

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ КОМБІНОВАНИХ МАЗЕЙ ПРИРОДНОГО ПОХОДЖЕННЯ

О.В. Цулун, Л.В. Деримедвідь, Ю.В. Зеленін
Національний фармацевтичний університет (Харків)
Харківська медична академія післядипломної освіти

Вступ

Шкіра – один з найважливіших органів, що приймає участь у підтримці гомеостазу людини у його життєвому середовищі. Цей орган є унікальним поліфункціональним мембранним утворенням, і за допомогою сенсорних та захисних механізмів здійснює контакт людини із зовнішнім середовищем, відображає якість функціонування внутрішніх органів, ендокринної та нервової систем. Шкіра також виконує ряд таких важливих функцій, як бар'єрна, терморегуляторна, секреторна та рецепторна. Порушення хоча б однієї з цих функцій призводить до виникнення різних захворювань шкіри, зокрема дерматозів та дерматитів [1].

За даними статистики, в Україні більше 50% усіх випадків захворювання шкіри припадає на хронічні дерматити (екзема, нейродерміт, атопічний дерматит). Збільшилась і кількість запальних уражень шкіри, у першу чергу серед осіб працездатного віку, що підкреслює важливе медико-соціальне значення необхідності профілактики та лікування цієї групи захворювань [1].

Для місцевого лікування дерматологічних захворювань досить широко використовують м'які лікарські форми, і зокрема, мазі. Ця лікарська форма дозволяє вводити до складу лікарського засобу різні за природою та властивостями гідрофільні та гідрофобні біологічно-активні речовини, а за рахунок мазевих основ регулювати вивільнення БАР, що в кінцевому результаті може поліпшити ефективність і безпечність лікарських препаратів.

Сьогодні на фармацевтичному ринку представлено широкий асортимент ліків для місцевого лікування дерматитів, ран, виразок та ін., причому 56% цих ліків є імпорфтними й лише 43% виробляються вітчизняними виробниками [1]. І все ж таки, незважаючи на значну кількість препаратів, які застосовуються при лікуванні

цих захворювань, їх ефективність та фармацевтичні властивості не в повній мірі задовольняють сучасні вимоги. В значній мірі це обумовлено тим, що переважна кількість таких мазей має в своєму складі одну активну речовину, яка не може позитивно впливати на всі або більшість ланок патологічного процесу.

В останній час значну увагу приділяють препаратам, які містять активні речовини рослинного походження, що виступають носіями комплексу біологічно активних сполук; мають низьку токсичність, що дозволяє тривало їх використовувати без суттєвих негативних змін, та чинять протизапальну та антиалергічну дію.

Метою дослідження було вивчення гострої токсичності нових мазей природного походження «СКД» та «Дерматроп», які було розроблено на базі НФаУ. Перша мазь з умовною назвою «СКД», яка була створена на кафедрі ЗТЛ під керівництвом проф. Рубан О.А., містить у якості активних компонентів коензим Q10, дигідрокверцетин (ДГК) та екстракт солодки голої (*Glycyrrhiza glabra* L.). Розробку складу та технології виготовлення комплексної мазі «Дерматроп», яка містить календулу (*Calendula officinalis*) і ромашку (*Matricaria chamomilla*), проводили на базі кафедри технології ліків та клінічної фармакології з фармацевтичною опікою ІПКСФ НФаУ під керівництвом проф. Пімінова О.Ф.

Матеріали та методи дослідження.

Експерименти проводили на тваринах, вихованих у віварії ЦНДЛ НФаУ, що знаходилися відповідно вимогам санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні, та отримували їжу і воду *ad libitum* [4, 5, 8]. Усі експерименти проводили відповідно до методик і вимог ДФЦ МОЗ України та комісії з біоетики [4]. Тварин утримували у стандартних санітарних умовах. Під час експерименту тварини знаходилися у кімнаті для проведення випробувань при $t^{\circ}=20-25^{\circ}\text{C}$, вологості не більше 55%, природному світловому режимі “день-ніч”, у стандартних клітках, на харчовому раціоні з гранульованих кормів [2]. З тваринами поводитись згідно з правилами «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 р). Статистичну обробку отриманих результатів здійснено методами варіаційної статистики за допомогою стандартних пакетів програм Excel на персональному комп'ютері Pentium III [4, 7, 8].

