

ЛІКАРСЬКА ФОРМА ПЕЛОЇДУ КУЯЛЬНИЦЬКОГО ЛИМАНУ ТА ЇЇ ПРОТИЗАПАЛЬНА АКТИВНІСТЬ

На основі проведених біофармацевтичних досліджень встановлено, що пелоїд при регенерації після висушування зберігає свої протизапальні властивості. Тому нами була розроблена самовідновлювальна лікарська форма тривалого зберігання. На моделі карагінанового набряку встановлено, що дана лікарська форма за протизапальною активністю не поступається аплікаціям з нативного пелоїду.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: протизапальна активність, пелоїд, карагінановий набряк.

ВСТУП. Безліч захворювань так чи інакше пов'язані з процесом запалення, що являє собою складну, комплексну місцеву судинно-тканинну захисно-приспосувальну реакцію цілісного організму на вплив патогенного фактора. Вона проявляється розвитком у місці ураження тканини змін кровообігу переважно в мікроциркуляторному руслі, збільшенням проникності судин у поєднанні з дистрофією тканин та проліферацією клітин [2].

Незважаючи на широке різноманіття синтетичних протизапальних засобів, через їх побічні ефекти все ж таки залишається актуальним пошук альтернативних способів лікування. Останнім часом увагу вчених усе більше привертають лікарські засоби природного походження: лікарські рослини, пелоїдотерапія, таласотерапія та ін. [1].

Препарати з лікувальних пелоїдів, зокрема, знаходять застосування при лікуванні хвороб, що супроводжуються запаленням [5]. Найбільш показовим ефектом грязелікування є вплив на місцевий запальний процес. Викликаючи гіперемію тканин, поліпшення трофіки, функцій кровообігу, курс пелоїдотерапії сприяє розсмоктуванню патологічних продуктів запалення. Продукти розпаду білків надходять у кров і діють за типом "автопротеїнотерапії", що підвищує захисні та адаптаційні сили організму, активує систему гіпоталамус-гіпофіз-надниркові залози, підвищує функції симпатoadреналової системи [2].

Механізм дії пелоїдів пов'язаний із внутрішньоклітинним метаболізмом, що забезпечує новий рівень енергетичного потенціалу

© А.О. Кобернік, І. А. Кравченко, 2012.

організму, змінює реактивність клітинних структур, органів і функціональних систем, через які реалізується терапевтичний ефект [3, 8]. Під впливом лікувальних пелоїдів з'являються сприятливі умови для стимуляції фізіологічних функцій тканини, активізуються реакції окиснення біологічних субстратів, інтенсифікуються біоенергетичні процеси, поповнюються енерговитрати, які витрачаються на боротьбу із запаленням, здійснюється санація запального вогнища [4].

Успішне цілеспрямоване лікування з використанням пелоїду можливе лише за умов санаторно-курортного режиму [5]. Тому, з метою збільшення кількості потенційних споживачів за рахунок можливості використання пелоїдотерапії в амбулаторних і домашніх умовах, актуальним стає питання щодо створення лікарської форми на основі нативного пелоїду Куяльницького лиману.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. При встановленні оптимального складу лікарської форми використовували стандартні аналітичні методи титрування: трилонометрію – для визначення кількості катіонів та метод Мора – для визначення кількості аніонів [9].

Ферментативну активність каталази визначали таким чином. Наважку 5 г пелоїду поміщали в колбу, заливали 25 мл 2 % розчину перекису водню і поміщали в термостат при 37 та 42 °С. Через 60 хв із системи відбирали проби по 5 мл, змішували з 5 мл 10 % сірчаної кислоти і титрували 0,1 н. розчином КМnO₄ до блідо-рожевого забарвлення. Контрольні визначення проводили аналогічним чином на

наважках пелоїду, прогрітих у термостаті протягом 1,5 год при 160–170 °С для інактивації ферментів.

Пероксидазну активність визначали за методикою Козлова [7].

