



Araştırma Makalesi

**Oksifulvik Asidin Topikal Uygulaması Farelerde Deri Bağıışıklık
Tepkisini Bastırıyor Constance EJ Van Rensburg,1* Susan CK
Malfeld,1 ve Johan Dekker2 Enflamasyon ve Bağıışıklık için Tıbbi
1Araştırma Birimi, İmmünoloji Bölümü, Patoloji Enstitüsü, Tıp Fakültesi,
Pretoria Üniversitesi , Güney Afrika Enerkom (Pty) Ltd.,
2Pretoria, Güney Afrika**

Strateji, Yönetim ve Sağlık Politikası				
risk sermayesi etkinleştirme teknoloji	klinik öncesi Araştırma	Preklinik Geliştirme Toksikoloji, Formülasyon İlaç teslimi, Farmakokinetik	Klinik Gelişim Aşama I-III Düzenleyici, Kalite, Üretme	Pazarlama sonrası Faz IV

ÖZET %4.5 ve %9'da topikal olarak uygulanan kömür türevi fulvik asitlerin (oksifulvik asit olarak adlandırılır) antiinflatuar aktivitesi, bir fare temas aşırı duyarlılığı modelinde %1'de diklofen sodyum ve %0.1'de betametazonunla karşılaştırıldı. Fareler dinitroflorobenzen ile hassaslaştırıldı ve 6 gün sonra sağ kulağın dorsal yüzüne uygulanarak tehdit edildi. Farelerin iltihaplı kulakları daha sonra topikal olarak tedavi edildi ve kulakların kalınlığı günlük olarak ölçüldü. Her iki konsantrasyondaki oksifulvik asit, kutanöz inflamatuvar yanıtı baskılamada hem diklofen sodyum hem de betametazon ile karşılaştırıldığında daha avantajlıdır. Oksifulvik asit, antiinflatuar özelliklere sahiptir ve insanlarda inflamatuvar cilt durumlarının tedavisinde klinik olarak faydalı olabilir. İlaç Dev. Res. 53:29-32, 2001. © 2001 Wiley-Liss, Inc.

Anahtar sözcükler: oksifulvik asit; diklofen sodyum; betametazon; topikal antiinflatuar; fareler

GİRİŞ

Hümitik maddeler doğada her yerde bulunur ve çevredeki bitki ve hayvan kalıntılarının çürümesi sırasında oluşur [MacCarthe ve diğerleri, 1985]. Bu maddeler, pH'ın bir fonksiyonu olarak sudaki çözünürlük temelinde hümitik asit, fulvik asit ve humin olarak ayrılabilir. Fulvik asit, tüm pH koşullarında suda çözünen ve genel olarak moleküler boyut ve ağırlık bakımından daha düşük ve renk yoğunluğu bakımından hümitik asitlerden daha düşük olan fraksiyondur.

Muhtemelen doğadaki sulardan ve topraklardan fulvik asitlerin izole edilmesinin zorluğundan dolayı, fulvik asitlerin insan ve hayvan hastalıklarının tedavisinde uygulama potansiyeli daha önce araştırılmamıştır.

Bitümlü kömürü yüksek verimde oksijenle kontrollü ıslak oksidasyon yoluyla yüksek kaliteli hümitik ve fulvik asitlere dönüştürmek için benzersiz bir süreç geliştirilmiştir [Bergh ve diğerleri, 1997]. Kömürden türetilen bu ürünler, doğal olarak bulunan hümitik ve fulvik asitlerden ayırt edilebilmeleri için sırasıyla oksihümitik ve oksifulvik asit olarak adlandırılır. Kapsamlı bir oksifulvik asit analizinden

kütle spektrometrisi ve gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi tekniklerinin bir araya gelmesiyle, Bergh [1997] yaklaşık 50 farklı bileşik tanımladı. Bunların çoğu karboksilik asitler ve ürün karışımında herhangi bir toksik bileşik kanıtı olmayan sıradan fizyolojik metabolitlerdi.

Oksifulvik asidin antimikrobiyal aktivitesi yakın zamanda Van Rensburg ve ark. [2000]. Bu çalışmada test edilen sekiz mikrobiyal patojenin tümü (Staphylococcus aureus, Streptococcus faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, b-hemolitik streptokok, Klebsiella pneumoniae, Proteus mirabilis ve Candida)

Sözleşme hibe sponsorları: Enerkom (Pty) Ltd.; Güney Afrika Ulusal Araştırma Vakfı'nın Endüstri Programları için Teknoloji ve İnsan Kaynakları (THRIP); Güney Afrika Ticaret ve Sanayi Bakanlığı.

* Yazışma adresi: CEJ van Rensburg, Uluslararası İlişkiler Departmanı
munology, PO Box 2034, Pretoria 0001, Güney Afrika.
E-posta: cmedlen@postillion.up.ac.za

Alınma tarihi 23 Ocak 2001; 3 Mayıs 2001'de kabul edildi

albicans) %1,5 konsantrasyonlarda oksifulvik aside duyarlıydı.