Однією з токсикологічних характеристик фармакологічного засобу є показник LD_{50} , який визначається при вивченні гострої ток-

сичності. При вивченні гострої токсичності препаратів їх застосовували у дозах, рекомендованих ДФЦ МОЗ України [4]. Перед введенням дослідних препаратів щури голодували протягом 12 годин. Доступ тварин до води був вільним, до їжі їх допускали лише через 6 годин після нанесення мазі (першого введення). Для виявлення можливих токсичних ефектів мазей проводили порівняння з показниками групи інтактних тварин, які перебували в аналогічних умовах спостереження (інтактний контроль).

Гостру токсичність мазі вивчали на білих нелінійних щурах масою 180–200 г. Всі експериментальні групи склалися з 12 тварин – по 6 кожної статі. Спостереження за тваринами проводили протягом 14 діб. Для вивчення гострої токсичності при нашкірному нанесенні мазі наносили на підготовлену (вистрижену за 24 години до нанесення препаратів) ділянку шкіри спини і боків щурів розміром 8x6 см, що складає понад 15% від загальної площі шкірного покриву тварин. Досліджувана доза мазей становила 22590 мг/кг (~85 мг/см²). Зважаючи на неможливість одноразового застосування мазей у вказаній дозі нанесення проводили тричі з інтервалом у 1 годину рівними дозами – 28 мг/см² на одне нанесення (доза розрахована виходячи з середньої маси тіла тварини [4, 9] та площі нанесення препарату). Також проводили дослідження гострої токсичності цих мазей при пероральному введенні (із розрахунку 5 г/кг) та ректальному введенні [4, 10].

При ректальному введенні експериментальні тварини отримували мазі в дозі 3000 мг/кг одноразово. Введення проводили вранці натщесерце після рефлекторного випорожнення кишечника. Тест-зразок вводили у пряму кишку дуже повільно (60-90 с) за допомогою спеціального аплікатора. Після цього задній отвір щурів затуляли на 30 хв. за допомогою спеціального зацепу.

Статистичну обробку отриманих результатів здійснено методами варіаційної статистики за допомогою стандартних пакетів програм Excel на персональному комп'ютері Pentium III. При порівнянні результатів між двома групами використовували модифікований параметричний t- критерій Ст'юдента для виборок з нерівними дисперсіями [3, 6, 7].

Отримані результати та їх обговорення

Результати дослідження гострої токсичності мазей «СКД» та «Дерматроп» при трьох шляхах введення представлені в таблиці 1.

Після нашкірного, ректального та перорального застосування мазей «СКД» та «Дерматроп» в максимальній дозі (22590 мг/кг,

3000 мг/кг та 5000 мг/кг, відповідно) ознак інтоксикації у тварин не спостерігали: тварини були охайними, активними, мали звичайний апетит, реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. Також не спостерігали і проявів подразнюючої дії.

Таблиця 1

Вживаність щурів при введенні «СКД» та «Дерматроп» у високих дозах

Шлях введення	Препарат	Стать	Доза, мг/кг	Загибель тварин/ тварини, що вижили
Нашкірний	СКД	самці	22590	0/6
		самиці	22590	0/6
	Дерматроп	самці	22590	0/6
		самиці	22590	0/6
Ректальний	СКД	самці	3000	0/6
		самиці	3000	0/6
	Дерматроп	самці	3000	0/6
		самиці	3000	0/6
Пероральний	СКД	самці	5000	0/6
		самиці	5000	0/6
	Дерматроп	самці	5000	0/6
		самиці	5000	0/6

Згідно з методикою вивчення гострої токсичності для оцінки токсичного впливу мазей на організм тварин проводили дослідження динаміки маси тіла тварин (рис.).

