ԵՐԵՎԱՆԻ ՄԽԻԹԱՐ ՀԵՐԱՑՈՒ ԱՆՎԱՆ ՊԵՏԱԿԱՆ
ԲԺՇԿԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ՉԻՏՉԻՅԱՆ ԱԼԻՍԱԱԼԵՔՍԱՆԴՐԻ

β-ԳԼԻՑԻՐԵՏԻՆԱԹԹՎԻ ՀԱԿԱԲՈՐԲՈՔԱՅԻՆ ԵՎ ՀԱԿԱՆՈՑԻՑԵՊՏԻՎԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

ԺԴ.00.14 - «Դեղաբանություն» մասնագիտությամբ
բժշկական գիտությունների թեկնածուի
գիտական աստիճանի հայցման ատենախոսության

ՍԵՂՄԱԳԻՐ

ԵՐԵՎԱՆ 2019

ЕРЕВАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М. ГЕРАЦИ

ЧИТЧИЯН АЛИСА АЛЕКСАНДРОВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОГО И АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ β-ГЛИЦИРРЕТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук
по специальности 14.00.14 - «Фармакология»

ЕРЕВАН 2019

Ատենախոսության թեման հաստատվել է Երևանի Մխիթար Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանում:

Գիտական ղեկավար՝ դեղագործական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Մ.Գ. Բալասանյան

Պաշտոնական ընդդիմախոսներ՝ բժշկական գիտությունների դոկտոր Ն.Ռ. Միրզոյան

կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, պրոֆեսոր Ա.Ս. Հովհաննիսյան

Առաջատար կազմակերպություն՝ ՀՀ ԳԱԱ Օրգանական և դեղագործական քիմիայի գիտա-տեխնոլոգիական կենտրոն

Պաշտպանությունը կայանալու է 2019թ. հունիսի 25-ին ժամը 14^{00}-ին Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի գործող ԲՈԿ-ի 026 «Տեսական բժշկություն» մասնագիտական խորհրդի նիստում (ՀՀ, 0025, ք. Երևան, Կորյունի 2):

Ատենախոսությանը կարելի է ծանոթանալ Երևանի Մ. Հերացու անվան պետական բժշկական համալսարանի գրադարանում:

Սեղմագիրն առաքվել է 2019թ. մայիսի 15-ին:

Մասնագիտական խորհրդի կենսաբանական գիտությունների դոկտոր, գիտական քարտուղար
պրոֆեսոր Ա.Մ. Տեր-Մարկոսյան

Тема диссертации утверждена в Ереванском государственном медицинском университете им. М. Гераци.

Научный руководитель: доктор фармацевтических наук, профессор М.Г. Баласанян

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук Н.Р. Мирзоян

доктор биологических наук, профессор А.С. Оганисян

Ведущая организация: Научно-технологический центр органической и фармацевтической химии НАН РА

Защита диссертации состоится 25 июня 2019г. в 14^{00} на заседании специализированного совета 026 «Теоретическая медицина» ВАК при Ереванском государственном медицинском университете имени М. Гераци (РА, 0025, г. Ереван, ул. Корюна 2).

С диссертацией можно ознакомится в библиотеке Ереванского государственного медицинского университета имени М. Гераци.

Автореферат разослан 15 мая 2019г.

Ученый секретарь
специализированного совета доктор биологических наук,
профессор А.С. Тер-Маркосян

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Поиск новых противовоспалительных средств с анальгетической активностью продолжает оставаться одной из важных проблем современной медицины, что диктуется растущей социальной значимостью прогрессирующих во всем мире заболеваний, сопровождающихся воспалительным процессом и сопутствующим болевым синдромом, которые, согласно международным эпидемиологическим и клиническим исследованиям, могут явиться причиной снижения работоспособности, серьезных эмоциональных нарушений и понижения уровня жизни в целом (Koenders N. et al., 2016; Котова О.В. и соавт., 2017; Chen Z. et al, 2018). Более того, по данным ВОЗ, вследствие неадекватного лечения болевого синдрома вплоть до 64% населения периодически испытывают чувство боли, а около 45% страдают рецидивирующей или хронической болью (Медведева Л.А. и соавт., 2016). В экономически развитых странах распространенность хронических болевых синдромов варьирует от 13,8 до 56,7%, при чем прогнозируется, что тенденция увеличения числа больных с хронической болью будет сохраняться (Рачин А.П. и соавт., 2017).

Значительный прогресс в лечении воспалительных процессов и устранения боли был достигнут после применения с указанной целью соединений двух основных групп: синтетических противовоспалительных средств стероидной и нестероидной структур (Holgado D. et al., 2018). Особо быстрыми темпами пополняется арсенал нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), которые нашли широкое применение практически во всех областях медицины. По данным ВОЗ, около 30 млн людей в мире эпизодически или постоянно принимают НПВС, и эта цифра постоянно растет (Цурко В.В. и соавт., 2014). Однако, несмотря на высокую эффективность, НПВС обладают множеством побочных эффектов, которые в целом встречаются примерно в каждом четвертом случае, а у 5% больных могут представлять серьезную опасность для жизни (Журавлева М.В., 2013; Vostinaru O., 2017; Wongrakpanich S. et al., 2018). И, не случайно, что в ходе исследований, проведенных ВОЗ, ни одно из соединений группы НПВС не было признано безопасным (Simon J.P. et al., 2016; Varga Z. et al., 2017).

Сложность разработки эффективных и, в то же время, безопасных средств для лечения воспаления (Yasuda T. et al., 2005) определяется тем, что это поливалентный процесс, этиология и патогенез которого изучены недостаточно (Punchard N.A. et al., 2004), в основе которого лежит множество альтернативных и перекрещивающихся механизмов (Perretti M., 2015; Agita A. et al., 2017). Поэтому, влияние только на одну мишень патогенеза либо не сопровождается достаточным фармакологическим эффектом, либо вызывает развитие ряда побочных эффектов. В связи с этим особую значимость приобретает создание препаратов, комплексно воздействующих и регули-

рующих функциональную активность не одной, а многих молекулярных мишеней, принимающих участие в процессе воспаления (Schmid-Schonbein G.W., 2006).

В указанном плане особого внимания заслуживает критический анализ медико-социальной проблемы лекарственной полипрагмазии, обосновывающей целесообразность и необходимость разработки лекарственных средств на основе растительного сырья (Darshan S. et al., 2004).

Препараты растительного происхождения характеризуются многокомпонентным составом биологически активных соединений, соответственно, проявляют широкий спектр фармакологической активности. Сегодня многие растительные препараты представляют собой достойную альтернативу синтетическим средствам, поскольку их терапевтическая ценность доказана и научно обоснована результатами доклинических (Camacho-Barquero L. et al., 2007) и клинических исследований (Prata J. et al., 2017). Более того, показано, что по сравнению с синтетическими препаратами, препараты природного происхождения имеют такое важное преимущество, как плавное нарастание ожидаемого воздействия с развитием сравнительно слабых побочных эффектов. При этом, несмотря на богатую историю фитотерапии, тонкие механизмы проявляемых растительными препаратами эффектов остаются не полностью выявленными. Поэтому, одним из перспективных направлений в разработке лекарств растительного происхождения признаны исследования по раскрытию механизмов действия применяемых препаратов с целью возможного расширения показаний их применения.

