

УДК 615.262.1–022.513.2: 546.57: 613.165.6: 57.084

## ФОТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ МАЗИ ТИОТРИАЗОЛИНА С НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА ПРИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМ ОБЛУЧЕНИИ КОЖИ МОРСКИХ СВИНОК

Лесовой В.Н., Звягинцева Т.В., Гринь В.В., Миронченко С.И.

*Харьковский национальный медицинский университет, Харьков, e-mail: veryn44ik@mail.ru*

Исследования проведены на 24 белых морских свинках-альбиносах, разделенных на 4 группы ( $n = 6$ ): 1 – интактные; 2 – ультрафиолетовое облучение (контроль, без лечения); 3 – ультрафиолетовое облучение+мазь тиотриазолина 2% (ОАО «Химфармзавод «Красная звезда», Украина), 4 – ультрафиолетовое облучение+мазь тиотриазолина, содержащая наночастицы серебра (получены методом электронно-лучевого выпаривания и конденсации веществ в вакууме). Животных 2, 3, и 4 групп облучали 2 мин с помощью ртутно-кварцевой лампы в дозе 1 МЭД (минимальная эритемная доза). Группам 3 и 4 мази наносили на участок кожи за 1 час до и через 2 часа после облучения, а затем ежедневно до исчезновения эритемы. Уровень повреждающего действия оценивали по интенсивности и длительности эритемной реакции. После исчезновения эритемы во всех группах определяли содержание общих метаболитов оксида азота, нитрит-аниона и нитратов в коже и крови. Установлено, что мазь тиотриазолина с наночастицами серебра, снижая интенсивность и сокращая длительность эритемы, обладает более выраженной фотопротекторной и противовоспалительной активностью, чем мазь тиотриазолина. Исчезновение эритемы сопровождается нормализацией всех метаболитов оксида азота в коже и сыворотки крови.

**Ключевые слова:** тиотриазолин, наночастицы серебра, ультрафиолетовое облучение, оксид азота

## THE PHOTOPROTECTIVE EFFECT OF OINTMENT WITH THIOTRIAZOLINE AND SILVER NANOPARTICLES IN EXPERIMENTAL ULTRAVIOLET IRRADIATION

Lesovoj V.N., Zvyagintseva T.V., Grin V.V., Mironchenko S.I.

*Kharkov National Medical University, Kharkov, e-mail: veryn44ik@mail.ru*

We have done the research of the photoprotective effects of ointment containing Thiotriazoline with silver nanoparticles on the model of ultraviolet erythema. The study included 24 Guinea pigs-albinos. They were divided into 4 groups ( $n = 6$ ): first group consisted of intact animals; in second there were animals undergone local ultraviolet irradiation (control group without treatment); animals of the third and fourth groups in a treatment-and-prophylactic regimen were prescribed Thiotriazoline ointment and ointment containing Thiotriazoline with silver nanoparticles (produced by electron beam evaporation and condensation of substances in vacuo) accordingly. Animals of the second, third and fourth groups were irradiated 2 minutes by using a mercury quartz lamp in a dose 1 MED (minimum erythermal dose). Thiotriazoline ointment and ointment containing Thiotriazoline with silver nanoparticles were applied on the skin area 40 minutes before, 2 hours after an irradiation and daily up to erythema extinction. Our study tested the influence of ointment with Thiotriazoline and silver nanoparticles to the duration and intensity of erythema reaction and to the nitric oxide metabolites skin and plasma level experimental animals. As a result of our research the investigated preparation significantly reduce the duration of erythema almost 2-fold compared to the group without treatment and by 25% compared with the group treated with Thiotriazoline ointment and its intensity – by 38 and 23% respectively. Moreover, the using of ointments containing Thiotriazoline with silver nanoparticles normalized the nitric oxide metabolites skin and plasma level Guinea pigs. Consequently ointment with Thiotriazoline and nanoparticles of silver has potent photoprotective and anti-inflammatory activity.

