

©Г. В. Зайченко <https://orcid.org/0000-0002-3506-4800>

©А. О. Горбач <https://orcid.org/0000-0002-2678-147X>

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ МЕХАНІЗМУ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ОЧИЩЕНОГО НАФТАЛАНОВОГО МАСЛА

**РЕЗЮМЕ.** Нафталанова нафта є унікальною природною сировиною з вираженими бальнеологічними властивостями, але, як з'ясувалося з часом, містить токсичні і канцерогенні речовини (ароматичні вуглеводні, смоли), що обмежило її застосування в сучасній медицині. Очищене нафталанове масло (ОНМ) має значно менший вміст потенційно небезпечних сполук при збереженні спектра біологічно активних нафтових вуглеводнів, що відкриває перспективи для розробки нових топічних лікарських засобів на його основі із покращеними фармацевтичними і фармакологічними властивостями.

**Мета дослідження** – вивчення фармакологічних властивостей і окремих ланок механізму протизапальної дії очищеного нафталанового масла.

**Матеріал і методи дослідження.** В роботі досліджувалися тест-зразки монокомпонентного крему з 10 % ОНМ, крему комбінованого складу з 10 % ОНМ і 2 % дротаверином. Вивчення фармакологічних властивостей кремів з ОНМ *in vivo* проводили на моделі імківімод-індукованого псоріазоподібного ураження шкіри у мишей лінії BALB/c з додатковою індукцією гострого запального процесу введенням карагану. Протизапальну активність ОНМ *in vitro* оцінювали за продукцією ключових прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$  і IL-8) в модельній системі псоріазомодифікованих кератиноцитів людини лінії HaCaT/P. Ефективність досліджуваних тест-зразків порівнювали з гідрокортизоном у вигляді 1 % крему.

**Результати.** На моделі псоріазоподібного ураження шкіри, посиленого караганом, встановлено, що однокомпонентний крем з 10 % ОНМ має відносно низьку протизапальну активність – 19 %, тоді як крем із 10 % ОНМ у комбінації з 2 % дротаверином виявляє більш виразний ефект, що дорівнює 29 % і зіставний з дією гідрокортизону (32 %). Дослідження на кератиноцитах HaCaT/P виявило здатність ОНМ суттєво пригнічувати синтез IL-8 майже на 65 %, не впливаючи на рівень IL-1 $\beta$ , на відміну від кортикостероїду гідрокортизону, що знижував продукцію як IL-8 (на 39 %), так і IL-1 $\beta$  (45 %).

**Висновки.** Отримані дані свідчать про слабкі протизапальні властивості монокомпонентного крему з 10 % ОНМ, та про наявність помірної активності у комбінації ОНМ з дротаверином. У реалізації можливого механізму протизапальної дії лежить здатність ОНМ вибірково модулювати синтез медіаторів ранньої фази запалення, пригнічувати міграцію нейтрофілів через зменшення продукції IL-8.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** субстанції природного походження; очищене нафталанове масло; дерматологічні засоби; крем; ушкодження шкіри; протизапальна дія; анальгетична дія; фармацевтична розробка.

**Вступ.** Нафталанова нафта – унікальний природний продукт, що містить у своєму складі комплекс різноманітних сполук, переважно вуглеводні. Її видобувають поблизу м. Нафталан в Азербайджані. З кінця XIX століття цей вид нафти був визнаний офіційною медициною як джерело біологічно активних речовин, її широко застосовують у медичній практиці. Нафталанова нафта цінується своїми бальнеологічними властивостями. За походженням і складом вона є сильно смолистою, малосірчистою і безпарафіновою, із високим вмістом нафтових і ароматичних вуглеводнів, у її складі відсутні бензинові фракції, які відрізняють її з-поміж інших нафт [1, 2].

Традиційно у бальнеології та фармацевтичній практиці використовували неочищену (так звану «чорну») нафталанову нафту, їй притаманний ряд недоліків: потенційні канцерогенні властивості, ризики системної токсичності (зокрема, гепатотоксичності і нефротоксичності), обмеже-

на терапевтична ефективність, специфічний неприємний запах і темний колір, що забарвлює білизну, перев'язувальні матеріали. Вона має фармацевтичну несумісність з багатьма речовинами, що створює складнощі при розробці лікувальних і косметичних засобів, значно обмежує її використання в фармації і медицині. Присутність ароматичних вуглеводнів, смол і асфальтенів у неочищеній нафталановій нафті викликає питання щодо безпеки пацієнтів при тривалому лікуванні хронічних дерматологічних захворювань.

