

УДК 615.281.9:616.5-001/-002:615.262.1

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ КОМБІНОВАНОГО ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА ТА ГЛЮКОЗАМІНОМ

Л.О.Булига, Я.О.Бутко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: лікування дерматитів; запалення; рани; наночастки срібла; гель; глюкозаміну гідрохлорид

THE EXPERIMENTAL STUDY OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF A COMBINED GEL WITH SILVER NANOPARTICLES AND GLUCOSAMINE

L.O.Bulyga, Ya.O.Butko

National University of Pharmacy

Key words: treatment of dermatitis; inflammation; wounds; silver nanoparticles; gel; glucosamine hydrochloride

The search for new drugs for the local treatment of dermatitis that would combine the anti-inflammatory, reparative, antimicrobial effect and minimum side effects is an extremely important problem for the modern pharmaceutical science. This paper is devoted to the study of the anti-inflammatory properties of a new topical agent in the gel form, which comprises silver nanoparticles and glucosamine, on the model of subchronic inflammation of the skin in rats induced by turpentine. It has been found that the gel studied reduces visual signs of inflammation by 66.7%. Reducing the thickness of the skin fold of damaged tissues was by 15.5% in the group, in which the gel was applied ($p < 0.005$), by 13.0% – in the group with the reference drug ($p < 0.005$) and by 4.9% – in the control group compared to the beginning of treatment. According to the dynamics of biochemical parameters in the treatment of animals with dermatitis using the gel studied one can suggest the presence of a pronounced anti-inflammatory, membrane-stabilizing and antioxidant effects, and it does not deny the existing literature data on the mechanism of the anti-inflammatory action of nanoparticles of silver and glucosamine hydrochloride. By its anti-inflammatory activity the drug under research exceeds the reference drug – “Dermazin” cream, it makes promising its use for the treatment of inflammatory skin diseases.

Високий рівень захворюваності на дерматити серед населення України, тенденція до збільшення чисельності тяжких клінічних форм, а також скорочення терміну ремісій та низький показник одужання роблять проблему розповсюджених дерматитів однією з найактуальніших у сучасній дерматології [1, 11]. Домінуючою ланкою патогенезу дерматитів є запалення – типовий патологічний процес, що виникає внаслідок дії різноманітних патогенних чинників екзогенної та ендогенної природи та характеризується комплексом судинних та тканинних змін [1, 9, 10, 11]. Одним із найбільш розповсюджених ускладнень дерматитів є приєднання грибкової та бактеріальної інфекції внаслідок порушення цілісності шкіри та зниження місцевого імунітету.

Для лікування тяжких хронічних дерматитів, особливо в побутових умовах, використовують місцеві лікарські засоби у формі мазей, гелів, кремів, лосьйонів, що переважно містять глюкокортикостероїди (ГКС) та їх комбінації з антимікробними засобами. Незважаючи на високу протизапальну дію, ГКС мають ряд суттєвих недоліків: порушення трофіки шкіри, атрофія, затримка регенерації, зменшення резистентності до зовнішнього інфікування [7, 8, 11]. Таким чином, пошук нових топічних лікарських засобів для лікування дерматитів, які б поєднували в собі протизапальну, репаративну, антимікробну дію та мінімум побічних ефектів, є надзвичайно актуальним для сучасної фармацевтичної науки.

Одним із досягнень сучасної медицини є використання

широкого спектра фармакологічної дії похідних D-(+)-глюкозаміну: антиоксидантної, мембраностабілізуючої (у вигляді гліколіпідів і глікопротеїнів є структурним компонентом цитоплазматичних мембран), антиагрегантної, протизапальної, імуномодуючої. Крім того, є дані, що глюкозамін чинить власну антимікробну дію та потенціює ефект деяких інших антимікробних препаратів [4]. На теперішній час популярним також є використання наночасток важких металів для створення нових методів та засобів лікування запальних захворювань шкіри. Так, перевагами наночасток срібла є багаторівневий антибактеріальний ефект, повільний розвиток резистентності, низький рівень токсичності, протизапальні та репаративні властивості [9].