**Keywords:** Thiotriazoline, silver nanoparticles, ultraviolet irradiation, nitric oxide

В последние годы проблема защиты кожи от негативных эффектов ультрафиолетового излучения (солнечный ожог, фотодерматиты, канцерогенез, фотостарение, фотоаллергии, кератоконъюнктивиты) становится все более актуальной [1, 3, 11]. Поэтому целесообразным является поиск и изучение новых фотозащитных средств. Ультрафиолетовое облучение (УФО) кожи сопровождается ответной реакцией в виде эритемы, которая представляет собой асептическое воспаление кожи альтеративно-экссудативного характера. Одним из важнейших медиаторов воспаления является оксид азота (NO), обладающий как провоспалительными, так и противовоспалительными свойствами [8], антимикробным действием [5]. NO также имеет значение в механизмах неспецифиче-

ского иммунитета и тканевого повреждения через модуляцию воспалительного процесса и апоптоза [4].

Одним из перспективных направлений создания новых лекарственных средств является использование наноматериалов в составе лекарственных форм путем образования комплекса между известными лекарственными средствами и наночастицами, в частности, наночастицами серебра, обладающего противовоспалительным, противомикробным, иммуномодулирующим действием [10].

Харьковским национальным медицинским университетом предложена новая субстанция, содержащая тиотриазолин (обладает антиоксидантным, мембраностабилизирующим и иммуномодулирующим

действием) и наночастицы серебра [12, 13]. Субстанция получена в Международном центре электронно-лучевых технологий Института электросварки им. Е.О. Патона НАН Украины, возглавляемого академиком Б.Е. Патонем. Метод получения наночастиц серебра, предложенный академиком Б.А. Мовчаном [7], состоит в электронно-лучевом выпаривании и конденсации веществ в вакууме и отличается от других методов вакуумного выпаривания универсальностью, технологической гибкостью, производительностью и экономичностью. На основе субстанции совместно с ОАО «Химфармзавод «Красная звезда» изготовлена мазь тиотриазолина, которая содержит наночастицы серебра [12, 13].

**Цель данной работы** – изучение фотопротекторного действия мази, содержащей тиотриазолин с наночастицами серебра, при локальном ультрафиолетовом облучении кожи морских свинок.

#### Материалы и методы исследования

Исследования были выполнены на 24 морских свинках, разделенных на 4 группы ( $n = 6$ ): 1 – интактные; 2 – УФО (контроль, без лечения); 3 – УФО + мазь тиотриазолина 2% (ОАО «Химфармзавод «Красная звезда», Украина), 4 – УФО + мазь тиотриазолина, содержащая наночастицы серебра (0,00081%). Данная концентрация получена в результате скрининговых исследований противовоспалительного действия мази с разной концентрацией наночастиц серебра [12, 13].

Фотопротекторную активность лекарственных средств изучали на модели острого экссудативного воспаления – УФ-эритемы [9]. Уровень повреждающего действия оценивали по интенсивности и длительности эритемной реакции. Эритему учитывали через 1, 2, 4 часа после облучения и ежедневно вплоть до ее исчезновения и оценивали в баллах для каждого пятна: 0 – отсутствие эритемы, 1 – слабая эритема, 2 – четко выраженная эритема. Суммировали интенсивность трех пятен [9]. Мази наносили на поврежденный участок кожи за 1 час до и через 2 часа после облучения, а затем ежедневно вплоть до исчезновения эритемы. Эксперименты на животных проведены в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и других научных целях, законом Украины «О защите животных от жестокого отношения».

В коже и сыворотке крови определяли содержание общих метаболитов NO, нитрит-аниона, нитратов спектрофотометрическим методом [6]. Все показатели изучали сразу после исчезновения эритемы. Полученные данные обрабатывались статистически методом вариационной статистики, при сравнении выборок – с помощью критерия Стьюдента [2].

