

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ І ТОКСИКОЛОГІЧНОЇ ДІЇ КРЕМ-ГЕЛЮ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ВУГРОВОЇ ХВОРОБИ

**М.В.Нікітіна, Л.М.Малоштан, І.І.Баранова,
Т.В.Мартинюк**

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Нами була розроблена крем-гель для лікування вугрової хвороби, до складу якого за допомогою технологічних, структурно-механічних та фізико-хімічних досліджень входять наступні компоненти: олія вазелінова, комплекс емульгаторів, гелеутворювач [4,5]. У якості активної речовини, яка має виражену антимікробну та помірну протизапальну активність додавали триклозан [6,8,9]. Відомо, що найбільш ефективним засобами при лікуванні вугрової хвороби є ті, які мають кисле значення рН. Тому додатково для корегування значення рР додавали молочну кислоту, яка володіє зволожуючою дією. На підставі мікробіологічних досліджень було обрано консервант - сорбінова кислота [6].

Важливим критерієм оцінки дії лікарського засобу є біологічні дослідження, які включають до себе вивчення специфічної (фармакологічної) активності розробленого засобу, а також його безпеку для організму. Проведення біологічних досліджень допомагає визначити спектр фармакологічних дій препарату та виявити можливі негативні дії його застосування.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота виконана у відповідності із планом науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету та є фрагментом теми "Технологія одержання оригінальних та комбінованих фармацевтичних засобів у різних лікарських формах" (№ держреєстрації 0108U009174).

Мета роботи: вивчення біологічних властивостей, протизапальної дії, а також нешкідливості (місцево-подразнююча,

шкірно-резорбтивної дії та гостру токсичність) розробленого крем-гелю на лабораторних тваринах.

Матеріали та методи дослідження

Ці дослідження проводили у лабораторії морфологічних досліджень на базі кафедри біології, фізіології та анатомії людини НФаУ під керівництвом проф. Малоштан Л.М. Дослідження протизапальної дії експериментальних зразків проводили на моделі карагенінового набряку кінцівок у щурів за здатністю попереджати розвиток ексудативного набряку згідно рекомендацій ДФЦ МОЗ України [1,3], вивчення нешкідливості розробленого засобу проводили по загальноприйнятим методикам [2,7,3].

Отримані результати та їх обговорення

Протизапальну активність вивчали на моделі асептичного запалення у щурів, яке було спровоковане каррагенином. У розвитку каррагенинового набряку приймають участь різні агенти: кінінова система, біогенні аміни, простогландини. Модель дозволяє оцінити вплив речовини, яка вивчається на метаболізм визволення простогландинів, які на цій моделі являються ведучими факторами запалення. Досліди проводили на білих щурах. Набряк визвали введенням у задню лапку 0,1 мл 1% розчину каррагенину. З цією метою було використано λ-карагенін виробництва "Fluka" (Швейцарія).

Крем-гель, який досліджували попередньо наносили на шкіру тварини. У якості препарату порівняння досліджували мазь "Стрептонітрол-Дарниця" (Дарниця). Ступінь набряку визначали по збільшенню об'єму лапи, котрий вимірювали через годину за допомогою онкометра [1].

Протизапальну активність оцінювали у відсотках за ступенем зменшення набряку у тварин, які отримували дослідні об'єкти, в порівнянні з тваринами групи контрольної патології та розраховували за формулою:

$$A = \frac{\Delta M_k - \Delta M_d}{\Delta M_k} \times 100\%$$

де ΔM_k - маса набряку у групі контрольної патології,
 ΔM_d - маса набряку у дослідній групі.

Результати дослідів представлені у табл.1.

Таблиця 1

**Протизапальна активність крем-гелю на моделі
карагенинового набряку**

Об'єкт дослідження	Кількість тварин	Різниця у масі набряку лапки, мг	Активність у відношенні до контролю, %
Контроль	n=6	85,0±8,1	-
Мазь «Стрептонітрол-Дарниця»	n=6	62,0±5,6*	38,5
Розроблений крем-гель	n=6	52,3±4,5*	27,1

Примітка: у табл.1,3 * достовірно у відношенні контролю.

