

УДК 615.262.1:544.252.24+547.94

Ю. А. Бойко¹, канд. биол. наук,
И. А. Кравченко, д-р биол. наук,
А. А. Шандра¹, д-р мед. наук,
М. Аят

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОЙ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С КАПСАИЦИНОМ

¹ Одесский национальный медицинский университет,
Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова

Введение

В настоящее время основные средства, используемые в противовоспалительной терапии, принято делить на две большие группы — стероидные и нестероидные противовоспалительные препараты [1]. Группа стероидных противовоспалительных препаратов (СПВП), хотя и является сравнительно однородной по химическому строению, способна оказывать действие на самые различные звенья воспалительного процесса. В отличие от СПВП, нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) гораздо более разнообразны по своему химическому строению, но для большинства из них механизм противовоспалительного действия основан на уменьшении синтеза перекисных производных арахидоновой кислоты путем ингибирования ферментной группы циклооксигеназ [2]. Подобный узкий спектр действия серьезно ограничивает возможности применения НПВП и делает актуальной задачу поиска таких препаратов с принципиально новыми механизмами действия.

К НПВП с принципиально отличным механизмом действия, не затрагивающим циклооксигеназную активность, относятся препараты на основе *Cap-sicum annuum L.* (перца однолетнего). Использование перца од-

нолетнего в качестве лекарственного средства имеет длительную историю, было начато в Европе в XIX ст. и продолжается по сей день [3]. В качестве противовоспалительных средств препараты перца применяются при остеоартритах [4; 5], кожных и нейропатических болях [6; 7]. Основной группой соединений, оказывающих терапевтическое действие, служат капсаициноиды — алкалоидоподобные амиды, обуславливающие острый вкус и местное раздражающее действие препаратов перца [8; 9]. Наиболее распространенным представителем среди капсаициноидов является капсаицин, в связи с чем он был выбран в качестве действующего вещества для новой лекарственной формы с местным противовоспалительным эффектом. Небольшой молекулярный вес, а также липофильные свойства капсаицина позволяют предположить высокую чрескожную проницаемость этого соединения при правильном подборе соответствующей трансдермальной терапевтической системы.

Цель данной работы — изучение противовоспалительных свойств новых лекарственных форм с капсаицином.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось на белых беспородных крысах-

самцах, массой 180–220 г, содержащихся в стандартных условиях вивария, со свободным доступом к пище и воде. Все исследования соответствовали правилам «Европейской конвенции защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях» [10] (Страсбург, 1986) и принципам Национального конгресса Украины по биоэтике (Киев, 2003) [11].

Жидкокристаллические (ЖК) лекарственные формы готовили путем смешения 5 частей холестерилпеларгоната, 2,5 частей холестерилвалерата и 2,5 частей холестериладипината. Полученную смесь расплавляли, тщательно перемешивая. К расплаву добавляли действующее вещество, получаемая концентрация составляла 0,1 % по массе. В качестве действующего вещества использовали капсаицин — ванилиламид 8-метил-6-ноненовой кислоты (Wako Pure Chemical Ind., Китай). Эфиры холестерина для ЖК матриц были получены в отделе молекулярной структуры Физико-химического института им. А. В. Богатского НАН Украины.

Для модели воспаления были сформированы две группы животных — контрольная и опытная, по 10 крыс в каждой. Неспецифическое асептическое воспаление воспроизводили при помощи введения полного

адьюванта Фрейнда в область плюсневого сустава правой конечности в объеме 0,1 мл [12]. Лечение осуществляли с помощью нанесения на область воспаления конечности мягкой лекарственной формы один раз в сутки, начиная со следующего дня после введения флогогена и до полного выздоровления. Для контрольной группы животных терапевтический препарат заменяли дистиллированной водой.

Эффективность лечения оценивали по изменению морфологических признаков воспаления — ширины и объема конечности в области поражения. Ширину конечности измеряли электронным штангенциркулем УТ-7201 (УАТО, Польша). Под шириной понимали линейное расстояние от дорсальной до плантарной поверхности ступни в воспаленном участке. Изменение объема конечности определяли с помощью цифрового плетизмометра 37140 (UgoBasile, Китай).

