



УДК 615.218'454.1.015.06.099:616-092.9

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ НАРУЖНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ С ДИМЕБОНОМ

К.Н. КОРЯНОВА¹, А.В. МАЙОРОВА²
З.Ф. СТЕПАНОВА¹, И.А. САВЕНКО¹

¹Пятигорская государственная
фармацевтическая академия

²Российский университет дружбы
народов, г. Москва

e-mail: kskor-16@mail.ru

Приводится обзор результатов исследования возможности применения крема с димебоном для последующего изучения специфической (антиаллергической) активности разработанных лекарственных форм. Проведена оценка раздражающего действия *in situ* и *in vivo*, также изучена острая токсичность по оценке выживаемости мышей с учетом рассчитанной LD₅₀.

Ключевые слова: димебон крем, аллергия, токсическое действие, раздражающая активность.

Введение. На сегодняшний день аллергические заболевания имеют широкую клиническую картину. При их лечении применяется комплексный подход. Местное лечение предполагает наличие широкого диапазона наружных лекарственных форм, которые могут снять или смягчить те или иные аллергические проявления. Ранее нами был разработан крем с димебоном, фармакологическое действие которого обусловлено блокированием H₁-гистаминовых рецепторов [10]. Димебон, как правило, применяется для симптоматического лечения аллергических реакций, вызванных различными внешними факторами [3, 5].

Цель данных исследований – фармакологическое изучение возможности применения наружных лекарственных форм с димебоном, их безопасности, а также определение раздражающей активности и острой токсичности крема с димебоном.

Материалы. Раздражающее действие крема оценивали *in situ* на 18 куриных эмбрионах белых кур породы Leggorn возраста 9-10 суток и *in vivo* на переднем сегменте глаза морских свинок. Опыты *in vivo* проводились на 9 морских свинках массой 350-400г [8]. Острая токсичность изучалась на мышах массой 20±1,0 г [13].

Статистическую обработку полученных результатов производили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых рядов. Результаты опытов сравнивали с исходными показателями, с животными, не получившими лечения [14]. Расчёты результатов проводились в пакете компьютерной программы Microsoft Excel 2000 [7]. Изменения исследуемых показателей считались статистически значимыми при $p < 0,05$ [2, 6, 7, 11].

Методы.

1. Оценка раздражающего действия

Тест на хорион-аллантоисной оболочке куриного эмбриона (НЕТ – CAMtest) [12, 15]. Вещество тестировали в 18 повторностях (12 – опыт, 6 – контроль). Результаты эксперимента наблюдали с помощью бинокулярного микроскопа и фиксировали при использовании цифрового фото на основе компьютерной программы Intel® Play© QX3© Computer Microscope.

Испытания раздражающего действия на животных. Проводили по схеме, используемой в настоящее время в Германии. Крем испытывали на слизистой оболочке глаза морских свинок, нанося на передний сегмент глаза, после чего делали окончательное заключение [12]. Индекс раздражающего действия оценивали интегрально: суммировали степень отека и покраснения (гиперемии). Результаты раздражения конъюнктивы млекопитающих регистрировали в баллах по 5-балльной шкале [8].

2. Оценка острой токсичности. Крем вводили наружно при кожном применении. Определение острой токсичности проводили по методу Кербера [1, 9, 12].

Проведено 9 серий экспериментов (3 серии на мышах – крем в разных дозах, 3 серии на мышах – крем с микрокапсулами в разных дозах, 3 серии – мазевая основа в разных дозах). Рассчитывали острую токсичность, соблюдая рекомендации государственного фармакологического комитета по изучению общетоксического действия биологически активных веществ [4, 14].

Результаты и обсуждение.

1. Раздражающее действие образцов крема сравнивали с контрольной группой тканей и животных, получавших мазевую основу. Проведено изучение раздражающего действия для определения степени разведения крема, не оказывающего раздражающего действия на эпителий млекопитающих.

1.1. Раздражающая активность *in situ* на хорион-аллантаической оболочке. Для исследования раздражающего действия на хорион-аллантаическую оболочку куриного эмбриона экстенпорально было приготовлено 2 образца крема по 0,3 г и подогрето в термостате до 37°C. При нанесении на хорион-аллантаическую оболочку куриного эмбриона крема с димебоном в трех случаях из шести не наблюдалось никаких изменений хорион-аллантаической оболочки, а в трех случаях наблюдалось сужение сосудов с временной остановкой кровообращения в отдельных капиллярах. Это соответствует 2 классу по степени раздражения, коэффициент раздражающего воздействия $1,5 \pm 0,548$. При исследовании крема с микрокапсулами димебона и мазевой основы получены аналогичные результаты, что соответствует по степени раздражения 2 классу, коэффициент раздражающего воздействия $1,5 \pm 0,548$.