У наслідку експерименту було встановлено, що крем-гель проявляє помірну протизапальну активність і дещо поступається за ефектом мазі "Стрептонітрол-Дарниця".

Вивчення місцево-подразнюючої дії крем-гелю.

Крем-гель призначен для лікування подразнень шкірного покрову різноманітного генезиса. Таким чином, необхідно вивчення можливої місцево-подразнюючої дії препарату, який досліджується. Вивчення можливої дії крем-гелю на слизову оболонку проводили у співвідношенні з методичними вказівками "Оцінка дії шкідливих хімічних поєднань на шкірні покриви". Кон'юнктивальна проба є чутливим тестом та у ряді випадків дозволяє виявити реакцію тварин на можливі подразнюючі властивості препарату, який досліджується. Гіперемію кон'юнктиви та роговиці оцінювали за бальною шкалою, яка приведена у методичних вказівках [7]: 1. судинний крововилив; 2. дифузне глибоке почервоніння; 3. набряк слизової; 4. виділення з очей. Експеримент проводили на трьох кролях. Крем-гель наносили у кількості 50 мг/кг у кон'юнктивальний мішечок правого ока однократно на 1 хв. Ліве око є контрольним. Досліди проводили через 5, 15 та 60 хв. При цьому враховувалась ступінь гіперемії, набряк та кількість виділень.

Внесення крем-гелю у кон'юнктиву ока не призвело помітної реакції з боку слизової оболонки, що відповідає 0 баллів. З вищесказаного можемо зробити висновки про відсутність ірритативної дії крем-гелю.

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Вивчення гострої токсичності крем-гелю.

Гостру токсичність вивчали на білих щурах при зовнішньому застосуванні розробленого лікарського засобу. У експерименті були використані 3 групи тварин, яким одноразово на вистрижені зони шкіри була нанесена речовина, яка досліджувалася у дозі 5000: 1 група - крем-гель; 2 група - мазь "Стрептонітрол-Дарниця", 3 група-контроль.

Як показав експеримент, шкірний покрив тварин після одноразового нанесення препарату знаходився без змін. Всі тварини були рухливими, мали нормальний апетит. Змін шкірного покрову та загального стану не визначалося. Дані про гостру токсичність при однократному нанесенні на шкіру крем-гелю та мазі "Стрептонітрол-Дарниця" приведені у таблиці 2.

Таблиця 2

**Показники летальності щурів при вивченні гострої
токсичності розробленого крем-гелю (n=15)**

Група	Щури			Ефект
	Кількість тварин			
	У групі/доза	Загинули	Вижили	
1	5/5000	0	5	Шкірний покрив без змін
2	5/5000	0	5	-

Таким чином, згідно з проведення досліджень, згідно з класифікацією К. К. Сідорова крем-гель відноситься до нешкідливих речовин (ЛД₅₀>5000 мг/кг) та є практично нетоксичними.

Вивчення шкірно-резорбтивної дії крем-гелю.

Для оцінки шкірно-резорбтивної дії крем-гелю досліди були проведені на білих щурах 180-200 г. Експериментальний зразок крем-гелю наносили на шкірний покрив кожний день на протязі 30 днів. Резорбтивну дію крем-гелю оцінювали за зміною показників периферичної крові. Препаратом зрівняння була мазь "Стрептонітрол-Дарниця" фірми Дарниця.

У якості інтегрального показника загального стану тварин була маса тіла у динаміці (до експерименту та до кінця), дослідження морфологічного стану крові (загальна кількість лейкоцитів, лейкоцитарна формула, час звернення крові вивчення загальноприйнятими методами [7]. Увесь фактичний матеріал обробили методом варіаційної статистики та представлений у таблиці 3.