Биохимические показатели крови — активность сывороточной холинэстеразы и общее количество серомукоидов в плазме крови — измеряли с помощью коммерческих тест-систем для экспресс-анализа производства ООО НПП «Филисит-Диагностика» (Украина).

Статистическую достоверность рассчитывали с использованием критерия Стьюдента в программном пакете MS Office.

Результаты исследования и их обсуждение

Введение адьюванта Фрейнда в область плюсневого сустава вызывало развитие острого неспецифического воспаления, которое при отсутствии лечения может переходить в хроническую форму, а в некоторых случаях вызывать ревматоидноподобное воспаление аналогичного сустава противоположной конечности. Подобная модель хорошо подходит для изучения лечебного эффекта капсаицина, терапевтический механизм действия которого основан на воздействии на специфические ванилоидчувствитель-

Ширина отека, мм

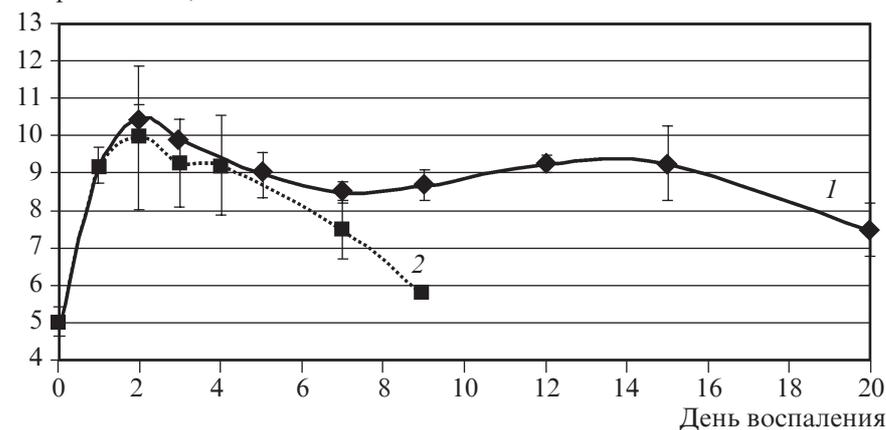


Рис. 1. Влияние жидкокристаллической системы с капсаицином на показатели ширины конечности в области адьювант-индуцированного воспаления у крыс. На рис. 1, 2: 1 — контроль; 2 — капсаицин + ЖК

ные рецепторы, уменьшении продуцирования субстанции Р в области воспаления, а также усилении микроциркуляции, что ведет к уменьшению отечных проявлений и улучшает местный гомеостаз [13; 14]. Данные изменения морфологических показателей воспалительного процесса (ширины и объема воспаленного участка), полученные для опытной и контрольной групп животных, приведены на рис. 1 и 2.

Уменьшение отека и, как следствие, уменьшение объема конечности в области воспаления фиксировалось уже на второй день лечения. Достоверные отличия в ширине воспаленного участка между опытной и контрольной группой животных наблюдались после 7-го дня

лечения, ширина отека в контрольной группе в 1,5 раза превосходила ширину отека в опытной группе. К 10-му дню лечения происходил возврат линейных показателей конечности в пораженной зоне к значениям, зарегистрированным до индуцирования воспалительного процесса (~ 5,5 мм ширина и ~ 0,9 мл объем). При этом наблюдалось не только исчезновение морфологических признаков воспаления — отека, покраснения, но и восстановление функциональной активности. Начиная с 10-го дня лечения, крысы свободно опирались на поврежденную конечность, при пальпации не обнаруживалась болезненность, полностью восстанавливалась подвижность в области плюсневого сустава.

