

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БЕРЕЗНЯКОВ АНДРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК: 615.454.122.03:615.012/014

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НОВОЇ КОМБІНОВАНОЇ  
МАЗІ «ГЛІТАЦИД» НА ОСНОВІ СУХОГО ЕКСТРАКТУ СОЛОДКИ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2012

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Національному фармацевтичному університеті МОЗ України, м. Харків.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор,  
**Попов Сергій Борисович**  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України, м. Харків,  
професор кафедри клінічної фармакології  
з фармацевтичною опікою.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор,  
**Штриголь Сергій Юрійович**  
Національний фармацевтичний університет  
МОЗ України, м. Харків,  
завідувач кафедри фармакології.

доктор медичних наук, професор,  
**Звягінцева Тетяна Володимирівна**  
Харківській національний медичний університет  
МОЗ України,  
завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури.

Захист відбудеться « 20 » квітня 2012 р. о 12<sup>00</sup> годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті МОЗ України (61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету МОЗ України (м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий « \_\_\_\_ » березня 2012 року.

Учений секретар  
спеціалізованої вченої ради

**Т.С. Сахарова**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Травматичні ушкодження шкіри з порушенням її цілісності, опікі, інфіковані рани, виразки і дерматити різного генезу відносяться до найчастіших і розповсюджених видів патології (Алексеев А. А., 2006; Звягінцева Т. В., 2011; Sator P.G., 2011).

Сучасні вимоги до місцевих ранозагоювальних та протиопікових лікарських засобів передбачають можливість використання препарату в певні фази ранового процесу, відсутність токсичної та місцевопоздразнювальної дії, широкий спектр антибактеріальних властивостей, високу протизапальну та репаративну активність (Л. А. Болотная, 2010). Однак не всі препарати, які представлені на фармацевтичному ринку України, відповідають цим вимогам. Крім того, ранозагоювальні препарати для місцевого застосування не повинні викликати порушення газообміну в шкірі (Л. В. Веселова, И. В. Хамаганова, М. И. Савина, 2007). Ці недоліки зумовлені застосуванням жиркових основ, що не забезпечують сорбції ранового ексудату, здатні окислюватися («прогіркання» основи), мають низький вихід діючої речовини, призводять до розвитку «парникового» ефекту, в ряді випадків відбувається «закиснення» рани (Т. Г. Тенчурина, 2007). У зв'язку з вищенаведеним, доцільним є виготовлення мазей на гідрофільній основі.

Найбільш ефективними для лікування ран і дерматитів, у тому числі інфікованих, є багатокомпонентні мазі, створені на гідрофільних полімерних основах: Левомеколь, Левосін, мазь «Мірамістин», гель «Пантестин-Дарниця», мазь «Вундехіл» та інші (Машковський М. Д., 2011). Інгредієнти, що входять до їхнього складу, забезпечують комплексний вплив на перебіг ранового процесу: репаративний, антимікробний, протизапальний, дегідратуючий (Тамм Т. І., Даценко А. Б., Ляпунов М. О., 2002; Андреев Д. Ю., 2009; Яковлева Л. В., 2008, 2010). Але і ці препарати мають деякі недоліки: достатньо вузький антимікробний спектр, можуть викликати алергічні реакції.

Наведені дані свідчать про те, що питання ефективної та безпечної фармакотерапії ран, дерматитів та опіків ще не вирішені. Тому актуальним є подальший пошук та розробка препаратів, які в більшій мірі задовольняли б потреби клінічної практики для лікування різних ушкоджень шкіри.

Враховуючи вищенаведене, на кафедрі заводської технології ліків НФаУ під керівництвом проф. Рубан О.А. створена нова комбінована мазь на основі сухого екстракту солодки з умовною назвою «Глітацид» (патент № 62147 від 10.08.2011р.). Сухий екстракт солодки містить БАР: гліциризинову кислоту, флавоноїди, макро- та мікроелементи, що здатні забезпечити репаративні та протизапальні властивості мазі. Нітазол та анестезин, що входять до складу мазі, обумовлюють антимікробну та місцевоанестезуючу дію, тобто розширюють спектр її фармакологічних властивостей.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертація виконана в рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне дослідження біологічно-активних речовин і лікарських засобів синтетичного та природного походження, їх використання в медичній практиці» (№ держ. реєстр. 0103U000478).

**Мета та задачі дослідження.** Мета – експериментальне обґрунтування доцільності застосування мазі «Глітацид» для лікування ран, опіків та дерматитів різного генезу.

З метою досягнення поставленої мети необхідно було вирішити **наступні задачі:**

1. Вивчити гостру токсичність мазі «Глітацид». Визначити найбільш ефективну концентрацію сухого екстракту солодки у мазі «Глітацид» на моделі термічного опіку шкіри.

2. Дослідити репаративні властивості мазі на різних експериментальних моделях патології: асептична та інфікована лінійні рани; площинна та повношарова рани.

3. Вивчити протизапальну дію мазі «Глітацид» на моделі карагенінового набряку і при інтракутанному введенні різних флогогенів.

4. Визначити можливу місцевоанестезуючу та антимікробну дію.

5. Дослідити лікувальну ефективність мазі «Глітацид» на моделі скипидарного дерматиту.

6. З'ясувати механізми дії мазі «Глітацид» при лікуванні ран, опіків та запальних захворювань шкіри за впливом мазі «Глітацид» на синтез нуклеїнових кислот, вміст оксипроліну і загального білку в гомогенаті шкіри.

7. Підтвердити репаративну і протизапальну властивості мазі за результатами морфологічних досліджень.

8. Дослідити можливу загальнотоксичну дію мазі «Глітацид» на органи та системи в хронічному експерименті.

*Об'єкт дослідження* – місцеве лікування ран, дерматитів та опіків.

*Предмет дослідження* – нешкідливість, механізми протизапальної та репаративної дії нової мазі «Глітацид» на основі сухого екстракту солодки.

**Методи дослідження** – фармакологічні, токсикологічні, біохімічні, фізико-хімічні, гістологічні та статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У результаті дослідження визначено, що найбільш ефективна концентрація сухого екстракту солодки у мазі «Глітацид» складає 1,5 %. Згідно класифікаційних таблиць К. К. Сидорова (1979 р.) мазь «Глітацид» відноситься до V класу токсичності – практично нетоксичних сполук.

Вперше доведено, що мазі «Глітацид» притаманна висока репаративна активність (підвищує міцність післяопераційного рубця асептичної рани в 1,7 рази та в 1,6 рази інфікованої рани, прискорює процеси їх загоювання). Встановлено, що мазь «Глітацид» інтенсифікує процеси очищення рани, прискорює початок макрофагальної реакції, сприяє дозріванню ендотеліоцитів і фібробластів.

Вперше вивчені протизапальні властивості мазі «Глітацид» на моделях карагенінового запалення та при інтракутанному введенні різних флогогенів: каоліну, гістаміну, декстрану, карагеніну та формаліну. Протизапальна активність мазі «Глітацид» наближається до дії 1% емульгелю «Вольтарен».