В связи с вышеизложенным, с целью выявления особенностей действия и исследования новых сфер применения хорошо зарекомендовавших себя лекарственных препаратов, содержащих соединения растительного происхождения, наш выбор был остановлен на изучении особенностей фармакологического действия β-глицирретиновой кислоты (β-GA). β-GA - агликон глицирризиновой кислоты (Gumpricht E. et al., 2005), который относится к пентациклическим тритерпеновым сапонинам (Augustin J.M. et al., 2011), задействованным в проявлении противовоспалительной и антиноцицептивной активности многих лекарственных растений (Okoli C.O. et al., 2007; Shah S.M.M. et al., 2014).

Возрастающий интерес к изучению β-GA обусловлен ее разносторонней фармакологической активностью, включающей противовоспалительное (Chang Y. L. et al., 2010; Chung Y. W. et al., 2011), антиноцицептивное (Hussain H. et al., 2018), иммуномодулирующее (Zhao X. et al., 2012), гепатопротекторное (Gumpricht E. et al., 2005; Wu X. et al., 2008), противоопухолевое (Kuang P. et al, 2012), противовирусное (Fiore C. et al., 2008), антипаразитарное (Ukil A. et al., 2011), антибактериальное (Zhou X. et al., 2012) действия, способствовал созданию новых лекарственных средств, содержащих β-GA. Однако, доказательная база их эффективности, раскрывающая новые механизмы с обоснованием новых перспектив их применения, практически отсутствует.

Цель и задачи исследования. Целью предпринятого исследования явилась оценка эффективности β-GA в устранении патологических состояний, сопровождающихся воспалительным процессом и болью с выявлением возможных механизмов действия.

Для осуществления поставленной цели были выдвинуты следующие задачи:

- изучение противовоспалительного действия β-GA на модели острого ксилолового воспаления с морфологическим подтверждением полученных данных,
- исследование антиноцицептивной активности β-GA в тесте «*Tail-flick*»,
- планиметрическое исследование ранозаживляющего действия и анализ антибактериального спектра 10%-ой мази β-GA на модели острого термического ожога с pH-метрией ожоговой поверхности и оценкой цитограммы клеток раневого отделяемого,
- гистологическая оценка эффективности β-GA при экспериментальной гиперестезии дентина,
- микроскопическая характеристика патологических состояний слизистой оболочки полости рта и пародонта в динамике лечения препаратом «Ангиноваг», содержащим β-GA.

Научная новизна. Сравнительный анализ противовоспалительного действия и антиноцицептивной активности β-GA показал, что исследуемые эффекты препарата сопоставимы с таковыми известных синтетических средств нестероидной природы (ацетилсалициловая кислота, диклофенак натрия, парацетамол) и позволил установить наличие центрального компонента анальгезирующего действия β-GA.

Установлено, что в проявлении выявленного ранозаживляющего действия 10%-ой мази β-GA задействована ее способность устранять сдвиги pH, подавлять рост характерных для раневой поверхности бактерий, таких как *Escherichia coli, Staphilococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa и Proteus mirabilis*, и стимулировать репаративную фазу раневого процесса.

Выявлено протекторное действие β-GA, которое проявляется в ее способности стимулировать регенераторные процессы в пульпарной ткани при экспериментальной гиперестезии дентина.

Результатами клинического исследования с цитологическим подтверждением полученных данных доказано повышение эффективности лечения стоматитов, герпетических и грибковых поражений полости рта и патологий пародонта при использовании препарата “Ангиноваг”, содержащего β-GA, в сравнении с общепринятой терапией.

Научно-практическая значимость. Полученные данные о противовоспалительной, антиноцицептивной и ранозаживляющей активности β-GA могут явиться основой для создания новых, в том числе и комбинированных препаратов, для моно- или комплексной терапии ожоговых поражений и других патологий, сопровождающихся воспалением и болью.

Результаты, подтверждающие способность 10%-ой мази β-GA ингибировать экссудативную фазу воспаления, стимулировать пролиферативную фазу раневого процесса, способствуя сокращению длительности воспалительного процесса и укорочению сроков заживления раны, вместе с данными относительно способности препарата уменьшать возможное инфицирование ожоговых ран и снижать pH раневой (ожоговой) поверхности, служат обоснованием для возможного применения 10%-ой мази β-GA при термическом ожоге.

Экспериментально доказанная протекторная способность β-GA создает предпосылки для клинического применения средств, содержащих исследуемую кислоту, при гиперестезии дентина.

На основе результатов клинического исследования препарата “Ангиноваг”, содержащего β-GA, составлен акт на его клиническую апробацию по расширению показаний в стоматологической практике, как средство для местного применения в терапии острых и хронических заболеваний слизистой оболочки полости рта.

Апробация материалов диссертации. Результаты работы докладывались на ежегодной отчетной научной конференции ЕГМУ (2013г), на заседании научного общества фармакологов Армении (2018г). Апробация диссертации состоялась на научно-координационном совете ЕГМУ им. М. Гераци (протокол заседания N2, от 03.04.2019г.).

Публикации работ. Полученные результаты отражены в 5 публикациях отечественных и зарубежных журналов и материалов конференций.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 115 страницах машинописного текста, включает 35 рисунков и 5 таблиц. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, главы результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 237 источников.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для осуществления поставленной цели и решения выдвинутых задач исследования были использованы следующие экспериментальные модели и методы:

- модель острого воспаления уха крыс, индуцированного ксилолом, для оценки противовоспалительной активности β-GA по изменению массы воспаленного уха (Igbe I. and Inarumen G.O., 2013),
- окраска тканей уха крыс гематоксилином-эозином по методу Ван-Гизона (Меркулов Г. А., 1969) для гистологической оценки очага воспаления (Ma Y. et al., 2013),
- тест “*Tail-flick*” (D'Amour F.E., Smith D.L., 1941) для исследования антиноцицептивной активности β-GA по латентному времени отдергивания хвоста и расчету процента от максимально возможного эффекта (%MPE) по Keil and Delander (1995),
- метод планиметрии (Mayrovitz H.N. and Soontupe L.B., 2009) для изучения ранозаживляющей активности 10%-ой мази β-GA в модели термического ожога оценкой изменения площади раневой поверхности по модифицированной технике Garros I.C. (Garros I.C. et al., 2006), с применением компьютерной графической программы IMAGE J (Shetty R. et al., 2012),
- бактериологическое исследование ожогового отделяемого по Поздееву О.К. и соавт. (2010),
- цитологические исследование ожогового отделяемого. Для определения соотношения клеток раневого содержимого готовили мазки, которые после обработки 1-2 каплями этилового спирта, окрашивали по Папаниколау (Gupta S. et al., 2009) и отправляли на цитологическое исследование.
- pH-метрия ожоговой поверхности при помощи pH-метра мультитест ИПЛ-112 (Semico),

- модель экспериментальной гиперестезии дентина (Брсикян Н.А. и соавт., 2012) для исследования влияния β-GA на морфологические сдвиги в пульпе зубов,
- микроскопия слизистой оболочки полости рта и пародонта с характеристикой клеточного состава в динамике лечения препаратом “Ангиноваг”, содержащим β-GA для оценки его клинической эффективности в терапевтической стоматологии. Морфологические исследования были проведены при научном сотрудничестве с профессором кафедры гистологии ЕГМУ Азнауряном А.В.