Метою роботи було вивчення протизапальних властивостей нового раназагоювального

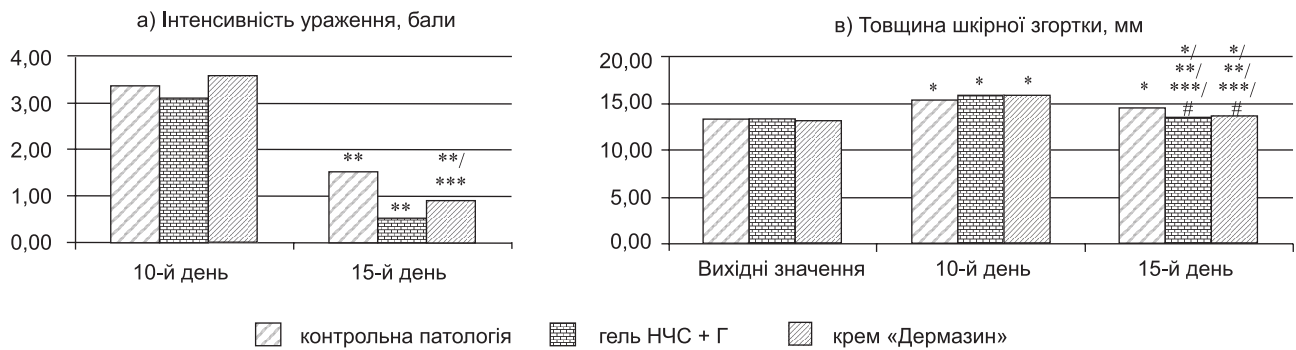


Рис. 1. Дослідження протизапальної дії гелю з наночастками срібла та глюкозаміном на моделі субхронічного запалення шкіри у щурів, викликаного скипидаром (n = 35)
Примітки: значення вірогідні відносно: вихідних даних – * (p < 0,05); показників на 10 день експерименту – ** (p < 0,05); показників на 15 день експерименту – *** (p < 0,005), # (p < 0,005), #/ (n = 7); гель НЧС + Г – гель з глюкозаміном та наночастками срібла

засобу у формі гелю з наночастками срібла та глюкозаміном.

Матеріали та методи

Гель, що містить 0,1% наночасток срібла, стабілізованих ПВП, та 1% глюкозаміну гідрохлориду (гель НЧС + Г), було розроблено на кафедрі заводської технології ліків НФаУ. Синергізм механізму дії глюкозаміну гідрохлориду та наночасток срібла підвищує протизапальну активність препарату. До його складу входять наночастки срібла, стабілізовані полівінілпіролідом ПВП (наноккомпозит ПВП/Ag – 0,164%, що відповідає 0,1% Ag, глюкозамін (1,0%) та ПВП (до 2,0%)). Розмір наноккомпозиту ПВП/Ag становить 2 мкм. Як препарат порівняння використовували крем «Дермазин» (виробник Салютас Фарма ГмбХ, Німеччина, серія SP0680), який містить 1% сульфадіазину срібла (відповідає 0,301% чистого іонізованого срібла (Ag⁺)) та показаний для лікування гнійних ран, опіків, запальних інфекційних захворювань шкіри, тобто за складом та показаннями добре зіставляється із досліджуваним гелем [2, 3].

Модель неалергічного контактного дерматиту, який викликали скипидаром, відтворювали на 35 білих лабораторних щурах масою 200-240 г за стандартною методикою [6]. Тварини були розподілені на 5 груп (n = 7): 1 – інтактний контроль

(ІК), 2 – контрольна патологія на 10 день експерименту (перед початком лікування – КП₁₀), 3 – контрольна патологія на 15 день експерименту (КП₁₅), 4 – тварини, яких лікували експериментальним гелем, 5 – тварини, яких лікували препаратом порівняння. Для оцінки виразності набряку шкіри у тварин досліджували товщину шкірної згортки (мм), яку вимірювали за допомогою штангенциркуля. Протизапальну активність (ПЗА, %) препаратів визначали за формулою:

$$ПЗА = 100\% - I_d \times 100 / I_{КП15}$$

де: I_d – інтенсивність ураження шкіри в дослідній групі, бали; I_{КП15} – інтенсивність ураження шкіри в групі контрольної патології на 15 день експерименту, бали.

Для оцінки зміни системних проявів запалення в організмі протягом лікування крові тварин визначали лабораторні (швидкість зсідання еритроцитів (ШЗЕ), рівень лейкоцитів та гемоглобіну) та біохімічні (загальний білок, г/л, інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) (ТБК-Р, мкмол/л), стан антиоксидантного захисту (середньомолекулярні SH-групи, мкмоль/л), рівень циркулюючих імунних комплексів (ЦІК, ум. од.)). Відбір крові для аналізу здійснювали на 10-й день нанесення скипидару (перед початком лікування) та після лі-

кування (15 день експерименту). Всі втручання та евтаназію тварин здійснювали під наркозом. Дотримувалися «Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» (Україна, 2012 р.), гармонізованих із «Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985 р.). Дотримання зазначених вимог засвідчено висновком комісії НФаУ з біоетики (протокол №3 від 20.03.2013 р.).

Результати обробляли за допомогою програми Statistica 6.0 за критерієм t Стьюдента у випадку нормального розподілу, за критерієм U Манна-Уїтні – за його відсутності. Внутрішньогрупові відмінності аналізували за парним критерієм Вілкоксона [5].