Експериментально доведені місцевоанестезуюча та антимікробна дія мазі «Глітацид».

На моделі скипидарного дерматиту ефективність мазі «Глітацид» підтверджена позитивним впливом на показники периферичної крові, загальний стан тварин,

процеси перекисного окиснення ліпідів (зменшує кількість дієнових кон'югатів на 41% і ТБК-Р на 55% у порівнянні з показниками тварин без лікування) та активність ферментів антиоксидантної системи (збільшує активність супероксиддисмутази на 32%, каталази на 35% у порівнянні з показниками тварин без лікування), на синтез нуклеїнових кислот, загального білку та вміст оксипроліну в гомогенаті шкіри тварин. Встановлені переваги мазі «Глітацид» у порівнянні з референт-препаратом гелем «Пантестин-Дарниця» за спектром фармакологічної дії.

Мазь «Глітацид» не має токсичного впливу на органи та системи в умовах хронічного експерименту.

Наукова новизна роботи підтверджена патентом № 62147 від 10.08.2011 «Фармацевтична композиція «Глітацид» у формі мазі з протизапальною, антимікробною, знеболювальною та репаративною дією».

**Практичне значення результатів.** В результаті проведеного дослідження встановлена ефективність комбінованої мазі «Глітацид» на основі сухого екстракту солодки при лікуванні ран на другій та третій фазах ранового процесу, а також при лікуванні опіків та дерматитів, що дозволяє рекомендувати її для подальшого клінічного вивчення.

Результати дисертаційної роботи впроваджені в навчальний процес на кафедрах фармакології Буковинського державного медичного університету (м. Чернівці), Івано-Франківського медичного університету, Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Національного фармацевтичного університету (м. Харків).

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз наукової літератури, сумісно з науковим керівником визначені мета та задачі дослідження, відпрацьовані моделі, згідно з якими особисто виконані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка і аналіз отриманих результатів, сформульовані висновки, підготовлені праці до друку, оформлений патент України на корисну модель, виконано написання та оформлення дисертації. Гістоморфологічні дослідження були проведені в ЦНДЛ НФаУ та консультовані к.біол.н. Ю. Б. Лар'яновською.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення та висновки дисертаційної роботи оприлюднені та обговорені на XXVIII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині: сучасні проблеми створення, вивчення та апробації лікарських засобів» (Харків, 2011), на XVIII Російському національному конгресі «Человек и лекарство» (Москва, 2011), на IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 2011), на IV науково-практичній конференції «Фармакоэкономика в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 2011).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових робіт, у тому числі 5 статей в наукових спеціалізованих виданнях, рекомендованих МОН молодьспорту України, та 8 тез у матеріалах з'їздів, конгресів та конференцій з міжнародною участю. Отримано патент України на корисну модель № 62147 від 10.08.2011 р. «Фармацевтична композиція «Глітацид» у формі мазі з протизапальною, антимікробною, знеболювальною та репаративною дією».

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 142 сторінках комп'ютерного тексту та складається з вступу, огляду літератури, описання матеріалів і методів дослідження, 5 розділів особистих досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел у кількості 202, з них 158 кирилицею, 44 латиницею. Робота проілюстрована 9 рисунками, 31 таблицею.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ.

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження виконані на 630 тваринах, у тому числі на 530 білих нелінійних щурах обох статей масою 180,0–220,0 г, 70 білих нелінійних мишах масою 18,0-20,0 г, 10 кроликах породи Шиншилла масою 2,5-3,0 кг, 20 мурчаках масою 600-700 г, вирощених у розпліднику віварію ЦНДЛ НФаУ. Усі больові маніпуляції виконувалися під етаміналнатрієвим наркозом (40 мг/кг). Виконані дослідження не суперечать загальноприйнятим біоетичним нормам, проведені з дотриманням відповідних міжнародних положень щодо проведення експериментальних досліджень (протокол № 9 від 14.09.2011 р. комітету з біоетики НФаУ). Експерименти проведені в ЦНДЛ НФаУ, сертифікованій ДФЦ МОЗ України (свідоцтво № 21 від 30.04.2009 р.) і в патоморфологічній лабораторії ЦНДЛ Харківського національного медичного університету.

Об'єктом дослідження була мазь «Глітацид», розроблена на кафедрі заводської технології ліків НФаУ під керівництвом професора О.А. Рубан.

Склад мазі: екстракту солодки сухої – 1,5 г; нітазолу – 2,0 г; анестезину – 5,0 г; олії кукурудзяної – 10,0 г; пропіленгліколю – 7,5 г; поліетиленоксиду 400 – 7,5 г; ОС-20 – 0,5 г; емульгатору МСГ – 8,0 г; води – до 100,0.

Як препарати порівняння були обрані: гель «Пантестин-Дарниця» – відомий вітчизняний засіб з репаративною та протизапальною дією; мазь «Вундехіл» (виробник фірма «Ейм») – препарат на основі речовин рослинного походження; 1% емульгель «Вольтарен» (виробник фірма «Новартис») – при дослідженні протизапальної дії та 5% анестезинова мазь (виробник фірма «Татхімфарм») – при визначенні місцевоанестезуючої дії.

Гостру токсичність мазі «Глітацид» вивчали на двох видах тварин – білих нелінійних щурах масою  $210,0 \pm 10,0$  г і білих нелінійних мишах масою  $20,0 \pm 2,0$  г при двох шляхах введення: епікутанному і внутрішньошлунковому. Оцінку гострої токсичності проводили згідно з загальноприйнятими класифікаційними таблицями Сидорова К. К. (1979).

Ефективну концентрацію мазі визначали на моделі опікової рани шкіри у щурів (Звягінцева Т.В., 2011). У експерименті використовували тест-зразки мазей з різною концентрацією сухого екстракту солодки: 0,5 %, 1,0 %, 1,5 %, 2,0 %, 2,5%, вмістом нітазолу 2% і анестезину 5%.

Вивчення репаративних властивостей мазі «Глітацид» було проведено на п'яти моделях: асептичної лінійної різаної рани, лінійної різаної рани інфікованої мікроорганізмами *Aerobacter aerogenes* дозою  $1,2 \times 10^7$  м.т./мл, лінійної різаної рани інфікованої мікроорганізмами *Staphylococcus aureus* дозою  $1,2 \times 10^7$  м.т./мл, площинної та повношарової ран (Яковлева Л. В. 2002, 2010). Оцінку репаративної дії проводили за здатністю збільшувати міцність рубця та зменшувати площу ран в

динаміці. Загоєння інфікованих ран вивчали на двох експериментальних моделях, внесенням мікробної культури *Aerobacter aerogenes* та *Staphylococcus aureus*.