Очищене нафталанове масло (ОНМ) збагачене стеранами і гопанами – складовими, що вважаються активними компонентами нафталану, при цьому вміст поліароматичних сполук у ньому суттєво знижений. Разом з тим ОНМ демонструє ряд переваг перед неочищеним нафталановим маслом, а саме відсутність токсичних фракцій, покращені протизапальні властивості, пов'язані зі стероїдними ефектами концентрованих гопанів і

стеранів, має органолептичні властивості [3]. Крім того, у літературних джерелах знайдено інформацию, що в деяких фракціях ОНМ було виявлено поліциклічні нафтени, схожі за структурою з ядром стероїдних гормонів (циклопентанопергідрофенантрена), що дає підстави для припущення про можливий «гормоноподібний» вплив таких компонентів [4]. Саме нафтеніві вуглеводні, за даними низки досліджень [5], проявляють значно менше токсичних і канцерогенних властивостей, водночас забезпечують фармакологічні ефекти, серед яких протизапальна, ранозагоювальна дії [6]. Також трапляються повідомлення про наявність у складі нафталану вітаміну К та естрогеноподібних речовин [7], що посилює інтерес науковців до уточнення механізмів дії ОНМ.

**Мета роботи** – вивчення фармакологічних властивостей і окремих ланок механізму проти запальної дії очищеного нафталанового масла.

**Матеріал і методи дослідження.** Нами було проведено комплекс експериментальних фармакологічних досліджень *in vivo* та *in vitro* щодо вивчення протизапальної активності ОНМ і можливих механізмів реалізації його дії. Дослідженню піддавалися тест-зразки монокомпонентного крему з 10 % ОНМ, крему комбінованого складу з 10 % ОНМ і 2 % дротаверином, розроблених науковцями ДНУ «НТК «Інститут монокристалів» НАН України».

Усі дослідження були проведені з дотриманням положень Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22.09.2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, Наказу МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів» та Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження». Програма дослідження схвалена комісією з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень НМУ імені О. О. Богомольця (протокол від 29.11.2021 р. № 153).

На першому етапі вивчення фармакологічної дії *in vivo* досліджуваних кремів з ОНМ була використана експериментальна модель псоріазоподібного ураження у мишей BALB/c, яку викликали нашкірним щоденним нанесенням іміквімоду (IMQ) [8, 9]. Для моделювання патології використовували крем «Кераворт®» (5 % IMQ). Тваринам (вік до 12 тижнів, маса тіла 20–24 г) щоденно наносили на поголену ділянку шкіри спини (площа 6 см<sup>2</sup>) IMQ у дозі 62,5 мг/добу протягом 9 діб, а на 14-й день тваринам дослідних груп посилювали запалення шляхом підшкірного введення 0,1 мл 1 % водного розчину карагінану у підшвовий

апоневроз задньої (правої) кінцівки [10–12]. Введення карагінану як бустера (підсилювача дії) тваринам з IMQ-індукованим ураженням шкіри дозволило вивчити ефективність ТЗ за умов відтворення двох механізмів запалення: гострого карагінанового і хронічного автоімунного/псоріазоподібного.

Режим введення досліджуваних ТЗ і ПП – профілактично-лікувальний. За 30 хв до введення флогогену і через 30 хв після нього на уражену кінцівку наносили ТЗ кремів або препарат ПП. Об'єм стопи (V) вимірювали за допомогою плетизмометра (Ugo Basile®, Італія) через 2 та 4 години після ін'єкції карагінану. Протизапальну активність (ПЗА) ТЗ і ПП оцінювали за зменшенням набряку, вираженим у відсотках від показника тварин групи КП.

Протизапальну активність розраховували за формулою:

$$\text{ПЗА} = 100\% - (\text{Vнд} - \text{Vзд}) * 100$$

Vнк – Vзк

де Vнд – об'єм набряклої стопи в досліді (після нанесення ТЗ);

Vзд – об'єм здорової стопи в досліді (після нанесення ТЗ);

Vнк – об'єм набряклої стопи в контролі (після введення карагінану);

Vзк – об'єм здорової стопи в контролі (інтактні тварини).

Було сформовано 5 експериментальних груп тварин: інтактний контроль, здорові тварини (ІК); контрольна патологія (КП) – тварини у яких було сформовано псоріазоподібне ураження шкіри, і які не отримували лікування; група тварин, яка після моделювання патології протягом 21-ї доби отримувала лікування ТЗ (монокомпонентний 10 % ОНМ або крем з 10 % ОНМ у комбінації з 2 % дротаверином); група тварин з модельною патологією, яких лікували препаратом порівняння (ПП) – кремом із 1 % гідрокортизоном бутиратом.

Наступним етапом нашого дослідження було *in vitro* оцінювання продукції прозапальних цитокінів IL-1 $\beta$  і IL-8 на моделі кератиноцитів людини HaCaT/P із псоріазоподібним фенотипом [13]. Модифікована сублінія кератиноцитів людини HaCaT/P відтворює псоріазоподібні зміни на клітинному рівні (підвищена чутливість до прозапальних цитокінів).