#### Результаты исследования и их обсуждение

В группе контроля уже через 1 час после облучения развивалась эритема с интенсивностью 0,81 баллов, через 2 часа –

1,06 баллов. Через 4 часа после облучения суммарная интенсивность 3-х пятен нарастала, составляя 1,31 баллов, достигала максимума на 2 сутки – 1,65 баллов, начиная с третьих суток постепенно снижалась и исчезала на 10 сутки.

У животных с применением препарата сравнения «Мазь тиотриазолина 2%» длительность эритемы уменьшалась до 7 суток, максимум эритемной реакции также отмечался на 2 сутки, но ее выраженность в этот срок была меньше на 23%, чем в группе без лечения.

Исследуемая мазь тиотриазолина с наночастицами серебра более эффективно уменьшала интенсивность эритемы. Так, суммарная интенсивность эритемы через 1 час после облучения составляла 0,17 балла, что меньше на 79% по сравнению с контролем и на 71% по сравнению с животными при лечении мазью тиотриазолина. Через 2 и 4 часа выраженность эритемной реакции оставалась достоверно ниже, чем в группе без лечения (на 69 и 62% соответственно), а также в сравнении с группой с применением мази тиотриазолина (на 58 и 47% соответственно). На 2 сутки интенсивность эритемы была меньше по сравнению с контролем и группой, получавшей мазь тиотриазолина, на 56 и 43% соответственно. Максимум эритемы регистрировался на 3 сутки в отличие от предыдущих групп и составлял 1,28 балла. Эритема исчезала на 6 сутки, сокращаясь практически в 2 раза по сравнению с животными, которым лечение не проводилось, и на 25% по сравнению с группой препарата сравнения.

Биохимические исследования показали, что в группе контроля развитие эритемной реакции кожи сопровождалось повышением содержания в коже общих метаболитов NO на 33%, нитрит-аниона на 27% и нитратов на 34% в сравнении с интактными животными (рис. 1).

Мазь тиотриазолина нормализовала только содержание нитрит-аниона в коже, уменьшая его уровень на 25% относительно контроля. Уровень общих метаболитов NO и нитратов при ее применении снижался на 15 и 13% в сравнении с группой без лечения, но был выше показателя интактных животных на 21 и 24% соответственно (рис. 1).

Под влиянием мази, содержащей тиотриазолин с наночастицами серебра, уровень общих метаболитов NO в коже животных снижался на 30%, нитрит-аниона – на 35%, нитратов – 40% по сравнению с контролем, достигая показателей интактных животных. При этом содержание всех метаболитов NO в коже при применении мази тиотриазолина с наносеребром также было

достоверно ниже этих показателей у животных с применением мази тиотриазолина на 17, 13 и 32% соответственно (рис. 1).

Направленность изменений концентрации метаболитов NO в крови сходна с на-

блюдаемой в коже. У облученных животных без лечения наблюдалось увеличение содержания всех метаболитов NO в крови в 1,6 раза относительно интактных животных (рис. 2).

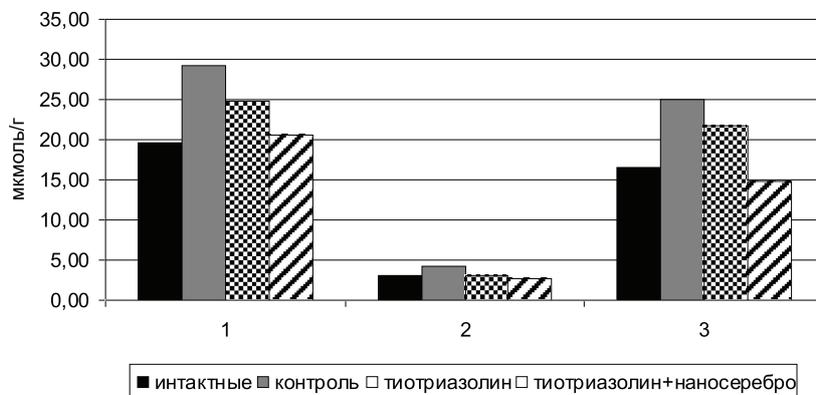


Рис. 1. Влияние мази, содержащей тиотриазолин с наночастицами серебра, на уровень общих метаболитов оксида азота, нитрит-аниона и нитратов в коже морских свинок при локальном УФО. Примечание:

