

Изучение подострой токсичности (кумуляции) жидкого экстракт Фитоаллергодерм

Б.А. Имамалиев, З.Т. Файзиева

Ташкентский фармацевтический институт,
Республика Узбекистан, 100015, Ташкент, ул. Ойбек д. 45

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Имамалиев Бахтиер Алишерович – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармации Ташкентского фармацевтического института. Тел.: +99893-516-60-81. E-mail: teokrat_1985@mail.ru. *ORCID: 0000-0002-7526-5105*

Файзиева Зиеда Тураевна – заведующая кафедрой фармакологии и клинической фармации Ташкентского фармацевтического института, доктор медицинских наук. Тел.: +99897-750-95-12. E-mail: fzt70@mail.ru. *ORCID: 0000-0001-6716-9183*

РЕЗЮМЕ

Введение. Атопический дерматит, обусловленный возрастными особенностями, локализацией и морфологией очагов воспаления, сопровождается мучительным кожным зудом и приводит к развитию аллергического воспаления. В Ташкентском фармацевтическом институте разработан жидкий экстракт Фитоаллергодерм для наружной терапии данного заболевания. Изучение кумуляции препарата помогает определить его повреждающее действие при повторных введениях, а также установить оптимальный курс безопасного приема препарата в условиях клиники.

Цель исследования – изучение подострой токсичности (кумуляции) жидкого экстракта Фитоаллергодерм.

Материал и методы. Исследование подострой токсичности проводили по методу Lim R.K. на 40 белых беспородных мышах, разделенных на 2 группы по половому признаку. Для устранения неспецифической активности этилового спирта, входящего в состав препарата. Перед началом эксперимента проводилась деалкаголизация жидкого экстракта.

Результаты. За весь период эксперимента (24 дня) после накожной аппликации жидкого экстракта Фитоаллергодерм не было установлено статистически достоверных изменений в массе опытных животных в сравнении с интактной группой. Также в течение всего периода эксперимента гибели животных не зарегистрировано. Препарат имеет хорошую переносимость при повторных накожных нанесениях. Рассчитанный коэффициент кумуляции имел значение >1 , что говорит о привыкании к препарату.

Заключение. Жидкий экстракт Фитоаллергодерм практически не оказывает кумулирующего действия при накожном нанесении и обладает хорошей переносимостью. Выявлено наличие в испытуемом препарате потенциального седативного эффекта и нейротропной активности.

Ключевые слова: атопический дерматит, жидкий экстракт, кумуляция, подострая токсичность, нарастающие дозы.

Для цитирования: Имамалиев Б.А., Файзиева З.Т. Изучение подострой токсичности (кумуляции) жидкого экстракт Фитоаллергодерм. Фармация, 2020; 69 (7): 51–56. <https://doi.org/10/29296/25419218-2020-07-09>

INVESTIGATION OF THE SUBACUTE TOXICITY (CUMULATION) OF THE LIQUID EXTRACT PHYTOALLERGODERM

B.A. Imamaliev, Z.T. Fayzieva

Tashkent Pharmaceutical Institute, 45, Oibek St., Tashkent 100015, Republic of Uzbekistan

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Imamaliev Bakhtiyor Alisherovich – Assistant of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Tashkent Pharmaceutical Institute. Tel.: +99893-516-60-81. E-mail: teokrat_1985@mail.ru. *ORCID: 0000-0002-7526-5105*

Fayzieva Ziyoda Turaевна – Head of the Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Tashkent Pharmaceutical Institute, Doctor of Medical Sciences, Tel.: +99897-750-95-12. E-mail: fzt70@mail.ru. *ORCID: 0000-0001-6716-9183*

SUMMARY

Introduction. Atopic dermatitis leads to the development of allergic inflammation that has age-related characteristics of the location and morphology of inflammatory foci, as well as painful itchy skin. The Tashkent Pharmaceutical Institute has developed the liquid extract Phytoallergoderm for the topical therapy of this disease. Studying the cumulation of the drug assists in determining its damaging effect during repeated injections and in establishing the optimal course of safe medication administration in an inpatient setting.

Objective: to investigate the subacute toxicity (cumulation) of the liquid extract Phytoallergoderm.

Material and methods. Forty outbred albino mice divided into 2 gender groups were used to investigate the subacute toxicity of the liquid extract, by using the method proposed by R.K. Lim. Before starting the experiment, the liquid extract was dealkylated to eliminate the nonspecific activity of ethyl alcohol that was part of the agent.