Відомо, що IL-1 $\beta$  є одним із ключових прозапальних цитокінів, що запускає й підсилює каскад імунних реакцій, впливаючи на синтез інших медіаторів (TNF- $\alpha$ , IL-6 та ін.) і проліферацію кератиноцитів. У свою чергу, IL-8 є провідним хемоатрактантом, який залучає переважно нейтрофіли і суттєво сприяє формуванню та підтриманню запальної реакції, зокрема при псоріазі. Підвищена

експресія IL-8 корелює з активною нейтрофільною інфільтрацією шкіри та утворенням мікроабсцесів Монро. Саме тому ці два цитокіни, IL-1 $\beta$  і IL-8, визнані ключовими в патогенезі псоріазу й інших хронічних запальних процесів шкіри. Вибір цих маркерів дає можливість оцінити механізм дії на різних регуляторних рівнях запальної відповіді, що робить результати дослідження максимально інформативними для характеристики протизапальної дії як складової антипсоріатичної активності.

Клітини висаджували в середовище DMEM (10 % фетальної сироватки телят (ФСТ), 1 $\times$  антибіотик/антимікотик) і культивували 24 год. Далі до клітин додавали досліджувані сполуки (ОНМ у концентрації 0,5 % або гідрокортизоновий крем у концентрації 0,05 %) і продовжували інкубувати 24 год у зволоженій атмосфері при 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °С. Після 24-годинної експозиції з досліджуваними речовинами культуральне середовище відбирали, центрифугували (1000 об/хв, 5 хв) і зберігали при -20 °С. Вміст IL-8 та IL-1 $\beta$  визначали методом ІФА (ELISA-набори Human Interleukin 8 ELISA Kit і Human

Interleukin 1 $\beta$  ELISA Kit, Fine Test). Результати виражали в пг/мл. Порівнювали контрольні клітини (NaCaT/P без обробки) із клітинами, що зазнали впливу ОНМ (0,5 %) або гідрокортизону (0,05 %).

Для обробки даних застосовували програмне забезпечення Excel 2016 і STATISTICA 6.0. Дані підлягали перевірці на нормальність розподілу (критерій Шапіро – Вілка). Оскільки вибірки відповідали нормальному розподілу, для порівняння середніх значень у двох незалежних групах використовували t-критерій Стьюдента. Різницю вважали достовірною при p<0,05.

**Обговорення.** При моделюванні іміквіמודукованого псоріазоподібного ураження шкіри у мишей лінії BALB/c наочних змін об'єму стопи не спостерігалось навіть у групах тварин КП. Додаткове введення карагітану посилювало запальний процес, що проявлялося швидким (протягом 10–15 хв) розвитком набряку і почервоніння ураженої кінцівки. Найбільше збільшення об'єму стопи (на 56,0 % через 2 год і на 48,0 % через 4 год, відносно вихідного рівня) виявляли у нелікованих тварин групи КП (табл. 1).

Таблиця 1. Показник протизапальної активності (ПЗА, %) кремів з ОНМ на моделі псоріазоподібного ураження шкіри у мишей

Експериментальні групи		Об'єм стопи тварин		
		вихідне значення	через 2 год	через 4 год
Інтактний контроль	–	0,24 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,02
Контрольна патологія	–	0,25 $\pm$ 0,01	0,39 $\pm$ 0,01 56 %	0,37 $\pm$ 0,02 48 %
Очищене нафталанове масло	ПЗА	0,22 $\pm$ 0,01	0,31 $\pm$ 0,02 21 %	0,30 $\pm$ 0,02 19 %
Очищене нафталанове масло в комбінації з дротаверином	ПЗА	0,25 $\pm$ 0,02	0,30 $\pm$ 0,01 23 %	0,26 $\pm$ 0,01 29 %
Препарат порівняння	ПЗА	0,24 $\pm$ 0,02	0,33 $\pm$ 0,02 15 %	0,25 $\pm$ 0,02 32 %

Примітка. # – p<0,05 відносно даних у тварин групи КП.

У групах тварин, яким наносили ТЗ кремів або ПП, також відзначали набряк (як прояв гострого запалення) в перші дві години після введення бустерного флогогену, проте його прояви були менш вираженими, навіть протягом наступних 2-х годин.

Протизапальна активність ТЗ однокомпонентного крему з 10 % ОНМ за умов гострої фази запалення досягала 19–21 %, тоді як при нанесенні крему з 10 % ОНМ у комбінації з 2 % дротаверином ПЗА підвищувалася до 23–29 %.