З метою дослідження впливу мазі «Глітацид» на динаміку ранового процесу були вивчені цитологічні показники грануляційної тканини (Звягінцева Т.В. 2011) на моделі повношарової рани у щурів. Лейкоцитарну інфільтрацію осередку запалення, зміну клітинних фаз у ньому вивчали, використовуючи окулярну сітку (Стефанов С.Б., 1974). У 30-ти випадково обраних полях зору підраховували кількість фібробластів, макрофагів, нейтрофільних лейкоцитів, лаброцитів і ендотеліоцитів (Автандилов Г.Г., 1990).

Протизапальну дію мазі «Глітацид» вивчали на моделі карагенінового набряку і при інтракутанному введенні різних флогогенів (гістаміну, декстрану, карагеніну, формаліну, каоліну) в стінку живота щурів (Яковлева Л.В., Федорчук Ю.В., 2002; Немченко І.І., Люлька О.М., Ляхова Н.О., 2006).

Антимікробну активність мазі «Глітацид» визначали в дослідах «in vitro», місцевоанестезуючу – на моделі анестезії ока кроля.

Ефективність мазі «Глітацид» при лікуванні скипидарного дерматиту (Дроговоз С.М. та ін., 2006; Яковлева Л.В., Ткачова О.В., 2010) оцінювали за вираженістю ушкодження шкіри, товщиною шкірної складки, показниками маси тіла, ректальної температури, периферичної крові, ПОЛ (ДК, ТБК-Р), ферментів антиоксидантної системи (каталази, СОД), нуклеїнових кислот (РНК/ДНК), оксипроліну та загального білку в гомогенаті тканин шкіри (Арутюнян А.В. и соавт., 2000). Вміст первинних та кінцевих продуктів ПОЛ (ДК, ТБК-Р), активність ферментів АОС визначали спектрофотометричним методом (Арутюнян А. В., 2000). Рівень загального білка в гомогенаті шкіри тварин визначали за методом Miller G.L. (1959), оксипроліну – спектрофотометричним методом (Андрюшенко В. П., 2002). Вміст ДНК визначали за методом Шмідта-Таннгаузена з реактивом Дише (суміш дифеніламіну з оцтовою та сірчаною кислотами), РНК – за методом В.В. Мейбаум (1945) з орцином (Лупа Х., 1980, Wang J., 2010).

Можливу загальнотоксичну дію мазі «Глітацид» на органи і системи в хронічному експерименті визначали в умовно-ефективній дозі (УЕД) 500 мг/кг (3,2 мг/см<sup>2</sup>), 2,5УЕД – 1250 мг/кг або 8 мг/см<sup>2</sup>, 5УЕД – 2500 мг/кг або 16 мг/см<sup>2</sup>. Гонадотоксичну дію і вплив мазі на репродуктивну функцію проводили згідно з методичними рекомендаціями (Стефанов О. В., 2001)

При статистичній обробці отриманих результатів використовували t-критерій Ст'юдента. В усіх випадках відмінності вважали вірогідними при  $p < 0,05$  (Сернов Л.Н. и соавт., 2000).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Першим етапом нашої роботи було визначення гострої токсичності та найбільш ефективної концентрації сухого екстракту солодки для подальшого дослідження мазі. В результаті проведеного дослідження встановлено, що на моделі опікової рани найбільш ефективною була мазь з концентрацією нітазолу 2%, анестезину 5% і сухого екстракту солодки 1,5%. При епікутанному і внутрішньошлунковому введенні максимально допустимих доз мазі «Глітацид» щурам та мишам не було відзначено загибелі тварин. Таким чином, мазь «Глітацид» була віднесена до сполук V класу токсичності відповідно

до класифікаційних таблиць К.К. Сидорова (1979), тобто до практично нетоксичних сполук.

На наступному етапі дослідження були підтверджені репаративні властивості мазі «Глітацид» за її здатністю підвищувати міцність післяопераційного рубця асептичної та інфікованої лінійних різаних ран, прискорювати швидкість епітелізації площинної рани та позитивно впливати на стан лейкоцитарної інфільтрації повношарової рани шкіри.

Було встановлено, що мазь «Глітацид» збільшує міцність післяопераційного рубця асептичних різаних ран на сьому добу на 73,2 %, а на чотирнадцяту добу на 88,2 % (рис. 1), ран інфікованих *Aerobacter aerogenes* – на 43,4% та 60,8 % (рис. 2) і ран інфікованих *Staphylococcus aureus* – на 40,4% та 57,4 % відповідно (рис. 3). На обох моделях репаративна активність мазі «Глітацид» відповідала активності гелю «Пантестин-Дарниця» та вірогідно перевищувала дію мазі «Вундехіл» на моделі асептичної лінійної різаної рани.

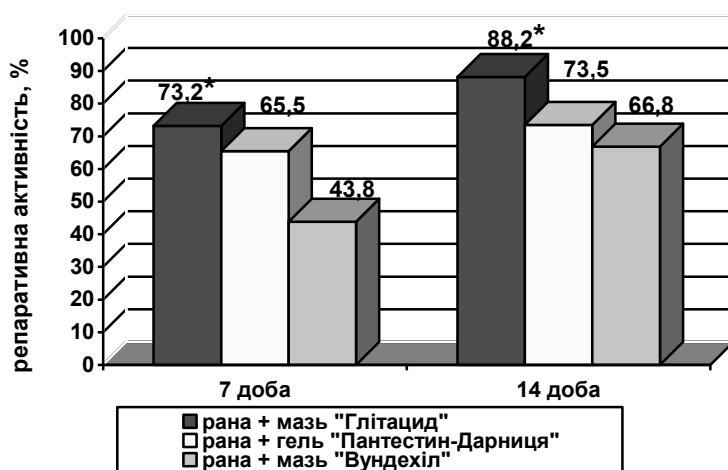


Рис. 1. Репаративна активність мазі «Глітацид» при лікуванні асептичної різаної рани.

Примітки:

1. \* - відмінності вірогідні відносно мазі «Вундехіл»,  $p < 0,05$ ;

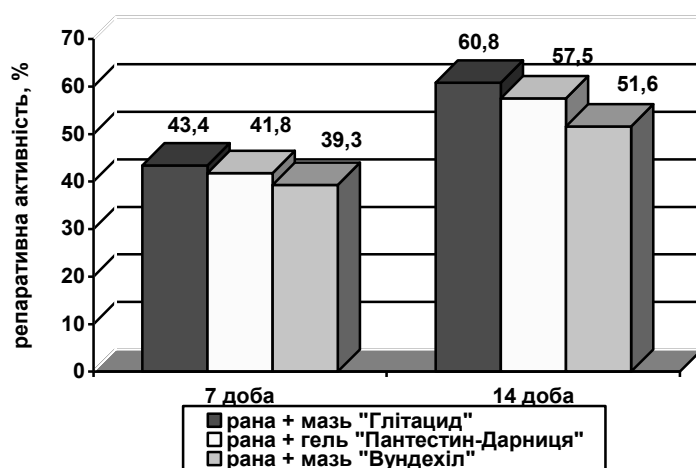




Рис. 2. Репаративна активність мазі «Глітацид» при лікуванні різаних ран інфікованих *Aerobacter aerogenes*.