Объем отека, мл

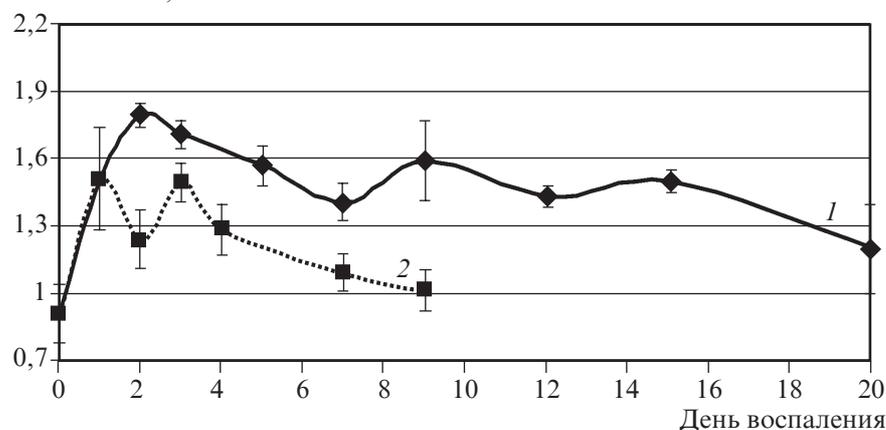


Рис. 2. Влияние жидкокристаллической системы с капсаицином на показатели объема конечности в области адьювант-индуцированного воспаления у крыс

В контрольной группе признаки воспаления отмечались до 20-го дня после введения флогена, в дальнейшем воспалительный процесс принимал хронический характер. Эффективность использованной терапевтической схемы мы можем объяснить не только значительным противовоспалительным действием капсаицина, но и высокой способностью ЖК матрицы усиливать чрескожную проницаемость для этого вещества.

Степень чрескожной проницаемости лекарственного вещества в случае трансдермального способа применения является одним из главных лимитирующих факторов, определяющих эффективность лечебного препарата. В наших работах [15; 16] было показано, что использование ЖК систем эфиров холестерина позволяет добиться значительного увеличения кожной проницаемости для небольших липофильных молекул, содержащих в своем составе ароматические и гетероциклы. Это становится возможным благодаря тому, что эфиры холестерина, будучи минорными компонентами мембран рогового слоя эпителия, определяют особенности липидной компоновки и влияют на уровень мембранной текучести. Дополнительным фактором, способствующим легкому встраиванию эфиров холестерина в липидные слои кожи, служит нахождение в переходной ЖК фазе смесей на их основе. Подобное фазовое состояние близко к фазовому состоянию биологических мембран, что значительно упрощает процесс проникновения данных веществ в кожные слои.

Использование лекарственной формы, состоящей из ЖК матрицы на основе эфиров холестерина и капсаицина в качестве активного вещества позволило добиться заметного лечебного эффекта в случае применения на модели адьювант-индуцированного воспаления.

Наряду с внешними признаками воспалительного процесса, бесспорную диагностиче-

скую ценность представляют также биохимические показатели сыворотки крови. В качестве подобных воспалительных маркеров нами были выбраны активность холинэстеразы и общее содержание серомукоидов. Данные об активности холинэстеразы представлены в табл. 1.

В зависимости от типа воспалительного процесса уровень холинэстеразы может как снижаться, так и повышаться. Введение адьюванта Фрейнда, сопровождающееся развитием острого воспаления, приводит к нарушению целостности волокон мышечной ткани, что повышает количество плазменной холинэстеразы и вызывает рост ее активности. При лечении лекарственной формой с капсаицином восстановление активности холинэстеразы до уровня, наблюдавшегося перед введением флогена — 48,68 мкмоль/(с·л), происходило на 9-й день. В группе сравнения активность фермента на 20-й день воспаления превосходила начальные показатели в 2,5 раза.

Показатели общего количества серомукоидов в сыворотке крови приведены в табл. 2.

Разрушение соединительной ткани в острой фазе воспалительного процесса сопровождается массированным попаданием серомукоидов в плазму крови. Динамика изменения их концентрации является важным прогностическим признаком при поражениях соединительной ткани, в том числе местных воспалительных процессов. Терапевтические мероприятия с использованием лекарственной формы с капсаицином позволили снизить количество серомукоидов сыворотки крови до начальных показателей (0,52 ед. опт. пл.) на 12-й день. Такое снижение свидетельствует о начале репаративных процессов соединительных тканей. В группе контроля сывороточные концентрации серомукоидов превосходили довоспалительные показатели более чем в 2 раза.

Динамика изменений биохимических показателей сыворотки крови хорошо коррелирует

Таблица 1
Активность сывороточной холинэстеразы при лечении неспецифического воспаления у крыс, мкмоль/(с·л)

| День | Контрольная группа | Лечение ЖК + капсаицин |
|------|--------------------|------------------------|
| 0 | 48,68 | 48,68 |
| 1 | 91,53 | 91,53 |
| 2 | 175,92 | 163,58 |
| 3 | 154,73 | 126,58 |
| 4 | 149,28 | 95,42* |
| 7 | 146,81 | 80,10* |
| 9 | 156,29 | 62,30* |
| 12 | 176,46 | 51,84 |
| 15 | 158,36 | — |
| 20 | 118,69 | — |

Примечание. В табл. 1, 2: * — достоверное отличие от контроля, $p < 0,05$.

