Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Шейхалі Алі Марсель

УДК 615.454.1:616-001.4:-001.17:616-003.9:616-08:612.398.193:665.327.2.3

ДИСЕРТАЦІЯ

Експериментальне обґрунтування застосування нового комбінованого крему «Дермаліпоін» для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри

14.03.05 – фармакологія

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____А.М. Шейхалі

Науковий керівник: Кононенко Надія Миколаївна, доктор медичних наук, професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Шейхалі А.М. Експериментальне обґрунтування застосування нового комбінованого крему «Дерманіпоін» для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 «Фармакологія». – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню актуальної наукової задачі, що визначається експериментальним обґрунтуванням доцільності та ефективності застосування нового комбінованого крему умовно названого «Дерманіпоін», до складу якого увійшли: α-ліпоєва кислота, сечовина, оливкова олія, олія чайного дерева, ПЕГ-400 для місцевого лікування ран і опіків у I та II фазах ранового процесу. Мазь розроблено на емульсійній основі типу олія/вода з помірною осмотичною активністю (200%) для запобігання подразнювальної дії на грануляційну тканину і забезпечення видалення гнійного ексудату з рани.

В умовах фармакологічного скринінгу за антимікробною та антифунгальною активністю досліджуваних композицій із вмістом ефірної олії чайного дерева різної концентрації у порівнянні з гелем «Тітріол» по відношенню до грампозитивних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, спорової культури *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативної культури *Escherichia coli* ATCC 25922, дріжжеподібного гриба роду *Candida* - *Candida albicans* ATCC 885-653 встановлено, що найбільшу антимікробну активність проявили зразки із вмістом ефірної олії чайного дерева 3,0% і 4,0%. Однак збільшення концентрації олії чайного дерева до 4% не призвело до значного підвищення антимікробної активності. Тому для подальших досліджень до складу виучуваних експериментальних композицій крему «Дерманіпоін» вводили 3% ефірну олію чайного дерева.

Наступним етапом скринінгових досліджень стало дослідження експериментальних зразків крему з різними концентраціями α-ліпоєвої кислоти та

сечовини на моделі лінійних різаних ран у щурів. За морфологічними ознаками (повне загоєння ран у всіх тварин дослідної групи) та показником тензіометрії найбільшу репаративну активність (87,1%) продемонстрував зразок, що містить 2% ліпоєвої кислоти та 10% сечовини. Ранозагоювальна активність цього зразка перевищувала ефект препаратів порівняння: крему Карбодерм-Дарниця (26,9%) та бальзаму «Спасатель форте» (48,4%). За результатами скринінгових досліджень для подальшого фармакологічного вивчення був обраний крем з оптимальною концентрацією окремих компонентів, які проявили найбільш виражені антимікробні і репаративні активності. Крем наступного складу: оливкової олії 27%, α-ліпоєвої кислоти 2%, олії чайного дерева 3%, сечовини 10%, ПЕГ-400, до 100%.

В ході експериментальних досліджень з вивчення гострої токсичності було встановлено, що $ЛД_{50}$ крему «Дермаліпоін» при внутрішньошлунковому введенні перевищує 5000 мг/кг, при одноразовому нашкірному застосуванні у максимальній дозі крем не чинить токсичної дії на організм піддослідних тварин. Отримані експериментальні дані дозволяють віднести досліджуваний крем до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за класифікацією К.К. Сидорова.

За допомогою тесту «кон'юктивальна проба» були вивчені місцевоподразнювальні властивості крему. Отримані експериментальні дані дозволили зробити висновок про відсутність іритативної дії крему «Дермаліпоін» при його контакті зі слизовою оболонкою ока.

Методом нашкірних аплікацій було встановлено, що досліджуваний крем не виявляє алергізуючої дії.

Для вивчення впливу крему на перебіг альтеративного запалення були проведені дослідження на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів. Встановлено, що крем «Дермаліпоін» уповільнює розвиток альтеративного запалення і за виразністю ефекту перевищує препарат порівняння гель «Тітріол».

На моделі термічного запалення кінцівок у мишей встановлено, що досліджуваний крем виявляє виразні протизапальні властивості у порівнянні з референс-препаратами. Місцеве лікування лап з набряком кремом «Дермаліпоін»

сприяє пригніченню запального процесу, що виражалося зменшенням набряку в 2,1 рази порівняно з контролем ($p<0,05$). При лікуванні лап бальзамом «Спасатель-форте» набряк лап був менший в 1,8 рази ($p<0,05$); кремом «Бепантен» - в 1,6 рази ($p<0,05$). Аналіз результатів протизапальної активності препаратів показав, що за вираженістю дії їх можна розташувати таким чином: «Дерматіпоін» (52,4%) ≥ «Спасатель-форте» (44,4%) ≥ «Бепантен» (37,5%).

На моделі гострого асептичного запалення стопи у щурів, викликаного карагеніном, в механізмах розвитку якого провідну роль відіграють простагландини та калікреїн-кінінова система встановлено виражений антиексудативний ефект крему, який проявлявся зменшенням набряку на 47,7% порівняно з контролем ($p<0,05$). Препарат порівняння – бальзам «Спасатель форте» виявляв антиексудативну активність на рівні 30,5 %.

Вплив крему на ліпооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти визначали на моделі зимозанового набряку стопи у білих щурів, в механізмі розвитку якого на ранніх термінах провідну роль відіграють лейкотрієни. Показано, що в умовах гострого зимазанового набряку стопи у щурів крем «Дерматіпоін» виявляє виражений антиексудативний ефект, зменшуючи набряк на 40,3% порівняно з контролем ($p<0,05$), що дозволяє зробити припущення про антиліпооксигеназні властивості комплексу біологічно активних сполук досліджуваного крему. Препарати порівняння бальзам «Спасатель-форте» виявляв антиексудативну активність на рівні 30,6%, а крем «Бепантен» - на рівні 25,0% впродовж усього терміну спостереження.

На моделі підвищеної проникності судин черевної стінки щурів, викликаної різними флогогенами встановлено, що при застосуванні карагеніну та формаліну в якості флогогенів досліджуваний крем виявляв найвиразнішу здатність зменшувати проникність судинної стінки: швидкість профарбовування папули зменшувалась на 64,4% та 81,5% відповідно у порівнянні з контролем ($p<0,05$). В умовах порушення судинної проникності спричиненого яєчним білком та гістаміном швидкість профарбовування папул зменшувалася відповідно на 42,1% та 41,5% у порівнянні з контролем ($p<0,05$). Препарат порівняння - мазь

тіотриазоліну також проявляє судиностабілізувальну дію. Проте, дана активність поступалася ефекту крему на 13,2% при введенні гістаміну, на 8,5% - при введенні карагеніну, на 18,4% - при введенні формаліну.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про здатність крему «Дермаліпоін» зменшувати проникність судинної стінки за рахунок стабілізації мембрани клітин та пригнічення активності медіаторів запалення, що утворюються внаслідок цикло- та ліпооксигеназного метаболізму арахідонової кислоти (простагландини, лейкотрієни) та сприяють в умовах патології порушенню мікроциркуляції та підвищенню проникності судинної стінки та клітинних мембран. Результати даного досліду підтверджують здатність (яка переважає ефект препарату порівняння) крему гальмувати активність біогенних амінів та, завдяки цьому, знижувати проникність судинної стінки, що є важливою складовою фармакодинаміки досліджуваного фармакологічного препарату як засобу, який пропонується при запально-деструктивних процесах.

При вивченні впливу досліджуваного засобу на ступінь гемолізу встановлена можливість досліджуваного крему протидіяти гемолізу, що свідчить про наявність вираженої мембраностабілізуючої дії даного препарату, яка перевищує таку у мазі тіотриазоліну на 22,3%.

Наступним етапом роботи стало вивчення ефективності застосування крему «Дермаліпоін» в якості ранозагоювального засобу на моделях лінійної різаної, опікової та видавленої трафаретної ран у порівнянні з бальзамом «Спасатель-форте» і гелем «Тітріол».

Експериментальні дані, які були отримані на моделі лінійних різаних ран, свідчили про прояви регенерації в ушкоджених тканинах при місцевому застосуванні крему «Дермаліпоін». Результати тесту на міцність рубца показали, що за виразністю репаративної дії крем «Дермаліпоін» (репаративна активність – 78,1%) значно перевищує препарат порівняння гель «Тітріол» на 31,5% ($p<0,05$) та на 13% перевищує дію препарату порівняння - бальзаму «Спасатель-форте» ($p<0,05$).

Вивчення морфологічних показників також свідчить про здатність крему прискорювати репаративні процеси. Після застосування крему «Дермаліпоін» у

всіх щурів відбувається повне загоєння рани. У 83,3% тварин колишній рановий канал мав вигляд дуже вузької смуги, по обидва боки від якої видна повністю відновлена дерма з волосяними фолікулами та пов'язаними з ними сальними залозами. Епідерміс у зоні колишньої рани та у прилеглих до неї зонах потовщено, але в ньому повністю відновлені всі шари, роговий включно.

Після лікуванням бальзамом «Спасатель-форте» у 80% щурів ширина ранового каналу ще виразна, центральна частина не епітелізована. На поверхні є залишки клітинного детриту. Новоутворена тканина, що заповнює канал, добре васкуляризована, у поверхневих шарах ще багатоклітинна. В більш глибоких шарах простежена проліферація фібробластів, місцями з орієнтуванням у розташуванні, наявність тонких колагенових волокон. У м'язовій пластинці та підшкірній клітковині видні виразні ознаки продуктивного запалення.

Після застосування гелю «Тітріол» у 70% щурів рана ще не загоїлася, епітелізація поверхні не повна, рановий канал від помірного до широкого, грануляційна тканина в ньому недостатньо зріла. У м'язовій пластинці та підшкірній клітковині виразні ознаки продуктивного запалення.

Таким чином, на моделі лінійних різаних ран у щурів крем «Дермаліпоін» виявляє виразну репаративну дію, що проявляється в прискоренні процесу загоєння ран у порівнянні з контролем та зменшенні виразності цитодеструктивних процесів, демонструючи вірогідну перевагу за цими показниками перед препаратами порівняння - бальзамом «Спасатель-форте» та гелем «Тітріол».

При вивченні ранозагоювальної дії крему на моделі опікових ран у щурів показано розвиток виразної запальної реакції у щурів групи контрольної патології. Так, у тварин спостерігалося достовірне, порівняно з групою інтактного контролю, зниження рівня гемоглобіну, кількості еритроцитів, скорочення часу згортання крові а також підвищення загальної кількості лейкоцитів на 5-й та 13-й день експерименту.

Під впливом крему «Дермаліпоін» спостерігалося зростання рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів вже на 11-й день, та їх повна нормалізація наприкінці експерименту, перевершуючи показники препаратів порівняння.

Також спостерігалося достовірне порівняно з контрольною патологією зниження кількості лейкоцитів на 13-у добу експерименту.

При застосуванні крему «Дерматоліпоін» загоєння відбувалося значно швидше. Так, при нанесенні крему на уражену ділянку відторгнення струпа почалося з 8-ї доби досліду та в середньому становить 14,2 дня, що на 37,7 % менше, ніж у групі контрольної патології ($p<0,05$), на 31% менше, ніж в групі тварин, яким наносили бальзам «Спасатель форте» ($p<0,05$) та на 18% менше, ніж в групі щурів, яких лікували гелем «Тітріол» ($p<0,05$). Отримані результати свідчать, що досліджуваний крем сприяв скороченню терміну загоєння ран на 9,6 дня порівняно з контрольною патологією ($p<0,05$).

Вивчення планіметричного аналізу ранового процесу, викликаного термічним опіком, показало, що в усіх групах тварин, яких лікували, спостерігали прискорення загоєння ран, але при застосуванні бальзаму «Спасатель-форте» та гелю «Тітріол» було їх нагноєння. При місцевому застосуванні крему «Дермаліпоін» спостерігали прискорення епітелізації та відторгнення струпа, відсутність нагноєння ран. Результати експерименту показали, що репаративні властивості досліджуваного крему (за показником коефіцієнту швидкості загоєння та площею рани) були вищими, ніж у препаратів порівняння.

Таким чином, експериментальні дані свідчать про те, що досліджуваний крем виявляв виразну ранозагоювальну дію та спостерігалася певна перевага перед препаратами порівняння за впливом на динаміку загоєння опікових ран.

При визначенні рівня білково-синтетичної активності клітин (епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння термічного пошкодження) на 15 добу після моделювання термічного опіку у тварин усіх експериментальних груп за оцінкою вмісту РНП в цитоплазмі і ДНП в ядрах клітин встановлено, що крем «Дермаліпоін» порівняно з препаратами порівняння – бальзамом «Спасатель форте» та гелем «Тітріол» виявив більш активний вплив на репаративні процеси, про що свідчило вірогідне збільшення білково-синтетичної функції епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння.

Репаративну активність крему, ймовірно, забезпечила наявність тіолових (сульфгідрильних) груп в молекулі ліпоєвої кислоти, що надає їй властивості антиоксиданту. Антиоксидантний ефект ліпоєвої кислоти сприяє більш ефективній репарації молекул ДНК після пошкодження в результаті «окисного стресу».

Щодо клітин фібробластичного ряду, то сумарно найвищу білково-синтетичну активність вони мали також в групі яких лікували кремом «Дермаліпоін», що підтверджується і морфологічною картиною загоєння дефекту в даній групі.

При вивченні ранозагоювальної дії досліджуваного крему на моделі видавлених трафаретних ран шкіри у щурів за гематологічними, планіметричними, біохімічними показниками встановлено, що крем «Дермаліпоін» виявляє виразну репаративну дію та не поступається препарату порівняння бальзаму «Спасатель форте».

Встановлено, що крем «Дермаліпоін» має високі антимікробні властивості по відношенню до основних збудників гнійно-запальних процесів у шкірі: *Staphylococcus aureus,* причому як до референс так і клінічного штамів (діаметр зони затримки росту – 29,5 та 28,6 мм), *Pseudomonas aeruginosa* до референс і клінічного штамів (діаметр зони затримки росту – 27,8 та 27,0 мм), *Bacillus subtilis* (діаметр зони затримки росту – 25,1 мм), був активним також до *Escherichia coli* (референс і клінічний штам: діаметр зони затримки росту – 22,4 та 21,5 мм відповідно), *Proteus mirabilis* (діаметр зони затримки росту – 20,5 мм), менш активним – у відношенні *Candida albicans* (діаметр зони затримки росту – 19,6 мм), а також доведена лікувальна ефективність при експериментальній кандидозній інфекції у білих мишей.

Таким чином, результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що крем «Дермаліпоін» виявляє виразні протизапальні, антимікробні, антиальтеративні, мембаностабілізувальні, репаративні властивості та може застосовуватися в якості ранозагоювального засобу для місцевого лікування ран і опіків у I та II фазах ранового процесу.

Ключові слова: рани, опіки, крем, α-ліпоєва кислота, сечовина, оливкова олія, олія чайного дерева, репарація.

Список публікацій здобувача:

1. Sheyhali A. M., Kononenko N. M. The study of toxicological properties of a new combined cream “Dermalipoin”. *Вісник фармації*. 2014. № 4 (80). С. 69-71. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).
2. Kononenko N. M., Sheikhali A. M. The study of reparative properties of a new combined cream dermalipoin on the model of linear incised wounds. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 6 (47). С. 42-49. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).
3. Kononenko N., Sheikhali A. Repair properties of the new combined cream dermalipoin on the model of extended scheduled wounds in rats. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016. Vol. 6 № 6. P. 722-731. eISSN 2391-8306. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).
4. Кононенко Н. М., Шейхалі А.М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. № 1 (5). С. 16-21. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).
5. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Дослідження впливу нового комбінованого крему Дермаліпоін на проникність судинної стінки. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 4 (51). С. 27-30. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).
6. The effect of the new combined cream on the protein synthetic activity of cells on the model of the thermal skin damage in rats / N. M. Kononenko, A. M. Sheikhali, M. O. Ostapets, V. S. Loboda. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 62-66. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).

7. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Протизапальна активність крему «Дерматоліпоін» на моделі термічного запалення. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 травня 2014 р. Харків, 2014. С. 151.
8. Sheyhali A.M., Kononenko N.M. Study the possibility allergenic effect of the cream «Dermatolipoin». *Topical issues of new drugs development:* матеріали XXII міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квітня 2015 р. Харків, 2015. С. 656.
9. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вивчення антиексудативної активності крему Дерматоліпоін на моделі гострого карагенінового набряку. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21 травня 2015 р. Харків, 2015. С. 135.
10. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження антиексудативної активності нового комбінованого крему на моделі гострого зимозанового набряку. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 12-13 листопада 2015 р. Харків, 2015. С. 267-268.
11. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Вплив нового комбінованого крему дерматоліпоін на перебіг ексудативного запалення, викликаного формаліном. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції:* матеріали VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнар. участю, м. Харків, 5-7 жовтня 2016 р. Харків, 2016. С. 251.
12. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження мембраностабілізувальних властивостей крему Дерматоліпоін. *XV–е чтения им. В.В. Подвысоцкого*: матеріали наук. конф., м. Одеса, 26-27 травня 2016 р. Одеса, 2016. С. 223-224.
13. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вплив крему Дерматоліпоін на перебіг запального процесу з виразним альтернативним компонентом. *Ліки –*

людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, м. Харків, 08 квітня 2016 р. Харків, 2016. С. 222.

14. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження місцевоподразнювальної дії крему Дермаліпоін. *Фармакологія 2017 – крок у майбутнє*: матеріали V Нац. з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18-20 жовт. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 139-140.
15. Кононенко Н.М., Шейхалі А.М. Дослідження in vitro протимікробних властивостей нового комбінованого крему Дермаліпоін. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 28-29 березня 2018 р. Харків, 2018. С. 172-173.
16. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри. Інформаційний лист № 210-2018. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. С. 4. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі даних, оформленні інформаційного листа).

ANNOTATION

Sheikhali A.M. Experimental substantiation of the application of the new combined cream «Experimental substantiation of the application of the new combined cream "Dermalipoin" for the treatment of purulent-inflammatory skin diseases». – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a candidate of pharmaceutical science degree in speciality 14.03.05 «Pharmacology». – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

The dissertation is devoted to solving an urgent scientific problem, which is to experimentally substantiate the feasibility and effectiveness of using a new combined cream conditionally named "Dermalipoin", which included: α-lipoic acid, urea, olive oil, tea tree oil, PEG-400 for local treatment of wounds and burns in the 1st and 2nd phases of the wound process. The ointment is developed on an oil / water emulsion base with a moderate osmotic activity (200%) to prevent irritation on granulation tissue and ensure the removal of purulent exudate from the wound.

Under the conditions of pharmacological screening for the antimicrobial and antifungal activity of the studied compositions with the content of tea tree essential oil of various concentrations in comparison with the gel "Titriol" in relation to gram-positive microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, spore culture *Bacillus subtilis* ATCC 6633, gram-negative culture *Escherichia coli* ATCC 25922, the yeast-like fungus of the genus *Candida* - *Candida albicans* ATCC 885-653 revealed the highest antimicrobial activity of the compositions with the content of tea tree essential oil 3,0 and 4,0%. However, it was found that an increase in the concentration of tea tree up to 4% did not lead to a significant increase in antimicrobial activity. Therefore, for further research, 3% tea tree essential oil was added to the experimental compositions of the Dermalipoin cream under study.

The next stage of screening studies was the study of experimental samples of cream with different concentrations of α-lipoic acid and urea on a model of linear cut wounds in rats. By morphological features (complete healing of wounds in all animals

of the experimental group) and tensiometry index, the highest reparative activity (87,1%) was demonstrated by the sample containing 2% lipoic acid and 10% urea. The wound healing activity of this sample exceeded the effect of the reference drugs: «Karboderm-Darnitsa» cream (26,9%) and «Rescuer Forte» balm (48,4%).

Based on the results of screening studies, a cream with an optimal concentration of individual components that showed the most pronounced antimicrobial and reparative activities was selected for further pharmacological study. Cream of the following composition: olive oil 27%, α-lipoic acid 2%, tea tree oil 3%, urea 10%, PEG-400 base up to 100%.

In the course of experimental studies on the study of acute toxicity, it was found that the LD_{50} of Dermalipoin cream when administered intragastrically exceeds 5000 mg/kg, with a single cutaneous application at a maximum dose, the cream does not have a toxic effect on the organism of experimental animals. The experimental data obtained make it possible to classify the investigated cream as class V (practically non-toxic substances) of toxicity according to the classification of Sidorov K.

Using the "conjunctival test" test, the local irritating properties of the cream were studied. The results obtained allowed us to conclude that there is no irritative effect of Dermalipoin cream upon contact with the mucous membrane of the eye.

Using the method of skin applications, it was found that the test cream does not have an allergenic effect.

To study the effect of the cream on the course of alterative inflammation, studies were carried out on a model of aseptic inflammation of the skin and subcutaneous tissue in rats. It was found that Dermalipoin cream slows down the development of alterative inflammation and, in terms of the severity of the effect, exceeds the comparison drug Titriol gel.

On the model of thermal inflammation of the extremities in mice, it was found that the investigated cream has pronounced anti-inflammatory properties in comparison with reference drugs. Local treatment of paws with edema with Dermalipoin cream contributed to the suppression of the inflammatory process, which was expressed by a decrease in edema by 2,1 times compared with the control ($p<0,05$). When treating the

paws with the “Rescuer-Forte” balm, the edema of the paws was 1,8 times less ($p<0,05$); cream "Bepanten" – 1,6 times ($p<0,05$). The analysis of the results of anti-inflammatory activity of the drugs showed that according to the severity of their action, they can be arranged as follows: Dermalipoin (52,4%) ≥ Rescuer Forte ≥ (44,4%) ≥ Bepanten (37,5%).

On the model of acute aseptic inflammation of the foot in rats, caused by carrageenan, in the development mechanisms of which prostaglandins and the kallikrein-kinin system play a leading role, a pronounced antiexudative effect of the cream was established, which was manifested by a decrease in edema by 47,7% compared with the control ($p<0,05$). Comparison drug - "Rescuer Forte" balm showed antiexudative activity at the level of 30,5%.

The effect of the cream on the lipoxygenase pathway of the conversion of arachidonic acid was determined using a model of zymosan edema of the foot in white rats, in the mechanism of development of which leukotrienes play a leading role in the early stages. It has been shown that under conditions of acute zymazan edema of the foot in rats, Dermalipoin cream has a pronounced antiexudative effect, reducing edema by 40,3% compared to the control ($p<0,05$), which suggests the anti-lipoxygenase properties of the complex of biologically active compounds of the cream. Comparison drugs “Rescuer-Forte” balm showed antiexudative activity at the level of 30,6%, and “Bepanten” cream - at the level of 25,0% throughout the observation period.

On the model of increased vascular permeability of the abdominal wall of rats, caused by various phlogogens, it was found that when carrageenan and formalin were used as phlogogens, the test cream showed the greatest ability to reduce the permeability of the vascular wall: the rate of papule staining decreased by 64,4% and 81,5% compared with control ($p<0,05$). Under conditions of impaired vascular permeability caused by egg white and histamine, the rate of papule staining decreased by 42,1% and 41,5%, respectively, compared with the control ($p<0,05$). The comparison drug, thiotriazoline ointment, also had a vaso-stabilizing effect. However, this activity was inferior to the effect of the cream by 13,2% with the introduction of histamine, by

8,5% - with the introduction of carrageenan, by 18,4% - with the introduction of formalin.

Thus, the results of the studies performed indicate the ability of «Dermalipoin» cream to reduce the permeability of the vascular wall due to the stabilization of the cell membrane and inhibition of the activity of inflammatory mediators formed as a result of cyclo- and lipoxygenase metabolism of arachidonic acid (prostaglandins, leukotrienes) and contribute to an increase in vascular permeability under pathological conditions. walls and cell membranes. The results of this experiment confirm the ability (exceeding the effect of the reference drug) of the cream to inhibit the activity of biogenic amines and, due to this, to reduce the permeability of the vascular wall, which is a very important component of the pharmacodynamics of the investigated pharmacological drug as a remedy that is proposed for inflammatory and destructive processes.

When studying the effect of the drug on the degree of hemolysis, the possibility of the test cream to counteract hemolysis was established, which indicates the presence of a pronounced membrane stabilizing effect of this drug, which exceeds the activity of thiotriazoline ointment by 22,3%.

The next stage of the work was to study the effectiveness of using Dermalipoin cream as a wound healing agent on linear cut, burn and squeezed out stencil wound models in comparison with the «Rescuer-Forte» balm and Titriol gel.

Experimental data obtained on the model of linear cut wounds testified to the manifestations of regeneration in damaged tissues with local application of Dermalipoin cream. The results of the scar strength test showed that in terms of the severity of the reparative effect, Dermalipoin cream (reparative activity – 78,1%) significantly exceeds the reference drug Titriol gel by 31,5% ($p<0,05$) and by 13% the effect of the reference drug - the «Rescuer-Forte» balm ($p<0,05$).

The study of morphological parameters also indicates the ability of the cream to accelerate reparative processes. After application of Dermalipoin cream, all rats experience complete wound healing. In 83,3% of animals, the former wound canal looked like a very narrow strip, on both sides of which a completely restored dermis with hair follicles and associated sebaceous glands is visible. The epidermis in the

wound area and adjacent areas is thickened, but all layers, including the horny layer, are completely restored in it.

After treatment with the "Rescuer-Forte" balm in 80% of rats, the width of the wound canal is still distinct, the central part is not epithelized. There are remnants of cellular debris on the surface. The formed tissue filling the canal is well vascularized; in the surface layers it is still multicellular. In the deeper layers, the proliferation of fibroblasts was traced, in places with an orientation in their location, the presence of thin collagen fibers. In the muscle plate and subcutaneous tissue, clear signs of productive inflammation are visible.

After applying the Titriol gel in 70% of rats, the wound has not yet healed, the epithelialization of the surface is not complete, the wound canal is moderate to wide, the granulation tissue in it is not mature enough. Signs of productive inflammation are expressed in the muscle plate and subcutaneous tissue.

Thus, on the model of linear cut wounds in rats, Dermalipoin cream has a distinct reparative effect, which is manifested in the acceleration of the wound healing process compared to the control and in a decrease in the severity of cytodestructive processes, demonstrating a significant advantage in these indicators over the reference drugs - Rescuer-Forte balm and Titriol gel.

When studying the wound-healing effect of the cream on a model of burn wounds in rats, the development of a distinct inflammatory reaction in rats of the control pathology group was shown. Thus, the animals showed a significant decrease in the hemoglobin level, the number of erythrocytes, a decrease in the time of blood coagulation, as well as an increase in the total number of leukocytes on the 5th and 13th day of the experiment, compared with the intact control group.

Under the influence of Dermalipoin cream, an increase in the level of hemoglobin and the number of erythrocytes was observed already on the 11th day, and their complete normalization at the end of the experiment, exceeding the indicators of the comparison drugs. There was also a significant decrease in the number of leukocytes in comparison with the control pathology on the 13th day of the experiment.

When using Dermatolipoin cream, healing was much faster. So, when applying the cream to the affected area, scab rejection began from the 8th day of the experiment and averaged 14,2 days, which is 37,7% less than in the control pathology group ($p<0,05$), by 31% less than in the group of animals that were treated with “Rescuer Forte” balm ($p<0,05$) and 18% less than in the group of rats treated with Titriol gel ($p<0,05$). The results obtained indicate that the studied cream contributed to a reduction in the wound healing time by 9,6 days compared to the control pathology ($p<0,05$).

The study of the planimetric analysis of the wound process caused by thermal burns showed that in all groups of animals that received treatment, an acceleration of wound healing was observed, but when using the Rescuer-Forte balm and Titriol gel, their suppuration was observed. Local application of Dermalipoin cream resulted in acceleration of epithelialization and rejection of scab, absence of wound suppuration. The experimental results showed that the reparative properties of the test cream (in terms of the rate of healing and wound area) were higher than those of the comparison drugs.

Thus, the experimental data indicate that the studied cream had a distinct wound-healing effect and there was a definite advantage over the comparison drugs in terms of the effect on the dynamics of the healing of burn wounds.

When determining the level of protein-synthetic activity of cells (epithelial cells of stratified squamous epithelium in the epidermal zone and fibroblastic cells in the margins of thermal damage) on the 15th day after modeling a thermal burn in animals of all experimental groups by assessing the content of RNP in the cytoplasm and DNP in cell nuclei, it was found that the cream "Dermalipoin" in comparison with the comparison drugs - balsam "Rescuer Forte" and gel "Titriol" more actively influenced the reparative processes, as evidenced by a significant increase in the protein-synthetic function of epithelial cells of stratified squamous epithelium in the epidermis zone and fibroblastic cells in edges of healing. The reparative activity of the cream is probably associated with the presence of thiol (sulfhydryl) groups in the lipoic acid molecule, which provides it with antioxidant properties. The antioxidant effect of lipoic acid promotes more efficient repair of DNA molecules after oxidative stress damage.

As for the cells of the fibroblastic series, in total they had a higher protein-synthetic activity in the group of which they were treated with Dermalipoin cream, which is also confirmed by the morphological picture of the healing of the defect in this group.

When studying the reparative effect of the investigated cream on a model of squeezed out stencil skin wounds in rats, according to hematological, planimetric, biochemical parameters, it was found that Dermalipoin cream has a pronounced wound healing effect and is not inferior to the reference drug Rescuer Forte balm.

It was found that Dermalipoin cream has high antimicrobial properties in relation to the main pathogens of purulent-inflammatory processes in the skin: *Staphylococcus aureus*, both to the reference and to the clinical strain (the diameter of the growth retardation zone is 29,5 and 28,6 mm), *Pseudomonas aeruginosa* to the reference and clinical strain (diameter of the growth inhibition zone – 27,8 and 27,0 mm), *Bacillus subtilis* (diameter of the growth inhibition zone – 25,1 mm), was also active against *Escherichia coli* (reference and clinical strain: diameter growth inhibition zones – 22,4 and 21,5 mm), *Proteus mirabilis* (growth inhibition zone diameter – 20,5 mm), less active - against *Candida albicans* (growth inhibition zone diameter – 19,6 mm), and also proven therapeutic efficacy in experimental candidal infection in white mice.

Thus, the results of experimental studies indicate that Dermalipoin cream exhibits pronounced anti-inflammatory, antimicrobial, anti-alterative, membrane-stabilizing, reparative properties and can be used as a wound healing agent for local treatment of wounds and burns in the 1st and 2nd phases of the wound process.

Key words: wounds, burns, cream, α-lipoic acid, urea, olive oil, tea tree oil, repair.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 22

ВСТУП 23

РОЗДІЛ 1 ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО КРЕМУ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ, АНТИМІКРОБНОЮ ТА РЕПАРАТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ (Огляд літератури) 31

1.1 Сучасні уявлення про етіологію та патогенез ранового процесу 31

1.2 Основні принципи місцевого медикаментозного лікування ран 41

1.3 Перспективи створення нового багатокомпонентного крему для застосування в хірургії та у дерматологічній практиці 48

Висновки до розділу 1 54

РОЗДІЛ 2 ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 55

РОЗДІЛ 3 СКРИНІНГОВЕ ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН» З МЕТОЮ ВИБОРУ ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ТОКСИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ 80

3.1 Проведення скринінгового вивчення антимікробної дії різних композицій крему «Дермаліпоін» 80

3.2 Скринінгове вивчення репаративних властивостей різних композицій крему «Дермаліпоін» на моделі лінійних різаних ран у щурів 82

3.3 Вивчення гострої токсичності крему «Дермаліпоін» 87

3.4 Дослідження можливої місцевоподразнювальної дії крему «Дермаліпоін» 90

3.5 Визначення можливої алергізуючої дії крему «Дермаліпоін» 91

Висновки до розділу 3 92

РОЗДІЛ 4 ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН» 94

4.1 Вивчення впливу крему «Дермаліпоін» на перебіг запального процесу з виразним альтеративним компонентом 94

4.2 Вивчення впливу крему «Дермаліпоін» на розвиток запального процесу з виразним ексудативним компонентом 97

4.2.1 Вивчення протизапальної активності крему «Дермаліпоін» на моделі термічного запалення кінцівок у мишей 97

4.2.2 Вивчення антиексудативної активності крему «Дермаліпоін» на моделі гострого карагенінового набряку кінцівок у щурів 99

4.2.3 Вивчення антиексудативної активності крему «Дермаліпоін» на моделі гострого зимозанового набряку кінцівок у щурів 100

4.2.4 Вивчення впливу крему «Дермаліпоін» на проникність судинної стінки 102

4.3 Дослідження мембраностабілізуючих властивостей крему «Дермаліпоін» 105

Висновки до розділу 4 106

РОЗДІЛ 5 ВИВЧЕННЯ РЕПАРАТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН» 109

5.1 Вивчення репаративної активності крему «Дермаліпоін» на моделі лінійних різаних ран у щурів 109

5.2 Вивчення репаративних властивостей крему «Дермаліпоін» на моделі опікових ран у щурів 121

5.2.1 Результати гематологічних, планіметричних, і морфологічних досліджень 121

5.2.2 Дослідження впливу крему «Дермаліпоін» на білково-синтетичну активність клітин 136

5.3 Вивчення репаративної активності крему «Дермаліпоін» на моделі видавлених трафаретних ран у щурів 139

Висновки до розділу 5 143

РОЗДІЛ 6 ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН» 146

6.1 Дослідження антимікробної активності крему «Дермаліпоін» у дослідах in vitro 146

6.2 Вивчення протигрибкової активності крему in vivo на моделі кандидозної інфекції у мишей 149

Висновки до розділу 6 151

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ 152

ВИСНОВКИ 173

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 176

ДОДАТКИ 199

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АА – антиексудативна активність

АКТГ – адренокортикотропний гормон

АлАТ – аланінамінотрансфераза

АОС – антиоксидантна система

АсАТ – аспартатамінотрансфераза

ВГ- відновлений глутатіон

ДНП – дезоксирибонуклеопротеїди

ДФУ – державна фармакопея України

ЛП – лікарський препарат

МЛФ – м'які лікарські форми

МПА – м'ясо-пептонний агар

РП – рановий процес

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

ПАР – поверхнево активні речовини

РНП – рибонуклеопротеїди

ум. од. –умовні одиниці

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Проблема лікування гнійних ран залишається актуальною як в Україні, так і за її межами [37]. Щорічно в країнах СНД реєструється близько 5 мільйонів хворих з гнійно-запальними захворюваннями м'яких тканин, які призводять у 7-11% випадків до летального результату [90]. На сьогодні найпоширенішими травмами бійців у зоні операції об'єднаних сил залишаються травматичні ушкодження з порушенням цілісності шкірних покривів, опікові травми, інфіковані рани і виразки різного генезу [23, 62, 93, 129,]. Незважаючи на очевидні успіхи, число ускладнень, які розвиваються в результаті генералізації ранової інфекції, не знижується, що призводить до тривалої непрацездатності пацієнтів, а при вираженому і стійкому порушенні функції органу або системи органів – і до інвалідизації [143].

При лікуванні ран та їх інфекційних ускладнень поряд із хірургічною обробкою та системною терапією, важлива роль відводиться місцевому медикаментозному лікуванню [36, 44]. Даний метод є технічно простим і доступним завдяки безпосередньому лікувальному впливу на місце ураження [12]. Препарати для місцевого лікування ран залежно від фази ранового процесу (РП) мають відповідати певним медико-біологічним вимогам [45, 78]. Наприклад, у I та II фазах РП слід застосовувати м’які лікарські засоби, що мають широкий спектр антимікробної активності до розповсюджених збудників ранової інфекції, місцевоанестезуючі, мембраностабілізуючі та протизапальні властивості, здатність змочувати ранову поверхню та проникати у ранову порожнину, мають помірну осмотичну активність, не викликають осмотичного шоку здорових клітин, забезпечують захист грануляційної тканини від механічного ушкодження і висихання, сприяють спрямованій стимуляції та регуляції репаративних процесів, нормалізують мікроциркуляцію та обмінні процеси в рані [46, 133]. Крім того, ранозагоюючі препарати для місцевого застосування не повинні викликати порушення газообміну в шкірі [139].

При застосуванні ранозагоювальних препаратів у хірургічній практиці можна виділити ряд проблем: зростання резистентності збудників ранової інфекції до існуючих препаратів, особливо до стафілококів, які відіграють провідну роль в етіології гнійних інфекцій шкіри [89, 106, 146]; недостатню ефективність багатьох препаратів, пов'язану з недоліками основи або/та монокомпонентним складом [30]; невелику кількість препаратів, що мають помірну осмотичну активність та можуть застосовуватись як у I, так і у II фазах РП [35, 125].

Хоча лікування ран має здійснюватися з урахуванням фази РП та патогенетичних чинників, підвищення ефективності терапії може досягатися за рахунок мультифакторності впливу засобів на патогенез РП [103]. Саме тому широке застосування знаходять комбіновані засоби, компоненти яких би мали взаємопотенціювальну дію. Полівалентний вплив на розвиток патології здатні виявляти також засоби природного походження, оскільки їх лікувальний ефект обумовлений, як правило, цілим комплексом біологічно активних сполук [33]. Важливо також, щоб ця дія не обмежувалась поверхнею рани, а поширювалась у глибину ушкоджених тканин, де локалізовані мікроорганізми. Останній фактор забезпечується раціональним вибором основи, яка поряд з допоміжними властивостями, повинна проявляти фармакологічну дію, обумовлену її осмотичними властивостями [55].

З метою задоволення потреби в ефективних комбінованих мазях для застосування у I-II фазах РП вченими НФаУ було розроблено новий комбінований крем для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри, умовно названий «Дермаліпоін», до складу якого увійшли: α-ліпоєва кислота, сечовина, оливкова олія, олія чайного дерева, поліетіленгліколь-400 (ПЕГ-400). α- Ліпоєва кислота – потужний антиоксидант і ефективний протизапальний засіб, при місцевому застосуванні має кератопластичну, бактеріостатичну і фунгістатичну дію. Оливкова олія має знеболюючу та протизапальну дію, сприяє загоєнню ран, виразок і опіків. Олія чайного дерева гальмує ріст грампозитивних, грамнегативних патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів, особливо

виразні антимікробні властивості ефірної олії чайного дерева показані відносно біогенних коків (стафілококів, стрептококів), які є класичними збудниками ранової інфекції [158, 162]. Крім антимікробної активності олія чайного дерева чинить протизапальну дію, сприяє підвищенню проникності шкіри для біологічно активних речовин, здатна стимулювати регенерацію ушкодженої шкіри та сприяти епітелізації ран. Сечовина має гідратуючі властивості, є провідником біологічно активних речовин, які входять до складу препарату, прискорює репарацію клітин, має аналгетичні властивості при пошкодженнях і запаленнях дерми, знімає подразнення і свербіж, стимулює експресію низки епідермальних антимікробних і транспортних білків. ПЕГ-400 має високу розчинюючу здатність по відношенню до речовин як гідрофільного, так і гідрофобного характеру, що дозволяє використовувати його в якості ефективної основи для отримання неіоногенних поверхнево-активних речовин шляхом ковалентного зв'язування з гідрофобними молекулами [81]. Крем розроблено на емульсійній основі типу олія/вода з помірною осмотичною активністю (200 %) для зменшення перифокального набряку, забезпечення видалення гнійного ексудату з рани та запобігання подразнювальної дії на грануляційну тканину.

Вищезазначене обумовлює актуальність вивчення фармакологічних властивостей нового комбінованого крему з метою обґрунтування його практичного використання для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертація є фрагментом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету з проблеми МОЗ України «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів», 2014-2019 рр. (№ державної реєстрації 0114U000956). Дисертант є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційного дослідження було комплексне фармакологічне вивчення та експериментальне обґрунтування доцільності застосування нового комбінованого крему «Дермаліпоін» для місцевого лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

Для досягнення цієї мети було поставлені такі завдання:

1. Провести скринінгові дослідження з вибору оптимальної концентрації діючих компонентів крему: олії чайного дерева, α-ліпоєвої кислоти та сечовини.

2. Вивчити гостру токсичність крему, а також можливі місцевоподразнювальні та алергізуючі властивості.

3. Вивчити вплив крему на перебіг альтеративного запалення.

4. Вивчити протизапальні властивості крему та оцінити його вплив на ексудативний компонент запальної реакції.

5. Дослідити вплив крему на проникність судинної стінки та стабілізацію клітинних мембран.

6. Вивчити репаративну дію крему на різних моделях РП, відтворених в асептичних умовах: лінійної різаної, опікової та видавленої трафаретної.

7. Дослідити антимікробну та антифунгальну активність крему in vitro та на моделі експериментальної кандидозної інфекції у мишей.

Об'єкт дослідження – місцеве лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

Предмет дослідження – протизапальна, репаративна і антимікробна активності нового оригінального комбінованого крему «Дермаліпоін», створеного на емульсійній основі з помірною осмотичною активністю і з діючими компонентами природного походження та призначеного для лікування РП у I-II фазах.

Методи дослідження. При вирішенні поставлених завдань використовували фармакологічні, біохімічні, токсикологічні, мікробіологічні, гістологічні та статистичні методи дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів. Робота є першим фармакологічним дослідженням нового комбінованого крему «Дермаліпоін», до складу якого увійшли: α-ліпоєва кислота, сечовина, оливкова олія, олія чайного дерева, ПЕГ-400. Установлені виразні антиальтеративні, протизапальні, мембраностабілізуючі, капілярозміцнюючі, репаративні та антимікробні властивості крему, що обумовили терапевтичну ефективність препарату при

експериментальній патології ранового процесу. Розроблений крем відповідає медико-біологічним вимогам, що висуваються до лікарських засобів для місцевого лікування ран і опіків у I та II фазах ранового процесу.

При вивченні специфічної активності вперше встановлено, що крем має виразні репаративні властивості на моделях лінійної різаної (репаративна активність – 78,1%), опікової (скорочення терміну загоєння ран на 9,6 дня порівняно з КП) та видавленої трафаретної ран (збільшення коефіцієнту швидкості загоєння ран на 13-ту добу у 3 рази порівняно з КП), які виявляються у пригніченні запальної реакції, вторинної деструкції тканин, стимуляції пластичних процесів та прискоренні репарації. Крем «Дермаліпоін» на моделі опікової травми виявляє більш активний вплив на репаративні процеси порівняно з ПП, про що свідчило вірогідне збільшення рибонуклеопротеїдів в цитоплазмі епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації (в 1,7 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та 1,3 рази відносно гелю «Тітріол») і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння (в 2,7 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та 1,9 рази відносно гелю «Тітріол») та ядерних нуклеопротеїдів епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації (в 1,6 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та 1,4 рази відносно гелю «Тітріол») і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння (в 1,2 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та гелю «Тітріол»).

Визначено переваги нового комбінованого крему «Дермаліпоін» перед ранозагоювальними препаратами, що представлені на фармацевтичному ринку України. За виразністю протизапального ефекту досліджуваний крем достовірно перевершує активність крему «Бепантен» і бальзаму «Спасатель форте» на моделях запальних реакцій, викликаних дією термічного фактора, карагеніну та зимозану. Здатність крему «Дермаліпоін» зменшувати проникність судинної стінки, викликаної різними флогогенами, та стабілізувати клітинні мембрани перевищує судинно- та мембраностабілізуючу дію мазі тіотриазоліну. На моделях лінійних різаних та опікових ран у щурів за планіметричними та морфологічними показниками виразність репаративної дії крему «Дермаліпоін» значно перевищує

активність гелю «Тітріол» та бальзаму «Спасатель-форте» При вивченні ранозагоювальної дії досліджуваного крему на моделі видавлених трафаретних ран шкіри у щурів за гематологічними, планіметричними, біохімічними показниками встановлено, що крем «Дерматіпоін» не поступається бальзаму «Спасатель форте».

Вперше встановлено, що крем «Дерматіпоін» має високі антимікробні властивості по відношенню до *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus subtilis,* активний проти *Escherichia coli, Proteus mirabilis.* Доведено лікувальну ефективність крему при експериментальній кандидозній інфекції у білих мишей, яка за показником мікробного навантаження в осередку кандидозного ураження та відсотком загибелі тварин перевищувала антифунгальну дію гелю «Тітріол».

Встановлено, що крем за загальноприйнятою класифікацією К.К. Сидорова відноситься до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини), як при нашкірному, так й при внутрішньошлунковому введенні, а також не чинить місцевоподразнювальної та алергізуючої дії.

Практичне значення отриманих результатів. Результати дисертаційної роботи є фрагментом доклінічного вивчення специфічної дії та нешкідливості нового комбінованого крему умовно названого «Дерматіпоін», до складу якого увійшли: α-ліпоєва кислота, сечовина, оливкова олія, олія чайного дерева на гідрофільній кремовій основі. Отримані експериментальні дані обґрунтовують доцільність подальшого доклінічного і клінічного вивчення крему «Дерматіпоін» з метою впровадження до медичної практики для місцевого лікування ран у I та II фазах ранового процесу.

Інформаційним листом про нововведення у сфері охорони здоров`я № 210-2018 (2018 р.) «Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри» продемонстровано перспективи використання нового комбінованого крему як потенційного антимікробного та репаративного засобу.

Розроблено технологічний тимчасовий регламент на виробництво крему «Дермаліпоін» в умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка» (акт впровадження в промислове виробництво від 12.01.2021 р.).

Результати фармакологічного дослідження нового комбінованого крему призначеного для лікування ранового процесу у I-II фазах впроваджено в науково-дослідну роботу та навчальний процес кафедр фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету (протокол № 1 від 30.08.2021 р.), фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету (протокол № 1 від 25.08.2021 р.), експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Полтавського державного медичного університету (протокол № 1 від 27.08.2021 р.).

Особистий внесок дисертанта. Дисертантом разом з науковим керівником сформульовані мета та завдання дослідження, обрано методичні підходи, згідно з якими відібрано моделі та методи для виконання експериментальних досліджень. Особисто автором здійснено: інформаційний пошук та аналіз літературних даних за темою дисертації, експериментальні дослідження, статистична обробка, аналіз та систематизація отриманих результатів, сформульовані висновки дисертації. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведено результати власних експериментальних досліджень; він приймав участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, у написанні наукових праць та їх підготовці до друку.

Гістологічні дослідження проводили за консультативної допомоги та під керівництвом к. біол. н., ст. н. спів. ЦНДЛ НФаУ Лар′яновської Ю. Б. та к.мед.н., доцента кафедри патологічної анатомії ХНМУ Плітень О.М., за що дисертант висловлює вдячність.

Співавторами наукових праць є науковий керівник та науковці, які брали участь у виконанні окремих досліджень – М.О. Остапець, В.С. Лобода, М.Т. Мірзалієв. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертанту належить фактичний матеріал і основний творчий доробок.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на XXXII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2015), II Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2015), XXIII International scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development» (Kharkiv, 2015), XXXIII Всеукраїнській науково-практичній конференції за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2016), XV чтениях им. В.В. Подвысоцкого (Одесса, 2016), VII Національному конгресі патофізіологів України «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції (Харків, 2016), V Національному з'їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017), II Міжнародній науково-практичній конференції «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (м. Харків, 2018).

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 212 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 4 розділів власних експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення експериментальних даних, загальних висновків, списку використаних джерел та 4 додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 25 таблицями та 26 рисунками. Список використаних джерел містить 244 найменування, з них 162 кирилицею та 82 латиницею.

РОЗДІЛ 1

ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО КРЕМУ З ПРОТИЗАПАЛЬНОЮ, АНТИМІКРОБНОЮ ТА РЕПАРАТИВНОЮ АКТИВНІСТЮ (Огляд літератури)

1.1 Сучасні уявлення про етіологію та патогенез ранового процесу

Рани органів і тканин є одним із видів ушкоджень організму, які трапляються впродовж життя людини найчастіше. При нанесенні будь-якої рани розвивається рановий процес (РП). Для раціонального лікування ран важливе значення мають знання про етіологію, патогенез та закономірності клінічного перебігу РП [1, 2, 225].

Рановий процес – складний комплекс біологічних реакцій організму, який розвивається у відповідь на пошкодження тканин і спрямований на їх загоєння [1, 166]. У ході його мають місце деструктивні та відновлювальні зміни тканин, що утворюють рану, та прилеглих до неї – сполучної, епітеліальної, нервової, м'язової [178].

З позицій загальної патології рановий процес є окремим випадком запалення, який проявляється поєднанням місцевих деструктивно-запальних змін і загальних реакцій (рис. 1.1) [4, 164, 166, 189]. Загальні реакції організму в неускладнених випадках протікають у 2 фази [4, 6].

У першу фазу (1-4 доба) після травми або операції посилюються процеси життєдіяльності: підвищуються температура тіла і основний обмін, знижується маса тіла, посилюється розпад білків, жиру і глікогену, виявляються порушення їх окиснення, знижується проникність клітинних мембран, пригнічується синтез білка в ряді органів і фізіологічна регенерація. Початковими механізмами цієї стадії є порушення симпатичного відділу вегетативної нервової системи, виділення в кров гормонів мозкового шару надниркових, інсуліну, АКТГ і глюкокортикоїдів [12, 166, 192, 213].

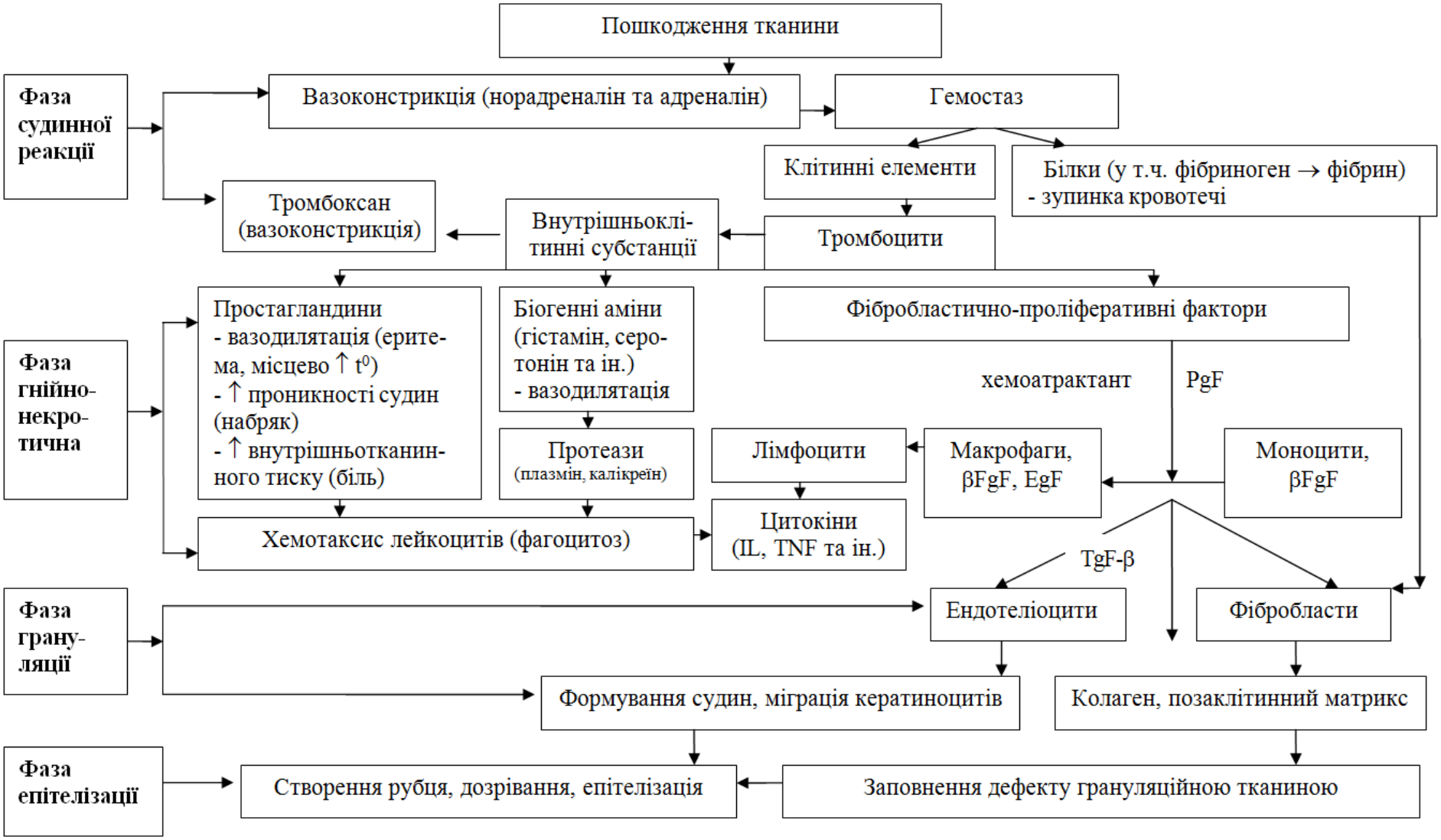

Рис 1.1. Схема розвитку запально-репаративної реакції в умовах РП.

Примітки: IL-інтерлейкіни; TNF-фактор некрозу пухлин; PgF – тромбоцитарний фактор росту; βFgF – основний фактор росту фібробластів; TgF-β – трансформувальний фактор росту; EgF – епідермальний фактор росту.

Зазначені реакції в основному неспецифічні для ранового процесу, а є характерними ознаками загального адаптаційного синдрому [1, 4, 6].