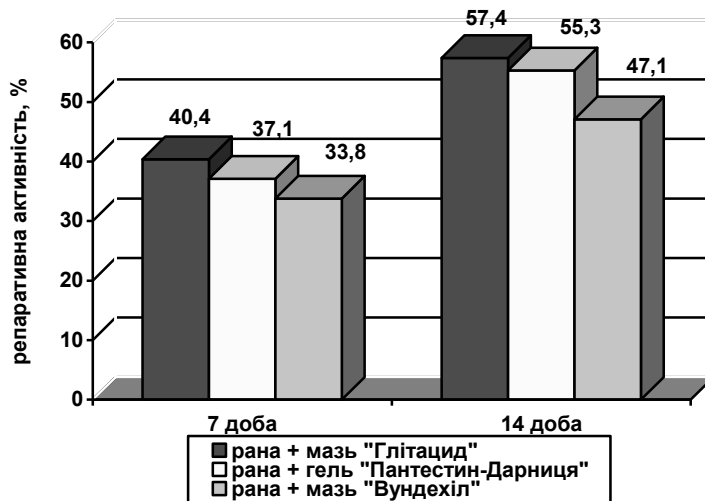


Рис. 3. Репаративна активність мазі «Глітацид» при лікуванні різаних ран інфікованих *Staphylococcus aureus*.

На моделі повношарової рани шкіри визначено вплив мазі «Глітацид» на стан лейкоцитарної інфільтрації. Одним із ключових питань патогенезу запалення є питання про лейкоцитарну інфільтрацію осередку запалення, зміни клітинних фаз у ньому, перехід від розгортання процесу до його стабілізації і стихання. Лейкоцити, які надійшли до осередку запалення, беруть участь у фагоцитозі – розпізнанні і транспорті в клітину позаклітинного матеріалу (Клименко Н.А., 2008). Якщо нейтрофіли гинуть при фагоцитозі, то макрофаги зберігаються в процесі фагоцитозу, резорбують продукти розпаду клітин і міжклітинної речовини, розчищаючи поле для регенерації. Макрофаги відіграють важливу роль у сполученні ексудативної і проліферативної фаз запалення, регенерації та фіброзу. Макрофаги разом з нейтрофілами обмежують уражену ділянку тканини, формуючи нейтрофільно-макрофагальний бар'єр. Спочатку в ньому превалюють нейтрофіли, потім клітинний склад цього бар'єру змінюється на переважно макрофагальний, а далі – на макрофагально-фібробластичний (Слободяник Г.І., 2001; Звягинцева Т.В., 2004).

Під впливом мазі «Глітацид» на третю добу досліду кількість нейтрофільних лейкоцитів у рані тварин була на 29 % вірогідно нижчою, ніж у тварин без лікування, що свідчить про інтенсифікацію процесів очищення рани. При цьому кількість фібробластів – головних ефекторів репаративної фази – на цей момент вже складала 52,8 %, що було вірогідно більше, ніж у групі контролю і групі тварин, яких лікували гелем «Пантестин-Дарниця». При цьому, початок макрофагальної реакції під впливом мазі «Глітацид» відбувався раніше (на третю добу) порівняно з контролем (на п'яту добу). Отже, мазь «Глітацид» сприяє інтенсифікації процесу очищення рани і таким чином прискорює початок репаративної фази.

На експериментальній моделі площинної рани шкіри було доведено, що мазь «Глітацид» сприяє зменшенню площі рани, значно скорочує терміни повної

епітелізації (рис. 4). Як показали результати дослідження, мазь «Глітацид» в 1,5 рази прискорює репарацію тканин у порівнянні з нелікованими тваринами і в 1,2 рази – в порівнянні з гелем «Пантестин-Дарниця».

Таким чином, показники ранотензіометрії, планіметрії, морфометрії репаративного процесу свідчать, що мазь «Глітацид» має виражені репаративні властивості.

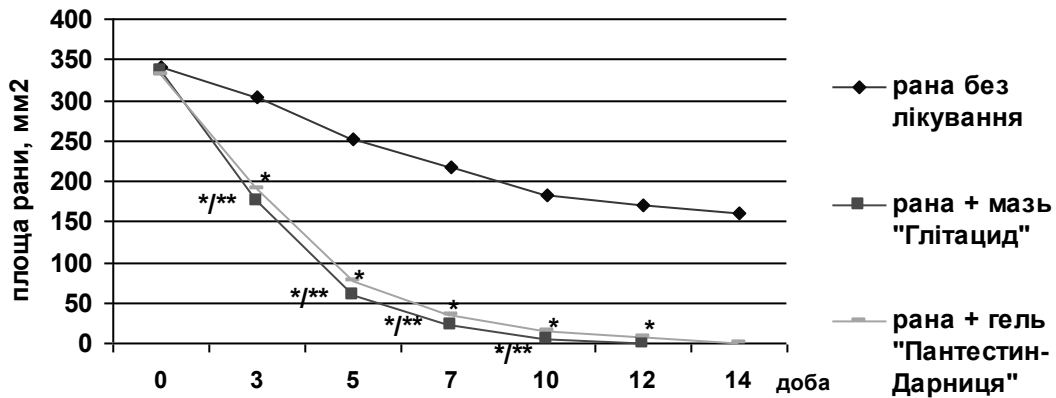


Рис. 4. Зміни площі площинної рани шкіри щурів під впливом мазі «Глітацид» та гелю «Пантестин-Дарниця».

Примітки:

1. \* - відмінності вірогідні відносно рани без лікування,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* - відмінності вірогідні відносно гелю «Пантестин-Дарниця»,  $p < 0,05$ .

Наступним етапом нашого дослідження було визначення протизапальної дії мазі «Глітацид».

На моделі карагенінового набряку мазь «Глітацид» виявляє виражену протизапальну активність на рівні 50,6%, що практично наближається до активності 1% емульгелю «Вольтарен» в аналогічній дозі. (рис. 5).

#### Карагеніновий набряк

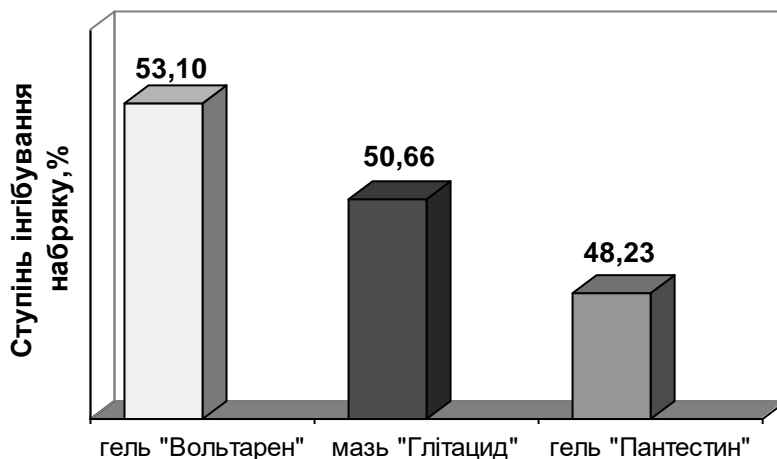


Рис. 5. Антиексудативна активність мазі «Глітацид» на моделі карагенінового набряку.