Встановлено, що при нашкірному, пероральному та ректальному застосуванні мазей «СКД» та «Дерматроп» і у групі інтактного контролю маса тіла тварин змінювалась рівномірно. Загалом результати свідчать про відсутність у мазей «СКД» та «Дерматроп» токсичних властивостей, які б могли різко вплинути на загально-трофічні процеси організму ссавців.

Відсутність летальних токсичних ефектів мазей «СКД» та «Дерматроп» при їх застосуванні у зазначених дозах при нашкірному застосуванні, при пероральному та ректальному введенні дозволяє їх віднести до VI класу токсичності («відносно нешкідливі» препарати) за класифікацією К.К. Сидорова, що рекомендована ДФЦ МОЗ України [4].

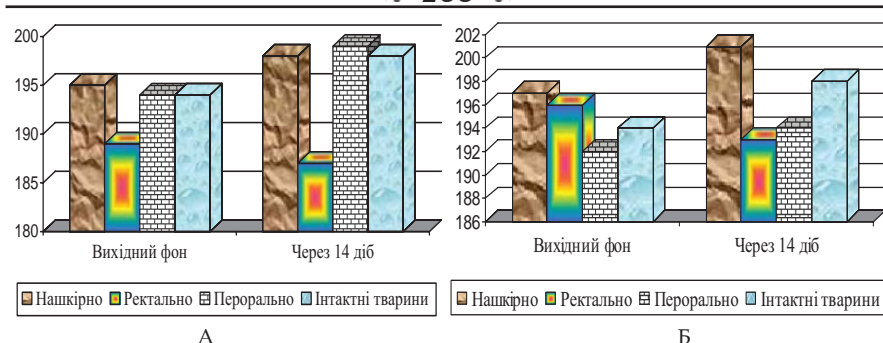


Рис. Динаміки змін маси тіла тварин (г) на фоні застосування мазей «СКД» (А) та «Дерматроп» (Б) при різних шляхах введення.

Наступним етапом стало дослідження місцевоподразнюючої дії мазей «СКД» та «Дерматроп». Місцевоподразнюючу дію мазей на шкірні покриви вивчали після нашкірних аплікацій шурам протягом одного місяця. Мазі у кількості 0,5 г/тварину наносили на вистрижену бокову ділянку шкіри щурів розміром 2 × 2 см, що складає 10 % від площі шкірних покривів тварин. Контрольним тваринам на ділянку, оброблену аналогічним чином, наносили мазьову основу. Упродовж дослідження здійснювали візуальне спостереження за станом шкіри та поведінкою тварин. Результати досліджень з визначення потенційної дерматотоксичності мазей «СКД» та «Дерматроп» наведено в таблиці 2.

Таблиця 2

Вплив мазей «СКД» та «Дерматроп» на товщину шкірної складки щурів (M ± m, n=6)

Показник	Термін дослідження	Інтактні тварини	СКД	Дерматроп
Самці				
Товщина шкірної складки, мм	Вихідний фон	1,58 ± 0,09	1,62 ± 0,1	1,64 ± 0,07
	1 міс.	1,78 ± 0,08	1,88 ± 0,09	1,84 ± 0,1
Самиці				
Товщина шкірної складки, мм	Вихідний фон	1,57 ± 0,1	1,61 ± 0,09	1,63 ± 0,08
	1 міс.	1,73 ± 0,07	1,8 ± 0,1	1,82 ± 0,09

Примітка: n – кількість тварин у групі.

Як видно з таблиці 2, на тлі тривалого застосування препаратів товщина шкірної складки залишалася в межах змін контроль-

ної групи тварин. Результати дослідження показали, що впродовж усього періоду спостереження дослідних груп були відсутні прояви подразнення, гіперемії, злущування, висипання, депігментації. Шерстний покрив, що відновлювався, мав густе підшерстя, рівномірно розповсюджувався по всій ділянці. Поведінка тварин протягом усього дослідження не відрізнялася від звичайної.