Превентивно результаты свидетельствуют о том, что тестируемое вещество в соответствующей концентрации может не обладать выраженным токсическим и раздражающим действием на слизистые оболочки млекопитающих и может быть допущено к дальнейшим исследованиям на теплокровных животных по схеме Spielmann и соавт. (1996).

Следует отметить, что наличие незначительного раздражающего действия обусловлено свойствами мазевой основы.

1.2. Раздражающая активность *in vivo* на переднем сегменте глаза морских свинок. Значение раздражающего действия крема с димебоном было получено в опыте №1, 2, 3: отек составлял через 30 секунд (на 1-й минуте) $0,33 \pm 0,577$ балла, гиперемия также $0,33 \pm 0,577$ балла, в сумме 0,66 балла на 30-й секунде, что соответствует параметрам слабого раздражающего действия. Через 2 минуты раздражающее действие составило: отек $1,0 \pm 0,0$ и гиперемия $1,0 \pm 0,0$; в сумме этот показатель равен 2 баллам, что соответствует слабому раздражающему действию (табл. 1).

Таблица 1

Оценка раздражающей активности образцов крема с димебоном и мазевой основы на переднем сегменте глаза морских свинок

Действие № Опыта	ОТЕК		ГИПЕРЕМИЯ	
	30 секунд	2 минуты	30 секунд	2 минуты
Крем с димебоном				
1	1	1	1	1
2	0	1	0	1
3	0	1	0	1
Среднее значение	0,33	1,0	0,33	1,0
Стандартное отклонение	0,577	0,0	0,577	0,0
Крем с микрокапсулами димебона				
1	1	2	1	2
2	1	2	1	3
3	1	2	1	2
Среднее значение	1,0	2,0	1,0	2,33
Стандартное отклонение	0,0	0,0	0,0	0,577
Мазевая основа				
1	0	1	0	1
2	1	1	1	1
3	0	1	0	1
Среднее значение	0,33	1,0	0,33	1,0
Стандартное отклонение	0,577	0,0	0,577	0,0

Примечание: 0-2 балла – слабое раздражающее действие; 3-5 баллов – умеренное раздражающее действие; 6-8 баллов – сильное раздражающее действие. Опыт 1, 2, 3 – крем с димебоном: 30 сек $0,33 + 0,33 = 0,66$ баллов – слабое раздражающее действие, 2 мин $1,0 + 1,0 = 2,0$ балла – слабое раздражающее действие. Опыт 4, 5, 6 – крем с микрокапсулами димебона: 30 сек $1,0 + 1,0 = 2,0$ балла – слабое раздражающее действие, 2 мин $2,0 + 2,33 = 4,33$ балла – умеренное раздражающее действие. Опыт 7, 8, 9 – мазевая основа: 30 сек $0,33 + 0,33 = 0,66$ баллов – слабое раздражающее действие, 2 мин $1,0 + 1,0 = 2,0$ балла – слабое раздражающее действие.



Значение раздражающего действия крема с микрокапсулами димебона было получено в опыте №4, 5, 6: отек составлял через 30 секунд (на 1-й минуте) $1,0 \pm 0,0$ балла, гиперемия также $1,0 \pm 0,0$ балла, в сумме 2,0 балла на 30-й секунде, что соответствует параметрам слабого раздражающего действия. Через 2 минуты раздражающее действие составило: отек $2,0 \pm 0,0$ и гиперемия $2,33 \pm 0,577$, в сумме этот показатель равен 4,33 баллов, что соответствует умеренному раздражающему действию.

Значение раздражающего действия мазевой основы было получено в опыте №7, 8, 9: отек составлял через 30 секунд (на 1-й минуте) $0,33 \pm 0,577$ балла, гиперемия также $0,33 \pm 0,577$ балла, в сумме 0,66 балла на 30-й секунде, что соответствует параметрам слабого раздражающего действия. Через 2 минуты раздражающее действие составило: отек $1,0 \pm 0,0$ и гиперемия $1,0 \pm 0,0$, в сумме этот показатель равен 2 балла, что соответствует слабому раздражающему действию.

Таким образом, экспериментальные данные позволили сделать вывод о том, что крем с димебоном и мазевая основа при применении на слизистую оболочку обладает слабым раздражающим действием. Крем с микрокапсулами димебона обладает умеренным раздражающим действием. Увеличение раздражающей активности крема с микрокапсулами димебона, по-видимому, можно объяснить механическим раздражением конъюнктивы глаза присутствующими в нем частицами.

2. Острую токсичность определяли по оценке выживаемости мышей и по рассчитанной среднесмертельной дозе.

2.1. Оценка выживаемости мышей

Острую токсичность образцов крема сравнивали с контрольной группой животных, получавших мазевую основу в эквивалентном объеме.

В группе животных, получивших образцы крема с димебоном и мазевой основы наружно, гибели отмечено не было.