Час затримки фарбування папул ( $\Delta t$ ), сек.

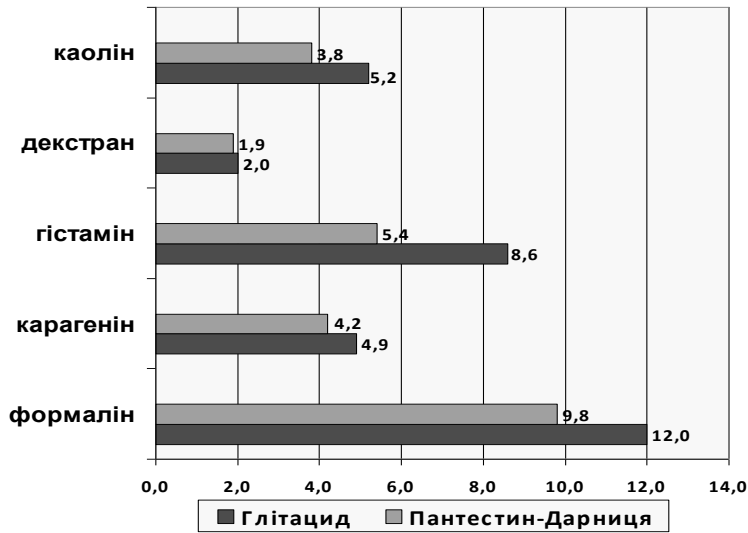


Рис. 6. Антиексудативна активність мазі «Глітацид» на моделі ексудативного запалення, спричиненого інтракутанним введенням флогогенів.

Попереднє нанесення мазі «Глітацид» сприяло зменшенню судинної проникності на тлі інтракутанного введення різних флогогенів (гістаміну, декстрану, карагеніну, формаліну, каоліну) в стінку живота (рис. 6), про що свідчило подовження часу ( $\Delta t$ ) фарбування папул. Отже, антиексудативна дія мазі «Глітацид» зумовлена її гальмівним впливом на активність медіаторів запалення: біогенних амінів і, можливо, простагландинів та лейкотриєнів, що вивільнюються у відповідь на введення флогогенів.

Результати експериментів підтвердили наявність у мазі «Глітацид» антимікробної і місцевоанестезуючої активності.

Завданням наступного етапу нашого дослідження була оцінка ефективності мазі «Глітацид» на моделі скипидарного дерматиту (Дроговоз С.М., Доровський О.В., Бутко Я.О. та співав., 2006; Яковлева Л.В., Ткачова О.В., 2010).

Розвиток скипидарного дерматиту характеризувався вираженим лейкоцитозом, прискоренням швидкості осідання еритроцитів (ШОЕ), зрушенням лейкоцитарної формули вліво зі збільшенням кількості паличкоядерних лейкоцитів. Дані зміни зберігалися протягом усього періоду спостереження, що свідчило про тяжкість запального процесу.

При лікуванні маззю «Глітацид» лейкоцитоз на третю добу зменшився в 2 рази, а на сьому добу – в 2,5 рази в порівнянні з нелікованими тваринами. У цей же період спостерігали достовірне зниження ШОЕ в групі тварин, що одержували мазь «Глітацид» (з 4,40 мм/год до 2,40 мм/год), а також нормалізацію лейкоцитарної формули. Виражена протизапальна активність мазі «Глітацид» була підтверджена вірогідним зменшенням інтенсивності ураження шкіри (рис. 7) і товщини шкірної складки (рис. 8).



Рис. 7. Інтенсивність ураження шкіри при лікуванні скипидарного дерматиту маззю «Глітацид».

Примітки:

1. \* – відмінності вірогідні щодо інтактних тварин,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* - відмінності вірогідні щодо дерматиту без лікування,  $p < 0,05$ ;
3. \*\*\* – відмінності вірогідні щодо гелю «Пантестин-Дарниця»,  $p < 0,05$ .

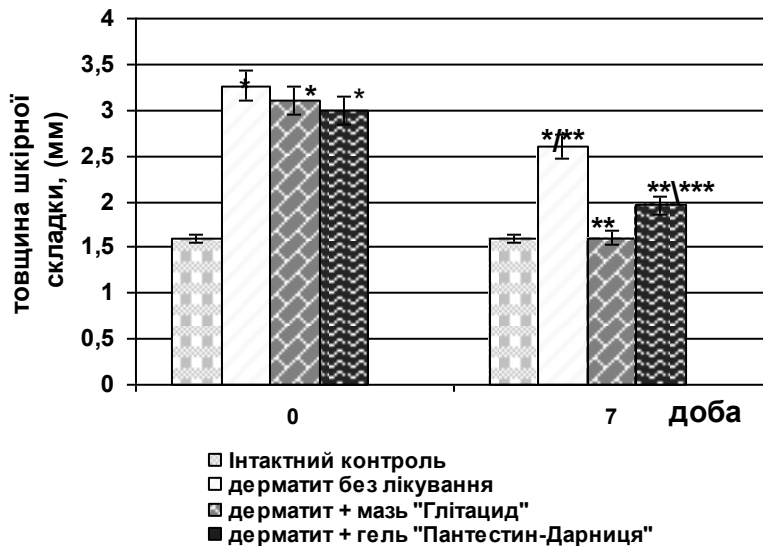


Рис. 8. Показники товщини шкірної складки при лікуванні скипидарного дерматиту маззю «Глітацид».

Примітки:

1. \* – відмінності вірогідні щодо інтактних тварин,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* - відмінності вірогідні щодо дерматиту без лікування,  $p < 0,05$ ;
3. \*\*\* – відмінності вірогідні щодо гелю «Пантестин-Дарниця»,  $p < 0,05$ .

На цьому добу дослід у групі тварин, яких лікували маззю «Глітацид», показники товщини шкірної складки були нижчими в 1,9 рази, а в групі тварин, яких лікували гелем «Пантестин-Дарниця» – в 1,5 рази порівняно з вихідними даними. Інтенсивність ушкодження шкірних покривів зменшилася при лікуванні маззю «Глітацид» у 5,2 рази, при лікуванні гелем «Пантестин-Дарниця» – у 3,1 рази, що свідчить про переваги мазі «Глітацид» над препаратом порівняння.