Актуальні проблеми фармації та фармакотерапії

Таблиця 3

Динамика показників крові та маси тіла щурів під дією крем-гелю та препарату зрівняння

Показники	Строки дослідження	Контроль	Крем-гель	Стрелтонітрол-Дарниця
Маса тіла, г	Наслідки	192,1±14,7	189,1±8,2	198,1±7,8
	30 днів	212,4±15,7	213,0±17,8	215,6±10,9
Час звернення, сек	Наслідки	125,0±18,2	131,0±22,0	148±28,3
	30 днів	-	141,0±29,5	230,0±10,5
Лейкоцити, 10 ⁶	Наслідки	6,0±0,7	6,8±0,55	7,2±0,33
	30 днів	-	7,0±0,42	7,0±1,55
Нейтрофіли, %	Наслідки	28,5±5,8	28,4±4,5	24,5±3,6
	30 днів	-	26,5±3,2	23,3±1,4
Еозинофіли, %	Наслідки	2,3±0,2	2,5±0,31	2,2±0,2
	30 днів	-	2,0±0,1	4,4±1,0
Моноцити, %	Наслідки	1,5±0,03	1,9±0,3	2,3±0,2
	30 днів	-	1,6±0,24	3,0±0,8
Лімфоцити, %	Наслідки	72,1±13,5	66,9±11,4	73,4±13,3
	30 днів	-	65,9±10,2	70,0±0,83

Проведені дослідження показали, що маса тіла і показники червоної крові піддослідних тварин на протязі усього експерименту достовірно не відрізнялися по відношенню до контролю, що свідчить про фізіологічно нормальний стан піддослідних тварин, видлімо, що при розгляденні лейкоцитарної формули не зафіксована достовірна зміна кількості нейтрофілів, еозинофілів та лімфоцитів у порівнянні з контрольними тваринами в обох групах у порівнянні з контролем. У групі тварин при нанесенні мазі "Стрелтонітрол-Дарниця" було зафіксовано достовірне збільшення кількості моноцитів у порівнянні з контрольною групою, але цей епізод носить місцевий характер та не відноситься до системної дії мазі.

Таким чином, згідно з результатами експерименту, можемо зробити висновки, що крем-гель не визиває дерматологічних змін шкіри та є нешкідливим при тривалому застосуванні.

Висновки

1. Біологічні дослідження специфічної активності розробленого крем-гелю для лікування вугрової хвороби легкої та середнього ступеню тяжкості на моделі карагенинового набряку у щурів встановили помірну протизапальну дію.

2. Доведено, що розроблений препарат не має місцево-подразнюючої та кожно-подразнюючої дії.

3. При вивченні гострої токсичності встановлено, що він відноситься до практично нетоксичних сполук.

Література

1. Дрогвоз С. М. Экспериментальное (доклиническое) изучение фармакологических веществ, рекомендуемых в качестве нестероидных противовоспалительных средств // Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рек. / С. М. Дрогвоз, И. А. Зупанец, Н. А. Мохорт и др.; под ред. А. В. Стефанова. - Киев, 2002. - С. 311-326.

2. Коваленко В. М. Доклінічне вивчення місцевоподразнюючої дії лікарських засобів : метод. рек. / В. М. Коваленко, А. Г. Ципкун. - Киев, 2002. - 54 с.

3. Лапач С. М. Статистичні методи в медико-біологічних дослідженнях із застосуванням Excel / С. М. Лапач, А. В. Чубенко, П. М. Бабіч. - Київ : Моріон, 2001. - 408 с.

4. Никитина М.В. Особенности разработки основы крема-геля для лечения угревой болезни / М.В. Никитина, И.И. Баранова // Мат. VIII съезда фарм. работников Республики Беларусь (Витебск, 8-9 апр. 2010 г.). - Витебск : Витебский государственный медицинский университет, 2010. - С. 108-111.

5. Нікітіна М.В. Розробка емульсій типу о/в з молочною кислотою / М.В. Нікітіна, І.І. Баранова, Т.В. Мартинюк // 36. наук. праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика. - 2009. - Вип. 19, Кн. 3. - С. 814-815.

6. Нікітіна М.В. Дослідження антибактеріальної активності крем-гелю для лікування вугрової хвороби / М.В. Нікітіна, І.І. Баранова, Т.В. Мартинюк // Сучасні досягнення фармацевтичної технології : матеріали II наук.-практ. конф. з міжнар. участю (Харків, 17-18 листоп. 2011 р.). - Харків : Вид-во НФаУ, 2011. - С. 133.

7. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / Г. В. Пастушенко, Л. Б. Марушный, А. А. Жуков, Ю. А. Пилипенко // Гигиена и санитария. - 1995. - № 6. - С. 46 - 48.