Results. During the entire (24-day) experiment after dermal application of the liquid extract Phytoallergoderm, there were no statistically significant weight changes in the experimental animals versus the intact group. During the entire experiment, no deaths of animals were recorded either. The drug was well tolerated during repeated dermal applications. The calculated cumulation coefficient had a value of more than 1, which indicates drug addiction.

Conclusion. The liquid extract Phytoallergoderm had practically no cumulative effect when applied to the skin and is well tolerated. The test drug was found to have a potential sedative effect and neurotropic activity.

Key words: atopic dermatitis, liquid extract, cumulation, subacute toxicity, increasing doses.

For reference: Imamaliev B.A., Fayzieva Z.T. Investigation of the subacute toxicity (cumulation) of the liquid extract Phytoallergoderm. Farmatsiya, 2020; 69 (7): 51–56. <https://doi.org/10/29296/25419218-2020-07-09>

Введение

Атопический дерматит (АтД) – хроническое аллергическое заболевание кожи, имеющее генетическую предрасположенность и сложные механизмы развития, которые приводят к нарушениям иммунного ответа, развитию аллергического воспаления и появлению определенного симптомокомплекса, для которого характерны возрастные особенности локализации и морфологии очагов воспаления, а также мучительный кожный зуд. Зачастую заболевание, начавшись в раннем детском возрасте, сопровождает пациента в течение всей жизни, приобретая хроническое рецидивирующее течение и оказывая глубокое влияние на качество жизни, социальные, психоэмоциональные и финансовые аспекты не только самого пациента, но и членов его семьи. АтД является широкораспространенным заболеванием. По данным эпидемиологических исследований, его распространенность среди детей составляет 15–30%, а среди взрослого населения – 2–10% [1].

В Ташкентском фармацевтическом институте был разработан жидкий экстракт Фитоаллергодерм, рекомендуемый для наружной терапии АтД, и имеющий следующий состав: фиалки трехцветной трава 3,0; хмеля обыкновенного соплодия 2,0; солодки голой корни 2,0; ромашки аптечной цветки 1,0; крапивы двудомной листья 1,0; календулы лекарственной цветки 1,0; хвоща полевого трава 1,0.; этиловый спирт 40% (в соотношении растительное сырье : экстрагент 1:6,8) [2].

При проведении доклинических исследований важным этапом является изучение кумуляции препарата, которое помогает определить его повреждающее действие при повторных введениях, а также установить оптимальный курс безопасного приема препарата в условиях клиники.

Перед изучением кумуляции препарата в хроническом опыте, необходимым является изучение кумуляции в условиях подострого опыта, так как результаты данного эксперимента помогают получить первичные сведения о кумуляции препарата, которые необходимы для дальнейшей организации эксперимента по изучению хронической токсичности.

Целью исследования являлось изучение подострой токсичности (кумуляции) жидкого экстракта Фитоаллергодерм, рекомендуемого для наружной терапии АтД.

Материал и методы

Исследования подострой токсичности жидкого экстракта были проведены согласно требованиям действующего регионального стандарта GLP («Надлежащая лабораторная практика»), а также с соблюдением всех норм и правил Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и научных целей. Исследования проводились на здоровых животных (мышях), прошедших карантин не менее 10–14 дней [3–5].

Изучение подострой токсичности (кумуляции) препарата проводили по методу R.K. Lim [3–8]. Эксперименты проводили на 20 белых мышак-самцах, массой тела 18–22 г с последующим разделением на группы по 10 животных в каждой и 20 белых мышак-самках массой тела 18–22 г с последующим разделением на группы по 10 животных в каждой.

Для проведения исследования и точного расчета выбранных доз предварительно в жидком экстракте Фитоаллергодерм по методике ГФ РФ установлен сухой остаток, составивший 2%, так как фармакологическое действие извлечений определяется содержанием экстрактивных веществ (сухого остатка). Учитывая, что жидкий

экстракт Фитоаллергодерм содержит этиловый спирт 40%, была проведена деалкаголизация препарата для устранения неспецифической активности этилового спирта [3]. Экстракт выпаривали до сухого остатка и затем сушили под вытяжкой при комнатной температуре с последующим доведением водой очищенной до первоначального объема, в результате чего получалась 2% деалкаголизированное извлечение. Для получения 4% деалкаголизированной вытяжки полученный сухой остаток доводили водой очищенной до половины первоначального объема.