Щодо ТЗ крему з 10 % очищеним нафталановим маслом (ОНМ), то його протизапальна активність протягом спостереження залишалася нижчою: 21 % через 2 години та 19 % через 4 години після введення карагану. Комбінація 10 % ОНМ

із 2 % дротаверином продемонструвала більш виражену протизапальну дію, яка дорівнювала 23 % через 2 години з тенденцією до підвищення до 29 % на 4-ту годину спостереження. Застосування ПП призводило до незначного (близько 15 %) підвищення об'єму стопи у ранню фазу запалення, але вже через 4 години показник набряку істотно зменшувався, фактично повертаючись до вихідного рівня. Кортикостероїд гідрокортизон виявив найбільшу протизапальну ефективність, його ПЗА склала 32 %.

Цитокіни відіграють одну з провідних ролей у розвитку псоріазу, а терапія, спрямована на інтерлейкіни, належить до ефективних методів лікування пацієнтів із середнім і тяжким перебігом цієї хвороби. У нашому дослідженні було проана-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

лізовано, як змінюється рівень двох ключових прозапальних цитокінів, IL-8 та IL-1 $\beta$ , під впливом ОНМ і препарату порівняння стероїдної структури (гідрокортизонового крему). Відомо, що IL-8 стимулює надмірну проліферацію кератиноцитів при псоріазі й асоціюється зі скупченням нейтрофілів, підтримуючи запальний процес [14]. У той же час, сигнальний шлях IL-1 $\beta$  має істотне значення в патогенезі хронічних аутоімунних запальних захворювань шкіри, зокрема псоріазу, хоча детальні клітинні й молекулярні механізми цього процесу ще продовжують з'ясувати [15].

Дослідження впливу ОНМ та ПП гідрокортизону на продукцію прозапальних цитокінів (IL-8 та IL-1 $\beta$ ) на модифікованих кератиноцитах лінії HaCaT/P (із псоріазоподібними змінами) мало на

меті визначити нові ланки механізму протизапальної дії ОНМ з урахуванням змін цитокінового профілю в тканинах шкіри, що відбуваються при псоріатичному запаленні.

У контрольній групі клітин (HaCaT/P) без додавання досліджуваних ТЗ рівень інтерлейкіну-1 $\beta$  становив (67,88 $\pm$ 0,18) пг/мл. Цей цитокін є одним із ключових регуляторів запальної відповіді, він стимулює проліферацію кератиноцитів і впливає на активацію інших імунних клітин.

Додавання 0,5 % ОНМ в середовище інкубації HaCaT/P не викликало статистично значущої зміни продукції IL-1 $\beta$ , його рівень становив (63,23 $\pm$ 5,9) пг/мл, що свідчило про відсутність суттєвого впливу ОНМ на цей інтерлейкін в умовах даної експериментальної моделі (табл. 2).

Таблиця 2. Зміни продукції IL-8 та IL-1 $\beta$  кератиноцитами HaCaT/P після експозиції їх з 0,5 % ОНМ або з 0,05 % гідрокортизону (ПП)

Експериментальна група	Вміст IL-8, пг/мл	Зміни рівня IL-8	Вміст IL-1 $\beta$ , пг/мл	Зміни рівня IL-1 $\beta$
HaCaT/P контроль клітин	298,3 $\pm$ 18,1	–	67,88 $\pm$ 0,18	–
HaCaT/P + ОНМ	103,4 $\pm$ 2,5*	↓ на 65,3 %	63,23 $\pm$ 5,9	–
HaCaT/P + ПП	182,4 $\pm$ 5,2*	↓ на 38,9 %	37,15 $\pm$ 0,21*	↓ на 45,3 %

Примітка. \* – зміни показників статистично достовірні відносно контрольної групи,  $p < 0,05$ .

Гідрокортизон продемонстрував достовірне зменшення вмісту IL-1 $\beta$  на 45,3 %, це можна вважати характерним для дії глюкокортикоїдів, що традиційно проявляють імуносупресивні та протизапальні ефекти, у тому числі шляхом пригнічення ключових прозапальних цитокінів (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  тощо).

У контрольній групі клітин (HaCaT/P без додавання тест-засобів) вміст IL-8 у середовищі культури становив (298,3 $\pm$ 18,1) пг/мл. Це відповідає високому рівню синтезу IL-8, який є одним із ключових хемоатрактантів для нейтрофілів, відіграє значну роль у розвитку запального процесу при псоріазі. Динаміка змін цього медіатора запалення після уведення 0,5 % ОНМ у середовище інкубації була іншою. Додавання 0,5 % ОНМ до культури клітин HaCaT/P приводило до суттєвого ( $p < 0,05$ ) зниження рівня IL-8 на 65,3 % відносно контрольної групи клітин.