Дані, що характеризують стан периферичної крові щурів, свідчать, що застосування досліджуваних препаратів протягом місяця не впливало на досліджувані гематологічні показники крові щурів і не викликало змін у лейкоцитарній формулі (табл. 3).

Таблиця 3

Показники гемограми щурів при 1-місячному застосуванні мазей «СКД» та «Дерматроп» (M ± m, n=6)

Показник	Інтактний контроль	СКД	Дерматроп
Вихідний фон			
Гемоглобін, г/л	130,2 ± 0,31	130,0 ± 1,28	130,0 ± 0,38
Еритроцити, ×10 ¹² /л	6,06 ± 0,03	6,02 ± 0,07	6,03 ± 0,04
Лейкоцити, ×10 ⁹ /л	16,41 ± 0,78	14,59 ± 0,89	15,31 ± 0,82
Тромбоцити, ×10 ⁹ /л	477,9 ± 16,43	467,0 ± 16,33	465,6 ± 18,05
Лейкограма, %			
Нейтрофіли пал.	1,0 ± 0,53	0,7 ± 0,47	0,6 ± 0,20
Нейтрофіли сегм.	14,1 ± 1,64	16,6 ± 2,40	14,0 ± 1,76
Еозинофіли	1,3 ± 0,18	1,14 ± 0,14	1,6 ± 0,43
Моноцити	1,7 ± 0,29	1,00 ± 0,38	1,3 ± 0,52
Лімфоцити	81,9 ± 2,05	80,6 ± 2,51	82,6 ± 1,69
1 місяць			
Гемоглобін, г/л	129,9 ± 0,24	129,7 ± 0,79	129,4 ± 0,59
Еритроцити, ×10 ¹² /л	5,99 ± 0,03	5,91 ± 0,04	5,82 ± 0,07 ¹
Лейкоцити, ×10 ⁹ /л	13,47 ± 0,97 ¹	14,73 ± 1,10	12,43 ± 1,05
Тромбоцити, ×10 ⁹ /л	478,5 ± 11,54	475,2 ± 15,60	451,6 ± 7,76
Лейкограма, %			
Нейтрофіли пал.	1,1 ± 0,31	1,1 ± 0,31	0,7 ± 0,29
Нейтрофіли сегм.	15,9 ± 1,62	15,6 ± 1,95	15,7 ± 1,57
Еозинофіли	2,1 ± 0,51	1,7 ± 0,29	1,6 ± 0,20
Моноцити	1,4 ± 0,57	1,1 ± 0,40	1,0 ± 0,22
Лімфоцити	79,6 ± 1,39	80,6 ± 2,17	81,0 ± 1,83

Примітки: ¹ – p ≤ 0,05 відносно вихідного фону; n – кількість тварин у групі.

Незначні зміни концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів і тромбоцитів, які спостерігались протягом експеримента (табл. 3) знаходилися в межах фізіологічної норми для даного виду тварин.

Таким чином отримані результати свідчать про доцільність подальших поглиблених досліджень мазі «СКД» та «Дерматроп» у зв'язку з їх нешкідливістю та відсутністю місцевоподразнюючої та гематотоксичної дії.

Висновки

1. При нашкірному, пероральному та ректальному застосуванні мазей «СКД» та «Дерматроп» у максимальних дозах були відсутні будь-які негативні прояви їх токсичної та подразнюючої дії.

2. Мазь СКД та мазь «Дерматроп» за класифікацією К.К. Сидорова відносяться до VI класу токсичності – «відносно нешкідливі» препарати.

3. Отримані результати свідчать про доцільність подальших поглиблених досліджень мазей СКД та «Дерматроп» у зв'язку з їх нешкідливістю.