У другій фазі (4-10 доба після поранення) переважає вплив парасимпатичного відділу вегетативної нервової системи: підвищується маса тіла, відбувається нормалізація білкового обміну, активізуються процеси регенерації. Основне значення набувають мінералокортикоїди, соматотропний гормон, альдостерон, ацетилхолін [31, 48]. Місцеві реакції на травму практично у всіх випадках обумовлені взаємодією двох ушкоджувальних факторів: наявністю вогнища тканинної деструкції і мікробним збудником. Характерною особливістю ранового процесу є те, що мікрофлора руйнує природні бар'єри організму, що полегшується наявністю в них травматичного дефекту і місцевого пошкодження тканинних структур [48, 50, 72]. Місцева дія травми виникає перш за все у зоні пошкодження клітин, судин і нервів, у результаті чого порушуються мікроциркуляція, вивільняються хімічні медіатори, змінюється обмін речовин і клітинний склад рани [104].

Судинні реакції охоплюють артеріоли, капіляри і венули в зоні травми та включають наступні взаємопов'язані елементи: зміни в самих судинах, внутрішньосудинні і позасудинні зміни [104, 166, 178, 210]. Уповільнення локального кровотоку, збільшення в'язкості крові, зниження здатності еритроцитів до деформації призводить до розвитку сладж-синдрому [193].

Механізм розвитку ранового процесу, пусковим моментом якого є пошкодження тканин і мікробна інвазія, може бути представлений наступним чином. У результаті руйнування тканинних структур вивільняються біогенні аміни (гістамін, серотонін), а так само фактор Хагемана, що виконує головну роль у початковій стадії запалення. Він активує перетворення калікреїногену в калікреїн, останній каналізує перетворення кініногенів плазми крові в кініни [6, 198]. Вони також сприяють локальному накопиченню гідролітичних ферментів лізосом, що впливають на вивільнення простагландинів. Далі в цей ланцюг включається система комплементу, яка функціонує в комплексі з кініновою системою і системою зсідання крові [211].

При вивченні динаміки запального процесу в даний час користуються класифікацією А.М. Чернуха (1979), котрий запропонував виділяти п'ять стадій [145]:

- перша стадія – двофазна судинна реакція у вигляді короткочасної констрікції і тривалої дилатації мікросудин в зоні запалення, яка приводить до активної гіперемії і починається підвищення локальної проникності судин;

- друга стадія - уповільнення кровотоку, значне підвищення проникності посткапілярних венул, адгезія лейкоцитів до ендотелію судин;

- третя стадія - повна зупинка кровотоку, ексудація рідини через стінки капілярів і венул, міграція лейкоцитів із судинного русла;

- четверта стадія - активізація позасудинних процесів - хемотаксису, фагоцитозу продуктів розпаду тканин і збудників запалення;

- п'ята стадія - репаративні процеси [145].

Таким чином, комплекс локальних порушень у вигляді розладів мікроциркуляції, порушення обмінних процесів під дією хімічних медіаторів запалення, прогресуючої гіпоксії та ряду інших факторів, що виникають в результаті місцевого пошкодження тканин і мікробної інвазії обумовлюють розвиток ацидозу, гіперкаліємії і збільшення осмотичного тиску в тканинах. У результаті зростає гіпергідратація тканин, крайня ступінь яких веде до загибелі клітин, тобто розвитку некрозу. В залежності від генезу некрози диференціюють на первинні й вторинні [4, 130, 183]. Первинні некрози є результатом прямої дії механічної травми і мікробних токсинів в зоні ушкодження. Вторинні некрози виникають у зв'язку з виникненням гнійного процесу і зумовлені дією ряду факторів запалення описаних вище. Очищення рани від гнійно-некротичного секвестру свідчить про початок репаративної стадії запалення, яка є заключною.

При репарації рани у ній утворюється грануляційна тканина на основі проліферації ендотелію капілярів і фібробластів. Ендотеліальні клітини відрізняються високим вмістом ферментів і інтенсивністю біохімічних процесів [77]. Навколо новостворених капілярів концентруються опасисті клітини, які стимулюють своїми ферментами проліферацію. Джерелом ранових фібробластів,

за думкою більшості дослідників, є малодиференційовані адвентиціальні клітини, тобто навколишньосудинний камбій [94]. Можливим шляхом трансформації є одноядерні клітини крові [100].

Основною функцією фібробластів є синтез колагену з амінокислот, що надходять у клітину. Синтез колагену і білковополісахаридних комплексів сполучнотканинного матриксу безпосередньо пов'язаний із процесом новоутворення капілярів. Утворені мікросудини являють собою своєрідну біологічну основу, з якої відбувається міграція фібробластів, які продукують колаген [171, 172]. На ранніх стадіях загоєння рани молоді мікросудини забезпечують доставку кисню до клітин, так як процеси синтезу білка в осередку запалення вимагає значного енергетичного забезпечення. У міру заповнення ранового дефекту грануляційною тканиною остання стає все більш щільною. Зменшується кількість мікросудин, частина їх запустіває, зменшується кількість клітинних елементів - макрофагів, опасистих клітин і фібробластів [177]. Починається епітелізація рани, остання відбувається паралельно з дозріванням грануляційної тканини. Цей процес детально вивчений В.Г. Гаршиним (1951) [6]. Він починається вже в перші години після пошкодження з того, что клітини епітелію, які розташовані по краях рани, поступово втрачають своє диференціювання і втративши вертикальну анізоморфність, зсуваються у бік рани. Протягом першої доби утворюється 2-4 шари клітин базального епітелію. При цьому епітелій може наповзати на фібрин, що покриває рану, лейкоцитарно-некротичні маси або грануляційну тканину [102, 123]. Висока швидкість епітелізації ран забезпечується трьома процесами: міграцією, поділом і диференціюванням клітин [115, 123]. Міцною епітелізація рани стає лише при наростанні епітелію на грануляційній тканині, в інших випадках епітелій гине [122, 123]. Епітелізація невеликих за величиною ран здійснюється в основному за рахунок міграції клітин, що починається з базального шару. Рана розміром більше 0,1 см епітелізується за рахунок не тільки міграції, але і мітотичного поділу клітин епітелія. Диференціація мігруючого епідермісу починається вже в період міграції. При диференціюванні зростаючого епітелію в клітинах його з'являється

зернистість, поверхневі шари піддаються зроговінню, базальний шар клітин по своїй структурі наближається до структури клітин перехідного епітелію. Новоутворений епітеліальний покрив відрізняється від здорового відсутністю потових і сальних залоз, а так само волосяних фолікулів [6, 123]. Новий епітелій утворює кордон між пошкодженими і підлягаючими шарами, перешкоджає зневодненню тканин рани, втраті електролітів і білків, попереджає інвазію мікроорганізмів. Ступінь епітелізації тісно пов'язана з гранулюванням і обумовлена станом тканин рани, обміном речовин, трофіки, ступенем і характером бактеріального забруднення. Епітелізація закінчується на 7-10 добу, а через 10-15 діб після поранення зменшується товщина утвореного епітелію [178]. За даними Анічкова Н.Н. зі співавт. (1951) [7], найважливішою умовою нормального ходу загоєння рани є синхронізація процесу епітелізації, з одного боку, і дозрівання грануляційної тканини з іншого. Рівновага між дозріванням і лізисом грануляцій і рубцевої тканини полягає в основі феномена ранової контракції - рівномірного концентричного скорочення країв і стінок рани [6]. У другій і третій фазах загоєння ранова контракція, як правило, поєднується з інтенсивною епітелізацією, що свідчить про нормальний перебіг ранового процесу. Тривалість перебігу окремих фаз запалення визначається цілим рядом різних факторів, серед яких основне значення мають характер ушкодження, стан реактивності організму і метод лікування ранового процесу. Розглянутий патогенез ранового процесу відображає фазність його перебігу, нерозривність окремих фаз та перехід однієї фази в іншу. Терміни перебігу кожної фази - ексудації, запальної інфільтрації, очищення рани та її репарації визначити заздалегідь практично неможливо [193]. Стабільною залишається послідовність зміни цих фаз, кожна з яких характеризується певними функціональними і морфологічними змінами, що проходять у рані та навколишніх тканинах [145]. Виділення окремих фаз і стадій запального процесса носить умовний характер, так як неможливо провести сувору межу між закінченням однієї і початком іншої [212].

Вчені по різному визначають зміст кожної фази, характеризуючи їх з точки зору профілю свого дослідження.

Морфологи у перебігу ранового процесу розрізняють стадію запалення, макрофагальної реакції і стадію формування грануляційної і сполучної тканини [7]; патофізіологи - стадія альтерації, ексудації та проліферації [4, 6]. Тривалий час в клінічній практиці найчастіше користувалися класифікацією І.Г. Руфанова [115]. Він розділяє перебіг ранового процесу на дві фази. У першій фазі - гідратація, перехід гелю в золь, рана очищається від мертвих тканин; в цей період в ній розвиваються складні патофізіологічні, біохімічні і ферментативні процеси. Друга фаза - фаза дегідратації, гранулювання і регенерації, яка характеризується дегідратацією тканин. Недолік класифікації І.Г. Руфанова полягає в тому, що в її основу закладено лише одну з багатьох ознак загоєння, яка не є найбільш істотною. Доведено, наприклад, что процеси гідратації та дегідратації варіабельно змінюються впродовж тривалого терміну загоєння - до 60 днів [111]. Більш обґрунтованою з клінічних позицій є класифікації, запропоновані С.С. Гірголавом (1956) та R. Ross (1968), які розглядають запальний процес у рані у вигляді трьох послідовних фаз: запалення (підготовчий період), регенерації (проліферації) та ремоделювання (реорганізації) рубця [221]. Схожість із зазначеними має класифікація В.І. Стручкова і співавт. (1975), у якій так само виділені три стадії: стадію запалення і стадію утворення та дозрівання грануляційної тканини, але третю фазу загоєння визначають як стадію епітелізації [130]. Найбільш детальною є класифікація М.І. Кузіна (1977, 1990), в якій виділено наступні основні фази: перша фаза запалення, розділена на два періоди: період судинних змін і період очищення рани; друга фаза регенерації; третя фаза утворення та реорганізації рубця [72, 39]. Разділення фази запалення на два періоди акцентує патогенетичну спрямованість лікувальних заходів у першій стадії ранового процесу - локалізація запальних змін і прискорення очищення рани. Реорганізація рубця і епітелізація є основними компонентами завершального періоду ранового процесу, і суміщення їх видається цілком виправданим. Дана класифікація найбільш точно відображає основні етапи перебігу ранового процесу, найбільш суттєві його особливості,

визначає строгу патогенетичну спрямованість лікування відповідно певній фазі загоєння. Це робить її застосування виправданим з клінічної точки зору. На сьогоднішній день є так само класифікація, яка заснована на клінічних критеріях, що відбиває сутність кожної фази ранового процесу (Б. М. Даценко, 2009) [37, 196], згідно з якою розрізняють три послідовні фази перебігу загоєння гнійної рани: перша гнійно-некротична фаза, яка характеризується наявністю в рані некротичних тканин і гнійного вмісту; друга фаза грануляцій, клінічно проявляется очищенням рани від гнійно-некротичного секвестру та утворенням в ній грануляційної тканини; третя фаза епітелізації, характеризується епітелізацією ранової поверхні та реорганізацією (склерозуванням) рубця. Гнійні рани В. І. Стручков (1975) в залежності від їх походження розділяє на первинні та вторинні [130]. До первинних гнійних ран відносяться рани, які утворилися після оперативних втручань з приводу гострих гнійних процесів. Вторинне нагноєння виникає в більш пізні терміни внаслідок повторного інфікування, нерідко внутрішньогоспитального або виникнення у рані вторинних вогнищ некрозу різного генезу [130].

Розвиток ранової інфекції супроводжується цілою низкою клінічних проявів загального і місцевого характеру [1, 79, 173]. Загальні симптоми у вигляді гнійно-резорбтивної гарячки зазвичай відповідають характеру місцевого процесу, спочатку - тяжкості ушкодження, а потім впливу мікроорганізмів і їх токсинів, а також продуктів розпаду тканин. Інтенсивність відповіді реакцій нервово-рефлекторних, ендокринних і гуморальних - визначається сумарною вагою пошкоджуючих факторів. Істотним симптомом гнійної інфекції є озноб, пов'язаний із масивним надходженням в кров мікроорганізмів і їх токсинів, продуктів ранового розпаду [170, 176, 201]. Прогресування ранового процесу супроводжується порушенням функції нервової та серцево-судинної систем, відзначається порушення функцій печінки, нирок (токсична альбумінурія, функціональна недостатність). Головним органом, що реагує на альтерацію тканин є печінка. Білки, що синтезуються в печінці і потрапляють в кровотік, визначають певною мірою перебіг запального процесу (фібриноген, кініни,

компоненти комплементу). Поява деяких з них або зміна їх вмісту в кровотоці, розглядається як вказівка на наявність вогнища запалення в організмі. Це й зумовило їх загальну назву - реактанти гострої фази [6, 29, 48, 79, 211].

До їх числа відносяться наступні білки плазми крові:

- альфа-1-кислий глікопротеїн (AGP, орозомукоїд) - компонент мукопротеїдної фракції крові. Концентрація у фізіологічних умовах - 0,2-0,4 г/л. Впродовж декількох годин від початку запалення збільшується. Синтез глікопротеїну відбувається в гепатоцитах, руйнується він так само в печінці. Експериментально показана здатність цього глікопротеїду в зоні запалення позасудинно зв'язуватися з молекулами тропоколагену і сприяти тим самим фібрилогенезу. На більш пізніх стадіях запалення цю функцію беруть на себя глікопротеїди, синтезовані фібробластами [29, 221, 240].

- α2-антитрипсин-α1-глікопротеїдів, концентрація в нормі становить 2-4 г/л плазми. Синтезується гепатоцитами. При запальному процесі синтез швидко зростає і досягає максимуму за 2-3 дні. Головна властивість антитрипсину - здатність гальмувати протеази шляхом утворення стехіометричних комплексів. Найбільш активний по відношенню до трипсину, хімотрипсину, плазміну, тромбіну і протеаз, що вивільняються при розпаді лейкоцитів або чужорідних клітин [29, 169, 237].

- С-реактивний білок, концентрація в нормі становить менше 0,01 г/л плазми. Концентрація С-реактивного білка під час запалення швидко збільшується в 20 і більше разів і досягає максимуму через 50 годин. Синтезується гепатоцитами. Є інгібітором агрегації тромбоцитів, активує систему комплементу, фагоцитоз [29, 31].

Умовно до реактантів можна віднести гаптоглобін і церулоплазмін – білки α2-фракції глобулінів, вміст яких при запальному процесі зростає [1, 167].

Місцеві (локальні) прояви гнійного процесу залежать як від ступеня посттравматичної деструкції тканин, так і від активності мікроорганізмів, які суттєво впливають на характер і вираженість місцевого запалення [6].

Зазвичай через добу після бактеріального забруднення рани гнійно-запальний процес проявляется досить чітко. Дно рани і її вміст набувають брудно-сірого кольору, края ущільнюються і набрякають, причому зона набряку завжди дещо ширша ніж зона інфільтрації. Рановий секрет (колір, запах, консистенція, кількість), значною мірою залежить від виду мікробного збудника, але у всіх випадках є гнійним. Некротичні тканини у початковій фазі запалення щільно фіксовані до дна і країв рани, кількість їх при несприятливому перебігу процесу може зростати за рахунок вторинних некрозів. Такий вид рани в гнійно-некротичній фазі запалення [1, 12]. У випадках сприятливого перебігу ранового процесу через 3-5 днів від моменту травми відбувається запальна демаркація нежиттєздатних тканин, які потім відторгаються і лізуються в рані. Одночасно відбувається очищення рани від мікроорганізмів, особливу роль у цих процесах мають реакції фагоцитозу. Запальна реакція поступово стихає і рановий процес переходить у період репарації, клінічною ознакою якого є поява в рані грануляційної тканини. Здорові грануляції яскраво рожевого (червоного) кольору, поверхня їх блискуча, легко кровоточить при незначному пошкодженні. Інфільтрація країв рани виражена не різко, кількість секрету швидко зменшується, який стає серозним. Така клінічна картина другої фази запального процесу - фази грануляції [22]. Перехід другої фази загоєння в третю - фазу епітелізації характеризується заповненням рани грануляціями, рановою контракцією і початком крайової епітелізації. Найбільш чітко феномен ранової контракції проявляється на початку третьої стадії загоєння рани. Епітелій наростає з країв на поверхню грануляційної тканини. Швидкість епітелізації рани є величиною постійною і становить 1 мм по периметру рани за 7-10 діб (Н. Н. Анічков і співавт., 1951) [7]. Така динаміка місцевих змін у гнійній рані в процесі її загоєння.

У сучасній клінічній хірургії загальновизнаним вважається положення, що будь-яка випадкова рана є бактеріально забрудненою, або первинно інфікованою. Для реалізації інфекційного процесу в рані мікроорганізми повинні мати визначені кількісні (число потрапившого в рану збудника) і якісні (чинники

інвазивності) характеристики, що перебувають у зворотній залежності (Б. М. Даценко та співавт., 1995) [37]. Для гнійних ран різного генезу характерно, що в них серед представників ранової мікрофлори на всіх етапах обстеження хворих за даними різних авторів, переважають стафілококи, які виділяються як у вигляді монокультури, так і в різних мікробних асоціаціях. За даними більшості літературних джерел спостерігається досить високий відсоток виділення різних грамнегативних мікроорганізмів, особливо синьогнійної палички, частота якої значно зростає в процесі перебування хворих у стаціонарі [24, 31, 180, 186]. Дослідження, проведені різними авторами, свідчать, що основними збудниками гострих гнійних захворювань м'яких тканин є грампозитивні мікроорганізми, а саме *Staphylococcus aureus* у 83,7% випадків (М. І. Кузін та співавт., 1991) і різні види стрептококів [72]. У процесі лікування знижується частота виділення з гнійних ран даних представників, але значно зростає частота виділення грамнегативної мікрофлори, що як показують ті ж автори, є результатом внутрішньогоспітального інфікування ран. Збудники хронічних гнійних захворювань поряд зі стафілококами і стрептококами у більшості хворих є грамнегативними мікроорганізми, ранова мікрофлора носить полімікробний характер і в 54,1% спостережень представлена у вигляді мікробних асоціацій [149, 165, 168, 175, 181].

1.2 Основні принципи місцевого медикаментозного лікування ран

Стратегія медикаментозного лікування ран полягає в корекції запальної реакції та регуляції перебігу репаративних процесів [5, 11]. В комплексному лікуванні ран на теперішній час застосовується достатньо великий арсенал лікарських препаратів (ЛП). Фармакологічна активність таких препаратів спрямована на протидію чинникам, які заважають регенерації, що включає ліквідацію пошкоджуючого фактора, своєчасне очищення рани від некротичних тканин та пригнічення запалення. До таких препаратів відносяться антибактеріальні засоби, препарати що містять протеолітичні ферменти та

протизапальні засоби. Інші препарати сприяють утворенню природних стимуляторів регенерації – це анаболічні засоби стероїдної та нестероїдної природи, біостимулятори та стимулятори метаболічних процесів різних груп [22]. Позитивно на загоєння ран впливають вітаміни B_1, B_2, B_6, PP, C, A та E [27, 30]. Доведено стимулюючий вплив на репаративні процеси ліпоєвої кислоти та вітаміну U [40, 44, 179, 190].

У складі комплексної терапії ранового процесу широко застосовуються засоби місцево-резорбтивної дії. Під місцевим лікуванням розуміють застосування засобів, які наносять на рану [45, 53, 61].

Загальні принципи місцевого лікування ран пов'язані з вирішенням наступних завдань [78, 193, 221, 225]:

- зменшенням больового синдрому;
- локалізація запального процесу;
- боротьба з інфекцією;
- стимуляція репаративних процесів.

Серед лікарських форм, що застосовуються для місцевого лікування ран виділяють м'які лікарські форми. До м'яких лікарських форм належать мазі, гелі, креми, лініменти, трансдермальні терапевтичні системи, полімерні плівки та ін. [2, 11, 28, 30, 37, 44]. На сьогодні в Україні близько половини всієї номенклатури м'яких лікарських форм складають мазі [35]. Сучасна методика місцевого лікування ран передбачає вибір ЛП в залежності від завдань терапії. На кожній фазі РП потрібно використовувати ЛП з відповідними видами фармакологічної дії та різною осмотичною активністю [52, 55]. Ефективність місцевого лікування визначається раціональним підбором діючих та допоміжних речовин, лікарською формою ЛП, сорбційними характеристиками основи [23, 26].

Запальні та запально-некротичні зміни є головним складовим компонентом 1-ої фази ранового процесу. Вони супроводжуються мікроциркуляторними та метаболічними порушеннями в ушкодженій тканині, виділенням ексудату, лейкоцитарною інфільтрацією. Вплив первинно-пошкоджуючого чинника та локально-запальні зміни у тканинах призводять до розвитку больового синдрому.

Наявність некротичних тканин створює умови для розвитку інфекційного процесу. Усі ці фактори визначають головні вимоги до препаратів, що застосовуються для місцевого лікування ран в першій фазі ранового процесу [18]:

- широкий спектр антимікробної активності до розповсюджених збудників ранової інфекції;
- місцевоанестезуючі та протизапальні властивості;
- гідрофільна гіперосмолярна основа, що здатна поглинати ексудат до 350–600%;
- препарати не повинні викликати осмотичний шок здорових клітин;
- стабілізація клітинних мембран;
- здатність змочувати ранову поверхню та проникати у ранову порожнину.

Традиційними засобами, що входять до складу мазей для місцевого лікування ран в 1-й фазі ранового процесу є антисептики, антибіотики, протеолітичні ферменти, місцевоанестезуючі та протизапальні засоби [12, 18, 45, 91, 126].

Розвиток інфекційного процесу в рані гальмує репаративну регенерацію, тому боротьба з рановою інфекцією є одним з найголовніших завдань місцевого лікування ран на всіх стадіях ранового процесу [48, 59, 114, 126, 134, 239]. На теперішній час на тлі переоцінки ролі антибіотиків відродилася зацікавленість до антисептиків, але використання традиційних водних і спиртових розчинів антисептиків (хлоргексидин, перекис водню, діоксидин, повідон-йод, йоддицерин) не виправдовує себе. Їх головними неоліками є: односпрямованість та короткочасність дії; відсутність осмолярної та знеболювальної активності. Останнім часом триває активний пошук сполук та лікарських форм з пролонгованою антимікробною дією. Широке застосування з цією метою знаходять мазі та гелі з іммобілізованими антисептиками на гідрофобних і гідрофільних основах [49, 75, 97, 99, 128]. При наявності некротичних тканин для очищення рани додатково потрібно застосовувати протеолітичні ферменти [105].

Місцеве медикаментозне лікування ран в 2-й фазі ранового процесу має бути спрямоване на вирішення наступних завдань [121, 131]:

- захист грануляційної тканини від механічного ушкодження і висихання;

- профілактика вторинного інфікування рани;
- попередження гіпергідратації тканин, за рахунок слабких, або помірних осмотичних властивостей;
- нормалізація мікроциркуляції та обмінних процесів у рані;
- спрямована стимуляція та регуляція репаративних процесів.

На III стадії РП, коли відбуваються епітелізація, фіброз, організація рубця, до препаратів для місцевого лікування пред'являються такі вимоги: ефективний захист рани від висихання, травм, профілактика аномальної проліферації та диференціації фібробластів з формуванням гіпертрофічних і келоїдних рубців, прискорення епітелізації, спрямована стимуляція та регуляція репаративних процесів у рані та забезпечення оптимальних умов для реорганізації рубця [13, 30, 35]. На цій стадії РП показані мазі, які містять глюкокортикостероїдні гормони, а також мазі на жировій основі для запобігання травмуванню молодого епідермісу [11, 53, 60].

Бажаний спектр фармакологічної дії МЛФ ЛП в залежності від фази РП, наведений на рис. 1.2.

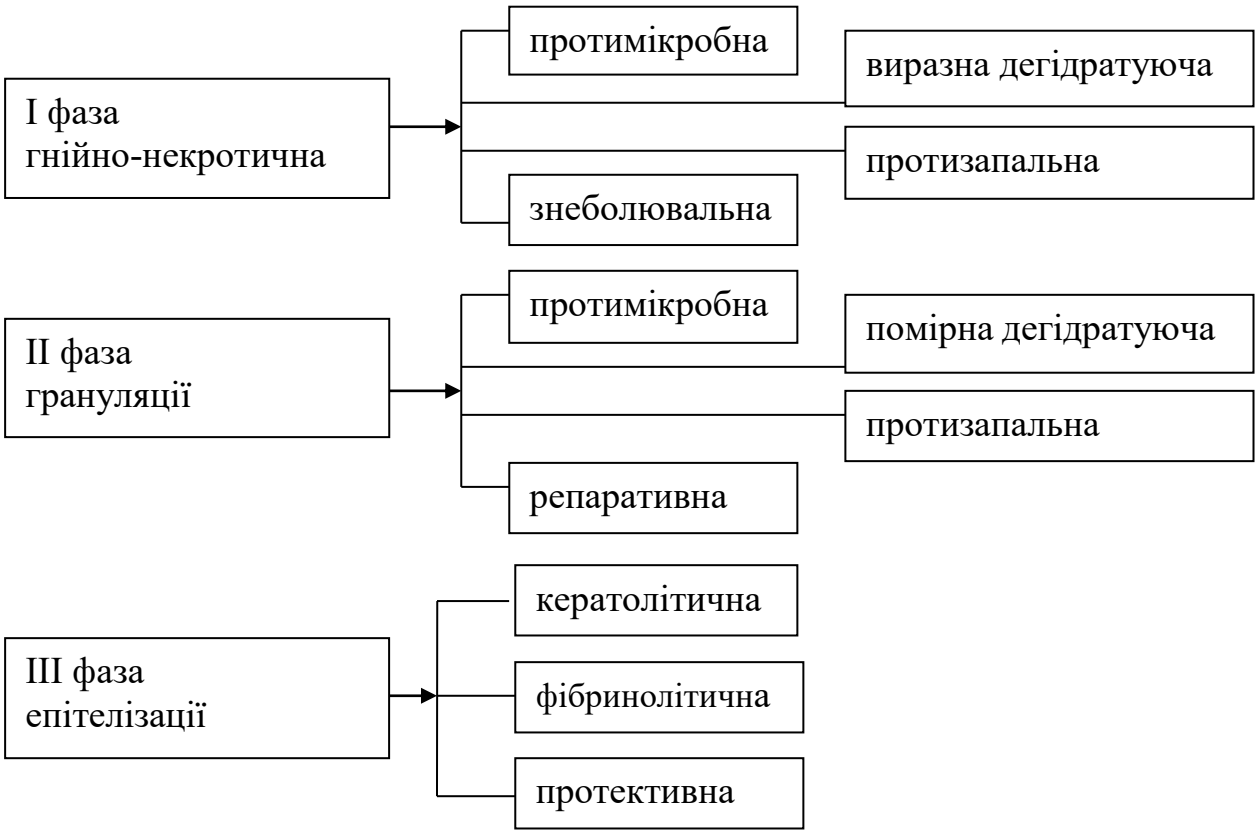

Рис. 1.2. Види фармакологічної дії ЛП для місцевого лікування ран в залежності від фази РП [45].

У теперішній час однією з найбільш перспективних м'яких лікарських форм є креми, так як вони більш повно та рівномірно вивільняють лікарські речовини, легко наносяться та всмоктуються шкірою, не залишають на ній жирного блиску, економічно доступні тощо [35].

Відносно походження діючих компонентів тільки 10% ЛП містять речовини рослинного походження, хоча відомо, що лікарські рослини виявляють полівалентні властивості та при місцевому застосуванні є більш безпечними, ніж препарати, що містять компоненти синтетичного походження [33, 54, 71, 88, 160].

Більшість м'яких лікарських форм ЛП для місцевого лікування ран є монокомпонентними – 63%, а менша частина – 37% містить від двох до шести діючих компонентів [93, 103, 108].

Серед комбінованих препаратів, призначених для місцевого лікування ран 57% призначені для І-ї та І-ІІ-ї фаз РП, 38% – для ІІ-ї та ІІ-ІІІ-ї фаз і 5% – для ІІІ-ї фази [114, 131, 132, 139, 159, 160].

До комбінованих препаратів, які призначені у І-й та І-ІІ-й фазах відносяться: «Інфларакс», «Мірамістин-Дарниця», «Ацербін», «Левомеколь», «Левосин», «Нітацид», «Іруксол», «Офлокаїн-Дарниця», «Банеоцин», «Альгофін», «Ебермін», «Ілон». Серед них відповідний спектр фармакологічної дії (протимікробна, знеболювальна, протизапальна, виражена дегідратуюча) мають тільки 2 мазі вітчизняного виробництва: «Інфларакс» і «Левосин» [16, 19, 21, 22].

Мазь «Інфларакс» є новим препаратом, зареєстрованим на фармацевтичному ринку у 2010 році та має удосконалений склад діючих речовин і мазевої основи. Мазь «Левосин», хоча протягом багатьох років і є лідером за об’ємом продажу, має серйозні недоліки, обумовлені високою резистентністю основних збудників ранової хірургічної інфекції до антибактеріального засобу левоміцетину, що складає 70-100%. Крім того, з досвіду хірургічної практики відомо, що основа мазі «Левосин» хоча і гідрофільна, але незбалансована (макрогол 1500 і макрогол 400 у співвідношенні 1:4), недоліками її є переважно односпрямована дифузія (із рани в пов’язку з маззю), що може призвести до надмірної дегідратації, пересушування неуражених тканин, порушення бар’єрної

функції клітинних мембран та в свою чергу сприяє швидкому проникненню хіміотерапевтичних речовин у системний кровотік та збільшенню токсичності препарату [16, 23, 31, 35, 44, 63, 107].

Отже, на фармацевтичному ринку України на сьогодні недостатньо комбінованих ЛП, призначених для І фази РП при лікуванні гнійних ран з різноспрямованою та вираженою фармакологічною дією, що створює необхідність розробки та впровадження нових комбінованих ЛП з широким спектром фармакологічної дії [35, 63].

Для лікування РП у ІІ-й, ІІ-й та ІІІ-й фазах серед комбінованих вітчизняних ЛП представлені: мазь «Тіотриазолін», «Мефенат», «Рятівник», «Метилурацил з мірамістином», «Вундехіл», «Пантестин-Дарниця», «Стрептонітол-Дарниця» і мазь «Живокост». Серед них «Метилурацил з мірамістином» і «Пантестин-Дарниця» мають відповідний спектр фармакологічної дії (протимікробну, протизапальну, репаративну та помірну дегідратуючу) [35, 45, 53, 63]. Ці препарати мають основу з помірною осмотичною активністю, містять відповідний компонент з репаративною дією та катіонний антисептик мірамістин, що впливають на пригнічення осередків гнійного запалення, виявляють протизапальну, протигрибкову та імуномодулюючу дії. Але такої обмеженої кількості ЛП може виявитись недостатньо для забезпечення хірургічної допомоги. Крім того, при використанні м’яких лікарських форм з метилурацилом розвивається ціла низка побічних явищ: місцево подразнювальна дія, алергічні реакції, дерматози, вони протипоказані при злоякісних захворюваннях кісткового мозку та шкіри, при гострих і хронічних лейкозах, лімфогранулематозі [63].

З метою прискорення процесів репарації та стимуляції захисних сил організму застосовуються також іноземні препарати, що містять препарати природного походження (актовегін, солкосерил), але ці засоби мають вузький спектр дії та помірно виражений стимулюючий ефект, що дозволяє їх застосовувати лише як засоби у складі комплексної терапії. Недоліком вищезазначених препаратів також можна вважати достатньо високу вартість [214, 218, 225, 226].

Очевидним є доцільність створення нових комбінованих лікарських засобів, які будуть використовувати у певній фазі РП.

В останні роки в напрямку створення нових лікарських засобів спостерігається тенденція до поступової відмови від застосування ксенобіотиків та більш широкого застосування засобів природного походження [54, 160]. Така концепція створення лікарських препаратів базується на використанні біологічно активних речовин, що виявляють виразний фармакологічний ефект, при цьому мобілізують резервні можливості організму, підвищують його стійкість до різноманітних хвороботворних чинників [160].

Аналіз основи м’яких лікарських форм ЛП показав, що серед препаратів, призначених у І-й фазі 35% ЛП та у І-й і ІІ-й фазах 50% ЛП, відповідно, є недостатньо ефективними, оскільки виготовлені на гідрофобній основі. Даний тип основи містить вазелін-ланолін або свинячий жир, що перешкоджає діючим компонентам ЛП змішуватися з рановим ексудатом і його адсорбувати [33, 35, 45, 54, 78, 93]. Крім того, гідрофобні мазеві основи є суттєвою перепоною для вивільнення діючих речовин з препарату і їх проникнення в осередок ушкодження, що стає причиною погіршення стану рани та збільшення періоду її загоєння.

Аналіз ЛП за кількістю діючих компонентів засвідчив, що 63% препаратів містять один компонент, що не відповідає медико-біологічним вимогам при використанні м'яких лікарських форм препаратів в хірургічній практиці [12, 36, 50]. Вузькоспрямована дія таких препаратів у багатьох клінічних випадках є недостатньою для раціонального лікування та у практичних умовах вимагає одночасного застосування декількох ЛП, що створює незручності та потребує більших витрат [35].

Отже, на сьогоднішній день можна виділити низку проблем, що виникають у хірургічній практиці при застосуванні м’яких лікарських форм ЛП:

- недостатня ефективність багатьох препаратів, що пов’язана з недоліками основи або/та монокомпонентним складом [49];

- незначна кількість препаратів, що мають специфічну направленість на певну фазу РП та відповідну осмотичну активність;
- зростання резистентності збудників ранової інфекції до існуючих препаратів [77, 87, 90, 97, 105, 182, 193, 206, 209].

Таким чином, потреба в ЛП для місцевого лікування ран на сьогодні задовольняється не повною мірою, оскільки багато препаратів, що випускаються фармацевтичними підприємствами мають вузький спектр фармакологічної дії і виготовлені на гідрофобних основах [207]. Такий стан потребує розробки нових препаратів вітчизняного виробництва, створених на гідрофільних основах з відповідним спектром фармакологічної дії з метою підвищення ефективності місцевої фармакотерапії.

1.3 Перспективи створення нового багатокомпонентного крему для застосування в хірургії та у дерматологічній практиці

Вибір лікарської форми має важливе значення для успішної фармакотерапії. На ефективність та безпечність лікарського засобу, може вплинути неправильно підібрана лікарська форма, у тому числі і на зниження ефективності та підвищення токсичності, проте вдало підібрана лікарська форма може допомогти досягти додаткових терапевтичних ефектів. Сама по собі основа м’якої лікарської форми має забезпечувати терапевтичні властивості препарату, особливо при лікуванні ран різного генезу [35, 43].

При розробці місцевого препарату для лікування ранового процесу висувається ряд вимог. Засіб повинен підтримувати нормальну мікрофлору на ураженій ділянці; запобігати появі нагноєння; чинити м’яку дію; сприяти прискоренню регенерації [35, 40, 43].

Інші вимоги задовольняються вибором оптимальної лікарської основи та допоміжних речовин. Враховуючи особливості стану шкіри при рановому процесі та стану ураженої ділянки, оптимальна основа м’якої лікарської форми препарату для зовнішньої терапії цього синдрому повинна задовольняти специфічні критерії.

Оптимальна основа повинна мати задовільні біофармацевтичні характеристики; легко всмоктуватися (що дає змогу зменшити концентрацію активних інгредієнтів та допоміжних речовин); не перешкоджати газообміну шкіри; мати задовільні споживчі властивості; легко наноситися на великі поверхні тіла; бути економічною у виробництві [43, 44, 61, 86].

Креми проявляють виражену зволожуючу дію, при рановому процесі вони будуть сприяти репарації та зможуть пом’якшити загрубілість рубцю, що характерно для ранового процесу. На наш погляд креми є необхідними лікарськими основами для використання при розвитку ранового процесу, оскільки креми добре змішуються з рановим ексудатом, при висиханні утворюють захисну плівку. Креми також здатні поглинати значні об'єми міжклітинного ексудату при гнійній патології і часто використовуються у складі препаратів для лікування гнійних ран, не роблячи негативного впливу на зневоднення клітин шкіри або слизових при тривалому контакті [93].

У складі емульсійних основ (кремів) раціональним є поєднанням води і жирів, що забезпечує ряд життєво важливих функцій шкіри. Водно-жирова система, близька за природою і складом до природних складових шкіри, здатна активно впливати на процеси, що протікають у шкірних структурах. Присутність води, сприяє зволоженню поверхні шкіри. Також поліпшується контакт із зовнішнім середовищем, активізуються процеси всмоктування і резорбції. Висока біологічна доступність емульсій обумовлена здатністю гідратованої шкірної поверхні підвищувати свою «пропускну» здатність [103, 105].

У сучасних основах використовують поліетиленгліколь-400 (ПЕГ-400). Це низькомолекулярний клас поліетиленгліколю. Унікальні властивості ПЕГ-400 зумовлюють його широке біотехнологічне та клінічне застосування. ПЕГ-400 має високу розчинюючу здатність по відношенню до речовин як гідрофільного, так і гідрофобного характеру, що дозволяє використовувати його в якості ефективної основи для отримання неіоногенних поверхнево-активних речовин (ПАР) шляхом ковалентного зв'язування з гідрофобними молекулами (наприклад, з оливковою олією) [82, 83].

Жири ж, у свою чергу, будучи носіями натуральних поживних речовин, здатні функціонально заміщати ліпіди шкіри при їх нестачі. Рідкі рослинні олії (оливкова олія, олія чайного дерева тощо) мають ранозагоювальний, репаративний, протизапальний та ранозагоювальний ефект. Також відбувається зволоження поверхневих шарів шкіри, оскільки ці олії створюють на поверхні шкіри водонепроникну плівку, що перешкоджає випаровуванню [15, 82, 83].

Шкіра має здатність всмоктувати з жирів і масел потрібні їй жирні кислоти і використовувати їх для синтезу власних епідермальних ліпідів, простагландинів та інших регуляторів місцевого імунітету. Жирні кислоти всмоктуються в шкіру, як правило, з натуральних олій (оливкової, кукурудзяної, соняшникової, авокадо), що містять незамінні жирні кислоти (лінолеву, ліноленову, а також їх похідні - гамма-ліноленову та деякі інші) [103, 108].

Оливкова (маслинова) олія нерафінована (*Olivae oleum virginale*) – жирна олія, одержана зі стиглих плодів *Olea europaea L.* методом холодного пресування, яка складається з двох фракцій: омилювальної та неомилювальної. Державна фармакопея України (ДФУ) регламентує такий вміст основних компонентів у оливковій олії (у відсотках) [15, 82, 144]: неомилювальна фракція – не більше 1,5%; насичені жирні кислоти з довжиною ланцюга менше C_{16} – не більше 0,1; пальмітинова кислота – від 7,5 до 20,0; пальмітолеїнова кислота – не більше 3,5; стеаринова кислота – від 0,5 до 5,0; олеїнова кислота – від 56,0 до 85,0; лінолева кислота – від 3,5 до 20,0; ліноленова кислота – не більше 1,2; арахідонова кислота – не більше 0,7; ейкозанова кислота – не більше 0,4; бегенова кислота – не більше 0,2; лігноцеринова кислота – не більше 0,2.

Поліненасичені жирні кислоти, що входять до складу омилювальної фракції (наприклад, ліноленова), є конкурентними антагоністами арахідонової кислоти – головного субстрату синтезу простагландинів, тромбоксанів та лейкотрієнів. Конкуренція з ώ-поліненасиченими кислотами на циклооксигеназно-ліпооксигеназному рівні виявляється модифікацією спектру лейкотрієнів та простагландинів. Ліпіди, які містять гамма-ліноленову кислоту, підвищують утворення в шкірі ейкозаноїдів – похідних 15-ОН-ейкозатетраєнової кислоти, з

якою пов'язують хемотаксис лейкоцитів та локалізацію запального процесу [11, 15].

До складу неомилювальної фракції можуть входити вітамін Е, фітостерини та інші біологічно активні речовини. Як правило, саме склад неомилювальної фракції в першу чергу визначає високу біологічну активність рослинних олій [15, 82, 83].

Одне з найважливіших завдань консервативного лікування ран - боротьба з патогенною мікрофлорою. Мікробна контамінація здатна суттєво змінити перебіг ранового процесу. Поряд із механічним пошкодженням тканин, продукти бактеріальної життєдіяльності можуть значно розширити ділянку альтерації та внести специфіку в патогенез первинних фаз загоєння. Проте формування стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів та зумовлена цим втрата їх фармакологічної ефективності зумовлює пошук нових речовин і препаратів, здатних активно впливати на їх ріст та розвиток. Для досягнення цієї мети використовують препарати з багатогранним механізмом дії. Саме зовнішній спосіб застосування ліків дозволяє максимально забезпечити концентрацію лікарських речовин у вогнищі запалення і є найбільш безпечним, оскільки дає можливість легко змінити дозу за необхідності [30, 35, 160].

Олія чайного дерева – натуральна рослинна ефірна олія, що отримана з листя австралійського дерева *Melaleuca alternifolia*. У природі існує понад 200 різновидів чайного дерева, проте лише один з них *Melaleuca alternifolia (Myrtaceae)*, що росте в болотистій місцевості Нового Південного Уельсу в Австралії, має лікувальні властивості: антисептичні, бактерицидні, протигрибкові, імуностимулюючі. Олія чайного дерева містить більше 100 різних компонентів, найважливішими з яких є 1,8-цинеол; терпінени, терпінен-4-ол [15, 82]. Згідно з австралійським стандартом AS 2782-1985 та міжнародним ISO 4730:2004, олія чайного дерева класифікується за кількістю цинеолу (евкаліптолу) і терпінен-4-олу, що містяться в ньому [82]. ДФУ регламентує такий вміст основних компонентів у олії чайного дерева (у відсотках) [15, 82]: α-пінен – 1,0-6,0; сабінен – менше 3,5; α-терпінен – 5,0-13,0; лімонен – 0,5-4,0; цинеол - менше 15,0; γ-

терпінен – 10,0-28,0; ρ-цимен – 0,5-12,0; терпінолен – 1,5-5,0; терпінен-4-ол - не менше 30,0; аромадендрен - менше 7,0; α-терпінеол – 1,5-8,0. Цинеол має цінні лікувальні властивості, проте в дерматології рекомендується застосування олії чайного дерева з вмістом цинеолу не більше 15,0%, тому що більш високий вміст цинеолу може викликати подразнення слизових оболонок та шкіри [15, 82].

Найбільш важливою активною складовою вважають природний терпінен-4-ол, що забезпечує антисептичну дію олії. Його дія на мікроорганізми в середньому в 13 разів сильніша у порівнянні з дією чистого синтетичного фенолу. Виділений з олії чайного дерева терпінен-4-ол практично не подразнює шкіру. Олія чайного дерева гальмує ріст грампозитивних, грамнегативних патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів [15, 133, 135, 194]. Особливо виразні антимікробні властивості ефірної олії чайного дерева показані відносно біогенних коків (стафілококів, стрептококів), які є класичними збудниками ранової інфекції [47, 195, 205, 215]. Крім протимікробної активності олія чайного дерева чинить протизапальну дію, спричиняє незначну гіперемію на ділянці нанесення, сприяє підвищенню проникності шкіри для біологічно активних речовин. Олія чайного дерева здатна стимулювати регенерацію ушкодженої шкіри, сприяє епітелізації ран [18, 223, 227].

Враховуючи сучасні уявлення про роль вільнорадикального окиснення в патогенезі ранового процесу, видається природним використання антиоксидантних засобів для корекції дисбалансу в прооксидантно-антиоксидантній системі, регуляції перебігу процесу запалення та відновлення ушкоджених структур за рахунок мембраностабілізувальної дії на рівні клітин і тканин. Їх застосування значно зменшує інтенсивність запалення, сприяє очищенню рани та швидкому формуванню продуктивних процесів [135, 226, 242].

Близько 50 років тому була синтезована α-ліпоєва кислота, й уже невдовзі почали з’являтися перші результати її клінічного застосування [69, 70, 131, 138, 179]. Альфа-ліпоєва кислота (LA або ALA, з англійської α-ліпоєва кислота), 1,2-дитиолан-3-пентанова кислота або просто тіоктова кислота - це природна сполука, яка присутня в мітохондріях клітин тварин і рослин. α-Ліпоєва кислота

містить дві тіолові групи (SH), які можуть брати участь у реакціях окиснення та відновлення, саме тому вона має потужний антиоксидантний потенціал [69, 138, 179].

α-Ліпоєва кислота завдяки своїм структурним характеристикам, подібним до глутатіону, іншого сірчаного антиоксиданту, є частиною окиснювально-відновлювальної пари, оскільки може окиснюватися або відновлюватися залежно від потреб клітини. Однак, на відміну від глутатіону, її відновлена пара, дигідроліпоєва кислота або DHLA (від англ. дигідроліпоєва кислота), також має антиоксидантні властивості, що підтверджується її здатністю брати активну участь у окисно-відновних реакціях [70, 131, 179].

Завдяки характеристикам розчинності (вона розчиняється як у воді, так і в ліпідних або жирових сполуках), ця кислота може виконувати свої функції як антиоксидант у всіх лікарських формах. При місцевому застосуванні має протизапальну, кератолітичну, кератопластичну, бактеріостатичну і фунгістатичну дію [63].

Сечовина або карбамід – CH_4N_2O, діамід вуглецевої кислоти, білі кристали, добре розчинні у воді, вміст: не менше 98,5% і не більше 101,5% у перерахунку на суху речовину [119]. Це багатофункціональна органічна сполука, яка є природним компонентом шкіри. У здоровій шкірі міститься 8 мкг/см^2 сечовини. Сечовина, молочна, піролідонкарбонова кислоти, амінокислоти (аланін, аргінін, гліцин, гістидин, лейцин, лізин, серин, треонін), аміак та неорганічні солі входять до складу натурального зволожуючого фактора (NMF), який є комплексом водорозчинних низькомолекулярних сполук органічної та неорганічної природи, здатних за рахунок осмотичної активності притягувати та утримувати молекули води. Сечовина має гідратуючі властивості, є провідником біологічно активних речовин, які входять до складу препарату, прискорює репарацію клітин, має аналгетичні властивості при пошкодженнях і запаленнях дерми, знімає подразнення і свербіж, стимулює експресію низки епідермальних антимікробних і транспортних білків. Антибактеріальний ефект чинить сечовина в концентрації

від 5 до 10%. Концентрацію від 10 і вище, практично до 50 застосовують при лікуванні мікозів, псоріазу, дерматиту [119].

Новий комбінований крем з умовною назвою «Дермаліпоін», до складу якого включені: α-ліпоєва кислота, сечовина, оливкова олія, олія чайного дерева, ПЕГ-400 був розроблений на кафедрі товарознавства Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Баранової І.І.

Висновки до розділу 1

Аналіз літературних джерел показав, що є актуальним розробка нових лікарських препаратів для місцевого лікування ран і опіків, створених на гідрофільних основах з відповідним спектром фармакологічної дії з метою підвищення ефективності місцевої фармакотерапії.

Комплексний препарат, що становить собою композиційну суміш ефективних антибактеріальних і антиоксидантних речовин у формі крему буде являти собою принципово нову біологічно активну композицію, в основі якої лежать речовини природного походження, що мають низьку токсичність, високий рівень біотрансформації, не акумулюються в організмі, при цьому мають широкий спектр фармакологічної активності.

Це стало підставою для проведення фармакологічних досліджень нового комбінованого крему з метою створення лікарського препарату для місцевого лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

РОЗДІЛ 2
ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

З урахуванням сучасних даних про політропность механізмів розвитку уражень шкіри та ранового процесу для успішної фармакотерапії останніх необхідно надавати багатоспрямовану дію як на етіологічні, так і на патогенетичні сторони патологічного процесу. З цією метою лікарські засоби повинні сприяти очищенню рани від некротичних мас, виявляти, поряд з достатньою антимікробною дією протизапальну активність, знижувати больову чутливість травмованих тканин, сприяти поліпшенню умов для регенерації і прискорення епітелізації в зоні ушкодження. Такий широкий вплив на зону ураження мають комбіновані препарати для місцевого застосування [159].

У зв’язку з цим, а також враховуючи потребу практичної медицини в розширенні номенклатури засобів для лікуванні ранового процесу та запальних уражень шкіри, об’єктом наших досліджень обраний новий комбінований крем з умовною назвою «Дермаліпоін», технологія якого була розроблена на кафедрі товарознавства Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Баранової І.І.

Як активні фармакологічні компоненти до складу крему «Дермаліпоін» були введені:

- α-ліпоєва (тіоктова) кислота, яка є коферментом групи карбоксилаз – потужний антиоксидант і ефективний протизапальний засіб, при місцевому застосуванні має кератолітичну, кератопластичну, бактеріостатичну і фунгістатичну дію. Показано, що багато антиоксидантів мають протизапальні властивості, як при внутрішньому, так і при зовнішньому застосуванні [69, 70, 131, 138, 179].

- оливкова олія має знеболюючі, репаративні та протизапальні властивості, є найкращим розчинником концентрованих ефірних олій [82].

- олія чайного дерева дуже сильний антисептик (у 8 разів сильніше карболової кислоти і в 12 разів сильніше фенолу), також має виражену

бактерицидну, протигрибкову, противірусну, імуностимулюючу, антиексудативну, репаративну дії. Успішно застосовується в боротьбі з такими патогенними мікроорганізмами як: Staphylococcus (aureus, epidermidis, pneumoniae, faecalis pyogenes та ін.), Propionibacterium acnes, Betahaemolytic streptococcus, Klebsiella pheuraoniac, Citrobacter spp., Shigella sonnei, Proteus mirabilis, Legionella spp., Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans та ін. [15, 144].

- сечовина чинить гідратуючу, кератолітичну, протисвербіжну, антибактеріальну та протигрибкову дію [119].

З метою забезпечення осмотичної й дегідратаційної дії, що у свою чергу прискорює термін загоєння рани, до складу крему введено ПЕГ-400 – розчинник з помірним осмотичним ефектом (200 %). ЛП, що містять ПЕГ, мають високу ефективність, особливо при ексудативних дерматозах, для лікування яких не можуть бути використані ліки на жирових і вуглеводневих носіях [55, 103]. ПЕГ добре розчиняють велику кількість лікарських речовин, легко їх вивільняють, забезпечуючи добрий контакт зі шкірою чи рановою поверхнею тканин, що у свою чергу значно підвищує їх абсорбцію та активність що обумовлює його широке застосування у виробництві кремів для лікування інфікованих ран [35, 46, 61, 78].

Готовий крем є пластичною масою білого кольору зі слабким специфічним запахом.

Вміст основних діючих компонентів крему:

- оливкова олія – 27 %;

- α-ліпоєва кислота – 2 %;

- олія чайного дерева – 3 %;

- сечовина – 10 %;

- ПЕГ-400 (10,0 %), емульгатор моностеарату гліцерину (6,1 %), вода очищена до 100,0 %.

Аналіз складу крему і наведені в огляді літератури дані про фармакологічні властивості діючих речовин крему «Дермаліпоін» дозволили припустити наявність у препарату різних видів фармакологічної дії.

Виходячи з мети і завдань дисертаційної роботи, видавалося доцільним спланувати експериментальні дослідження таким чином, щоб спочатку провести фармакологічний скринінг різних концентрацій окремих складових крему за антимікробною та репаративною дією, а потім, обравши оптимальну концентрацію компонентів крему, дослідити його ефективність на модельних патологіях запальних уражень шкіри та ранового процесу за такими напрямками фармакологічної дії, як протизапальна, репаративна та антимікробна. Схема досліджень наведена на рис. 2.1.

Експериментальні дослідження фармакологічної активності й оцінку критеріїв нешкідливості крему «Дерматіпоін» виконано на трьох видах тварин: нелінійних статевозрілих білих щурах масою 180-230 г, нелінійних статевозрілих білих мишах масою 20-22 г і мурчаках масою 350-450 г. Всього в роботі використано 92 мишей, 298 щурів і 18 мурчаків.

Тварини були вирощені у віварії ННІПФ НФаУ і перед початком експерименту проходили акліматизацію в умовах кімнати для проведення випробувань протягом 7 днів. Тварини утримувалися в стандартних умовах віварію: при температурі 20-22 С, вологості не більше 60-70%, обсязі повітрообміну (витяжка-приплив) 8/10, світловому режимі день/ніч у стандартних алюмінієвих клітках не більше 5 тварин у кожній (Directive 2010/63/EU of European Parlament and Council on the protection of animals used for scientific purposes) [51, 74, 86, 113, 142].

Робота з тваринами проводилася відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах» [113]. Всі больові маніпуляції були проведені під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг внутрішньочеревно).

