-дослідної лабораторії Національного фармацевтичного університету (м. Харків)



Галова кислота Елагова кислота Галотанін

Рис. Хімічна структура компонентів екстракту кори дуба

слідженнях густого екстракту кори дуба (ЕКД) на базі ЦНДЛ НФаУ. Комплексна фармакологічна активність (антиексудативна, антимікробна, мембраностабілізувальна) та безпечність субстанції ЕКД при внутрішньолукному використанні обумовили доцільність її введення як одного з діючих компонентів до складу нової комбінованої ранозагоювальної мазі.

Нова мазь розроблена вченими Харківської фармацевтичної фірми “Лабораторія “Ірис” і призначена для лікування ран та опіків у ІІ-ІІІ фазах ранового процесу. Мазь створена на емульсійній основі І типу. Основними діючими речовинами препарату є ЕКД (містить дубильні речовини) та ефірна олія коріандра (містить ліналоол, ліналілацетат, гераніол і гераніл-ацетат, монотерпенові вуглеводи).

Встановлена протизапальна активність нової мазі (на моделі гострого термічного запалення та хронічного асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини), а також наявність антимікробних властивостей дозволили передбачити використання препарату не тільки як ранозагоювального засобу, але й для лікування дерматологічних патологій.

У зв’язку з цим метою нашої роботи стало вивчення ефективності нової мазі на моделі нейтрального контактного дерматиту (НКД).

Матеріали та методи

Дослідження протизапальної дії препарату на моделі НКД про-

водили на 24 білих безпородних щурах самицях масою 180-200 г. Експериментальні тварини були розділені на 4 групи: перша — інтактний контроль (ІК) ($n=6$), друга — контрольна патологія (КП) ($n=6$), третя — дослідна група, що одержувала нову мазь з 10-го по 15-й день експерименту на шкірно ($n=6$), четверта — дослідна група, що одержувала препарат порівняння з 10-го по 15-й день експерименту на шкірно ($n=6$). Мазі наносили стерильним шпателем на ушкоджену поверхню шкіри тварин розміром $3 \times 3 \text{ см}^2$ 1 раз на день в умовно-терапевтичній дозі $20 \text{ mg}/\text{cm}^2$. Препаратом порівняння служила мазь “Альгофін” виробництва ВАТ “Лісохімік”, яку було обрано як аналог за лікарською формою, природним походженням діючих речовин та фармакологічною дією. Мазь “Альгофін” містить у своєму складі діючу речовину: хлорофіло-каротинову пасту 0,25 г та мазеву основу вазелін до 100 г мазі. Препарат використовують для лікування гнійно-запальних, трофічних, радіаційних уражень м’яких тканин різної локалізації; ран асептичних та інфікованих, абсцесів, флегмон та опіків ІІ-ІІІ ступенів; у складі комбінованої терапії інфекційних захворювань шкіри (піодермія, бешихове запалення).

Для відтворення патології тваринам на ретельно вистрижену ділянку шкіри розміром $3 \times 3 \text{ см}^2$ щоранку протягом 10 днів наносили по п’ять крапель живичного скипидару та втирали скляною

паличкою. На 10-й день відтворення патології у тварин інтенсивність розвиненого НКД оцінювали візуально за виразністю запальної реакції шкіри за бальною системою (0 балів — відсутність видимої реакції; 1 бал — слабка еритема; 2 бали — помірно виражена еритема, злущення, крапкові крововиливи; 3 бали — чітка еритема з ущільненням та злущеннями; 4 бали — різка еритема з явищами геморагії, вираженою інфільтрацією та серозно-геморагічними кірками з виразкою) [5].

Інтенсивність запального процесу в організмі тварин також оцінювали за гематологічними показниками: швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ) та кількості лейкоцитів у крові, які як і запалення шкіри визначали двічі: 1) на 10-й (останній) день нанесення скипидару, далі — 10-й день експерименту; 2) на 5-й день місцевого лікування дерматиту, далі — 15-й день експерименту.

Протизапальна активність препаратів визначали на 15-й день експерименту за формулою:

$$A = 100 \% - \frac{I_{\text{досл.}} \times 100}{I_{\text{кп}}},$$

де: А — протизапальна активність;
 $I_{\text{досл.}}$ — інтенсивність ураження шкіри в дослідній групі;
 $I_{\text{кп}}$ — інтенсивність ураження шкіри в групі контрольної патології.