Література

1. Бутко Я.О. Вивчення фармакологічної дії нової комбінованої мазі з амікацином для лікування ранового процесу: автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Я.О. Бутко; Нац. фармацевт. ун-т. - Х., 2009. - 20 с.
2. Европейское руководство по лечению дерматологических заболеваний / Под ред. А.Д. Кацамба, Т.М.Лотти; пер. с англ. - М.: МЕДпресс-информ, 2008. - 736 с.
3. Западнюк М.П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / М.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария. - Киев: Высшая школа, 1983. - 382 с.
4. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В.М. Коваленко, О.В. Стефанов, Ю.М. Максимов, І.М. Трахтенберг // Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. - Київ, 2001. - С. 74-97.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев: Морион, 2000. - 320 с.
6. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования / [Е.Н. Буркацкая, В.Ф. Витер и др.]. - Киев, 1980. - С. 1-11.
7. Оптимізація доклінічного вивчення ефективності та нешкідливості лікарських засобів у формі мазей та гелів: інформ. лист № 101-2008 / Л. В.

Яковлева, І. Г. Бутенко, К. П. Бездітко. - К.: Укрмедпатентінформ, 2008. - 5 с.

8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных (применение пакета прикладных программ STATISTICA) / О.Ю. Реброва. - М.: МедиаСфера, 2006. - 312 с.

9. Трахтенберг И.М. Проблема нормы в токсикологии / И.М. Трахтенберг, Р.В. Сова, В.О. Шефтель. - М.: Медицина, 1991. - 204 с.

10. Цулун О.В. Ефективність нової комбінованої мазі з дигідрокверцетином, коензимом Q10 та екстрактом солодки за умов ультрафіолетової еритеми у щурів / О.В. Цулун, Л.В. Деримедвідь, Д.В. Гаман. // Проблеми екологічної та медичної генетики та імунології: зб. наук. праць. - Київ; Луганськ, 2013. - Вип. 5 (119). - С. 262-272.

11. Patrick-Iwuanyanwu K.C. Evaluation of acute and sub-chronic oral toxicity study of Baker Cleansers bitters – a polyherbal drug on experimental rats / K.C. Patrick-Iwuanyanwu, U. Amadi, I. A. Charles, E.O. Ayalogu // EXCLI Journal. - 2012. - Vol. 11. - P. 632-640.

12. Prajakta P. Pednekar. In vivo dermal absorption and sub-acute toxicity studies of essential oil from Blumea Eriantha DC / Prajakta P. Pednekar, Rohit V. Dhumal, Ajit G. Datar // International J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. - 2013. - Vol. 5. - P. 351-358.

13. OECD draft guideline for testing of chemicals: Acute Dermal Toxicity – Fixed Dose Procedure. - 14 May 2004 (1st Version) – 13 p.

14. Zahra A.A. Acute toxicity study and wound healing potential of Gynura procumbens leaf extract in rats / A.A. Zahra, F.A. Kadir, A.A. Mahmood [et al.] // J. of Medicinal Plants Research. - 2011. - Vol. 5(12). - P. 2551-2558

Резюме

Цулун О.В., Деримедвідь Л.В., Зеленін Ю.В. Дослідження гострої токсичності комбінованих мазей природного походження.

Проведено дослідження гострої токсичності на щурах нових мазей природного походження: «СКД» (містить екстракт солодки, коензим Q10, дигідрокверцетин) та «Дерматроп» (містить календулу та ромашку), які було розроблено в НФаУ. Встановлено, що при нашкірному, пероральному та ректальному застосуванні мазей «СКД» та «Дерматроп» у максимальних дозах були відсутні будь-які негативні прояви їх токсичної та подразнюючої дії. За класифікацією К.К. Сидорова мазь СКД та мазь «Дерматроп» відносяться до VI класу токсичності – «відносно нешкідливі» препарати. Отримані результати свідчать про доцільність подальших поглиблених досліджень мазей СКД та «Дерматроп» у зв'язку з їх нешкідливістю та відсутністю місцевоподразнюючої та гематотоксичної дії.

Ключові слова: гостра токсичність, мазь, дерматотоксичність, щури.