Для оцінки можливих механізмів ефективності мазі «Глітацид» при скипидарному дерматиті, були визначені показники ПОЛ (ДК, ТБК-Р) та АОС (каталази і супероксиддисмутази) в гомогенаті тканин шкіри. Результати досліджень показали, що активність ферментів АОС у гомогенаті тканин шкіри тварин без лікування на цьому добу була знижена відносно показників інтактних тварин: СОД – на 52%, каталази – на 36%. Разом з тим у тварин без лікування відбувалося посилення процесів ПОЛ: ДК – на 42%, і ТБК-Р – на 70%. Визначена динаміка процесів ПОЛ і активності ферментної ланки АОС свідчить про розвиток запального процесу, що узгоджується з даними літератури (Звягінцева Т.В. та співавт., 2000; Корж Е.В. та співавт., 2003).

Під впливом мазі «Глітацид» відбувалась нормалізація показників ПОЛ (рис. 9) і АОС (рис. 10) практично до рівня інтактних тварин.

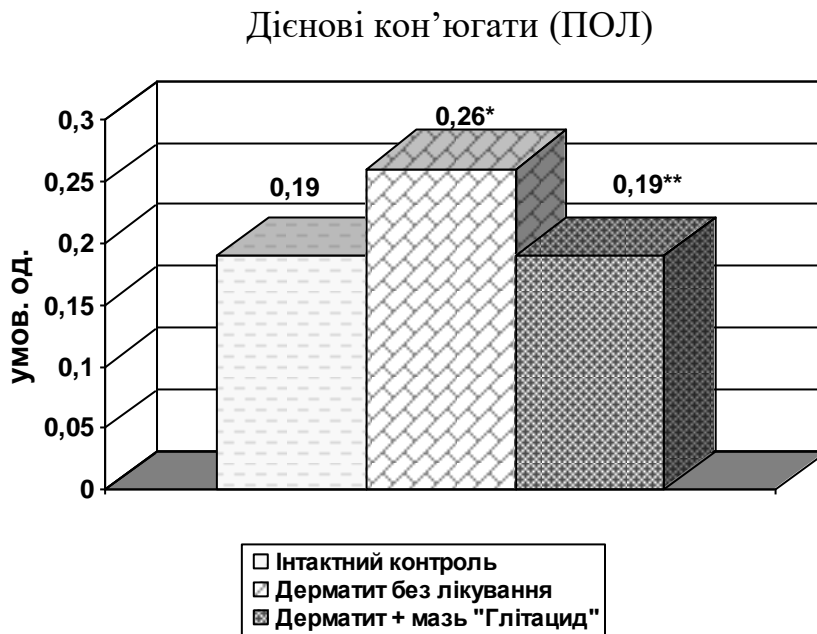


Рис. 9. Показники ПОЛ в гомогенаті тканин шкіри у щурів при лікуванні скипидарного дерматиту.

Примітки:

- \* – відмінності вірогідні щодо інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
- \*\* – відмінності вірогідні щодо дерматиту без лікування,  $p < 0,05$ .

## АОС



Рис. 10. Показники АОС в гомогенаті тканин шкіри у щурів при лікуванні скипидарного дерматиту.

Примітки:

1. \* – відмінності вірогідні щодо інтактного контролю,  $p < 0,05$ ;
2. \*\* – відмінності вірогідні щодо дерматиту без лікування,  $p < 0,05$ .

Відомо, що в основі регенерації лежить синтетична діяльність клітини, і в першу чергу, синтез нуклеїнових кислот і білків (Билич Г.Л., Крыжановский В.А., 2005; Benham C, Mielke S., 2005). З метою визначення механізмів репаративних властивостей мазі «Глітацид» були проведені дослідження її впливу на синтез нуклеїнових кислот у гомогенаті тканин шкіри при скипидарному дерматиті.

Під впливом мазі «Глітацид» відбувалось збільшення рівня РНК до 10,12 нг/г тканини і ДНК до 12,61 нг/г тканини у гомогенаті тканин шкіри тварин, що було відповідно в 1,7 та 1,4 рази вище, ніж у щурів з дерматитом без лікування. Співвідношення РНК/ДНК при лікуванні маззю «Глітацид» було в 1,2 рази вище, ніж у тварин без лікування. Підвищення синтезу нуклеїнових кислот при лікуванні маззю «Глітацид» узгоджувалося з вірогідним підвищенням вмісту загального білка (92,7 мг/г проти 59,2 мг/г у тварин без лікування) та маркеру стану сполучної тканини – оксипроліну (7,44 мкмоль/г проти 5,66 мкмоль/г у тварин без лікування). За вираженістю стимулюючого впливу на стан репаративних процесів мазь «Глітацид» відповідала дії гелю «Пантестин-Дарниця».

Таким чином, мазь «Глітацид» виявляє стимулювальний вплив на синтез нуклеїнових кислот, загального білку та оксипроліну, що лежить в основі її репаративної дії.

На наступному етапі було проведено вивчення можливої загальнотоксичної дії мазі «Глітацид» на органи і системи тварин при хронічному введенні протягом 3-х місяців, а також її вплив на репродуктивну функції. Згідно з отриманими результатами визначено, що мазь при тривалому застосуванні не викликає структурних і функціональних порушень з боку серця, нирок, печінки, сис-

теми периферичної крові, а також не виявляє гонадотоксичної дії та не має впливу на репродуктивну функцію.

Таким чином, проведене фармакологічне дослідження показало, що мазь «Глітацид» має виражені репаративні та протизапальні властивості, ефективна при лікуванні експериментального скипидарного дерматиту, нешкідлива при гострому і тривалому застосуванні, і може бути рекомендована для подальшого клінічного вивчення при лікуванні різних ран на другій та третій фазах ранового процесу і запальних захворюваннях шкіри.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено експериментальне обґрунтування і нове рішення наукового завдання, направлено на підвищення ефективності фармакотерапії ран і дерматологічних захворювань шляхом використання нової мазі на основі сухого екстракту солодки.

1. На моделі опікової рани шкіри у щурів визначена найбільш ефективна концентрація сухого екстракту солодки у мазі «Глітацид», яка складає 1,5 %.

Мазь «Глітацид» при епікутанному і внутрішньошлунковому введенні в інтервалі доз 50 мг/кг - 5000 мг/кг не спричиняє загибелі тварин, що дозволяє віднести її згідно з класифікацією К.К. Сидорова до V класу токсичності, тобто до практично нетоксичних сполук.

2. Мазь «Глітацид» виявляє виражені репаративні властивості, які підтверджені підвищенням міцності післяопераційних рубців асептичної лінійної рани на 88,2%, інфікованих лінійних ран викликаних *A. aerogenes* на 60,8 %, і *S. aureus* на 57,4 %; збільшенням швидкості епітелізації на моделі площинної рани в 1,5 рази; прискоренням процесів очистки рани шкіри: зменшенням лейкоцитарної інфільтрації, прискоренням макрофагальної реакції та дозрівання фібробластів на моделі повношарової рани.