Цікаво, що препарат порівняння 0,05 % гідрокортизон знизив рівень IL-8 лише на 38,9 %, що в повній мірі узгоджується з існуючими уявленнями про механізм імуносупресивної і протизапальної дії кортикостероїдів, однак менша вираженість ефекту, порівняно з ОНМ, може вказувати на більш вибіркову дію комплексу речовин нафталанового походження саме стосовно IL-8.

Отже, за впливом на продукцію IL-1 $\beta$  ОНМ виявилось не активним, тоді як стероїдний препарат порівняння істотно пригнічував цей цитокін, що

свідчить про відмінні механізми дії цих речовин. З погляду на сучасний патогенез псоріазу [16], IL-1 $\beta$  важливий на ранніх етапах запуску запалення, він стимулює низку сигналів, що підтримують проліферацію кератиноцитів і міграцію імунних клітин (рис. 1). Натомість IL-8 критично залучений до формування клітинної інфільтрації (переважно нейтрофільної), характерної для псоріатичних бляшок. Можна зробити висновок, що ОНМ може бути ефективним у зменшенні переважно нейтрофільного компонента запалення, а гідрокортизон виявляє більш широкий спектр впливу на різні прозапальні цитокіни, включно з IL-1 $\beta$ .

#### Висновки та перспективи подальших досліджень.

У досліджах *in vivo* на моделі хронічного імікві-мод-індукованого псоріазоподібного ураження шкіри у мишей, посиленого додатковим уведенням карагінану, як індуктора гострого запалення, показано, що монокомпонентний крем з 10 % очищеним нафталановим маслом виявляв помірну, але не тривалу протизапальну активність, що дорівнювала через 2 год 21 %, а через 4 год – 19 %. Комбінація 10 % ОНМ із 2 % дротаверином продемонструвала більш виражену і тривалу протизапальну дію, яка дорівнювала 23 % через 2 години з наступним підвищенням до 29 % на 4-ту годину спостереження і була зіставна з дією препарату порівняння гідрокортизону, протизапальна дія якого склала 32 %.