8. Barkvoll P. Triclosan reduces the clinical symptoms of the allergic patch test reaction (APR) elicited 1% nickel sulphate in sensitized patients / P. Barkvoll, G. Rolla // J. Clin Periodontol. - 1995. - Vol. 22, № 6. - P. 485-487.

9. Modeer T. *Triclosan reduces prostaglandin biosynthesis in human gingival fibroblasts challenged with interleukin-1 in vitro* / T. Modeer, A. Bengtsson, G. Rolla // *J. Clin. Periodontol.* - 1996. - Vol. 23, №10. - P. 927-933.

10. Nordman S. *Wirkunder von Venosen and der Ratte* / S. Nordman, J. Dumont // *J. Swiss Med.* - 1984. - Vol. 6, №40. - P. 63-66.

Резюме

Нікітіна М.В., Малоштан Л.М., Баранова І.І., Мартинюк Т.В. Вивчення біологічної і токсикологічної дії крем-гелю для лікування вугрової хвороби.

Проведені фармакологічні дослідження крем-гелю для лікування вугрової хвороби виявили специфічну місцеву дію (протизапальну) і біологічну нешкідливість, що підтверджено результатами вивчення місцево-подразнюючої та кожно-подразнюючої дії на лабораторних тваринах.

Ключові слова: вугрова хвороба, крем-гель, протизапальна активність, нешкідливість.

Резюме

Никитина М.В., Малоштан Л.Н., Баранова И.И., Мартынюк Т.В. Исследование биологического и токсикологического действия крем-геля для лечения угревой болезни.

Проведенные фармакологические исследования крем-геля для лечения угревой болезни выявили специфическое местное действие (противовоспалительное) и биологическую безопасность, что подтверждено результатами изучения местно-раздражающего и кожно-раздражающего действия на лабораторных животных.

Ключевые слова: угревая болезнь, крем-гель, противовоспалительная активность, безопасность.

Summary

Nikitina M.V., Maloshtan L.N., Baranova I.I., Martyniuk T.V. Research of biological and toxicological action of cream-gel for treatment of acne.

The conducted pharmacological researches of cream-gel for treatment of acne illness exposed a specific local action (anti-inflammatory) and biological safety, that is confirmed the results of study of local-irritating and dermic-irritating action on laboratory of animals.

Key words: acne, cream-gel, anti-inflammatory activity, safety.

Рецензент: д.мед.н., проф. В.Д. Лук'янчук

УДК 615.451.16.014.24:581.43:581.45:582.998.2

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОТРИМАННЯ ГУСТИХ ЕКСТРАКТІВ КОРЕНЯ ТА ЛИСТЯ ЛОПУХА ВЕЛИКОГО

Т. В.Опрошанська, О. П.Хворост

Національний фармацевтичний університет (Харків)

Вступ

Однією з умов виробництва препаратів на основі рослинної сировини є максимальне вилучення БАР з клітин при мінімальному вилученні баластних речовин [2, 4, 6]. Для розробки технології отримання густих екстрактів з нових видів лікарської рослинної сировини необхідно було вивчити ряд показників, які впливають на технологічний процес: оптимальний екстрагент, співвідношення сировина-екстрагент [1, 5].

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження проведено у відповідності з планом науково-дослідницьких робіт Національного фармацевтичного університету "Фармакогностичне вивчення біологічно-активних речовин, створення лікарських засобів рослинного походження" (№ держреєстрації 0103U000476).

Мета роботи - розробити технологію отримання густих екстрактів кореня та листя лопуха великого.

Матеріали та методи дослідження

Для дослідження використовували корінь та листя лопуха великого, які заготовляли в 2006-2008 роках у Вінницькій та Харківській областях: корінь 1-го року життя заготовляли наприкінці вегетаційного періоду, прикореневе листя - після повного розгортання листкової пластинки.

При розробці технології отримання густих екстрактів кореня та листя лопуха великого експериментальним шляхом було встановлено залежність виходу екстрактивних речовин та суми окиснюваних фенолів від екстрагенту та співвідношення сировина-екстрагент. В якості екстрагенту використовували воду очищену та водно-спиртові суміші з різною концентрацією спирту