Експериментальною моделлю запалення було обрано асептичний карагінаніндукований набряк задньої кінцівки щурів. Гостру запальну реакцію викликали субплантарним введенням 0,2 мл 0,2 % розчину карагіану [10]. Спостерігали за функціональним станом тварин протягом 12 днів. Після розвитку запалення через 24 год після введення флогогенного агента проводили відповідну обробку кінцівки протягом 20 хв. Усього було 4 групи тварин, яких піддавали різному лікуванню: 1-ша група слугувала контролем (запалення не лікували); щурам 2-ї групи аплікували нативний пелоїд, фіксуючи зовні поліетиленовою плівкою; в 3-й групі на уражену кінцівку накладали пов'язки, що містили нативний пелоїд Куяльницького лиману (кожна пов'язка в перерахунку та з урахуванням вологості містила 1 г сухого пелоїду); в 4-й групі обробку кінцівки проводили з використанням пов'язок, що містили нативний пелоїд Куяльницького лиману, відмитий від мінеральних солей (кожна пов'язка містила 1 г сухого пелоїду).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для розробки складу лікувальних серветок на основі пелоїду Куяльницького лиману як пластифікатори було використано дозволені в клінічній практиці 1,2-пропіленгліколь (ПГ) та гліцерин. У таблиці 1 наведено співвідношення компонентів у різних зразках лікувальної форми. Основою слугувала марля розміром 10x10 см.

Дослідження для наукового обґрунтування виду і масового вмісту пластифікатора в лікарських формах на основі пелоїду Куяльницького лиману проводили шляхом вивчення біофармацевтичних властивостей розроблених лікарських форм, яке передбачає встановлення сумарного вмісту в них катіонів та аніонів, а також динаміку вивільнення даних іонів з досліджуваних зразків протягом 45 хв за допомогою стандартних аналітичних методів титрування [9].

Насамперед необхідно було визначити максимально можливий вміст солей у досліджуваних зразках. Для цього зразки повністю розчиняли в дистильованій воді, центрифугували, для титрування використовували отриманий віджим. Надалі (при встановленні динаміки вивільнення солей протягом певного часу) дані результати брали за 100 %.

Результати визначення динаміки вивільнення хлоридів та суми катіонів (Mg^{2+} і Ca^{2+}) із зразків серветок протягом 45 хв у відсотках до сумарного їх вмісту в зразках наведено у таблицях 2 та 3. Обраний проміжок часу зумовлений тим, що саме 40–45 хв – це оптимальний час лікувальної процедури пелоїдотерапії [2].

Найкращі результати вивільнення як катіонів, так і аніонів протягом усього експерименту (45 хв) були притаманні зразку № 3, для виготовлення якого брали 1,5 г гліцерину. Вже через 15 хв вивільнення Cl^- , Mg^{2+} та Ca^{2+} складало 70 % від максимально можливого, а на 45 хвилині вихід складав 80 % для хлоридів і 84 % для суми катіонів Mg^{2+} та Ca^{2+} .

Таким чином, серед восьми досліджених зразків пов'язок найкраща динаміка вивільнення хлоридів та суми катіонів (Mg^{2+} і Ca^{2+})

Таблиця 1 – Склад пов'язок на основі пелоїду Куяльницького лиману

№ зразка	ПВС, г	H ₂ O, мл	Пелоїд, г	Пластифікатор, г
1	0,25	1,5	2,5	Гліцерин 0,5
2	0,25	1,5	2,5	Гліцерин 1
3	0,25	1,5	2,5	Гліцерин 1,5
4	0,50	4,0	5,0	Гліцерин 2
5	0,25	1,5	2,5	1,2-ПГ 0,5
6	0,25	1,5	2,5	1,2-ПГ 1
7	0,25	1,5	2,5	1,2-ПГ 1,5
8	0,50	4,0	5,0	1,2-ПГ 2

Таблиця 2 – Вивільнення хлоридів із зразків серветок (у % до максимального вмісту)

Час, хв	Номер зразка							
	1	2	3	4	5	6	7	8
5	8,3±0,6	12,0±1,1	16,3±0,8	0,9±0,01	6,9±0,5	16,3±0,5	17,2±0,7	14,3±1,1
10	28,3±0,9	33,0±2,9	57,1±2,4	18,3±0,4	26,6±1,9	42,0±3,3	44,0±3,9	40,6±0,9
15	32,5±1,5	51,6±3,1	71,4±6,1	31,0±0,9	39,4±3,5	51,7±3,5	55,7±4,2	50,7±4,1
30	44,3±1,5	61,1±0,2	78,0±1,0	53,1±2,4	52,0±1,7	60,0±2,6	68,0±4,1	62,6±5,6
45	51,7±1,2	69,4±6,2	80,3±3,8	60,3±2,9	57,6±3,0	63,1±1,2	72,4±4,6	69,5±1,0