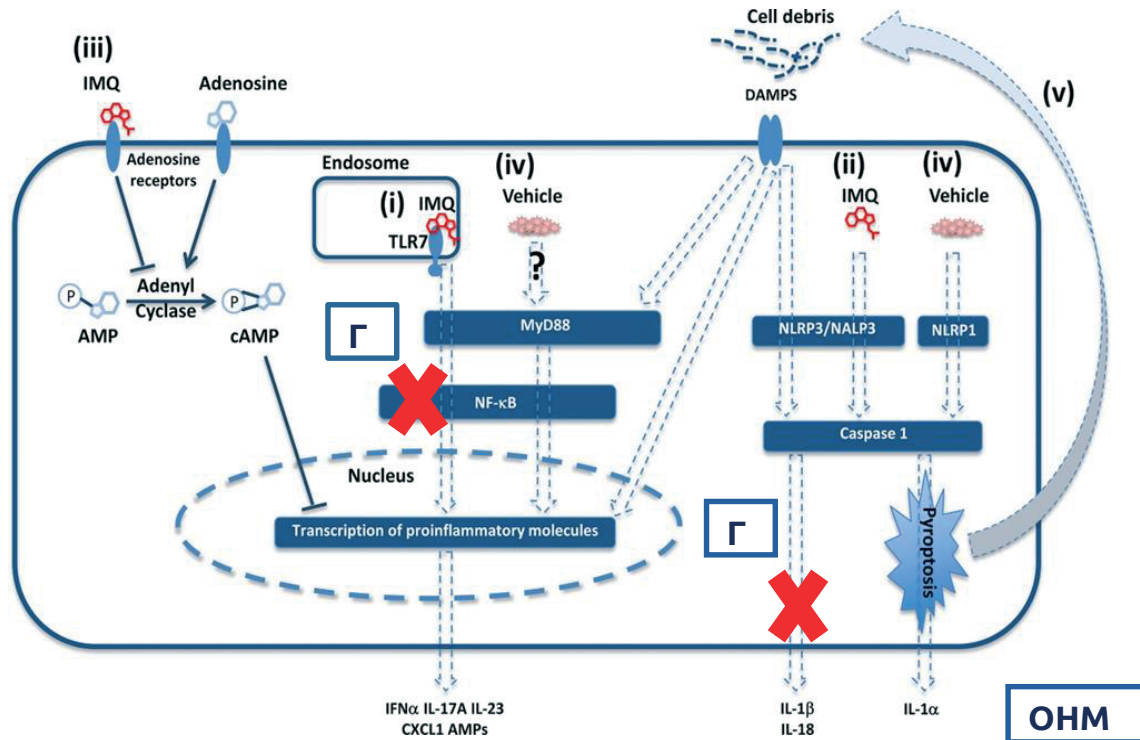


Рис. 1. Можливий механізм протизапальної дії ОНМ і гідрокортизону (припущення авторів) на моделі імівімодиндукованого псоріатичного ураження шкіри у мишей. Імівімодин (IMQ) активує імунне запалення за Flutter B. et al. [16] різними шляхами, включаючи: (i) активацію toll-подібних рецепторів TLR7-залежного шляху MyD88 (цитоплазматичний адаптерний білок) в імунних клітинах; (ii) активації інфламасоми NALP3; (iii) порушення передачі сигналів аденозинового рецептора, що призводить до зниження рівня протизапального циклічного АМФ (цАМФ); (iv) прямої активації шляху запалення через невідомі рецептори переносника лікарських засобів; (v) загибелі клітин шляхом активації каспази 1, наступного піроптозису і вивільнення IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8. Гідрокортизон (Г) виявляє протизапальну дію через інгібування ядерного нуклеофільного фактора NF- $\kappa$ B і продукцію цитокінів (IL-1 $\beta$ , IL-8), тоді як ОНМ інгібує синтез IL-8, проте більш потужно, ніж гідрокортизон.

За результатами проведеного *in vitro* дослідження встановлено, що очищене нафталанове масло у концентрації 0,5 % суттєво пригнічує синтез IL-8 псоріазоподібними кератиноцитами (лінія HaCaT/P) – на 65,3 % відносно контролю. Отримані дані підтверджують здатність ОНМ впливати на нейтрофільний компонент запального каскаду, характерний для псоріатичних уражень шкіри. Препарат порівняння – гідрокортизоновий крем (0,05 %) менш виражено знижує IL-8, однак, на відміну від ОНМ, помітно пригнічує продукцію IL-1 $\beta$  (на 45,3 %). Це свідчить про різний механізм протизапальної дії нафталанових сполук і стероїдів.

Очищене нафталанове масло потребує подальшого поглибленого вивчення, скоріше як допоміжної речовини, що має власну протизапальну дію, здатну посилювати активність інших

антифлогістиків (наприклад, інгібіторів фосфодієстерази дротаверину). Наявність стероїдоподібних сполук у його складі, виявлені фармакологічні властивості, обґрунтовують перспективи використання очищеного нафталанового масла при розробці нових антипсоріатичних засобів топічної дії.

**Джерела фінансування.** Власні кошти авторів.

**Внесок авторів:**

Г. В. Зайченко – ідея, дизайн програми дослідження, узагальнення і висновки, коректування статті;

А. О. Горбач – проведення експерименту, описання результатів, статистична обробка даних, участь у написанні й оформленні статті.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Non-aromatic naphthalene as a potential healing medium / Alajbeg Ivan et al. *Periodicum biologorum*. Zagreb: Hrvatsko prirodoslovno društvo, 2001. str. 89-89-x
2. Adigozalova V. A. Naftalan oil is a specific balneological factor of Azerbaijan. *Azerbaijan J. Phys.* 2023. Vol. 38, No. 1. P. 48–56. DOI: 10.59883/ajp.52.
3. Effect of naphthalene therapy on proliferative activity, CD4 and CD8 cell count, apoptosis and angiogenesis in the skin of psoriasis patients / Krnjević-Pezić Gordana et al. *British journal of dermatology*, 2005. P. 21–22.
4. Alajbe I. et al. Study of Croatian non-aromatic naphthalene constituents with skeletons analogous to bioactive compounds. *Journal of chromatography. A*, 2001. No. 918(1). P. 127–134.
5. Heavy naphthen oil exhibits antipsoriatic efficacy in vivo and antiproliferative as well as differentiation-inducing effects on keratinocytes in vitro / Thaci D. et al. *Arch Dermatol.* 2000. No. 136(5). P. 678–679. DOI: 10.1001/archderm.136.5.678. PMID: 10815873.
6. Теоретичне й експериментальне обґрунтування розроблення дерматологічних лікарських засобів на основі природних сполук нафталанської нафти / Зайченко Г. та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2024. № 3. С. 52–61. DOI: 10.32782/2522-9680-2024-3-52.
7. McCarron K. E., Fehrenbacher J. C. Models of inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)-induced edema and hypersensitivity in the rat *Curr. Protoc.* 2021. Vol. 1, No. 7. P. e202. DOI: 10.1002/cpz1.202.
8. Hawkes J. E., Gudjonsson J. E., Ward N. L. The snowballing literature on imiquimod-induced skin inflammation in mice: A critical appraisal. *J. Invest. Dermatol.* 2017. Vol. 137, No. 3. P. 546–549. DOI: 10.1016/j.jid.2016.10.024.
9. Comparative studies on mannan and imiquimod induced experimental plaque psoriasis inflammation in inbred mice / Wu H. et al. *Clin Exp Immunol.* 2023. Vol. 211(3). P. 288–300. DOI: 10.1093/cei/uxad004.
10. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації; під ред. О. В. Стефанова. К. : Авіцена, 2001. 528 с.
11. Bannon A. W., Malmberg A. B. Models of nociception: Hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr. Protoc. Neurosci.* 2007. Chapter 8, Unit 8.9. DOI: 10.1002/0471142301.ns0809s41.
12. Non-aromatic naphthalene as a potential healing medium. *Periodicum biologorum / Alajbeg Ivan et al.* Zagreb: Hrvatsko prirodoslovno društvo, 2001. Str. 89-89-x
13. Varma S. R., Sivaprakasam T. O., Mishra A., Prabhu S., Rafiq M., Rangesh P. Imiquimod-induced psoriasis-like inflammation in differentiated Human keratinocytes: Its evaluation using curcumin. *Eur J Pharmacol.* 2017. Vol. 813. P. 33–41. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.07.040.
14. Advances in the pathogenesis of psoriasis: from keratinocyte perspective / Zhou X. et al. *Cell Death Dis.* 2022. Vol. 13(1). P.81. DOI: 10.1038/s41419-022-04523-3.
15. Critical Role of the IL-1 $\beta$ -IL-1R Signaling Pathway in Skin Inflammation and Psoriasis Pathogenesis / Cai Y. et al. *J Invest Dermatol.* 2019. Vol. 139 (1). P. 146–156. DOI: 10.1016/j.jid.2018.07.025.
16. Flutter B., Nestle F. O. TLRs to cytokines: mechanistic insights from the imiquimod mouse model of psoriasis. *Eur J Immunol.* 2013. Vol. 43(12). P. 3138–3146. DOI: 10.1002/eji.201343801.