Для оцінки вираженості запалення та набряку шкіри у тварин до початку експерименту, на 10-й та 15-й дні експерименту досліджували товщину шкірної згортки, яку вимірювали за допомогою штангенциркуля.

Оскільки в умовах запального процесу в організмі тварин відбуваються метаболічні зміни, на 15-й день експерименту в сироватці крові проводили дослідження біохімічних показників, які характеризують вираженість запального процесу (кількість загального білка, рівень сечовини, цитолітичного ферменту АсАТ та глікопротеїдів у сироватці крові [1]).

Для оцінки патологічних змін у групі КП отримані результати

Таблиця 1

Вплив препаратів на показники запалення шкіри на моделі неалергічного контактного дерматиту, $X \pm S_x$, $n=18$

Терміни дослідження	Показники запальної реакції шкіри					
	інтенсивність ураження, бали			товщина шкірної згортки, мм		
	контрольна патологія	нова комбінована мазь	мазь "Альгофін"	контрольна патологія	мазь "Біофлорин"	мазь "Альгофін"
Вихідні дані	-	-	-	1,90±0,06	2,22±0,10	1,98±0,07
10-й день експерименту	3,50±0,22	3,33±0,21	3,33±0,21	3,92±0,25*	4,10±0,24*	4,42±0,27*
15-й день експерименту	1,67±0,33**	0,83±0,31 **/****T	1,17±0,31 **/***	3,35±0,33*	2,62±0,18 */**/***	2,97±0,40 */***
A, %		50,30	29,94			

Примітки:

- 1) * — відмінності статистично значущі щодо вихідних даних, $p<0,05$;
- 2) ** — відмінності статистично значущі щодо групи КП на 10-й день експерименту, $p<0,05$;
- 3) *** — відмінності статистично значущі щодо дослідної групи на 10-й день експерименту, $p<0,05$;
- 4) **** — відмінності статистично значущі щодо групи КП у відповідний термін дослідження, $p<0,05$;
- 5) T — тенденція щодо статистично значущих відмінностей, $0,05 < p < 0,10$.

гематологічних і біохімічних показників порівнювали з показниками групи ІК. З метою оцінки лікувального впливу мазей та встановлення вірогідних відмінностей отримані показники порівнювали з групами КП і ІК. При застосуванні методів статистики був прийнятий рівень значущості $p<0,05$.

З тваринами поводились згідно з "Загальними етичними принципами експериментів на тваринах, що узгоджуються з положеннями "Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких

використовують для експериментальних та наукових цілей" (Страсбург, 1986 р. із змінами, внесеними в 1998 р.) Отримані результати обробляли статистично, використовуючи стандартний пакет статистичних програм Statistica 4.3. Для отримання статистичних висновків застосовували критерії Ньюмана-Кейлса та Манна-Уйтні.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження лікувальної дії нової мазі та препара-

ту порівняння — мазі "Альгофін" на моделі НКД, викликаного живичним скипидаром, наведені в таблицях 1-3.

Згідно з отриманими даними на 10-й день у всіх тварин після відтворення НКД спостерігали виразний набряк тканин, чітку еритему з ущільненнями та злущеннями і наявність виразок з геморагічними кірками, що за інтенсивністю ураження шкіри відповідало 3,3-3,5 балам за 4-и бальною шкалою (табл. 1). Товщина шкірної згортки у тварин достовірно збільшилася в порівнянні з вихідними даними у 2 рази. Запалення шкірних покривів супроводжувалось вірогідним щодо групи ІК лейкоцитозом та підвищенням рівня ШОЕ (табл. 2).

Через 5 днів після усунення подразнюючого фактора (на 15-й день експерименту) у тварин групи КП інтенсивність ураження зменшилась у 2 рази та достовірно відрізнялась від показників групи КП на 10-й день експерименту, а товщина шкірної згортки залишилась майже на попередньому рівні, достовірно перевищуючи вихідні дані (табл. 1). Крім того, на 15-й день експерименту у тварин групи КП спостерігали вірогідне щодо групи ІК підвищення рівня лейкоцитів, що поряд з вірогідним підвищенням по-

Вплив препаратів на гематологічні показники на моделі неалергічного контактного дерматиту, $X \pm S_x$, $n=24$