3. Антиексудативна активність мазі «Глітацид» на моделі карагенінового набряку дорівнює 50,6%, що практично наближається до активності 1% емульгелю «Вольтарен». Встановлено, що антиексудативна дія мазі «Глітацид» зумовлена її інгібуючим впливом на медіатори запалення, що підтверджено уповільненням часу проявів порушення судинної проникності після інтракутанного введення різних флогогенів (карагеніну, каоліну, гістаміну, формаліну, декстрану).

4. Мазі «Глітацид» притаманна антимікробна дія по відношенню до *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Aerobacter aerogenes*, яку вивчали в досліджах «in vitro». На моделі анестезії ока кроля встановлено, що мазь «Глітацид» має достатньо високу місцевоанестезуючу дію, яка дорівнює 5 % мазі з анестезином.

5. Встановлена ефективність мазі «Глітацид» при лікуванні скипидарного дерматиту: на сьому добу лікування зменшується вираженість запального процесу (нормалізуються показники периферичної крові, ректальної температури, зменшується товщина шкірної складки), відновлюється баланс ПОЛ/АОС (знижуються рівень продуктів ПОЛ: дієнових кон'югатів – на 42%, ТБК-Р – на 55%,

підвищується рівень супероксиддисмутази – на 32%, каталази – на 35% відповідно), посилюються репаративні процеси за рахунок підвищення вмісту РНК, ДНК, загального білка та оксипроліну.

6. Механізми ефективності мазі «Глітацид» при лікуванні ран, опіків та запальних захворювань шкіри пов'язані з її стимулюючим впливом на порушені анаболічні процеси в шкірі, здатністю зменшувати вираженість ексудативних процесів, пригнічувати процеси ПОЛ та відновлювати активність антиоксидантної системи, що обумовлено наявністю гліциризинової кислоти, флавоноїдів та макро- та мікроелементів в екстракті солодки голої.

7. Вивчення морфоструктури зони скипидарного (неалергічного) дерматиту у щурів показало, що мазь «Глітацид» стабілізує стан кровоносних судин у ділянці ураження, запобігає подальшому порушенню місцевої гемодинаміки, впливає на проліферативну активність клітин дерми, внаслідок чого вже на сьому добу починає формуватися повноцінний регенерат.

8. Мазь «Глітацид» в умовно-ефективній дозі (УЕД), 2,5УЕД, 5УЕД при хронічному нанесенні протягом 3-х місяців не чинить негативного впливу на функціональний стан серцево-судинної системи, печінки та нирок, не змінює морфологічний склад периферичної крові; не має негативного впливу на репродуктивну функцію.

9. Наявність виражених протизапальних та репаративних властивостей мазі «Глітацид», її ефективність при лікуванні експериментального скипидарного дерматиту, нешкідливість в хронічному експерименті дозволяє рекомендувати мазь «Глітацид» до клінічного випробування та подальшого застосування в клінічній практиці.

## СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Березняков А. В. Дослідження протизапальної дії мазі «Глітацид» за показниками периферичної крові та загального стану тварин на моделі скипидарного дерматиту / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Український біофармацевтичний журнал. – 2011. № 1 (12). – С. 22-25. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*

2. Березняков А. В. Ефективність мазі «Глітацид» на експериментальній моделі скипидарного дерматиту у щурів / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Медична хімія. – 2011. – Т.13, № 1 (46). – С. 118-120. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*

3. Березняков А. В. Вивчення можливої гонадотропної і ембріотоксичної дії мазі «Глітацид» / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Український біофармацевтичний журнал. – 2011. - № 3 (14). – С. 29-31. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*



4. Березняков А. В. Фармакологічне вивчення мазі з сухим екстрактом солодки / А. В. Березняков, С. Б. Попов, О. А. Рубан // Фітотерапія. – 2011. – № 2. – С. 61-63. *(Внесок дисертанта – обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовка матеріалу до друку).*

5. Березняков А. В. Протизапальна та репаративна дія нової комбінованої мазі «Глітацид» на основі сухого екстракту солодки / А. В. Березняков, С. Б. Попов, О. А. Рубан // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т.13. - С. 31-33. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*

6. Березняков А. В. Свободнорадикальные процессы в патогенезе кожных ран / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Человек и лекарство: тез. докл. XVIII Росс. нац. конгр., 11-15 апр. 2011г. – М., 2011. – С. 472. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*

7. Березняков А. В. Порівняння ефективності протизапальних засобів на моделі лінійних ран шкіри / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення й апробації лікарських засобів: тез. докл. XXVIII всеукр. наук-практ. конф. з міжнар. участю, 23 квіт. 2011 р. – Х., Вид-во НФаУ, 2011. – С. 97-98. *(Внесок дисертанта – обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовка матеріалу до друку).*

8. Березняков А. В. Вивчення репаративної активності мазі «Глітацид» на моделі інфікованих лінійних ран у щурів / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення й апробації лікарських засобів: тез. докл. XXVIII всеукр. наук-практ. конф. з міжнар. участю, 23 квіт. 2011 р. – Х., Вид-во НФаУ, 2011. – С.10. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*

9. Березняков А. В. Вивчення протизапальних властивостей нової комбінованої мазі з екстрактом солодки / А. В. Березняков, О. А. Рубан // Ліки – людині. Сучасні проблеми створення, вивчення й апробації лікарських засобів: тез. докл. XXVIII всеукр. наук-практ. конф. з міжнар. участю, 23 квіт. 2011 р. – Х., Вид-во НФаУ, 2011. – С. 117-118. *(Внесок дисертанта – проведені експериментальне дослідження, статистичне опрацювання результатів).*

10. Березняков А. В. Использование метода ранотензиометрии при изучении репаративной активности мази «Глитацид» / А. В. Березняков // Фармакоэкономика в Україні: стан та перспективи розвитку: тез. доп. IV наук-практ. конф. 27-28 жовт. 2011 р. – Х., Вид-во НФаУ, 2011. – С. 259-260.

11. Березняков А. В. Синтез нуклеиновых кислот в гомогенате грануляционной ткани раны кожи под влиянием мази «Глитацид» / А. В. Березняков // Фармакоэкономика в Україні: стан та перспективи розвитку: тез. доп. IV наук-практ. конф. 27-28 жовт. 2011 р. – Х., Вид-во НФаУ, 2011. – С. 260-261.

12. Березняков А. В. Изучение антиэкссудативной активности мази «Глитацид» при субплантарном и интракутанном введении флогогенов / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Фармакологія та лікарська токсикологія: тез. доп. мат.

IV з'їзду фармакологів України. – 2011. - № 5 (24). – С. 28-29. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*

13. Березняков А. В. Влияние мази «Глітацид» на процессы перекисного окисления липидов в гомогенате тканей полнослойной раны и эпидермиса при скипидарном дерматите / А. В. Березняков, С. Б. Попов // Фармакологія та лікарська токсикологія: тез. доп. мат. IV з'їзду фармакологів України. – 2011. - № 5 (24). – С.257-258. *(Внесок дисертанта – особисто проведені експериментальне дослідження, обробка отриманих результатів, їх оцінка, підготовлено матеріал до друку).*

## АНОТАЦІЯ

**Березняков А. В. Фармакологічне дослідження нової комбінованої мазі «Глітацид» на основі сухого екстракту солодки. – На правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2012.