При исследовании острой токсичности препарата средняя доза вещества, вызывающая гибель половины членов испытываемой группы (LD_{50}) (>3000 мг/кг) для кожного нанесения не была найдена. Максимально испытанная доза соответствовала V классу токсичности («Практически не токсичные») по классификатору токсичности, описанному в методическом руководстве по доклиническому исследованию лекарственных средств под редакцией А.В. Стефанова, поэтому нами для вычисления доли от LD_{50} была использована максимально испытанная доза. За 24 ч до экспозиции препарата подготавливали животных (выстригали шерсть на поверхности кожи спины и боков мышей). Далее по схеме (табл. 1) деалкаголизированную вытяжку ежедневно однократно наносили животным на выстриженную поверхность кожи с помощью обильно смоченной четырехслойной марлевой салфетки.

При этом суммарная доза за 24 дня составляла $8,24 LD_{50}$. Вывод об эффекте препарата делали на основании величины коэффициента кумуляции K , при $K < 1$ — кумуляция, или $K > 1$ — привыкание. Коэффициент кумуляции вычисляли по формуле:

$$K = nLD_{50} / LD_{50}$$

где, K — коэффициент кумуляции; nLD_{50} — среднесмертельная доза при n -кратном нанесении; LD_{50} — среднесмертельная доза при однократном нанесении.

В ходе эксперимента вели оценку клинической картины интоксикации (ежедневно), изменения прироста массы тела (еженедельно), летальность животных, а также в конце эксперимента производили забой выживших животных (методом карниоцервикальной дислокации) и производили макроскопическую оценку состояния внутренних органов.

Во время эксперимента все животные содержались в стандартных условиях вивария, и находились на полноценном пищевом и водном рационе. Эксперимент проводился летом, температура помещения находилась в интервале $27-29^{\circ}C$ (такая температура в помещении поддерживалась из-за потери большей части шерстного покрова), относительная влажность — в интервале $40-70\%$.

Результаты обработаны методом вариационной статистики по критерию Стьюдента при $p=0,05$ [2, 3]. В таблицах приведены средние арифметические значения (M), соответствующие им стандартные ошибки среднего значения (m), критерий Стьюдента (t), количество выборок (n), доверительные границы (нижняя доверительная граница — верхняя доверительная граница).

Результаты и обсуждение

Клиническая картина интоксикации у животных-самцов. На первые сутки после нанесения препарата не наблюдалось существенных изме-

Схема экспозиции препарата при изучении подострой токсичности

Таблица 1

A drug exposure scheme in the investigation of subacute toxicity

Table 1

Дни аппликации	Доля от LD_{50}	Доза препарата, мг/кг	Объем аппликации, мл/20 г	Концентрация раствора, %	Площадь аппликации, mm^2
1-4	0,1	300	0,3	2	15×10
5-8	0,15	450	0,45	2	20×15
9-12	0,22	660	0,66	2	25×20
13-16	0,34	1020	1,02	2	30×25
17-20	0,50	1500	1,5	2	33×29
21-24	0,75	2250	1,13	4	33×29

нений общего состояния и поведения. На вторые сутки через 30 мин после нанесения препарата отмечалось снижение двигательной активности у двоих мышей (симптомы длились в течение 1 ч), при этом еще у двоих мышей – легкое возбуждение (симптомы длились в течение 30 мин). На третьи сутки через 25 мин после нанесения препарата у 8 животных появлялось снижение двигательной активности и умеренно выраженное кучкование (симптомы длились в течение 3 ч), через 1 ч после экспозиции у 4 животных из этих 8 наблюдалась сонливость. На 4-е сутки через 30 мин после нанесения препарата у 6 мышей наблюдалось выраженное снижение двигательной активности, а у 4 животных умеренное снижение двигательной активности, данные симптомы длились 1 ч. На 5-е сутки через 30 мин после нанесения вытяжки у троих мышей наблюдалось выраженное снижение двигательной активности (симптомы длились в течение 30 мин), а у 6 мышей умеренное снижение двигательной активности (симптомы длились в течение 30 мин). На 6-е сутки через 20 мин после нанесения препарата у троих животных наблюдалось выраженное снижение двигательной активности (симптомы длились в течение 30 мин), в то время как у семи животных умеренное снижение двигательной активности (симптомы длились в течение 30 мин). На 7-е сутки через 20 мин после нанесения препарата у троих животных наблюдалось выраженное снижение двигательной активности (симптомы длились в течение 30 мин), у 7 животных умеренное снижение двигательной активности (в течение 30 мин). На 8-е сутки через 30 мин после нанесения вытяжки у 1 мыши наблюдалось выраженное снижение двигательной активности (симптомы длились в течение 15 мин). На 9-е и последующие сутки после экспозиций нарастающих доз экстракта у животных не были зарегистрированы существенные изменения общего состояния и поведения.