#### REFERENCES

1. Alajbeg I, Ivanković S, Jurin M, Alajbeg Ž, Rošin-Grget K, Cekić-Arambašin A. Non-aromatic naphthalene as a potential healing medium. *Periodicum biologorum*. Zagreb: Hrvatsko prirodoslovno društvo, 2001. str. 89-89-x
2. Adigozalova VA. Naftalan oil is a specific balneological factor of Azerbaijan. *Azerbaijan J. Phys.* 2023; 38(1):48–56. DOI: 10.59883/ajp.52.
3. Krnjević-Pezić G, Jakić-Razumović J, Vržogić P, Smeh-Skrbin A, Lipozenčić J, Pašić A. Effect of naphthalene therapy on proliferative activity, CD4 and CD8 cell count, apoptosis and angiogenesis in the skin of psoriasis patients. *British journal of dermatology*. 2005; 21-22.
4. Alajbe I, Dinter G, Alajbeg A, Telen S, & Prostenik M. Study of Croatian non-aromatic naphthalene constituents with skeletons analogous to bioactive compounds. *Journal of chromatography A*. 2001; 918(1): 127–134.
5. Thaci D, Schindewolf M, Smeh-Skrbin A, Krnjević-Pezić G, Vrzogic P, Dobric I, Kaufmann R, Boehncke WH. Heavy naphthen oil exhibits antipsoriatic efficacy in vivo and antiproliferative as well as differentiation-inducing effects on keratinocytes in vitro. *Arch Dermatol.* 2000; 136(5):678-9. DOI: 10.1001/archderm.136.5.678. PMID: 10815873.
6. Zaychenko GV, Gorchakova NO, Gorbach AO, et al. Теоретичне і експериментальне обґрунтування розроблення дерматологічних лікарських засобів на основі природних сполук нафталанської нафти [Theoretical and experimental foundations for the development of dermatological medicinal products based on natural compounds of naphthalan oil]. *Phytotherapy. Journal*. 2024; 3:52–61. DOI: 10.32782/2522-9680-2024-3-52.
7. McCarron KE, Fehrenbacher JC. Models of inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)-induced edema and hypersensitivity in the rat. *Curr. Protoc.* 2021; 1(7):e202. DOI: 10.1002/cpz1.202.
8. Hawkes JE, Gudjonsson JE, Ward NL. The snowballing literature on imiquimod-induced skin inflammation in mice: A critical appraisal. *J. Invest. Dermatol.* 2017; 137(3):546–549. DOI: 10.1016/j.jid.2016.10.024.
9. Wu H, Ou J, Li K, Wang T, Nandakumar KS. Comparative studies on mannan and imiquimod induced experimental plaque psoriasis inflammation in inbred mice. *Clin Exp Immunol.* 2023; 211(3):288-300. DOI: 10.1093/cei/uxad004. PMID: 36645209; PMCID: PMC10038325.
10. Stefanov O.V. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації [Preclinical studies of medicinal products: methodological recommendations]. К.: Авіцена, 2001. 528 p. Ukrainian.
11. Bannon AW, Malmberg AB. Models of nociception: Hot-plate, tail-flick, and formalin tests in rodents. *Curr.*

Protoc. Neurosci. 2007; Chapter 8, Unit 8.9. DOI: 10.1002/0471142301.ns0809s41.