с соответствующими изменениями в морфологических признаках воспалительного процесса как для группы лечения, так и для контрольной группы животных.

Выводы

Проведенные исследования показали эффективность использования капсаицина в качестве противовоспалительного агента при адьювант-индуцированном неспецифическом воспалении. Использованная жидкокристаллическая матрица позволила, на наш взгляд, добиться высокой терапевтической концентрации действующего вещества.

Таблица 2
Концентрация серомукоидов в сыворотке крови при лечении неспецифического воспаления у крыс, ед. опт. пл.

| День | Контрольная группа | Лечение ЖК + капсаицин |
|------|--------------------|------------------------|
| 0 | 0,52 | 0,52 |
| 1 | 0,84 | 0,84 |
| 2 | 1,15 | 1,10 |
| 3 | 1,45 | 1,37 |
| 4 | 1,50 | 1,15* |
| 7 | 1,62 | 1,01* |
| 9 | 1,55 | 0,75* |
| 12 | 1,90 | 0,57* |
| 15 | 1,67 | — |
| 20 | 1,18 | — |

ющего вещества в очаге воспаления благодаря заметному увеличению чрескожной проницаемости для капсаицина. Уменьшение таких признаков воспаления как отек, покраснение, болезненность, нарушение функции было зарегистрировано нами уже после 2-го дня лечения. Полное восстановление морфологических показателей в зоне воспаления наблюдалось после 9-го дня лечения. В группе животных, не получавших лечение, признаки воспалительного процесса регистрировались вплоть до 20-го дня после введения флогогена. Нормализация биохимических показателей крови — активность сывороточной холинэстеразы и концентрация серомукоидов — также свидетельствует об улучшении состояния животных, лечившихся капсаицином.

ЛИТЕРАТУРА

1. Харкевич Д. А. Фармакология / Д. А. Харкевич. — 10-е изд. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. — 908 с.
2. Беловол А. Н. Нестероидные противовоспалительные препараты: фокус на кеторолак / А. Н. Беловол, И. И. Князькова // Мистецтво лікування. — 2012. — № 1. — С. 15–19.
3. Bartolotty M. Red papper: from the kitchen to pharmacy / M. Bartolotty // J. Gastrointestinal Liver Dis. — 2013. — Vol. 22, N 3. — P. 253–256.
4. OARSI recommendations for management of hip and knee osteoarthritis, Part II: OARSI evidence-based, expert consensus guidelines / W. Zhang, R. W. Moskowitz, G. Nuki [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. — 2008. — Vol. 16. — P. 137–162.
5. McCarthy G. M. Effect of topical capsaicin in the therapy of painful osteoarthritis of the hands / G. M. McCarthy, D. J. McCarty // J. Rheumatol. — 1992. — Vol. 19. — P. 604–607.
6. Epstein J. B. Topical application of capsaicin for treatment of oral neuropathic pain and trigeminal neuralgia / J. B. Epstein, J. H. Marcoe // Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol. — 1994. — Vol. 77. — P. 135–140.
7. Phase III placebo controlled trial of capsaicin cream in the management of surgical neuropathic pain in cancer patients / N. Ellison, C. L. Loprinzi, J. Kugler [et al.] // J. Clin. Oncol. — 1997. — Vol. 15. — P. 2974–2980.
8. Определение содержания капсаицина в разных сортах *Capsicum annuum* и изучение противовоспалительной активности его спиртовых экстрактов / Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, Р. Б. Богомольный, Аяд Мохаммед // Химия растительного сырья. — 2014. — № 3. — С. 303–308.
9. Куркин В. А. Стандартизация сырья и препаратов перца однолетнего / В. А. Куркин, Л. Р. Сулейманова // Фармация. — 2010. — № 6. — С. 15–18.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. — Strasbourg, Council of Europe, 1986. — N 123. — 51 p.
11. Загальноетичні принципи експериментів на тваринах // Ендокринологія. — 2003. — Т. 8, № 1. — С. 142–145.
12. Стефанов О. В. Доклинические исследования лекарственных препаратов / О. В. Стефанов — К. : Авицена, 2001 — 528 с.
13. Interaction between cyclooxygenase inhibitors and capsaicin-sensitive afferent sensory nerves in pathogenesis of stress-induced gastric lesion. Role of oxidative stress / S. Kwicien, P. C. Konturek, A. Sliwowski [et al.] // J. Physiol. Pharmacol. — 2012. — Vol. 63, N 2. — P. 143–151
14. Evaluation of in-vitro antibacterial anti-inflammatory activity for different extracts of *Rauvolfia tetraphylla* L. root bark / B. G. Rao, P. U. Rao, E. S. Rao [et al.] // Asian Pac. J. Trop. Biomed. — 2012. — Vol. 2, N 10. — P. 818–821.
15. Бойко Ю. А. Влияние жидкокристаллических систем эфиров холестерина на проницаемость и молекулярные свойства рогового слоя кожи *in vitro* / Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, Н. С. Новикова // Вісник Одеського національного університету — 2010. — Т. 15, № 13. — С. 106–114
16. Пат. на корисну модель 62236 Україна Засіб, що підсилює проникність шкіри для похідних 1,4-бенздіазепіну / Кравченко І. А., Бойко Ю. О., Новикова Н. С., Килименчук О. Д.; заявник та правовласник фіз.-хім. інститут ім. В. О. Богатського НАН України. — № у 2010 14097; заявл. 26.11.2010; опубл. 25.08.2011, Бюл. № 16.