Результати та їх обговорення

Моделювання субхронічного запалення шкіри, викликаного скипидаром, призвело до появи у тварин характерних ознак запального процесу: почервоніння шкіри, набряк (потовщення шкірної згортки), повне зникнення похідних шкіри (шерсті) в зоні ураження. У деяких тварин спостерігали злущення епідермісу, крововиливи, появу виразок з кірками (рис. 1а,в).

Інтенсивність ураження шкіри перед початком лікування

ся у груп тварин, яким наносили обидва препарати, приблизно в 1,4 рази ($p < 0,005$) та перевищував відповідні значення в групі КР₁₅ в 1,2 рази ($p < 0,005$).

Після лікування тварин також було відзначено нормалізацію співвідношення процесів ПОЛ, маркером якого є вміст ТБК-Р, та системи антиоксидантного захисту (рівень середньомолекулярних G-SH-груп), які є важливими показниками запальних захворювань, що дозволяє припустити наявність антиоксидантного ефекту. Так, порівняно з початком лікування відмічене зниження вмісту ТБК-Р у групах тварин, яким лікували експериментальним гелем, кремом «Дермазин», КР₁₅ в 1,6 рази, 1,4 рази, 1,3 рази ($p < 0,005$) та підвищення рівня G-SH в 1,4 рази, в 1,3 рази, в 1,2 рази ($p < 0,005$) відповідно. Крім того, рівень G-SH у групах тварин, яким наносили досліджуваний гель, був вищим, ніж у групі КР₁₅ ($p < 0,01$).

Підвищення рівня середньомолекулярних ЦІК характерне для хронічних запальних та алер-

гічних процесів, що супроводжуються підвищенням імунологічної реактивності організму. Зниження вмісту ЦІК відбулось у тварин, яким лікували гелем НЧС + Г в 1,8 рази, яким наносили препарат порівняння – в 1,7 рази, у групі КР₁₅ – в 1,3 рази ($p < 0,005$). Слід відзначити, що даний показник був вірогідно нижчим у групах тварин, яким лікували, порівняно з групою тварин КР₁₅ ($p < 0,005$).

Оскільки немає вірогідних відмінностей між рівнем ШЗЕ, лейкоцитів, вмістом ТБК-Р, ЗБ, ЦІК у крові тварин після лікування та в інтактних тварин, то можна відмітити, що в групах тварин, яким лікували, відбулась повна нормалізація відповідних показників, що свідчить про виражену протизапальну, мембраностабілізуючу дію препаратів. За результатом динаміки гематологічних та біохімічних показників на тлі лікування субхронічного запалення шкіри у щурів ефективність експериментального гелю переважає ефективність препарату порівнян-

ня, однак вірогідні відмінності між значеннями відповідних показників не спостерігались.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що на моделі субхронічного запалення шкіри у щурів досліджуваний гель сприяв зменшенню візуальних проявів запалення (ПЗА = 66,67%) та відповідно нормалізації гематологічних та біохімічних показників в організмі.

2. За результатами впливу на динаміку біохімічних показників можна припустити наявність вираженого протизапального, мембраностабілізуючого та антиоксидантного ефектів досліджуваного препарату, що не суперечить існуючим у літературі даним про механізм протизапальної дії наночасток срібла та глюкозаміну гідрохлориду.

3. За виразністю протизапальної активності досліджуваний гель переважає препарат порівняння крем «Дермазин», що робить перспективним його використання для лікування запальних захворювань шкіри.

ЛІТЕРАТУРА

1. Волкославська В.М., Гутнев О.Л. // Укр. журн. дерматол., венерол., косметол.: Науково-практичне видання. – 2010. – №3. – С. 153.
2. Пат. №98085 UA, МПК С 23 С 14/24 (2006.01), С 23 С 14/28 (2006.01), С 23 С 14/30 (2006.01). Пристрій та спосіб електронно-променевого випарювання і спрямованого осадження парового потоку на підкладку у вакуумі / Б.О.Мовчан, К.Ю.Яковчук. – Власник: Міжнародний центр електронно-променевих технологій Інституту електрозварювання ім. Є.О.Патона НАН України. – № а201106568. – Заявл.: 25.05.2011. Опубл.: 10.04.2012. – Бюл. №7.
3. Пат. №92307 UA, МПК А 61 К 9/06 (2006.01), А 61 К 33/38 (2006.01), А 61 Р 17/02 (2006.01), А 61 Р 31/02 (2006.01), А 61 Р 31/00. Фармацевтична композиція у формі гелю з наночастками срібла для лікування ран та запальних інфекційних захворювань / Є.Б.Патон, В.П.Черних, Б.О.Мовчан та ін. – Власники: Патон Борис Євгенович, Національний фармацевтичний університет. – № u201402559. – Заявл.: 14.03.2014. Опубл.: 11.08.2014. – Бюл. № 15.
4. Туляков В.О., Зупанець К.О., Шебеко С.К. // Фармакол. та лікарська токсикол. – 2009. – Т. 9, №2. – С. 3-7.
5. Халафян А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных: Учебник. – 3-е изд. – М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. – 512 с.
6. Яковлева Л.В., Ткачова О.В., Бутко Я.О., Лар'яновська Ю.Б. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран: Метод. рекомендації. – Х., 2013. – 52 с.
7. Corrêa-Fissmer M., Mendonça M.G., Martins A.H., Galato D. // An. Bras. Dermatol. – 2014. – Vol. 4, №89. – P. 625-630.
8. Dey V.K. // Indian Dermatol. Online J. – 2014. – Vol. 5, №4. – P. 436-440.
9. Gunasekaran T., Nigusse T., Dhanaraju M.D. // J. Am. Coll. Clin. Wound Spec. – 2011. – Vol. 4, №3. – P. 82-96.