1. 1 – общие метаболиты NO; 2 – нитрит-анион; 3 – нитраты;
2. \* –  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с интактными животными;
3. # –  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с группой без лечения;
4. ^ –  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь тиотриазолина

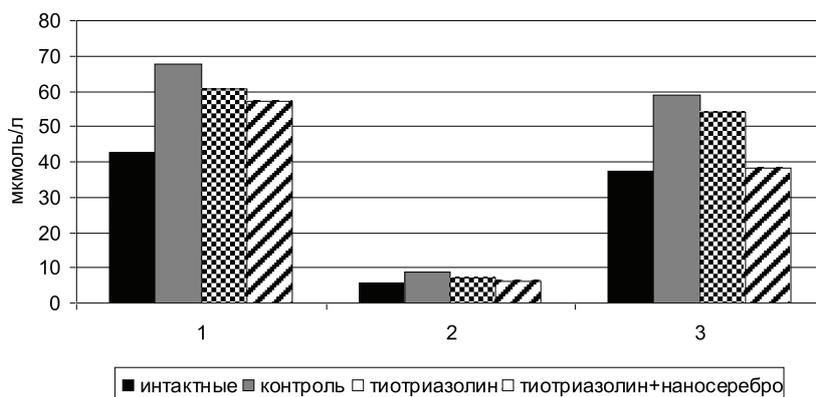


Рис. 2. Влияние мази, содержащей тиотриазолин с наночастицами серебра, на уровень общих метаболитов оксида азота, нитрит-аниона и нитратов в крови морских свинок при локальном УФО. Примечание:

1. 1 – общие метаболиты NO; 2 – нитрит-анион; 3 – нитраты;
2. \* –  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с интактными животными;
3. # –  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с группой без лечения;
4. ^ –  $p < 0,05$  – достоверность различий по сравнению с группой, получавшей мазь тиотриазолина

Лечебно-профилактическое применение препарата сравнения «Мазь тиотриазолина 2%» снижало только концентрацию нитрит-аниона на 21% в сравнении с группой контроля, не влияя на уровень общих метаболитов NO и нитратов (рис. 2).

При использовании мази, содержащей тиотриазолин с наночастицами серебра, уровень всех метаболитов NO в крови достигал физиологических значений (рис. 2). Концентрация общих метаболитов NO, ни-

трит-аниона и нитратов в крови была достоверно ниже по сравнению с таковыми показателями как относительно контроля (на 34, 32 и 35% соответственно), так и животных с применением мази тиотриазолина (на 27, 14 и 29% соответственно).

Таким образом, включение наночастиц серебра в субстанцию тиотриазолина усиливает фотопротекторное и противовоспалительное действие мази, что проявляется снижением интенсивности, длительности

эритемной реакции и подтверждается нормализацией всех метаболитов NO в коже и крови.

### Выводы

1. Мазь тиотриазолина, содержащая наночастицы серебра, обладает выраженным фотопротекторным действием, снижая интенсивность и сокращая длительность эритемы.

2. Одним из механизмов фотопротекторного действия мази тиотриазолина, содержащей наночастицы серебра, является нормализация уровня всех метаболитов оксида азота в коже и крови.