Робота присвячена вивченню протизапальних та репаративних властивостей нової комбінованої мазі з умовною назвою «Глітацид» на основі сухого екстракту солодки. Визначено, що мазь «Глітацид» належить до практично нетоксичних сполук.

Мазь «Глітацид» виявляє виражені репаративні властивості, які підтверджені підвищенням міцності післяопераційних рубців асептичної та інфікованих лінійних ран, прискоренням процесів очистки повношарової рани шкіри, збільшенням швидкості епітелізації площинної рани. Окремі механізми репаративної дії мазі «Глітацид» проявляються через стимулюючий вплив на синтез нуклеїнових кислот.

Протизапальна активність мазі «Глітацид» на моделі карагенінового набряку наближається до активності 1% емульгелю «Вольтарен», що зумовлено її гальмівним впливом на активність біогенних амінів, циклооксигеназний і ліпооксигеназний метаболізм арахідонової кислоти.

Мазі «Глітацид» притаманні антимікробна і місцевоанестезуюча дія.

Встановлена ефективність мазі «Глітацид» на моделі скипидарного дерматиту, що зумовлена підвищенням активності ферментів антиоксидантної системи, зниженням продуктів перекисного окиснення ліпідів.

**Ключові слова:** сухий екстракт солодки, репаративні властивості, протизапальні властивості, рани різної етіології, експериментальний дерматит.

## АННОТАЦИЯ

**Березняков А. В. Фармакологическое изучение новой комбинированной мази «Глитацид» на основе сухого экстракта солодки. – На правах рукописи.**

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2012.

Работа посвящена изучению противовоспалительных и репаративных свойств новой комбинированной мази с условным названием «Глитацид» на основе сухого экстракта солодки. В результате проведенного исследования на модели термического ожога кожи у крыс, установлено, что наиболее эффективной является мазь с концентрацией сухого экстракта солодки 1,5 %. Определение острой токсичности при эпикутанном и внутрижелудочном путях введения в интервале доз 50 мг/кг – 5000 мг/кг массы тела, позволило отнести мазь «Глитацид» к V классу токсичности – практически нетоксичным веществам, согласно классификационным таблицам К.К.Сидорова (1973).

Изучение репаративных свойств мази «Глитацид» было проведено на пяти моделях: асептической линейной резаной ране, линейной резаной ране инфицированной микроорганизмами *Aerobacter aerogenes* в дозе  $1,2 \times 10^7$  м.т./мл, линейной резаной ране инфицированной микроорганизмами *Staphylococcus aureus* в дозе  $1,2 \times 10^7$  м.т./мл, плоскостной и полнослойной ранах. Оценку репаративной активности проводили по способности увеличивать прочность послеоперационного рубца и уменьшать площадь ран в динамике. Было установлено, что мазь «Глитацид» увеличивает прочность послеоперационного рубца асептической раны на 14-е сутки на 88,2 %, инфицированных ран – *A. aerogenes* на 60,8% и *S. aureus* 57,4 %. Репаративная активность мази «Глитацид» была выше показателей геля «Пантестин-Дарница» и мази «Вундехил». На экспериментальной модели плоскостной раны кожи было доказано, что мазь «Глитацид» не только уменьшает площадь раны, но значительно сокращает сроки полной эпителизации.

На модели каррагенинового отека мазь «Глитацид» проявляет выраженное противовоспалительное действие, которое приближается к действию 1% эмульгеля «Вольтарен». При интракутанном введении различных флогогенов (каолин, декстран, каррагенин, гистамин, формалин), предварительное нанесение мази «Глитацид» вызывает уменьшение сосудистой проницаемости.

Результаты экспериментов подтвердили наличие у мази «Глитацид» антимикробной активности, которая изучалась в опытах «in vitro» и местноанестезирующего действия, которое исследовалось на модели анестезии глаза кроля.

Установлена эффективность мази «Глитацид» на экспериментальной модели скипидарного дерматита, о чем свидетельствуют показатели перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, ТБК-реактанты), активности ферментов антиоксидантной системы (каталаза, супероксиддисмутаза), содержания нуклеиновых кислот, общего белка и оксипролина в гомогенате тканей кожи.

Уровни РНК и ДНК (показатели биосинтетических процессов) и соотношение РНК/ДНК при лечении мазью «Глитацид» были соответственно в 1,7 и 1,4 раза выше, чем у животных с дерматитом без лечения. Под влиянием мази «Глитацид» показатели синтеза нуклеиновых кислот согласовывались с показателями общего белка и оксипролина и были выше, чем у животных без лечения.

В хроническом эксперименте установлено, что мазь «Глитацид» не вызывает структурных и функциональных нарушений со стороны сердца, почек, системы периферической крови и не оказывает влияния на репродуктивную функцию.

Наличие выраженных противовоспалительных и репаративных свойств мази «Глитацид», ее эффективность при лечении ран разной этиологии экспериментального скипидарного дерматита, безвредность в хроническом эксперименте позволяет рекомендовать мазь «Глитацид» для клинического испытания и дальнейшего применения в медицинской практике.

**Ключевые слова:** сухой экстракт солодки, репаративные свойства, противовоспалительные свойства, раны разной этиологии, экспериментальный дерматит.

## THE SUMMARY

**Bereznyakov A. V. Pharmacological study of a new combination ointment "Glitacid" on the basis of licorice dry extract. – A manuscript.**

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences by the speciality 14.03.05 – pharmacology. – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2012.

Anti-inflammatory and reparative properties of the new combined ointment "Glitacid" based on the dry extract of licorice were studied. It was determined that the ointment "Glitacid" belongs to practically non-toxic compounds. As a result of the research on the model of a skin thermal burn of rats it was stated that the most effective ointment is that with the 1.5% concentration of the dry extract of licorice.

Ointment "Glitacid" has an antimicrobial and local anesthetic action.

Ointment "Glitacid" finds out the expressed reparative properties, which were confirmed by the increase of postoperative scars of aseptic and infected linear wounds, acceleration of cleaning processes of the fullstratified wound of skin, increase of plane wound epithelisation speed. The separate mechanisms of ointment "Glitacid" reparative action were manifested through the stimulant influence on the nucleic acids synthesis.

The ointment "Glitacid" anti-inflammatory activity on the carragenin edema model approaches the 1% emulgel "Voltaren" activity.

In the chronic experiment it has been found that the ointment "Glitacid" doesn't cause structural and functional infringements of the peripheral blood system and has no influence on the reproductive function.

Ointment "Glitacid" is effective in the treatment of turpentine dermatitis. Pharmacological action of ointment "Glitacid" was due to the increased activity of antioxidant system enzymes and lipid peroxide products reduction.

**Key words:** dry extract of licorice, reparative properties, anti-inflammatory properties, wounds, experimental dermatitis.