Таблиця 3 – Вивільнення суми катіонів (Mg^{2+} та Ca^{2+}) із зразків серветок (у % до максимального вмісту)

Час, хв	Номер зразка							
	1	2	3	4	5	6	7	8
5	6,4±0,3	7,4±0,01	13,3±0,4	3,8±0,2	8,9±0,03	15,3±1,1	16,7±0,8	19,7±1,6
10	16,0±0,7	25,6±1,0	58,6±4,6	25,2±2,1	22,7±1,9	40,4±3,8	44,8±3,6	34,7±0,05
15	22,7±0,1	39,4±2,9	71,4±5,1	42,4±3,7	40,4±3,6	49,8±4,7	55,2±0,3	48,9±4,4
30	38,0±1,7	56,0±3,0	80,3±5,7	55,5±3,3	55,7±0,9	51,7±0,1	64,5±3,7	61,6±2,6
45	46,7±2,7	67,0±0,07	84,4±3,3	53,8±3,9	60,0±2,5	61,1±5,4	76,0±2,2	68,5±1,7

була властива зразку № 3, для виготовлення якого використано 1,5 г гліцерину. Саме його склад обрано як оптимальний для визначення ферментативної та протизапальної активності лікарських серветок.

З метою вирішення питання щодо впливу мінерального складу пелоїду Куяльницького лиману на протизапальну активність, яку він зумовлює, постала необхідність виготовлення пов'язок на основі пелоїду, який попередньо відмили від мінеральних солей. Демінералізацію пелоїду проводили шляхом його діалізу проти дистильованої води. З отриманого пелоїду виготовили пов'язки за зразком № 3. Отримані зразки пов'язок також титрували протягом 45 хв, щоб визначити вміст та динаміку вивільнення іонів Cl^- , Mg^{2+} і Ca^{2+} .

З огляду на результати титрування, встановлено, що кількість хлоридів складає близько 17 %, а сума Mg^{2+} та Ca^{2+} – 5,6 % від максимально можливого вмісту. Отримана кількість солей є дуже незначною і нею можна знехтувати, вивчаючи протизапальну активність серветок, адже в такій кількості вони не будуть особливо впливати на розвиток процесу запалення.

Раніше ми вивчили вміст важких металів у пелоїді Куяльницького лиману методом атомно-емісійної спектроскопії на багатоканальному атомно-емісійному спектрометрі. Встановлено, що жоден з елементів не перевищує показників фонового вмісту [6], тобто перебуває в межах допустимих концентрацій. На основі цього можна зробити висновок, що пелоїд Куяльницького лиману є нетоксичним.

Ферменти – це біологічні каталізатори, які прискорюють хімічні реакції в живих організмах у сотні й тисячі разів. Різноманітні ферменти накопичуються в пелоїді в результаті життєдіяльності мікроорганізмів. Вони беруть участь у важливих біохімічних процесах.

В обміні речовин та енергії в пелоїді, й у ґрунтах взагалі, важливе місце належить окисно-відновним ферментам – оксидоредуктазам, з яких найбільш поширені в ґрунтах дегідрогенази, фенолоксидази, пероксидази,

каталази, що виконують певні функції в ґрунтовій біодинаміці.

Активність окисно-відновних ферментів перебуває в кореляційній залежності з основними фізико-хімічними властивостями, мікробіологічними процесами в ґрунтах, нітрифікацією, сульфифікацією [7].

Каталаза та пероксидаза виконують функцію антиоксидантів.

Каталазну активність досліджуваних зразків серветок на основі нативного та відмитого від солей пелоїду, порівняно з нативним і висушеним пелоїдом, за різних температурних умов інкубації (37 °C, 42 °C) протягом 60 хв показано на рисунку 1.