Лабораторные экспериментальные исследования проведены на 170 белых половозрелых беспородных крысах массой 180-250г. Животные содержались в условиях стандартного лабораторного вивария при свободном доступе к воде и пище. Уход за животными и лабораторные манипуляции осуществлялись согласно требованиям руководства «The PHS Guide for the Care and Use of laboratory Animals» (1996г). Во всех экспериментах контрольную группу представляли животные, получавшие изотонический раствор хлорида натрия.

Клинические исследования были осуществлены с использованием смыва ротовой полости 62 добровольцев с диагностированной патологией полости рта в возрасте старше 16-и лет в соответствии с требованиями этического комитета ЕГМУ.

В экспериментах были использованы следующие вещества высокой степени очистки: β-GA (Chemsavers) (99%), стандартная проба порошка ацетилсалициловой кислоты (“Арпи-мед”, Армения), диклофенак натрия (“Hemopharm”, Сербия), в ампулах по 3 мл (75мг), стандартная проба порошка парацетамола (“Арпи-мед”, Армения), 30% водно-эмульсионная основа типа SS-4 производства AL-Fayaseel Laboratories (Amman-Jordan), препарат «Ангиноваг» (Ferrer Pharma, Испания) в виде аэрозоля.

Статистическая обработка проводилась при помощи компьютерных программ IBM SPSS Statistic 20 и Microsoft Excel 2010. Полученные данные представлены в виде групповых средних значений ± стандартное отклонение (M±SD) или групповых средних значений ± стандартная ошибка (M±SE). Соответствующие тесты параметрической статистики были применены с предшествующей проверкой нормальности распределения в ряде данных по критерию Колмогорова-Смирнова. Достоверность различий выборок при сравнении результатов двух групп была оценена при помощи двухстороннего t-теста Стьюдента для независимых выборок. Оценка статистической значимости при сравнении двух зависимых выборок была осуществлена при помощи t-критерия Стьюдента для парных выборок. При сравнении результатов данных более чем двух групп при дисперсионной равноценности был применен однофакторный дисперсионный аналитический метод (ANOVA). Во всех случаях данные считались статистически значимыми при возможном значении ошибки первого типа (α) меньше 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

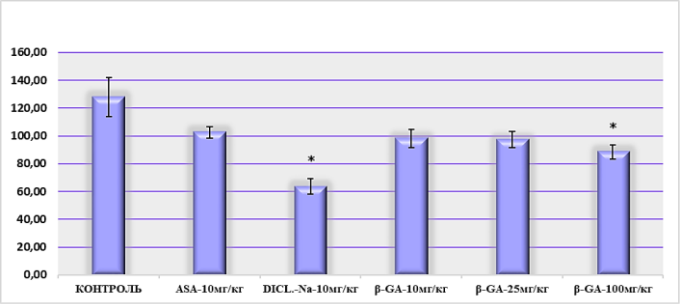
Исследование противовоспалительной активности β-GA

Результаты исследования противовоспалительной активности β-GA на модели индуцированного ксилолом острого воспаления уха крыс свидетельствуют о том, что препарат в дозах 10 и 25 мг/кг по своей противовоспалительной активности приближается к действию ацетилсалициловой кислоты, а в дозе 100 мг/кг – даже

превосходит действие ацетилсалициловой кислоты, однако уступает диклофенаку натрия.

Так, согласно полученным данным, аппликация ксилола сопровождается увеличением массы правого воспаленного уха более чем в 2 раза по сравнению с невоспаленным ухом. Предварительное внутрибрюшинное введение животным β-GA в дозе 10 мг/кг за 30 мин до аппликации ксилола сопровождается уменьшением отека тканей уха, что проявляется предотвращением увеличения массы воспаленного уха на 32,6% по сравнению с ксилоловым воспалением. Так, если разность массы воспаленного и интактного уха при ксилоловом воспалении составляла 127,8±14,0 мг, то на фоне введения указанной дозы препарата была 98,1±6,3 мг.

Увеличение дозы β-GA до 25 мг/кг показало, что при внутрибрюшинным введением последней за 30 мин до аппликации ксилола масса воспаленного уха меняется приблизительно в той же степени, что и при введении препарата в дозе 10 мг/кг: изменение массы воспаленного уха по сравнению с интактным составило 97,4±5,8 мг (рис. 1).



Δm (мг)	**127,8±14,0**	**102,5±4,1**	**63,6±5,7**	**98,1±6,3**	**97,4±5,8**	**88,4±5,1**

Рис. 1. Изменения массы воспаленного ксилолом уха крысы после внутрибрюшинного введения ацетилсалициловой кислоты (ASA), диклофенака натрия (Dicl- Na.) и β-GA (M±SE, n=8, * p<0,05 по сравнению с ксилоловым воспаление)

При введении β-GA в дозе 100мг/кг наблюдается выраженное подавление воспалительного процесса, что приводит к статистически значимому (p<0,05) понижению разности масс воспаленного и интактного уха животных до 88,4±5,1 мг (рис. 1), что указывает на то, что исследуемая доза препарата предотвращает индуцированный ксилолом процесс воспаления на 51,0%.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что β-GA обладает довольно выраженной противовоспалительной активностью, которая превосходит действие ацетилсалициловой кислоты и соизмерима с аналогичным эффектом диклофенака натрия.

Подтверждением результатов проведенных в описанной серии экспериментов послужили данные гистологической оценки срезов тканей воспаленного ксилолом уха крысы. При микроскопировании срезов тканей было выявлено, что после аппликации ксилола на фоне отека тканей воспаленного уха выявляются значительные изменения гистиоструктуры исследуемой ткани. В дермальной ткани воспаленного уха наблю-

даются признаки жировой дистрофии, деструктивные процессы в хрящевой ткани и многочисленные некротические очаги в виде некроза волосяных фолликулов, выявляется картина коагуляционного некроза с поврежденными железами.

Отмеченные выше патологические сдвиги, несколько слабее выражены на фоне предварительного внутрибрюшинного введения ацетилсалициловой кислоты в дозе 10 мг/кг за 30 мин до аппликации ксилола**.** По сравнению с ксилоловым воспалением в поверхностных слоях дермы отмечается тенденция к сохранению нормальных гистиоструктурных элементов. Волосяные мешочки относительно развиты, местами наблюдается оформленный железистый эпителий, с наличием эластичных волокон. Однако, наряду с этим, выявляются некоторые гистоморфологические нарушения в виде очагов лимфоидной инфильтрации вокруг желез и волосяных фолликулов, а также стаза эритроцитов с наличием макрофагальных элементов.

На фоне предварительного введения диклофенака натрия в дозе 10 мг/кг за 30 мин до аппликации ксилола четко выявляются эластичные волокна и поперечнополосатые мышцы. Частично наблюдается формирование волосяных фолликулов с изредка встречающимися некротизированными элементами. Однако, видны очаги жировой дистрофии, с лимфоидной инфильтрацией и дискомплексацией эластичных волокон.