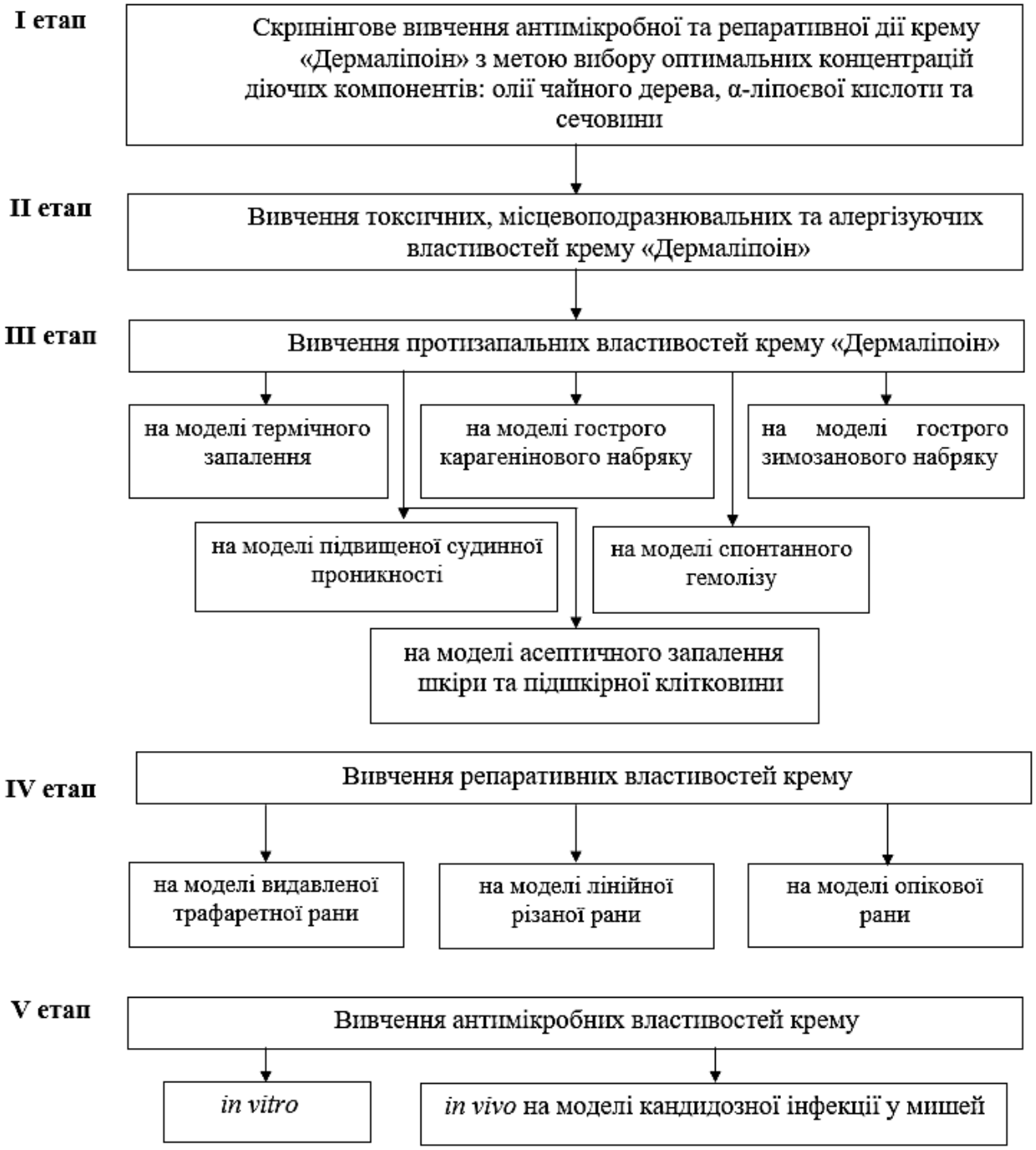

Рис. 2.1. Логічна схема дослідження

Евтаназію проводили шляхом передозування ефірного наркозу або шляхом цервікальної дислокації. Комісією з питань біоетики НФаУ порушень морально-етичних норм при плануванні та проведенні науково-дослідної роботи не виявлено (протоколи № 3 від 19.03.2014 р., № 6 від 20.06.2018 р.).

На першому етапі досліджень проводили скринінг за антимікробною активністю композицій із вмістом ефірної олії чайного дерева різної концентрації.

Для аналізу було приготовано чотири зразки із вмістом ефірної олії чайного дерева різної концентрації (табл. 2.1).

Таблиця 2.1

Склад досліджуваних експериментальних композицій крему «Дермаліпоін»

Зразки	Діючі компоненти				
	α-ліпоєва кислота	сечовина	ефірна олія чайного дерева	оливкова олія	ПЕГ-400
№ 1	1%	5%	1%	27%	до 100%.
№ 2	1%	5%	2%	27%	до 100%.
№ 3	1%	5%	3%	27%	до 100%.
№ 4	1%	5%	4%	27%	до 100%.

Як препарат порівняння на цьому етапі роботи був обраний гель «Тітріол» (серія 04613, ДП "ДНЦЛЗ", Україна), що містить у якості діючої речовини олію чайного дерева (1 г гелю містить олії чайного дерева 0,04 г).

Антимікробну активність дослідних зразків вивчали in vitro методом дифузії в агар (метод «колодязів»). Цей метод ґрунтується на здатності активнодіючих речовин дифундувати в агарове середовище, яке попередньо засіяно культурами мікроорганізмів. Результати досліджень дозволяють оцінювати як антимікробну активність препарату, так і вивільнення антибактеріальних речовин з основи, оскільки зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії цих речовин в щільне живильне середовище [19, 20].

В якості тест-культур використовували чисті культури з Американської колекції культур (АТСС) грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus ATCC* 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* АТСС 6633, грамнегативну

культуру *Escherichia coli* ATCC 25922. Антифунгальну дію з'ясовували відносно дріжжеподібного грибу роду *Candida* - *Candida albicans* ATCC 885-653. При проведені дослідів використовували однодобові суспензії бактеріальних мікроорганізмів у фізіологічному розчині, та дводобову культуру дріжджоподібного гриба. Мікробне навантаження становило $5 \cdot 10^8$ КУО/мл для грампозитивних і 10^8 КУО/мл для грамнегативних бактерій і гриба *Candida albicans* [19, 20].

До чашок Петрі, які встановлені на горизонтальній поверхні, вносили по 10 мл розплавленого стерильного живильного середовища. Після застигання даного нижнього шару агару на його поверхні на рівній відстані один від одного та від краю чашки розміщали 3-6 стерильних сталевих тонкостінних циліндрів (внутрішній діаметр – 6,0±0,1мм, висота – 10,0±0,1 мм). Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався з 14 мл розтопленого та охолодженого до 45-48 ºС агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму. При роботі з бактеріальними культурами для другого шару використовували м'ясо-пептонний агар (МПА), при роботі з дріжджоподібним грибом – агар Сабуро). Після охолодження верхнього шару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки вносили досліджувані зразки до повного їх заповнення. Чашки Петрі підсушували 30-40 хвилин при кімнатній температурі та поміщали в термостат – бактеріальні культури при температурі 32,5±2,5 ºС на 18-24 години, культуру дріжджоподібного гриба при 22,5±2,5 ºС на 48 годин [19, 20].

Для проведення аналізу проводили підготовку зразків для чого готували емульсію. Для цього до досліджуваних зразків додавали емульгатор полісорбат-80 (2,5%). Для отримання гомогенної консистенції додавали стерильні скляні кульки і здійснювали механічне струшування.

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення росту мікроорганізмів, включаючи діаметр лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видимого росту.

Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків:

- відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зону затримки діаметром до 10 мм, оцінювали як не чутливість мікроорганізмів до внесеного в лунку зразка;

- зони затримки росту діаметром 11-15 мм оцінювали як слабку чутливість культури до концентрації діючої протимікробної речовини, що досліджувалась;

- зони затримки росту діаметром 15-25 мм – чутливий штам мікроорганізму до досліджуваного зразка;

- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчить про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваного зразка.

У результаті проведених мікробіологічних досліджень встановлено, що зразок № 3 та № 4 (вміст ефірної олії чайного дерева 3 і 4 % відповідно) мали найбільшу антимікробну активність. Однак збільшення концентрації олії чайного дерева до 4 % (зразок № 4) не призвело до значного підвищення антимікробної активності, порівняно зі зразком № 3. Тому для подальших досліджень у склад виучуваних експериментальних композицій крему «Дермаліпоін» вводили 3% олію чайного дерева [65, 67].

Дослідження активності репаративних процесів передбачає вивчення здатності препарату прискорювати процес репарації. Тому наступний етап скринінгових досліджень проводили за репаративною дією.

Для визначення репаративних властивостей крему була використана модель лінійних різаних ран у щурів, яка дозволяє за короткий термін оцінити вплив засобу на швидкість формування і дозрівання грануляційної тканини [66, 68].

Для скринінгу були надані експериментальні зразки крему, склад яких наведений у таблиці 2.2.

Як препарати порівняння на цьому етапі роботи були обрані декілька зовнішніх м'яких лікарських форм (крем, бальзам), близьких до виучуваних композицій за лікарською формою, складом, фармакологічною дією та показаннями до застосування:

- крем «Карбодерм-Дарниця» (серія КК30514, ЗАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна) (склад – сечовина 10%) – препарат виявляє гідратуючу, кератолітичну, протисвербіжну, антибактеріальну та протигрибкову дію [63];

- бальзам «Спасатель форте» (серія 83514, Alfa Intel, Польща) (склад – олія обліпихи, ліпіди молока, очищений бджолиний віск, прополіс, терпентинна олія, вітамін Е, ефірні олії лаванди, розмаріна, чайного дерева) – препарат виявляє антимікробні та репаративні властивості, призначений для прискорення загоєння поверхневих і глибоких ран, гнійних процесів у свіжих ранах, опіків I-III ступеня, гострих запальних процесів на шкірі та слизових оболонках [63].

Таблиця 2.2

Склад досліджуваних експериментальних композицій крему «Дермаліпоін»

Зразки	Діючі компоненти				
	α-ліпоєва кислота	сечовина	олія чайного дерева	оливкова олія	ПЕГ-400
№ 1	1%	5%	3%	27%	до 100%
№ 2	1%	10%	3%	27%	до 100%
№ 3	1%	15%	3%	27%	до 100%
№ 4	2%	5%	3%	27%	до 100%
№ 5	2%	10%	3%	27%	до 100%
№ 6	2%	15%	3%	27%	до 100%

Дослід проведений на 72 нелінійних білих щурах-самцях масою 220-250 г. Для відтворення лінійної різаної рани щурам під барбаміловим наркозом (0,8 мл 1% водного розчину барбамілу на 100 г маси тварини) в асептичних умовах на депільованій ділянці шкіри спини площею 5×3 $см^2$ за допомогою металевого скальпеля робили розріз довжиною 5 см до власної фасції. Одразу накладали 5 швів на відстані 1 см один від одного та обробляли шкіру 5% спиртовим розчином йоду [86].

Оптимальну кількість крему для нашкірних аплікацій визначали за допомогою методу, що був запропонований проф. Яковлевою Л.В. зі співавт. [160]. Для цього піддослідним тваринам (щури) на депільовану ділянку шкіри площею 4 $см^2$, через добу після епіляції, наносили досліджувані зразки у кількості

0,02 мл; 0,04 мл; 0,06 мл, 0,08 мл та 0,1 мл. Протягом 30 с після нанесення експериментального зразка проводили його втирання та візуально оцінювали стан шкірного покриву на місці нанесення. У випадку, коли шкірний покров виглядав недостатньо зволоженим, кількість зразку вважали недостатнім, а при нанесенні надмірної кількості, на шкірі залишався надлишок тест-зразка. Таким чином, було встановлено, що оптимальна кількість крему для нашкірного нанесення складає 0,1 мл/см^2.

З наступного дня починали лікування впродовж 5 діб: один раз на добу на поверхню рани наносили досліджувані зразки та препарати порівняння в дозі 0,1 мл/см^2. На 7-й день досліду тварин декапітували і вирізали шкіру з рубцем і прилеглими до неї неушкодженими ділянками [136].

На спеціальному приладі – ранотензіометрі проводили випробування міцності зрощування країв рани. Для цього один край шва закріплювали в стаціонарному затискачі, а другий – у затискачі з вантажем (посудина з водою). Рівномірно наливаючи воду в ємність, визначали масу, при якій шов розходився. Міцність шва в дослідній та контрольній групах відповідає масі води, яка необхідна для розриву рубця [184].

Репаративну активність (РА, %) розраховували за формулою 2.1:

$$РА = \frac{Мд - Мк}{Мк} \times 100\%, \ (2.1) \ де$$

РА – репаративна активність, %;

Мд - навантаження, при якому розходився шов у щурів дослідної групи, г;

Мк - навантаження, при якому розходився шов у щурів контрольної групи, г.

З метою підтвердження лікувальної дії препаратів на мікроструктурному рівні проводили мікроскопічні дослідження.

Ділянку рани відокремлювали разом прилеглою здоровою шкірою. Всі зразки фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин – парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном то еозином, пікрофуксином за Ван-Гізон для виявлення колагенових волокон у

новоутвореній тканині [34, 202]. Перегляд мікропрепаратів проводили під світловим мікроскопом Granum, фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Toup View.

Для більшій зручності порівняльної оцінки отриманих результатів на зразках проводили напівкількісну (бальну) оцінку ширини ранового каналу, стану новоутвореної тканини в ньому (виразність васкуляризації, проліферації фібробластів, волокноутворення), повноту відновлення шкіри у області загоєної рани. За основу взято напівкількісний метод візуальної оцінки Соколовського [124]. Використовували наступну схему:

1. Ширина ранового каналу:

0 балів – рановий канал у вигляді дуже вузької смуги;

1 бал – рановий канал має вигляд тонкої смуги;

2 бали – рановий канал займає $^1/_3$ полю зору мікроскопу;

3 бали – рановий канал займає $^1/_2$ полю зору мікроскопу;

4 бали – рановий канал займає $^2/_3$ та більше полю зору мікроскопу;

2. Зрілість новоутвореної тканини:

0 балів – новоутворена тканина дуже густоклітинна. Переважають лімфоцити, нейтрофільні лейкоцити, макрофаги. Новоутворені кровоносні судини одиничні. Фібробласти поодинокі, колагенові волокна відсутні (незріла грануляційна тканина);

1 бал – клітинна складова тканини вагома, переважають макрофаги, новоутворені судини мають переважно «донне» розташування. Фібробласти нечисленні, незрілі, хаотично розташовані. Колагенові волокна поодинокі, слабофуксинофільні, розташовані у ділянках дна чи по краях рани, (слабо зріла грануляційна тканина);

2 бали – васкуляризація дифузна, фібробласти проліферують. Колагенові волокна тонкі розповсюджені хаотично, фуксинофілія коливається від помірної до виразної (помірно зріла грануляційна тканина);

3 бали – перетворення грануляційної тканини у пухку волокнисту тканину з різним вмістом кровоносних судин та клітинного матеріалу;

4 бали – практично повна відсутність дефекту;

3. Повнота відновлення шкіри у зоні колишньої рани:

0 балів – ознака відсутня;

1 бал – регенерований епітеліальний пласт з типовою диференціацією шарів, але може мати місце атипове розростання епітелію, дистрофія епідермоцитів, порушення рогоутворення. У колагеновій складовій тканини відсутня характерна для дерми будова жмутків, придатки дерми відсутні;

2 бали – регенерований епітелій нормального вигляду, колагенові структури тканини набувають характерну для дерми будову, придатки дерми відсутні;

3 бали – епідерміс та дерма, придатки дерми відновлені;

У результаті проведених досліджень на моделі лінійної різаної рани встановлена висока ранозагоююча активність крему зразку крему № 5 (2% α-ліпоєвої кислоти і 10% сечовини). Зразки крему з даною концентрацією мали найкращу репаративну дією відносно препаратів порівняння «Карбодерм» і «Спасатель-форте». Під його впливом у всіх щурів відбувалося повне загоєння рани.

Тому в подальших дослідженнях використовували крем «Дермаліпоін» наступного складу: оливкова олія – 27%, α-ліпоєва кислота – 2%, олія чайного дерева – 3%, сечовина – 10%, ПЕГ-400 (10,0 %), емульгатор моностеарату гліцерину (6,1 %), вода очищена до 100,0 %.

Наступним етапом наших досліджень стало вивчення токсичних властивостей крему. Безпечність лікарських засобів є однією з найважливіших аспектів їхнього застосування, саме тому дослідження токсичних властивостей потенційних лікарських засобів має передувати поглибленим фармакологічним дослідженням та обґрунтовує їх доцільність. На даному етапі передбачалося вивчення гострої токсичності, можливої місцево подразнювальної та алергізуючої дії досліджуваного крему [43].

Гостру токсичність крему вивчали за методом Пастушенко Г.В. на 30 нелінійних статевозрілих білих мишах-самцях масою 18-25 г і 12 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 180-200 г при одноразовому внутрішньошлунковому та нашкірному застосуванні. Оцінку токсичності проводили за загальноприйнятою класифікацією К.К. Сидорова [120]. При дослідженні гострої токсичності препаратів інтегральним показником є виживання/летальність тварин, який дозволяє розраховувати середньолетальну дозу (LD_{50}) засобу. Рекомендується використовувати 5 рівнів доз. При неможливості введення препарату у дозах, які спричиняють загибель тварин, для дослідження гострої токсичності ДФЦ МОЗ України рекомендує використовувати максимальну дозу IV класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення [43, 229]. Отже, при встановленні нетоксичності крему у дозі 2810 мг/кг при нашкірному нанесенні та 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні подальші дослідження можна вважати недоцільними. Відповідно до рекомендацій ДФЦ МОЗ України у кожній експериментальній групі кількість тварин дорівнювала 6-ти [43]. Гостру токсичність дослідних зразків вивчали при нанесенні препарату на попередньо вистрижену ділянку шкіри спини, яка становила не менше 10% від загальної площі поверхні тварини. Тест-зразки наносили тонким шаром у дозі 2810 мг/кг. Спостереження за виживанням, клінічними ознаками та станом шкіри (при нашкірному нанесенні) проводилося протягом 14 днів. Ефект оцінювали за співвідношенням «загибель тварин/кількість тварин у групі» [43, 223].

Дослідження місцевоподразнювальної дії було проведено на 6 мурчаках масою 400-450 г за допомогою теста «кон'юктивальна проба» [41, 155]. Для цього крем вносили у кон'юктивальний міхур правого ока піддослідних тварин. Ліве око слугувало контролем. Реакцію з боку слизової оболонки ока спостерігали через 15 хв, одну годину та через добу після введення крему. В експерименті враховували ступінь гіперемії, набряку, кількість виділень.

Оцінку пошкоджуючої дії проводили за бальною шкалою:

0 – відсутність реакції слизової оболонки ока;

1 – легке почервоніння слізної протоки;

2 – почервоніння слізної протоки і склери у напрямку роговиці;

3 – почервоніння всієї кон'юнктиви і склери.

Вивчення можливої алергізуючої дії крему проводили за допомогою методу нашкірних аплікацій [3, 42, 161, 163, 230]. Досліди були проведені на 12 мурчаках світлої масті масою 450-500 г, розділених на дві групи. Тваринам першої групи на попередньо депільовані ділянки шкіри 4×4 $см^2$ наносили основу крему Дермаліпоін. Другій дослідній групі щоденно наносили крем у дозі 0,1 $мл/см^2$. Тестування проводили шляхом нанесення розвязувальної дози, на 10-ту та 20-ту добу кожної сенсибілізації. У випадку відсутності ознак сенсибілізації в 1-й фазі, нанесення досліджуваного крему продовжували до 2-ї фази. На 20-ту добу тестування повторювали. Стан шкіри оцінювали через годину та добу після нанесення розв'язувальної дози й відображали зміни за бальною системою: 1 бал – крапкова слабка гіперемія; 2 бали – крапкова виразна гіперемія; 3 бали – суцільна слабка гіперемія; 4 бали – суцільна виразна гіперемія та інфільтраційна гіперемія. З метою оцінки виразності запалення після нанесення розв'язувальної дози вимірювали товщину шкірної складки.

Наступним фрагментом досліджень стало експериментальне обґрунтування терапевтичної ефективності досліджуваного крему в якості ранозагоювального засобу.

Як було зазначено раніше, початкову ланку ранового процесу складає альтерація та ексудативна реакція, тому першим кроком в наших дослідженнях стало вивчення антиальтеративних і протизапальних (антиексудативних) властивостей крему [152, 153, 157].

Найбільш поширеною моделлю для вивчення антиальтеративної активності є модель асептичного запалення шкіри і підшкірної клітковини у щурів, яка дозволяє простежити лікувальну дію препарату при альтеративному запаленні та його вплив на загоєння ран. У зв’язку з цим, а також враховуючи показання до застосування препарату, у комплекс досліджень було включено вивчення впливу крему на перебіг загоєння асептичних шкірних ран.

Вивчення впливу крему на перебіг запальної реакції з виразним альтеративним компонентом проводили на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини, яке викликали підшкірним введенням 9% розчину оцтової кислоти (0,5 мл на тварину) одночасно з внутрішньоочеревинним введенням 6% розчину декстрану в дозі 300 мг/кг. Останній вводили з метою сенсибілізації організму тварин та посилення некротичної реакції [43]. Досліди було проведено на 24 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 200-220 г.

Піддослідні тварини були розділені на чотири групи: інтактний контроль; контрольна патологія; групи тварин, яких лікували кремом «Дермаліпоін» та препаратом порівняння – гелем «Тітріол».

Крем та препарат порівняння починали наносити на ушкоджену поверхню з того дня, коли шкірні виразки були сформовані та мали максимальну площу (на восьмий день) в дозі 0,1 мл/см^2. Лікування продовжували до повного рубцювання ран. Після формування виразок кожні чотири дні вимірювали площу ран. На рану накладали прозорий трафарет, наносили її контури та за допомогою міліметрового паперу визначали площу рани в відповідні терміни дослідження.

З метою кількісної оцінки ранозагоювальної активності досліджуваного крему та препаратів порівняння враховували наступні показники:

1. Площа виразок (S),

1. Коефіцієнт швидкості загоєння рани (V, ум. од.),

2. Кількість тварин з ранами, що зарубцювалися в різні терміни, %.

Площу некрозу вимірювали у мм^2 за методом Л.Н. Попової, прикладаючи до рани прозорий трафарет і обмальовуючи краї.

Коефіцієнт швидкості загоєння рани розраховували за формулою (2.2):

$$V = \frac{(S_{макс} - S_{дос})}{S_{дос}}, \text{ де} \qquad 2.2$$

$S_{макс}$ – максимальна площа рани, мм^2;

$S_{дос}$ – площа рани в день вимірювання, мм^2;

Протизапальні властивості крему вивчали на моделях термічного запалення кінцівок у мишей та гострого асептичного ексудативного запалення стопи у щурів, викликаного дією різних флогогенів (карагеніном та зимозаном) [156].

Перебіг запальної реакції, викликаної різними флогенними агентами, має певні особливості, що визначаються переважно дією окремих патофізіологічних механізмів. Зазначене трактування дозволяє зробити попередній висновок про передбачувані механізми протизапальної дії досліджуваних субстанцій.

Досліди проводили на 32 білих нелінійних статевозрілих мишах-самцях масою 18-20 г. Термічне запалення кінцівок у мишей відтворювали шляхом занурення правої задньої стопи на рівні гомілковостопного суглоба у гарячу воду (66,5 ^{o}C) на 4 секунди [43]. Після цього на обпечену стопу тваринам дослідних груп наносили крем і препарати порівняння - аналог за лікарською формою та показаннями до застосування крем «Бепантен» (серія D510213, «Bayer», Німеччина) та близький за складом, фармакологічною дією та показаннями до застосування бальзам «Спасатель форте» (Alfa Intel, Польща). Досліджуваний крем та препарати порівняння застосовували в дозі 0,1 мл/см^2. Тварин контрольної групи не лікували. Через 24 години дослідних тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців під легким ефірним наркозом.

Виразність запального процесу в експерименті на мишах оцінювали за збільшенням маси ураженої кінцівки. Для цього обидві кінцівки відрізали на рівні гомілковостопного суглобу та зважували на торсіонних терезах марки «ВТ-500» і розраховували різницю в масі набряклої та здорової кінцівки [43].

Протизапальну активність виражали у відсотках та розраховували за наступною формулою (2.3):

$$ПА = 100\% - \frac{Мдосл \times 100}{Мк}$$, де 2.3

ПА – протизапальна активність;

$M_к$ – середня різниця в масі набряклої та здорової кінцівки в контрольній групі;

$M_{досл}$ – середня різниця в масі набряклої та здорової кінцівки у досліді.

Наступний етап роботи був проведений на загальноприйнятій в експериментальній фармакології моделі карагенінового набряку стопи у щурів [43, 151].

В експерименті було використано 18 білих нелінійних статевозрілих щурів-самців масою 180-200 г.

Гострий карагеніновий набряк викликали у щурів шляхом субплантарного введення під апоневроз задньої кінцівки 0,1 мл 1 % розчину карагеніну. Піддослідні тварини були розділені на три експериментальні групи. Усім тваринам субплантарно під апоневроз задньої кінцівки вводили по 0,1 мл 1% розчину карагеніну [43, 151]. Тварин першої (контрольної) групи не лікували. Тваринам другої групи після введення флогогену наносили крем, а третьої – препарат порівняння бальзам «Спасатель форте». Досліджуваний крем та препарат порівняння застосовували в дозі 0,1 мл/см^2.

Висновок про виразність запальної реакції в дослідах на щурах робили за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який визначали в умовних одиницях за допомогою механічного онкометру за Захаревським А.С. на третій годині експерименту (момент максимального розвитку запальної реакції) [43].

Антиексудативну активність визначали за ступенем зменшення набряку у дослідних тварин у порівнянні з контрольними і виражали у відсотках (формула 2.4) [43]:

$$AA = \frac{Vк - Vд}{Vк} \times 100\%, \text{де}$$

V_k – середня різниця в об'ємі набряклої і не набряклої кінцівки в контролі, у.о;

V_d – середня різниця в об'ємі набряклої і не набряклої кінцівки в дослідній групі, у.о.

Зимозановий набряк викликали у щурів шляхом субплантарного введення 0,1 мл 2% суспензії зимозану [43, 153].

Тварин першої (контрольної) групи не лікували. Тваринам другої групи після введення флогогену наносили крем, а третьої та четвертої – препарати порівняння крем «Бепантен» («Bayer», Німеччина) та бальзам «Спасатель форте» (Alfa Intel, Польща) відповідно. Досліджуваний крем та препарати порівняння застосовували в дозі 0,1 мл/см^2.

Оцінку протизапальної активності крему проводили аналогічно з попереднім оцінюванням запального процесу. Об'єм кінцівки вимірювали в момент максимального розвитку набряку – через 30 хв після введення флогогену. Активність досліджуваних об'єктів розраховували за зменшенням набряку [43, 73]. В експерименті було використано 24 нелінійних статевозрілих білих щурів-самців масою 160-180 г.

З метою поглибленого вивчення впливу досліджуваного крему на ексудативний компонент запальної реакції проводили експерименти з визначення його впливу на проникність капілярної стінки [64]. В експерименті було використано 18 нелінійних статевозрілих білих щурів-самців масою 180-220 г. Дослідження були проведені на моделі підвищеної проникності судин черевної стінки у щурів. Для цього піддослідним тваринам на правій задній кінцівки оголювали стегнову вену, в яку за допомогою туберкулінового шприцу вводили барвник (1% розчин трипанового синього в дозі 2 мл/кг на фізіологічному розчині). Через 10 хв після внутрішньовенного введення барвника піддослідним тваринам підшкірно на попередньо депільовані черевні ділянки шкіри вводили, з метою підвищення проникності судин черевної стінки різні флогогенні агенти: 0,02 мл 0,1% розчину гістаміну, 0,02 мл 3% розчину формаліну, 0,02 мл яєчного білка, 0,02 мл 0,1% розчину карагеніну. За різницею в часі профарбовування папул робили висновок про вплив крему на судинну проникність [43]. Досліджуваний крем та препарат порівняння наносили на місце ін'єкції в дозі 0,1 мл/см^2 за 40 хв до постановки експерименту. Як препарат порівняння на цьому етапі роботи була обрана мазь тіотриазоліну (серія G10416, ПАТ Хімфармзавод «Червона зірка», Україна), яка має протизапальні властивості за рахунок

обмеження викиду біогенних амінів (гістаміну, серотоніну) у кров'яне русло та застосовується для лікування ран.

Дослідження мембраностабілізуючої активності крему «Дермаліпоін» проведені на 18 нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180-200 г. Досліджуваний крем та препарат порівняння – мазь тіотриазоліну, яка має мембраностабілізуючі властивості, наносили на шкіру здоровим (інтактним) тваринам в профілактичному режимі щоденно один раз протягом 5-днів до вивчення гемолізу. Мембраностабілізуючу активність вивчали за методом спонтанного гемолізу за методом F.C. Jager, який заснований на вимірюванні концентрації позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить у сироватку крові внаслідок лізису мембран еритроцитів, викликаного перекисним окисненням ліпідів киснем повітря [154].

Кров у щурів брали з хвостової вени і вимірювали ступінь гемолізу при довжині хвилі 540 нм та розраховували за формулою (2.5):

$$МА\ (\%)=X_{досл}\times 100/X_{контр}, \text{ де} \qquad 2.5$$

МА, % - мембраностабілізуюча активність;

$X_{досл}$ і $X_{контр}$ – ступінь гемолізу у тварин дослідної і інтактного контролю відповідно.

Вибір моделей для вивчення ранозагоювальних властивостей досліджуваного крему передбачав визначення здатності досліджуваного засобу до прискорення репаративних процесів залежно від характеру травмуючого впливу. На цьому етапі досліджень було проведено вивчення ранозагоювальної активності крему на моделі лінійної різаної [68], опікової [109, 140] та трафаретної ран [43, 203] у щурів.

Першим етапом роботи стало вивчення репаративної активності досліджуваного крему на моделі лінійних різаних ран [68].

Експеримент було проведено на 40 нелінійних щурах-самцях масою 200±20 г, яки були розподілені на 4 групи: I- тварини з ранами без лікування (контрольна патологія); II – щури з ранами, ліковані кремом Дермаліпоін, III – щури з ранами, яких лікували препаратом порівняння – бальзам «Спасатель форте» (Alfa Intel,

Польща), IV група – тварини з ранами, яких лікували препаратом порівняння – гелем «Тітріол» (ДП "ДНЦЛЗ", Україна).

Відтворення лінійної рани проводили за методикою описаною вище. Репаративну активність розраховували за формулою 2.1.

З метою формування більш повного уявлення про вплив крему на процес загоєння проводили гістоморфологічні дослідження. Всі зразки фіксували у 10% розчині формаліну, зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, заливали у целоїдин-парафін. Зрізи товщиною 3-5 мкм фарбували гематоксиліном та еозином, пікрофуксином за методом Ван-Гізон (фарбування колагенових волокон у новоутвореній тканині) [34]. Перегляд мікропрепаратів проводили під світловим мікроскопом Granum, фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum ДСМ 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Toup View.

Для більшої зручності порівняльної оцінки отриманих результатів на зрізах проводили напівкількісну (бальну) оцінку ширини ранового каналу, стану новоутвореної тканини в ньому (виразність васкуляризації, проліферації фібробластів, волокноутворення), повноту відновлення шкіри у області загоєної рани. Напівкількісний метод візуальної оцінки за Соколовським [124] описаний вище.

Наступним етапом досліджень стало вивчення ранозагоювальної дії досліджуваного крему на моделі опікової рани у щурів [109, 140]. Досліди було проведено на 40 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 200-250 г.

Тварин було поділено на 4 групи по 10 тварин у кожній: 1-ша група – контрольна патологія (тварини із природним загоєнням); 2-га – тварини, яких лікували кремом «Дермаліпоін»; 3-тя – тварини, яким наносили бальзам «Спасатель форте» (Alfa Intel, Польща) – препарат порівняння, що є аналогом за фармакологічною дією і показаннями до застосування; 4-та – тварини, яких лікували гелем «Тітріол» (ДП "ДНЦЛЗ", Україна) – препарат порівняння, 1 г якого містить олії чайного дерева 0,04 г.

За добу до моделювання опіку на міжлопаточній ділянці спини тварин здійснювали депіляцію шкіри (4×4 см^2) шляхом вибривання безпечним лезом. Опікове ураження шкіри викликали за допомогою спеціального приладу з установленою температурною шкалою та електропаяльником, на кінці якого прикріплюється округла металева пластина діаметром 2,5 см. Тваринам під кетаміновим (100 мг/кг) наркозом на виголену ділянку шкіри накладали нагріту до 200˚С металеву пластину на 10 сек, що відповідає опіку ІІІ А-Б - ІІІ Б ступеню клінічної класифікації опіків і характеризується ураженням всієї товщі шкіри з повною загибеллю волосяних фолікулів, потових і сальних залоз []. Лікування починали відразу після термічної дії і продовжували 1 раз на добу до повного загоєння. Препарати наносили тонким шаром на уражену поверхню. Ефективність лікування оцінювали на 3-тю, 5-ту, 7-му, 9-ту, 11-ту, 13-ту, 15-ту, 17-ту, 21-шу та 23-тю добу за допомогою планіметричних показників, що передбачали визначення: площи опіку (S, мм^2), періоду епітелізації (день відторгнення струпа, в середньому в групі), кількості тварин з ранами, що зарубцювалися в різні терміни (%) та коефіцієнту швидкості загоєння ран (V, ум.од.), який розраховували за формулою 2.6:

$$V = (S_{max}-S_{досл})/ S_{досл}, \text{ де} \qquad 2.6$$

V, ум.од. – коефіцієнт швидкості загоєння ран,

S_{max} – максимальна площа рани (на 1 день), мм^2;

$S_{досл}$ – площа рани в день вимірювання, мм^2 [140].

З метою оцінки виразності запального процесу та стану гемопоетичної системи проводили визначення ряду показників периферичної крові: час згортання крові, вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів та лейкоцитів тричі: на початку експерименту (вихідні дані), на 5-ту та 17-у добу [84].

Для визначення рівня білково-синтетичної активності клітин (епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння термічного пошкодження) у тварин усіх експериментальних груп проводили оцінку вмісту рибонуклеопротеїдів (РНП) в цитоплазмі і дезоксирибонуклеопротеїдів (ДНП) в ядрах клітин, вимірюючи методом

цитофотометрії потік випромінювання (в зеленій частині спектра), що падає на об'єкт (предметне скло) і пройшов через об'єкт (тканина), на зрізах, оброблених гістохімічними методами Браше (контролем був розчин кристалічної рибонуклеази) і Фельгена-Россенбека (контролем служила реакція гідролізу з HCl) відповідно з подальшим обчисленням оптичної щільності як десятковий логарифм за формулою 2.7 [14, 110, 233]:

$$D = \lg\left(\frac{Фin}{Фout}\right), \text{ де} \qquad 2.7$$

D – оптична щільність (ум. од.),

$Ф_{in}$ – потік випромінювання, який падає на об'єкт,

$Ф_{out}$ – потік випромінювання, який пройшов через об'єкт,

а $\frac{Фin}{Фout}$ – коефіцієнт пропускання.

РНП в епітеліоцитах багатошарового плоского епітелію зони епідермізації підраховували у всіх шарах (базальний + парабазальний (шипуватий), середній (проміжний), (зернистий+блискучий), поверхневий (роговий) і сумарне значення), ДНП - в епітеліоцитах базального і парабазальних шарів в комплексі. Гістологічні та гістохімічні методики виконувалися за прописами, викладеним в інструкціях по гістологічної техніки і гістохімії [34]. Комплекс досліджень проводився на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel.

Також проводили гістоморфологічні дослідження. Для цього фрагменти тканини (шкіра, підшкірна основа, м'язи), посічені із зони термічного пошкодження фіксували в 10% розчині забуференого (нейтрального) формаліну, потім піддавали стандартній проводці через спирти зростаючої концентрації, рідину Никифорова (96% спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ, після чого заливали парафіном. З приготованих таким чином блоків робили серійні зрізи товщиною 4-5×10-6м. Використовували рутинні методи забарвлення гематоксиліном і еозином, а також забарвлення пікрофуксином за Ван Гізон і Маллорі [76, 85]. За допомогою методу забарвлення

за Ван Гізон і Маллорі оцінювали стан сполучної тканини і колагеноутворення в процесі загоєння ушкодження. При цьому методом за Ван Гізоном колагенові волокна сполучної тканини забарвлюються кислим фуксином в червоний колір, методом Маллорі колагенові волокна аніліновим синім фарбуються в темно-синій колір, а еластичні волокна кислим фуксином - в червоний [34, 76].

Комплекс морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel.

Наступним етапом вивчення ефективності крему «Дермаліпоін» в якості ранозагоювального засобу стало дослідження його репаративних властивостей на моделі видавлених трафаретних ран у щурів [43].

Досліди було проведено на 32 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 200-220 г.

Тваринам, під барбаміловим наркозом на попередньо депільовану і оброблену 5% спиртовим розчином йоду ділянку шкіри на спині білатерально від хребта, наносили рану за допомогою металевого скарифікатора-пробійника діаметром 0,8 см [43].

Піддослідні тварини були розділені на п’ять груп: інтактний контроль; контрольна патологія; тварини, яких лікували досліджуваним кремом та щури, які отримували ПП - бальзам «Спасатель форте». Крем та препарат порівняння починали наносити на поверхню рани через добу після нанесення ран в дозі 0,1 мл/см^2.

Висновок про вплив нового крему та препаратів порівняння на перебіг ранового процесу робили, в першу чергу, за темпами зменшення площі ран. Площу ран вимірювали через кожні чотири дні з моменту відтворення патології, за допомогою прозорого трафарету.

Коефіцієнт швидкості загоєння рани розраховували за формулою 2.6.

Крім того, визначали також кількість тварин (%) із ранами, що зарубцювалися.

Висновок про виразність запальної реакції робили за змінами показників периферичної крові: час згортання крові, вміст гемоглобіну, кількість еритроцитів

та лейкоцитів, лейкоцитарна формула. Показники периферичної крові визначали на початку експерименту (вихідні дані), на 5-ту та 13-ту добу [57, 58].

Для оцінки впливу крему на репаративні процеси проводили визначення активності ферментів-маркерів цитолізу – АлАТ і АсАТ у сироватці крові піддослідних тварин. Порушення цілісності клітинних мембран та руйнування клітинних структур призводить до вивільнення у кров ферментів, що мають внутрішньоклітинну локалізацію, внаслідок чого їх активність у сироватці крові значно зростає [57, 58].

Для визначення активності трансаміназ використовували уніфікований динітрофенілгідразиновий метод, запропонований S. Reitman та S. Frenkel (1957) [58]. Внаслідок реакції переамінування, що відбувається за участю АлАТ і АсАТ, утворюється піровиноградна (щавлевооцтова) кислота, яка в присутності 2,4-динітрофенілгідразину у лужному середовищі утворює забарвлений гідразон, який має характер пік поглинання при довжині хвилі 500-560 нм. Зазначений метод запропонований для визначення активності АлАТ та АсАТ у наборах фірми “Lachema” (Чехія). Біохімічні показники реєстрували тричі: на 5-ту, 9-ту та 13-ту добу експерименту.

Враховуючи роль інфекційного чинника в патогенезі ранового процесу, як обов’язковий фрагмент дослідження, було проведено вивчення антимікробної дії досліджуваного крему in vitro та in vivo.

Антимікробну активність крему в умовах in vitro вивчали загальноприйнятим у мікробіологічній практиці методом дифузії в агар [10, 19, 20, 92, 147, 148, 199].

Використовували агар Мюллера-Хінтона (ТОВ «Фармактив», Україна), для Candida albicans використовували агар Сабуро (ТОВ «Фармактив», Україна). Розплавлене поживне середовище розливали нижнім шаром у чашки Петрі однакової товщини, після чого за допомогою трафарету під кутом 120º один до одного ставили три стерильних циліндри зі сталі, що не іржавіє, однакової маси та розміру (висота 10 мм, внутрішній діаметр 8 мм). Навколо циліндрів заливали верхнім шаром розплавлений та охолоджений до 45º поживний агар з введеною

до нього культурою мікроорганізмів. Мікробне навантаження становило 5×10^8 КУО/мл для грампозитивних і 10^8 КУО/мл для грамнегативних бактерій і гриба Candida albicans. Вибір тест-організмів проводили з урахуванням етіологічної структури гнійно-запальних захворювань шкіри. Як референс-штами використовували культури *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653 і клінічні штами, отримані з гнійних виділень хірургічних ран хворих відділення малоінвазивної хірургії «ОН клінік Харків»: *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa.* Клінічні штами були ідентифіковані за морфологічними і тинкторіальними властивостями. Для роботи брали 24 годинну культуру бактерій і 48-годинну культуру гриба. Після застигання агару пінцетом витягали циліндри, у лунки, що утворилися, вносили зразки досліджуваного препарату. Чашки витримували близько двох годин при кімнатній температурі, після чого поміщали в термостат та інкубували протягом 24 годин при 37ºС з посівами на агар Мюллера-Хінтона і при 25ºС – з посівами на щільному середовищі Сабуро. Після закінчення інкубації вимірювали діаметр зони затримки росту мікроорганізмів навколо лунки з внесеним препаратом. Проводили 6 серій дослідів щодо кожного штаму мікроорганізму [19, 20, 92, 150]. Як препарат порівняння використовували гель «Тітріол».

Антимікробну активність оцінювали за шкалою: зона затримки росту діаметром до 10 мм – штам мікроорганізму не чутливий до препарату; 11-15 мм – слабо чутливий штам мікроорганізму до препарату; 15-25 мм – штам мікроорганізму чутливий до препарату; > 25 мм – висока чутливість мікроорганізму до препарату.

Останнім часом все частіше відмічається контамінація ран патогенними грибами [17, 87]. Рани з грибковою мікрофлорою важче за інші піддаються лікуванню [].

Вивчення протигрибкової активності крему «Дермаліпоін» здійснювали на моделі експериментальної кандидозної інфекції [92] на 30 статевозрілих білих мишах-самцях масою 18-20 г.

Мишам через 24 години після депіляції внутрішньошкірно вводили 0,2 мл суспензії тіл *Candida albicans* АТСС 885/653, що був вирощений на напівголодному агарі Сабуро. Суспензію виготовляли на фізіологічному розчині у розрахунку на 0,2 мл розчину 500 млн тіл гриба.

Препарати наносили на рани один раз на добу, щодня, до повного їх загоєння.

Перебіг кандидозної інфекції контролювали за допомогою клінічних критеріїв (виживання тварин у випадку генералізації інфекції, терміни і характер некрозу, поява грануляції та ін.), мікробіологічних і мікроскопічних досліджень (висів вмісту експериментальних ран на щільне і рідке середовище Сабуро з додаванням пеніциліну (50 ОД/мл) з метою пригнічення супутньої бактеріальної мікрофлори, виділення чистих культур *Candida albicans* і мікроскопія).

Перез забором матеріалу рану обробляли ізотонічним розчином натрію хлориду, потім 70% спиртом (з метою видалення поверхневої мікрофлори і самого препарату). На тлі знеболювання ранової поверхні 5% розчином новокаїну за допомогою голки для пункційної біопсії висікали ділянку тканини, зважували, виготовляли суспензію в ізотонічному розчині натрію хлориду з розрахунку 1:10, робили розведення до 10^{-3} і висів 0,1 мл з кожного розведення на відповідні поживні середовища. Визначення кількості мікроорганізмів у тканині визначали за стандартною методикою [19, 92].

Статистичну обробку результатів проводили, застосовуючи непараметричний аналог однофакторного дисперсійного аналізу – критерій Крускала-Уоліса, при порівнянні виборок - U-критерій Манна-Уїтні при рівні імовірності $p \leq 0,05$ [112, 117, 141]. Кількісні показники у таблицях наведені як середнє арифметичне та його стандартна помилка або медіана та нижній і верхній квартилі. Для визначення статистичних розбіжностей використовували стандартний пакет програм «STATISTICA for WINDOWS 6.0».

РОЗДІЛ 3
СКРИНІНГОВЕ ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН» З МЕТОЮ ВИБОРУ ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ТОКСИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

Розробка сучасних м'яких лікарських засобів комплексної дії вітчизняного виробництва для місцевого лікування ран, зокрема кремів, що мають антибактеріальні, протизапальні властивості та не вимагають частої зміни у процесі лікування, є надзвичайно актуальною задачею для сучасної фармації. Важливість створення таких препаратів зумовлене збільшенням кількості інфікованих післяопераційних ускладнень, резистентністю мікроорганізмів до антибіотиків, зміною імунологічної реактивності макроорганізму та ін. [35, 86, 160]. При цьому в процесі розробки складу комплексного лікарського засобу важливим є такий підбір складових, які б мали взаємопотенціюючу і взаємодоповнюючу дію та дозволяли б впливати на ключові ланки патогенезу захворювання: пригнічувати запалення, стимулювати процеси регенерації (реепітелізації), а також попереджати інфекційні ускладнення.

Згідно з вищевказаними вимогами було запропоновано декілька експериментальних композицій крему «Дермаліпоін», призначеного для лікування запальних та ранових уражень шкіри різної етіології.

Серед завдань цього етапу роботи необхідно виділити:

- вивчення антимікробної дії крему з різним вмістом олії чайного дерева (табл. 2.1);
- дослідження репаративної дії композицій з різним вмістом α-ліпоєвої кислоти та сечовини (табл. 2.2).

3.1 Проведення скринінгового вивчення антимікробної дії різних композицій крему «Дермаліпоін»

Метою першого етапу скринінгу стало дослідження антимікробної дії різних комбінацій крему «Дермаліпоін» за вмістом олії чайного дерева (табл. 2.1)

з метою вибору її оптимальної концентрації у порівнянні з широковживаним гелем «Тітріол», який містить олію чайного дерева (4%) і застосовується для лікування бактеріальних інфекцій шкіри і опіків.

Антимікробну активність дослідних зразків вивчали in vitro методом дифузії в агар (метод «колодязів») [19]. Результати досліджень дозволяють охарактеризувати як антимікробну активність препарату, так і вивільнення антибактеріальних речовин з основи, оскільки зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії цих речовин в щільне живильне середовище [20, 127]. В якості тест-культур використовували чисті культури з Американської колекції культур (АТСС) грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* АТСС 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* АТСС 6633, грамнегативну культуру *Escherichia coli* АТСС 25922. Антифунгальну дію з'ясовували відносно дріжжеподібного грибу роду *Candida* - *Candida albicans* АТСС 885-653 [19, 20]. Результати фармакологічного скринінгу антимікробної активності досліджуваних комбінацій крему «Дермаліпоін» наведені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Антимікробна дія експериментальних зразків та препарату-порівняння (n=5)

Номер зразка	Культури мікроорганізмів			
	S. aureus	*B. subtilis*	*E. coli*	*C. albicans*
	Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм			
1	«–»	«–»	«–»	12,5±0,7*
2	22,6±0,4*	12,8±0,7*	11,5±0,5*	17,8±0,5*
3	25,8±0,5*	18,8±0,2*	15,2±0,3*	21,9±0,4
4	26,1 ±0,2	19,0±0,2*	15,5±0,3*	22,0±0,3
Гель «Тітріол»	27,0 ±0,3	18,0±0,1	14,0±0,2	22,2±0,3

Примітки:

1.«–» - відсутність затримки росту;

2. * – відхилення вірогідне по відношенню до препарату порівняння, $p \leq 0,05$.

У результаті вивчення антимікробної активності встановлено, що зразок № 1 не проявив антимікробної дії щодо *Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Escherichia coli* та помірну антифунгальну дію по відношенню до *Candida albicans*.

Досліджуваний зразок № 2 виявив слабку антимікробну активність проти *Bacillus subtilis, Escherichia coli* та помірну активність проти *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans*.

Зразки № 3 та № 4 (вміст ефірної олії чайного дерева 3,0 і 4,0 % відповідно) мали найбільшу антимікробну активність. Однак збільшення концентрації олії чайного дерева до 4 % (зразок № 4) не призвело до значного підвищення антимікробної активності, порівняно зі зразком № 3. Рівень антимікробної активності зразка крему № 3 та 4 (табл. 3.1) не поступався препарату порівняння гелю «Тітріол». Спостерігалася вища антимікробна дія цих зразків відносно *Bacillus subtilis* та *Escherichia coli*, ніж у гелю «Тітріол».

Зважаючи на отримані результати для подальших досліджень до складу виучуваних експериментальних композицій крему «Дермаліпоін» вводили 3% ефірну олію чайного дерева.

3.2 Скринінгове вивчення репаративних властивостей різних композицій крему «Дермаліпоін» на моделі лінійних різаних ран у щурів

Збільшення вимог до терапії ранового процесу обумовлюють актуальність цілеспрямованого пошуку і створення нових високоефективних та безпечних ранозагоювальних препаратів.

З метою розширення області застосування крему «Дермаліпоін» у хірургії наступний етап скринінгових досліджень проводили за ранозагоювальною дією з використанням легко відтворюваної моделі лінійних різаних ран у щурів, яка дозволяє за короткий термін оцінити вплив засобу на швидкість формування і дозрівання грануляційної тканини [68].

Для скринінгу були використані експериментальні зразки мазей, склад яких наведений у таблиці 2.2. з різною концентрацією α-ліпоєвої кислоти та сечовини.

α-Ліпоєва кислота є потужним антиоксидантним і ефективним протизапальним засобом, при місцевому застосуванні має кератолітичну, кератопластичну, бактеріостатичну і фунгістатичну дію, сприяє репарації молекул ДНК після ушкоджень, які викликані окисним стресом, тобто проявляє адаптогенні властивості [63, 138, 179].

Сечовина чинить гідратуючу, кератолітичну, протисвербіжну, антибактеріальну, протигрибкову та проводжувальну дію [96, 119].

Як препарати порівняння на цьому етапі роботи були обрані декілька зовнішніх м'яких лікарських форм (крем, бальзам), близьких до виучуваних композицій за складом, фармакологічною дією та показаннями до застосування:

- крем «Карбодерм-Дарниця» (склад – сечовина 10%) – препарат проявляє гідратуючу, кератолітичну, протисвербіжну, антибактеріальну та протигрибкову дію;
- бальзам «Спасатель форте» (склад – олія облепихи, ліпіди молока, очищений бджоліний воск, прополіс, терпентинну олію, вітамін Е, ефірні олії лаванди, розмаріна, чайного дерева) – препарат проявляє антимікробні та виражені репаративні властивості.

Результати скринінгових досліджень крему із різним вмістом α-ліпоєвої кислоти (1%, 2%) та сечовини (5%, 10% та 15%) наведені у таблиці 3.2.

Результати вивчення репаративної дії різних складів крему «Дермаліпоін» та препаратів порівняння (табл. 3.2) показали, що за показником тензіометрії, який характеризує міцність новоствореного рубця, крем не поступається препаратам порівняння.

Найвищу репаративну активність показали зразки крему № 4-6 з 2 % вмістом α-ліпоєвої кислоти від 56,1 до 87,1%, що значно перевищувало ранозагоювальні властивості препаратів порівняння: крему «Карбодерм-Дарниця» (26,9%) та бальзаму «Спасатель форте» (48,4%).

За показником тензіометрії найвищу репаративну активність продемонстрував зразок № 5 (репаративна активність 87,1%), до складу якого входить 2% α-ліпоєвої кислоти і 10 % сечовини.

Таблиця 3.2

Репаративна активність різних композицій крему «Дермаліпоін» на моделі лінійних різаних ран у щурів, n=8

Умови досліду	Показник тензіометрії, г	Репаративна активність, %
Контрольна патологія	362,4±7,1	-
Зразок № 1	482,6±10,3*/^	33,2
Зразок № 2	497,1±8,9*/**/^	37,2
Зразок № 3	503,2±9,1*/**/^	38,8
Зразок № 4	573,9±13,0*/**	58,4
Зразок № 5	678,0±8,5*/**/^	87,1
Зразок № 6	565,9±6,2*/**/^	56,1
Крем «Карбодерм-Дарниця»	460,1±7,8*	26,9
Бальзам «Спасатель форте»	537,9±9,2*	48,4

Примітки:

1. * - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, $p \leq 0,05$;
2. ** - відхилення вірогідне по відношенню до крему «Карбодерм-Дарниця», $p \leq 0,05$;
3. ^ - відхилення вірогідне по відношенню до бальзаму «Спасатель форте», $p \leq 0,05$.

При мікроскопічному дослідженні встановлено, що у 75 % щурів групи контрольної патології рановий канал достатньо широкий та глибокий, іноді покритий кіркою, яка легко відшаровувалася. Епітеліальний пласт не прикривав центральну частину каналу, а по боках виразно потовщений, часто з ознаками окантозу, іноді з ознаками паракератозу, перинуклеарного набряку. У ряді випадків видні доволі великі внутрішньоепідермальні рогові пробки. Канал заповнено грануляційною тканиною різного ступеню зрілості. У поверхневих

шарах вона густоклітинна – містила нейтрофільні лейкоцити, лімфоцити, малодиференційовані фібробласти, мало васкуляризована. Колагенові волокна практично не визначалися. У 25 % тварин рановий канал помірний за шириною, повністю закритий потовщеним пластом епідермісу, заповнений новоствореною тканиною. У підшкірній клітковині під рановим каналом, а також по обидві сторони від нього видні ознаки запалення (одиничні дрібні осередки нагноєння).

Після лікування кремом «Карбодерм-Дарниця» у 50 % щурів ширина ранового каналу ще виразна, центральна частина не епітелізована. На поверхні видні залишки клітинного детриту. Новостворена тканина, що заповнює канал, добре васкуляризована, у поверхневих шарах ще багатоклітинна. В більш глибоких шарах простежена проліферація фібробластів, місцями з орієнтуванням у розташуванні, наявність тонких колагенових волокон. У решти 50% тварин під кіркою простежена повна епітелізація ранового каналу, ширина якого значно зменшена. Епідерміс потовщено, у ньому чітко видні характерні шари. Поза зони рани в деяких місцях у частини щурів видні були різні за протяжністю "ерозивні" ушкодження шкіри, які зачіпають лише епідерміс. Відновлення епітеліального пласта під сукровично-клітинним детритом не спостерігали.

Після застосування бальзаму «Спасатель форте» у 50 % щурів рана ще не загоїлась, епітелізація поверхні не повна, рановий канал від помірного до широкого, грануляційна тканина в ньому недостатньо зріла. У м’язовій пластинці та підшкірній клітковині виразні ознаки продуктивного запалення. Ще у 50 % тварин відбувалося повне загоєння рани, виразне зменшення ширини ранового каналу, перетворення грануляційної тканини у волокнисту з тією чи іншою повнотою відновлення.