Як свідчать отримані результати, підвищення температури до 42 °C збільшує приблизно на 10 % активність ферменту. Таку температуру було обрано тому, що саме ці температури рекомендуються при проведенні пелоїдотерапії.

Встановлено, що розроблені нами серветки показують рівень каталазної активності, який достовірно не поступається нативному пелоїду, а в ряді випадків і деякою мірою перевищують його. Активність сухого пелоїду і серветок на основі відмитого пелоїду є дещо нижчою, приблизно на 25 %.

Враховуючи те, що ферментативна активність пелоїду зумовлена життєдіяльністю мікроорганізмів, ми попередньо утримували серветки приблизно при 37 °C у незначній кількості дистильованої води протягом 2 та 5 днів, після чого знову визначали їх каталазну активність.

Як видно з графічного зображення, утримання зразків серветок у воді при температурі 37 °C сприяло впливало на рівень у них каталазної активності, він зростав у середньому на 20–30 %. Це можна пояснити тим, що мікроорганізми, які перебували в стані цисти, відновили свою життєздатність, продуктами якої є оксидоредуктази.

Враховуючи важливе біологічне значення пероксидази в складі пелоїду, ми встановили її активність у розроблених нами пов'язках на основі пелоїду Куяльницького лиману. Отримані результати наведено в таблиці 4.

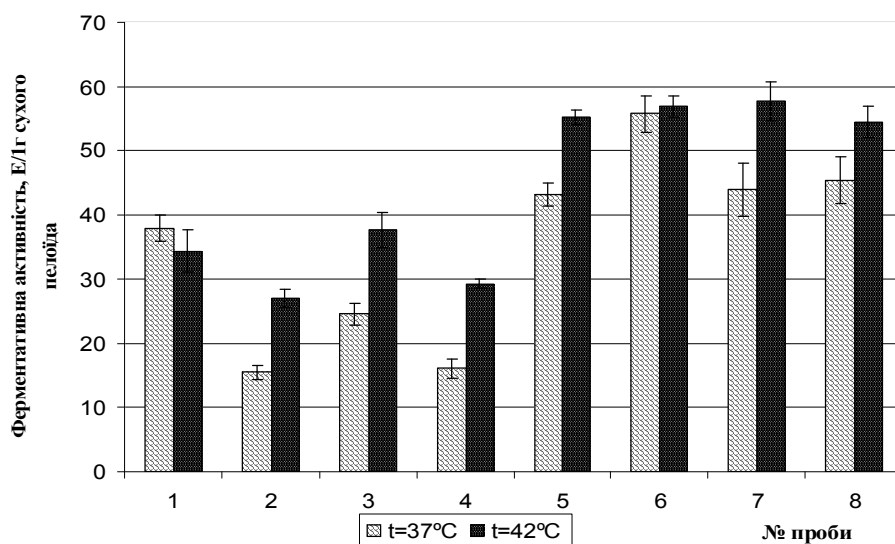


Рис. 1. Каталазна активність пов'язок з пелоїдом (Е/г сухого пелоїду): 1 – пелоїд нативний; 2 – пелоїд сухий; 3 – серветки з нативним пелоїдом; 4 – серветки з відмитим пелоїдом; 5 – серветки з нативним пелоїдом, замочені у воді на 2 дні при $t=37^{\circ}\text{C}$; 6 – серветки з нативним пелоїдом, замочені у воді на 5 днів при $t=37^{\circ}\text{C}$; 7 – серветки з відмитим пелоїдом, замочені у воді на 2 дні при $t=37^{\circ}\text{C}$; 8 – серветки з відмитим пелоїдом, замочені у воді на 5 днів при $t=37^{\circ}\text{C}$.

Таблиця 4 – Пероксидазна активність (Е/г сухого пелоїду) пелоїду в складі пов'язок

Досліджуваний зразок	Е/г сухого пелоїду
Пелоїд нативний	13,49±0,23
Пелоїд сухий	2,71±0,12
Серветки з нативним пелоїдом	12,93±0,16
Серветки з відмитим нативним пелоїдом	9,42±0,15
Серветки з нативним пелоїдом, регенерованим протягом 2 днів	18,59±0,09
Серветки з відмитим нативним пелоїдом, регенерованим протягом 2 днів	12,47±0,10
Серветки з нативним пелоїдом, регенерованим протягом 5 днів	20,61±0,03
Серветки з відмитим нативним пелоїдом, регенерованим протягом 5 днів	20,00±0,06

Встановлено, що серветки на основі нативного пелоїду володіли пероксидазною активністю, яка майже відповідала активності нативного пелоїду. А за умови регенерації серветок (замочування у воді при температурі 37°C протягом 2–5 днів) пероксидазна активність зростала на 50 %.