Клиническая картина интоксикации у животных-самок: На 1-е и 2-е сутки после нанесения препарата существенных изменений общего состояния и поведения не наблюдалось. На 3-и сутки через 40 мин после нанесения препарата, у 5 животных наблюдалось снижение двигательной активности с последующим переходом ко сну (симптомы длились в течение 4 ч), при этом наблюдалось легкое кучкование животных. На 4-е сутки через 30 мин после нанесения препарата у всех животных наблюдались снижение двигательной активности и кучкование с последующим переходом ко сну (симптомы длились в течение 5 ч). На 5-е сутки через 30 мин после нанесения препарата у всех животных наблюдались снижение двигательной активности и кучкование с последующим переходом ко сну (симптомы длились в течение 5 ч). На 6-е сутки через 20 мин после нанесения препарата у 6 животных наблюдалось выраженное снижение двигательной активности, а у 4 животных – умеренное снижение двигательной активности, данные симптомы длились в течение 1 ч. На 7-е сутки через 20 мин после нанесения препарата у 6 животных наблюдалось выраженное снижение двигательной активности, а у 4 животных – умеренное снижение двигательной активности, данные симптомы длились в течение 1 ч. На 8–13-е сутки через 10 мин после нанесения препарата у животных наблюдались кучкование и снижение двигательной активности у 5 животных выражено, еще у 5 – умеренно, данные симптомы длились не более 35 мин. На 14-е сутки через 20 мин после нанесения вытяжки лишь у 3 животных наблюдалось снижение двигательной активности (симптомы длились в течение 30 мин). На 15-е и последующие сутки после экспозиций нарастающих доз вытяжки у животных не были зарегистрированы существенные изменения общего состояния и поведения.

Также после подкожной аппликации препарата за весь период эксперимента не было установлено статистически достоверных изменений в массе опытных животных в сравнении с интактной группой ни у самцов, ни у самок (табл. 2). Также в течение всего периода эксперимента в обеих группах не было зарегистрировано гибели животных.

Макроскопические исследования самцов и самок показали отсутствие достоверных изменений в органах грудной и брюшной полости, по сравнению с интактным контролем. При вскрытии внутренние органы в торакальной и абдоминальной полостях были обычными по цвету, консистенции, анатомотопографическим параметрам.

Согласно полученным данным по летальности было проведено вычисление коэффициента кумуляции K (табл. 3), который из-за отсутствия гибели животных при введении нарастающих доз составил $K > 8,24$. Таким образом, мы можем говорить о привыкании к препарату, так как полученное значение > 1 .

Исходя из результатов вычисления коэффициента кумуляции, можно сказать, что жидкий экстракт Фитоаллергодерм практически не ока-

Таблица 2

Изменение прироста массы тела животных (в граммах) ($M \pm m$; $n=10$; $p=0,05$)

Table 2

Change in animals' weight gain (grams) ($M \pm m$; $n=10$; $p=0,05$)

Группа	Исходная масса	На 7-е сутки	На 14-е сутки	На 21-е сутки
<i>Самцы</i>				
Интакт	18,90 (18,04–19,76)	21,20 (19,66–22,74)	25,10 (22,70–27,50)	28,00 (25,87–30,13)
Жидкий экстракт Фитоаллергодерм	19,40 (18,56–20,24)	22,50 (21,37–23,63)	24,50 (23,37–25,63)	27,10 (25,43–28,77)
<i>Самки</i>				
Интакт	18,70 (18,22–19,18)	22,90 (21,53–24,27)	26,00 (24,45–27,55)	26,90 (24,68–29,12)
Жидкий экстракт Фитоаллергодерм	18,80 (18,50–19,10)	21,30 (20,08–22,52)	24,30 (22,95–25,65)	25,30 (23,75–26,85)

Таблица 3

Результаты вычисления коэффициента кумуляции для жидкого экстракта Фитоаллергодерм

Table 3

The results of calculating the cumulation coefficient for the liquid extract Phytoallergoderm

Группа животных	ЛД ₅₀ , мг/кг	nЛД ₅₀ , мг/кг	К	Среднее значение К (для обоих полов)
Самцы	>3000	>24 720	>8,24	>8,24
Самки	>3000	>24 720	>8,24	

зывает кумулирующего действия при накожном нанесении. Препарат имеет хорошую переносимость при повторных накожных нанесениях, т.к. при накожной экспозиции нарастающих доз препарата в условиях подострого опыта не возникает гибели животных.