Принимая во внимание превалирование противовоспалительной активности β-GA в дозе 100мг/кг, при гистологическом исследовании способности β-GA предотвращать процесс воспаления была использована указанная доза препарата. На фоне предварительного введения β-GA в дозе 100мг/кг за 30 мин до аппликации ксилола гистоморфологические изменения, обусловленные ксилоловым воспалением, были выражены слабее по сравнению с морфологической картиной срезов тканей воспаленного уха, полученных в группе животных без применения препаратов и после предварительного введения препарата сравнения - ацетилсалициловой кислоты. Так, в срезах тканей уха этой группы животных, хотя и наблюдаются некоторые патологические изменения: очаги жировой дистрофии, инфильтрации в железах и фолликулах, а также очаги некроза, окруженные соединительнотканными клетками, однако четко проявляются положительные сдвиги. Об этом свидетельствует сравнительная сохранность хрящевой ткани и поперечнополосатой мускулатуры. Кроме того, четко выявляются сосудистая система и волосяные фолликулы.

Таким образом, данные гистологического исследования полностью подтвердили полученные результаты экспериментов, свидетельствующих о наличии противовоспалительной активности β-GA.

Исследование антиноцицептивной активности β-GA

Антиноцицептивная активность β-GA была исследована в тесте отдергивания хвоста «*Tail-flick*» при сравнении с аналогичными эффектами таких известных анальгетиков, как ацетилсалициловая кислота (с преимущественно периферическим механизмом действия) и парацетамол (с преимущественно центральным механизмом действия). Полученные данные указывают на то, что антиноцицептивная активность β-GA соизмерима с активностью ацетилсалициловой кислоты в дозе 10 мг/кг. Так, применение β-GA в дозе 10 мг/кг почти не вызывает развития обезболивающего эффекта, о чем свидетельствуют лишь статистически незначительные сдвиги латентного времени отдергивания хвоста при всех временных интервалах регистрации исследуемого показателя по сравнению с контрольными данными.

Как показывают результаты проведенных экспериментов, увеличение дозы β-GA до 100мг/кг сопровождается статистически значимым ($p<0,05$) изменением латентного времени отдергивания хвоста в исследуемом тесте. Так, если у контрольной группы животных через 30 мин после предварительной оценки порог болевой чувствительности уменьшается на 25,0%, то в группе животных, получивших β-GA в дозе 100мг/кг, увеличивается на 8,9%, что свидетельствует о том, что через 30 мин β-GA на 33,9% увеличивает порог болевой чувствительности по сравнению с контрольной группой. Затем отмечается постепенное ослабление эффекта препарата с восстановлением болевой чувствительности. Об этом свидетельствует уменьшение латентного времени отдергивания хвоста, которое на 60-ой минуте введения препарата оказывается выше того же показателя для исходной величины всего на 3,6%. Затем к 90-ой и 120-ой минутах введения эффект препарата снижается, при этом регистрируется уменьшение латентного времени отдергивания хвоста соответственно на 30,4% и 51,8% по сравнению со стартовой величиной. Таким образом, согласно полученным данным, максимальный антиноцицептивный эффект β-GA проявляется через 30 мин после введения препарата (рис. 2).

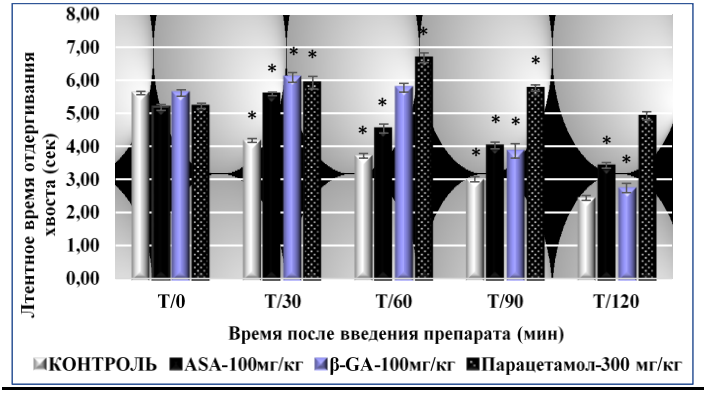


Рис. 2. Влияние ацетилсалициловой кислоты (ASA) в дозе 100мг/кг, β-GA в дозе 100мг/кг и парацетамола в дозе 300мг/кг на латентное время отдергивания хвоста (сек) крыс в тесте «Tail-flick» (M±SD, n=8, *p<0,05 по сравнению с исходной величиной (T исходное или T_0))

При сравнении описанного эффекта β-GA с таковыми ацетилсалициловой кислоты, оказалось, что в дозе 10 мг/кг ацетилсалициловая кислота, как и β-GA, вызывает слабое проявление анальгетического эффекта, а в дозе 100мг/кг ацетилсалициловая кислота ослабляет болевую чувствительность на 7,7%, к 30-ой минуте введения препарата. Дальнейшая регистрация латентного времени отдергивания хвоста на 60, 90 и 120-й минутах после введения ацетилсалициловой кислоты показала, что болевая чувствительность постепенно восстанавливается с уменьшением исследуемого показателя на 13,5%, 23,1% и 34,6% соответственно.

Итак, повышение порога болевой чувствительности через 30 минут после введения β-GA в дозе 100мг/кг практически не отличается от такового после введения ацетилсалициловой кислоты, хотя после введения β-GA болевая чувствительность восстанавливается медленнее, чем при применении ацетилсалициловой кислоты, о

чем свидетельствует то, что через 60 минут после введения β-GA порог болевой чувствительности все еще остается выше того же показателя для исходной величины, в то время как при применении ацетилсалициловой кислоты к 60-ой минуте уже наблюдается значительное снижение порога болевой чувствительности по сравнению с исходным показателем (рис. 2).

По-существу, хотя ацетилсалициловая кислота и характеризуется преимущественно периферическим механизмом анальгетического действия, однако, как показывают проведенные эксперименты, проявляет антиноцицептивную активность также и в тесте «*Tail-flick*». Полученные данные согласуются с исследованиями других авторов, которыми также констатирован факт проявления ацетилсалициловой кислотой антиноцицептивной активности в аналогичных тестах (“hot plate” test) (Ruggieri V. et al, 2010). Как известно, антиноцицепция, регистрируемая на фоне применения ацетилсалициловой кислоты, скорее является следствием ее противовоспалительного действия, кроме того, возможно, что в развитии обезболивающего эффекта ацетилсалициловой кислоты задействовано также активирование центральной серотонинергической системы.

В следующей серии экспериментов был проведен сравнительный анализ антиноцицептивной активности β-GA с препаратом, антиноцицептивная активность которого реализуется преимущественно при участии центрального механизма. С указанной целью в качестве препарата сравнения был выбран парацетамол. Для парацетамола в принятой в научной литературе дозе, равной 300 мг/кг описана антиноцицептивная активность в тесте «Tail-flick». В проведенных нами экспериментах ослабление болевой чувствительности было зарегистрировано увеличением латентного времени отдергивания хвоста по сравнению с контролем через 30, 60 и 90 мин после введения парацетамола на 13,5%, 28,8%, 11,5% соответственно, после чего наблюдалось постепенное восстановление порога болевой чувствительности, который к 120 минуте введения препарата был снижен лишь на 5,8% (рис. 2) по сравнению с исходной величиной.

Результаты экспериментов относительно антиноцицептивной активности β-GA были подтверждены также и расчетом принятого в научной литературе показателя ноцицепции – процента от максимально возможного эффекта - %MPE (Bhavesh K. Lalan et al., 2015). При расчете индекса латентности после введения β-GA в дозе 100 мг/кг через 30, 60, 90 и 120 мин после введения β-GA рассчитанный показатель составляет 10,8%, 3,7%, (-)39,9% и (-)65,5%. При этом, согласно представленным данным максимальная антиноцицептивная активность β-GA в дозе 100мг/кг регистрируется через 30 мин после введения препарата.