Серветки на основі відмитого пелоїду демонстрували менші показники пероксидазної активності, що, мабуть, зумовлено частковими втратами пероксидази при його відмиванні.

Для дослідження протизапальної активності було вибрано серветки, виготовлені за зразком № 3, оскільки в перерахунку на масу і кількість внесеного пелоїду він показав найкращу динаміку виходу аніонів і катіонів порівняно з максимально можливим виходом.

При вивченні протизапального впливу критерієм оцінки процесу запалення була динаміка зміни об'єму (рис. 2) ураженої кінцівки щурів.

З літературних джерел відомо, що апікації нативного пелоїду сприятливо впливають на

динаміку процесу запалення [2]. Метою ж даного дослідження було встановити рівень протизапальної активності розроблених серветок на основі пелоїду.

Протизапальну активність серветок, виготовлених із відмитого від солей пелоїду, визначали з метою встановлення внеску мінеральних солей в зумовлення протизапального ефекту.

З огляду на отримані результати, слід зазначити, що показники об'єму ураженої кінцівки щурів усіх дослідних груп сягнули свого піку через 24 год після введення флогогенного агента, після чого поступово почали зменшуватися.

Найкраща динаміка повернення об'єму кінцівки до інтактних показників була характерна для групи тварин, яких лікували розробленими серветками на основі нативного пелоїду (рис. 2).

Дана перевага протягом перших 6 діб експерименту складала 50–60 % від контролю, 15–20 % – від нативного пелоїду та 30–35 % –

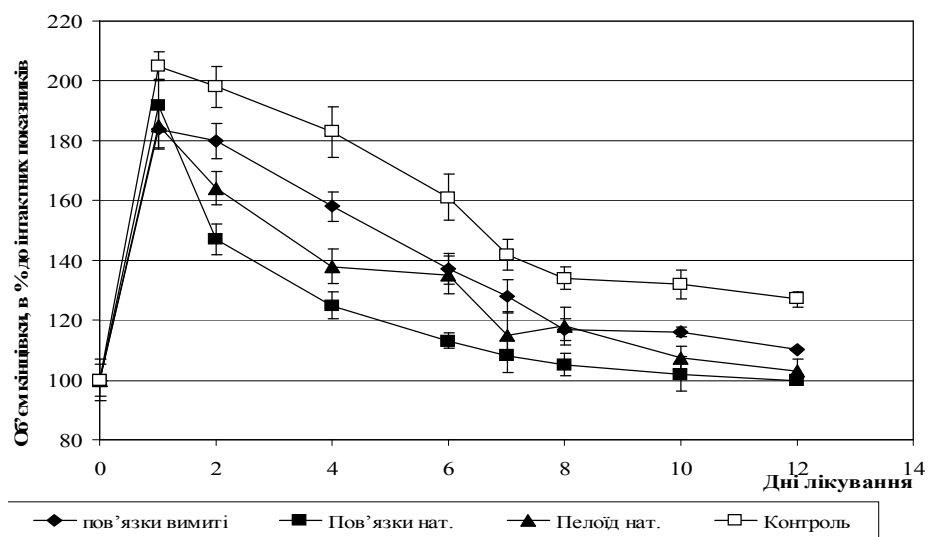


Рис. 2. Вплив експериментальної пелоїдотерапії на об'єм набряку ураженої кінцівки щурів.

від серветок на основі пелоїду, відмитого від солей. На 7–8 день експерименту об'єм кінцівок тварин, яких лікували розробленими серветками, досягнув інтактних показників, тоді як інші дослідні групи досягли подібного результату приблизно на 10–12 дні, а контроль станом на 12 день усе ще перевищував інтактні показники на 25 %.