10. Reinke J.M., Sorg H. // *Eur. Surg. Res.* – 2012. – Vol. 1, №49. – P. 35-43.

11. Zaidi Z., Lanigan S.W. *Dermatology in Clinical Practice.* – L.: Springer-Verlag, 2010. – 591 p.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ КОМБІНОВАНОГО ГЕЛЮ З НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА ТА ГЛЮКОЗАМІНОМ

Л.О.Булига, Я.О.Бутко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: лікування дерматитів; запалення; рани; наночастки срібла; гель; глюкозаміну гідрохлорид

Пошук нових місцевих лікарських засобів для лікування дерматитів, які б поєднували в собі протизапальну, репаративну, антимікробну дію та мінімум побічних ефектів, є надзвичайно актуальною проблемою для сучасної фармацевтичної науки. Дане дослідження присвячене вивченню протизапальних властивостей нового місцевого засобу в формі гелю, що містить глюкозамін та наночастки срібла, на моделі субхронічного запалення шкіри щурів, викликаного нанесенням скипидару. Встановлено, що досліджуваний гель сприяв зменшенню візуальних проявів запалення на 66,67%. Зменшення товщини шкірної згортки ушкоджених тканин відбулось на 15,5% у групі, де наносили гель ($p < 0,005$), на 13,0% – у групі препарату порівняння ($p < 0,005$) та на 4,9% – у групі контрольної патології порівняно з початком лікування. За динамікою біохімічних показників під час лікування тварин з дерматитом можна припустити наявність вираженого протизапального, мембранстабілізуючого та антиоксидантного ефектів досліджуваного препарату, що не суперечить існуючим у літературі даним про механізм протизапальної дії наночасток срібла та глюкозаміну гідрохлориду. За виразністю протизапальної активності досліджуваний гель переважає препарат порівняння крем «Дермазин», що робить перспективним його використання для лікування запальних захворювань шкіри.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КОМБИНИРОВАННОГО ГЕЛЯ С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА И ГЛЮКОЗАМИНОМ

Л.А.Булыга, Я.А.Бутко

Национальный фармацевтический университет

Ключевые слова: лечение дерматитов; воспаление; раны; наночастицы серебра; глюкозамина гидрохлорид

Поиск новых местных лекарственных средств для лечения дерматитов, которые сочетали бы в себе противовоспалительное, репаративное, антимикробное действие и минимум побочных эффектов, является чрезвычайно актуальной проблемой для современной фармацевтической науки. Данное исследование посвящено изучению противовоспалительных свойств нового местного средства в форме геля, который содержит наночастицы серебра и глюкозамин, на модели субхронического воспаления кожи у крыс, вызванного скипидаром. Установлено, что исследуемый гель способствует уменьшению визуальных признаков воспаления на 66,7%. Уменьшение толщины кожной складки поврежденных тканей произошло на 15,5% в группе животных, которым наносили гель ($p < 0,005$), на 13,0% – в группе препарата сравнения ($p < 0,005$) и на 4,9% – в группе контрольной патологии по сравнению с началом лечения. Согласно динамике биохимических показателей при лечении животных с дерматитом гелем с наночастицами серебра и глюкозамином можно предположить наличие выраженных противовоспалительного, мембраностабилизирующего и антиоксидантного эффектов исследуемого препарата, что не противоречит существующим в литературе данным о механизме противовоспалительного действия наночастиц серебра и глюкозамина гидрохлорид. По выраженности противовоспалительной активности исследуемый гель превосходит препарат сравнения крем «Дермазин», что делает перспективным его использование для лечения воспалительных заболеваний кожи.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12.

Тел. (57) 706-30-69. E-mail: yaroslavabutko79@mail.ru.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 26.10.2015 р.