Дослідження зразків крему (№ 1 – 6) виявили різний ступінь ранозагоювальної активності.

Після нанесення кремів № 1 – 3 спостерігалася неповна епітелізація раневого каналу з ознаками запалення у гіподермі. Результати в даних групах щурів були кількісно нижче, ніж у групі дослідження препарату порівняння . бальзаму «Спасатель форте».

Найкращі результати були відзначені після застосування кремів з 2 % вмістом α-ліпоєвої кислоти (№ 4, 5, 6).

У групі дослідження крему № 4 (2% α-ліпоєвої кислоти і 5 % сечовини) у всіх щурів спостерігалося загоєння рани. У 75 % тварин колишній рановий канал виглядав досить вузькою смугою. У 25 % щурів раневий канал був помірної товщини, перетворення грануляційної тканини в волокнисту з тим чи іншим ступенем відновлення.

Після застосування крему № 5 (2% α-ліпоєвої кислоти і 10 % сечовини) у всіх щурів також відбувалося повне загоєння рани. У 83,3 % тварин колишній рановий канал виглядав дуже вузькою смугою, по обидві сторони від якої видна повністю відновлена дерма з волосяними фолікулами і пов'язаними з ними сальними залозами. Епідерміс у зоні колишньої рани і в прилеглих до неї зонах потовщений, в ньому повністю відновлені всі шари, роговий включно. У 16,7 % щурів ранового каналу не видно, а на його місці виявлений повністю епітелізований широкий волокнистий рубець.

Після нанесення крему № 6 (2% α-ліпоєвої кислоти і 15 % сечовини) також в 83,33% щурів спостерігали загоєння зшитою лінійної різаної рани шкіри, але ширина ранового каналу коливалася від помірної до дуже вузької смуги. Відповідно коливався і стан новоутвореної тканини в ньому. При помірній ширині раневого каналу - це пухка волокниста тканина з досить виразною фуксинофіліею колагенових волокон. В інших 16,66 % щурів рана повністю не загоїлась. Епітелізація поверхні не повна, на ній видно різного об'єму залишки клітинного детриту. Рановий канал широкий, заповнений добре васкуляризованою, не зовсім зрілою грануляційною тканиною, яка набуває волокнистого характеру в області дна. Слід зазначити, що в деяких випадках на ділянках шкіри поза рани спостерігали «ерозивні» ушкодження. Вони зачіпали тільки епідерміс, в той час як дерма не втратила своїх морфологічних властивостей і не мала ознак запалення.

У результаті проведених морфологічних досліджень на моделі зшитої лінійної різаної рани встановлена висока ранозагоююча активність кремів з концентрацією α-ліпоєвої кислоти 2%. Зразки крему з даною концентрацією мали

найкращу ранозагоювальну дію відносно препаратів порівняння «Карбодерм-Дарниця» і «Спасатель-форте». Найкращі результати показав зразок крему № 5 (2% α-ліпоєвої кислоти і 10% сечовини). Під його впливом у всіх щурів відбувалося повне загоєння рани. У 83,3% тварин колишній рановий канал виглядав дуже вузькою смугою, по обидві сторони від якої спостерігалась повністю відновлена дерма з волосяними фолікулами і пов'язаними з ними сальними залозами.

«Ерозивні» ушкодження шкіри поза зонами рани, які спостерігали в деяких щурів, при лікуванні кремом «Карбодерм» або досліджуваним кремами №№ 3, 6, 9 (з 15% концентрацією сечовини), може бути пов'язана з наявністю в їх складі підвищеної кількості сечовини.

За результатами скринінгових досліджень для подальшого фармакологічного вивчення був обраний крем оптимального складу, який проявив найбільш виражену антимікробну і репаративну активність. До його складу входить:

- оливкова олія – 27 %;
- -α-ліпоєва кислота – 2 %;
- -олія чайного дерева – 3 %;
- сечовина – 10 %;
- ПЕГ-400 (10,0 %), емульгатор моностеарату гліцерину (6,1 %), вода очищена до 100,0 %.

3.3 Вивчення гострої токсичності крему «Дермаліпоін»

Одним із основних етапів впровадження лікарських засобів є визначення їх токсичності [9, 43]. Проведення дослідження гострої токсичності поряд з іншими показниками (можливої місцевоподразнювальної та алергізуючої дії), які характеризують токсикологічні властивості лікарських засобів є обов'язковою вимогою Державного фармакологічного центру (ДФЦ) МОЗ України при доклінічному вивченні нових лікарських засобів [43].

Метою початкового етапу досліджень стало з’ясування характеру виразності

можливого негативного впливу крему на організм експериментальних тварин, що передбачало дослідження гострої токсичності з визначенням середніх летальних доз ($ЛД_{50}$) при внутрішньошлунковому введенні та нашкірному нанесенні, а також оцінку виразності можливої місцевоподразнювальної та алергізуючої дії.

Гостру токсичність крему вивчали за методом Пастушенко Т.В. на нелінійних статевозрілих білих мишах-самцях масою 18-25 г і нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 180-200 г при одноразовому внутрішньошлунковому та нашкірному застосуванні.

Рекомендується використовувати 5 рівнів доз. При неможливості введення препарату у дозах, які спричиняють загибель тварин, для дослідження гострої токсичності ДФЦ МОЗ України рекомендує використовувати максимальну дозу IV класу токсичності (малотоксичні речовини) з урахуванням шляху введення [43]. Отже, при встановленні нетоксичності крему у дозі 2810 мг/кг при нашкірному нанесенні та 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні подальші дослідження можна вважати недоцільними.

Спостереження за виживанням, клінічними ознаками та станом шкіри (при нашкірному нанесенні) проводилося протягом 14 днів.

Результати експериментальних досліджень з вивчення гострої токсичності наведені в табл. 3.3.

Експериментальні дослідження, проведені на мишах, показали, що у тварин четвертої та п’ятої дослідних груп, яким внутрішньошлунково вводили крем в дозах 4000 мг/кг та 5000 мг/кг відповідно, протягом перших годин після введення спостерігалося незначне пригнічення рухової активності, відсутність апетиту, екскременти мали рідку консистенцію. Усі перелічені ознаки зникали протягом доби та протягом наступних 13-ти діб спостереження стан тварин відповідає нормі.

Наприкінці експерименту всі піддослідні тварини залишалися рухливими, хутро було блискучим, апетит – нормальним.

Наступним етапом досліджень стали експерименти зі щурами. Досліди були проведені на 6 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 180-200 г.

Таблиця 3.3

Вивчення гострої токсичності крему «Дермаліпоін» на мишах при внутрішньошлунковому введенні (n=6)

Група	Доза, мг/кг	Тварини, які загинули/ загальна кількість тварин
1	500	0/6
2	1000	0/6
3	3000	0/6
4	4000	0/6
5	5000	0/6

Оскільки в дослідах з мишами не спостерігалося загибелі тварин, то в наступному експерименті крем вводили в максимальній дозі досліджуваного діапазону (5000 мг/кг).

Результати досліджень показали, що внутрішньошлункове введення крему в дозі 5000 мг/кг не призводить до загибелі тварин. Відзначалося пригнічення рухової активності, відмова від корму, випорожнення мали рідкий характер, інші ознаки інтоксикації не спостерігалися. Зазначені зміни зникали протягом доби.

Таким чином, експериментально визначити $ЛД_{50}$ крему при вутрішньошлунковому введенні не вдалося, що свідчить про його низьку токсичність.

Оскільки крем «Дермаліпоін» пропонується в якості потенційного засобу для місцевого лікування уражень шкіри, необхідно було провести вивчення його можливого негативного впливу на організм піддослідних тварин при одноразовому нашкірному нанесенні.

Дослід було проведено на 6 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 180-200 г. Піддослідним тваринам одноразово на попередньо вистрижену ділянку шкіри спини, яка становила не менше 10% від загальної площі поверхні тварини наносили крем тонким шаром у дозі 2810 мг/кг.

Результати проведених експериментальних досліджень наведені в табл. 3.4.

Спостереження за тваринами протягом двох тижнів не виявило загальних проявів інтоксикації, не спостерігалося також будь-яких змін стану шкірного покрову.

Результати проведених досліджень свідчать про відсутність токсичного впливу при одноразовому нашкірному введенні крему в максимальній дозі (2810 мг/кг).

Таблиця 3.4

Вивчення гострої токсичності крему «Дермаліпоін» на щурах при нашкірному нанесенні (n=6)

Досліджуваний препарат	Доза, мг/кг	Загинуло	Вижило	Реакція з боку шкірного покриву
Крем «Дермаліпоін»	2810	0	6	без змін

Узагальнюючи отримані експериментальні дані, можна зробити висновок, що крем є нетоксичною речовиною. Враховуючи, що LD_{50} досліджуваного крему лежить поза межами IV класу токсичності (LD_{50}> 5000 мг/кг), це дозволяє віднести його до класу «практично нетоксичних речовин» (V клас токсичності), відповідно до класифікації К.К. Сидорова.

3.4 Дослідження можливої місцевоподразнювальної дії крему «Дермаліпоін»

Для отримання більш повного уявлення про спектр токсичних властивостей крему «Дермаліпоін» досліджували його можливу місцевоподразнювальну дію при контакті зі слизовою оболонкою.

Дослідження місцевоподразнювальної дії було проведено на 6 мурчаках масою 400-450 г за допомогою теста «кон'юктивальна проба» [41]. Для цього крем вносили у кон'юнктивальний міхур правого ока піддослідних тварин. Ліве око слугувало контролем. Реакцію з боку слизової оболонки ока спостерігали

через 15 хв, одну годину та через добу після введення крему. В експерименті враховували ступінь гіперемії, набряку, кількість виділень за бальною шкалою.

Внесення крему у кон'юнктивальний міхур ока піддослідних тварин викликало незначне почервоніння протягом перших 5-10 хв, через 30 хв будь-якої помітної реакції з боку слизової оболонки ока не спостерігалося.

Аналіз результатів проведеного експерименту дозволяє зробити висновок про відсутність іритативної дії крему при контакті його зі слизовою оболонкою ока.

3.5 Вивчення можливої алергізуючої дії крему «Дермаліпоін»

Вивчення можливої алергізуючої дії крему проводили за допомогою методу нашкірних аплікацій [3, 42]. Досліди були проведені на 12 мурчаках масою 400-450 г. Піддослідні тварини були розділені на 2 групи: перша група – контрольна, тваринам другої групи на попередньо депільовані ділянки шкіри щоденно наносили крем у дозі 0,01 мл/см^2. Тестування проводили шляхом нанесення розвязувальної дози, на 10-ту та 20-ту добу кожної сенсибілізації. У випадку відсутності ознак сенсибілізації в 1-й фазі, нанесення досліджуваного крему продовжували до 2-ї фази. На 20-ту добу тестування повторювали. Стан шкіри оцінювали через годину та добу після нанесення розв'язувальної дози й відображали зміни за бальною системою: 1 бал – крапкова слабка гіперемія; 2 бали – крапкова виразна гіперемія; 3 бали – суцільна слабка гіперемія; 4 бали – суцільна виразна гіперемія та інфільтраційна гіперемія. З метою оцінки виразності запалення після нанесення розв'язувальної дози вимірювали товщину шкірної складки.

Результати вивчення можливої алергізуючої дії крему наведені у табл. 3.5.

На 10-ту добу ознак сенсибілізації виявлено не було. При нанесенні крему протягом 20-ти діб будь-яких помітних змін з боку шкірного покриву не спостерігалося. Нанесення розв'язувальної дози крему не призводить до розвитку

гіперемії, інфільтрації та набряку. Товщина шкірної складки після нанесення розв'язувальної дози не змінювалася відносно контролю.

Таблиця 3.5

Вплив крему «Дермаліпоін» на стан шкірного покриву у мурчаків (n=6)

Умови досліду	Товщина шкірної складки, мм		
	Терміни дослідження		
	Вихідні дані	10-та доба	20-та доба
Контрольна патологія	3,2±0,2	3,0±0,1	3,1±0,14
Крем «Дермаліпоін»	3,0±0,1	3,1±0,2	3,0±0,15

Таким чином, в ході проведених експериментальних досліджень встановлено, що крем не виявляє алергізуючих властивостей при нашкірному нанесенні.

Висновки до розділу 3

На підставі скринінгових досліджень за антимікробною та репаративною дією для подальшого фармакологічного вивчення обрано крем наступного складу: оливкової олії 27%; α-ліпоєвої кислоти 2%; олії чайного дерева 3%; сечовини 10%; основа ПЕГ- 400 до 100%.

Аналіз отриманих експериментальних даних з вивчення гострої токсичності крему «Дермаліпоін» дозволяє зробити висновок, що крем є нетоксичною речовиною. Крем при однократному нашкірному нанесенні щурам не викликає токсичного впливу на організм дослідних тварин. При внутрішньошлунковому введенні, відповідно до класифікації речовин за токсичністю, крем «Дермаліпоін» відноситься до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини).

Аналіз результатів тесту «кон´юктивальна проба» дозволяє зробити висновок про відсутність іритативної дії крему при контакті його зі слизовою оболонкою ока.

Також встановлено, що крем «Дермаліпоін» не виявляє сенсибілізуючої дії при нашкірному нанесенні.

Матеріали даного розділу використані при написанні наступних публікацій:

1. Sheyhali A. M., Kononenko N. M. The study of toxicological properties of a new combined cream “Dermalipoin”. *Вісник фармації*. 2014. № 4 (80). С. 69-71.
2. Sheyhali A.M., Kononenko N.M. Study the possibility allergenic effect of the cream «Dermatolipoin». *Topical issues of new drugs development:* матеріали XXII міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квітня 2015 р. Харків, 2015. С. 656.
3. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження місцевоподразнювальної дії крему Дерматіпоін. *Фармакологія 2017 – крок у майбутнє*: матеріали V Нац. з’їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18-20 жовт. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 139-140.

РОЗДІЛ 4
ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН»

Рановий процес розглядається як взаємозв’язані явища запалення, регенерації та фіброзу, синхронність яких забезпечується міжклітинною взаємодією. Проте виражений запальний процес сам по собі може обумовлювати вторинне ушкодження тканин та затримувати загоєння рани, тому важливе значення для реалізації лікувальної дії препаратів, що застосовують в терапії ранового процесу, є наявність протизапальних властивостей [12, 29, 31].

За сучасними уявленнями одними із головних ланок у патогенезі запалення є активація процесів вільнорадикального окислення (ВРО) і деструкції мембран [25, 29]. Вільні радикали є активними учасниками великої кількості реакцій, що протікають у клітинах при запаленні. Центральною ланкою реакцій ВРО є утворення вільних радикалів у вигляді активних форм кисню (АФК) [8, 25]. АФК, пік утворення яких спостерігається переважно в альтеративній та ексудативній стадії запалення за рахунок опосередкованої зміни синтезу простагландинів, можуть викликати і підтримувати запальні і дегенеративні зміни в тканинах, брати участь у деградації гіалуронової кислоти, змінювати метаболізм колагену, порушувати рівновагу внутрішньоклітинного кальцію. Зазначені зміни призводять до роз'єднання процесів тканинного подиху і фосфорилювання, пошкодження клітинних мембран, подальшого збільшення патологічного процесу та затримують початок регенерації [8, 25, 29].

4.1 Вивчення впливу крему «Дермаліпоін» на перебіг запального процесу з виразним альтеративним компонентом

Першим етапом нашої роботи було вивчення протизапальної активності крему на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів.

Досліди проведені на 24 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 200-220 г. Асептичне запалення шкіри та підшкірної клітковини викликали підшкірним введенням 9% розчину оцтової кислоти (0,5 мл на одну тварину) одночасно з внутрішньоочеревинним введенням 6% розчину декстрану в дозі 300 мг/кг. Останній вводили з метою сенсибілізації організму тварин та посилення некротичної реакції. Крем «Дермаліпоін» та препарат порівняння - гель «Тітріол» починали наносити на ушкоджену поверхню на 8 день (період формування шкірних виразок) в дозі 0,1 мл/см^2 [43].

Протягом перших семи діб після ін'єкції оцтової кислоти відбувалося формування виразкових дефектів шкіри (відторгнення некротичної тканини, у деяких випадках – відділення гнійного ексудату). На восьмий день площа ранової поверхні була максимальною.

Загоєння ран у тварин контрольної групи тривало протягом 28-и днів із коефіцієнтом швидкості 0,12-11,80 (табл. 4.1). За весь термін експерименту загибелі тварин у всіх дослідних групах не спостерігалося.

Аналіз отриманих експериментальних даних дозволяє зробити висновок, що крем «Дермаліпоін» виявляє виразні антиальтеративні властивості та перевищує ефект препарату порівняння гелю «Тітріол».

На четверту добу лікування коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих «Дермаліпоіном», перевищував даний показник у контрольній групі в 2,92 рази, а у тварин, яких лікували гелем «Тітріолом» - в 2,75 рази.

Коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих «Дермаліпоіном», на 9 добу складав 1,14, проти 1,07 – у тварин, яких лікували препаратом порівняння та 0,40 - в контрольній групі. На 13-ту добу даний показник становив 3,12, 2,5 та 1,23, а на 17-ту добу відповідно – 7,92, 8,22 та 2,77. На 21-у добу від початку лікування коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих «Дермаліпоіном», складав вже 15,46, а у тварин, яких лікували «Тітріолом» – 10,27, проти 6,3 у тварин контрольної групи. Під дією «Дермаліпоіну» рубці починали формуватися вже на 17-ту добу, а на 21-у добу відносна частка тварин з

ранами, що зарубцювалися, складала 50%, в той час як в групі, лікованих препаратом порівняння їхня відносна частка складала 33,3%.

Таблиця 4.1

Вивчення антиальтеративної дії крему «Дермаліпоін» на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів (n=8)

Умови досліду		Терміни дослідження, доба						
		1	4	9	13	17	21	25
Контрольна патологія	S, $см^2$	2,19 ±0,21	1,96 ±0,18	1,56 ±0,31	0,98 ±0,15	0,58 ±0,12	0,30 ±0,10	0,17 ±0,07
	V, ум.од	-	0,12	0,4	1,23	2,77	6,3	11,8
	%	-	-	-	-	-	16,7	50
Крем «Дермаліпоін»	S, $см^2$	2,14 ±0,19	1,58 ±0,23	1,00 ±0,27*	0,52 ±0,18*	0,24 ±0,12*	0,13 ±0,08*	0,00 ±0,00*
	V, ум.од	-	0,35	1,14	3,12	7,92	15,46	-
	%	-	-	-	-	16,7	50	100
Гель «Тітріол»	S, $см^2$	2,03 ±0,15	1,53 ±0,25	0,98 ±0,20*	0,58 ±0,19*	0,22 ±0,09*	0,18 ±0,06*	0,00 ±0,00*
	V, ум.од	-	0,33	1,07	2,5	8,22	10,27	-
	%	-	-	-	-	-	33,3	100

Примітки:

1. S – середня площа рани;
2. V – коефіцієнт швидкості загоєння рани;
3. % - кількість тварин з ранами, що зарубцювалися;
4. *- відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології ($p<0,05$).

Повне загоєння ран у тварин обох дослідних груп відбувалося між 21-ю та 25-ю добою.

Таким чином, на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів, викликаного оцтовою кислотою, доведено виражені антиальтеративні властивості крему «Дермаліпоін», які перевищують дію препарату порівняння.

4.2 Вивчення впливу крему Дермаліпоін на розвиток запального процесу з виразним ексудативним компонентом

Загальновідомо, що стартом у розвитку ранового процесу є альтеративна й ексудативна фази запалення [29]. У відповідь на ураження в рані розвиваються зміни, що ушкоджують мікросудини. Участь у запальній реакції біогенних амінів (брадикініну, гістаміну, серотоніну), а також системи комплементу призводить до стійкої вазодилятації і підвищення проникності судинної стінки [4]. Це сприяє уповільненню кровотечі й утворенню набряку. Зниження перфузії крові призводить до погіршення оксигенації і трофіки у рані [7]. Розвивається ацидоз, порушується білковий обмін у тканинах. При розпаді клітинних білків (протеоліз) із зруйнованих клітин вивільняються іони K^+, Na^+ і H^+, що підвищують осмотичний тиск у тканинах, внаслідок чого відбувається подальша затримка рідини і розвиток набряку в ділянці рани [6]. У цю фазу ранового процесу активну участь беруть простагландини – метаболіти арахідонової кислоти, що виділяються із зруйнованих мембран клітин. Вони сприяють появі пірогенної реакції і разом з брадикініном зумовлюють порушення процесів репарації та розвитку больового синдрому [4, 6, 29]. Тому при місцевому лікуванні ранового процесу важливою умовою є корекція запалення, що зумовлює вивчення протизапальних властивостей крему «Дермаліпоін» на моделях запалення різного генезу.

4.2.1 Вивчення протизапальної активності крему «Дермаліпоін» на моделі термічного запалення кінцівок у мишей

Для первинної оцінки протизапальної дії була обрана модель термічного запалення кінцівок у мишей. Вибір модельної патології був обумовлений тим, що складу крему входять антиоксиданти та ненасичені жирні кислоти.

Досліди проведені на 32 білих нелінійних статевозрілих мишах-самцях масою 18-20 г. В якості препарату порівняння були обрані крем «Бепантен» і бальзам «Спасатель-форте», які використовують для лікування опіків шкіри. Запалення відтворювали шляхом занурення правої задньої лапи миші у воду (t-66,5ºС) на 4 сек. Препарати наносили тонким шаром в дозі 0,01 мл/см^2 на обпечену лапу 2 рази: відразу та через 2 год після моделювання.

У процесі моделювання патології у тварин розвивається гостре запалення, яке проявлялося гіперемією та набряком лапи. У мишей контрольної групи різниця між об'ємом дослідної та контрольної лап становила 66,4 мг (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Вивчення протизапальної дії крему в умовах термічного запалення кінцівок у мишей (n=8)

Умови досліду	М, мг	ПА,%
Контрольна патологія	66,4±5,8	-
Дермаліпоін	31,6±2,1*/**	52,4
Крем «Бепантен»	41,5±3,1*	37,5
Бальзам «Спасатель-форте»	36,9±3,8*	44,4

Примітки:

1. М – різниця в масі ураженої та здорової кінцівок;
2. * - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, p≤0,05;
3. ** - відхилення вірогідне по відношенню до крему «Бепантен», p≤0,05;
4. n - кількість тварин у групі.

Місцеве лікування лап з набряком кремом «Дермаліпоін» сприяє пригніченню запального процесу, що виражалося зменшенням набряку в 2,1 рази порівняно з контролем. При лікуванні лап бальзамом «Спасатель-форте» набряк лап був менший в 1,8 рази; кремом «Бепантен» - в 1,6 рази.

Аналіз результатів протизапальної активності препаратів показав, що за вираженістю дії їх можна розташувати таким чином: «Дермаліпоін» (52,4%) ≥ «Спасатель-форте» (44,4%) ≥ «Бепантен» (37,5%).

4.2.2 Вивчення антиексудативної активності крему «Дермаліпоін» на моделі гострого карагенінового набряку кінцівок у щурів

Згідно сучасних уявлень, які визначають патогенетичну направленість лікування, рановий процес поділяють на три фази: запалення, регенерації та реорганізації рубця з епітелізацією [29]. У фазі запалення в результаті руйнування тканинних структур вивільняються біогенні аміни, фактори згортання крові та лізосомальні ферменти, що руйнують клітинні та субклітинні мембрани, запускають каскад реакцій перетворення арахідонової кислоти та синтез медіаторів запалення - простагландинів, лейкотрієнів, тромбоксану, простациклінів. Накопичення медіаторів запалення в місці пошкодження призводить до міграції клітин імунної системи та розвитку гнійно-некротичних змін у тканинах, яке може обумовлювати затримання загоєння рани та вторинне ушкодження тканин [4, 6, 29].

Таким чином, основна патогенетична фармакотерапія ран повинна бути спрямована на всебічне пригнічення запального процесу в місці пошкодження. Тому, наступним етапом нашої роботи стало вивчення антиексудативної активності крему «Дермаліпоін» в умовах гострого асептичного запалення кінцівки у щурів, викликаного карагеніном, в механізмах розвитку якого провідну роль відіграють простагландини та калікреїн-кінінова система [152].

Досліди проводили на 18 білих нелінійних щурах-самцях масою 180-200 г. Усім тваринам субплантарно під апоневроз задньої кінцівки вводили по 0,1 мл 1% розчину карагеніну. Досліджуваний крем та препарат порівняння - бальзам «Спасатель-форте» застосовували в дозі 0,01 мл/см^2. Виразність запального процесу оцінювали за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який вимірювали до введення флогогену та через 3 год після введення флогогенного агенту за допомогою онкометра.

Аналіз отриманих експериментальних даних (табл. 4.3) дозволяє зробити висновок, що в умовах гострого карагенінового набряку стопи у щурів крем при місцевому застосування виявляє виражений антиексудативний ефект, зменшуючи

набряк на 47,7 %. Препарат порівняння виявляв антиексудативну активність на рівні 30,5 %.

Таблиця 4.3

Вплив крему на ексудативну фазу запалення в умовах гострого карагенінового набряку кінцівки у щурів (n=6)

Умови досліду	V, ум.од	АА,%
Контрольна патологія	33,82±1,5	-
Дермаліпоін	17,70±1,4*/**	47,7
Бальзам «Спасатель-форте»	23,51±1,8*	30,5

Примітки:

1. V – різниця в об’ємі кінцівки до початку досліду та після введення флогогену;

2. * - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, $p \leq 0,05$;

3. ** - відхилення вірогідне по відношенню до бальзаму «Спасатель-форте», $p \leq 0,05$;

4. n - кількість тварин у групі.

Таким чином, крем «Дермаліпоін» виявляє виразні протизапальні властивості, які обумовлені антагонізмом з медіаторами запалення.

4.2.3 Вивчення антиексудативної активності крему «Дермаліпоін» на моделі гострого зимозанового набряку кінцівок у щурів

Подальше вивчення протизапальної активності крему «Дермаліпоін» проводили на моделі гострого асептичного запалення кінцівки щурів, викликаного зимозаном, в механізмах розвитку якого провідну роль відіграють медіатори запалення – лейкотрієни (ЛТ) [43, 153].

Досліди проведені на 24 нелінійних білих щурах-самцях масою 180-200 г. Усім тваринам субплантарно під апоневроз задньої кінцівки вводили по 0,1 мл 2 % розчину зимозану. Зимозан сприяє утворенню та вивільненню лейкотрієнів і

провокує гостру запальну реакцію. Досліджуваний крем та препарати порівняння - крем «Бепантен» та бальзам «Спасатель-форте» застосовували в дозі 0,1 мл/см^2. Виразність запального процесу оцінювали за збільшенням об'єму ураженої кінцівки, який вимірювали до ведення флогогену та через 30 хв. після введення флогогенного агенту за допомогою онкометра [43].

Експериментальні дані (табл. 4.4) свідчать, що в умовах гострого зимазанового набряку стопи у щурів крем «Дермаліпоін» при місцевому застосуванні виявляє виражений антиексудативний ефект, зменшуючи набряк на 40,3%. Препарати порівняння бальзам «Спасатель-форте» виявляв антиексудативну активність на рівні 30,6%, а крем «Бепантен» - на рівні 25,0% впродовж усього терміну спостереження.

Таблиця 4.4

Вплив крему на ексудативну фазу запалення в умовах гострого зимозанового набряку кінцівки у щурів (n=6)

Умови досліду	V, ум.од	АА,%
Контрольна патологія	19,80±1,3	-
Дермаліпоін	11,82±0,7*/**	40,3
Бальзам «Спасатель-форте»	13,74±1,1*	30,6
Крем «Бепантен»	14,85±0,9*	25,0

Примітки:

1. V – різниця в об'ємі кінцівки до початку досліду та після введення флогогену;

2. * - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, $p \leq 0,05$;

3. ** - відхилення вірогідне по відношенню до крему «Бепантен», $p \leq 0,05$;

4. n - кількість тварин у групі.

Зважаючи, що на ранніх етапах розвитку зимозанового запалення провідну роль відіграють ЛТ [43], що дозволяє зробити припущення про антиліпооксигеназні властивості комплексу біологічно активних сполук, які містяться в кремі «Дермаліпоін».

4.2.4 Вивчення впливу крему Дермаліпоін на проникність судинної стінки

Відомо, що всі без винятку рани загоюються через запалення, а переважна більшість ран, якщо вони не піддавалися хірургічній обробці – через нагноєння [149]. Гостра фаза запалення характеризується змінами з боку судинного русла та розвитком ексудативної реакції [6]. Підвищення проникності стінок кровоносних судин призводить до виходу рідкої частини та клітин крові, клітинної інфільтрації та набряку оточуючих тканин [4]. Набряк тканин супроводжується розвитком ацидозу, гіпоксії, а також призводить до активації процесів перекисного окиснення ліпідів, що обумовлює вторинну деструкцію тканин у вогнищі запалення [6]. Багато аспектів загоєння ускладнених ран людини ще мало з'ясовані: механізми гальмування росту і дозрівання грануляційної тканини, диференціювання сполучнотканинних клітин, взаємовідносин між запаленням, регенерацією та фіброзом в ускладнених ранах.

Враховуючи вищезазначене, наступним етапом дослідження стало вивчення капілярозміцнювальної активності крему на моделі підвищеної проникності судин черевної стінки у щурів, викликаної різними флогогенами.

В експерименті було використано 18 нелінійних статевозрілих білих щура-самця масою 180-220 г. Піддослідним тваринам на правій задній кінцівці оголювали стегнову вену, в яку за допомогою туберкулінового шприцу вводили барвник (1 % розчин трипанового синього в дозі 2 мл/кг на фізіологічному розчині). Через 10 хв після внутрішньовенного введення барвника піддослідним тваринам підшкірно на попередньо депільовані черевні ділянки шкіри вводили, з метою підвищення проникності судин черевної стінки різні флогогенні агенти: 0,02 мл 0,1 % розчину гістаміну, 0,02 мл 3% розчину формаліну, 0,02 мл яєчного білка, 0,02 мл 0,1 % розчину карагеніну. За різницею в часі профарбовування папул робили висновок про вплив крему на судинну проникність. Досліджуваний крем та препарат порівняння – мазь тіотриазоліну (ПАТ Хімфармзавод «Червона зірка», Україна) наносили на місце ін'єкції в дозі 0,1 мл/см^2 за 40 хв до постановки експерименту.

Відомо, що введення флогогенних речовин (формаліну, карагеніну, гістаміну) призводить до стійкої вазодилатації та підвищення проникності судинної стінки. Це сприяє уповільненню кровообігу, утворенню набряку, а надалі ускладняється згущенням крові. Розвивається ацидоз, порушується вуглеводний і білковий обмін у тканинах. При розпаді клітинних білків (протеоліз) із зруйнованих клітин вивільняються іони калію, натрію, водню, які підвищують осмотичний тиск у тканинах, в результаті чого відбувається затримка рідини і подальший розвиток набряку тканин [43, 86]. Все це призводить до порушення цілісності клітинних структур мембран та підвищення судинно-тканинної проникності. У цій фазі запалення також активну участь беруть простагландини - метаболіти арахідонової кислоти, що виділяються із зруйнованих мембран клітин [72].

Отримані експериментальні дані свідчать, що в групі тварин з контрольною патологією найшвидше розвивався запальний ефект під впливом гістаміну (5,3 хв); наступний за швидкістю розвитку запалення флогоген – яєчний білок (5,7 хв) та карагенін (5,9 хв). Пізніше з’являється забарвлення у місці введення формаліну – через 6,5 хвилин (табл.4.5).

Таблиця 4.5

Вплив крему «Дермаліпоін» на судинну проникність, (n=6)

Умови досліду	Час профарбовування папул, хв			
	гістамін	білок	карагенін	формалін
Контрольна патологія	5,3±0,5	5,7±0,4	5,9±0,4	6,5±0,3
Крем «Дермаліпоін»	7,5±0,3*	8,1±0,4*	9,7±0,5*	11,8±0,3*
Капілярозміцнювальна активність крему, %	41,5	42,1	64,4	81,5
Мазь тіотриазоліну	6,8±0,2*	7,9±0,3*	9,2±0,5*	10,6±0,2*/**
Капілярозміцнювальна активність мазі, %	28,3	38,6	55,9	63,1

Примітки:
1.* - достовірно відносно контрольної патології, $p \leq 0,05$;
2. ** - відхилення вірогідне по відношенню до мазі тіотриазоліну, $p \leq 0,05$;
3. n - кількість тварин у групі.

Нанесення крему «Дермаліпоін» призводить до значного уповільнення профарбовування папул. При застосуванні карагеніну та формаліну в якості флогогенів крем виявляв найвиразнішу здатність зменшувати проникність судинної стінки: швидкість профарбовування папули зменшувалась на 64,4% та 81,5% відповідно. В умовах порушення судинної проникності спричиненого яєчним білком та гістаміном швидкість профарбовування папул зменшувалася відповідно на 42,1% та 41,5%.

Препарат порівняння – мазь тіотриазоліну також проявляє судиностабілізувальну дію. Проте, даний ефект поступався дії досліджуваного крему на 13,2% при введенні гістаміну, на 8,5% - при введенні карагеніну, на 18,4% - при введенні формаліну.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про наявність у нового комбінованого крему судиностабілізувальної дії за рахунок стабілізації мембрани клітин та пригнічення активності медіаторів запалення, що утворюються внаслідок цикло- та ліпооксигеназного метаболізму арахідонової кислоти (простагландини, лейкотрієни) та сприяють в умовах патології порушенню мікроциркуляції та підвищенню проникності судинної стінки та клітинних мембран. Результати даного досліду підтверджують здатність (яка переважає ефект препарату порівняння) крему гальмувати активність біогенних амінів та, завдяки цьому, знижувати проникність судинної стінки, що є дуже важливою складовою фармакодинаміки досліджуваного фармакологічного препарату як засобу, який пропонується при запально-деструктивних процесах.

Відомо, що при формаліновому набряку пусковим моментом у розвитку ексудативного запалення є білкова деструкція мембран [4, 6, 123]. При застосуванні формаліну в якості флогогену крем виявляв найбільшу здатність зменшувати проникність судинної стінки: швидкість профарбовування папули зменшувалась на 81,5%, що свідчить про виразну мембраностабілізувальну дію крему.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про здатність нового комбінованого крему зменшувати судинну проникність при введенні

різноманітних флогогенних речовин (формаліну, карагеніну, гістаміну) і доводять його багатокомпонентну протизапальну дію, що, ймовірно, пов'язане з антиоксидантними і мембраностабілізувальними властивостями діючих складових крему.

4.3 Дослідження мембраностабілізуючих властивостей крему «Дермаліпоін»

Досліди проведені на 18 нелінійних статевозрілих щурах-самцях масою 180-200 г. Досліджуваний крем та препарат порівняння – мазь тіотриазоліну наносили на шкіру здоровим (інтактним) тваринам в профілактичному режимі щоденно один раз протягом 5-днів до вивчення гемолізу. Мембраностабілізуючу активність вивчали за методом спонтанного гемолізу за методом F.C. Jager, який заснований на вимірюванні концентрації позаеритроцитарного гемоглобіну, що надходить у сироватку крові внаслідок лізису мембран еритроцитів, викликаного перекисним окисненням ліпідів киснем повітря.

При вивченні впливу препаратів на ступінь гемолізу (табл. 4.6) встановлено, що в групі тварин, яким наносили крем «Дермаліпоін», відбувалося достовірне зменшення гемолізу еритроцитів у 2,6 рази, мазі тіотриазоліну – в 1,7 рази у порівнянні з групою інтактного контролю.

Таблиця 4.6

Мембраностабілізуюча дія крему «Дермаліпоін» на моделі спонтанного гемолізу за Jager F.C. (n=6)

Умови досліду	Ступінь гемолізу, %	Мембраностабілізуюча активність,%
Інтактний контроль	13,01±0,03	-
Крем «Дермаліпоін»	5,04±0,01*	61,3
Мазь тіотриазоліну	7,93±0,02*/**	39,0

Примітки:

1.* - достовірно відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$);

2. ** - відхилення вірогідне по відношенню до мазі тіотриазоліну ($p \leq 0,05$).

Таким чином, встановлена можливість досліджуваного крему протидіяти гемолізу, що свідчить про наявність вираженої мембраностабілізуючої дії даного препарату, яка перевищує таку у мазі тіотриазоліну на 22,3%.

Висновки до розділу 4

Проведені експериментальні дослідження на моделях гострого ексудативного запалення, викликаного дією термічного чинника та інших флогогенних агентів (карагеніну та зимозану), показали, що крем «Дермаліпоін» виявляє виразні протизапальні властивості, які обумовлені антагонізмом з медіаторами запалення (головним чином, лейкотриєнами). Встановлено, що за виразністю протизапальної дії на моделі термічного запалення кінцівок у мишей, карагенінового та зимозанового запалення у щурів крем «Дермаліпоін» переважає препарати порівняння - крем «Бепантен» і бальзам «Спасатель-форте».

На моделі підвищеної проникності судин, яка відтворювалась шляхом введення трьох різних флогогенів, встановлено, що досліджуваний крем значно зменшує проникність судинної стінки.

На моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів, викликаного оцтовою кислотою, було встановлено, що крем виявляє виразний лікувальний ефект, що проявлялося посиленням репаративних процесів. Висока ефективність крему в умовах альтеративного запалення, ймовірно, пов’язана з обмеженням процесів некротизації запалення в ушкодженій тканині, що пояснюється її здатністю до нормалізації обмінних процесів. Спостереження показали, що у тварин, яких лікували кремом «Дермаліпоін» рубці починали формуватися вже на 17-ту добу, а на 21-у добу відносна частка тварин з ранами, що зарубцювалися складала 50% проти 33,3% серед тварин, яких лікували гелем «Тітріол». Це дозволяє зробити висновок , що за виразністю антиальтеративної активності досліджуваний крем в 1,5 рази перевищує препарат порівняння.

На моделі спонтанного гемолізу виявлена виражена мембраностабілізуюча дія крему «Дермаліпоін», що була більш виразною по відношенню до дії препарату порівняння - мазі тіотриазоліну на 22,3%.

Матеріали даного розділу використані при написанні наступних публікацій:

1. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Дослідження впливу нового комбінованого крему Дерманіпоін на проникність судинної стінки. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 4 (51). С. 27-30.
2. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Протизапальна активність крему «Дерманіпоін» на моделі термічного запалення. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 травня 2014 р. Харків, 2014. С. 151.
3. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вивчення антиексудативної активності крему Дерманіпоін на моделі гострого карагенінового набряку. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21 травня 2015 р. Харків, 2015. С. 135.
4. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження антиексудативної активності нового комбінованого крему на моделі гострого зимозанового набряку. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 12-13 листопада 2015 р. Харків, 2015. С. 267-268.
5. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Вплив нового комбінованого крему дерманіпоін на перебіг ексудативного запалення, викликаного формаліном. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції:* матеріали VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнар. участю, м. Харків, 5-7 жовтня 2016 р. Харків, 2016. С. 251.
6. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження мембраностабілізувальних властивостей крему Дерманіпоін. *XV–е чтения им. В.В. Подвысоцкого*: матеріали наук. конф., м. Одеса, 26-27 травня 2016 р. Одеса, 2016. С. 223-224.

7. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вплив крему Дермаліпоін на перебіг запального процесу з виразним альтернативним компонентом. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, м. Харків, 08 квітня 2016 р. Харків, 2016. С. 222.

РОЗДІЛ 5
ВИВЧЕННЯ РЕПАРАТИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН»

5.1 Вивчення репаративної активності крему Дермаліпоін на моделі лінійних різаних ран у щурів

Згідно даних статистики частота інфекційних ускладнень ран в хірургії досягає 30%, в комбустіології - 40%, а в дерматології - 7% [32, 35, 48, 56, 61]. Одним із шляхів вирішення даної проблеми є використання препаратів для стимуляції репаративних процесів і наближення репаративної регенерації до фізіологічної. Для лікування ран необхідне місцеве застосування м'яких лікарських засобів, які б мали багатоспрямовану дію та використовувалися в залежності від фази ранового процесу. Так, препарати, що використовуються в I-II фазах ранового процесу, повинні мати гідрофільні основи з помірною дегідратуючою активністю, забезпечувати протизапальну, репаративну активність та захищати від суперінфекції [24, 31, 45, 52].

Вивчення репаративних властивостей крему «Дермаліпоін» проводили на моделі лінійних різаних ран.

Експеримент було проведено на 40 нелінійних щурах-самцях масою 200±20 г, яки були розподілені на 4 групи: I- тварини з ранами без лікування (контрольна патологія); II – щури з ранами, ліковані кремом Дермаліпоін, III – щури з ранами, яких лікували препаратом порівняння – бальзам «Спасатель-форте», IV група – тварини з ранами, яких лікували препаратом порівняння – гелем «Тітріол».

Для відтворення лінійної рани тваринам під наркозом в асептичних умовах на депільованій ділянці шкіри спини площею 5×3 см2 робили розріз довжиною 5 см до власної фасції. Одразу накладали 5 швів на відстані 1 см один від одного та обробляли шкіру 5% спиртовим розчином йоду. З наступного дня починали лікування впродовж 5 діб. На 7-й день досліду тварин декапітували і вирізали шкіру з рубцем і прилеглими до неї неушкодженими ділянками [68].

Для більшої зручності порівняльної оцінки отриманих результатів на зрізах проводили напівкількісну (бальну) оцінку ширини ранового каналу, стану новоутвореної тканини в ньому (виразність васкуляризації, проліферації фібробластів, волокноутворення), повноту відновлення шкіри у області загоєної рани [68].

Отримані експериментальні дані свідчать про прояви регенерації в ушкоджених тканинах при місцевому застосуванні крему «Дермаліпоін» (табл. 5.1). Результати тесту на міцність рубца показали, що за виразністю репаративної дії крем «Дермаліпоін» (репаративна активність – 78,1%) значно перевищує препарат порівняння гель «Тітріол» на 31,5% та на 13% перевищує дію препарату порівняння - бальзаму «Спасатель-форте».

Таблиця 5.1.

Вплив крему «Дермаліпоін» на міцність рубця (n=10)

Умови досліду	Показник тензіометрії, г	Репаративна активність, %
Контрольна патологія	348,7±23,1	-
Крем «Дермаліпоін»	621,0±15,4*/**	78,1
Бальзам «Спасатель-форте»	575,6±20,2*	65,1
Гель «Тітріол»	511,2±32,0*	46,6

Примітки:

1.* - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, $p \leq 0,05$;

2. ** - відхилення вірогідне по відношенню до гелю «Тітріол», $p \leq 0,05$;

3. n - кількість тварин у групі.

Як показала оглядова мікроскопія у 75% щурів групи контрольної патології рановий канал достатньо широкий та глибокий, іноді покритий кіркою, яка легко відшаровувалася. Епітеліальний пласт не прикривав центральну частину каналу, а по боках виразно потовщений, часто з ознаками окантозу, іноді з ознаками паракератозу, перинуклеарного набряку. У ряді випадків видні доволі великі внутрішньоепідермальні рогові пробки. Канал заповнено грануляційною

тканиною різного ступеню зрілості. У поверхневих шарах вона густоклітинна – містила нейтрофільні лейкоцити, лімфоцити, малодиференційовані фібробласти, мало васкуляризована. Колагенові волокна практично не визначалися. У більш глибоких зонах каналу у клітинному вмісті переважали лімфоцити та фібробласти різного ступеню зрілості, більш виразною була васкуляризація. Колагенові волокна переважно тонкі, коротенькі, не зібрані у жмутки, слабофуксинофільні, досить хаотично розподілені, визначаються в основному у ділянках дна та по краях ранового каналу (рис. 5.1).

У 25% тварин рановий канал помірний за шириною, повністю закритий потовщеним пластом епідермісу, заповнений новоствореною тканиною, в якій присутні помірні за чисельністю лімфоцити, фібробласти, відсутні кровоносні судини. Колагенові волокна тонкі, слабофуксинофільні, не зібрані у жмутки. Відновлення придатків шкіри не відбувається (рис. 5.2).

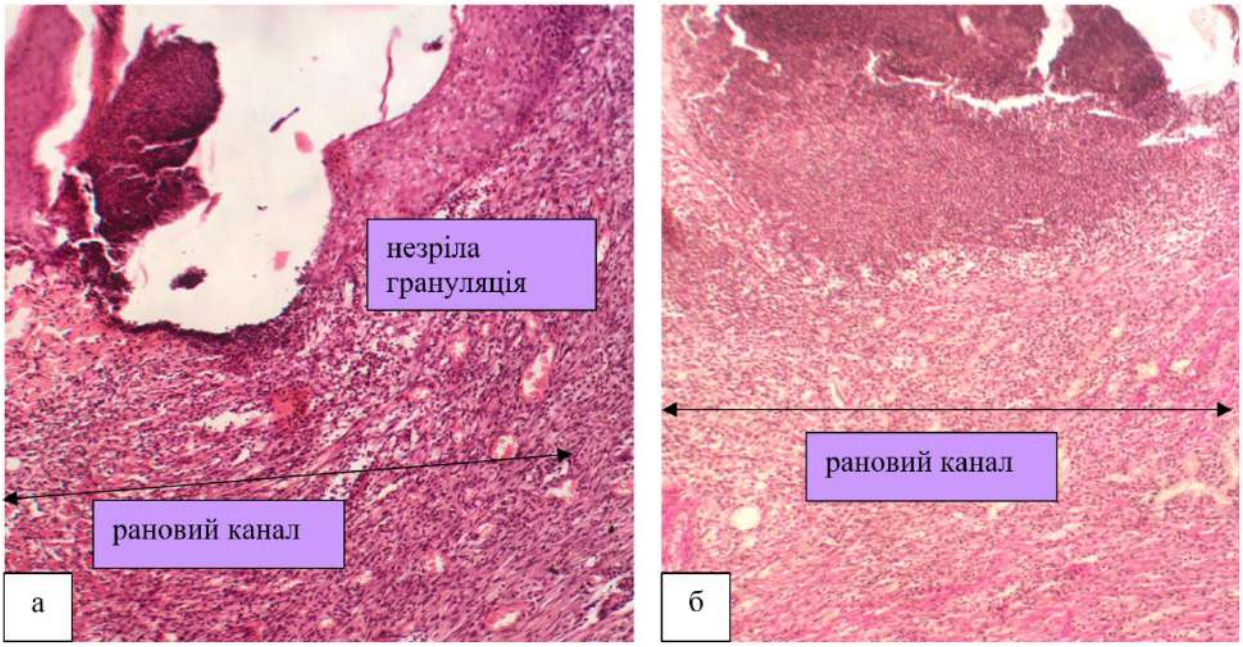

Рис. 5.1. Ушита лінійна різана рана шкіри контрольних щурів. Залишок фібринозно-гнійної кірки на поверхні широкого ранового каналу, грануляційна тканина, що заповнює канал, досить незрілого виду (а, гематоксилін-еозин), мала виразність волокноутворення (б, пікрофуксин за Ван-Гізон). х100.

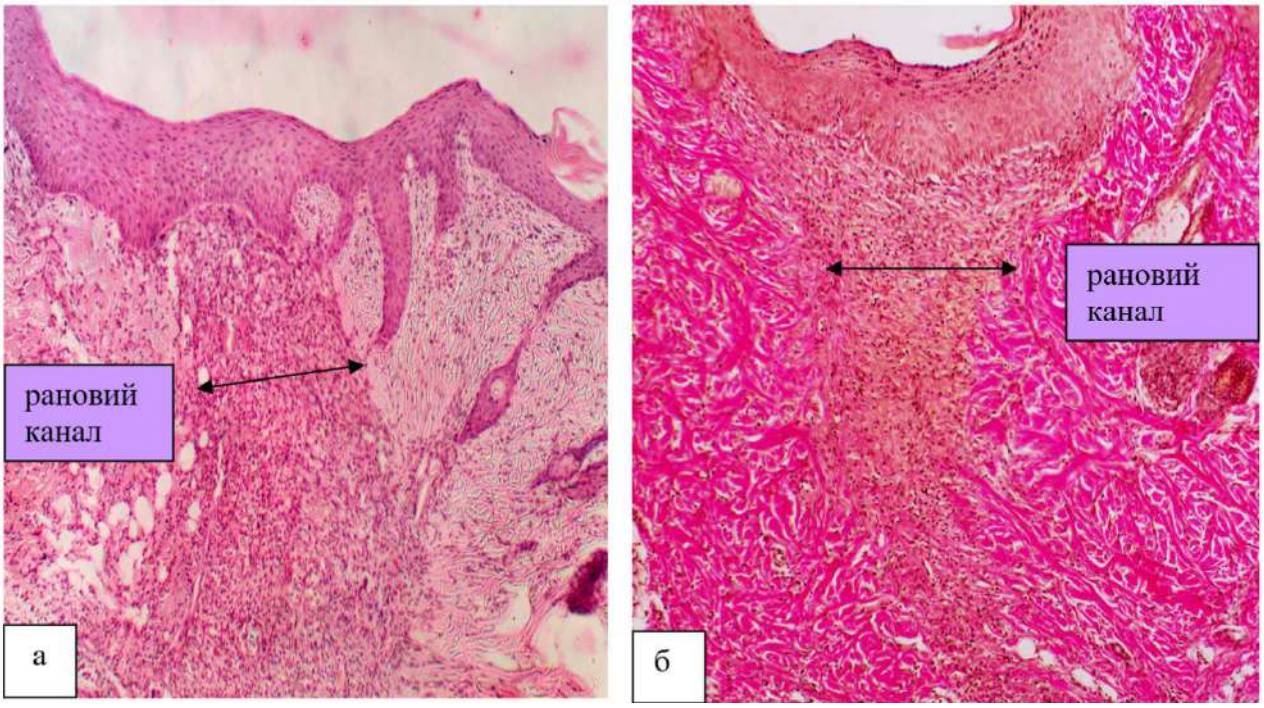

Рис. 5.2. Ушита лінійна різана рана шкіри контрольних щурів. Рановий канал помірний за шириною, новоутворена тканина в ньому з редукованими судинами (а, гематоксилін-еозин), тонкими, не зібраними у жмутки помірно фуксинофільними колагеновими волокнами (б, пікрофуксин за Ван-Гізон). х100.

У підшкірній клітковині під рановим каналом, а також по обидві сторони від нього видні ознаки запалення (де-не-де – дрібні осередки нагноєння), на частині ділянок вона заміщена волокнистою тканиною. Запальна реакція спостерігалася і у м'язовій пластинці (рис. 5.3).

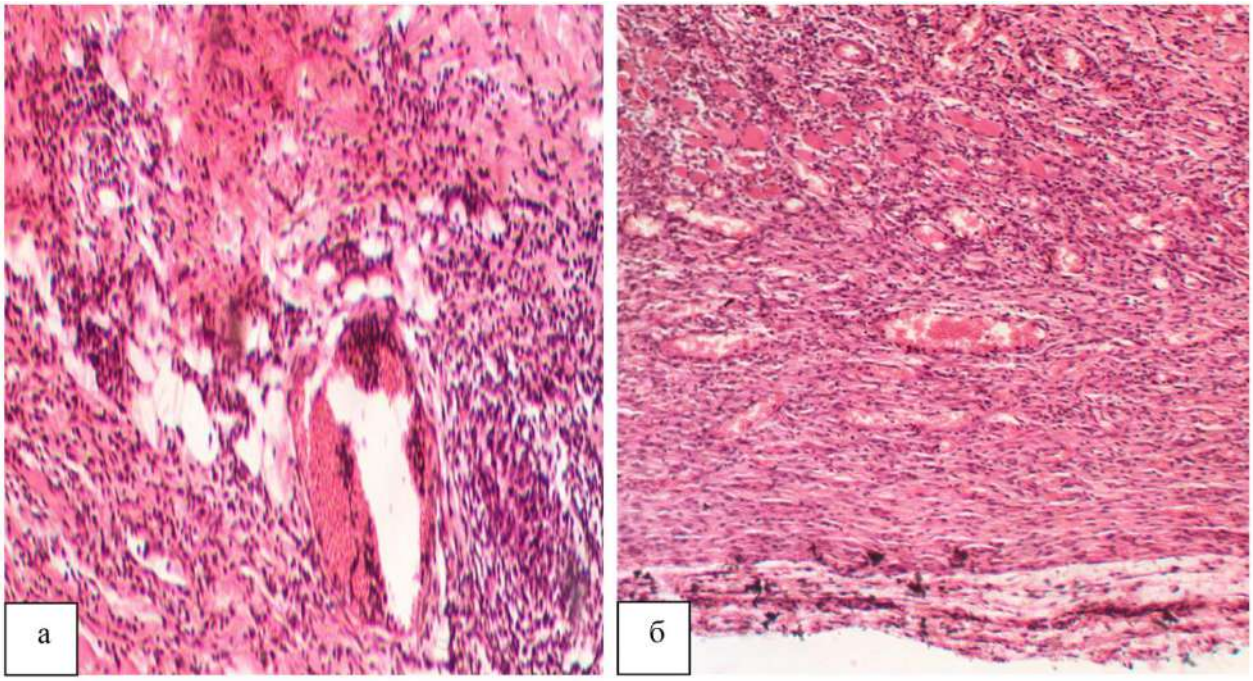

Рис. 5.3. Тканини під ушитою лінійною різаною раною контрольних щурів: а – запальна реакція у підшкірній клітковині; б – запалення у м'язовій пластинці, заміщення підшкірної клітковини волокнистою тканиною. Гематоксилін-еозин. х100.