Таким образом, результаты как экспериментальных исследований, так и расчетных данных подтверждают наличие у β-GA антиноцицептивной активности. При этом, проведенный фармакологический анализ механизма действия β-GA, указывает на участие не только периферического, но и центрального компонента антиноцицепции в проявлении анальгетического действия препарата.

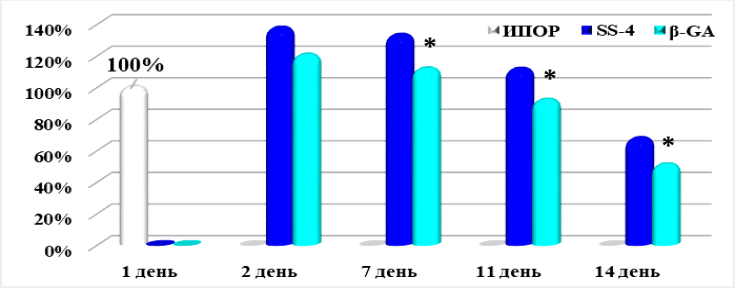
Исследование ранозаживляющей способности 10%-ой мази β-GA

Полученные результаты относительно выраженной противовоспалительной и антиноцицептивной активности β-GA в совокупности с накопленными за последние годы многочисленными данными о ее антибактериальном, иммуномодулирующем, антиоксидантном действии, а также регенерирующей способности, послужили основанием для разработки 10%-ой мази β-GA, с последующим исследованием ее раноза-

живляющей способности при различных раневых повреждениях, в частности при ожоговых травмах.

Ранозаживляющее действие 10%-ой мази β-GA, было исследовано расчётом изменений площади поверхности ожоговой раны, pH-метрией ожоговой поверхности и оценкой микрофлоры раневого экссудата с морфологическим подтверждением полученных данных.

При оценке площади поверхности ожоговой раны методом планиметрии было выявлено, что применение 10%-ой мази β-GA (экспериментальная группа), сопровождается довольно быстрым заживлением раневой поверхности по сравнению с аналогичными результатами группы животных, раны которых обрабатывались только мазевой основой и служила контролем. Как свидетельствуют результаты проведенных экспериментов, уже начиная со 2-х суток в группе животных с применением 10%-ой мази β-GA отмечались изменения площади ожоговой раны по сравнению с контрольной группой. На 11-е и 14-е сутки уменьшение поверхности ожоговой раны по сравнению с контролем было довольно выражено. Так, если в контрольной группе уменьшение площади раневой поверхности отмечается лишь на 14-е сутки эксперимента, составляя 67,5%±14,0% по сравнению с исходной величиной, то в группе животных, раны которых обрабатывались 10%-ой мазью β-GA, значимое сокращение площади ожоговой поверхности отмечалось на 11-е сутки на 8,3% ($p<0,05$), а на 14 сутки – на 49,1% (рис. 3).



	ИПОР	2 день	7 день	11 день	14 день
SS-4	100%	137,5%±20,3%	133,0%±14,4%	111,5%±13,9%	67,5%±14,0%
β-GA		120,4%±12,1%	111,7%±13,2%	91,7%±8,8%	50,9%±7,7%

Рис. 3. Изменения площади поверхности ожоговой раны (в %) в различные сроки эксперимента в контрольной (SS-4) и экспериментальной (β-GA) группах по сравнению с ИПОР (исходная площадь ожоговой раны). (M±SD, n=8, *p<0,05 по сравнению с контрольной величиной)

Результаты микробиологического исследования раневого отделяемого показали, что в экссудатах ожоговых ран контрольной и экспериментальной групп животных выявляются такие бактерии, как *Escherichia coli, Coagulase-negative staphylococcus, Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Исследования, проведенные в различные периоды времени, показали, что при применении 10%-ой мази β-GA, в экссудатах экспериментальной группы животных отсутствовал ряд бактерий, которые выявлялись в контрольной группе с применением только мазевой основы. Так, на 3-й день в контрольной группе выявлялся интенсивный рост *Escherichia coli, Coagulase-negative staphylococcus,* также наблюдались

единичные колонии плесневых грибков типа *Aspergillus,* чего не наблюдалось в экспериментальной группе. На 7-й день опыта не удалось обнаружить изменения роста *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa и Proteus mirabilis* ни в контрольной, ни в экспериментальной группах. В то же время в экспериментальной группе было зарегистрировано значительное снижение роста *Coagulase-negative staphylococcus,* однако при этом, в обеих в группах наблюдалось значительное увеличение роста *Staphilococcus aureus.* На 14-й день исследования у животных экспериментальной группы наблюдалось уменьшение роста *Escherichia coli, Staphilococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa и Proteus mirabilis*, в то время как в контрольной группе практически не выявлялось изменения микробного роста.

Измерения pH ожоговой поверхности показали снижение средних значений pH в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует о благоприятном действии мази на процесс регенерации ожоговой раны.

Регенерирующая способность 10%-ой мази β-GA на модели ожоговой раны, была оценена также изучением клеточного состава раневого содержимого с подсчетом соотношения нейтрофилов, лимфоцитов, макрофагов и фибробластов (рис. 4).

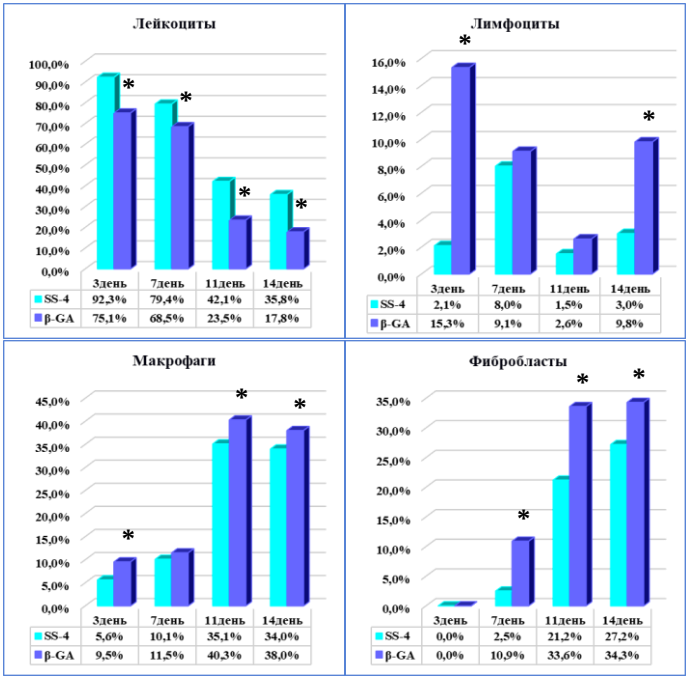


Рис. 4. Содержание лейкоцитов, лимфоцитов, макрофагов и фибробластов в процентах от общего числа клеток раневого экссудата в контрольной и экспериментальной группах (n=8, *p<0,05 по сравнению с контрольной величиной)

Согласно полученным результатам проведенного цитологического анализа раневого содержимого, в контрольной и экспериментальной группах на 3-ьи сутки

опыта наблюдались большие скопления нейтрофильных лейкоцитов, количество которых составило соответственно 92,3% и 75,1% от общего числа исследуемых клеток раневого содержимого в указанный день эксперимента, что свидетельствует об активизации воспалительных реакций в пораженных участках тканей. Клетки лимфоцитов и макрофагов наблюдались гораздо реже: их количество в контрольной группе составляло 2,1% и 5,6%, а в экспериментальной группе - 15,3% и 9,5% соответственно от общего числа клеток раневого экссудата. В то же время при морфометрическом анализе в указанный период наблюдения в обеих исследуемых группах не были обнаружены клетки фибробластического ряда (рис. 4).

