

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МАЗИ И ГЕЛЯ С ЭКСТРАКТОМ ПИЯВКИ МЕДИЦИНСКОЙ ЛИОФИЛИЗИРОВАННОЙ

Попов Н. С., Демидова М. А., Шнеур С. Я., Лебедева А.О.

ГБОУ ВПО «Тверская Государственная медицинская академия Минздрава России», Тверь, Россия (170100, г. Тверь, ул. Советская, 4), e-mail: m000293@tversu.ru

В экспериментах на мышах (n=70) проведена оценка противовоспалительной активности мази и геля, содержащих водное извлечение из пиявки медицинской лиофилизированной. Показано, что исследуемые препараты оказывают выраженное противовоспалительное действие при «формалиновом» отеке лапы у мышей. Противовоспалительная активность мази с экстрактом пиявки медицинской лиофилизированной была в среднем в 1,9 раза (p<0,05) выше, чем у геля, содержащего аналогичный экстракт. Противовоспалительные свойства мази с экстрактом пиявки были выражены в среднем в 1,5 раза (p<0,05) слабее, чем у мази с диклофенаком, и в 1,4 раза (p<0,05) превышали активность мази с гепарином. Противовоспалительные свойства геля с экстрактом пиявки медицинской, гепаринового геля и геля с диклофенаком были сопоставимы.

Ключевые слова: пиявка медицинская лиофилизированная, гель, мазь, противовоспалительное действие, мыши.

THE COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF OINTMENT AND GEL WITH AN EXTRACT OF MEDICINAL FREEZE-DRYING LEECH

Popov N. S., Demidova M. A., Shneur S. Y., Lebedeva A. O.

Tver State Medical Academy, Tver, Russia (170100, Tver, Sovetskajastreet, 4) e-mail: m000293@tversu.ru

The estimation of anti-inflammatory activity of ointment and the gel, containing liquid extract of lyophilized medicinal leech in experiments on mice has been spent. Investigated preparations are shown to have the expressed anti-inflammatory effect at "a formalin" hypostasis of a paw of mice. Anti-inflammatory activity of ointment with the extract of lyophilized medicinal leech was on the average in 1,9 times (p<0,05) above, than one of the gel containing a similar extract. Anti-inflammatory properties of ointment with an extract of leech have been expressed on the average in 1,5 times (p<0,05) more poorly, than ones of ointment with Diclofenac, and in 1,4 times (p<0,05) exceeded activity of ointment with Heparin. Anti-inflammatory properties of gel with an extract of medicinal leech, heparin gel and gel with Diclofenac were comparable.

Key words: leech medical frozen-dried, gel, ointment, anti-inflammatory effect, mouse.

Введение

Воспаление – это широко распространенный патологический процесс, который возникает при повреждении тканей, и имеет в своем течении стадии альтерации, экссудации и пролиферации. В этот, по преимуществу местный процесс, в той или иной степени вовлекается весь организм и, прежде всего, такие системы как иммунная, эндокринная и нервная. Воспалительная реакция развивается при различных заболеваниях (в том числе, артритах, миозитах, гепатитах, васкулитах и т.д.), а потребность в противовоспалительных

препаратах является достаточно высокой. В настоящее время существует большое число средств, с противовоспалительной активностью, как из группы стероидных, так и нестероидных препаратов. Существенным недостатком многих противовоспалительных средств является недостаточная безопасность пациентов при их применении. Так, по данным Российского Федерального центра мониторинга безопасности лекарственных средств, нестероидные противовоспалительные средства входят в перечень препаратов, при использовании которых побочные эффекты возникают наиболее часто [7]. Между тем проблема безопасности лекарств в последние годы стала одной из важнейших проблем здравоохранения в мире. В связи с этим поиск новых противовоспалительных средств с высоким профилем безопасности сохраняет свою актуальность.