Після застосування крему «Дермаліпоін» у всіх щурів відбувається повне загоєння рани. У 83,3% тварин колишній рановий канал мав вигляд дуже вузької смуги, по обидва боки від якої видна повністю відновлена дерма з волосяними фолікулами та пов'язаними з ними сальними залозами. Епідерміс у зоні колишньої рани та у прилеглих до неї зонах потовщено, але в ньому повністю відновлені всі шари, роговий включно. Іноді на поверхні шкіри видно залишки тонкої кірочки. У підшкірній клітковині спостерігаються залишкові ознаки запальної реакції (рис. 5.4).

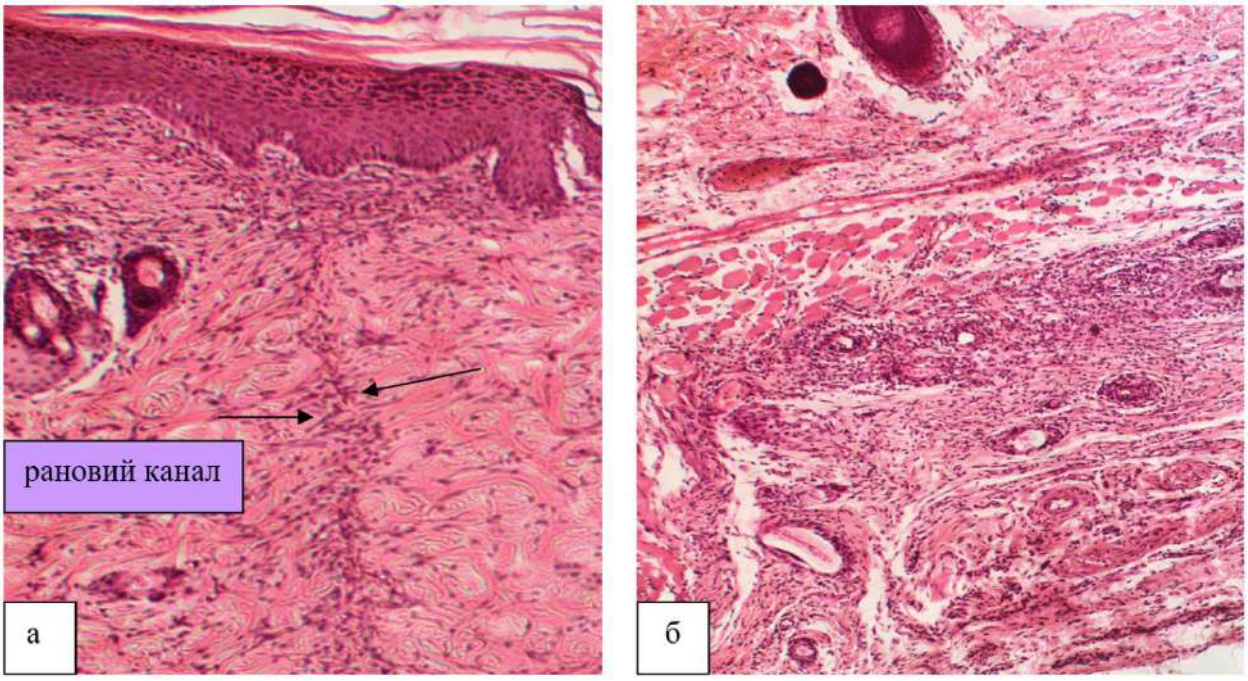

Рис. 5.4. Ушита лінійна різана рана шкіри щурів, яких лікували кремом «Дермаліпоін»: а – повне загоєння, колишній рановий канал має вигляд дуже вузької смуги (х200); б – залишкові ознаки запалення у підшкірній клітковині (х100). Гематоксилін-еозин.

При фарбуванні пікрофуксином за Ван-Гізон чітко видно відновлення нормальної жмутковості колагенових волокон дерми на місці колишньої рани, навіть у зоні смуги між клітинами видно волокна з виразною фуксинофілією (рис. 5.5).

У 16,7% щурів ранового каналу не видно, а на його місці виявлено повністю епітелізований широкий волокнистий рубець. Колагенові волокна потужно фуксинофільні, зібрані у орієнтовані жмутки. Відновлення придатків шкіри не відбувається (рис. 5.6).

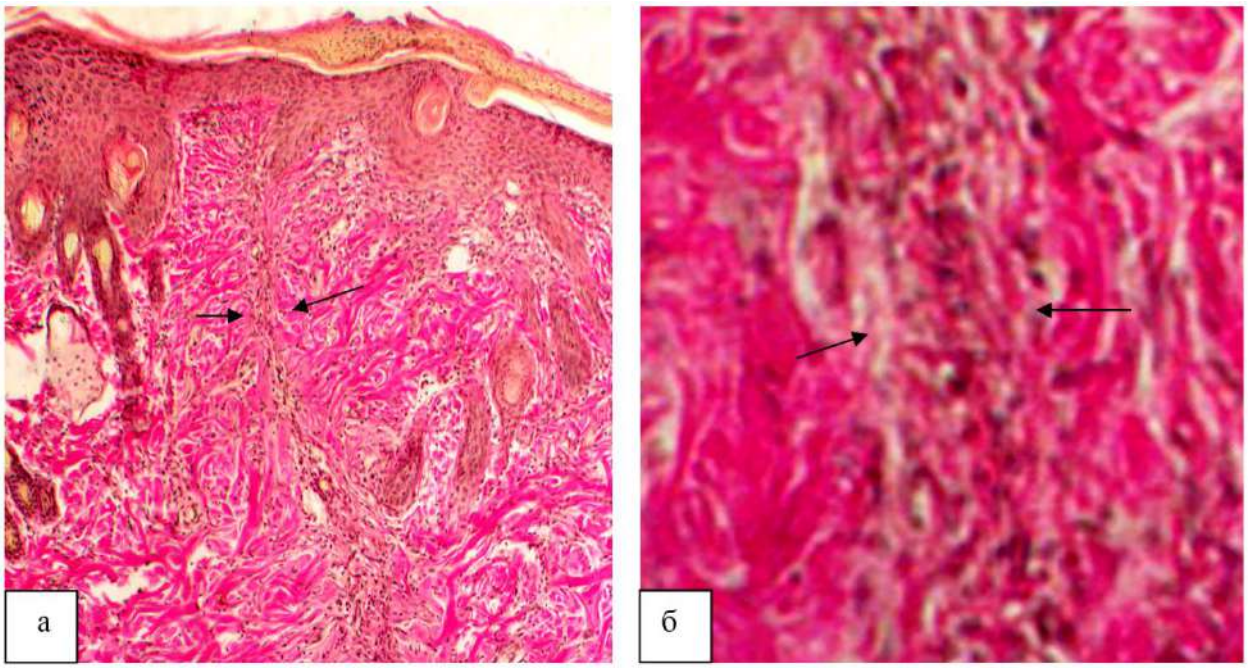

Рис. 5.5. Ушита лінійна різана рана шкіри щурів, яких лікували кремом «Дерматіпоін»: а – повне відновлення колагенового матриксу дерми навколо дуже вузької смуги на місці колишнього ранового каналу (х100); б – виразна фуксинофілія серед клітин смуги (х400). Пікрофуксин за Ван-Гізон.

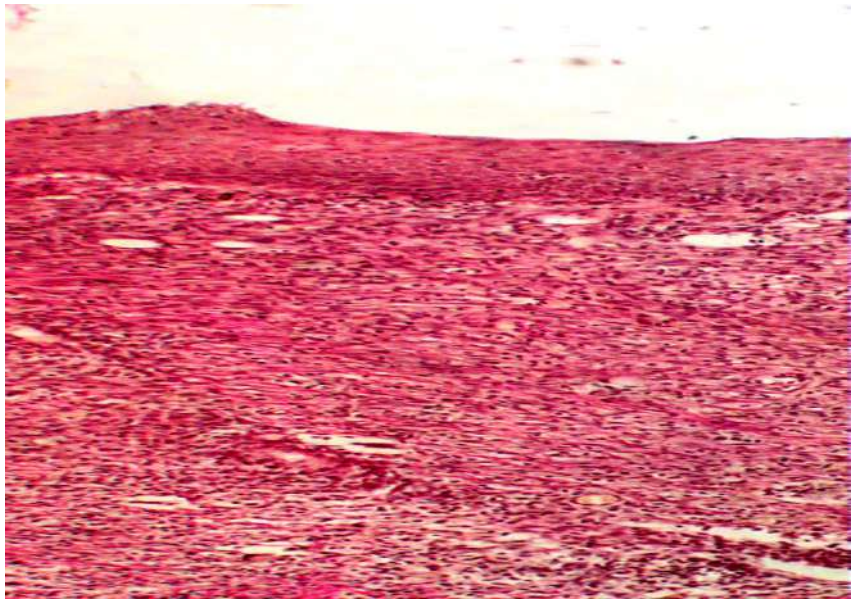

Рис. 5.6. Ушита лінійна різана рана шкіри щура, якого лікували кремом «Дерматіпоін». Волокнистий епітелізований рубець на місці колишньої рани. Пікрофуксин за Ван-Гізон. х100.

Після лікуванням бальзамом «Спасатель-форте» у 80% щурів ширина ранового каналу ще виразна, центральна частина не епітелізована. На поверхні є залишки клітинного детриту. Новоутворена тканина, що заповнює канал, добре васкуляризована, у поверхневих шарах ще багатоклітинна. В більш глибоких шарах простежена проліферація фібробластів, місцями з орієнтуванням у розташуванні, наявність тонких колагенових волокон. У м'язовій пластинці та підшкірній клітковині видні виразні ознаки продуктивного запалення (рис. 5.7). У решти 20% тварин під кіркою простежена повна епітелізація ранового каналу, ширина якого значно зменшена. Епідерміс потовщено, у ньому чітко видні характерні шари. У новоутвореній тканині, що заповнила рану, кровоносні судини практично редуковані, видно дифузне волокноутворення. Колагенові волокна тонкі, доволі потужно фуксинофільні, хоча і не зібрані у характерні для нормальної дерми жмутки. Відновлення придатків шкіри – волосяних фолікулів, сальних залоз не відбувається (рис. 5.8).

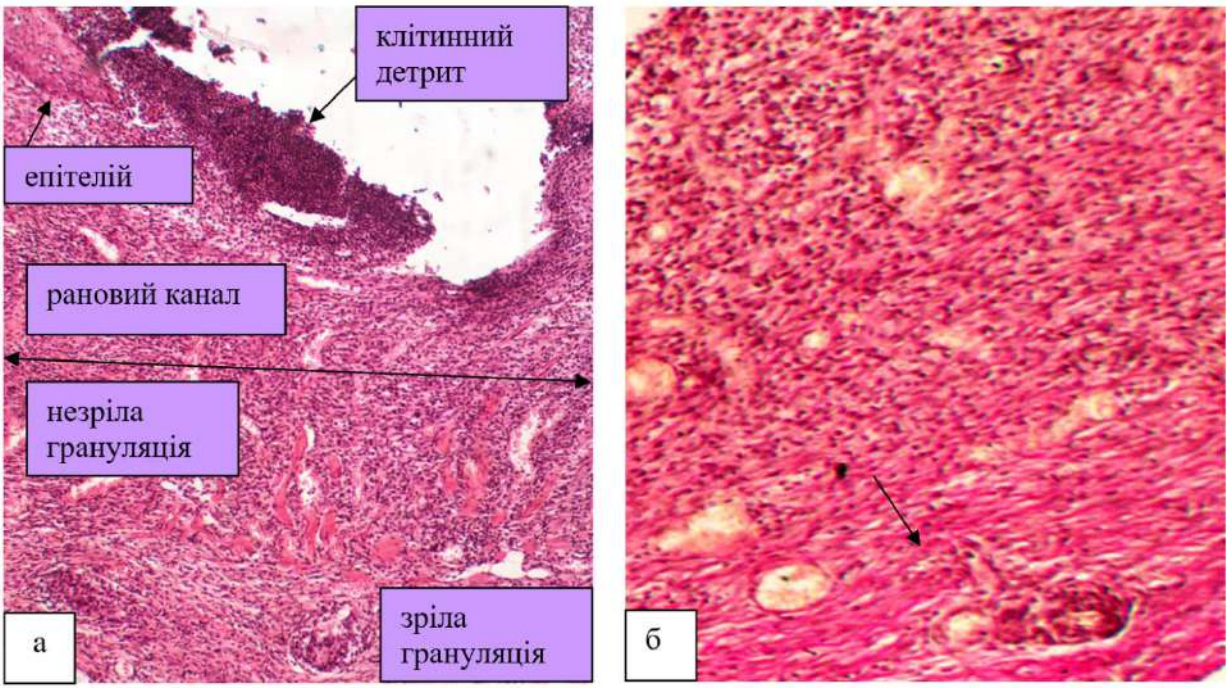

Рис. 5.7. Ушита лінійна різана рана шкіри щурів, яких лікували бальзамом «Спасатель-форте»: а – рановий канал широкий, епітелізація не повна, детрит на поверхні, васкуляризація та клітинна складова грануляцій виразна (гематоксилін-еозин); б – виразне волокноутворення у зоні дна (пікрофуксин за Ван-Гізон). х100.

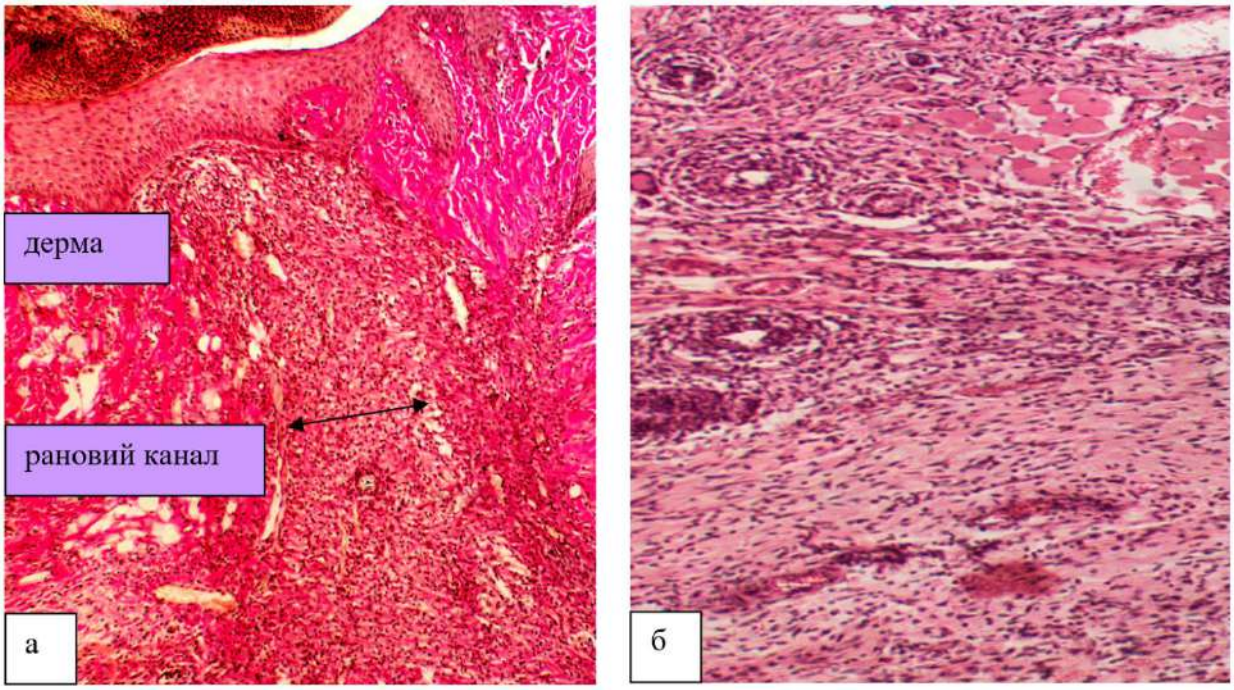

Рис. 5.8. Ушита лінійна різана рана шкіри щурів, яких лікували бальзамом «Спасатель-форте»: а – нормально фуксинофільні колагенові волокна новоствореної тканини (пікрофуксин за Ван-Гізон); б – волокниста тканина заміщує м'язову пластинку та підшкірну клітковину (гематоксилін-еозин). х100.

Поза зони рани в деяких місцях у частини щурів спостерігалися різні за протяжністю «ерозивні» ушкодження шкіри, які зачіпають лише епідерміс. Відновлення епітеліального пласта під сукровично-клітинним детритом не спостерігали. Крім того, іноді поблизу таких ділянок дуже виразним було акантозне розростання епідермісу (рис. 5.9). У підшкірній клітковині та м'язовій пластинці часто видні ознаки продуктивного запалення.

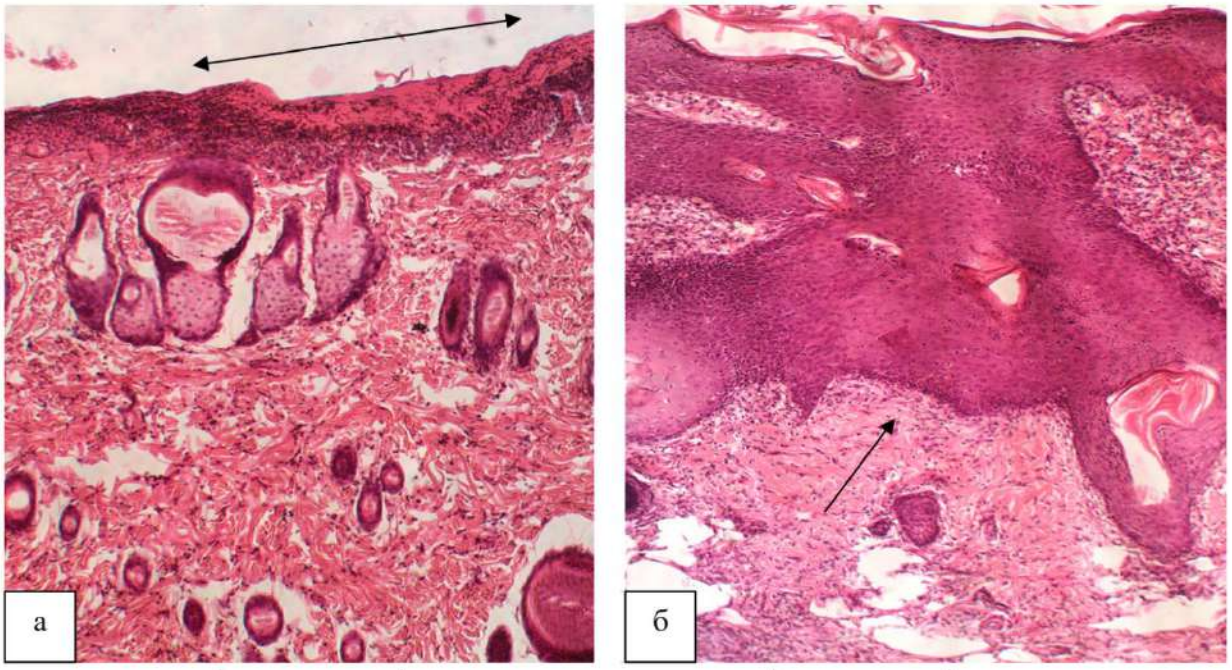

Рис. 5.9. Ділянка шкіри поза рани у щурів, яких лікували бальзамом «Спасатель-форте»: а – «ерозивне» пошкодження шкіри; б – виразне акантозне розростання епідермісу. Гематоксилін-еозин. х100.

Після застосування гелю «Тітріол» у 70% щурів рана ще не загоїлася, епітелізація поверхні не повна, рановий канал від помірного до широкого, грануляційна тканина в ньому недостатньо зріла. У м'язовій пластинці та підшкірній клітковині виразні ознаки продуктивного запалення (рис. 5.10).

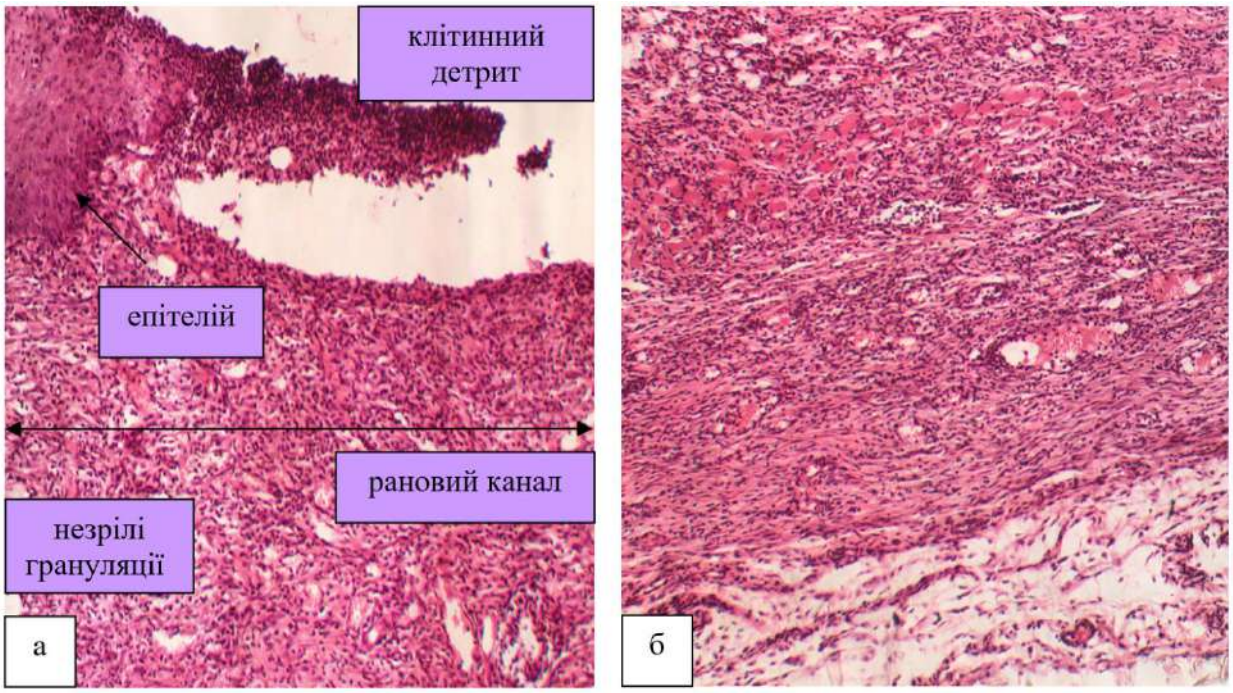

Рис. 5.10. Ушита лінійна різана рана шкіри щурів, яких лікували гелем «Тітріол»: а – рана не загоєна, під залишками кірки у широкому рановому каналі досить незрілого виду грануляційна тканина; б – запалення у м'язовій пластинці та підшкірній клітковині. Гематоксилін-еозин. х100.

Ще у 30% тварин відбулося повне загоєння рани, виразне зменшення ширини ранового каналу, перетворення грануляційної тканини у волокнисту з тією чи іншою повнотою відновлення (рис. 5.11).

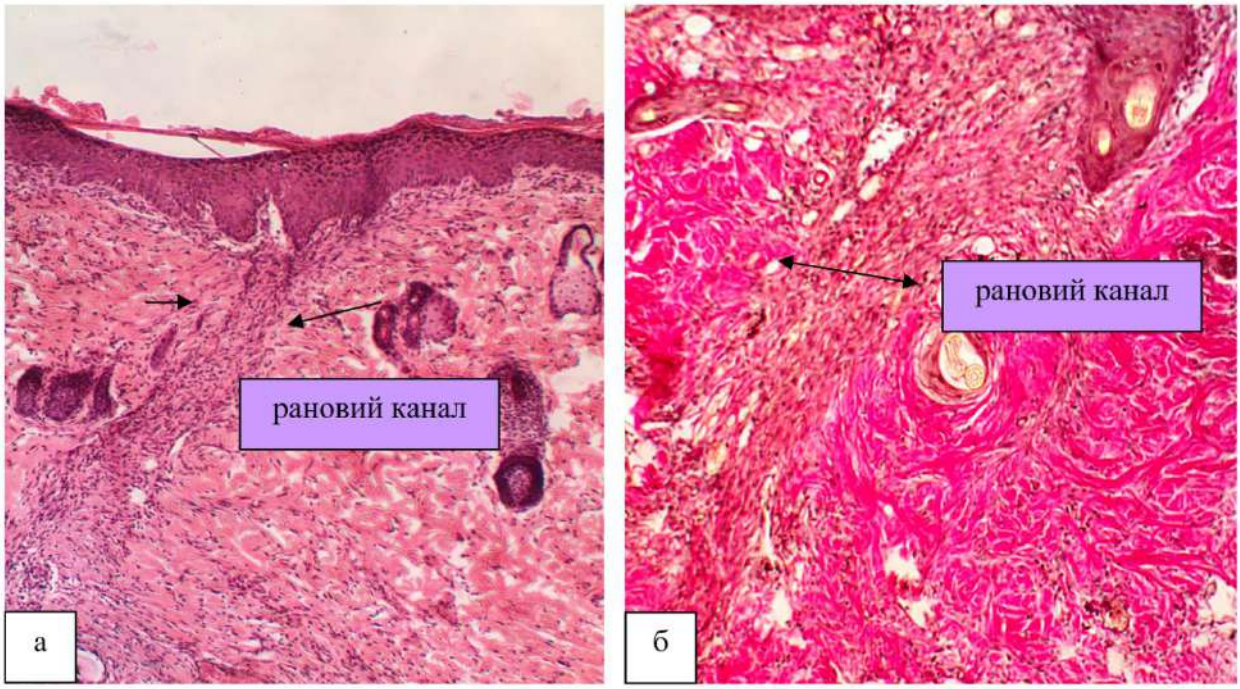

Рис. 5.11. Ушита лінійна різана рана шкіри щурів, яких лікували гелем «Тітріол»: а – виразне зменшення ширини ранового каналу (гематоксилін-еозин); б – волокнистий характер тканини в ньому (пікрофуксин за Ван-Гізон). х100.

Як видно з наведених мікроскопічних результатів, у щурів різних груп експерименту, навіть у межах однієї групи мікроскопічна картина ушитої різаної лінійної рани шкіри дещо різнилася. Тому, для більшій зручності порівняння згідно обраної шкали та вибраних параметрів проведена напівкількісна (бальна) оцінка стану ран. Результати подані у таблиці (5.2).

Таблиця 5.2

Напівкількісна оцінка стану ушитих лінійних різаних ран шкіри щурів після застосовували крему «Дермаліпоін», бали, медіана (Q25; Q75), n=10

Умови досліду	Показник		
	Ширина ранового каналу	Зрілість новоутвореної тканини у рані	Повнота відновлення шкіри на місці колишньої рани
Контрольна патологія	3,0 (2,0; 3,0)	2,0 (1,0; 3,0)	0,0 (0,0; 1,0)
Крем «Дермаліпоін»	0,0 (0,0; 0,0) */**/***	4,0 (3,0; 4,0) */**/***	3,0 (3,0; 3,0) */**/***
Бальзам «Спасатель-форте»	2,5 (2,0; 3,0)	2,0 (1,0; 3,0)	0,5 (0,0; 1,0)
Гель «Тітріол»	1,5 (1,0; 3,0)	2,5 (2,0; 3,0)	0,5 (0,0; 1,0)

Примітки:

1. * - відмінності статистично значущі відносно групи контрольної патології (метод Манна-Уітні, $p \leq 0,05$);

2. ** - відмінності статистично значущі відносно групи тварин, яких лікували бальзамом «Спасатель-форте» (метод Манна-Уітні, $p \leq 0,05$);

3. *** - відмінності статистично значущі відносно групи тварин, яких лікували гелем «Тітріол» (метод Манна-Уїтні, $p \leq 0,05$).

Після застосування крему «Дермаліпоін» всі показники вірогідно покращилися порівняно з контрольною патологією, що є морфологічним свідоцтвом значно більшої міцності тканини у зоні колишньої рани. Досліджуваний крем мав вірогідну перевагу за цими показниками і перед препаратами порівняння - бальзамом «Спасатель-форте» та гелем «Тітріол».

На моделі лінійних різаних ран у щурів крем «Дермаліпоін» виявляє виразну репаративну дію, що проявляється в прискоренні процесу загоєння ран в порівнянні з контрольною патологією та зменшенні виразності цитодеструктивних процесів.

5.2 Вивчення репаративних властивостей крему «Дермаліпоін» на моделі опікових ран у щурів

5.2.1 Результати гематологічних, планіметричних і морфологічних досліджень

Вивчення репаративної дії комбінованого крему продовжували на моделі термічної опікової травми у щурів [140].

Дослідження проводились на 40 білих нелінійних статевозрілих щурах масою 200–250 г. Тварин було поділено на 4 групи по 10 тварин у кожній: 1-ша група – контрольна патологія (тварини із природним загоєнням); 2-га – тварини, яких лікували кремом «Дермаліпоін»; 3-тя – тварини, яким наносили бальзам «Спасатель-форте» – препарат порівняння, що є аналогом за фармакологічною дією і показаннями до застосування; 4-та – тварини, яких лікували гелем «Тітріол» – препарат порівняння, що містить олію чайного дерева.

За добу до моделювання опіку на міжлопаточній ділянці спини тварин здійснювали депіляцію шкіри (4×4 $см^2$) шляхом вибривання безпечним лезом. Тваринам під кетаміновим (100 мг/кг) наркозом на виголену ділянку шкіри накладали нагріту до 200◦ С круглу металеву пластину на 10 сек, що відповідає опіку III А-Б - III Б ступеню клінічної класифікації опіків і характеризується ураженням всієї товщі шкіри з повною загибеллю волосяних фолікулів, потових і сальних залоз [140]. Для цього використовували прилад з установленою температурною шкалою та електропаяльником, на кінці якого кріпиться насадка з металевою пластиною. Лікування починали відразу після термічної дії і продовжували 1 раз на добу до повного загоєння. Мазі наносили тонким шаром на уражену поверхню. Ефективність лікування оцінювали на 3-тю, 5-ту, 7-му, 9-ту, 11-ту, 13-ту, 15-ту, 17-ту, 21-шу та 23-тю добу за допомогою планіметричних показників, що передбачали визначення: площі опіку (S, $мм^2$), періоду епітелізації (день відторгнення струпа, в середньому в групі), кількості тварин з ранами, що

зарубцювалися в різні терміни (%) та коефіцієнту швидкості загоєння ран (V, ум.од.). Також оцінювали репаративні процеси макро- і мікроскопічно.

На другу добу експерименту у тварин відзначалося утворення щільного струпа з чітко обмеженою зоною некроза. Рановий процес супроводжувався виразною запальною реакцією, спостерігається почервоніння та набряк оточуючих тканин. Розвиток виразної запальної реакції підтверджувався змінами з боку периферичної крові. Так, у групі тварин контрольної патології спостерігалося достовірне, порівняно з групою інтактного контролю зниження рівня гемоглобіну, кількості еритроцитів, скорочення часу згортання крові та підвищення загальної кількості лейкоцитів (табл.5.3).

Під впливом крему «Дермаліпоін» спостерігалося зростання рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів вже на 11-й день, та їх повна нормалізація наприкінці експерименту, перевершуючи показники препаратів порівняння.

У тварин дослідних груп також спостерігалося достовірне порівняно з контрольною патологією зниження кількості лейкоцитів на 13-у добу експерименту.

Таблиця 5.3

Вплив крему «Дермаліпоін» на динаміку деяких гематологічних показників на моделі опікових ран у щурів (X±Sx; n = 10)

Показники	Терміни дослідження	Контрольна патологія	Крем «Дермаліпоін»	Бальзам «Спасатель форте»	Гель «Тітріол»
1	2	3	4	5	6
Час згортання крові, сек	Вихідні дані	201,8 ± 5,6	199,8 ± 6,8	205,2 ± 5,0	203,0 ± 4,6
	5 доба	148,0 ± 8,2*	158,8 ± 3,5*	153,0 ± 5,6*/**	150,8 ± 6,9*
	13 доба	132,5 ± 7,5*	200,5 ± 7,4**	189,1 ± 7,6**	185,8 ± 4,6*/**

Продовження табл. 5.3

1	2	3	4	5	1
Гемоглобін, г/л	Вихідні дані	142,5 ± 7,2	143,7 ± 6,2	138,9 ± 3,8	141,7 ± 8,2
	5 доба	115,3 ± 6,1*	122,3 ± 5,8*/**	126,8 ± 5,3*/**	118,5 ± 6,8*
	13 доба	130,0 ± 5,6*	137,5 ± 4,5	130,5 ± 7,2	132,8 ± 7,5
Еритроцити, $\times 10^{12}$/л	Вихідні дані	5,3 ± 0,9	5,1 ± 0,3	5,4 ± 0,5	5,2 ± 0,8
	5 доба	3,9 ± 0,3*	4,6 ± 0,2*/**	4,3 ± 0,3*/**	4,1 ± 0,7*/**
	13 доба	4,6 ± 0,4	4,9 ± 0,5	4,7 ± 0,6	4,8 ± 0,6
Лейкоцити, $\times 10^{9}$/л	Вихідні дані	8,4 ± 0,3	8,5 ± 0,5	8,9 ± 0,6	8,1 ± 0,9
	5 доба	19,3 ± 1,0*	17,4 ± 0,6*	18,6 ± 0,8*	18,9 ± 0,7*
	13 доба	16,5 ± 1,2*	9,1 ± 0,9**	10,4 ± 1,0**	11,3 ± 0,6*/**

Примітки:

1. * - відхилення вірогідне по відношенню до вихідних даних, $p \leq 0,05$;

2. ** - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, $p \leq 0,05$.

Макроскопічно в зоні термічного пошкодження стегна виявлялися округлі або округло-овальні дефекти розмірами від 1,6×1,1 см до 1,6 см у діаметрі, переважно вкриті жовтувато-рожевою щільною кіркою (струпом), міцно пов'язаної з тканинами, що підлягають; в частині випадків струп через слабкий контакт з підлягаючими тканинами відторгається в процесі забору матеріалу для морфологічного дослідження і дно шкірних дефектів оголюється і представлене тканиною червоного або сірувато-червоного кольору (рис. 5.12). Навколо рани

відзначається зона гіперемії шириною 0,2-0,4 см. Дефекти, вкриті струпом, мають більші розміри, ніж дефекти з струпом, який відторгся.

Рис. 5.12. Термічна опікова травма. Зона пошкодження в групі контрольної патології, 15-а доба досліду: струп на поверхні рани відсутній

Мікроскопічно у всіх щурів зона термічного пошкодження переважно позбавлена епітеліальної вистилки і в більшій частині випадків (80%) вкрита нерівномірної товщини струпом. Струп представлений фрагментами некротизованих тканин, фібрином, численними лейкоцитами і макрофагами. Під струпом визначається шар фібриноїдного некрозу, нижче - грануляційна тканина, представлена численними судинами капілярного типу, кількість яких, як і клітинних елементів запального ряду, у напрямку до дна рани зменшується, а зміст колагенових волокон наростає з подальшим переходом в тонкий шар новоствореної рубцової тканини зі значним вмістом колагенових волокон і невеликим - еластичних; товщина шару останньої значно більше товщини шару грануляційної тканини (рис 5.13.).

У краях дефекту, що загоюється, виявляється вростання під струп і наповзання на новостворені сполучнотканинні волокна багатошарового плоского епітелію з явищами осередкової гіперплазії - потовщенням за рахунок збільшення кількості шарів до 6-8 і формуванням акантотичних тяжів (рис. 5.14, 5.15).

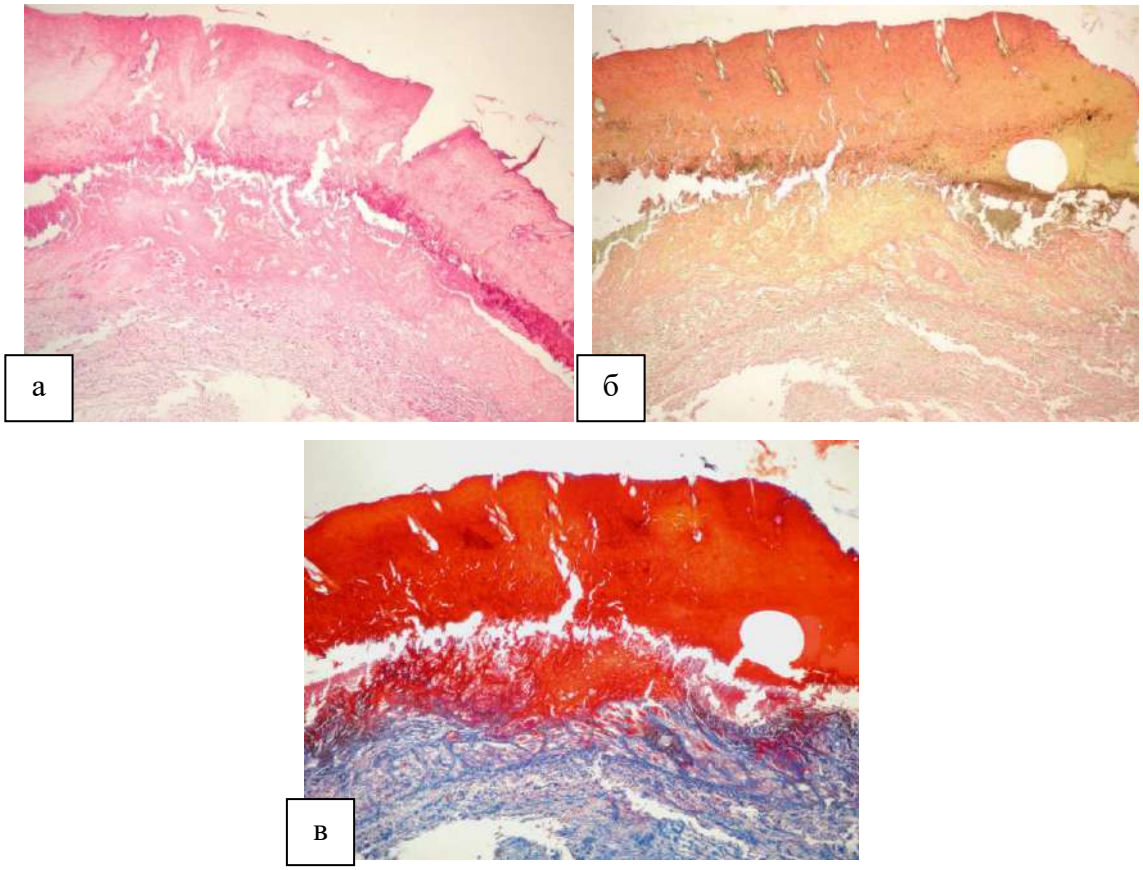

Рис. 5.13. Зона термічного пошкодження в групі контрольної патології, 15-а доба досліду: центральна зона термічного пошкодження покрита струпом, під яким розташовується шар фібриноїдного некрозу, нижче - грануляційна тканина, що переходить в тонкий шар новоствореної рубцевої тканини зі значним вмістом колагенових волокон; волосяні фолікули, потові і сальні залози в зоні дефекту не виявляються: а – забарвлення гематоксиліном і еозином, × 40; б – забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном (колагенові волокна червоного кольору), × 40; в – забарвлення за Маллорі (колагенові волокна темно-синього кольору, еластичні – червоного), ×40

Волосяні фолікули, потові і сальні залози в зоні дефекту, що загоюється, і вже загоєних (епідермізованих, колагенізованих) ділянках не виявляються (рис. 5.13, 5.14, 5.15).

У випадках зі струпом, який відторгся, в зоні дефекту виявляється незначна кількість гнійного ексудату на прилеглій більш зрілій грануляційній тканині (порівняно з випадками з міцним прикріпленням струпа) (рис. 5.14).

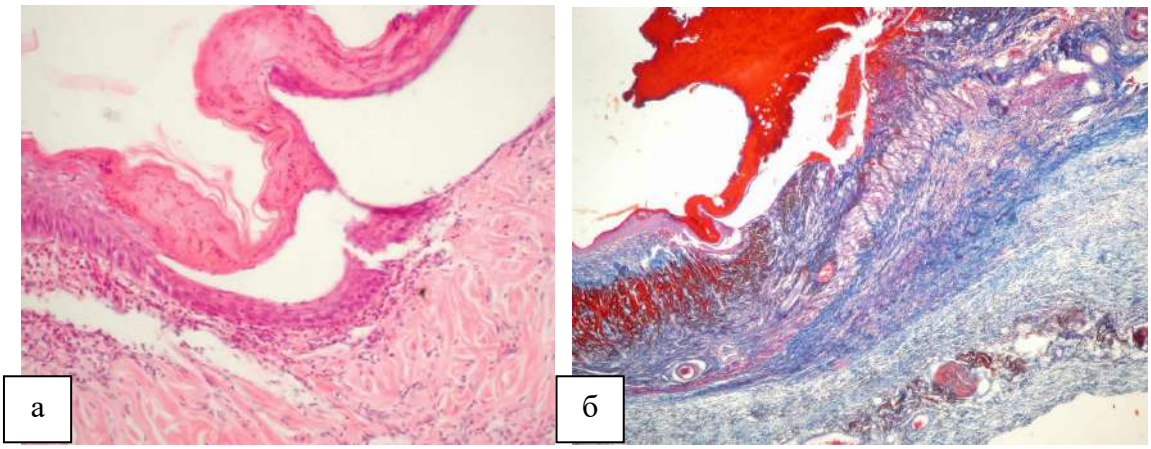

Рис. 5.14. Термічна опікова травма, група контрольна патологія: периферична зона термічного пошкодження – багатошаровий плоский епітелій вростає під струп і наповзає на новоутворені сполучнотканинні волокна; а – забарвлення гематоксиліном і еозином, ×100; б) забарвлення за Маллорі (колагенові волокна темно-синього кольору, еластичні – червоного), ×40

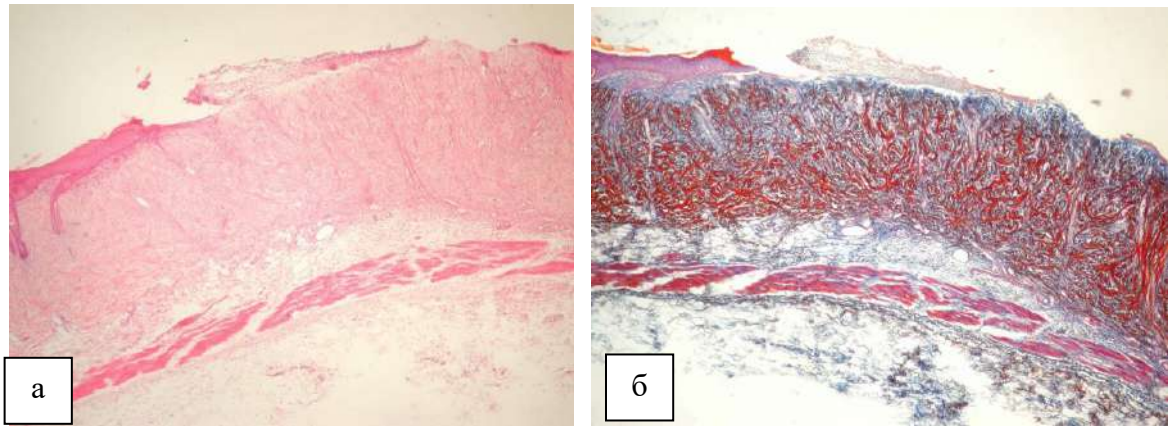

Рис. 5.15. Термічна опікова травма, група контрольна патологія: периферична зона термічного пошкодження – струп відсутній, поверхня рани вкрита невеликою кількістю гнійного ексудату, багатошаровий плоский епітелій, який наповзає на дефект, з явищами вогнищевої гіперплазії та акантозу; а – забарвлення гематоксиліном і еозином, ×40; б) забарвлення за Маллорі (колагенові волокна темно-синього кольору, еластичні – червоного), ×40

При застосуванні крему «Дерматоліпоін» загоєння відбувалося значно швидше. Так, при нанесенні крему на уражену ділянку відторгнення струпа почалося з 8-ї доби досліду та в середньому становить 14,2 дня, що на 37,7 %

менше, ніж у групі контрольної патології (p≤0,05), на 31% менше, ніж в групі тварин, яким наносили бальзам «Спасатель форте» (p≤0,05) та на 18% менше, ніж в групі щурів, яких лікували гелем «Тітріол» (p≤0,05) (табл. 5.3).

Таким чином, отримані результати свідчать, що досліджуваний крем сприяв скороченню терміну загоєння ран на 9,6 дня порівняно з контрольною патологією (p ≤ 0,05) (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Вплив досліджуваних топікальних засобів на строки епітелізації (відторгнення струпа) при опікових ураженнях шкіри (X±Sx; n = 10)

Умови досліду	Кількість днів
Контрольна патологія	23,8 ± 1,1
Крем «Дерматоліпоін»	14,2 ± 0,8*/**/^
Бальзам «Спасатель форте»	20,9 ± 2,1
Гель «Тітріол»	19,3 ± 1,3*

Примітки:

1. * - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, p≤0,05;

2. ** - відхилення вірогідне по відношенню до бальзаму «Спасатель-форте», p≤0,05;

3. ^ - відхилення вірогідне по відношенню до гелю «Тітріол», p≤0,05.

Дослідження планіметричних показників у щурів, яких лікували кремом «Дермаліпоін», бальзамом «Спасатель форте», гелем «Тітріол», а також у групі нелікованих тварин наведені в табл. 5.5.

Прискорення загоєння та достовірне зменшення площі опіків під впливом крему «Дерматоліпоін» спостерігали, починаючи із 3-го і по 13-й день, бальзаму «Спасатель форте» – із 7-го по 21-й день, гелю «Тітріол» - із 5-го по 17-й день щодо контрольної патології (p≤0,05) (табл. 5.5). Повне загоєння ран у групі тварин, яким наносили крем «Дермаліпоін», відбулося на 15-ту добу експерименту; бальзаму «Спасатель форте» – на 23-тю добу, а при застосуванні гелю «Тітріол» - на 21-шу добу досліду (табл. 5.5).

Макроскопічно в зоні термічного пошкодження стегна виявляються округлої або овальної форми дефекти розмірами від 1,6×0,7 см до 2,0 см в діаметрі, переважно вкриті жовтувато-рожевою щільною кіркою (струпом), міцно пов'язаним з підлягають тканинам (рис. 5.16); в частині випадків дно шкірних дефектів оголюється і представлене тканиною червоного або сірувато-червоного кольору. Навколо рани відзначається зона гіперемії шириною 0,2-0,4 см. Дефекти, вкриті струпом, мають більші розміри, ніж дефекти зі струпом, який відторгся.

Рис. 5.16. Зона термічного пошкодження, 15-а доба досліду. Група щурів, яких лікували бальзамом «Спасатель форте». Рана вкрита струпом

Мікроскопічно в групі щурів при застосуванні бальзаму «Спасатель форте» зона термічного пошкодження позбавлена епітеліальної вистилки і в більшій частині випадків (60%) вкрита струпом. Під струпом визначається тонкий шар фібриноїдного некрозу, нижче - досить зріла грануляційна тканина, також у вигляді тонкого шару, під яким розташовується шар колагенових волокон, що перевершує по товщині вищерозташований, з ніжною сіткою з еластичних волокон (рис. 5.17). У краях дефекту, що загоюється, виявляється вростання під струп і наповзання на новостворені сполучнотканинні волокна епідермісу з явищами осередкової гіперплазії і акантоза.

Таблиця 5.5

Дослідження ранозагоювальної дії крему «Дермаліпоін» на моделі опікових ран у щурів (X±Sx; n = 10)

Доба	Контрольна патологія			Крем «Дермаліпоін»			Бальзам «Спасатель форте»			Гель «Тітріол»		
	S, см2	V, ум.од	%	S, см2	V, ум.од	%	S, см2	V, ум.од	%	S, см2	V, ум.од	%
1	5,81±0,14	-	-	5,72±0,12		-	5,68±0,14		-	5,85±0,24		-
3	5,14±0,11	0,13	-	4,63±0,02*/**/^	0,23	-	5,01±0,12	0,13	-	5,04±0,08	0,16	-
5	4,75±0,12	0,22	-	3,71±0,09*/^	0,54	-	4,23±0,23	0,34	-	4,05±0,02*	0,44	-
7	4,16±0,09	0,39	-	3,20±0,07*/**/^	0,78	-	3,84±0,02*	0,47	-	3,91±0,06*	0,49	-
9	3,65±0,08	0,59	-	2,15±0,04*/**	1,72	-	3,47±0,03*	0,63	-	2,35±0,13*	1,48	-
11	3,14±0,11	0,85	-	0,91±0,13*/**	5,28	-	2,35±0,05*	1,41		1,10±0,12*	4,31	-
13	2,53±0,13	1,29	-	0,06±0,02*/**/^	94,3	90	1,63±0,11*	2,48	-	0,53±0,11*	10,03	-
15	1,90±0,07	2,05	-	0,00±0,00	-	100	0,92±0,06	5,17	-	0,24±0,04*	23,38	-
17	1,15±0,06	4,05	-	-	-	-	0,15±0,04*	36,86	-	0,09±0,03*	64,00	70
21	0,85±0,03	5,83	-	-	-	-	0,09±0,12*	62,11	80	0,00±0,00	-	100
23	0,23±0,04	24,26	80	-	-	-	0,00±0,00	-	100	-	-	

Примітки:

1. * - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, p≤0,05;
2. ** - відхилення вірогідне по відношенню до бальзаму «Спасатель-форте», p≤0,05;
3. ^ - відхилення вірогідне по відношенню до гелю «Тітріол», p≤0,05.

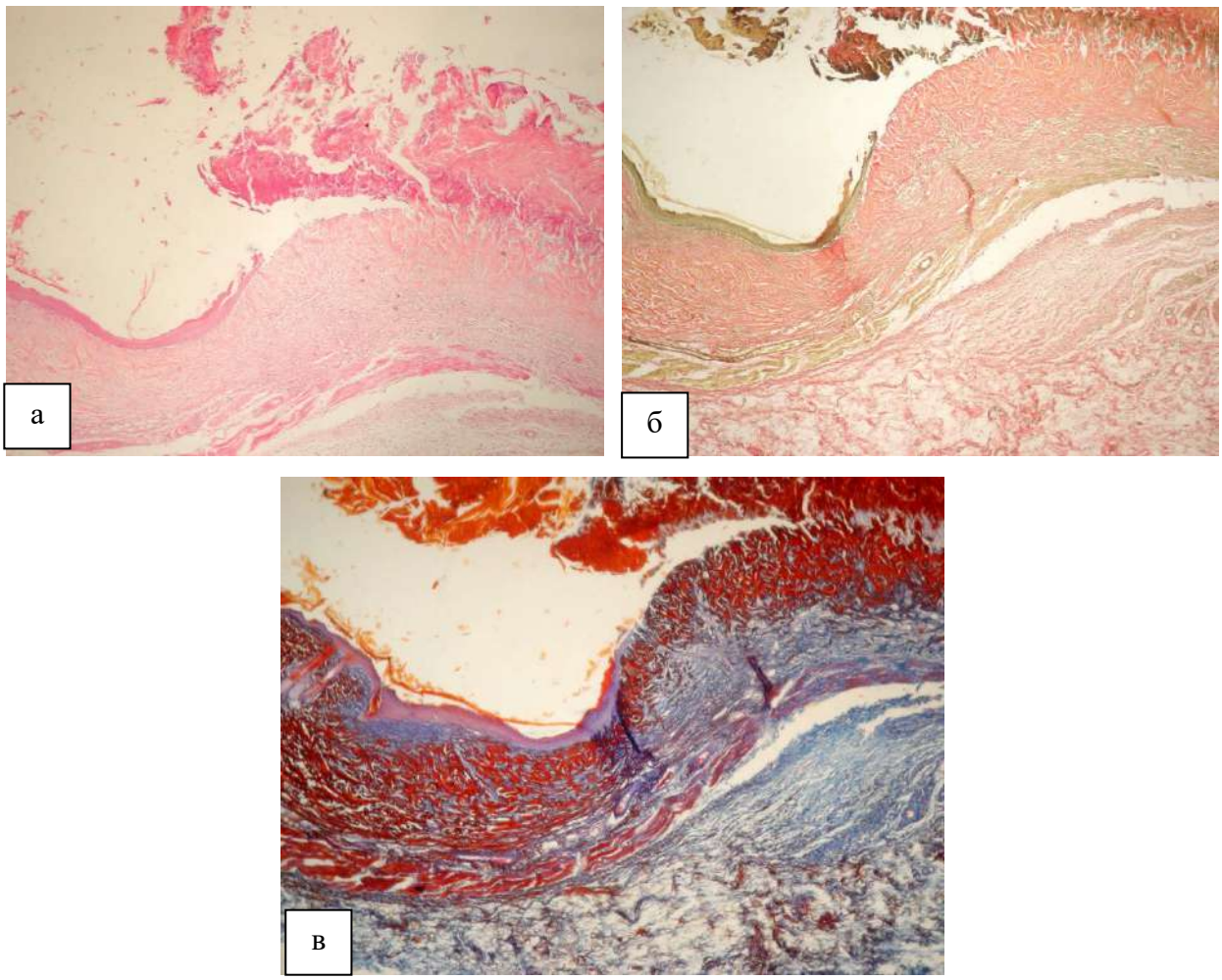

Рис. 5.17. Група щурів, яких лікували бальзамом «Спасатель форте»: зона термічного пошкодження покрита струпом, під яким розташовується тонкий шар фібриноїдного некрозу, нижче – тонкий пласт грануляційної тканини і шар колагенових волокон з ніжною сіткою з еластичних волокон; волосяні фолікули, потові і сальні залози не виявляються; а – забарвлення гематоксиліном і еозином, ×40; б – забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном (колагенові волокна червоного кольору), ×40; в – забарвлення за Маллорі (колагенові волокна темно-синього кольору, еластичні - червоного), ×40

У випадках, коли струп відторгався, в зоні дефекту виявлялася незначна кількість гнійного ексудату на прилеглій більш зрілої грануляційної тканини в порівнянні з випадками з міцним прикріпленням струпа (рис. 5.18).