Резюме

Цулун А.В., Деримедведь Л.В., Зеленин Ю.В. *Исследование острой токсичности комбинированных мазей природного происхождения.*

Проведено исследование острой токсичности на крысах новых мазей природного происхождения: «СКД» (содержит экстракт солодки, коэнзим Q10, дигидрокверцетин) и «Дерматроп» (содержит календулу и ромашку), которые были разработаны в НФаУ. Установлено, что при наружном, пероральном и ректальном применении в максимальных дозах мазей «СКД» и «Дерматроп» отсутствовали какие-либо негативные проявления их токсического и раздражающего действия. По классификации К.К. Сидорова мазь «СКД» и мазь «Дерматроп» относятся к VI классу токсичности – «относительно безвредные» препараты. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейших углубленных исследований мазей «СКД» и «Дерматроп» в связи с их безвредностью и отсутствием местнораздражающего и гематотоксического действия.

Ключевые слова: острая токсичность, мазь, дерматотоксичность, крысы.

Summary

Tsulun O.V., Derymedvid L.V., Zelenin Y.V. *Acute toxicity study of natural origin combined.*

The aim of the study was to investigate the acute toxicity of new natural origin ointments "LCD" (contains licorice extract, coenzyme Q10, Dihydroquercetin) and "Dermatrop" (contains calendula and chamomile), that were created at the NUPh. After cutaneous, oral and rectal administration of ointments "LCD" and "Dermatrop" at maximum dose there were no signs of their toxic or irritative effect. Ointments "LCD" and "Dermatrop" according to the classification of Sidorov K.K. belong to toxicity class VI – "relatively safe" drugs. Received data suggest expediency of further advanced study of ointments LCD and "Dermatrop" due to their safety. Therefore, received data suggest expediency of further advanced study of ointments "LCD" and "Dermatrop" due to their safety and absence of local irritative and hematotoxic effects.

Key words: acute toxicity, ointment, dermatotoxicity, rats.

Рецензент: д.мед.н., проф. С.Ю. Штриголь

ПРИМЕНЕНИЕ ФЛАВОНОИДА - КВЕРЦЕТИНА В ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИЕЙ

Н.А. Ярошева

ГУ «Крымский государственный медицинский университет
имени С.И. Георгиевского» (Симферополь)

Введение

Диабетическая ретинопатия (ДР), как осложнение сахарного диабета (СД), является одной из наиболее частых причин значительной потери зрения и занимает второе место среди причин слепоты в Украине [2]. Современное патогенетическое лечение больных ДР предусматривает, в первую очередь лазер-коагуляцию сетчатки (ЛКС), но в то же время доказана и высокая эффективность консервативной терапии, которая может быть использована как до, так и после ЛКС, особенно для стабилизации процессов пролиферации и предотвращения прогрессирования заболевания. Консервативное лечение ДР включает комбинацию ангио- и ретинопротекторов, антиоксидантов, гемостатиков, витаминов и тканевых препаратов [1, 3, 9, 10, 11]. В результате исследований было установлено, что существенным механизмом прогрессирования ДР является гипергликемия - и инсулинзависимый лейкоцито (лимфоцито) - опосредованный механизм формирования цитокинового дисбаланса. У больных с ДР выявленное нарастание синтеза мононуклеарными лейкоцитами провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , по мере нарастания степени тяжести ангиопатии, может быть расценено как важная патогенетическая «составляющая» прогрессирования заболевания [6,10].

Флавоноиды (кверцетин), относятся к нетоксичным полифенольным соединениям – способным обрывать цепные свободно-радикальные реакции, изменять активность различных ферментов; прямо и опосредованно (через антиоксидантный эффект) модулировать цитокиновый потенциал и др. [5, 8, 10, 12, 13]. В небольшом ряду водорастворимых форм кверцетина особое место занимает липофлавон, включенный в уникальную систему доставки – липосому [15]. Указанная лекарственная форма позволяет добиться активной пе-