Перспективным направлением создания безопасных противовоспалительных средств является получение препаратов из пиявки медицинской (*Hirudomedicinalis*). Известно, что в секрете пиявки медицинской содержатся более 100 биологически активных веществ, многие из которых являются ингибиторами медиаторов воспаления, в том числе ингибиторы протеиназ: бделины (ингибиторы трипсина, плазмина и акрозина) [9], гирустазин (ингибитор тканевого калликреина, трипсина, альфа-химо-трипсина и гранулоцитов катепсина G), эглины (ингибиторы альфа-химотрипсина) и др. [1].

Современной формой переработки пиявки медицинской является сублимационная сушка, позволяющая сохранить активность биологически активных веществ. На основе порошка пиявки медицинской лиофилизированной (НМ-1, ЗАО «Международный Центр Медицинской Пиявки», Россия) возможна разработка различных лекарственных форм, в том числе для наружного применения (мази и геля).

Целью настоящего исследования явилась сравнительная экспериментальная оценка местной противовоспалительной активности геля и мази, полученных на основе водного извлечения из порошка пиявки медицинской лиофилизированной.

Материалы и методы

Местную противовоспалительную активность геля и мази, содержащих водное извлечение из пиявки медицинской лиофилизированной, оценивали на модели «формалинового» отека лапы у мышей. Эксперименты выполнены с использованием 70 мышей линии Balb/C обоего пола массой 20,2±0,4 г. Подопытных животных содержали в стандартных условиях вивария Тверской государственной медицинской академии в соответствии с правилами качественной лабораторной практики [4]. Перед постановкой эксперимента животные проходили карантин в течение 10–14 дней [7].

Острый воспалительный отек вызывали субплантарным введением в заднюю лапу мыши 0,1 мл 2 % водного раствора формалина. Выраженность отека оценивали, измеряя

толщину лапки подопытного животного с помощью инженерного электронного штангенциркуля Vorel 15240 (Польша) до и через 4 часа после введения раствора формалина. Противовоспалительную активность исследуемых препаратов пиявки медицинской выражали в %% угнетения отека. Оценивали эффекты мази и геля экстракта пиявки медицинской (HirudoMedica 1 %; ЗАО «Международный Центр Медицинской Пиявки», Россия). В качестве препаратов сравнения использовали мазь гепарина (Гепариновая мазь; ОАО «НИЖФАРМ», Россия), гель гепарина (Heparin-Akhrigel 1000; Акрихин ХФК ОАО, Россия), мазь диклофенака (Ортофен, мазь 2%; ЗАО «Вертекс», Россия), гель диклофенака (Диклофенак гель 1 %; ОАО «Биохимик», Россия). Подопытные животные контрольной группы лекарственных препаратов не получали. Исследуемые препараты пиявки медицинской наносили с легким растиранием на подошву лапы подопытных животных ежедневно в течение 10 дней до индукции острого воспалительного отека в дозе 0,02 г (0,0002 г в пересчете на экстракт пиявки медицинской лиофилизированной). Антитромбиновая активность мази и геля с экстрактом пиявки в разовой дозе составляла 0,004 АТЕ.

Результаты исследования обработаны статистически с применением стандартного пакета программ MicrosoftOfficeExcel 2003. Для ряда выборок вычисляли среднюю арифметическую и среднюю квадратические ошибки. Определение нормальности распределения переменных проводили на основании гистограмм распределения, величины асимметрии и эксцесса. Для оценки достоверности различия выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента. За достоверное принимали различие при уровне вероятности 95 % и более ($p < 0,05$).

Результаты исследования

Было выявлено, что при субплантарном введении 0,1 мл 2 % раствора формалина у подопытных мышей развивается выраженный отек лапы, о чем свидетельствует достоверное увеличение ее объема. Отмечено, что через 4 часа после введения формалина объем лапы у подопытных животных контрольной группы увеличился в среднем на 60 % ($p < 0,05$).