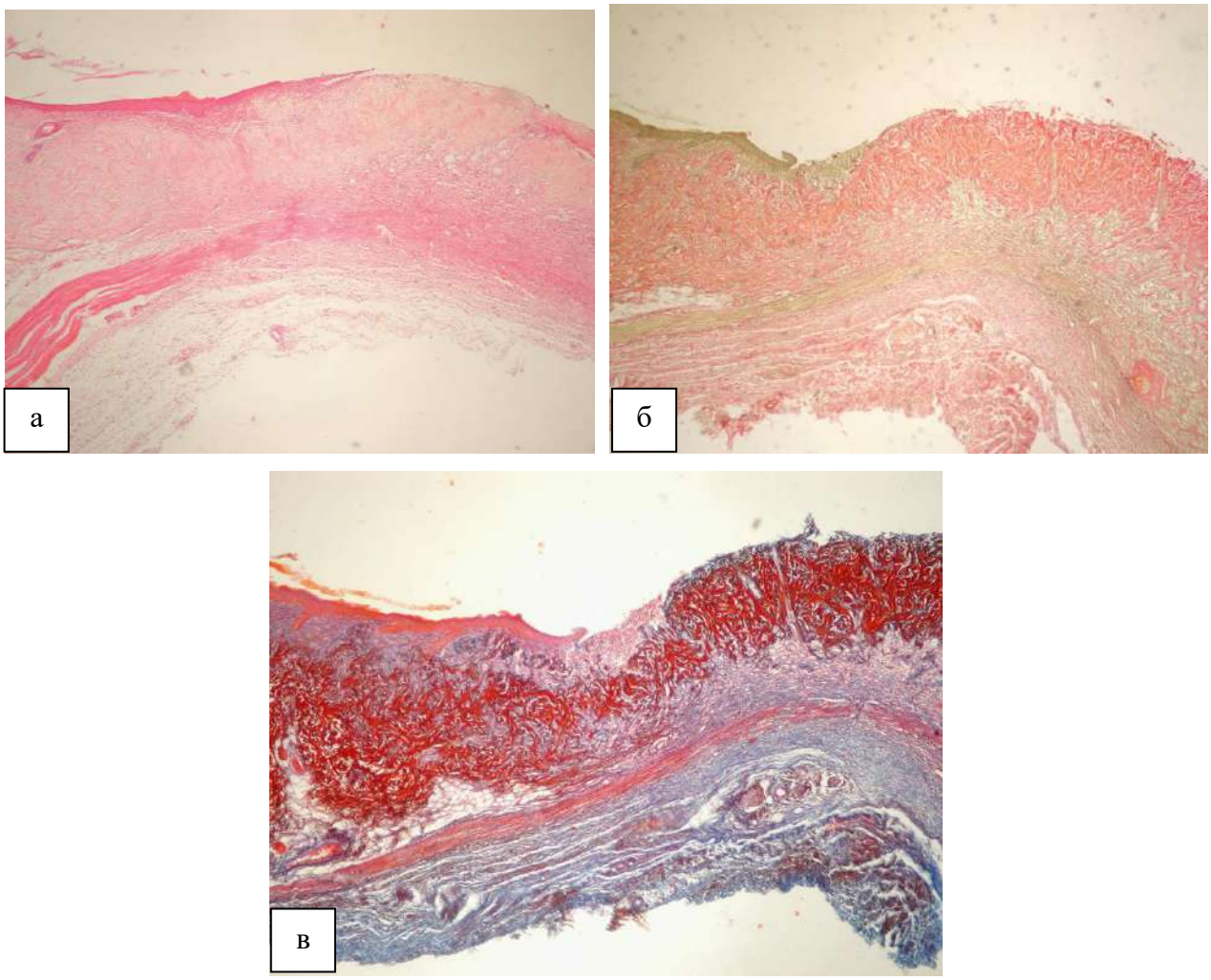

Рис. 5.18. Група щурів, яких лікували бальзамом «Спасатель форте»: в зоні термічного пошкодження струп відсутній, дно дефекту представлено грануляційною і новоствореною рубцевої тканиною, багатошаровий плоский епітелій, наповзає на дефект, з явищами осередкової гіперплазії і акантоза; волосяні фолікули, потові і сальні залози не виявляються: а – забарвлення гематоксиліном і еозином, ×40; б – забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, ×40; в – забарвлення за Маллорі, ×40

У групі, щурів яких лікували гелем «Тітріол», макроскопічно в зоні термічного пошкодження стегна виявляються дефекти округлої, овальної або округло-овальної форми розмірами від 1,8×1,1 см до 2,0 см в діаметрі, переважно вкриті жовтувато-рожевою щільною кіркою (струпом), яка міцно зв'язана з підлеглими тканинами (рис. 5.19, а); в частці випадків дно шкірних дефектів

оголюється і представлене тканиною червоного або сірувато-червоного кольору (рис. 5.19, б). Навколо рани – зона гіперемії шириною 0,2–0,4 см. Дефекти, які вкриті струпом, мають більші розміри за дефекти зв струпом, який відторгся.

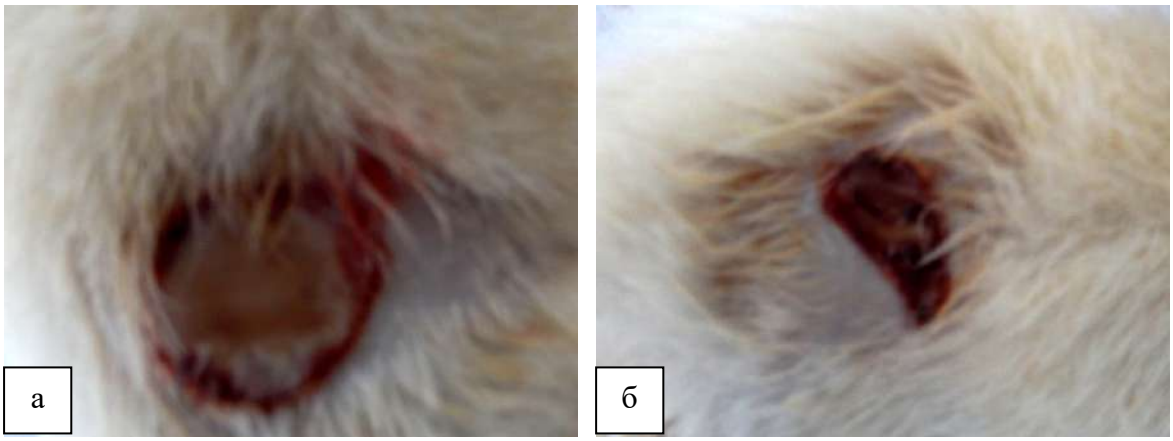

Рис. 5.19. Група щурів, яких лікували гелем «Тітріол». Зона термічного пошкодження, 15-а доба досліду: а – поверхня рани вкрита струпом; б – струп на поверхні рани відсутній

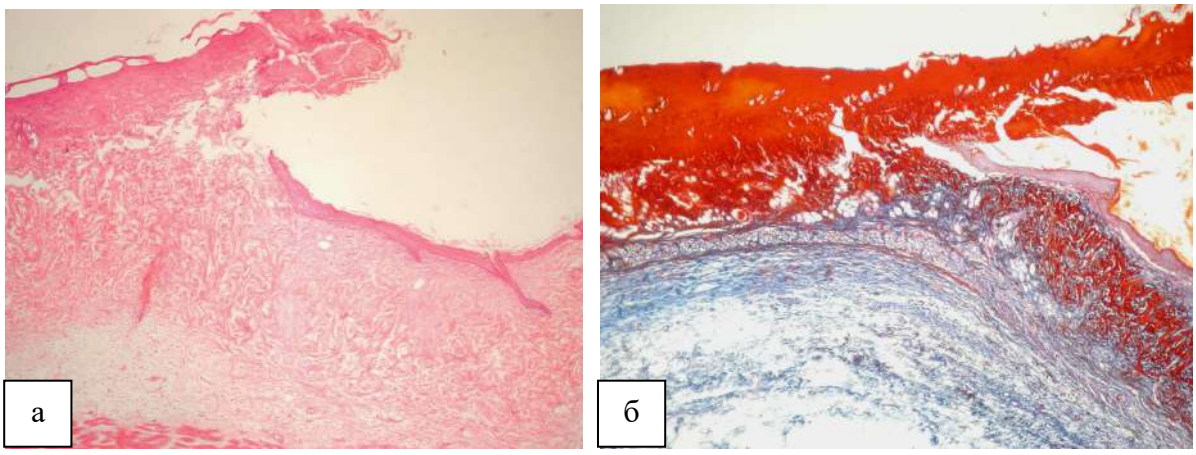

Рис. 5.20. Група щурів, яких лікували гелем «Тітріол»: зона термічного пошкодження вкрита струпом, під яким розташовується шар фібриноїдного некрозу, нижче - тонкий пласт грануляційної тканини і шар колагенових волокон з ніжною сіткою з еластичних волокон; багатошаровий плоский епітелій, що наповзає на дефект, з явищами осередкової гіперплазії і акантоза; волосяні фолікули, потові і сальні залози не виявляються: а – забарвлення гематоксиліном і еозином, ×40; б – забарвлення за Маллорі (колагенові волокна темно-синього кольору, еластичні - червоного), ×40

Мікроскопічно зона термічного пошкодження позбавлена епітеліальної вистилки і в більшій частині випадків вкрита струпом. Також під струпом визначається шар фібриноїдного некрозу, нижче - тонкий зрілої грануляційної тканини, нижче якого розташовується шар колагенових волокон, більш тонкий в порівнянні з вищерозташованим шаром і з ніжною сіткою з еластичних волокон (рис. 5.20).

У випадках, коли струп відторгався, і в випадках із наявністю струпа, але відторгненням його по краях дефекту, що загоюється, на поверхні останнього або між струпом і нижчерозташованими тканинами виявлявся гнійний ексудат на прилеглій більш зрілій грануляційній тканині (рис. 5.21).

При застосуванні крему «Дермаліпоін» макроскопічно в зоні термічного пошкодження стегна виявляються овальної або округло-овальної форми дефекти розмірами від 1,5×0,5 см до 2,8×1,7 см, у переважній частині випадків вкриті жовтувато-рожевим щільним струпом, міцно пов'язаним із тканинами, що підлягають (рис. 5.22, а), у частині випадків дно шкірних дефектів при вирізанні фрагмента тканини для мікроскопічного дослідження через слабкий контакт струпа з підлягаючими тканинами та легкого його відторгнення оголюється і представлене тканиною червоного або сірувато-червоного кольору (рис. 5.22, б).

Навколо рани відзначається зона гіперемії завширшки 0,2-0,4 см. Дефекти, що вкриті струпом, мають великі розміри порівняно з дефектами зі струпом, що відторгся.

Мікроскопічно зона термічного пошкодження вкрита струпом. Під струпом визначається шар грануляційної тканини середнього ступеня зрілості, що переходить у шар колагенових волокон, приблизно рівний по товщині вищерозташованим і чітко визначеною сіткою з еластичних волокон (рис. 5.23).

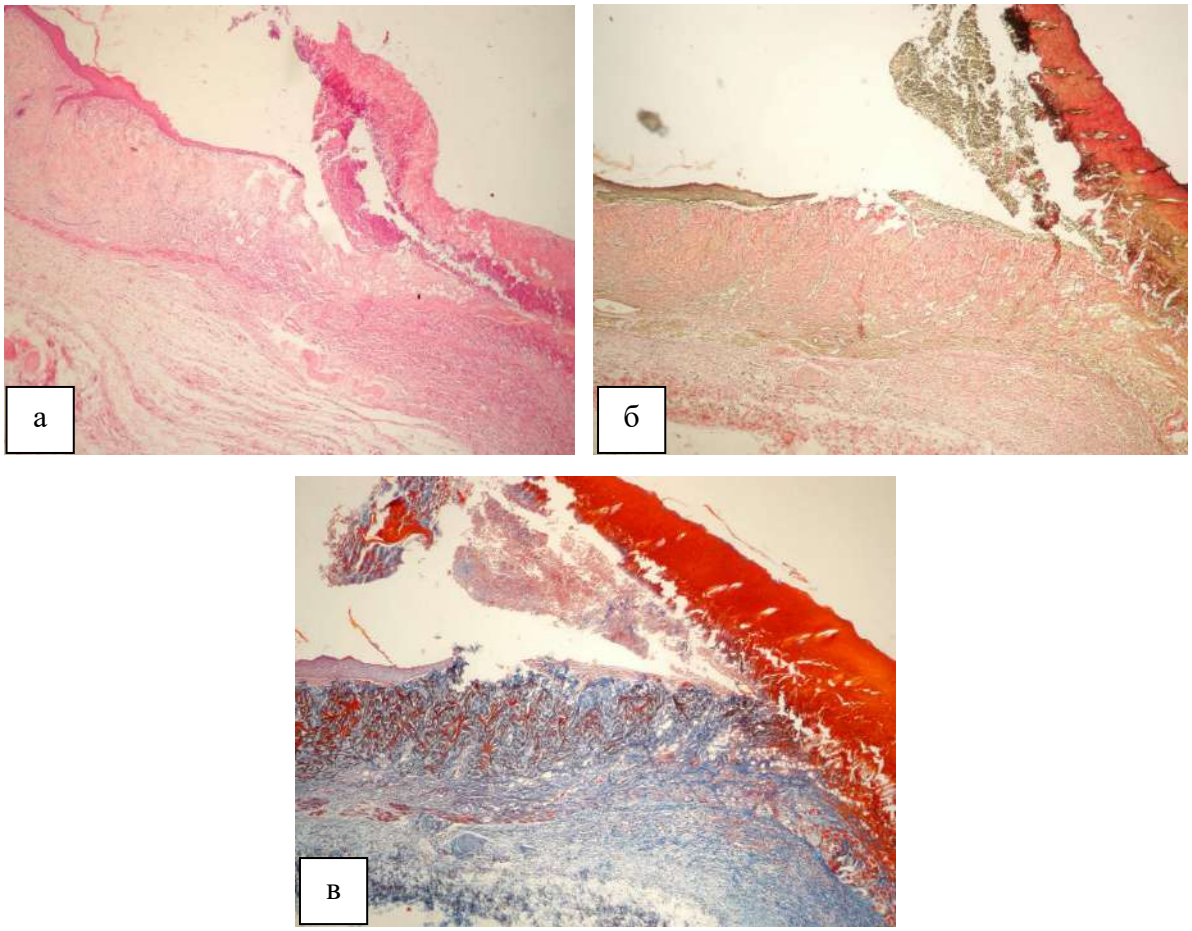

Рис. 5.21. Група щурів, яких лікували гелем «Тітріол»: зона термічного пошкодження вкрита струпом з відторгненням його в краях дефекту і наявністю гнійного ексудату між струпом і поверхнею дефекту, багатошаровий плоский епітелій, який наповзає на дефект, з явищами осередкової гіперплазії і акантоза: а – забарвлення гематоксиліном і еозином, ×40; б – забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, ×40; в – забарвлення за Маллорі, ×40.

Вивчення планіметричного аналізу ранового процесу, викликаного термічним опіком, показало, що в усіх групах тварин, яких лікували, спостерігали прискорення загоєння ран, але при застосуванні бальзаму «Спасатель-форте» та гелю «Тітріол» було їх нагноєння. При місцевому застосуванні крему «Дермаліпоін» спостерігали прискорення епітелізації та відторгнення струпа, відсутність нагноєння ран. Результати експерименту показали, що репаративні властивості досліджуваного крему (за показником коефіцієнту швидкості загоєння та площею рани) були вищими, ніж у препаратів порівняння.

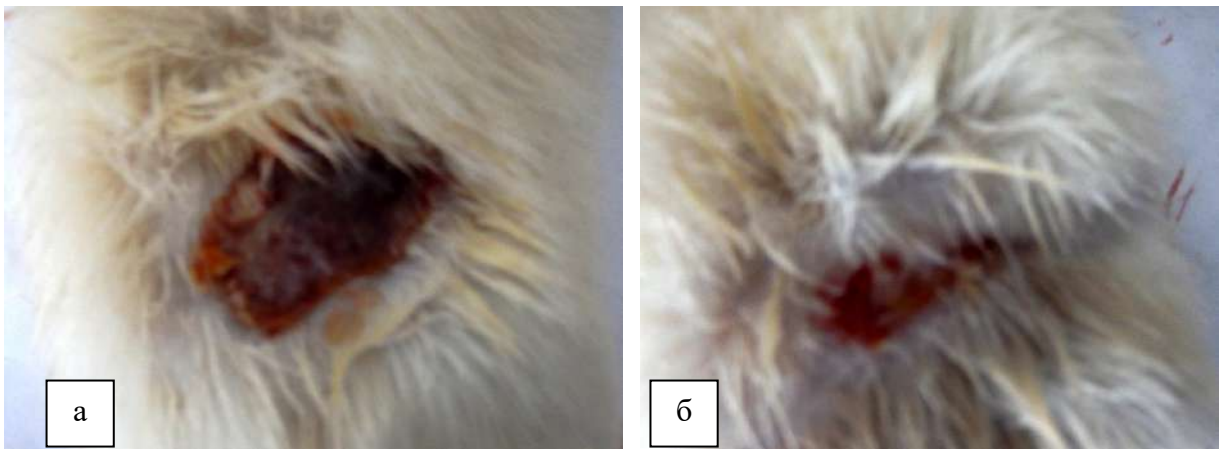

Рис. 5.22. Група щурів, яких лікували кремом «Дермаліпоін». Зона термічного ушкодження, 15-а доба досліду: а – поверхня рани покрита струпом; б – струп на поверхні рани відсутній.

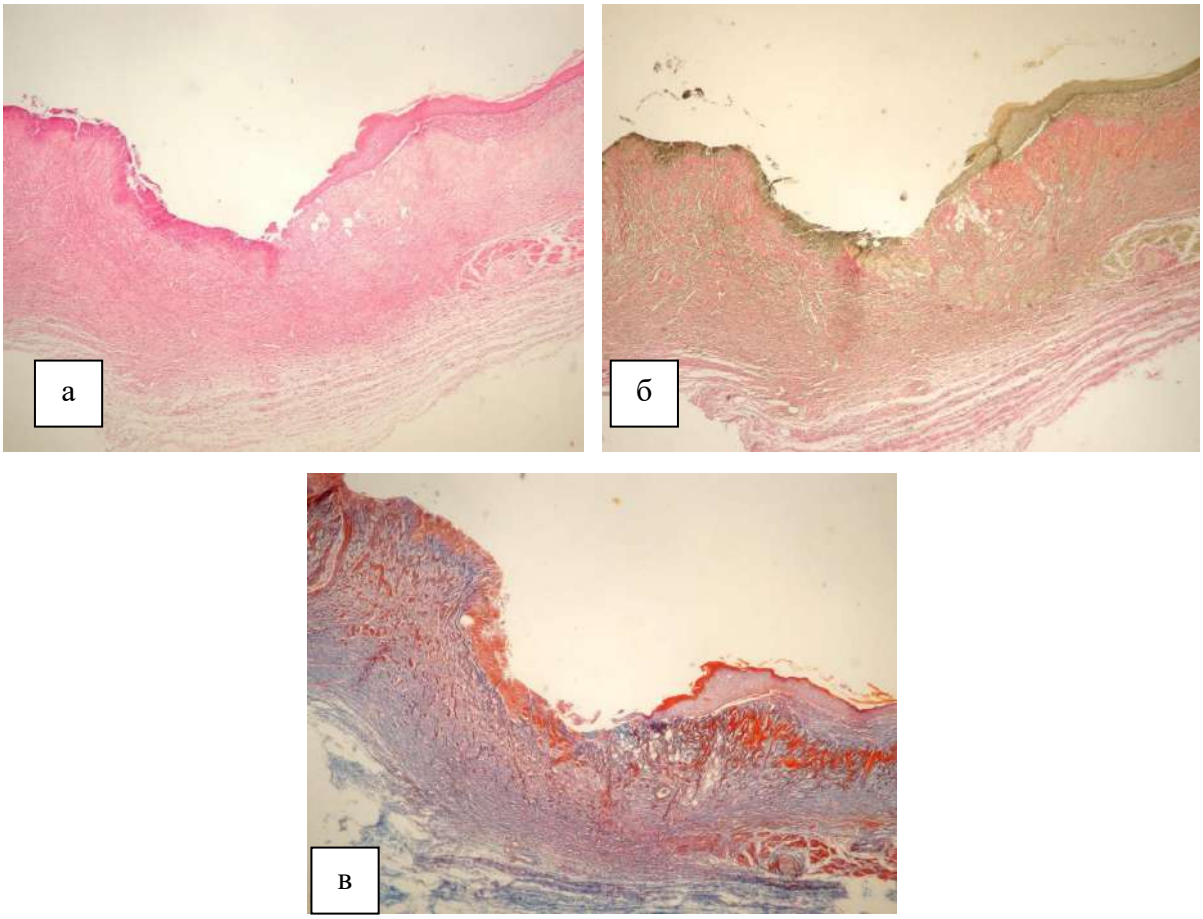

Рис. 5.23. Група щурів, яких лікували кремом «Дермаліпоін»: зона термічного пошкодження вкрита струпом, нижче - пласт грануляційної тканини і шар колагенових волокон з чітко визначеною сіткою з еластичних волокон: а – забарвлення гематоксиліном і еозином, ×40; б – забарвлення пікрофуксином за Ван Гізоном, (колагенові волокна червоного кольору), ×40; в – забарвлення за Маллорі, (колагенові волокна темно-синього кольору, еластичні - червоного), ×40

На моделі термічного опіку у щурів встановлено, що при застосуванні крему «Дермаліпоін» період епітелізації зменшився на 9,6 дня порівняно із контрольною патологією ($p \leq 0,05$). У середньому ступінь загоєння рани при нанесенні досліджуваного крему був на 37,7 %, бальзаму «Спасатель форте» – на 31%, гелю «Тітріол» – на 18 % вищим, порівняно з нелікованим контролем.

Таким чином, крем «Дермаліпоін» виявляє виразну репаративну дію, що проявляється в прискоренні процесу загоєння опіків у порівнянні з контрольною патологією та зменшенні виразності цитодеструктивних процесів.

5.2.2 Дослідження впливу крему «Дермаліпоін» на білково-синтетичну активність клітин

На 15 добу після моделювання термічного опіку для визначення рівня білково-синтетичної активності клітин (епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння термічного пошкодження) у тварин усіх експериментальних груп проводили оцінку вмісту рибонуклеопротеїдів (РНП) в цитоплазмі і дезоксирибонуклеопротеїдів (ДНП) в ядрах клітин, вимірюючи методом цитофотометрії потік випромінювання (в зеленій частині спектра), що падає на об'єкт (предметне скло) і пройшов через об'єкт (тканина), на зрізах, оброблених гістохімічними методами Браше (контролем був розчин кристалічної рибонуклеази) і Фельгена-Россенбека (контролем служила реакція гідролізу з HCl) відповідно з подальшим обчисленням оптичної щільності як десятковий логарифм [14, 38].

РНП в епітеліоцитах багатошарового плоского епітелію зони епідермізації підраховували у всіх шарах (базальний + парабазальний (шипуватий), середній (проміжний), (зернистий+блискучий), поверхневий (роговий) і сумарне значення), ДНП - в епітеліоцитах базального і парабазальних шарів в комплексі [14].

Отримані експериментальні дані свідчать, що у всіх дослідних групах спостерігалася однотипна морфологічна картина загоєння виразкових дефектів за

типом неповної репаративної регенерації з формуванням сполучної тканини, яка на 15 добу відповідала класифікації фаз ранового процесу за М.І. Кузіним [72] - переходу II фази загоєння ран (фаза регенерації) в III (фаза утворення і реорганізації рубця та епітелізація).

За даними літератури відомо, що механізм дії ранозагоюючих препаратів полягає в їхньому інтегральному ефекті на загоєння ранових пошкоджень (імуностимуляція, активація мітозів, синтезу нуклеїнових кислот і елементів сполучної тканини, гальмування процесів перекисного окиснення ліпідів мембранних структур та інших прозапальних факторів) [25]. Рівень білково-синтетичної активності, визначений шляхом вимірювання оптичної щільності РНП в цитоплазмі і ДНП в ядрах епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння термічного пошкодження, наведені в зведених таблицях 5.6 і 5.7.

Крем «Дермаліпоін» виявив більш активний вплив на репаративні процеси порівняно з ПП, про що свідчило вірогідне збільшення рибонуклеопротеїдів в цитоплазмі епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації (в 1,7 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та 1,3 рази відносно гелю «Тітріол») і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння (в 2,7 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та 1,9 рази відносно гелю «Тітріол») та ядерних нуклеопротеїдів епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації (в 1,6 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та 1,4 рази відносно гелю «Тітріол») і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння (в 1,2 рази відносно бальзаму «Спасатель форте» та гелю «Тітріол»).

Репаративну активність крему, насамперед, забезпечила наявність тіолових (сульфгідрильних) груп в молекулі ліпоєвої кислоти, що надає їй властивості антиоксиданту. Антиоксидантний ефект ліпоєвої кислоти сприяє більш ефективній репарації молекул ДНК після пошкодження в результаті «окисного стресу» [].

Таблиця 5.6

Оптична щільність РНП в цитоплазмі епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння, ум. од. (n=8)

Умови досліду	Слої епітелію				Клітини фібробластичного ряду
	базальний+ парабазальний	середній	поверхневий	сумарне значення	
Інтактний контроль	0,193± 0,015	0,114± 0,019	0,113± 0,015	0,106± 0,010	0,045±0,012
Контрольна патологія	0,030± 0,020*	0,025± 0,009*	0,035± 0,010*	0,023± 0,009*	0,003± 0,016*
Бальзам «Спасатель форте»	0,091± 0,016 */**	0,070± 0,023*/**	0,089± 0,030 */**	0,083± 0,014 */**	0,037± 0,009*/**
Гель «Тітріол»	0,119± 0,035 */**	0,082± 0,016*/**	0,099± 0,016 */**	0,109± 0,016*/**	0,053± 0,007*/**
Крем «Дермаліпоін»	0,172± 0,015**/^/#	0,142± 0,014**/^/#	0,133± 0,016**/^/#	0,142± 0,018**/^/#	0,099± 0,012**/^/#

Примітки:

1.* - достовірно відносно інтактного контроля ($p \leq 0,05$);

2.** - достовірно відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$);

3.^ - достовірно відносно бальзаму «Спасатель форте» ($p \leq 0,05$);

4.# - достовірно відносно гелю «Тітріол» ($p \leq 0,05$)

Що стосується клітин фібробластичного ряду, то сумарно найвищу білково-синтетичну активність вони мали також в групі яких лікували кремом «Дермаліпоін», що підтверджується і морфологічною картиною загоєння дефекту в даній групі.

Таблиця 5.7

Оптична щільність ДНП в ядрах епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння, ум. од. (n=8)

Умови досліду	Базальний+парабазальний слої епітелію	Клітини фібробластичного ряду
Інтактний контроль	0,025 ±0,005	0,045±0,006
Контрольна патологія	0,001±0,003*	0,019±0,002*
Бальзам «Спасатель форте»	0,017±0,002*/**	0,034±0,003*/**
Гель «Тітріол»	0,019±0,001*/**	0,033±0,002*/**
Крем «Дермаліпоін»	0,027±0,001**/^/#	0,041±0,001**/^/#

Примітки:

1.* - достовірно відносно інтактного контроля ($p \leq 0,05$);

2.** - достовірно відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$);

3.^ - достовірно відносно бальзаму «Спасатель форте» ($p \leq 0,05$);

4.# - достовірно відносно гелю «Тітріол» ($p \leq 0,05$)

5.3 Вивчення репаративної активності крему «Дермаліпоін» на моделі видавлених трафаретних ран у щурів

Досліди було проведено на 32 нелінійних статевозрілих білих щурах-самцях масою 200-220 г. Тваринам під барбаміловим наркозом на попередньо депільовану і оброблену спиртовим розчином йоду 5 % ділянку шкіри спини білатерально до хребта наносили рану за допомогою металевого скарифікатора-пробійника діаметром 0,8 см [43]. Досліджуваний крем та препарат порівняння – бальзам «Спасатель форте» наносили в дозі 0,01 мл/см на поверхню рани через добу після нанесення ран.

Висновок про виразність репаративної дії досліджуваних препаратів складали за динамікою змін площі поверхні рани. У дослідах реєстрували відносну частку тварин з ранами, що зарубцювалися (%).

Результати проведених експериментальних досліджень наведені у табл. 5.8-5.10.

На другу добу експерименту у всіх піддослідних тварин утворювалися сухі рани. Запальна реакція не була виразною: спостерігається незначна набряклість та почервоніння країв рани. Експериментальні дані (табл. 5.9) показують зростання активності АлАТ та АсАТ (маркерів цитолізу) у сироватці крові дослідних тварин на п'яту добу експерименту у тварин усіх дослідних груп.

Таблиця 5.8

Вивчення репаративної дії крему «Дермаліпоін»

на моделі трафаретних ран у щурів (n = 8)

Умови досліду		Терміни дослідження, доба				
		2	5	9	13	17
Контрольна патологія	S, $см^2$	1,03 ± 0,02	0,91 ± 0,01	0,42 ± 0,02	0,17 ±0,04	0,1 ± 0,01
	V, ум. од.		0,13	1,45	5,05	9,3
	%	–	–	–	16,7	33,3
Крем «Дермаліпоін»	S, $см^2$	1,12 ± 0,01	0,80 ± 0,05	0,26 ± 0,03*	0,07 ± 0,01*	–
	V, ум. од.		0,4	3,31	15,0	–
	%	–	–	–	66,6	100
Бальзам «Спасатель форте»	S, $см^2$	1,10 ± 0,05	0,84 ± 0,06	0,29 ± 0,03*	0,08 ± 0,01*	–
	V, ум. од.		0,31	2,79	12,75	–
	%				66,6	100

Примітки:

1. S – середня площа рани;

2. V – коефіцієнт швидкості загоєння рани, ум. од;

3. % – кількість тварин з ранами, що зарубцювалися;

4. * – відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології $p \leq 0,05$.

Характер змін гематологічних показників, що відбувалися у тварин групи контрольної патології, відображає розвиток запального процесу. При визначенні

гематологічних показників спостерігалося достовірне, порівняно з інтактним контролем, підвищення загальної кількості лейкоцитів, а також зниження рівня гемоглобіну, кількості еритроцитів та скорочення часу згортання крові на 5-ту та 13-ту добу. Були також зафіксовані зміни з боку лейкоцитарної формули, що виявлялися нейтропенією на 5-ту добу та підвищенням кількості моноцитів на 5-ту й 13-ту добу експерименту (табл. 5.10).

Таблиця 5.9

Вплив крему «Дермаліпоін» на динаміку деяких біохімічних показників крові у щурів (модель видавлених трафаретних ран, n = 8)

Умови досліду	Показники	
	АлАТ, ммоль/г•л	АсАТ, ммоль/г•л
Інтактний контроль	0,61 ± 0,06	0,68 ± 0,06
5 доба дослідження		
Контрольна патологія	1,04 ± 0,10*	1,08 ± 0,15*
Крем «Дермаліпоін»	0,92 ± 0,07*	0,93 ± 0,13*
Бальзам «Спасатель форте»	0,93 ± 0,11*	0,95 ± 0,11*
9 доба дослідження		
Контрольна патологія	0,88 ± 0,09*	0,98 ± 0,09*
Крем «Дермаліпоін»	0,73 ± 0,10*/**	0,80 ± 0,05*/**
Бальзам «Спасатель форте»	0,75 ± 0,09*/**	0,82 ± 0,05*/**
13 доба дослідження		
Контрольна патологія	0,83 ± 0,11*	0,77 ± 0,08
Крем «Дермаліпоін»	0,67 ± 0,08	0,75 ± 0,06
Бальзам «Спасатель форте»	0,65 ± 0,09	0,75 ± 0,10

Примітки:

1.* – відхилення вірогідне по відношенню до інтактного контролю, $p \leq 0,05$;

2. ** – відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології $p \leq 0,05$.

Загоєння ран у тварин групи контрольної патології відбувалося повільніше, ніж у тварин дослідних груп, яких лікували досліджуваним кремом та препаратом порівняння. На дев'яту добу експерименту коефіцієнт швидкості загоєння ран в дослідних групах суттєво зростає. Середня площа ран у тварин, яких лікували досліджуваним кремом та бальзамом «Спасатель форте» була статистично достовірно меншою за величини даного показника у тварин групи контрольної

патології; при цьому коефіцієнт швидкості загоєння ран становив 3,31 та 2,79 відповідно, проти 1,45 у тварин з групи контрольної патології (відповідно у 2,28 та 1,92 рази вище).

Таблиця 5.10

Вплив крему «Дермаліпоін» на динаміку деяких гематологічних показників у щурів (моделі видавлених трафаретних ран, n = 8)

Показники	Терміни дослідження	Контрольна патологія	Крем «Дермаліпоін»	Бальзам «Спасатель форте»
Час згортання крові, сек	вихідні дані	200,33 ± 7,45	194,3 ± 36,68	196,17 ± 5,15
	5 доба	170,17 ± 12,09*	202,67 ± 5,50	200,83 ± 8,28
	13 доба	125,83 ± 11,44*	164,33 ± 11,43*/**	161,83 ± 7,76*/**
Гемоглобін, г/л	вихідні дані	130,4 ± 8,71	127,4 ± 7,30	132,0 ± 5,43
	5 доба	106,6 ± 3,44	108,4 ± 5,27	108,8 ± 4,32
	13 доба	109,4 ± 2,19	118,2 ± 5,81**	118,8 ± 8,35**
Еритроцити, $x10^{12}$/л	вихідні дані	4,23 ± 0,17	4,21 ± 0,23	4,35 ± 0,34
	5 доба	3,73 ± 0,36	3,72 ± 0,37	3,59 ± 0,33
	13 доба	3,95 ± 0,25	4,01 ± 0,41	4,04 ± 0,22
Лейкоцити, $x10^{9}$/л	вихідні дані	7,48 ± 0,51	7,70 ± 0,93	7,38 ± 0,88
	5 доба	16,73 ± 0,94	17,04 ± 1,19	16,40 ± 1,06
	13 доба	13,40 ± 1,58	10,24 ± 1,16**	9,47 ± 1,15**
Деякі показники лейкоцитарної формули, %				
Лімфоцити	вихідні дані	61,17 ± 2,48	60,17 ± 3,06	59,83 ± 2,04
	5 доба	64,00 ± 3,16	63,50 ± 2,59	61,83 ± 3,13
	13 доба	62,83 ± 2,79	61,83 ± 3,49	61,00 ± 2,00
Моноцити	вихідні дані	5,00 ± 0,63	5,33 ± 0,51	5,67 ± 0,82
	5 доба	8,83 ± 0,75*	9,33 ± 0,52*	9,50 ± 0,55*
	13 доба	6,67 ± 1,50*	8,33 ± 0,82*	8,17 ± 1,17*
Нейтрофіли паличко-ядерні	вихідні дані	1,83 ± 0,41	2,00 ± 0,63	1,83 ± 0,41
	5 доба	0,83 ± 0,17*	1,00 ± 0,10*	1,17 ± 0,17
	13 доба	2,33 ± 0,21	2,50 ± 0,22	2,17 ± 0,17
Нейтрофіли сегменто-ядерні	вихідні дані	31,3 ± 33,33	33,00 ± 2,00	30,33 ± 2,73
	5 доба	23,00 ± 2,53*	22,83 ± 2,48*	24,67 ± 2,42*
	13 доба	30,00 ± 3,16	29,83 ± 3,19	28,50 ± 2,17

Примітки:

1.* – відхилення вірогідне по відношенню до вихідних даних, $p \leq 0,05$;

2.** - відхилення вірогідне по відношенню до контрольної патології, $p \leq 0,05$.

На 13-ту добу коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих досліджуваним кремом та бальзамом «Спасатель форте», були відповідно у 2,97 та 2,52 рази вищими ніж у тварин групи контрольної патології.

Повне загоєння ран у тварин, лікованих кремом «Дермаліпоін» та бальзамом «Спасатель форте» спостерігалося між 13-ю та 17-ю добою, в той час, як у тварин групи контрольної патології повне загоєння ран відбувалося між 17-ю та 19-ю добою.

Дослідження динаміки біохімічних показників показало, що застосування кремом «Дермаліпоін» та бальзаму «Спасатель форте» супроводжувалося достовірним (порівняно з контрольною патологією) зменшенням активності АлАТ та АсАТ на дев'яту добу експерименту, що свідчить про суттєве зменшення виразності цитодеструктивних процесів. На 13-ту добу досліду відбувалася повна нормалізація активності маркерних ферментів у сироватці крові піддослідних тварин. Зміни гематологічних показників свідчать про зменшення виразності запального процесу при застосуванні крему «Дермаліпоін» та бальзаму «Спасатель форте»: наприкінці експерименту спостерігалося достовірне зменшення загальної кількості лейкоцитів та підвищення рівня гемоглобіну, проте достовірних змін показників лейкоцитарної формули зафіксовано не було.

Таким чином, встановлено, що на моделі видавлених трафаретних ран у щурів крем «Дермаліпоін» виявляє виразну ранозагоювальну дію та не поступається за виразністю ефекту препарату порівняння бальзаму «Спасатель форте».

Висновки до розділу 5

Експериментальні дослідження, які були проведені на моделі лінійних різаних, опікових та видавлених трафаретних ран, свідчать, що крем «Дермаліпоін» виявляє виразні репаративні властивості, прискорює темпи загоєння ран, зменшує виразність запальної реакції та цитодеструктивних процесів.

На моделі термічного опіку у щурів встановлено, що при застосуванні крему «Дермаліпоін» період епітелізації зменшився на 9,6 дня порівняно із контрольною патологією. При цьому підвищується оптична щільність рибонуклеопротеїдів в цитоплазмі і дезоксирибонуклеопротеїдів в ядрах епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння порівняно із контрольною патологією і групами препаратів порівняння.

Крем «Дермаліпоін» виявляє виразну репаративну дію за рахунок збільшення білково-синтетичної активності та прискорення репарації молекул ДНК епітеліоцитів після пошкодження, що проявляється прискоренням процесу загоєння опіків у порівнянні з контрольною патологією та препаратами порівняння.

Також встановлено, що на моделі трафаретних ран досліджуваний крем не поступається за репаративною активністю, а на моделі опікових та лінійних різаних ран виявляє перевагу перед препаратами порівняння – бальзамом «Спасатель форте» та гелем «Тітріол» за виразністю репаративної дії.

Матеріали даного розділу використані при написанні наступних публікацій:

1. Kononenko N. M., Sheikhali A. M. The study of reparative properties of a new combined cream dermalipoin on the model of linear incised wounds. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 6 (47). С. 42-49.
2. Kononenko N., Sheikhali A. Repair properties of the new combined cream dermalipoin on the model of extended scheduled wounds in rats. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016. Vol. 6 № 6. P. 722-731. eISSN 2391-8306. .
3. Кононенко Н. М., Шейхалі А.М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2017. № 1 (5). С. 16-21.
4. The effect of the new combined cream on the protein synthetic activity of cells on the model of the thermal skin damage in rats / N. M. Kononenko, A. M. Sheikhali, M. O. Ostapets, V. S. Loboda. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 62-66.

5. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри. Інформаційний лист № 210-2018. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. С. 4.

РОЗДІЛ 6
ВИВЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ КРЕМУ «ДЕРМАЛІПОІН»

Відомо, що найбільш тяжкими ускладненнями ранового процесу є ускладнення інфекційного характеру [22, 24, 39, 105]. З ними пов'язано до 40 % летальних випадків у хірургічних хворих [36, 44, 53]. Основне джерело інфекції шкіри і м'яких тканин - мікроорганізми, які контамінують і колонізують поверхню шкіри. Грампозитивні коки *S. aureus* і *S. pyogenes* здатні проникати в товщу епідермісу при наявності його ушкоджень і, безсумнівно, відіграють провідну роль в етіології гнійних інфекцій шкіри. Причому *S. aureus* є найбільш частим збудником, не так часто зустрічаються інфекції, викликані *S. pyogenes*, а також змішана інфекція за участю обох мікроорганізмів. Згідно результатів зарубіжних багатоцентрових досліджень, крім *S. aureus*, *S. pyogenes* у розвитку інфекцій шкіри і м'яких тканин можуть брати участь *Corynebacterium diphtheriae, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacteriaceae, Streptococcus spp.* [219, 234, 238, 242]

У зв'язку з цим, саме профілактика та лікування інфекційного компоненту ранового процесу є запорукою його успішної фармакотерапії. Враховуючи те, що до складу крему "Дермаліпоін" входить масло чайного дерева, яке успішно застосовується в боротьбі з такими патогенними мікроорганізмами як: *Staphylococcus (aureus, epidermidis, pneumoniae, faecalis, pyogenes* та ін.), *Propionibacterium acnes, Betahaemolytic streptococcus, Klebsiella pheuraoniac, Citrobacter spp., Shigella sonnei, Proteus mirabilis, Legionella spp., Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans* та ін., а також показання до застосування крему, необхідним етапом фармакологічного вивчення препарату стало дослідження його протимікробних властивостей в умовах in vitro та in vivo.

6.1 Вивчення антимікробної активності крему "Дермаліпоін" у дослідах in vitro

Результати дослідження антибактеріальної активності крему „Дермаліпоін"

у порівнянні з гелем «Тітріол» методом дифузії в агар наведені у таблиці 6.1.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що крем «Дермаліпоін» має виражену активність по відношенню до бактеріальних культур і культури гриба Candida albicans, рівень якої варіює в залежності від виду культури (табл. 6.1.). Так, висока чутливість до досліджуваного препарату спостерігалася у культур *Staphylococcus aureus*, причому як у референс- так і клінічного штамів (29,5-28,6 мм), *Pseudomonas aeruginosa* у референс- так і клінічного штамів (27,8-27,0) та у *Bacillus subtilis* (25,1 мм). Як свідчать результати досліджень, рівень чутливості інших культур - *Escherichia coli* (референс і клінічний штам), *Proteus mirabilis* трохи поступався, про що свідчать менш виражені зони затримки росту цих мікроорганізмів навколо лунок із внесеним препаратом (22,4 -21,5 - 20,5 мм відповідно). Дещо нижчий рівень активності досліджуваний препарат проявив по відношенню до *Candida albicans* (19,6 мм).

Порівняльний аналіз результатів вивчення спектру та рівня антимікробної активності крему «Дермаліпоін» і препарату порівняння – гелю «Тітріол» показав наступне. Гель «Тітріол» показав високу активність по відношенню до культур *Staphylococcus aureus*, але поступався крему «Дермаліпоін» за рівнем активності щодо культур *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Bacillus subtilis*. По відношенню до культур гриба *Candida albicans* крем «Дермаліпоін» і гель «Тітріол» проявили однакову ефективність (табл. 6.1).

Таким чином, крем “Дермаліпоін” проявляє високий рівень антимікробної активності по відношенні збудників гнійно-запальних процесів. Найбільш високу чутливість до препарату виявляють культури *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* та *Bacillus subtilis.*

Таблиця 6.1

Дослідження антимікробної активності крему “Дермаліпоін” методом дифузії в агар (n=5)

Препарат	Діаметр зони затримки росту мікроорганізму, мм								
	S.aureus ATCC 25923	S. aureus клінічний № 17	E. coli ATCC 25922	E. coli клінічний №78	P. aeruginosa ATCC 9027	P. aeruginosa клінічний №1841	B. subtilis ATCC 6633	P. mirabilis клінічний № 023	C. albicans ATCC 885-653
Крем «Дермаліпоін»	29,50 ± 0,2*	28,60 ± 0,2*	22,40 ± 0,1*	21,50 ± 0,3*	27,80 ± 0,5*	27,0 ± 0,2*	25,10 ± 0,3*	20,50 ± 0,2	19,60 ± 0,4
Гель «Тітріол»	25,10 ± 0,3	26,50 ± 0,1	20,90 ± 0,4	20,10 ± 0,2	23,40 ± 0,3	23,30 ± 0,6	19,10 ± 0,4	20,90 ± 0,5	19,50 ± 0,3

Примітка: * – відхилення вірогідне по відношенню до препарату порівняння, $p \leq 0,05$.

6.2 Вивчення протигрибкової активності крему “Дермаліпоін” in vivo на моделі кандидозної інфекції у мишей

Враховуючи високий ризик генералізації інфекції при інфікуванні шкірних покривів држдоподібними грибами (особливо у осіб, які отримують імуносупресивну терапію, в тому числі системну глюкокортикостероїдну терапію), а також встановлену протикандидозну активність крему „Дермаліпоін” в умовах in vitro, доцільно було вивчити його дію на моделі ранового процесу у мишей, контамінованого грибковою мікрофлорою.

Результати вивчення впливу крему “Дермаліпоін” на перебіг експериментальної кандидозної інфекції у мишей наведені в табл. 6.2

У тварин групи контрольної патології після внутрішньошкірного введення суспензії гриба *Candida albicans* розвивалось ураження шкіри, що характеризувалось вираженою гіперемією, набряком, пустульозними висипами. Починаючи з 10-го дня досліду інфільтрати розкривались та утворювались виразки з гнійним ексудатом. У подальшому, починаючи з 13-го дня експерименту, в усіх тварин утворювались свищі, які без лікування затягнулись до 22-ої доби. У всіх тварин групи контрольної патології до кінця спостереження з ранового ексудату висівали культуру гриба *Candida albicans*.

Крем «Дермаліпоін» проявляє виражену лікувальну ефективність при експериментальній кандидозній інфекції у білих мишей, що характеризувалось зменшенням інтенсивності запалення, підвищенням швидкості загоєння та зниженням мікробного навантаження ран по відношенню до контрольної патології. У жодної тварини під впливом крему не спостерігали утворення свища.

Лікувальна ефективність крему «Дермаліпоін» практично не відрізнялася від ефективності Тітріолу, за винятком дещо менш ефективного зниження мікробного навантаження в осередку кандидозного ураження під впливом гелю.

Таблиця 6.2

Результати вивчення протикандидозної дії крему «Дермаліпоін» (n = 10)

Група тварин	Дні лікування	Кількість тварин у групі	Кількість загиблих тварин	Критерії оцінки ефективності лікування	
				Характер уражених ділянок	КУО/г
Контрольна патологія	1-й	10	–	Гіперемія, набряклість	$5•10^6 – 6•10^6$
	2-й	8	2	Гіперемія, набряк, пустульозні висипання на периферії	$2•10^6 – 4•10^6$
	4-й	6	2	Ущільненість шкіри, посилення набряку, гіперемії, пустульозні висипання	$6•10^6 – 1•10^7$
	6-й	4	2	Інфільтрат, гіперемія	$3•10^6 – 5•10^6$
	8-й	3	1	Розм’якшення інфільтрату, гіперемія	$1•10^6 – 5•10^6$
	10-й	3	–	Розкриття інфільтрату, гнійний ексудат, гіперемія, набряклість	$7•10^6 – 2•10^6$
	13-й	3	–	Утворення свища, гіперемія, набряк	$1•10^7 – 3•10^7$
Крем «Дермаліпоін»	1-й	10	–	Гіперемія, набряк, пустульозні висипання на периферії	$2•10^6 – 5•10^6$
	2-й	9	1	Зменшення набряклості, гіперемії, розм’якшення інфільтрату	$1•10^6 – 4•10^6$
	4-й	9	–	Зникнення набряклості, гіперемії, утворення кірок	$2•10^5 – 5•10^5$
	6-й	9	–	Очищення шкіри, зникнення чіткої межі осередку ураження	$1•10^5 – 2•10^5$
	8-й	9	–	Повне очищення шкіри від кірок, загоєння рани	Відсутність росту
Гель «Тітріол»	1-й	10	–	Гіперемія, набряк, пустульозні висипання на периферії	$4•10^6 – 5•10^6$
	2-й	9	1	Зменшення набряклості, гіперемії, розм’якшення інфільтрату, пустульозні висипання на периферії	$2•10^6 – 3•10^6$
	4-й	8	1	Зникнення набряклості, гіперемії, загоєння пустул на периферії	$2•10^5 – 4•10^5$
	6-й	8	–	Осередок ураження покритий кіркою	$1•10^4 – 3•10^4$
	8-й	8	–	Осередок ураження покритий кіркою	$1•10^5 – 4•10^5$
	10-й	8	–	Повне очищення шкіри від кірок, загоєння рани	Відсутність росту

Так, відсутність росту грибкової мікрофлори під впливом досліджуваного крему спостерігали на 8-й день, тоді як під впливом гелю «Тітріол» - на 10-й день лікування

Слід також зазначити високий відсоток загибелі тварин: у групі нелікованого контролю 7 тварин (70 %), що свідчить про генералізацію інфекції. У групі тварин, яких лікували гелем“Тітріол”, загинуло 2 тварини (20 %), а у групі тварин, яких лікували кремом «Дермаліпоін», загинула одна тварина (10 %).

Таким чином, досліджуваний препарат – крем «Дермаліпоін» проявляє виражений ефект при лікуванні експериментальної кандидозної інфекції.

Висновки до розділу 6

В умовах in vitro встановлені виражені антимікробні властивості крему «Дермаліпоін» по відношенню до широкого спектра збудників гнійно-некротичних захворювань шкіри, які були підтверджені в умовах in vivo на моделі кандидозної інфекції у мишей.

За антимікробними властивостями досліджуваний крем перевищував дію гелю «Тітріол».

Матеріали даного розділу використані при написанні наступних публікацій:

Кононенко Н.М., Шейхалі А.М. Дослідження in vitro протимікробних властивостей нового комбінованого крему Дермаліпоін. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 28-29 березня 2018 р. Харків, 2018. С. 172-173.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Високий рівень травматизму і пов'язані з ним соціально економічні наслідки сьогодні становлять серйозну проблему. Травматизм - одна з головних причин смерті людей віком до 44 років і посідає третє місце у загальному переліку причин смертності в Україні [35]. Рани та поверхневі ушкодження шкіри, що виникають внаслідок травматизму, займають перше місце серед причин звернень за хірургічною допомогою і в структурі госпіталізованих хворих у хірургічні відділення [12, 75, 80, 95, 98, 100, 108, 185, 187, 188, 216, 220, 222].

Фармакологічна корекція процесу репаративної регенерації є важливою складовою лікування ран. Особливо це стосується тих випадків, коли рани не підлягають хірургічній обробці, наприклад, через незначну площу ураження [35].

Фармакокорекція ранового процесу передбачає застосування лікарських засобів, що обмежують вплив пошкоджуючого фактора, забезпечують швидке очищення рани від некротичних мас, пригнічення запального процесу та прискорюють регенерацію. Ефективним також є застосування препаратів, що впливають на функцію імунної та нервової систем, які є природними регуляторами усіх процесів, що відбуваються в організмі та забезпечують гомеостаз. Важливе місце у вирішенні даної проблеми займає місцеве лікування ран, яке здійснюється з використанням мазей, кремів, гелів, аерозолів [35, 103, 160, 191, 197, 204, 231, 236, 241].

На теперішній для місцевого лікування ран застосовуються різноманітні препарати, але вони мають також і численні недоліки: більшість з них не надають імунокорегуючого впливу, не виявляють достатньо виразної дії на розвиток запального процесу, а також вони не завжди забезпечують санацію рани від патогенної мікрофлори [160, 200].

Актуальність проблеми лікування патологій травматологічного профілю зумовлена зростанням кількості хворих з ранами, які не загоюються протягом тривалого часу, що обумовлено погіршенням стану хворого через недостатню ефективність багатьох із застосовуваних засобів та зниженням імунної

реактивності організму. У зв’язку з цим виникає необхідність пошуку лікарських засобів, які виявляють здатність спрямовано змінювати у сприятливому напрямку перебіг репаративного процесу.

Згідно з сучасними уявленнями про патогенез рани місцеві ранозагоювальні препарати повинні мати багатоспрямовану дію і застосовуватися диференційовано, у залежності від фази ранового процесу [35, 159].

Лікарські препарати, які застосовуються для місцевого лікування ран в 1-й (гнійно-запальній) фазі ранового процесу повинні затримувати розвиток інфекції, нормалізувати місцевий гомеостаз, сприяти очищенню рани від гнійно-некротичних мас, забезпечувати абсорбцію ексудату, продуктів розпаду тканин та життєдіяльності мікроорганізмів, зменшувати больовий синдром [45, 105, 123].

Місцева медикаментозна терапія ран у 2-й фазі ранового процесу спрямована на протидію вторинній інфекції, стимуляцію обміну речовин, росту грануляційної тканини та стимуляцію проліферативних процесів [105, 116].

Засоби для місцевого лікування ран, що застосовуються у 3-й фазі ранового процесу, мають запобігати розвитку інфекції, дегідратації, регулювати репаративні процеси та створювати оптимальні умови для реорганізації рубця [217].