Сравнительный анализ клеточного состава раневого экссудата на 7-ые сутки моделирования ожоговой раны в обеих исследуемых группах показал уменьшение количества лейкоцитов по сравнению с предыдущим сроком исследования. Особенно выраженными оказались изменения числа клеток фибробластического ряда экспериментальной группы животных, где было зарегистрировано превышение их количества в 3,6 раза по сравнению с контрольной группой.

Подсчет клеток на 11-е и 14-е сутки исследования показал значительное понижение числа лейкоцитов по сравнению с аналогичными показателями на 3-ьи сутки эксперимента: в контрольной группе - до 42,1% и 35,8%, а в экспериментальной группе - до 23,5% и 17,8%, соответственно, что свидетельствует о хроническом характере течения патологического процесса в указанный срок эксперимента. Более того, на 14-е сутки опыта в экспериментальной группе определялись более высокие показатели для лимфоцитов (9,8%) и макрофагов (38,0%) по сравнению с таковой контрольной группы (3,0% и 34,0% соответственно) (рис. 4).

При анализе клеток фибробластического ряда обнаружилось, что содержание этих клеток на 11-й и, особенно, 14-й дни эксперимента значительно превосходят их уровни в контрольной и экспериментальной группах в отличие от предыдущих периодов наблюдения (рис. 4). Одновременно для указанных сроков наблюдения было характерно превышение количества клеток фибробластического ряда в раневых содержимых животных экспериментальной группы по сравнению с контрольной в 2,1 и 1,4 раза соответственно.

Таким образом, при анализе мазков-отпечатков было установлено, что использование 10%-ой мази β-GA в значительной степени способствует активированию репаративной регенерации, с вовлечением в рану клеток нейтрофильно-макрофагального звена в меньшей степени на фоне применения препарата и, как следствие этого, меньшей выраженностью воспалительной реакции при отторжении тканей и созревании грануляций.

Влияние β-GA на морфологические сдвиги в пульпе зубов

Принимая во внимание эффективность препаратов, содержащих β-GA при лечении различных патологий полости рта и отсутствие при этом доказательной базы, подтверждающей ее способность корректировать морфологические изменения, при нарушениях целостности слизистой оболочки ротовой полости, было исследовано влияние β-GA на морфологические сдвиги в пульпе зубов на модели экспериментальной гиперестезии.

Гистологические исследования пульпы и околопульпарной ткани животных с экспериментальной гиперестезией показали, что в пульпе поврежденных зубов крыс, по сравнению с интактной группой, наблюдаются гиперемия и отек коронковой части пульпы, обнаруживаются отдельные лейкоциты. Вместе с дискомплексацией пульпар-

ной ткани, наблюдается процесс миграции одонтобластов, определяется разрастание рыхлой соединительной ткани в глубь пульпы (рис. 5. A, B).

При аппликации β-GA, в условиях гиперестезии патогистологические нарушения проявляются намного слабее. Так, происходит сравнительное восстановление гистиоструктуры в пульпарных и околопульпарных тканях зубов. В дентине зубов выявляются оформленные дентиновые канальцы, однако местами в дентиновой ткани регистрируются мелкие очаги деструктивных процессов. Рыхлая волокнистая ткань в основном сохранена. Хорошо просматриваются предентиновый и дентиновые слои и, хотя в центральной части пульпарной ткани отмечаются деструктивные процессы, они значительно менее выражены (рис. 5. C, D).

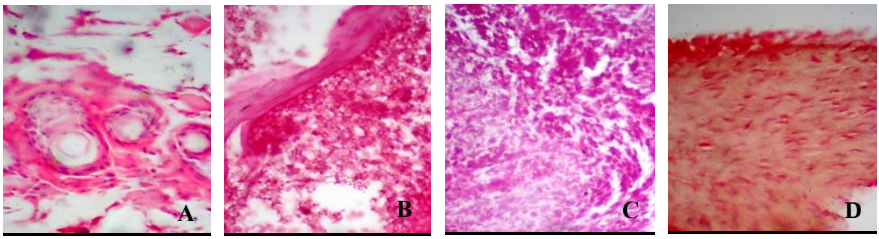


Рис. 5. Морфологически сдвиги пульпарной ткани под влиянием β-GA на модели экспериментальной гиперестезии дентина:
A – гиперемия и отек коронковой части пульпы;
B –признаки стаза крови и дискомплексации пульпарной ткани;
C – частично восстановленная пульпарная ткань;
D – восстановленная пульпарная ткань с одонтобластами;
Окраска - гематоксилин-эозином.
Увеличение - ок. 10 × об. 25 (A, C, D); ок. 10 × об. 12,5 (B).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о способности β-GA предотвращать и подавлять развитие патологических процессов в тканях зубов, уменьшая деструктивные и дистрофические изменения, вызванные обнажением дентина, и восстанавливая морфофункциональную целостность пульпарных и околопульпарных тканей.

Клиническое исследование и микроскопическая характеристика патологических состояний слизистой оболочки полости рта (СОПР) и пародонта в динамике лечения препаратом "Ангиноваг", содержащим β-GA

Данные, доказывающие способность β-GA устранять морфологические сдвиги в условиях экспериментальной гиперестезии зубов крыс, были подтверждены также и результатами клинического исследования с использованием препарата "Ангиноваг", содержащего β-GA.

Исследования, проведенные на 62 пациентах с учетом половых различий, возраста и нозологии показали, что стоматологический статус больных, получавших "Ангиноваг" имеет положительные сдвиги: длительность сроков заживления и эпителизации слизистой оболочки полости рта больных основной группы по отношению к группе сравнения, получавших общепринятую терапию в соответствии с диагностированной патологией, намного укорачиваются. Так, если без применения препарата отмечалось заживление в течение 2-3 недель, то в условиях применения "Ангиноваг"-а указанный срок укорачивался до 5-7 дней.

Отмеченный положительный результат при лечении пациентов “Ангиноваг”-ом был подтвержден цитологическим анализом. Микроскопическое исследование смыва и содержимого зубодесневых карманов топографических зон ротовой полости больных с выявленной патологией пародонта показало, что до лечения в мазках обнаруживались эпителиальные клетки (от 1 до 4-х единиц в поле зрения), единичные нейтрофилы, лимфоциты, эритроциты. Обнаруживались также единичные лейкоциты и кокки (рис. 6).