Таким чином, встановлено, що розроблені нами серветки володіють протизапальною активністю на рівні нативного пелоїду або ж навіть перевищують його. Крім того, доведено, що вагомий внесок у рівень протизапальної активності робить мінеральний склад нативного пелоїду.

ВИСНОВКИ. 1. Серед 8 запропонованих зразків лікувальних серветок на основі пелоїду Куяльницького лиману за допомогою аналітичних методів дослідження було обрано оптимальний, для якого вивчили ферментативну та протизапальну активність.

2. Встановлено, що розроблена нами лікарська форма не поступається нативному пелоїду як за ферментативною, так і за протизапальною активністю. А серед її переваг – зручність використання, а в подальшому і доступність придбання в аптеках свого регіону.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бутко Я. А. Фармакокоррекция раневого процесса / Я. А. Будко // Провизор. – 2007. – № 15. – С. 26–32.
2. Лещинский А. Ф. Пелоидо- и фармакотерапия при воспалительных заболеваниях / А. Ф. Лещинский, З. И. Зуза. – К.: Здоровье, 1985. – 184 с.
3. Нечипуренко О. Н. Грязи – природные био-генные стимуляторы, механизмы целебного действия / О. Н. Нечипуренко // Провизор. – 1998. – № 6. – С. 54–57.
4. Низкодубова С. В. Экспериментальное обоснование и клиническое применение экстрактов лечебной грязи / С. В. Низкодубова // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. – 1986. – № 5. – С. 15–18.
5. Самутин Н. М. Актуальные проблемы пелоидотерапии / Н. М. Самутин, Н. Г. Кривококов // Вопр. курортол. – 1997. – № 3. – С. 33–35.

6. Сравнительная характеристика физико-химических свойств и противовоспалительного действия восстановленной и нативной лечебной грязи / И. А. Кравченко, В. Б. Ларионов, Н. В. Овчаренко [и др.] // Актуал. пробл. транспорт. медицины. – 2011. – № 1 (23). – С. 87–93.
7. Хазиев Ф. Х. Ферментативная активность почв / Ф. Х. Хазиев. – М.: Наука, 1976. – 173 с.
8. Царфис П. Г. Лечебные грязи и другие природные теплоносители / П. Г. Царфис, В. Б. Киселев. – М.: Наука, 1990. – 127 с.
9. Цитович И. К. Курс аналитической химии / И. К. Цитович. – М.: Высшая школа, 1994. – 495 с.
10. Morris C. J. Carrageenan-induced paw edema in the rat and mouse / C. J. Morris // Methods Mol. Biol. – 2003. – **225**. – P. 115–121.

А. А. Коберник¹, И. А. Кравченко^{1,2}
ОДЕССКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. И. МЕЧНИКОВА¹
ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ИМЕНИ А. В. БОГАТСКОГО НАН УКРАИНЫ, ОДЕССА

ЛЕКАРСТВЕННАЯ ФОРМА ПЕЛОИДА КУЯЛЬНИЦКОГО ЛИМАНА И ЕЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ

Резюме

На основании проведенных биофармацевтических исследований установлено, что пелоид при регенерации после высушивания сохраняет свои противовоспалительные свойства. Поэтому нами была разработана самовосстанавливающаяся лекарственная форма длительного хранения. На модели каррагинанового отека установлено, что данная лекарственная форма по противовоспалительной активности не уступает аппликациям из нативного пелоида.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: противовоспалительная активность, пелоид, каррагинановый отек.

A. O. Kobernik¹, I. A. Kravchenko^{1,2}
I. I. MECHNYKOV ODESSA NATIONAL UNIVERSITY
O. V. BOHATSKYI PHYSICAL AND CHEMICAL INSTITUTE OF NAS OF UKRAINE, ODESSA

MEDICINAL FORM OF KUYALINIK ESTUARY PELOID AND ITS ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY

Summary

It was shown that peloid retains its anti-inflammatory properties after drying. We developed a medicinal form as dressing with the native peloids. It was found that the medicinal form and native peloid are equal by anti-inflammatory effects on the model of carrageenan edema.

KEY WORDS: anti-inflammatory activity, peloid, model of carrageenan edema.

Отримано 10.10.11

Адреса для листування: А. О. Кобернік, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, вул. Довженко, 9а, Одеса, Україна.