Дні експерименту	Групи тварин			
	ін tactний контроль	контрольна патологія	нова комбінована мазь	мазь "Альгофін"
Лейкоцити, $10^9/\text{л}$				
10-й день	10,08±0,83	17,58±1,13*	17,46±0,85*	17,13±1Д7*
15-й день	11,79±1,19	18,29±1,51*	13,50±0,50**/***	17,58±1,53*
ШОЕ, $\text{мм}/\text{с}$				
10-й день	1,42±0,15	4,33±0,33*	3,67±0,42*	4,00±0,45*
15-й день	1,67±0,31	4,00±0,52*	2,25±0,66**T	2,08±0,47**

Примітки:

- 1) * — відмінності статистично значущі щодо групи ІК, $p<0,05$;
- 2) ** — відмінності статистично значущі щодо групи ПК, $p<0,05$;
- 3) *** — відмінності статистично значущі щодо референс-препаратору мазі "Альгофін", $p<0,05$;
- 4) T — тенденція щодо статистично значущих відмінностей, $0,05 < p < 0,10$.

Таблиця 3

Вплив препаратів на біохімічні показники на моделі неалергічного контактного дерматиту, X±Sx, n=24

Показники	Групи тварин			
	інтактний контроль	контрольна патологія	нова комбінована мазь	мазь "Альгофін"
Загальний білок, г/л	52,31±5,19	30,68±4,56*	49,92±4,28**	49,48±10,07**
Сечовина, ммоль/л	2,72±0,42	5,35±0,71*	4,12±0,50	4,00±0,55
Глікопротеїди, ммоль/л	2,01±0,24	4,66±0,16*	2,07±0,45**	1,84±0,27**
AcAT, ммоль/гл	0,21±0,04	0,42±0,04*	0,21±0,04**	0,31±0,05**

Примітки:

- 1) * — відмінності статистично значущі щодо групи ІК, p<0,05;
 2) ** — відмінності статистично значущі щодо групи ПК, p<0,05.

казника ШОЕ свідчить про системний запальний процес у тварин цієї групи (табл. 2). Дослідження біохімічних показників свідчить, що на 15-й день експерименту у сироватці крові тварин групи КП зафіковано достовірно вищий за рівень інтактного контролю рівень біохімічних показників: внутрішньоклітинного ферменту AcAT, сечовини та достовірно нижча кількість загального білка (табл. 3), що свідчить про перебіг запальних та некротичних процесів в організмі тварин. Одним з біохімічних індикаторів запалення сполучної тканини шкіри є також підвищення глікопротеїдів у сироватці крові, оскільки вони беруть участь в адгезії клітин до міжклітинного матриксу, диференціюванні сполучної тканини і перешкоджають розвитку запалення. Тому достовірне збільшення рівня глікопротеїдів (у 2,2 рази) також стало свідченням виразного запального процесу у тварин групи КП. Оцінюючи вплив препаратів, можна сказати, що після 5-ти денного лікування мазями у тварин спостерігали виражений терапевтичний ефект, підтверджений достовірним зменшенням товщини шкірної згортки і зниженням інтенсивності ураження шкіри порівняно з попереднім терміном (табл. 1). У тварин після лікування відзначено зникнення геморагій, зменшення набряклиності і гіперемії. Нова мазь більш ефективно, ніж референс-препарат вплинула на зниження інтенсивності ураження та проявила

тенденцію до вірогідного зменшення ураження шкіри щодо групи КП на 15-й день експерименту (табл. 1). Протизапальна активність нової мазі склала 50,3%, що в 1,7 рази перевищує активність референс-препарата (29,94%).

Про виразну протизапальну активність нового препаратору також свідчить позитивна динаміка рівня лейкоцитів і ШОЕ (табл. 2). Рівень лейкоцитів у групі тварин, лікованих новим препаратом, на 15-й день був вірогідно меншим від показників групи КП та референс-препаратору. Показники ШОЕ під впливом обох препаратів на 15-день достовірно знизилися щодо групи КП та не мали вірогідних відмінностей порівняно з групою ІК та між собою. Отже, за протизапальною дією нова комбінована мазь перевищила ефективність мазі "Альгофін".

Після 5-денного лікування мазями у тварин відбулося відновлення до рівня ІК майже всіх (окрім сечовини) досліджуваних біохімічних показників (табл. 3). Аналізуючи отримані дані, можна зазначити, що за впливом на біохімічні показники новий препарат ідентичний ефективності препаратору порівняння, а за протизапальною активністю перевищує активність останнього (в 1,7 рази).