При изучении клинической картины интоксикации установлено, что жидкий экстракт при накожном нанесении нарастающих доз проявляет потенциальный седативный эффект и тем самым проявляет нейротропную активность, которая возникает у самцов немного быстрее, чем у самок, но и заканчивается у самцов немного быстрее, чем у самок. Разница в наступлении нейротропной активности у самцов и у самок, несмотря на различия во времени, в целом сопоставима. Следует сказать, что наличие потенциальной седативной активности является полезным свойством для препарата, т.к. АД сопровождается сильным кожным зудом. Наличие потенциальной седативной активности в фармакологическом препарате успокоит мучительный кожный зуд и в итоге препарат будет оказывать положительный терапевтический эффект. Отсутствия достоверных изменений в приросте массы тела и достоверных изменений (при макроскопической

оценке) во внутренних органах грудной и брюшной полости также говорит о хорошей переносимости жидкого экстракта.

Заключение

Изучена кумуляция жидкого экстракта Фитоаллергодерм на белых беспородных мышах. Установлено, что препарат практически не оказывает кумулирующего действия при накожном нанесении и обладает хорошей переносимостью. При проведении подострого опыта выявлено наличие в испытуемом препарате потенциального седативного эффекта и нейротропной активности. Нейротропная активность между полами животных в целом сопоставима. Выявлено, что жидкий экстракт при накожной экспозиции не оказывает статистически достоверного влияния на прирост массы тела опытных животных.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература

1. Елисютина О.Г., Ерина О.А. Контроль аллергического воспаления кожи при atopическом дерматите с применением топических ингибиторов кальциневрина. Российский аллергологический журнал. 2015; 6: 84–93.
2. Имамалиев Б.А. Технология жидкого экстракта фито-комплекса Фитоаллергодерм, методом мацерации с последующим разбавлением. Фармацевтический вестник Узбекистана, 2016; 2: 11–15.
3. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под ред. Р.У. Хабриева). М.: Медицина, 2005; 832.
4. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. (под ред. А.Н. Миронова). М.: Гриф и К, 2012; 944.
5. Доклинические исследования лекарственных средств (методические рекомендации, под ред. А.В. Стефанова). Киев: Авицена, 2002; 568.
6. Тритэк В. С., Гуляев А. Е. Способ определения коэффициента кумуляции в токсикологическом исследовании. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011; 3: 35–6.
7. Штабский Б.М. Учение о кумуляции и его применение в профилактической токсикологии. Часть 3. (Экспериментальные данные и их обсуждение). Актуальные проблемы транспортной медицины. 2014; 1 (35): 35–6.
8. Гуськова Т.А. Токсикология лекарственных средств. М.: Русский врач, 2003; 154.

References

1. Elisyutina O. G., Erina O. A. Control of allergic skin inflammation in atopic dermatitis using topical calcineurin inhibitors. Rossiyskiy allergologicheskiy zurnal. 2015; 6: 84–93 (in Russian)
2. Imamaliev B.A. The technology of the liquid extract of the phytocomplex «Phytoallergoderm» by maceration followed by dilution. Farmatsevticheskiy vestnik Uzbekistana. 2016; 2: 11–5 (in Russian)
3. Guidance on the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances (ed. R. U. Khabriev). M.: Meditsine, 2005; 832 (in Russian)
4. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part 1. (ed. A.N. Mironov). M.: Grif and K, 2012; 944 (in Russian)
5. Preclinical studies of drugs (guidelines). (ed. A.V. Stefanova). Kiev: Avicena, 2002; 568 (in Russian)
6. Tritex V.S., Gulyaev A.E. A method for determining the cumulation coefficient in a toxicological study. Eksperimentalnaya i klinicheskaya farmakologiya. 2011; 3: 35–6 (in Russian)
7. Shtabskiy B.M. The doctrine of cumulation and its application in preventive toxicology. Part 3. (Experimental data and their discussion). Aktualnie problemi transportnoy meditsini. 2014; 1 (35): 35–6 (in Russian)
8. Guskova T.A. Toxicology of drugs. M.: Russkiy vrach, 2003; 154 (in Russian)

Поступила 26 сентября 2020г.

Received 26 September 2020

Принята к публикации 15 октября 2020 г.

Accepted 15 October 2020