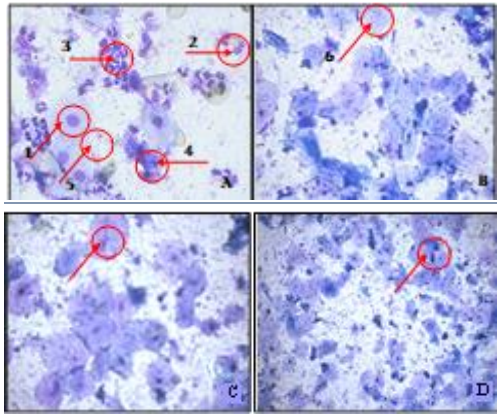


Рис. 6. Микроскопия СОПР и пародонтальных карманов до лечения (эпителиальные к-ки (1), лимфоциты (2), лейкоциты (3), кокки (4), спирохеты (5)(А) и эпителиальные клетки (6) (на поверхности которых нет адсорбции микроорганизмов) (В), и после лечения “Ангиноваг”-ом (адсорбция эпителиальной клеткой большого количества кокков (С), пласты эпителиальных клеток с признаками кератинизации (D). Окраска - по Романовскому-Гимзе. Увеличение - (А, В, х 40; С х 400)

В мазках больных после лечения “Ангиноваг”-ом (1-2 впрыскивания через каждые 2-3 часа) при микроскопии были отмечены ощутимые изменения. Так, в полях зрения обнаруживались от 8 до 20 единиц эпителиальных клеток, местами выявлялись пласты эпителия с признаками кератинизации. Характер окрашивания мазков указывал также и на взаимоотношение микрофлоры полости рта с эпителиальными клетками. Так, были отмечены адсорбированные на поверхности эпителиальных клеток кокки, что свидетельствует об эффективности лечебных мероприятий (рис. 6).

Полученные положительные клинические данные, подтвержденные цитологическими исследованиями, являются доказательной основой эффективности препарата «Ангиноваг» при различных патологиях слизистой оболочки полости рта и пародонта, что расширяет показания для его применения в клинике терапевтической стоматологии.

* * *

Таким образом, проведенный фармакологический анализ особенностей противовоспалительного, антиноцицептивного, ранозаживляющего и протекторного действия β-GA в эксперименте и эффективности лекарственной форм с содержанием β-GA в клинических исследованиях при различных патологиях полости рта, служат дока-

зательной базой открывающей широкие перспективы как для создания новых, так и расширения сферы применения существующих препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Сравнительный анализ противовоспалительной активности β-глицирретиновой кислоты (β-GA) с ацетилсалициловой кислотой (ASA) и диклофенаком натрия, осуществленный на модели индуцированного ксилолом острого воспаления и подтвержденный данными морфологического исследования, показал, что β-GA по своей активности уступает диклофенаку натрия, превосходя эффекты ASA.

2. Исследование антиноцицептивной активности β-GA в тесте «*Tail-flick*», позволило установить, что указанный эффект реализуется благодаря как периферическому, так и центральному компоненту действию препарата.

3. Выявлена способность 10%-ой мази β-GA укорачивать сроки заживления ожоговых (термических) ран, стимулированием пролиферативной фазы раневого процесса, о чем свидетельствует уменьшение в раневом экссудате числа лейкоцитов и увеличение количества лимфоцитов, макрофагов и фиброцитов.

4. Установлено, что одним из важных механизмов в проявлении ранозаживляющего действия 10%-ой мази β-GA является выявленная на экспериментальной модели ожоговой раны способность исследуемой лекарственной формы уменьшать рост микрофлоры раневого экссудата и снижать pH раневой поверхности.

5. Результаты исследований на модели экспериментальной гиперестезии дентина показали, что патогистологические нарушения в пульпарных и околопульпарных тканях зубов крыс при аппликации β-GA менее выражены, чем у животных контрольной группы.

6. Клиническое исследование препарата “Ангиноваг” содержащего β-GA с цитологическим подтверждением полученных данных доказало повышение эффективности лечения стоматитов, герпетических и грибковых поражений полости рта и патологий пародонта по сравнению с общепринятой терапией.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Читчиян А.А.** Исследование антиноцицептивной и противовоспалительной активности β-глицирретиновой кислоты. Сборник научных статей, Ереван, 2013, том 1, стр. 232-239.

2. **Баласанян М.Г., Читчиян А.А., Гаспарян Г.В.** Влияние β-глицирретиновой кислоты на морфологические сдвиги в пульпе зубов на модели экспериментальной гиперестезии дентина. "Медицинская наука Армении". 2013, стр. 45-54.

3. **Читчиян А.А., Баласанян М.Г.** Исследование ранозаживляющей активности β-глицирретиновой кислоты. Сборник статей восьмой Международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине», Санкт-Петербург, Издательство Политехнического университета, 2015, том 1, стр. 156-159.

4. **Читчиян А.А., Азнаурян А.В., Татинцян В.Г., Баласанян М.Г.** Результаты клинических исследований и микроскопическая характеристика патологических состояний слизистой оболочки полости рта и пародонта в динамике лечения препаратом «АНГИНОВАГ». Журнал "Вестник стоматологии и челюстно-лицевой хирургии", 2013, стр.48-53.

5. **Читчиян А.А., Баласанян М.Г.** Исследование механизмов ранозаживляющей способности 10%-ой мази бета-глицирретиновой кислоты. Сборник материалов XXVI Российского национального конгресса «Человек и лекарство». Москва, 2019, стр. 93.

ԱԼԻՍԱԼԵՔՍԱՆԴՐԻ ՉԻՏՉԻՅԱՆ

β-ԳԼԻՑԻՐԵՏԻՆԱԹԹՎԻ ՀԱԿԱԲՈՐԲՈՔԱՅԻՆ ԵՎ ՀԱԿԱՆՈՑԻՑԵՊՏԻՎ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԱՌԱՆՁՆԱՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

β-գլիցիրետինաթթուն, հանդիսանալով գլիցիրիզինաթթվի հիդրոլիզի արդյունք, ցուցաբերում է բազմակողմանի դեղաբանական ազդեցություններ, որի բարձր անվտանգությունը հիմք է հանդիսացել այն կիրառելու ժամանակակից բժշկության մեջ՝ տարբեր համակցված պատրաստուկների ձևով: Սակայն դրա բացահայտված հատկությունների մեխանիզմները և կիրառման համար հիմք հանդիսացող ապացուցողական տվյալների գիտական հիմնավորումը սակավ է, իսկ երբեմն էլ՝ բացակայում է: Նշված հանգամանքը հիմք հանդիսացավ ուսումնասիրելու β-գլիցիրետինաթթվի հակաբորբոքային և հականոցիցեպտիվ ազդեցության առանձնահատկությունները՝ հիմնավորելով դրա կիրառման համար հնարավոր նոր հեռանկարները:

β-գլիցիրետինաթթվի հակաբորբոքային ազդեցության ուսումնասիրումը առնետների ականջի սուր բորբոքման քսիլոլային մոդելի վրա վկայում է, որ այն առավել բարձր ակտիվություն է ցուցաբերում հետազոտված երեք դեղաչափերից (10, 25 և 100 մգ/կգ) 100 մգ/կգ դեղաչափով ներորովայնային ներարկման պայմաններում՝ կանխելով բորբոքման գործընթացը 51,0%-ով և գերազանցելով նույն դեղաչափով ացետիլսալիցիլաթթվի ազդեցությանը: Կիրառված մոդելի պայմաններում բորբոքային օջախի հյուսվածաբանական բնութագիրը հաստատեց, որ β-գլիցիրետինաթթուն կանխում է բորբոքման գործընթացին բնորոշ ախտաբանական ձևաբանական տեղաշարժերը:

β-գլիցիրետինաթթվի հականոցիցեպտիվ ակտիվության գնահատումը «Tail-flick» թեստում

ցույց տվեց, որ 100 մգ/կգ դեղաչափով պրեպարատի ներորովայնային ներմուծումից հետո նկատվում է ցավազգացողության շեմի բարձրացում, ինչի մասին է վկայում 30ր անց առնետի պոչի հետձգման ժամանակահատվածի երկարաձգումը՝ հսկիչ խմբի կենդանիների նույն ցուցանիշի համեմատ - 33,9%-ով: Ստացված ցուցանիշը հաստատվեց նաև առավելագույն հնարավոր ազդեցության տոկոսային արժեքի հաշվարկով:

Ջերմային այրվածքի փորձարարական մոդելում β-գլիցիրետինաթթվի 10%-ոց քսուքի վերքամոքիչ հատկության ուսումնասիրումը պլանիմետրիկ եղանակով ցույց տվեց, որ մշակված քսուքը օժտված է վնասված մակերեսի վերականգնողական գործընթացները խթանելու հատկությամբ՝ փոքրացնելով վերքային մակերեսը 14,4%-ով ստուգիչ խմբի նույն ցուցանիշի համեմատ: Նշված ազդեցության հնարավոր մեխանիզմները բացահայտեցին վերքային մակերեսի միկրոֆլորայի հանդեպ (*Escherichia coli, Coagulase-negative staphylococcus, Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*) β-գլիցիրետինաթթվի հակամանրէային ազդեցությունը և վնասման օջախում հյուսվածքի հիմնայնացումը կանխելու հատկությունը: Վերքային քսուքի ցիտոլոգիական վերլուծությունը ցույց տվեց, որ β-գլիցիրետինաթթվի 10%-ոց քսուքի կիրառումը հանգեցնում է լեյկոցիտների քանակի նվազմանը և ֆիբրոբլաստների քանակի բարձրացմանը՝ նպաստելով բորբոքման էքսուդատիվ ռեակցիաների ընկճմանը, վերքային գործընթացի պրոլիֆերատիվ փուլի խթանմանը, ինչը հանգեցնում է վերքի ամոքման ժամանակահատվածի կրճատմանը:

β-գլիցիրետինաթթվի հյուսվածքապաշտպան հատկության փորձարկումը դենտինի փորձարարական գերզգայնության մոդելում՝ ատամի պուլպայի կառուցվածքային փոփոխությունների գնահատմամբ, վկայում է, որ β-գլիցիրետինաթթվի կիրառումը նշված մոդելի պայմաններում թուլացնում է պուլպար և հարպուլպար հյուսվածքների ախտաբանական փոփոխությունները:

β-գլիցիրետինաթթվի դեղաբանական հատկությունների վերաբերյալ կատարված ուսումնասիրությունները իրենց հիմնավորումը գտան β-գլիցիրետինաթթու պարունակող «Անգինովագ» ցողացրի կլինիկական արդյունավետության գնահատմանը նվիրված հետազոտություններում: Ստացված տվյալների համաձայն ստոմատիտով, հերպետիկ և սնկային ախտահարումներով, ինչպես նաև պարադոնտի ախտահարումներով հիվանդների շրջանում պատրաստուկի կիրառումը բերում է հիվանդների ստոմատոլոգիական կարգավիճակի ցուցանիշների դրական տեղաշարժերի: «Անգինովագ» ստացած հիվանդների շրջանում բերանի լորձաթաղանթի էպիթելիզացիայի և բուժման տևողությունը գրեթե 3 անգամ կրճատվում է: Կլինիկական հետազոտության դրական արդյունքները հաստատվել են բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի բջջաբանական ապացուցողական հետազոտություններով:

Այսպիսով, փորձարարական պայմաններում β-գլիցիրետինաթթվի ազդեցության առանձնահատկությունների դեղաբանական վերլուծությունը և կլինիկական հետազոտություններում β-գլիցիրետինաթթու պարունակող դեղերի արդյունավետության գնահատումը կարող են հանդիսանալ ապացուցողական հիմք, որը հնարավորություն կտա ընդլայնել առկա դեղերի կիրառման ոլորտը, ինչպես նաև մշակել β-գլիցիրետինաթթու պարունակող նոր դեղեր:

ALISA A. CHITCHIYAN

INVESTIGATION OF ANTI-INFLAMMATORY AND ANTINOCICEPTIVE PECULIARITIES OF β-GLYCYRRHETINIC ACID

SUMMARY

β-glycyrrhetinic acid (β-GA) - a product of the glycyrrhizinic acid hydrolysis, possesses a wide range of pharmacological effects and its high safety has been the basis for β-GA usage in different combined preparations in clinical practice. However, the investigation of β-GA action mechanisms

and its usage demand the evidence based scientific justification with more details. The peculiarities of anti-inflammatory and antinociceptive action of the β-GA, substantiating the possible new perspectives for its usage were studied.

Investigation of the anti-inflammatory effect of β-GA in different doses (10, 25 and 100 mg/kg i.p.) on the xylene-induced acute inflammation model of rat ear demonstrated, that β-GA expresses its higher efficacy preventing inflammation processes for 51.0% in dose 100 mg/kg and exceeds the effect of the same dose of Acetylsalicylic acid. The histological investigation of the inflammatory focus on the same model proved the ability of β-GA to prevent pathological structural changes, which are typical for inflammation.

Evaluation of antinociceptive activity of β-GA in “Tail-flick” test demonstrated that intraperitoneal injection of preparation in dose 100 mg/kg results in increased pain threshold, which is expressed by prolongation of the rat tail flick latency period by 33.9% compared to the same indicator of animals from the control group. Moreover, the obtained data was confirmed by accepted in literature calculation of the of maximum possible effect percentage.

The wound healing property of the 10% β-glycyrrhetinic acid ointment was studied on the experimental burn model according to the planimetric method. Statistical analysis of the obtained data showed that designed ointment has an ability to stimulate regenerative processes of damaged surface, reducing the wound area by 14.4%. The possible mechanisms of above-mentioned activity were proved by antibacterial effects of β-GA on the wound surface microflora (*Escherichia coli, Coagulase-negative staphylococcus, Staphylococcus aureus, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa*) and its ability to prevent the tissue alkalization of the damaged area. The cytological examination of the wound smear showed that the application of 10% ointment of β-GA results in decreased number of leucocytes and increased number of fibroblasts, contributing to suppression of exudative reactions of inflammation and stimulating proliferative stage of the wound healing, which leads to a shortening of wound healing period.

The investigation of tissue protective properties of β-GA on the dentine hypersensitivity experimental model with evaluation of dental pulp structural changes showed that β-GA under these conditions reduces the pathological changes in pulp and parapulpar tissue.

The obtained results of the β-GA pharmacological properties investigation were confirmed in studies conducted for evaluation of clinical efficacy of "Anginovag" aerosol, which contains β-GA. According to the obtained data, the application of the preparation in patients with stomatitis, herpetic and fungal lesions as well as paradontal diseases leads to the positive changes of indicators governing stomatological status of patients. The duration of the treatment and period of mucous membrane epithelization becomes reduce about three times among patients treated by "Anginovag". The positive results of clinical trials were confirmed by evidence base cytological research of mouth cavity mucous membrane.

Thus, the pharmacological analysis of β-GA’s action peculiarities in experimental conditions and the evaluation of β-GA containing preparations efficacy in clinical trials can serve as an evidence base to expand the range of existing drugs application and develop new preparations containing β-GA.