12. Alajbeg I, Ivanković S, Jurin M, Alajbeg ŽI, Rošin-Grget K, Cekić-Arambašin A. Non-aromatic naphthalene as a potential healing medium. Periodicum biologorum. Zagreb: Hrvatsko prirodoslovno društvo, 2001. str. 89-89-x

13. Varma SR, Sivaprakasam TO, Mishra A, Prabhu S, Rafiq M, Rangesh P. Imiquimod-induced psoriasis-like inflammation in differentiated Human keratinocytes: Its evaluation using curcumin. Eur J Pharmacol. 2017; 813:33-41. DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.07.040. Epub 2017 Jul 21. PMID: 28736282.

14. Zhou X, Chen Y, Cui L, Shi Y, Guo C. Advances in the pathogenesis of psoriasis: from keratinocyte

perspective. Cell Death Dis. 2022; 13(1):81. DOI: 10.1038/s41419-022-04523-3. PMID: 35075118; PMCID: PMC8786887.

15. Cai Y, Xue F, Quan C, Qu M, Liu N, Zhang Y, Fleming C, Hu X, Zhang HG, Weichselbaum R, Fu YX, Tieri D, Rouchka EC, Zheng J, Yan J. A Critical Role of the IL-1 $\beta$ -IL-1R Signaling Pathway in Skin Inflammation and Psoriasis Pathogenesis. J Invest Dermatol. 2019; 139(1):146-156. DOI: 10.1016/j.jid.2018.07.025.

16. Flutter B, Nestle FO. TLRs to cytokines: mechanistic insights from the imiquimod mouse model of psoriasis. Eur J Immunol. 2013; 43(12):3138-46. DOI: 10.1002/eji.201343801.

**G. V. Zaychenko, A. O. Horbach**

*Bogomolets National Medical University*

## **EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE ANTI-INFLAMMATORY MECHANISM OF REFINED NAFTALAN OIL**

**SUMMARY.** Naftalan oil is a unique natural raw material with pronounced balneological properties. However, over time it was found to contain toxic and carcinogenic substances (aromatic hydrocarbons, resins), which limited its use in modern medicine. Refined Naftalan oil (RNO) has a significantly lower content of potentially hazardous compounds while preserving the spectrum of biologically active naphthenic hydrocarbons. This opens prospects for developing new topical medicinal products based on RNO with improved pharmaceutical and pharmacological properties.

**The aim** – to investigate the pharmacological properties and certain aspects of the anti-inflammatory mechanism of refined Naftalan oil.

**Materials and Methods.** Test samples of a monocomponent cream containing 10% RNO and a combined cream containing 10% RNO and 2% drotaverine were studied. In vivo, pharmacological assessments of the RNO-containing creams were performed using a model of imiquimod-induced psoriasis-like skin lesions in BALB/c mice, with an additional induction of an acute inflammatory response by carrageenan injection. The in vitro anti-inflammatory activity of RNO was evaluated by measuring the production of key pro-inflammatory cytokines (IL-1 $\beta$  and IL-8) in a model system of psoriasis-modified human keratinocytes (HaCaT/P cell line). The efficacy of the test samples was compared to 1% hydrocortisone cream.

**Discussion.** In the psoriasis-like skin lesion model enhanced by carrageenan, it was found that the monocomponent 10% RNO cream exhibited relatively low anti-inflammatory activity (19%). In contrast, the cream with 10% RNO and 2% drotaverine showed a more pronounced effect (29%), comparable to hydrocortisone (32%). Studies on HaCaT/P keratinocytes demonstrated that RNO markedly inhibited IL-8 synthesis – by nearly 65% - without affecting IL-1 $\beta$  levels, unlike the corticosteroid hydrocortisone, which reduced both IL-8 (by 39%) and IL-1 $\beta$  (by 45%).

**Conclusions.** The data indicate that the monocomponent 10% RNO cream has weak anti-inflammatory activity, whereas the combination of RNO with drotaverine demonstrates moderate efficacy. The mechanism of RNO's anti-inflammatory action appears to involve its ability to selectively modulate the synthesis of early-phase inflammatory mediators and suppress neutrophil migration by reducing IL-8 production.

**KEY WORDS:** natural-origin substances; refined Naftalan oil; dermatological agents; cream; skin lesions; anti-inflammatory action; analgesic action; pharmaceutical development.

Отримано 21.01.2025

Електронна адреса для листування: [anna.gorbach7@gmail.com](mailto:anna.gorbach7@gmail.com)