2.2. Расчет среднесмертельной дозы

Среднесмертельная доза (LD_{50}) рассчитывалась путем оценки смертности животных в течение последующих 48 часов, причем первые 6 часов после нанесения образцов крема проводилось непрерывно. Регулярно фиксировалось общее состояние животных, особенности их поведения, интенсивность и характер двигательной активности, тонус скелетных мышц, положение хвоста, потребление корма и воды.

Результаты проведенных экспериментов представлены в табл. 2.

Таблица 2

Определение острой токсичности крема димебона, крема с микрокапсулами димебона и мазевой основы на мышцах-самцах (накожное нанесение)

Результат	Крем с димебоном			Крем димебона с микрокапсулами			Мазевая основа		
	Объем введения 0,1 г на животное весом 250г								
	0,025 г	0,05 г	0,1 г	0,025 г	0,05 г	0,1 г	0,025 г	0,05 г	0,1 г
Количество животных	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Выжило	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Погибло	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Z	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	0,025 г	0,05 г	0,025 г	0,05 г	0,025 г	0,05 г	0,025 г	0,05 г	
DZ	0	0	0	0	0	0	0	0	0

$$n=6 \sum (dZ) = 0 \quad LD_{50} = LD_{100} - \frac{\sum (dZ)}{n} > 5000 \text{ мг/кг}$$

Примечание: Z – показатель разницы между количеством погибших животных при использовании двух соседних доз; D – показатель разницы между количеством вещества двух соседних доз.

Обсуждая результаты полученных экспериментальных данных, следует отметить, что токсичность образцов крема при накожном применении отсутствует. Это следует из результатов, представленных в таблицах. Летальная доза, обеспечивающая гибель всех экспериментальных животных при данном способе введения, не установлена. По таблице

К.К. Сидорова при накожном способе введения крем соответствует IV классу – малоопасное средство.

Выводы. По результатам раздражающего действия на хорион-аллантоисную оболочку и на передний сегмент глаза морских свинок установлено, что образцы крема с димебоном можно отнести к средствам с незначительным раздражающим действием. Крем с димебоном малоопасен для млекопитающих: LD₅₀ (при накожном способе введения) > 5000 мг/кг.

Литература

1. Березовская, И.В. Актуальные проблемы безопасности дженериков/ И.В.Березовская, В.М. Иванова // Бюллетень ВНЦ БАВ. – 2002. – С.37-52.
2. Боровиков, В.П. Statistica: искусство анализа данных на компьютере / В.П. Боровиков. – СПб.: Питер, 2001. – 239 с.
3. Галенко-Ярошевский, П. А. Противоаллергические свойства димебона, фенкарола и кетотифена при сенсibilизации пылью амброзии полыннолистной/ П. А. Галенко-Ярошевский, К. С. Шадурский и др. // Фармакология и токсикология. – 1984. – №3. – С. 75-78.
4. Гуськова, Т.А. Оценка безопасности лекарственных средств на стадии доклинического изучения /Т.А.Гуськова// Химико-фармацевтический журнал. – 1990. – №7. – С. 10-15.
5. Ильюченко, Т. И. Димебон – новый антигистаминный препарат / Т. И. Ильюченко, И. А. Матвеева // Новые лек. Препараты. – 1989. – №4. – С.12 – 14.
6. Лабораторные методы исследования в клинике. Справочник / под ред В.В. Миньшикова. – М.: Медицина.1987. – 365с.
7. Макарова, Н.В. Статистика в Excel / Н.В. Макарова, В.Я. Трофимец. – М.: Финансы и статистика, 2002. – 368 с.
8. Медицинская косметика. Пер. с болг. / под ред. П. Михайлова. – М.: Медицина, 1985. – 208 с.
9. Общая токсикология / под ред. Б.А. Курляндского и В.А. Филова. – М.: Медицина, 2002. – С. 606.
10. Разработка дерматологических лекарственных форм с димебоном // Корянова К.Н., Майорова А. В., Степанова Э. Ф. И др. / Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции – 2011. – Вып. 66. –С. 276-278.
11. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2003. – 312 с.
12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. В.П. Фисенко. – М., 2000. – 398 с.
13. Сернов, Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М., 2000. – 351 с.
14. Сидоров, К.К. Методы определения острой токсичности и опасности химических веществ. (Токсикология) / К.К. Сидоров. – М.: Медицина, 1970. – 171 с.
15. Хабриев, Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – 458 с.

RESEARCH OF POSSIBILITY OF APPLICATION OF EXTERNAL MEDICINAL FORMS WITH DIMEBON

K.N. KORYANOVA¹

A.V. MAJороVA²

E.F. STEPANOVA¹

I.A. SAVENKO¹

¹Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy

²Russian University of People's Friendship, Moscow

e-mail: kskor-16@mail.ru

The review of results of research of possibility of application of cream with Dimebon for the subsequent studying of specific (antiallergic) activity of the developed medicinal forms is resulted. The estimation of irritating action is spent in situ and in vivo, high toxicity also is studied according to survival rate of mice taking into account calculated LD₅₀.

Key words: dimebon , allergy, toxicity action, irritating action.