### Список литературы

1. Берзой А. А. Ультрафиолетовое излучение и рак // Новый хирургический архив. – 2004. – Т. 2, № 3. – С. 16–20.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
3. Звягинцева Т.В., Миронченко С.И., Желнин Е.В. Фотозащитное действие альтана и мази тиотриазолина в эксперименте // Экспериментальная и клиническая медицина. – 2009. – № 2. – С. 63–67.
4. Каминская Л.Ю., Жлоба А.А., Александрова Л.А. Влияние донатора NO нитрозотиола глутатиона на уровень окислов азота и малонового диальдегида в крови крыс // Артериальная гипертензия. – 2005. – Т. 11, № 1. – С. 5–9.
5. Мажитова М.В. Спектрофотометрические определение уровня метаболитов монооксида азота в плазме крови и ткани мозга белых крыс // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 3. – С. 45–48.
6. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15–18.
7. Мовчан Б.А. Электронно-лучевая гибридная нанотехнология осаждения неорганических материалов в вакууме // Актуальные проблемы современного материаловедения. – 2008. – Т. 1. – С. 227–247.
8. Сомова Л.М., Плехова Н.Г. Оксид азота как медиатор воспаления // Вестник ДВО РАН. – 2006. – № 2. – С. 77–80.
9. Стефанов А.В. Биоскрининг. Лекарственные средства. – Киев: Авиценна, 1998. – 189 с.
10. Чекман И.С. Фармакологический, токсикологический и клинический аспекты наномедицины //

Фармакология и лекарственная токсикология. – 2008. – № 4(5). – С. 3.

11. Яровая Н.Ф. Фотодерматозы // Лечащий врач. – 2009. – № 5. – С. 24–28.

12. Патент України № 77777. 25.02.2013.

13. Патент України № 77770. 25.02.2013.

### References

1. Berzoy A. A. *Novyy khirurgicheskiy arkhiv*, 2004, Vol. 2, no. 3, pp. 16–20.
2. Glants S. *Mediko-biologicheskaya statistika* [Biomedical Statistics]. Moscow, Practice, 1998. 459 p.
3. Zvyagintseva T.V., Mironchenko S.I., Zhelnin E.V. *Eksperimentalnaya i klinicheskaya meditsina*, 2009, no. 2, pp. 63–67.
4. Kaminskaya L.Y., Zhloba A.A., Aleksandrova L.A. *Arterialnaya gipertenziya*, 2005, Vol. 11, no. 1, pp. 5–9.
5. Mazhitova M.V. *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya*, 2011, no. 3, pp. 45–48.
6. Metelskaya V.A., Gumanova N.G. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*, 2005, no. 6, pp. 15–18.
7. Movchan B.A. *Aktualnye problemy sovremennogo materialovedeniya*, 2008, Vol. 1, pp. 227–247.
8. Somova L.M., Plekhova N.G. *Vestnik DVO RAN*, 2006, no. 2, pp. 77–80.
9. Stefanov A.V. *Bioskrining. Lekarstvennyye sredstva* [Bio-screening. Medications]. Kiev, Avitsenna, 1998. 189 p.
10. Chekman I.S., Kaplinskiy S., Nebesnaya T.Y., Terentev A.O. *Farmakologiya i lekarstvennaya toksikologiya*, 2008, no. 4(5), pp. 3.
11. Yarovaya N.F. *Lechaschiy vrach*, 2009, no. 5, pp. 24–28.
12. *Patent Ukrainy* no. 77777, 25.02.2013.
13. *Patent Ukrainy* no. 77770, 25.02.2013.

### Рецензенты:

Киричек Л.Т., д.м.н., профессор кафедры фармакологии и медицинской рецептуры, Харьковский национальный медицинский университет МЗ Украины, г. Харьков;  
 Маслова Н.Ф., д.б.н., профессор, ученый секретарь, заведующая лабораторией биохимической фармакологии, Государственное предприятие «Государственный научный центр лекарственных средств и медицинской продукции», г. Харьков.  
 Работа поступила в редакцию 23.08.2013.