Хоча лікування ран має здійснюватися з урахуванням фази ранового процесу та патогенетичних чинників, підвищення ефективності терапії може досягатися за рахунок мультифакторності впливу засобів на патогенез ранового процесу. Саме тому широке застосування знаходять комбіновані засоби, компоненти якої б мали взаємопотенціювальну дію. Полівалентний вплив на розвиток патології здатні виявляти також засоби природного походження, оскільки їх лікувальний ефект обумовлений, як правило, цілим комплексом біологічно активних сполук. Важливо також, щоб ця дія не обмежувалась поверхнею рани, а поширювалась у глибину ушкоджених тканин, де локалізовані мікроорганізми. Останній фактор забезпечується раціональним вибором основи, яка поряд з допоміжними властивостями, повинна проявляти фармакологічну дію, обумовлену її осмотичними властивостями [35, 105, 123, 226].

Основними вимогами до препаратів для місцевого лікування ран наприкінці І-ої та у ІІ-ій фазах ранового процесу є: усунення запального процесу, профілактика вторинного інфікування рани, особливо шпитальними штамами патогенних мікроорганізмів, спрямована стимуляція репаративних процесів у рані, помірна осмотична активність, захист грануляційної тканини від механічного ушкодження та висихання [35, 159, 160, 228, 232].

Вказане свідчить про актуальність пошуку та розробки нових ранозагоювальних препаратів та відкриває перспективи проведення наукових розробок у цьому напрямку.

Дисертаційна робота присвячена вивченню фармакологічних властивостей комбінованого крему «Дермаліпоін» з метою експериментального обґрунтування ефективності використання її в якості ранозагоювального засобу для місцевого застосування. Технологія крему «Дермаліпоін» розроблена на кафедрі товарознавства Національного фармацевтичного університету під керівництвом професора Баранової І.І.

Як активні діючі компоненти до складу крему «Дермаліпоін» були введені:

- α- ліпоєва кислота – потужний антиоксидант і ефективний протизапальний засіб, при місцевому застосуванні має кератолітичну, кератопластичну, бактеріостатичну і фунгістатичну дію [70, 131, 138, 179, 208];

- оливкова олія, яка має знеболюючу та протизапальну дію, сприяє загоєнню ран, виразок і опіків [82, 158, 162];

- масло чайного дерева - адаптоген. Має сильну бактерицидну, протизапальну, протинабрякову і репаративну дію. Успішно застосовується в боротьбі з такими патогенними мікроорганізмами як: *Staphylococcus (aureus, epidermidis, pneumoniae, faecalis, pyogenes* та ін.), *Propionibacterium acnes, Betahaemolytic streptococcus, Klebsiella pheuraoniac, Citrobacter spp., Shigella sonnei, Proteus mirabilis, Legionella spp., Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans* та ін. [15, 144, 158, 162];

- сечовина має відновлювальну, зволожуючу, репаративну, протизапальну дію та проводжувальні властивості [81, 96, 119, 244].

Для протизапальних та ранозагоювальних засобів, крім оптимально підібраного складу діючих речовин, не менш важливим є правильний вибір основи.

ПЕГ-400 – розчинник з помірною осмотичною активністю, що обумовлює його широке застосування у виробництві кремів для лікування інфікованих ран, де він забезпечує осмотичну й дегідратаційну дію, що у свою чергу прискорює термін загоєння рани [52].

На першому етапі досліджень проводили скринінг за антимікробною та антифунгальною активністю композицій із вмістом ефірної олії чайного дерева різної концентрації у порівнянні з гелем «Тітріол» по відношенню до грампозитивних мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* АТСС 25293, спорової культури *Bacillus subtilis* АТСС 6633, грамнегативної культури *Escherichia coli* АТСС 25922, дріжджоподібного гриба роду *Candida* - *Candida albicans* АТСС 885-653 [19, 20, 224, 243].

Для дослідження були надані чотири експериментальні зразки крему (табл. 2.1).

Встановлено, що найбільшу антимікробну активність проявили композиції №3 та № 4 (вміст ефірної олії чайного дерева 3,0 і 4,0% відповідно), однак збільшення концентрації олії чайного дерева до 4% не призвело до значного підвищення антимікробної активності. Тому для подальших досліджень до складу виучуваних експериментальних композицій крему «Дермаліпоін» вводили 3% ефірну олію чайного дерева.

З метою розширення області застосування крему «Дермаліпоін» у хірургії наступний етап скринінгових досліджень проводили за ранозагоювальною дією з використанням легко відтворюваної моделі лінійних різаних ран у щурів.

Як препарати порівняння на цьому етапі роботи були обрані декілька зовнішніх м'яких лікарських форм (крем, бальзам), близьких до виучуваних композицій за складом, фармакологічною дією та показаннями до застосування:

- крем «Карбодерм-Дарниця» (склад – сечовина 10%) – препарат проявляє гідратуючу, кератолітичну, протисвербіжну, антибактеріальну та протигрибкову дію;

- бальзам «Спасатель форте» (склад – олія облепихи, ліпіди молока, очищений бджоліний воск, прополіс, терпентинну олію, вітамін Е, ефірні олії лаванди, розмаріна, чайного дерева) – препарат проявляє антимікробні та виражені репаративні властивості.

Для скринінгу були використані експериментальні зразки мазей, склад яких наведений у таблиці 2.2. з різною концентрацією α-ліпоєвої кислоти та сечовини.

За показником тензіометрії найвищу репаративну активність продемонстрував зразок № 5 (репаративна активність 87,1%), до складу якого входить 2% α-ліпоєвої кислоти і 10 % сечовини. Ранозагоювальна активність зразка № 5 перевищувала ранозагоювальну дію препаратів порівняння: крему «Карбодерм-Дарниця» (26,9%) та бальзаму «Спасатель форте» (48,4%).

У результаті проведених морфологічних досліджень на моделі зшитої лінійної різаної рани встановлена висока ранозагоююча активність кремів з концентрацією α-ліпоєвої кислоти 2%. Зразки крему з даною концентрацією мали найкращу ранозагоювальну дію відносно препаратів порівняння «Карбодерм-Дарниця» і «Спасатель-форте». Найкращі результати показав зразок крему № 5 (2% α-ліпоєвої кислоти і 10% сечовини). Під його впливом у всіх щурів відбувалося повне загоєння рани. У 83,3% тварин колишній рановий канал виглядав дуже вузькою смугою, по обидві сторони від якої спостерігалась повністю відновлена дерма з волосяними фолікулами і пов'язаними з ними сальними залозами.

За результатами скринінгових досліджень для подальшого фармакологічного вивчення був обраний крем оптимального складу, який проявив найбільш виражену антимікробну і репаративну активність. До його складу входить:

оливкова олія – 27 %;

- α-ліпоєва кислота – 2 %;

- олія чайного дерева – 3 %;

- сечовина – 10 %;

- ПЕГ-400 (10,0 %), емульгатор моностеарату гліцерину (6,1 %), вода очищена до 100,0 %.

Обов'язковим та важливим фрагментом досліджень на етапі доклінічного вивчення нових лікарських засобів є оцінка їх можливого негативного впливу на організм. Тому метою подальшої нашої роботи стало дослідження гострої токсичності, можливої місцевоподразнювальної і алергізуючої дії крему.

Гостру токсичність крему вивчали за методом Пастушенко Т. В. та співавт. на двох видах тварин (миші та щури) при одноразовому внутрішньошлунковому введенні та нашкірному нанесенні [43].

В ході експериментальних досліджень з вивчення гострої токсичності нами було встановлено, що $ЛД_{50}$ крему «Дерматіпоін» при внутрішньошлунковому введенні перевищує 5000 мг/кг. Також було встановлено, що при одноразовому нашкірному нанесенні у максимальній дозі крем не виявляє токсичної дії на організм піддослідних тварин. Отримані експериментальні дані дозволяють віднести досліджуваний крем до V класу (практично нетоксичні речовини) токсичності за класифікацією К. К. Сидорова [43, 120].

За допомогою тесту «кон'юктивальна проба» були вивчені місцевоподразнювальні властивості крему. Отримані експериментальні дані дозволили зробити висновок про відсутність іритативної дії крему «Дерматіпоін» при його контакті зі слизовою оболонкою ока [41].

Методом нашкірних аплікацій було встановлено, що досліджуваний крем не виявляє алергізуючої дії [3, 42].

Наступним етапом досліджень стало вивчення терапевтичної ефективності крему в якості ранозагоювального засобу. Першим кроком на шляху досягнення поставленої мети стало вивчення протизапальних властивостей крему.

Запалення є одним з провідних патогенетичних компонентів різноманітних патологій. Запальна реакція складає також початкову стадію ранового процесу [29].

В загальному розумінні, запалення відіграє роль захисного механізму, який полягає в судинно-мезенхімальній реакції на пошкодження і спрямований на знешкодження патогенного чинника та відновлення уражених тканин. Реакція мікроциркуляторного русла на альтерацію виявляється підвищенням проникності судин, що призводить до розвитку набряку, гіпергідратації тканин, підвищення осмотичного тиску, розвитку гіпоксії та активації процесів ПОЛ [25]. Усі зазначені прояви обумовлюють вторинну деструкцію тканин. Біологічне значення вторинної деструкції тканин полягає в прискоренні некрозу та відторгненні нежиттєздатних тканин, очищенні рани від некротичних мас та мікроорганізмів, що наближає процес до репаративної стадії. Поява клітинного інфільтрату забезпечує фагоцитоз. Впродовж усього процесу у вогнищі запалення відбувається зміна клітинних кооперацій, трансформація клітин та судин, яка спрямована на утворення регенеративного проліферату і закінчується диференціюванням клітин та репарацією. В той же час виразна запальна реакція, яка пов’язана з реалізацією вторинних альтеруючих чинників, може ускладнювати перебіг ранового процесу та затримувати загоєння [12, 111, 166].

Враховуючи мету роботи, вищезазначені факти обґрунтовують необхідність дослідження протизапальних властивостей крему «Дермаліпоін».

Початковим етапом будь-якого запального процесу, в тому числі й ранового, є альтерація. Біохімічні та морфологічні зміни в тканинах, що відбуваються на альтеративній стадії запалення, розвиваються у вигляді некрозу, глибина цих змін визначає виразність та тривалість 1-ї (запально- некротичної) фази ранового процесу, виразність загальної реакції, яка пов’язана з залученням у процес інтегральних регуляторних систем усього організму, а також швидкість загоєння та одужання [1, 37].

Вплив ранозагоювальних засобів на швидкість загоєння рани та повноту відновлення анатомічної будови та функціональних властивостей ушкоджених тканин обумовлений комплексом чинників, одним з найважливіших серед них є усунення запально-некротичних змін у вогнищі запалення. Для вивчення впливу крему на перебіг альтеративного запалення були проведені дослідження на моделі

асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів, викликаного підшкірним введенням 9% розчину оцтової кислоти одночасно з внутрішньоочеревинним введенням 6% розчину декстрану у порівнянні з гелем «Тітріол». При підшкірному введенні оцтова кислота виявляє запально-наривну дію та викликає коагуляційний некроз тканин, а декстран сенсибілізує організм та посилює некротичну реакцію.

Лікування та спостереження за процесом загоєння ран почали з восьмої доби від початку експерименту – протягом перших семи днів після ін'єкції оцтової кислоти відбувалося формування виразкової поверхні.

Загоєння ран у тварин контрольної групи тривало протягом 28-и днів із коефіцієнтом швидкості 0,12-11,80. Ранова поверхня наривала, грануляція відбувалася повільно, через значні трофічні та функціональні порушення, які розвивалися в тканинах, що оточують некротизовані ділянки. Все це затримувало початок фази епітелізації та призводило до затягування процесу загоєння [235]. Початок процесу рубцювання у тварин контрольної групи припадає на 21-у добу.

На четверту добу лікування коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих «Дермаліпоіном», перевищував даний показник у контрольній групі в 2,92 рази, а у тварин, яких лікували гелем «Тітріолом» - в 2,75 рази.

Коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих «Дермаліпоіном», на 9 добу складав 1,14, проти 1,07 – у тварин, яких лікували препаратом порівняння та 0,40 - в контрольній групі. На 13-ту добу даний показник становив 3,12, 2,5 та 1,23, а на 17-ту добу відповідно – 7,92, 8,22 та 2,77. На 21-у добу від початку лікування коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих «Дермаліпоіном», складав вже 15,46, а у тварин, яких лікували «Тітріолом» – 10,27, проти 6,3 у тварин контрольної групи. Під дією «Дермаліпоіну» рубці починали формуватися вже на 17-ту добу, а на 21-у добу відносна частка тварин з ранами, що зарубцювалися, складала 50%, в той час як в групі, лікованих препаратом порівняння їхня відносна частка складала 33,3%.

Отже, результати проведених досліджень свідчать, що крем «Дермаліпоін» уповільнює розвиток альтеративного запалення і за виразністю ефекту перевищує

препарат порівняння гель «Тітріол».

Вивчення протизапальних властивостей досліджуваного крему проводили на моделях запалення з переважно виразною ексудативною та альтеративною ланкою. Для первинної оцінки протизапальної дії була обрана модель термічного запалення кінцівок у мишей. Під дією високої температури розвивалася місцева запальна реакція, яка виявлялася гіперемією, болем та набряком. Вибір модельної патології був обумовлений тим, що складу крему входять антиоксиданти та ненасичені жирні кислоти [140].

В якості препарату порівняння були обрані крем «Бепантен» і бальзам «Спасатель-форте», які використовують для лікування опіків шкіри.

Було встановлено, що досліджуваний крем виявляє виразні протизапальні властивості. Місцеве лікування лап з набряком кремом «Дермаліпоін» сприяє пригніченню запального процесу, що виражалося зменшенням набряку в 2,1 рази порівняно з контролем. При лікуванні лап бальзамом «Спасатель-форте» набряк лап був менший в 1,8 рази; кремом «Бепантен» - в 1,6 рази.

Аналіз результатів протизапальної активності препаратів показав, що за вираженістю дії їх можна розташувати таким чином: «Дермаліпоін» (52,4%) ≥ «Спасатель-форте» (44,4%) ≥ «Бепантен» (37,5%).

Початковим етапом запального процесу є медіаторна реакція, яка пов’язана з вивільненням неспецифічних прозапальних медіаторів, дія яких спрямована на зміни мікроциркуляторного русла, міграцію лейкоцитів та їх хемотаксис у вогнище запалення.

Залежно від джерела, медіатори запалення розділяють на місцеві (біогенні аміни, простагландини, лейкотрієни) та медіатори, що надходять з крові (кініни, фактори згортання крові та фібринолізу, компоненти системи комплементу) [29, 43].

В перші секунди після пошкодження тканини сенсорні пептидергічні нервові волокна, які беруть участь в ноцицепції, виділяють особливі сенсорні нейропептиди. Дані сполуки виявляють судинорозширювальну дію, впливають на функцію макрофагів та збільшують продукцію цитокінів, модулюють

проліферацію Т-клітин та впливають на синтез антитіл [6, 137].

Важливу роль на початковій стадії запального процесу відіграють біогенні аміни (гістамін та серотонін), а також фактор Хагемана. Гістамін, ймовірно, чинить найвиразніший вплив на судинну проникність серед інших медіаторів [4]. Вивільнення гістаміну супроводжується розширенням артеріол та звуженням дрібних венул. Гістамін стимулює також рухову активність та прискорює трансмембранний транспорт, що сприяє підвищенню судинно-тканинної проникності [3].

Наступною ланкою є активація калікреїнів та утворення кінінів, які значно та на тривалий час підвищують проникність судинної стінки [6].

Протягом наступних хвилин головну роль відіграють ліпідні медіатори, які утворюються з фосфоліпідів пошкоджених клітин [3]. Спектр ліпідних медіаторів залежить від шляху ферментативного перетворення арахідонової кислоти, яка вивільняється з мембранних фосфоліпідів під дією фосфоліпази A_2. На циклооксигеназному шляху утворюються простагландини, простацикліни та тромбоксани.

Простагландини діють як синергісти інших медіаторів запалення (гістаміну та кінінів), підвищують проникність судинної стінки, призводять у стан гіперчутливості сенсорні пептидергічні нервові волокна, що викликає біль, та за посередництвом сенсорних нейропептидів індукують запальну реакцію. Простацикліни і тромбоксани також впливають на судинну стінку та на агрегацію тромбоцитів. Під дією ліпооксигенази з арахідонової кислоти утворюються лейкотрієни, пероксиди та гідропероксиди жирних кислот, що є потужними хемотаксичними агентами [6, 43].

З метою оцінки впливу досліджуваного крему на утворення та активність деяких медіаторів, подальше вивчення протизапальної активності проводили на моделях асептичного ексудативного запалення, викликаного дією різних флогогенних агентів, в механізмах розвитку яких переважну роль відіграють різні медіаторні системи.

Отже, наступним етапом наших досліджень стало вивчення антиексудативної активності крему в умовах гострого асептичного запалення стопи у щурів, викликаного карагеніном, в механізмах розвитку якого провідну роль відіграють простагландини та калікреїн-кінінова система [29, 43].

Висновок про виразність запалення робили за збільшенням об'єму кінцівки, що було спричинено введенням флогогену, порівняно з вихідними даними. Повторно об'єм кінцівки вимірювали через 3 год після введення карагеніну. У зазначений термін, за даними наукової літератури [29, 43], рівень простагландинів у вогнищі запалення досягає максимального значення, що дозволяє зробити припущення про характер та виразність впливу крему на циклооксигеназний шлях перетворення арахідонату.

Аналіз отриманих експериментальних даних дозволяє зробити висновок, що в умовах гострого карагенінового набряку стопи у щурів крем при місцевому застосування виявляє виражений антиексудативний ефект, зменшуючи набряк на 47,7 %. Препарат порівняння – бальзам «Спасатель форте» виявляв антиексудативну активність на рівні 30,5 %.

Вплив крему на ліпооксигеназний шлях перетворення арахідонової кислоти визначали на моделі зимозанового набряку стопи у білих щурів, в механізмі розвитку якого на ранніх термінах провідну роль відіграють лейкотрієни []. В якості препаратів порівняння були обрані крем «Бепантен» та бальзам «Спасатель-форте».

Зимозан - структурний дріжджовий полісахарид, який специфічно взаємодіє з мембраною фагоцитуючих лейкоцитів і внаслідок активації останніх викликає розвиток місцевої запальної реакції.

Виразність запальної реакції, викликаної ін'єкцією зимозану, оцінювали через 30 хв після введення флогогену.

Початкова стадія зимозанового набряку (0,5-2 год) пов'язана, переважно, з дією лейкотрієнів – продуктів перетворення арахідонової кислоти за участю ліпооксигенази. На пізніших термінах (4-5 год) запальна патологія прогресує за рахунок вивільнення інших прозапальних факторів: кінінів, гістаміну, серотоніну

та інтенсифікації ПОЛ [43].

Нами було встановлено, що в умовах гострого зимазанового набряку стопи у щурів крем «Дерманіпоін» при місцевому застосуванні виявляє виражений антиексудативний ефект, зменшуючи набряк на 40,3%, що дозволяє зробити припущення про антиліпооксигеназні властивості комплексу біологічно активних сполук досліджуваного крему. Препарати порівняння бальзам «Спасатель-форте» виявляв антиексудативну активність на рівні 30,6%, а крем «Бепантен» - на рівні 25,0% впродовж усього терміну спостереження.

Одним з головних механізмів, що визначає сутність локальних змін у вогнищі запалення, які розвиваються в результаті вивільнення різноманітних медіаторів, є підвищення проникності судинної стінки [29, 174].

Вплив досліджуваного крему на проникність судинної стінки вивчали на моделі підвищеної проникності судин черевної стінки у щурів, викликаної різними флогогенами у порівнянні з маззю тіотриазоліну.

Встановлено, що в групі тварин з контрольною патологією найшвидше розвивався запальний ефект під впливом гістаміну (5,3 хв); наступний за швидкістю розвитку запалення флогоген – яєчний білок (5,7 хв) та карагенін (5,9 хв). Пізніше з’являється забарвлення у місці введення формаліну – через 6,5 хвилин.

Нанесення крему «Дерманіпоін» призводило до значного уповільнення профарбовування папул. При застосуванні карагеніну та формаліну в якості флогогенів крем виявляв найвиразнішу здатність зменшувати проникність судинної стінки: швидкість профарбовування папули зменшувалась на 64,4% та 81,5% відповідно. В умовах порушення судинної проникності спричиненого яєчним білком та гістаміном швидкість профарбовування папул зменшувалася відповідно на 42,1% та 41,5%.

Препарат порівняння - мазь тіотриазоліну також проявляє судиностабілізувальну дію. Проте, даний ефект поступався дії досліджуваного крему на 13,2% при введенні гістаміну, на 8,5% - при введенні карагеніну, на 18,4% - при введенні формаліну.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про здатність крему «Дермаліпоін» зменшувати проникність судинної стінки за рахунок стабілізації мембрани клітин та пригнічення активності медіаторів запалення, що утворюються внаслідок цикло- та ліпооксигеназного метаболізму арахідонової кислоти (простагландини, лейкотрієни) та сприяють в умовах патології порушенню мікроциркуляції та підвищенню проникності судинної стінки та клітинних мембран. Результати даного досліду підтверджують здатність (яка переважає ефект препарату порівняння) крему гальмувати активність біогенних амінів та, завдяки цьому, знижувати проникність судинної стінки, що є дуже важливою складовою фармакодинаміки досліджуваного фармакологічного препарату як засобу, який пропонується при запально-деструктивних процесах.

При вивченні впливу досліджуваного засобу на ступінь гемолізу встановлено, що в групі тварин, які отримували крем «Дермаліпоін», відбувалося достовірне зменшення гемолізу еритроцитів у 2,5 рази, мазі тіотриазоліну - в 1,6 рази у порівнянні з групою інтактного контролю.

Таким чином, встановлена можливість досліджуваного крему протидіяти гемолізу, що свідчить про наявність вираженої мембраностабілізуючої дії даного препарату, яка перевищує таку у мазі тіотриазоліну на 22,3%.

Наступним фрагментом нашої роботи стало вивчення ефективності застосування крему «Дермаліпоін» в якості ранозагоювального засобу. Дослідження проводили на експериментальних моделях, вибір яких здійснювався з урахуванням характеру травмуючого чинника. Враховуючи, що перебіг ранового процесу має певні особливості, залежно від етіології, на даному етапі досліджень було проведено вивчення ранозагоювальної активності крему «Дермаліпоін» у порівнянні з бальзамом «Спасатель-форте» і гелем «Тітріол» на моделях лінійної різаної, опікової та видавленої трафаретної ран.

Першим фрагментом досліджень стало вивчення репаративної активності крему на моделі лінійної різаної рани.

Експериментальні дані, які були отримані на моделі лінійних різаних ран, свідчать про прояви регенерації в ушкоджених тканинах при місцевому

застосуванні крему «Дермаліпоін». Результати тесту на міцність рубца показали, що за виразністю репаративної дії крем «Дермаліпоін» (репаративна активність – 78,1%) значно перевищує препарат порівняння гель «Тітріол» на 31,5% та на 13% перевищує дію препарату порівняння - бальзаму «Спасатель-форте».

Вивчення морфологічних показників також свідчить про здатність крему прискорювати репаративні процеси. Після застосування крему «Дермаліпоін» у всіх щурів відбувається повне загоєння рани. У 83,3% тварин колишній рановий канал мав вигляд дуже вузької смуги, по обидва боки від якої видна повністю відновлена дерма з волосяними фолікулами та пов'язаними з ними сальними залозами. Епідерміс у зоні колишньої рани та у прилеглих до неї зонах потовщено, але в ньому повністю відновлені всі шари, роговий включно.

Після лікуванням бальзамом «Спасатель-форте» у 80% щурів ширина ранового каналу ще виразна, центральна частина не епітелізована. На поверхні є залишки клітинного детриту. Новостворена тканина, що заповнює канал, добре васкуляризована, у поверхневих шарах ще багатоклітинна. В більш глибоких шарах простежена проліферація фібробластів, місцями з орієнтуванням у розташуванні, наявність тонких колагенових волокон. У м'язовій пластинці та підшкірній клітковині видні виразні ознаки продуктивного запалення.

Після застосування гелю «Тітріол» у 70% щурів рана ще не загоїлася, епітелізація поверхні не повна, рановий канал від помірного до широкого, грануляційна тканина в ньому недостатньо зріла. У м'язовій пластинці та підшкірній клітковині виразні ознаки продуктивного запалення.

При проведенні напівкількісної оцінки стану ран за шириною ранового каналу, зрілістю новоутвореної тканини у рані та повнотою відновлення шкіри на місці колишньої рани встановлено, що після застосування крему «Дермаліпоін» всі показники вірогідно покращилися порівняно з контрольною патологією, що є морфологічним свідоцтвом значно більшої міцності тканини у зоні колишньої рани. Досліджуваний крем мав вірогідну перевагу за цими показниками і перед препаратами порівняння - бальзамом «Спасатель-форте» та гелем «Тітріол».

Таким чином, на моделі лінійних різаних ран у щурів крем «Дермаліпоін» виявляє виразну репаративну дію, що проявляється в прискоренні процесу загоєння ран в порівнянні з контрольною патологією та зменшенні виразності цитодеструктивних процесів.

Подальше вивчення ранозагоювальної дії крему проводили на моделі опікових ран у щурів [140].

Опікове ушкодження шкіри викликали за допомогою спеціального приладу з установленою температурною шкалою та електропаяльником, на кінці якого кріпиться округла металева пластина діаметром 2,5 см. Тварин попередньо наркотизували барбамілом, після чого до депільованої ділянки шкіри на спині з боку від хребта накладали розігріту до 200 °С контактну пластину. Час експозиції складав 10 с. Дана модельна патологія дозволяє відтворювати стандартні за площею та глибиною опікові ушкодження шкіри, що відповідають ІІІ А-Б - ІІІБ ступеню за клінічною класифікацією [140].

На другу добу експерименту у тварин відзначалося утворення щільного струпа з чітко обмеженою зоною некрозу. Рановий процес супроводжувався виразною запальною реакцією, що виявилося почервонінням та набряклістю оточуючих тканин.

Розвиток виразної запальної реакції підтверджувався також змінами з боку показників периферичної крові. Так, у тварин з групи контрольної патології спостерігалося достовірне, порівняно з групою інтактного контролю, зниження рівня гемоглобіну, кількості еритроцитів, скорочення часу згортання крові а також підвищення загальної кількості лейкоцитів на 5-й та 13-й день експерименту.

Під впливом крему «Дермаліпоін» спостерігалося зростання рівня гемоглобіну та кількості еритроцитів вже на 11-й день, та їх повна нормалізація наприкінці експерименту, перевершуючи показники препаратів порівняння.

У тварин дослідних груп також спостерігалося достовірне порівняно з контрольною патологією зниження кількості лейкоцитів на 13-у добу експерименту.

При застосуванні крему «Дерматоліпоін» загоєння відбувалося значно швидше. Так, при нанесенні крему на уражену ділянку відторгнення струпа почалося з 8-ї доби досліду та в середньому становить 14,2 дня, що на 37,7 % менше, ніж у групі контрольної патології ($p \leq 0,05$), на 31% менше, ніж в групі тварин, яким наносили бальзам «Спасатель форте» ($p \leq 0,05$) та на 18% менше, ніж в групі щурів, яких лікували гелем «Тітріол» ($p \leq 0,05$).

Отримані результати свідчать, що досліджуваний крем сприяв скороченню терміну загоєння ран на 9,6 дня порівняно з контрольною патологією ($p \leq 0,05$).

Прискорення загоєння та достовірне зменшення площі опіків під впливом крему «Дерматоліпоін» спостерігали, починаючи з 3-го і по 13-й день, бальзаму «Спасатель форте» – із 7-го по 21-й день, гелю «Тітріол» - із 5-го по 17-й день щодо контрольної патології. Повне загоєння ран у групі тварин, яким наносили крем «Дермаліпоін», відбулося на 15-ту добу експерименту; бальзаму «Спасатель форте» – на 23-тю добу, а при застосуванні гелю «Тітріол» - на 21-шу добу досліду.

Вивчення планіметричного аналізу ранового процесу, викликаного термічним опіком, показало, що в усіх групах тварин, яких лікували, спостерігали прискорення загоєння ран, але при застосуванні бальзаму «Спасатель-форте» та гелю «Тітріол» було їх нагноєння. При місцевому застосуванні крему «Дермаліпоін» спостерігали прискорення епітелізації та відторгнення струпа, відсутність нагноєння ран. Результати експерименту показали, що репаративні властивості досліджуваного крему (за показником коефіцієнту швидкості загоєння та площею рани) були вищими, ніж у препаратів порівняння.

Таким чином, експериментальні дані свідчать про те, що досліджуваний крем виявляв виразну ранозагоювальну дію та спостерігалася певна перевага перед препаратами порівняння за впливом на динаміку загоєння опікових ран.

На 15 добу після моделювання термічного опіку для визначення рівня білково-синтетичної активності клітин (епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння термічного пошкодження) у тварин усіх експериментальних груп проводили

оцінку вмісту РНП в цитоплазмі і ДНП в ядрах клітин.

Отримані експериментальні дані свідчать, що у всіх дослідних групах спостерігалася однотипна морфологічна картина загоєння виразкових дефектів за типом неповної репаративної регенерації з формуванням сполучної тканини, яка на 15 добу відповідала класифікації фаз ранового процесу за М.І. Кузіним [] - переходу II фази загоєння ран (фаза регенерації) в III (фаза утворення і реорганізації рубця та епітелізація).

Крем «Дермаліпоін» порівняно з препаратами порівняння – бальзамом «Спасатель форте» та гелем «Тітріол» виявив більш активний вплив на репаративні процеси, про що свідчило вірогідне збільшення білково-синтетичної функції епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння.

Репаративну активність крему, насамперед, забезпечила наявність тіолових (сульфгідрильних) груп в молекулі ліпоєвої кислоти, що надає їй властивості антиоксиданту. Антиоксидантний ефект ліпоєвої кислоти сприяє більш ефективній репарації молекул ДНК після пошкодження в результаті «окисного стресу» [25, 122].

Що стосується клітин фібробластичного ряду, то сумарно найвищу білково-синтетичну активність вони мали також в групі яких лікували кремом «Дермаліпоін», що підтверджується і морфологічною картиною загоєння дефекту в даній групі.

Вивчення ранозагоювальної дії досліджуваного крему продовжували на моделі видавлених трафаретних ран шкіри у щурів, що адекватно відтворює характер ушкодження тканин при рваних ранах.

Початок процесу характеризувався помірною запальною реакцією, яка виявлялася набряклістю та почервонінням країв рани, без нагноєння.

Відповідні зміни гематологічних показників, що відображають розвиток запальної реакції також мали помірний характер. Так, у тварин з групи контрольної патології спостерігалося достовірне, порівняно з інтактним контролем, підвищення загальної кількості лейкоцитів, зниження рівня

гемоглобіну, кількості еритроцитів та скорочення часу згортання крові на 5-ту та 13-ту добу. Зміни з боку лейкоцитарної формули виявилися нейтропенією на 5-ту добу та підвищенням кількості моноцитів на 5-ту та 13-ту добу експерименту.

Паралельно, в експерименті, спостерігали зміни в динаміці деяких біохімічних показників. Синдром цитолізу є клініко-лабораторним синдромом, що характеризується підвищенням рівнів внутрішньоклітинних ферментів трансаміназ (передусім, АсАТ і АлАТ) у крові як неспецифічної реакції клітин на дію пошкоджуючих факторів, і проявляється на клітинному рівні їх пошкодженням і загибеллю. Інтенсифікація процесів перекисного окиснення ліпідів та активація лізосомальних ферментів, що були спричинені значними метаболічними зсувами в ушкодженій тканині, призводять до посилення вторинної деструкції тканин, яке проявлялося зростанням активності ферментів-маркерів цитолізу у сироватці крові.

Протягом перших днів (до п'ятої доби експерименту) площа ран у тварин в усіх дослідних групах зменшувалася повільно. Згідно з уявленнями про фази ранового процесу, даний період відповідає фазі ацидозу – накопичення в рані кислотних продуктів розпаду внаслідок різкого порушення процесів тканинного дихання [25, 123]. Починаючи з п'ятої-сьомої доби, процес епітелізації проходив більш інтенсивно і швидкість загоєння ран суттєво зростала.

На дев'яту добу експерименту коефіцієнт швидкості загоєння ран в дослідних групах суттєво зростає. Середня площа ран у тварин, яких лікували досліджуваним кремом та бальзамом «Спасатель форте» була статистично достовірно меншою за величини даного показника у тварин групи контрольної патології; при цьому коефіцієнт швидкості загоєння ран становив 3,31 та 2,79 відповідно, проти 1,45 у тварин з групи контрольної патології (відповідно у 2,28 та 1,92 рази вище).

На 13-ту добу коефіцієнт швидкості загоєння ран у тварин, лікованих досліджуваним кремом та бальзамом «Спасатель форте», були відповідно у 2,97 та 2,52 рази вищими ніж у тварин групи контрольної патології.

Повне загоєння ран у тварин, лікованих кремом «Дермаліпоін» та бальзамом «Спасатель форте» спостерігалося між 13-ю та 17-ю добою, в той час, як у тварин групи контрольної патології повне загоєння ран відбувалося між 17-ю та 19-ю добою.

Аналіз змін біохімічних показників показав, що застосування досліджуваного крему та препарату порівняння супроводжувалося зменшенням виразності цитодеструктивних процесів, про що свідчить зниження активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові піддослідних тварин на дев'яту добу експерименту. На 13-ту добу досліду спостерігалася повна нормалізація активності маркерних ферментів у сироватці крові піддослідних тварин.

Зміни гематологічних показників, які відбувалися на тлі застосування крему «Дермаліпоін» та бальзаму «Спасатель форте» свідчать про зменшення виразності запального процесу. На кінцевих термінах дослідження спостерігалося достовірне, порівняно з контрольною патологією, зменшення кількості лейкоцитів та підвищення рівня гемоглобіну.

Таким чином, на моделі видавлених трафаретних ран у щурів було встановлено, що крем «Дермаліпоін» виявляє виразну ранозагоювальну дію та не поступається за виразністю ефекту препарату порівняння бальзаму «Спасатель форте».

Здатність стимулювати проліферативні процеси в ушкодженій тканині, виразність протизапальних властивостей досліджуваного крему, наявність яких доведена експериментально, зумовлюють високу ефективність крему «Дермаліпоін» в якості ранозагоювального засобу. Високу ефективність та широкий спектр фармакологічної активності крему можна пояснити хімічним складом його компонентів, який представлений сульфгідрильними групами, токоферолами, ненасиченими жирними кислотами та ін. [35].

Відомо, що найбільш тяжкими ускладненнями ранового процесу є ускладнення інфекційного характеру, з якими пов'язано до 40% летальних випадків у хірургічних хворих [32, 35, 48, 56, 61]. Тому для засобів, що пропонуються для місцевого лікування ран виключно важливою є наявність

протимікробних властивостей. Для засобів, що застосовуються в 1-й фазі ранового процесу антимікробна активність є найголовнішим видом фармакологічної активності. Засоби, які застосовуються в 2-й та 3-й фазах ранового процесу, поряд з репаративними властивостями також повинні виявляти протимікробну активність, що має забезпечувати профілактику вторинної інфекції. Тому наступним етапом вивчення фармакологічних властивостей крему стало дослідження його антимікробної активності [19, 20, 227].

В умовах in vitro методом дифузії в агар крем «Дермаліпоін» проявляє виражену активність по відношенню до основних збудників гнійно-запальних процесів у шкірі: *Staphylococcus aureus*, причому як до референс так і клінічного штамів (діаметр зони затримки росту – 29,5 та 28,6 мм), *Pseudomonas aeruginosa* до референс і клінічного штамів (діаметр зони затримки росту – 27,8 та 27,0 мм), *Bacillus subtilis* (діаметр зони затримки росту – 25,1 мм), був активним також до *Escherichia coli* (референс і клінічний штам: діаметр зони затримки росту – 22,4 та 21,5 мм), *Proteus mirabilis* (діаметр зони затримки росту – 20,5 мм), менш активним – у відношенні *Candida albicans* (діаметр зони затримки росту – 19,6 мм).

Порівняльний аналіз результатів вивчення спектру та рівня антимікробної активності крему «Дермаліпоін» і препарату порівняння – гелю «Тітріол» показав наступне. Гель «Тітріол» показав високу активність у відношенні культур *Staphylococcus aureus*, але поступався крему «Дермаліпоін» за рівнем активності щодо культур *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Bacillus subtilis.* У відношенні культур гриба *Candida albicans* крем «Дермаліпоін» і гель «Тітріол» проявили однакову ефективність.

Встановлена в умовах in vitro протикандидозна дія крему дозволила передбачити ефективність препарату in vivo, що стало завданням наступного етапу роботи.

Крем «Дермаліпоін» проявляє виражену лікувальну ефективність при експериментальній кандидозній інфекції у білих мишей, що характеризувалось зменшенням інтенсивності запалення, підвищенням швидкості загоєння та

зниженням мікробного навантаження ран по відношенню до контрольної патології. У жодної тварини під впливом крему не спостерігали утворення свища.

Лікувальна ефективність крему «Дермаліпоін» практично не відрізнялася від ефективності Тітріолу, за винятком дещо менш ефективного зниження мікробного навантаження в осередку кандидозного ураження під впливом гелю.

Відсутність росту грибкової мікрофлори під впливом досліджуваного крему спостерігали на 8-й день, тоді як під впливом гелю «Тітріол» - на 10-й день лікування. Таким чином, досліджуваний препарат – крем «Дермаліпоін» проявляє виражений ефект при лікуванні експериментальної кандидозної інфекції.

Таким чином, результати проведених експериментальних досліджень свідчать, що крем «Дермаліпоін» виявляє виразні протизапальні, антимікробні, антиальтеративні, мембаностабілізувальні та репаративні властивості і може застосовуватися в якості лікарського засобу, що стимулює репарацію.

Отже, результати проведених досліджень відкривають широкі перспективи для застосування крему «Дермаліпоін» в якості ранозагоювального засобу для місцевого лікування ран і опіків у I та II фазах ранового процесу.

ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової задачі, пов’язаної з місцевим лікуванням гнійно-запальних захворювань м’яких тканин. Проведені експериментальні дослідження обґрунтовують доцільність використання нового ранозагоювального крему «Дермаліпоін», розробленого з діючими компонентами природного походження та створеного на емульсійній основі з помірною осмотичною активністю в комплексному лікуванні ранового процесу. Аналіз результатів досліджень дозволив зробити висновок, що ефективність дослідженого препарату обумовлена широким спектром фармакологічної дії його компонентів.

1. В умовах фармакологічного скринінгу за антимікробною, антифунгальною та репаративною активністю був обраний крем умовно названий «Дермаліпоін» з оптимальною концентрацією окремих компонентів наступного складу: оливкової олії 27%, α-ліпоєвої кислоти 2%, олії чайного дерева 3%, сечовини 10%, ПЕГ-400 10,0%, моностеарату гліцерину 6,1%, вода очищена до 100%.

2. Крем «Дермаліпоін» є нешкідливою композицією ($ЛД_{50}$> 5000 мг/кг при внутрішньошлунковому введенні), яка відноситься до V класу токсичності - практично нетоксичні речовини за класифікацією К.К. Сидорова, а також не чинить місцевоподразнювальної та сенсибілізуючої дії.

3. Крем «Дермаліпоін» виявляє високу ефективність в умовах альтеративного запалення та перевищує в 1,5 рази за виразністю дії препарат порівняння гель «Тітріол» ($p<0,05$).

4. Крем «Дермаліпоін» виявляє виразну антиексудативну дію, яка обумовлена антагонізмом з медіаторами запалення. За виразністю протизапального ефекту досліджуваний крем достовірно перевершує ефект крему «Бепантен» і бальзаму «Спасатель форте» на моделях запальних реакцій, викликаних дією термічного фактора, карагеніну та зимозану.

5. Встановлена виражена мембраностабілізуюча дія крему «Дермаліпоін», яка перевищує на 22,3% активність препарату порівняння мазі тіотриазоліну

($p<0,05$). Крем «Дермаліпоін» виявляє здатність значно зменшувати підвищену проникність судинної стінки, спричинену впливом різних флогогенів: гістаміну, формаліну, яєчного білка і карагеніну, що свідчить про багатокомпонентну протизапальну дію, яка пов'язана з його антиоксидантними і мембраностабілізуючими властивостями.

6. На моделі лінійних різаних ран у щурів за виразністю репаративної дії крем «Дермаліпоін» (репаративна активність – 78,1%) значно перевищує препарат порівняння гель «Тітріол» на 31,5% та на 13% перевищує дію препарату порівняння - бальзаму «Спасатель-форте» ($p<0,05$). На моделі термічного опіку у щурів встановлено, що при застосуванні крему «Дермаліпоін» період епітелізації зменшився на 9,6 дня порівняно з контролем. Крем «Дермаліпоін» виявляє виразну репаративну дію за рахунок збільшення білково-синтетичної активності та прискорення репарації молекул ДНК епітеліоцитів після пошкодження, що проявляється прискоренням процесу загоєння опіків у порівнянні з контрольною патологією та препаратами порівняння. На моделі видавлених трафаретних ран у щурів крем «Дермаліпоін» виявляє виразну ранозагоювальну дію та не поступається за виразністю ефекту препарату порівняння бальзаму «Спасатель форте».

7. Встановлено, що крем «Дермаліпоін» має високі антимікробні властивості по відношенню до основних збудників гнійно-запальних процесів у шкірі: *Staphylococcus aureus*, причому як до референс так і клінічного штамів (діаметр зони затримки росту – 29,5 та 28,6 мм), *Pseudomonas aeruginosa* до референс і клінічного штамів (діаметр зони затримки росту – 27,8 та 27,0 мм), *Bacillus subtilis* (діаметр зони затримки росту – 25,1 мм), був активним також до *Escherichia coli* (референс і клінічний штам: діаметр зони затримки росту – 22,4 та 21,5 мм), *Proteus mirabilis* (діаметр зони затримки росту – 20,5 мм) та помірні антифунгальні властивості у відношенні *Candida albicans* (діаметр зони затримки росту – 19,6 мм). Також встановлена лікувальна ефективність при експериментальній кандидозній інфекції у білих мишей.

8. За результатами експериментальних досліджень розроблений крем «Дермаліпоін» відповідає медико-біологічним вимогам, що висуваються до

лікарських засобів для місцевого лікування ран у I та II фазах ранового процесу; він виявляє виразні протизапальні, антиальтеративні, капілярозміцнюючі, мембраностабілізуючі, репаративні властивості, високу антимікробну (відносно грампозитивних і грамнегативних бактерій) та помірну антифунгальну дію.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абаев Ю. К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция. Ростов н/Д: Феникс, 2006. 427 с.

2. Адмакин А. Л. Опыт применения гелевых и альгинатных раневых покрытий при лечении ожогов. *Вестн. хирургии им. И.И. Грекова*. 2012. Том 171, № 6. С. 62– 64.

3. Адо А.Д. Общая аллергология. М.: Медицина, 1978. С. 361-364.

4. Адо А.Д., Петрова И.Р. Патологическая физиология: руководство для врачей и студентов. М.: Медгиз, 1957. 538 с.

5. Алексеев А.А., Крутиков М.Г., Бобровников А.Э. Оказание медицинской помощи пострадавшим с термической травмой в чрезвычайной ситуации: клинические рекомендации. М. 2015. 26 с.

6. Альперн Д.Е. Патологическая физиология: ученик. 6-е изд., измен. и доп. М.: Медицина, 1965. 434 с.

7. Аничков Н.Н., Волкова К.Г., Гаршин В.Г. Морфология заживления ран. М.: Издательство Академии медицинских наук СССР, 1951. 127 с.

8. Арутюнян А. В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рек. СПб.: Фолиант, 2000. 104 с.

9. Архипов В.В., Городецкая Г.И., Журавлева М.В. Влияние вспомогательных веществ на эффективность и безопасность препаратов тиоктовой кислоты. Медицинское обозрение. 2016. С. 1788–1794.

10. Биологическая характеристика и микробиологическая идентификация неферментирующих грамотрицательных бактерий: учебное пособие / сост. Ю. Л. Волянский, В. И. Чернявский, С. В. Бирюкова и др. Харьков, 2010. 47 с.

11. Блатун Л.А. Местное медикаментозное лечение ран. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2011. № 4. С. 51-59.

12. Бордаков В. Н. Рана. Раневой процесс. Принципы лечения ран: учеб.-метод. пособие. Минск: БГМУ, 2014. 31 с.

13. Будкевич Л. И. Современные возможности местного лечения детей с ожоговыми ранами. *Хирургия. Журн. им. Н.И. Пирогова*. 2012. № 10. С. 48-51.

14. Варенюк І.М., Дзержинський М.Е. Методи цито-гістологічної діагностики: навчальний посібник. Київ: Інтерсервіс, 2019. 256 с.

15. Вербова Ю.М. Контроль качества препаратов на основе масла чайного дерева. *Фармаком*. 2010. № 1. С. 85-91.

16. Вивчення антимікробної активності мазей, які містять офлоксацин та левофлоксацин, щодо основних збудників ранової інфекції / Є. А. Штанюк, В. В. Мінухін, М. О. Ляпунов та ін. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2014. № 22. С. 64 – 67.

17. Вивчення властивостей мікрофлори опікової поверхні у пацієнтів з опіками / В.І. Нагайчук, О.А. Назарчук, В.Г. Палій та ін. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2014. № 22. С. 194-199.

18. Вивчення спектру фармакологічної активності нової мазі з антисептиком для лікування ран в першій фазі ранового процесу / Л. Б. Іванцик, Я. О. Бутко, Н. А. Гербіна та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 3 (20). С. 10 – 13.

19. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: методичні рекомендації / Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В.П.Широбоков, В. В. Смірнов та ін. К.: ДФЦ МОЗ України, 2004. 38 с.

20. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки затверджені МОЗ України від 05.04.07. Київ. 2007. 9 с.

21. Визначення якісного складу сучасних ранозагоюючих засобів для потреб медичної служби Збройних Сил України на особливий період / В. О. Тарасенко, О. П. Шматенко, О. В. Підлісний, А. М. Соломенний, Л. Л. Давтян. *Проблеми військової охорони здоров'я: зб. наук. праць УВМА*. 2019. Вип. 45. С. 134-145.

22. Винник Ю. С., Маркелова Н. М., Тюрюмин В. С. Современные методы лечения гнойных ран. *Сибирское медицинское обозрение*. 2013. № 1. С. 18-24.

23. Висвітлення окремих аспектів засобів для лікування ран і ранової інфекції: історико-еволюційний підхід / В. О. Тарасенко, Л. Л. Давтян, Д. С. Волох, О. Ф. Кучмістова, А. М. Соломенний, Н. О. Козіко. *Фітотерапія. Часопис*. 2020. № 2. С. 43-47.

24. Вільцанюк О. А., Хуторянський М. О. Клінічна оцінка ефективності застосування сучасних препаратів для місцевого медикаментозного лікування гнійних ран. *Галицький лікарський вісник*. 2012. № 3 (19). С. 21 – 22.

25. Владимиров Ю. А., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. М.: Наука, 1972. 252 с.

26. Влияние местного лечения препаратом Эктерицид на раневой процесс при термических ожогах / А.В. Кравцов, А.А. Цогоев, Ю.И. Исаев, Ю.И. Козин, Т.А. Курбанов. *Харківська хірургічна школа*. 2018. № 5-6. С. 51-55.

27. Влияние некоторых производных пиримидина на репаративную регенерацию кожи лабораторных животных при стрессе / А.Ф. Исмагилова, А.Е. Белов, Ф.С. Зарудий и т.д. *Эксп. и клин. фармакология*. 2000. Т. 63. № 4. С. 68-69.

28. Волегова И.А. Бузин А.И. Морфология ультратонких пленок полимерных смесей на основе полиэтиленоксида. *Высокомолекулярные соединения*. 2007. Т.49, № 9. С. 1665-1671.

29. Воложина А.И., Маянский Д.Н. Воспаление. М.: ММСИ, 1996. 111 с.

30. Вонс Б. В., Чубка М. Б., Грошовий Т. А. Проблема лікування опікових травм і характеристика лікарських засобів для місцевого лікування опіків. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2018. Т. 11, № 1(26). С 119–125.

31. Гайдуль К.В., Муконин А. А. Раневая инфекция: этиология, диагностика и антимикробная терапия: крат. информ. пособ. для практ. врачей. М.: Науч.-информ. центр ООО «АБОЛмед», 2005. 32 с.

32. Герич І. Д., Макар Д.А., Сачин В.С. Термічні опіки. Львів: Галицька вид. спілка, 2000. 32 с.

33. Гирич С.В., Лояніч Г.С. Сучасні погляди на споживні переваги та проблеми безпеки рослинних олій. *Інтелект XXI*. 2018. № 5. С. 37-41.

34. Гистологическая техника: учебное пособие / В.В. Семченко, С.А. Барашкова, В.Н. Ноздрин, В.Н. Артемьев. Омск – Орёл: Омская областная типография, 2006. 290 с.

35. Глущенко О.М. Вивчення асортименти м'яких лікарських засобів, що сприяють загоєнню ран, на фармацевтичному ринку України. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 1. С. 75-81.

36. Гостищев В. К. Клиническая оперативная гнойная хирургия: руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. 448 с.

37. Даценко Б. М. Раневой процесс как фундаментальная проблема современной клинической хирургии. *Клінічна хірургія*. Київ. 2012. № 11. С.14.

38. Деримедведь Л. В., Цулун Е. В., Колесник Т. Е. Влияние ранозаживляющих мазей на показатели белкового обмена у крыс с ожоговой травмой. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015 № 3 (38). С. 55-57.

39. Дифференциальная диагностика типа рубцовой ткани у детей с последствиями термической травмы лазерной допплеровской флуометрией / Л. В. Шурова, И. В. Бурков, Н. Р. Бархударoварова и др. *Скорая медицинская помощь*. 2006. № 3 (7). С. 218–219.

40. Дифференцированное применение мазей при лечении инфицированных ран. / В. К. Логачев, Ю. И. Исаев, О. А. Головина, Л. В. Леонтьева. *Харк. хірург. школа*. 2012. № 3. С. 95-98.

41. Доклінічне вивчення місцевоподразнювальної дії лікарських засобів: метод. рек. К. 2007. 57 с.

42. Доклінічне вивчення сенсибілізувальної дії лікарських засобів: метод. рек. К. 2002. 27 с.

43. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рек. /за ред. чл.-кор. НАМН України, акад. О. В. Стефанова. К.: Авіценна, 2001. 528 с.

44. Долинский Р. Обзор современных подходов к ведению больных с раневой инфекцией. *Хірургія, Ортопедія, Травматологія, Інтенсивна терапія*. 2020. № 2 (40). С. 25.

45. Дронов А. И., Скомаровский А. А., Колесник В. А. Современные подходы к лечению ран в зависимости от фаз раневого процесса. *Шпитальна хірургія*. 2013. № 2. С. 68 – 69.

46. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран: метод. рек. / Л. В. Яковлєва, О. В. Ткачова, Я. О. Бутко, Ю. Б. Лар'яновська. Х.: Вид-во НФаУ, 2013. 52 с.

47. Жадинский Н. В. Борота А. В., Жадинский А. Н. Роль микроорганизмов в заживлении ран. *Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія*. 2013. Т. 13, № 1. С. 210-212.

48. Жадинский Н. В., Жадинский А. Н. Пато- и саногенетические аспекты раневого процесса (обзор литературы). *Український журнал хірургії*. 2013. № 2. С. 158-162.

49. Загальна хірургія: підручник / за ред. Я. С. Березницького, М. П. Захараша, В. Г. Мішалова, В. О. Шідловського. Вінніця: Нова Книга, 2018. 344 с.

50. Загальна хірургія: підручник / С. Д. Хіміч, М. Д. Желіба, І. Д. Герич та ін. ; за ред. С. Д. Хіміча, М. Д. Желіби. 3-є вид., перероб. і доп. К.: ВСВ "Медицина", 2018. 608 с.

51. Западнюк М. П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. Использование в эксперименте. К.: Высш. шк., 1983. 383 с.

52. Значение осмотических свойств мазей при их использовании в медицинской практике /И.М. Перцев, Н.Н. Беркало, С.А. Гуторов, В.В. Постольник. *Вісник фармації*. 2002. № 2 (30). С. 7-10.

53. Иванова Ю.В. Местное лечение обширных инфицированных ран. *Харківська хірургічна школа*, 2017. № 3-4 (84-85). С. 36-39.

54. Изменения планиметрических показателей инфицированной хронической раны при ее лечении препаратами, содержащими биологически активные вещества / Л.С. Васильева, Л.К. Куликов, С.С. Казанков и др. *Сибирский медицинский журнал.* 2009. Т. 90, № 7. С. 46-49.

55. Изучение осмотической активности офтальмологических гелей /М.Н. Анурова, Е.О. Бахрушина, И.В. Лапик, А.С. Шитова, И.И. Краснюк. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2018. № 3. С. 30-34.

56. Информационный бюллетень N°365. Ожоги. ВОЗ. Март 2018г. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/ru/index.html

57. Камышников В. С. Методы клинических лабораторных исследований. М.: МЕДпресс-информ, 2020. 736 с.

58. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований). М.: МЕДпресс-информ, 2017. 720 с.

59. Коваленко О.М. Тактика лікування поширених опіків за різної глибини ураження. *Клініч. хірургія*. 2012. № 2. С. 52-56.

60. Козинец Г. П. Пути улучшения лечения остаточных ран у пострадавших с ожоговой травмой. *Український хіміотерапевтичний журнал*. 2012. № 4. С. 192.

61. Колсанов А. В., Толстов А. В., Воронин А. С. Новое в лечении ран и раневой инфекции кожи и мягких тканей. *Вестник новых медицинских технологий*. 2014. Т. 18, № 4. С. 65-66.