Вместе с тем было обнаружено, что при накожном применении геля и мази, содержащих извлечение из порошка пиявки медицинской, отмечалось уменьшение выраженности индуцированного формалином отека лапы у мышей (табл. 1). Так, было выявлено, что под влиянием формалина объем лапы подопытных животных, получавших гель с экстрактом пиявки, увеличился в среднем на 52,3 %, что было в среднем в 1,2 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле (мышь с «формалиновым» отеком лапы, получавшие наружно изотонический раствор натрия хлорида). У животных, которым в течение 10 дней

наносили мазь с экстрактом пиявки, объем лапы по сравнению с контролем увеличился в среднем в 1,4 раза ($p < 0,05$) меньше, что составило 44,3 %.

Таблица 1. Влияние геля и мази экстракта пиявки медицинской, гепарина и диклофенака на выраженность «формалинового» отека лапы у мышей

№	Серия опыта	Толщина лапки подопытных мышей, мм ($M \pm m$)		Угнетение отека, %
		До введения раствора формалина	Через 4 часа после введения раствора формалина	
1	Мазь экстракта пиявки медицинской	2,41 ± 0,13	3,48 ± 0,42*	27,2
2	Мазь гепарина	2,30 ± 0,07	3,43 ± 0,33*	19,4
3	Мазь диклофенака	2,40 ± 0,07	3,28 ± 0,37*	39,9
4	Гель экстракта пиявки медицинской	2,35 ± 0,06	3,58 ± 0,11*	14,3
5	Гель гепарина	2,27 ± 0,12	3,45 ± 0,42*	14,7
6	Гель диклофенака	2,61 ± 0,08	3,98 ± 0,55*	13,9
7	Контроль изотонический раствор натрия хлорида	2,28 ± 0,07	3,67 ± 0,23*	-

* – различия с контролем (до введения раствора формалина) достоверны ($p < 0,05$).

Очевидно, что лекарственная форма оказывает существенное влияние на достижение противовоспалительного эффекта. По результатам эксперимента было отмечено, что местное противовоспалительное действие экстракта пиявки в мази было в среднем в 1,9 раза ($p < 0,05$) выше, чем в форме геля. Выявленные различия в эффективности двух мягких лекарственных форм прослеживаются и при использовании препаратов сравнения (гепарина и диклофенака натрия). Так, противовоспалительная активность гепарина и диклофенака в форме мази при накожном применении была соответственно в 1,3 раза ($p < 0,05$) и в 2,8 раза ($p < 0,05$) выше, чем при их использовании в виде геля.

Обсуждение

Таким образом, результаты эксперимента показали, что мазь с экстрактом пиявки обладает выраженной противовоспалительной активностью при «формалиновом» отеке лапы у мышей. Возможно, что противовоспалительное действие мази, содержащей биологически активные вещества пиявки медицинской, обусловлено способностью последних блокировать амилолитическую и кининогеназную активность медиаторов воспаления. Кроме этого, кининазы, обнаруженные в секрете слюнных желез пиявок, снижают активность альгогенного фактора брадикинина, обеспечивая тем самым обезболивающий эффект [1].

Сравнительный анализ местного противовоспалительного действия мазей с экстрактом пиявки, гепарином и диклофенаком натрия показал, что наиболее выраженной активностью в отношении «формалинового» отека лапы у мышей обладал диклофенак. Противовоспалительные свойства мази с экстрактом пиявки были выражены в среднем в 1,5 раза ($p < 0,05$) слабее, чем у мази с диклофенаком, но в среднем в 1,4 раза ($p < 0,05$) превышали активность мази с гепарином. Следует отметить, что противовоспалительные свойства геля с экстрактом пиявки медицинской, гепаринового геля и геля с диклофенаком гепарина были сопоставимы. Полученные результаты, свидетельствующие о более высокой противовоспалительной активности одних и тех же веществ в форме мазей по сравнению с гелем, вероятно, связаны с тем, что для реализации противовоспалительного действия препаратов имеет значение не только местное, но и резорбтивное действие биологически активных веществ. Известно, что гели получают с использованием гидрофильной основы, что определяет преимущественно местное действие этой лекарственной формы, тогда как эмульсионная основа мазей обеспечивает достижение не только местного, но и резорбтивного эффекта. Так, в состав основы мази с экстрактом пиявки входят растворители: вода очищенная и пропиленгликоль; эмульгатор триэтаноламин; загуститель карбомеринтерполимер типа А, консервант нипагин, а также вазелиновое масло и эмульгатор Твин 80, являющийся неионогенным ПАВ оксиэтилированным сорбитаном [3]. При введении данных веществ в гидрофильную основу образуется эмульсия типа «масло в воде», обладающая гидрофильными свойствами. Возможно, что такая основа способствует лучшему всасыванию не только гидрофильных, но и липофильных биологически активных веществ. Кроме того, через неповрежденную кожу лучше проходят липофильные жидкости. Всасываясь вместе с эмульсионной основой мази, биологически активные соединения оказывают не только местное, но и общее противовоспалительное действие. Вероятно, что более высокая активность мази, содержащей водное извлечение из препарата пиявки медицинской лиофилизированной, обусловлена влиянием соответствующих биофармацевтических факторов.