Відомо, що при моделюванні будь-якого запалення в організмі тварин виникає цілий каскад біохімічних змін, що супроводжують запальний процес. Виявити ці зміни можна, перш за все, при біохімічному аналізі крові. Найбільш

інформативними та доступними дослідженнями, що відбуваються при запальному процесі, є дослідження мембронодеструктивних процесів та порушень білкового обміну. Маркерами запалення сполучної тканини є збільшення в крові рівня глікопротеїдів, маркерами цитолізу — збільшення кількості внутрішньоклітинних ферментів (АлАТ, AcAT). Деструктивні процеси досить часто супроводжуються порушенням білкового обміну, що було підтверджено в сироватці крові тварин групи КП зниженням кількості загального білка та збільшенням рівня сечовини і глікопротеїдів.

Нормалізація біохімічних показників під впливом нової мазі цілком вірогідно відбувається за рахунок високої біодоступності діючих речовин — ЕКД та ефірної олії коріандра, а під впливом мазі "Альгофін" — діючих речовин з хлорофіло-каротинового комплексу препаратору. Більш виразна протизапальна активність досліджуваної мазі на моделі НКД, на нашу думку, реалізується за рахунок антиоксидантного і мемброностабілізувального впливу діючих речовин — ЕКД та ефірної олії коріандра, осмотичної дії емульсійної основи мазі (блізько 100%), що містить ПЕО, на відміну від гідрофобної вазелінової основи препаратору порівняння. Поліетиленоксиди окрім функції розчинника виконують також функцію провідників лікарських речовин крізь біологічні мембрани, поліпшуючи біодоступність препаратору.

ВИСНОВКИ

1. На моделі НКД за впливом на біохімічні показники нова мазь відповідає ефективності препарата порівняння мазі "Альгофін", а за протизапальнюю активністю та за впливом на показники, які характеризують виразність запального процесу (кількість лейкоцитів та інтенсивність ураження),

перевищує активність референс-зразка.

2. Більш виразна протизапальна активність нової мазі на моделі НКД реалізується за рахунок антиоксидантного і мембраностабілізувального впливу дубильних речовин ЕКД і ефірної олії коріандра, а також за рахунок осмотичної активності емульсійної

основи мазі (блізько 100%) на відміну від гідрофобної вазелінової основи референс-зразка.

3. Встановлена протизапальна дія нової комбінованої мазі на моделі НКД дозволить розширити показання до застосування препарату у клініці для місцевого лікування неалергічних запальних захворювань шкіри.

ЛІТЕРАТУРА

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. — М: МЕДпресс-информ, 2009. — 920 с.
2. Кортиков В.Н., Кортиков А.В. Полная энциклопедия лекарственных растений. — Ростов н/Д: Изд. дом "Проф-Пресс", 2004. — 800 с.
3. Современная наружная терапия дерматозов / Под ред. Н.Г.Короткого. — Тверь. — М: "Губернская медицина", 2001. — 528 с.
4. Яковлева Л.В., Герасимова О.А., Карбушиева И.В. //Эксперим. и клин. фармакол. — 2001. — Т. 64, №2. — С. 55-59.
5. Яковлева Л.В., Ткачова О.В., Гладух Є.В. Вивчення лікувальної дії мазі альтанової на моделі контактного скіпидарного дерматиту у щурів / Зб. наук. праць співроб. КМАПО ім. П.Л.Шупика. — Вип. 12, кн. 1. — К., 2003. — С. 1000-1005.
6. Bourke J., Coulson I., English J. //Br. J. Dermatol. — 2001. — Vol. 145, №6. — P. 877-885.
7. Hassig A., W. Liang.X., Schwabl H. et al. //Med. Hypotheses. — 1999. — Vol. 52, №5. — P. 479-481.
8. Nelofar S. Khan, Aamir Ahmad, Hadi S.M. //Chemico-Biol. Interactions. — 2000. — Vol. 125, №3. — P. 177-189.
9. Sano M., Yoshida R., Degawa M. //J. Agric. Food Chem. — 2003. — Vol. 51, №10. — P. 2912-2916.
10. Stem Jung-il Kim, Hohyun Kim, Simgun Kim et al. //Archives of Pharm. Res. — 2008. — Vol. 31, №3. — P. 274-278.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Мельникова, 12. Тел. (57) 752-03-47.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 08.11.2010 р.