62. Компанієць А.О. Вакуумні пов'язки в хірургічному лікуванні поранених з дефектами м'яких тканин при бойовій травмі: дис. ……к-та мед. наук: 14.01.03/К., 2019. 171 с.

63. КОМПЕНДИУМ 2019 — лекарственные препараты [Електронний ресурс]. 2019. Режим доступу: https://compendium.com.ua/handbooks/compendium/

64. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Дослідження впливу нового комбінованого крему Дермаліпоін на проникність судинної стінки. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 4 (51). С. 27-30.

65. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри. Інформаційний лист № 210-2018. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. С. 4.

66. Кононенко Н. М., Шейхалі А.М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2017. № 1 (5). С. 16-21.

67. Кононенко Н.М., Шейхалі А.М. Дослідження in vitro протимікробних властивостей нового комбінованого крему Дермаліпоін. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 28-29 березня 2018 р. Харків, 2018. С. 172-173.

68. Коньков Д. Г. Дослідження репаративної активності вінборонової мазі за показниками тензіометрії в експерименті. *Медицина сегодня и завтра*. 2004. №4. С.93-95.

69. Корнякова В.В., Конвай В.Д., Степанова И.П. Перспективы применения альфа-липоевой кислоты при оксидативном стрессе. *Междунар. журн. приклад. фундамент. исслед*. 2017. № 11. С. 63–67.

70. Косян А.А. Антиоксидантные эффекты альфа-липоевой кислоты и перспектива ее применения в терапии диабетической автономной невропатии. *Эндокринология: новости, мнения, обучения*. 2020. Том 9, № 4. С. 66-73.

71. Крутиков М. Г., Бобровников А.Э. Местное лечение ран и ожогов. *Российские аптеки*. 2006. №5. С. 29-31.

72. Кузин М.И., Костюченко Б.М. Раны и раневая инфекция: Руководство для врачей. Издание второе, переработанное и дополненное. М.: Медицина, 1990. 592 с.

73. Лабенська І.Р., Омельянчик Л.О., Бражко О. Л. Дослідження протизапальної активності N-ацильних похідних 5-(2-метилхінолін-4-іл)-1 цистеїну. *Запорожский медицинский журнал*. 2011. Т.13, № 5. С.143-145.

74. Лазарев Н.В. Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований. Л.: Изд-во «МЕДГИЗ», 1954. С. 66-84.

75. Лечение ран: учеб.-метод. пособие / под ред. Н.А. Кузнецова, Г.В. Родомана, В.П. Туманова, В.Г. Никитина, Т.И. Шалаева. М., 2004. 33с.

76. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир, 1960. 648 с.

77. Лігоненко О. В., Дігтяр І.І., Кравців М.І. Прогнозування перебігу загоєння гнійних ран. *Хірургія України*. 2011. № 2. С. 60-64

78. Логачев В. К. Стратегия применения мягких лекарственных форм для местного лечения гнойных ран. *Вісник фармації.* 2002. №2(30). С.50-51.

79. Лупальцов В. И., Клименко Н.А. Роль медиаторов воспаления в патогенезе раневого процесса. *Клін. хірургія*. 2008. №11/12. С.17–18.

80. Лупальцов В.І., Циганенко А.Я., Клименко М.О. Рани, ранова інфекція та особливості перебігу ранового процесу в умовах радіації: навч. посіб. Х., 2004. 194 с.

81. Макиева М.С., Морозов Ю.А. Определение осмотической и адсорбционной активности in vitro мазевых композиций на основе CO_2-экстракта лимонника китайского семян. Фармация и фармакология. 2014. № 6 (7). С. 42-47.

82. Маслинова (оливкова) олія нерафінована /Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. С. 501-502.

83. Масло эфирное из Мелалеуки (Melaleuca), типа терпинен-4-ола (масло из чайного растения). ISO 4730:2004.

84. Меньшиков Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство. В 2-х томах. Том 2. М.: ГЭОТАР – Медиа, 2013. 808 с.

85. Меркулов Г. А. Курс патологогистологической техники. М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. 1969. С. 424.

86. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран / Б. М. Даценко, Н. Ф. Калиниченко, В. К. Лепахин и др. М., 1989. 45 с.

87. Нагайчук В. І. Порівняльна оцінка мікробіологічних досліджень і терміни інфікування опікових ран умовно патогенною мікрофлорою. *Хірургія України*. 2015. № 2. С. 52-55.

88. Нагайчук В. І. Сучасні підходи до надання допомоги хворим з опіками. *Мистецтво лікування*. 2010. № 5. С. 24-27.

89. Нагайчук В.І., Назарчук О.А., Палій В.Г. Вивчення властивостей мікрофлори опікової поверхні у пацієнтів з опіками. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2014. № 22. С. 194-199.

90. Нагайчук В.І., Назарчук О.А., Палій І.Г. До характеристики сучасних інфекційних ускладнень у хворих з опіками. *Укр. мед. часопис*. 2014. № 5 (103). С.123-126.

91. Назарчук О.А., Палій Д.В., Нагайчук В.І. Аналітичне прогнозування чутливості до аміноглікозидів Pseudomonas aeruginosa. *Вісник морфології*. 2016. Т.22, № 2. С. 222-224.

92. Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007р. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». К., 2007. 52с.

93. Обґрунтування технологічних параметрів ведення процесу виготовлення крему для лікування інфекційних та гнійно-запальних захворювань шкіри / В. О. Тарасенко, О. В. Підлісний, Н. О. Козіко, А. М. Соломенний. *Здоров'я суспільства*. 2020. Том 8, № 5. С. 186-192.

94. Осиков М.В., Симонян Е.В., Саедгалина О.Т. Иммунологические аспекты патогенеза термической травмы. *Современные проблемы науки и образования*. 2016. № 5. doi: http://www.scienceeducation. ru/ru/article/view?id=25087.

95. Осипова В. Л. Внутрибольничная инфекция: учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 240 с.

96. Охлопков В. А., Комаровский И. В., Скальский С. В. Мочевина — «золотой стандарт» терапии ксероза кожи. *Клиническая дерматология и венерология*. 2020. №19 (1). С. 93-100.

97. Оценка эффективности применения раневых фитопокрытий при лечении ран и раневой инфекции кожи и мягких тканей в эксперименте /

А. В. Колсанов, А. С. Воронин, А. В. Толстов и др. *Морфологические ведомости*. 2013. № 3. С. 57 – 61.

98. Очерки хирургии боевой травмы живота / В.Я. Белый, Я.Л. Заруцкий, А.И. Желтоножко, С.А.Асланян. Киев, 2016. 211 с

99. Парамонов Б.А., Чеботарев В.Ю. Методы моделирования термических ожогов кожи при разработке препаратов для местного лечения. *Бюлл. эксп. биол. и мед*. 2002. Т. 134. № 11. С. 593–597.

100. Петренко О. М., безродний Б.Г., Тихомиров А.О. Моніторинг перебігу ранового процессу у гнійних ранах. *Хірургія України*. 2014. № 2. С. 65-69.

101. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная / Пер. с англ. М.: Изд-во иностран. лит., 1962. С. 962 .

102. Попов В.А. Раневой процесс: нанобиотехнологии оптимизации. СПб.: СпецЛит, 2013. 199 с.

103. Поповичева М. Новые направления по заживлению ран. Україна. *Здоров'я нації*. 2020. № 3 (60). С. 120-124.

104. Порушення мікроциркуляції в ділянці гнійного вогнища та його корекція / М. Д. Желіба, А. П. Превар, І. Н. Ошовський та ін. *Галицький лікарський вісник*. 2012. Т. 19, № 3 (частина 2). С. 49-50.

105. Превар А. П. Сучасні аспекти лікування гнійних ран м'яких тканин. *Вісник морфології*. 2013. № 1 (19). С. 118 – 120.

106. Превар А. П., Крижановська А.В., Дзісь Н.П. Аналіз антибіотикочутливості клінічних штамів мікроорганізмів, виділених з осередків гнійно-запальних процесів м'яких тканин. *Biomedical and Biosocial Anthropology*. 2014. № 22. С. 162-185.

107. Применение левосин-вобензимовой мази в комплексном лечении гнойных ран мягких тканей / А. В. Востаникян, М. М. Мириджанян, Г. В. Манкян и др. *Медицина и качество жизни*. 2012. № 3. С. 45.

108. Принципы местного лечения ожоговых ран /Э.Я. Фисталь, В.В. Солошенко, Н.Н. Фисталь, Г.Е. Самойленко, В.М. Носенко. *Журнал острые и неотложные состояния в практике врача*. 2009. № 6 (19).

109. Пристрій для моделювання опікової хвороби: пат. № 51424 Україна. № 2002032181; заявл. 19.03.2002; опубл. 15.11.2002.

110. Прокофьев М. А., Богданов А. А. Сборник методических разработок к спецпрактикуму по химии белка и нуклеиновых кислот. М.: Изд-во МГУ, 1971. 317 с.

111. Проценко О. С. Методи оцінки перебігу ранового процесу. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. Вип. 4. 2019. С. 3-7.

112. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных: Применение прикладных программ STATISTICA. М.: Сфера, 2006. 305 с.

113. Резніков О. Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. *Ендокринологія.* 2003. №1. С. 142–145.

114. Руденко В. В. Розробка технології виготовлення мазей для лікування ран у І фазі ранового процесу. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2013. Т.8, № 2. С. 63-65.

115. Руфанов И.Г. Общая хирургия. Учебник для медицинских институтов. 6-е изд. М.: Медгиз, 1957. 492 с.

116. Савчин В.С. Особливості хірургічного лікування дітей з опіками голови та шиї. *Клінічна хірургія*. 2012. № 11. С. 30.

117. Салимов Р. М. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов / В кн.: Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М.: Ремедиум, 2000. С. 349–454.

118. Сернов Г. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. М.: Медицина, 2000. С. 318–320.

119. Сечовина /Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. С. 543-544.

120. Сидоров К. К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. Токсикология новых промышленных химических веществ. М.: Медицина, 1973. Вып. 13. С. 47–57.

121. Современные принципы лечения гнойных ран: Учебное пособие для слушателей факультета подготовки врачей и ординаторов по специальности «Хирургия» / С.Я. Ивануса, П.Н. Зубарев, Б.В. Рисман, О.А. Литвинов. СПб.: «Онли-Пресс», 2017. 36 с

122. Современный взгляд на патофизиологию и лечение гнойных ран / О.Е. Луцевич, О.Б. Тамразова, А.Ю. Шикунова и др. *Хирургия*. № 5. 2011. С. 72-77.

123. Современный взгляд на этиологию и патогенез раневого процесса (обзор литературы) / Б.С. Ниязов, Ж.Б. Мамакеев, А.А. Сабитов, Н.К. Маманов *Бюллетень науки и практики*. 2020. С. 176-190.

124. Соколовский В.В. Гистохимические исследования в токсикологии. М.: Медицина, Ленингр. отд-ние. 1971. 176 с.

125. Соломенний А.М. Визначення якісного складу сучасних ранозагоювальних лікарських засобів для потреб медичної служби збройних сил України у мирний час та на особливий період. *Український журнал військової медицини*. 2021. Т. 2, № 3. С. 93-102.

126. Сорокобаткин В. В., Фоменко М. В., Горбачева С. Е. Микробиологический мониторинг за внутрибольничными инфекциями на современном этапе. *Актуальные вопросы частной эпидемиологии: Инфекция и иммунитет*. 2012. Т. 2, № 1–2. С. 496–497.

127. Способ моделирования инфицированной раны мягких тканей: пат. 2321898 РФ. Тюменский филиал ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН. Опубл. 2006.

128. Страчунский Л.С., Белоусов Ю.Б., Козлов С.Н. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Смоленск: МАКМАХ, 2009. 494 с.

129. Структуризація особливостей та наслідків бойової травми у військовослужбовців / В. О.Тарасенко, О. Ф Кучмістова., А. М. Соломенний, О. В. Підлісний. *Військова медицина України*. 2020. Т. 19, № 4. С. 111-117.

130. Стручков В.И., Григорян А.В., Гостищев В.К. Гнойная рана. М. : Медицина, 1975. 311 с.

131. Сучасне медикаментозне лікування ран / О.О. Шалімов, В.Ф. Саєнко, Б.М. Даценко та ін. Ін-т хірургії та трансплантології АМН України. К., 2002. 35 с.

132. Сучасні підходи до лікування гнійних ран. Невирішені проблеми / В.О. Шапринський, С.С. Скальський, С.В. Паламарчук, Є.В. Шапринський *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л.Я. Ковальчука*. 2015. № 3. С. 70-73.

133. Технологічні аспекти створення м'яких лікарських засобів для лікування гнійних ран (огляд літератури) / О. П. Шматенко, О. В. Підлісний, Т. В. Приходько, А. М. Соломенний, Р. Л. Притула, Г. Б. Семенченко, Н. О. Тахтаулова. *Український журнал військової медицини*. 2020. Т. 1, № 1. С. 50-63.

134. Ткачова О. В. Фармакологічне вивчення нових лікарських препаратів, створених на основі природних субстанцій і призначених для місцевого лікування ранового процесу: дис……док. фарм. наук: спец. 14.03.05/НФаУ. Х., 2014. 349 с.

135. Толстых М.П., Ахмедов Б.А., Атаев. А.Р. Лечение ран антиоксидантами: монография. Махачкала: Изд. дом «Эпоха», 2004. 172 с.

136. Турищев С. Н. Методические подходы к изучению фармакологической регуляции процессов регенерации в эксперименте. *Фармаком*. 1996. № 4 – 5. С. 25–31.

137. Уровень циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови экспериментальных животных с индуцированным инсультом / В.Н. Святецкая Л.В. Гарманчук, Н.В. Сенченко и др. *Укр. журнал гематологии и тансфузиологии*. 2010. Т. 10, № 3. С.27–29.

138. Фармакологические эффекты альфа-липоевой (тиоктовой) кислоты О.В. Молчанова, В.И. Кочкаров, М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, М.В. Корокин, О.С. Гудырев. *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация*. 2012. № 22 (141).

139. Фисталь Э. Я. Выбор патогенетического местного лечения ожогов и трофических язв. *Клінічна хірургія*. 2012. № 11. С. 36

140. Фисталь Э. Я., Козинец Г.П., Самойленко Г.Е. Комбустиология. Донецк, 2006. 236 с.

141. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. 3-е изд. Учебник. М.: ООО «Бином-Пресс», 2007. 512 с.

142. Ходаківський О. А., Таран І. В. Навики лабораторних доклінічних досліджень. Вінниця, 2019. 37 с.

143. Хэмм Роуз Л. Раны. Диагностика и лечение: атлас-справочник. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 536 с.

144. Чайного дерева олія /Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доповнення 2. Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. С. 591-592.

145. Чернух А.М. Воспаление. Очерки патологии и экспериментальной терапии. М.:Медицина, 1979. 448 с.

146. Чернякова Г. М., Мінухін В. В. Проблема антибіотикорезистентності P. aeruginosa в опіковому стаціонарі. Здобутки клінічної та експериментальної медицини: матеріали LIX наук. – практ. конф. (м. Тернопіль, 15 черв. 2016 р.). Тернопіль. 2016. С. 205.

147. Чернякова Г. М., Мінухін В. В. Проблема вибору антибактеріальних препаратів при лікуванні хворих з опіковою інфекцією. Антибактеріальна терапія у XXI сторіччі: проблеми та досягнення: матеріали наук.-практ. конф. за участі міжнар. спец. (м. Харків, 23 листоп. 2016 р.). Харків. 2016. С. 150-152.

148. Чернякова Г. М., Мінухін В. В., Воронін Є. П. Дослідження антимікробної активності біонанокомпозитних сумішей відносно референс – штамів S. aureus та P. aeruginosa. XV з'їзд товариства мікробіологів України ім. С. М. Виноградського: матеріали з’їзду (м. Одеса, 11-15 вер., 2017 р.), Одеса. 2017. С. 296.

149. Чернякова Г. М., Мінухін В. В., Воронін Є. П. Сучасний погляд на місцеве лікування опіків з інфекційною складовою (огляд літератури). *Вісник біології та медицини*. 2016. Т.1, №133. С. 68-72.

150. Шамаева С. Х., Миронов А. Ю., Потепов А. Ф. Микрофлора ожоговых ран и её чувствительность к антибиотикам у детей с ожоговой болезнью. *Человек и его здоровье: Курский науч.-практ. вестн.* 2011. № 2. С. 91–95.

151. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вивчення антиексудативної активності крему Дермаліпоін на моделі гострого карагенінового набряку. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21 травня 2015 р. Харків, 2015. С. 135.

152. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вплив крему Дермаліпоін на перебіг запального процесу з виразним альтернативним компонентом. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, м. Харків, 08 квітня 2016 р. Харків, 2016. С. 222.

153. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження антиексудативної активності нового комбінованого крему на моделі гострого зимозанового набряку. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 12-13 листопада 2015 р. Харків, 2015. С. 267-268.

154. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження мембраностабілізувальних властивостей крему Дермаліпоін. *XV–е чтения им. В.В. Подвысоцкого*: матеріали наук. конф., м. Одеса, 26-27 травня 2016 р. Одеса, 2016. С. 223-224.

155. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження місцевоподразнювальної дії крему Дермаліпоін. *Фармакологія 2017 – крок у майбутнє*: матеріали V Нац. з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18-20 жовт. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 139-140.

156. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Протизапальна активність крему «Дермаліпоін» на моделі термічного запалення. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 травня 2014 р. Харків, 2014. С. 151.

157. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Вплив нового комбінованого крему дермаліпоін на перебіг ексудативного запалення, викликаного формаліном. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції:* матеріали VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнар. участю, м. Харків, 5-7 жовтня 2016 р. Харків, 2016. С. 251.

158. Штанюк Є. А., Мінухін В. В., Ляпунов М. О. Вивчення антимікробної активності мазей, які містять офлоксацин та левофлоксацин, щодо основних збудників ранової інфекції. *Biomedical and biosocial anthropology*. 2014. № 22. С. 64 – 67.

159. Яковлєва Л. В., Бутенко І. Г., Бездітко К. П. Оптимізація доклінічного вивчення ефективності та нешкідливості лікарських засобів у формі мазей та гелів: інформ. лист № 101-2008. К.: Укрмедпатентінформ, 2008. 5 с.

160. Яковлєва Л. В., Ткачова О. В., Кальф-Каліф С. С. Вивчення репаративної дії нових ранозагоюючих мазей природного походження. *Вісник фармації*. 2001. № 3 (27). С. 123–124.

161. Яковлєва Л.В., Ткачова О.В. Вивчення ефективності нової мазі на моделі неалергічного контактного дерматиту. Клінічна фармація. 2010. Т. 14, №4. С. 66-70.

162. Ярних Т.Г., Левачкова Ю.В., Гаркавцева О.А. Наукове обгрунтування використання ефірної олії чайного дерева в гінекології та дерматології. Фітотерапія. Часопис. 2011. № 1. С. 77-79.

163. A study of pharmacological influences on ultraviolet erythema in guinea pigs / C.V. Winder, J. Wax, V. Burr, F.Been, C.E. Rostere. *Arch int pharmacol*. 1958. C.XVI, №3-4. P. 261-292.

164. Ahn C. S., Maitz P. K. The true cost of burn. *Burns.* 2012. № 38. P. 967–974.

165. Alhede M., Bjarnsholt T., Givskov M., Alhede M. Pseudomonas aeruginosa Biofilms: Mechanisms of Immune Evasion. *Adv. Appl. Microbiol*. 2014. № 86. P. 1–40.

166. Altemeyr P. Wound Healing and skin physiology. Berlin: Spriger, 1995. 717 p.

167. American Burn Association. Burn incidence and treatment in the US: 2012 Facts sheet. Chicago. The Association, 2012. Режим доступу: http://ameriburn.org/who-we-are/media/burn-incidence-fact-sheet/

168. Antibiotic prophylaxis for preventing burn wound infection / L.A. Barajas-Nava, J. López-Alcalde, M. Roqué i Figuls, I. Solà, Cosp. X. Bonfill. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013. doi: 10.1002/14651858.CD008738.pub2

169. Arede P. The anti-repressor MecR2 promotes the proteolysis of the mecA repressor and enables optimal expression of beta-lactam resistance in MRSA. *PLoS Pathog*. 2012. №. 8. e1002816. doi:10.1371/journal.ppat.1002816.

170. Arede P., Oliveira D.C. Proteolysis of mecA repressor is essential for expression of methicillin resistance by Staphylococcus aureus. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2013. № 57. P. 2001-2002.

171. Auxenfans C., Menet V., Catherine Z. Cultured autologous keratinocytes in the treatment of large and deep burns: a retrospective study over 15 years. *Burns*. 2015. № 41. P. 71–79.

172. Auxenfans C., Shipkov H., Bach C. Cultured allogenic keratinocytes for extensive burns: a retrospective study over 15 years. *Burns*. 2014. № 40. P. 82–88.

173. Avni T. Prophylactic antibiotics for burns patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2010. № 340. P 241.

174. Azzopardi E.A, Ferguson E.L, Thomas D.W. The enhanced permeability retention effect: a new paradigm for drug targeting in infection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2013. № 68. P. 257–274.

175. Azzopardi E.A. Gram negative wound infection in hospitalised adult burn patients-Systematic Review and Metanalysis. *PLoS One*. 2014. № 9(4).e95042. Режим доступу: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3994014/

176. Barbut F., Yezli S., Mimoun M. Reducing the spread of Acinetobacter baumannii and methicillin-resistant Staphylococcus aureus on a burns unit through the intervention of an infection control bundle. *Burns*. 2013. № 39(3). P. 395–403.

177. Bisson F., Rochefort E., Lavoie A. Irradiated human dermal fibroblasts are as efficient as mouse fibroblasts as a feeder layer to improve human epidermal cell culture lifespan. *Int. J. Mol. Sci*. 2013. № 14. P. 4684–4704.

178. Bowyer G.W., Cooper G.J., Rice D. Small fragment wounds: biophysics and pathophysiology. *J. Trauma Inj. Infect*. Crit. Cara. 1996. Vol. 40, Suppl. P. 159-164.

179. Chang P., Liu J., Yu Y. Alpha-Lipoic Acid Suppresses Extracellular Histone-Induced Release of the Infammatory Mediator Tumor Necrosis Factor-α by Macrophages. *Cell Physiol. Biochem*. 2017. № 42. P. 2559–2568.

180. Chipp E., Milner C.S, Blackburn A.V. Sepsis in burns: a review of current practice and future therapies. *Ann. Plastic. Surg*. 2010. № 65. P.228–236.

181. Coban Y.K. Infection control in severely burned patients. *World J. Crit. Care Med*. 2012. № 1. P. 94–101.

182. D'Avignon L.C, Hogan B.K, Murray C.K. Contribution of bacterial and viral infections to attributable mortality in patients with severe burns: an autopsy series. *Burns*. 2010. № 36. P. 773–779.

183. Dellinger R.P, Levy M.M, Rhodes A. Surviving sepsis campaign: International guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012. *Intensive Care Med*. 2013. № 39. P. 165–228.

184. Experimental Animal Wound Models. Department of Pathology, Vanderbilt University School of Medicine and Research Service, Department of Veterans Affairs Medical Center, Nashville, Tennessee. Wounds. 2001. Vol. 13 № 1. www.medscape.com/viewarticle/407568_2

185. Golshan, A., Patel C., Hyder A. A systematic review of the epidemiology of unintentional burn injuries in South Asia. *J. Public Health*. 2013. № 35. P. 384–396.

186. Greenhalgh D. G. Sepsis in the burn patient: a different problem than sepsis in the general population. *Burns & Trauma*. 2017. № 5. P. 23.

187. Gupta S., Mahmood U., Gurung S. Burns in Nepal: A population based national assessment. *Burns*. 2015. №. 41. P. 1126–1132.

188. Haisheng Li, Zhihui Yao, Jianglin Tan. Epidemiology and outcome analysis of 6325 burn patients: a five-year retrospective study in a major burn center in Southwest China. *Scientific Reports*. 2017. № 7. P.1-9.

189. Harats M. Burns in Israel, comparative study: demographic, etiologic and clinical trends 1997-2003 vs. 2004-2010. *Burns*. 2016. № 42. P. 500–507.

190. Harding S.V., Rideout T.C., Jones P.J. Evidence for using alpha-lipoic acid in reducing lipoprotein and inflammatory related atherosclerotic risk. *Journal of Dietary Supplements*. 2012. Vol.9, Suppl.2. P.116–127.

191. Hardwicke J, Thomson R, Bamford A. A pilot evaluation study of high resolution digital thermal imaging in the assessment of burn depth. *Burns*. 2013. № 39. P. 76-81.

192. Hotchkiss R.S, Monneret G., Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Rev. Immunol*. 2013. № 13. P. 862–874.

193. Hughes M. A. Wound infection: a knowledge deficit that needs addressing. *British Journal of Nursing*. 2016. Vol. 25. P. 46-51.

194. Hussien. I. A, Habib K. A., Jassim K. A. Bacterial Colonization of Burn Wounds. *J. Baghdad for Sci*. 2012. Vol. 9 (4). P. 623–631.

195. Huttner A., Harbarth S., Carlet J. Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 World Healthcare-Associated Infections Forum. Antimicrob Resist Infect Control. 2013. № 2. P.31.

196. Idrus R.B., Rameli M.A., Low K.C. Full-thickness skin wound healing using autologous keratinocytes and dermal fibroblasts with fibrin: bilayered versus single-layered substitute. *Adv. Skin Wound Care*. 2014. № 27. P. 171–180.

197. Injury: Results From a Multicenter Database of Severe Burn Injury / M.B. Klein, D.C. Lezotte, S. Heltshe, J. Fauerbach. *J. Burn Care Res*. 2011. № 32(1). P. 66–78.

198. Jeshke M.G. Pathophysiologic response to burns in the elderly. *EBioMedicine*. 2015. № 2 P. 1536-1548.

199. Jimenez J. N. A comparison of methicillin-resistant and methicillin-susceptible Staphylococcus aureus reveals no clinical and epidemiological but molecular differences. *Int. J. Med. Microbiol*. 2013. №. 303. P. 76-83.

200. Kallstrom G. Are quantitative bacterial wound cultures useful? *J. of Clin. Micro*. 2014. № 52(8). P. 2753–6.

201. Keen E.F., Robinson B.J., Hospenthal D.R. Prevalence of multidrug-resistant organisms recovered at a military burn center. *Burns.* 2010. № 36. P.819–825.

202. Kononenko N. M., Sheikhali A. M. The study of reparative properties of a new combined cream dermalipoin on the model of linear incised wounds. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 6 (47). С. 42-49.

203. Kononenko N., Sheikhali A. Repair properties of the new combined cream dermalipoin on the model of extended scheduled wounds in rats. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016. Vol. 6 № 6. P. 722-731. eISSN 2391-8306.

204. Kwang Chear Lee, Kavita Joory, Naiem S. Moiemen History of burns: The past, present and the future. *Burns & Trauma*. 2014. Vol 2, № 4.

205. Kwei. Protocol for a systematic review of quantitative burn wound microbiology in the management of burns patients. *Systematic Reviews*. 2015. № 4. P. 150

206. Laupland K.B. The changing epidemiology of Staphylococcusaureus bloodstream infection: a multinational population-based surveillance study. *Clin. Microbiol. Infect*. 2013. № 19 P. 465-471.

207. Lewis C.J. Stem cell application in acute burn care and reconstruction. *J. Wound Care*. 2013. № 22. P. 7–8.

208. Liu W., Shi L.J., Li S.G. The Immunomodulatory Effect of Alpha-Lipoic Acid in Autoimmune Diseases. *Biomed Res Int.*, 8086257. Mar. 2019.

209. Mehta S., Singh C., Plata K.B. Beta-Lactams increase the antibacterial activity of daptomycin against clinical methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains and prevent selection of daptomycin-resistant derivatives. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2012. № 56. P. 6192-6200.

210. Mira J.C, Gentile L.F, Mathias J. Sepsis pathophysiology, chronic critical illness, and the persistent inflammatory-immunosuppression and catabolism syndrome. *Crit. Care Med*. 2017. № 45. P. 253–262.

211. Molecular pathogenesis of chronic wounds: the role of beta-catenin and c-myc in the inhibition of epithelialization and wound healing / O. Stojadinovic, H. Brem, C. Vouthounis et al. *Am. J. Pathol*. – 2005. – Vol. 167, № 8. – P. 59-69.

212. Mori R., Shaw T. J., Martin P. Molecular mechanisms linking wound inflammation and fibrosis: knockdown of osteopontin leads to rapid repair and reduced scarring. *J. Exp. Med*. 2008. Vol. 21, №205 (1). P. 43-51.

213. Mousa H.A. Wound management: a literature review. *J. Clin. Nurs*. 1998. Vol. 37, № 1. P. 11–17.

214. Müller M. Aetiology of adult burns treated from 2000 to 2012 in a Swiss university hospital. *Burns*. 2016. № 42. P. 919–925.

215. Norbury W. et al. Infection in Burns. *Surgical infections*. 2016. Vol.17. № 2. doi: 10.1089/sur.2013.134

216. Osler T., Glance, L. G., Hosmer D. W. Simplified estimates of the probability of death after burn injuries: extending and updating the Baux score. *J. Trauma*. 2010. № 68. P. 690–697.

217. Pastar I., Stojadinovic O., Yin N.C. Epithelialization in wound healing: a comprehensive review. *Adv. Wound Care*. 2014. № 3. P.445–464.

218. Peck M. D. Epidemiology of burns throughout the world. Part I: Distribution and risk factors. *Burns*. 2011. № 37. P. 1087–1100.

219. Polk H.C. Factors influencing the risk of infection after trauma. *Am. J. Surg*. 1993. Vol. 165, № 2A (Suppl). P. 2-7.

220. Prevention of Combat-Related Infections Guidelines Panel. Prevention of infections associated with combat-related burn injuries / L.C. D'Avignon, K.K. Chung, J.R. Saffle, E.M. Renz, L.C. Cancio. *J Trauma*. 2011. № 71. P. 282–289.

221. Prognostic scoring systems in burns: a review / N. N. Sheppard, S. Hemington-Gorse, O. P. Shelley, B. Philp, P. Dziewulski. *Burns*. 2011. № 37. P. 1288–1295.

222. Queiroz L. F. Epidemiology and outcome analysis of burn patients admitted to an intensive care unit in a university hospital. *Burns*. 2016. № 42. P. 655–662.

223. Rafla K., Tredget E.E. Infection control in the burn unit. *Burns*. 2011. № 37. P. 5–15.

224. Raj Nikokar. Antibiotic resistance and frequency of class 1 integrons among Pseudomonas aeruginosa, isolated from burn patients in Guilan, Iran. *Iranian jornal of microbiology*. 2013. Vol. 5. № 1. P. 36-41.

225. Rowan et al. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Critical Care*. 2015. № 19. P. 243.

226. Rowley-Conwy G. Infection prevention and treatment in patients with major burn injuries. *Nurs Stand*. 2010. doi: 10.7748/ns2010.10.25.7.51.c8053.

227. Scalise A., Bianchia A., Tartaglione C. Microenvironment and microbiology of skin wounds: the role of bacterial biofilms and related factors. *Seminars in Vascular Surgery*. 2015. Vol. 28. P. 151-159.

228. Seymour C.W., Liu V.X., Iwashyna T.J. Assessment of clinical criteria for sepsis for The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016. № 315. P. 762–774.

229. Sheyhali A. M., Kononenko N. M. The study of toxicological properties of a new combined cream “Dermalipoin”. *Вісник фармації*. 2014. № 4 (80). С. 69-71.

230. Sheyhali A.M., Kononenko N.M. Study the possibility allergenic effect of the cream «Dermatolipoin». *Topical issues of new drugs development:* матеріали XXII міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квітня 2015 р. Харків, 2015. С. 656.

231. Siran H. Epidemiology of Burns in Rural Bangladesh: An Update Int. *J. Environ. Res. Public Health*. 2017. № 14(4). doi: 10.3390/ijerph14040381

232. Technological and Biopharmaceutical Aspects of Developingthe Basics of Soft Medicinal Local Action / V. Tarasenko, A. Pidlisnyy, A. Koval et al. *Arch Pharma Pract*. 2020. 11(1). P. 92-99.

233. The effect of the new combined cream on the protein synthetic activity of cells on the model of the thermal skin damage in rats / N. M. Kononenko, A. M. Sheikhali, M. O. Ostapets, V. S. Loboda. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 62-66.

234. The study of structural-mechanical and physicochemical properties of the drug antimicrobial and anesthetic action / V. Tarasenko, A. Solomennyy, A. Pidlisnyy et al. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. № 12 (06). P. 32-36.

235. Theoretical Basis of Creation of Soft Medicinal Products of Local Application / Viktoria Tarasenko, Dmytro Volokh, Andrii Solomennyi et al. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. № 12 (06). P. 32-36.

236. Thioctic acid /European pharmacopoeia 10.0. Council Of Europe. Strasbourg Gedex, France, 2019. P. 4020-4021.

237. Transforming growth factor-β1 suppresses the up-regulation of matrix metalloproteinase-2 by lung fibroblasts in response to tumor necrosis factor-α / H. Ye, P.C. Cai, Q. Zhou et al. *Wound Repair Regen*. 2011. Vol.19, № 3. P.31–38.

238. Troshev K., Markov D. Skin wound zone after chemical injuri in experimental conditions. *An. burn. and Fire Disasters*. 1997. Vol.X, № 2. P. 362-364.

239. V. Kiuru, V. Anttila, J. Vuola Eradication of Acinetobacter baumannii Outbreak at a Burn Centre. *Supplement to J. of Burn Care and Research*. 2012.Vol. 33, № 2. P.15.

240. Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J. Int. Med. Res*. 2009. Vol. 37, № 5. P. 1528–1542.

241. Wolf S.E., Arnoldo B.D. The year in burns 2011. *Burns*. 2012. № 38. P. 1096–1108.

242. Woolliscroft J.O. Skin infections. Current Diagnosis and Treatment. Philadelphia: Current Medicine, 1999. 398 p.

243. Worthington R.J., Melander C. Combination approaches to combat multidrug-resistant bacteria. *Trends Biotechnol*. 2013. № 31. P. 177-184.

244. Wound healing activity of human urine in rats / H.A. Ramesh, M. Azmathulla, M. Baidya et al. *RJPBCS*. 2010. Vol.1, № 3. P. 750–758.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

1. Sheyhali A. M., Kononenko N. M. The study of toxicological properties of a new combined cream “Dermalipoin”. *Вісник фармації*. 2014. № 4 (80). С. 69-71. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).

2. Kononenko N. M., Sheikhali A. M. The study of reparative properties of a new combined cream dermalipoin on the model of linear incised wounds. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 6 (47). С. 42-49. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).

3. Kononenko N., Sheikhali A. Repair properties of the new combined cream dermalipoin on the model of extended scheduled wounds in rats. *Journal of Education, Health and Sport.* 2016. Vol. 6 № 6. P. 722-731. eISSN 2391-8306. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).

4. Кононенко Н. М., Шейхалі А.М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2017. № 1 (5). С. 16-21. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).

5. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Дослідження впливу нового комбінованого крему Дермаліпоін на проникність судинної стінки. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 4 (51). С. 27-30. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).

6. The effect of the new combined cream on the protein synthetic activity of cells on the model of the thermal skin damage in rats / N. M. Kononenko, A. M. Sheikhali, M. O. Ostapets, V. S. Loboda. *Вісник фармації*. 2017. № 4 (92). С. 62-66. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів і підготовці статті до друку).

7. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Протизапальна активність крему «Дерматіпоін» на моделі термічного запалення. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 травня 2014 р. Харків, 2014. С. 151.

8. Sheyhali A.M., Kononenko N.M. Study the possibility allergenic effect of the cream «Dermatolipoin». *Topical issues of new drugs development:* матеріали XXII міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 23 квітня 2015 р. Харків, 2015. С. 656.

9. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вивчення антиексудативної активності крему Дерматіпоін на моделі гострого карагенінового набряку. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали XXXII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21 травня 2015 р. Харків, 2015. С. 135.

10. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження антиексудативної активності нового комбінованого крему на моделі гострого зимозанового набряку. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали II Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 12-13 листопада 2015 р. Харків, 2015. С. 267-268.

11. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М., Мірзалієв М.Т. Вплив нового комбінованого крему дерматіпоін на перебіг ексудативного запалення, викликаного формаліном. *Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції:* матеріали VII Національного конгресу патофізіологів України з міжнар. участю, м. Харків, 5-7 жовтня 2016 р. Харків, 2016. С. 251.

12. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження мембраностабілізувальних властивостей крему Дермаліпоін. *XV–е чтения им. В.В. Подвысоцкого*: матеріали наук. конф., м. Одеса, 26-27 травня 2016 р. Одеса, 2016. С. 223-224.

13. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Вплив крему Дермаліпоін на перебіг запального процесу з виразним альтернативним компонентом. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, м. Харків, 08 квітня 2016 р. Харків, 2016. С. 222.

14. Шейхалі А.М., Кононенко Н.М. Дослідження місцевоподразнювальної дії крему Дермаліпоін. *Фармакологія 2017 – крок у майбутнє*: матеріали V Нац. з'їзду фармакологів України, м. Запоріжжя, 18-20 жовт. 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 139-140.

15. Кононенко Н.М., Шейхалі А.М. Дослідження in vitro протимікробних властивостей нового комбінованого крему Дермаліпоін. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів*: матеріали II міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 28-29 березня 2018 р. Харків, 2018. С. 172-173.

16. Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри. Інформаційний лист № 210-2018. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. С. 4. (Особистий внесок – участь у проведенні експериментальних досліджень, аналізі даних, оформленні інформаційного листа).

Продовж. дод. А

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. XXXI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, Україна, 22 травня 2014 р., форма участі – публікація тез).

2. XXXII Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, Україна, 21 травня 2015 р., форма участі – публікація тез).

3. II Міжнародна науково-практична інтернет-конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, Україна, 12-13 листопада, 2015 р., форма участі – публікація тез).

4. XXIII International scientific and practical conference of young scientists and student «Topical issues of new drugs development» (Харків, Україна, 23 квітня 2015 р., форма участі – публікація тез).

5. XXXIII Всеукраїнська науково-практична конференція за участю міжнародних спеціалістів «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, Україна, 08 квітня 2016 р., форма участі – публікація тез).

6. XV чтения им. В.В. Подвысоцкого (Одеса, Україна, 26-27 травня, 2016 р., форма участі – публікація тез).

7. VII Національний конгрес патофізіологів України «Патофізіологія і фармація: шляхи інтеграції (Харків, Україна, 5-7 жовтня 2016 р., форма участі – публікація тез).

8. V Національний з’їзд фармакологів України (Запоріжжя, Україна, 18-20 жовтня 2017 р., форма участі – публікація тез).

9. II Міжнародна науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів» (Харків, Україна, 28-29 березня, 2018 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Б

Довідка про впровадження результатів науково-дослідних робіт

"ЗАТВЕРДЖУЮ"
Проректор з науково-педагогічної роботи
Національного фармацевтичного
університету
_____професор І.М. Владимирова
"__" _____2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: репаративні, протизапальні і антимікробні властивості нового комбінованого крему «Дермаліпоін» для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

2. Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів: Національний фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра нормальної та патологічної фізіології (61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12), аспірант кафедри Шейхалі А.М.

3. Джерело інформації:

Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Дослідження впливу нового комбінованого крему Дермаліпоін на проникність судинної стінки. Український біофармацевтичний журнал. 2017. № 4 (51). С. 27-30.

The effect of the new combined cream on the protein synthetic activity of cells on the model of the thermal skin damage in rats / N. M. Kononenko, A. M. Sheikhali, M. O. Ostapets, V. S. Loboda. Вісник фармації. 2017. № 4 (92). С. 62-66.

Кононенко Н. М., Шейхалі А.М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2017. № 1 (5). С. 16-21.

Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри. Інформаційний лист № 210-2018. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. С. 4.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету МОЗ України.

5. Форма впровадження: навчальний процес, у курсі лекцій та практичних занять.

6. Ефективність впровадження: використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо механізмів дії протизапальних і репаративних засобів у місцевому лікуванні ран і опіків, що сприяє підвищенню якості їх фармацевтичної освіти.

7. Терміни впровадження: 2021-2022 навчальний рік.

8. Зауваження та пропозиції: немає. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології та фармакотерапії Національного фармацевтичного університету, протокол № 1 від 25 серпня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри фармакології та фармакотерапії
Національного фармацевтичного університету,
д.мед.н., професор С.Ю. Штриголь

Продовж. дод. Б

"ЗАТВЕРДЖУЮ"
Проректор з наукової роботи Полтавського державного медичного університету
_____професор І.П. Кайдашев
"____"_____2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція для впровадження: репаративні, протизапальні та антимікробні властивості нового комбінованого крему «Дерматіпоін» для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри.

2. Заклад, де проведена розробка, адреса, ПІП авторів: Національний фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра нормальної та патологічної фізіології (61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12), аспірант кафедри Шейхалі А.М.

3. Джерело інформації:

Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Дослідження впливу нового комбінованого крему Дерматіпоін на проникність судинної стінки. Український біофармацевтичний журнал. 2017. № 4 (51). С. 27-30.

The effect of the new combined cream on the protein synthetic activity of cells on the model of the thermal skin damage in rats / N. M. Kononenko, A. M. Sheikhali, M. O. Ostapets, V. S. Loboda. Вісник фармації. 2017. № 4 (92). С. 62-66.

Кононенко Н. М., Шейхалі А.М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2017. № 1 (5). С. 16-21.

Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри. Інформаційний лист № 210-2018. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. С. 4.

4. Базова установа, яка проводить впровадження: кафедра експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Полтавського державного медичного університету МОЗ України.

5. Форма впровадження: використання результатів наукових досліджень у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо механізмів дії протизапальних і репаративних засобів у місцевому лікуванні ран і опіків, що сприяє підвищенню якості їх медичної освіти.

6. Ефективність впровадження: викладається додаткова інформація, що сприяє кращому засвоєнню матеріалу.

7. Терміни впровадження: 2021-2022 навчальний рік.

8. Зауваження та пропозиції: немає. Обговорено та затверджено на засіданні кафедри експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією Полтавського державного медичного університету, протокол №1 від 27 серпня 2021 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри експериментальної
та клінічної фармакології з клінічною
імунологією та алергологією
Полтавського державного медичного університету
д. мед. н., доцент Р.В. Луценко

Продовж. дод. Б

"ЗАТВЕРДЖУЮ"
Проректор з наукової роботи
Харківського національного
медичного університету МОЗ України
професор В.В. М'ясоєдов
«__» _____ 2021 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів наукових досліджень до навчального процесу

1. **Назва пропозиції для впровадження:** репаративні, протизапальні і антимікробні властивості нового комбінованого крему «Дермаліпоін» для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри
2. **Ким і коли запропонований:** Національний фармацевтичний університет МОЗ України, кафедра нормальної та патологічної фізіології (61002, м. Харків, вул. Куликівська, 12), аспірант кафедри Шейхалі А.М.
3. **Джерела інформації:**
   Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Дослідження впливу нового комбінованого крему Дермаліпоін на проникність судинної стінки. Український біофармацевтичний журнал. 2017. № 4 (51). С. 27-30.
   The effect of the new combined cream on the protein synthetic activity of cells on the model of the thermal skin damage in rats / N. M. Kononenko, A. M. Sheikhali, M. O. Ostapets, V. S. Loboda. Вісник фармації. 2017. № 4 (92). С. 62-66.
   Кононенко Н. М., Шейхалі А.М. Репаративні властивості нового комбінованого крему на моделі термічних пошкоджень шкіри у щурів. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2017. № 1 (5). С. 16-21.
   Кононенко Н. М., Шейхалі А. М. Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри. Інформаційний лист № 210-2018. Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). Київ, 2018. С. 4.
4. **Де і коли впроваджено**: у науково-педагогічний процес за темою «Протизапальні засоби» кафедри фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету 2021-2022 н. р.
5. **Результати застосування:** наукових досліджень Шейхалі А.М. у навчальному процесі дозволяє розширити знання студентів щодо механізмів дії протизапальних і репаративних засобів у місцевому лікуванні ран і опіків, що сприяє підвищенню якості їх медичної освіти.
6. **Ефективність впровадження за критеріями, висловленими в джерелі інформації (п. 1, 3)** Отримані дані є теоретичним та експериментальним обгрунтуванням для застосування комбінованого засобу у формі крему «Дермаліпоін» в якості монотерапії ранового процесу.
7. **Зауваження і пропозиції**: не вносилися.

Протокол засідання кафедри № 1 від 30.08.2021 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувачка кафедри фармакології та медичної рецептури
Харківського національного медичного університету
д.фарм.н., професор Т.І. Єрмоленко

Додаток В

Інформаційний лист про нововведення в сфері Охорони Здоров'я № 210-2018 «Застосування нового комбінованого крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри»

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 210 - 2018

Випуск 25 з проблеми
«Фармація»
Підстава: рішення ЕПК «Фармація»
Протокол № 103 від 25.10.2017 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:
ФАРМАЦІЯ.

ЗАСТОСУВАННЯ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО КРЕМУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ І МІКРОБНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ШКІРИ

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

д. мед. н., проф. КОНОНЕНКО Н.М.,
ШЕЙХАЛІ А.М.

м. Київ

Продовж. дод. В

Суть впровадження: призначено для оптимізації існуючих схем лікування ран і опіків за рахунок використання нового крему

Пропонується для впровадження в науково-дослідних лабораторіях вищих медичних (фармацевтичного) навчальних закладів, науково-дослідних установ.

Проблема регенерації ран різної етіології продовжує залишатися актуальною. Це пов'язано з численними побутовими та виробничими травмами, стихійними лихами, транспортними аваріями та ін. На сьогодні найпоширенішими травмами бійців у зоні АТО залишаються травматичні ушкодження з порушенням цілісності шкірних покривів, опікові травми, інфіковані рани і виразки різного ґенезу.

Для лікування ран необхідне місцеве застосування м'яких лікарських засобів, які б мали багатоспрямовану дію та використовувалися в залежності від фази ранового процесу. Так, препарати, що використовуються в I-II фазах ранового процесу, повинні мати гідрофільні основи з помірною дегідратуючою активністю, забезпечувати протизапальну, репаративну активність та захищати від суперінфекції. Однак, багатьом сучасним лікарським засобам притаманні ряд недоліків: вузький спектр специфічної дії, недостатня ефективність, алергічні реакції та ін.

Розроблено новий комбінований препарат у формі крему для лікування запальних і мікробних захворювань шкіри умовно названий «Дермаліпоін», до складу якого увійшли: α-ліпоєва кислота, сечовина, оливкова олія, олія чайного дерева, ПЕГ-400. α-ліпоєва кислота - є коферментом групи карбоксилаз і має виражену антиоксидантну дію. Показано, що багато антиоксидантів мають протизапальні властивості, як при внутрішньому, так і при зовнішньому застосуванні. Оливкова олія має знеболюючі, репаративні та протизапальні властивості. Олія чайного дерева дуже сильний антисептик, також має виражену бактерицидну, протигрибкову, противірусну та імуностимулюючу дії. ПЕГ-400 – розчинник з вираженою осмотичною активністю, що обумовлює його широке застосування у виробництві кремів для лікування інфікованих ран, де він забезпечує осмотичну й дегідратаційну дію, що у свою чергу прискорює термін загоєння рани.

Механізми репаративної дії нового крему вивчали на моделі термічної опікової травми у щурів. Тваринам під кетаміновим наркозом на виголену ділянку шкіри накладали нагріту до 200◦ С круглу металеву пластину на 10 сек, що відповідало опіку III А-Б - III Б ступеня клінічної класифікації опіків і характеризувалося ураженням всієї товщі шкіри з повною загибеллю волосяних фолікулів, потових і сальних залоз. На 15 добу для визначення

Продовж. дод. В

рівня білково-синтетичної активності клітин (епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння термічного пошкодження) у тварин усіх експериментальних груп проводили оцінку вмісту рибонуклеопротеїдів (РНП) в цитоплазмі і дезоксирибонуклеопротеїдів (ДНП) в ядрах клітин. Як препарати порівняння використовували мазь метилурацилову і гель Тітріол (містить олію чайного дерева).

Встановлено, що при застосуванні нового крему підвищується оптична щільність РНП (табл.1) в цитоплазмі і ДНП (табл. 2) в ядрах епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння порівняно із контрольною патологією і групами препаратів порівняння.

Таблиця 1 – Оптична щільність РНП в цитоплазмі епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння, ум. од. (M ± m))

Група	Слої епітелію				Клітини фібробластичного ряду
	базальний+ парабазальний	середній	поверхневий	сумарне значення	
Інтактний контроль	0,193027±0,015	0,113774±0,012	0,112675±0,015	0,106492±0,1	0,045035±0,01
Контрольна патологія	0,030174±0,020429*	0,025397±0,009429*	0,035169±0,010944*	0,02358±0,009034*	0,003325±0,01647*
Мазь метилурацилова	0,090775±0,01881 */**	0,070343±0,0228 */**	0,088967 ±0,0302 */**	0,083361±0,01431 */**	0,037282±0,00936*/**
Гель Тітріол	0,119201±0,035103*/**	0,081806 ±0,0163*/**	0,098823±0,016395*/**	0,109944±0,015962*/**	0,052892±0,00682*/**
Крем Дермаліпоін	0,172154±0,034711**	0,141931±0,034318**	0,133001±0,026131**	0,142362±0,018573**	0,0997±0,015728**

Примітки:

1. - достовірно відносно інтактного контроля ($p \leq 0,05$);
2. **- достовірно відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Крем Дермаліпоін виявляє виразну репаративну дію за рахунок збільшення білково-синтетичної активності та прискорення репарації молекул ДНК епітеліоцитів після пошкодження, що проявляється прискоренням процесу загоєння опіків у порівнянні з контрольною патологією та препаратами порівняння ($p \leq 0,05$).

Продовж. дод. В

Таблиця 2 – Оптична щільність ДНП в ядрах епітеліоцитів багатошарового плоского епітелію в зоні епідермізації і клітин фібробластичного ряду в краях загоєння, ум. од. (M ± m)

Група	Базальний+парабазальний шари епітелію	Клітини фібробластичного ряду
Інтактний контроль	0,024902±0,004981	0,0447018±0,0070152
Контрольна патологія	0,001351±0,004753*	0,019985±0,009009*
Мазь метилурацилова	0,016717±0,005357*/**	0,033763±0,006682*/**
Гель Тітріол	0,019805±0,005028*/**	0,032966±0,005795*/**
Крем Дермаліпоін	0,026836±0,007445**	0,0412069±0,011268**

Примітки:

1. - достовірно відносно інтактного контроля ($p \leq 0,05$);
2. ** - достовірно відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$).

Отримані результати свідчать про виражені протизапальні та репаративні властивості нового крему та обґрунтовують доцільність його подальшого доклінічного та клінічного вивчення як перспективного засобу для лікування ран і опіків.

Впровадження нового репаративного засобу в практичну медицину для лікування ранового процесу дозволить підвищити ефективність, безпечність, а також скоротити терміни загоєння.

Інформаційний лист про нововведення відповідає напрямку наукових досліджень Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (№ державної реєстрації НДР: 0114U000956, термін виконання 2014-2019 рр.).

За додатковою інформацією звертатись до авторів листа: Кононенко Н.М., Шейхалі А.М., тел. (057)7063066, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 53, м. Харків, 61002.

Відповідальний за випуск: О. Мислицький.
Підписано до друку 07.12.2018. Друк. арк. 0,13. Обл.-вид. арк. 0,08. Тир. 112 прим.
Замовлення № 210. Фотоофсетна лаб. Укрмедпатентінформ МОЗ України,
04655, Київ, проспект Степана Бандери, 19 (4 поверх).

Додаток С

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»,
61010, Україна, м. Харків,
вул. Гордієнківська, 1.

Тел./факс: (057) 715-10-32, 733-17-58
E-mail: zvezda@itl.ua
www.zvezda.kharkov.ua

_____ № _____
На _____ від _____

Ректору Національного
фармацевтичного університету
проф. Аллі КОТВІЦЬКІЙ

Шановна Алло Анатолієвно!

Доводимо до Вашого відома інформацію відносно оригінального препарату «Дермаліпоін», крем для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри та опіків, 50 г у тубах алюмінієвих, що був розроблений ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка» сумісно з кафедрами товарознавства та нормальної і патологічної фізіології НФаУ. Розроблений препарат був включений до перспективного плану розвитку підприємства на 2021-2022 рр.

З повагою.

Директор
ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», д.б.н. І.В. Трутаєв

ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка»,
61010, Україна, м. Харків,
вул. Гордієнківська, 1.

Тел./факс: (057) 715-10-32, 733-17-58
E-mail: zvezda@itl.ua
www.zvezda.kharkov.ua

_____ № _____
На _____ від _____

«ЗАТВЕРДЖЕНО»
ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Україна
_____ І. В. Трутаєв
«12» 01 2021 р.

АКТ
ВПРОВАДЖЕННЯ В ПРОМИСЛОВЕ ВИРОБНИЦТВО

Даний акт складено в тому, що в умовах ПАТ Хімфармзавод «Червона зірка», Україна (м. Харків) було опрацьовано технологію виробництва крему для лікування гнійно-запальних захворювань шкіри та опіків, 50 г у тубах алюмінієвих під умовною назвою «Дермаліпоін» та перевірено відтворюваність параметрів технологічних тимчасових регламентів на виробництво препарату.

Директор з виробництва
ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка» _____ Г.О. Кропивка

Здобувач НФаУ _____ А.А. Гончарова

Аспірант НФаУ _____ А.М. Шейхалі