Полученные данные свидетельствуют о возможности разработки лекарственных препаратов с противовоспалительной активностью на основе извлечений из пиявки медицинской лиофилизированной, а также о поиске новых компонентов лекарственных основ, способствующих более высокой биодоступности биологически активных компонентов.

Выводы

1. При накожном применении мази и геля с экстрактом пиявки медицинской лиофилизированной выраженность формалинового отека лапы у мышей уменьшалась соответственно на 27,2 % и 14,3 %.
2. Противовоспалительная активность мази с экстрактом пиявки медицинской лиофилизированной при формалиновом отеке лапы у мышей была в среднем в 1,4($p<0,05$) раза выше, чем у мази с гепарином, но в среднем в 1,5 ($p<0,05$) раза слабее, чем у мази с диклофенаком.
3. Противовоспалительная активность геля с экстрактом пиявки достоверно не отличалась от эффектов геля с гепарином и диклофенаком.

Список литературы

1. Баскова И. П., Халиль О., Никонов Г. И. Ингибирование калликреинаплазмы крови человека секретом слюнных желез и экстрактом из медицинской пиявки *Hirudomedicinalis* // Биохимия. – 1988. – № 9. – С. 1467-1473.
2. Государственный реестр лекарственных средств, разрешенных к медицинскому применению. – М., 2008. – 1005 с.
3. Краснюк И. И., Валевко С. А., Михайлова Г. В. Фармацевтическая технология: Технология лекарственных форм: учеб. для студ. высш. учеб. заведений. – М.: Издательский центр «Академия», 2006. – 592 с.
4. Об утверждении Правил лабораторной практики: Приказ Минздравсоцразвития РФ от 23 августа 2010 г. № 708 н: зарегистр. в Минюсте Рос. Федерации 13 октября 2010 г. № 18713 // Рос. газ. – 2010 . – 22 октября.
5. Плетнева Т. В., Мокроусов А. А., Максимова Т. В. Элементы пиявки медицинской // Химико-фармацевтический журнал. – 2010. – № 11. – С.46-48.
6. Рыдловская А. В., Макарова М. Н., Макаров В. Г., Иванова С. А., Пожарицкая О. Н., Тихонов В. П. Оценка противовоспалительного действия комбинированного препарата артрофлекс на модели каррагенинового отека у крыс линии Вистар // Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им ИИ Мечникова. – 2006. –№3 (7). – С. 138-141.

7. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. – М.: ВНЦ БАВ, 2000. – 352 с.
8. Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения и социального развития: Лекарственные средства [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.roszdravnadzor.ru/medicines> (дата обращения 18.01.2012).
9. Fritz H. Trypsin-plasmininhibitors (bdellins) fromleeches.// Meth. Enzymol., 1976, 45, 797-806.

Рецензенты:

Новиков В. Е., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии Смоленской ГМА с курсом фармации ФПК и ППС, г. Смоленск.

Филиппова О. В., д.м.н., профессор, профессор кафедры фармации последипломного образования БГОУ ВГУ, г. Воронеж.