Поступила 23.06.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Р. С. Вастьянов

УДК 615.262.1:544.252.24+547.94

Ю. А. Бойко, И. А. Кравченко, А. А. Шандра, М. Аят ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОЙ ЖИДКОКРИСТАЛЛИЧЕСКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ С КАПСАИЦИНОМ

Противовоспалительный эффект капсаицина (активно-го соединения плодов *Capsicum annuum* L. [Solanaceae]) хорошо известен и показан в целом ряде исследований. Цель нашей работы — изучение противовоспалительной активности капсаицина в условиях модели острого локального воспалительного процесса. Для этого были приготовлены смеси с капсаицином, содержащие 50 % холестерилпеларгоната, 25 % холестерилвалерата, 25 % холестерилдипината. Лечение адьювант-индуцированного воспаления проводили жидкокристаллической лекарственной формой с капсаицином. Адьювант Фрейнда вводили субплантарно, что приводило к развитию ярко выраженной болезненной отечной воспалительной реакции задней конечности. Показано, что лечение капсаицином достоверно уменьшало проявления отека по сравнению с контрольной группой животных, где капсаицин был заменен на дистиллированную воду. Уровень активности сывороточной холинэстеразы и количество серомукоидов достоверно снижалось на 12-й день лечения капсаицином. Таким образом, жидкокристаллическая лекарственная форма с капсаицином обладает выраженными противовоспалительными свойствами.

Ключевые слова: капсаицин, воспаление, адьювант Фрейнда.

UDC 615.262.1:544.252.24+547.94

Yu. A. Boyko, I. A. Kravchenko, A. A. Shandra, M. Ayat ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF THE NEW LIQUID-CRYSTALLINE MEDICINAL FORM WITH CAPSAICIN

The anti-inflammatory effect of capsaicin (the active ingredient in *Capsicum annuum* L. [Solanaceae]) had been reported in several studies. The subject of the work is to determine the efficacy of topically applied capsaicin for acute inflammation. Topical liquid-crystalline cream with capsaicin are used to treat Freund's adjuvant induced inflammation. Formulation with capsaicin containing 25% cholesteroladipinate, 25% cholesterolvalerate, and 50% cholesterol pelargonate were prepared. Sub-plantar injections of Freund's adjuvant produced profound and time-related oedema in the rat hind paw. Capsaicin significantly inhibited paw swelling ($p < 0.05$) as compared to distilled water-treated 'controls'. The acetylcholinesterase and seromucoids levels were of normal range on the 12th day of treatment with capsaicin. It may be concluded that capsaicin has anti-inflammatory properties.

Key words: capsaicin, inflammation, Freund's adjuvant.