Oksifulvik asidin kedi ve köpeklerde pyotramatik dermatitin topikal tedavisinde etkili olduğu bir pilot çalışmada da gösterilmiştir [Dekker ve Medlen, 1999]. Mevcut çalışmada sulu oksifulvik asit kremlerinin (%4.5 ve %9) antiinflamatuvar özellikleri, dinitrofloroben zene duyarlılaştırılmış farelerde in vivo olarak araştırıldı.

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

Pretoria Bio Medikal Araştırma Merkezi'nde yapılan

tüm hayvan deneyleri için Fare Temas Aşırı Duyarlılık Etik Kurulu onayı alındı. Bilimsel Prosedürlerde Kullanılan Hayvanların Barındırılması ve Bakımına İlişkin Bilimsel Prosedürler ve Uygulama Kurallarına (sırasıyla 1986 ve 1989 sayılı Kanunlar) sıkı sıkıya bağlı kalınmıştır. Dişi, 6-7 haftalık BALB/c fareleri, grup başına 10 fare olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Hayvanlar, 12 saatlik bir aydınlık:karanlık döngüsünde ayrı kafeslerde tutuldu ve standart fare yemi ve suya serbest erişimleri sağlandı. 5 grubun tümü, bir aseton ve zeytinyağı (4:1) taşıyıcısı içinde 25 ul %1 dinitroflorobenzen (DNFB; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) de olarak tıraşlanmış karın derisine uygulanarak duyarlı hale getirildi.

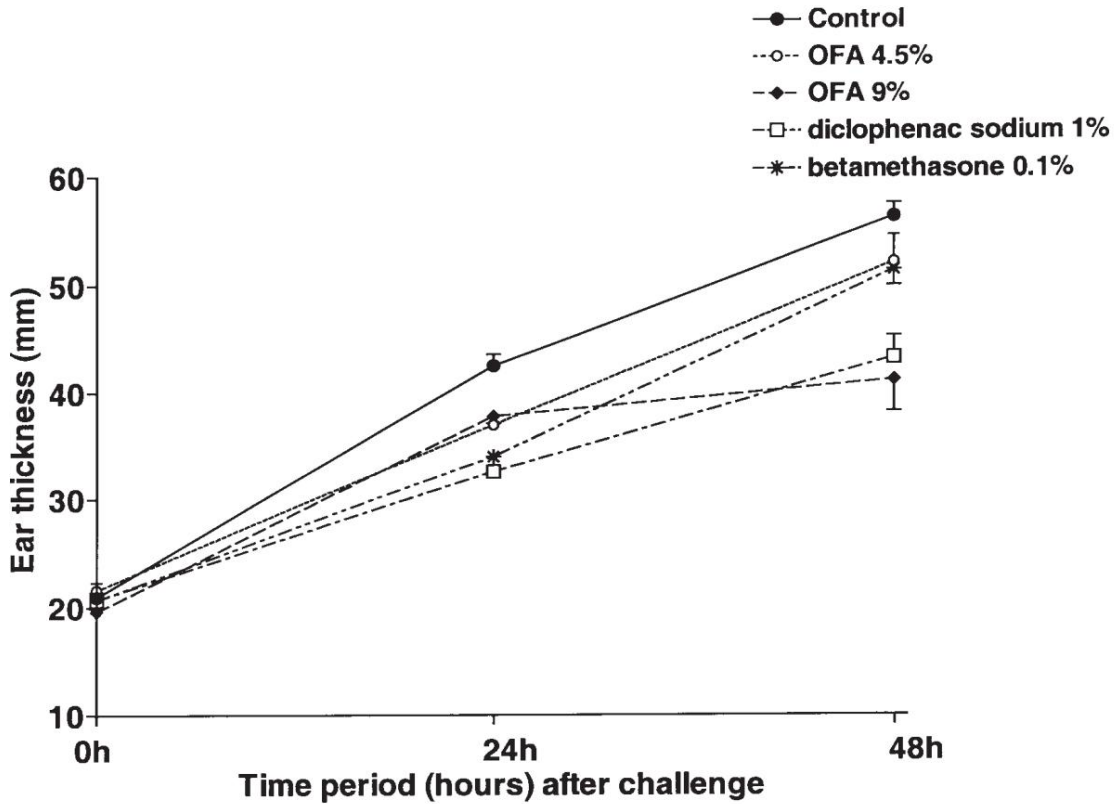
Trueb ve diğerleri tarafından yazılmıştır. [1997] ve 6 gün sonra sağ kulağın dorsal yüzeyine boyanmış 20 ul %0.15 DNFB ile tehdit edildi.

Tedavi

Her gruptaki farelerin iltihaplı kulakları, aşağıdakilerden biri ile 2 gün boyunca günde 4 kez topikal olarak tedavi edildi.

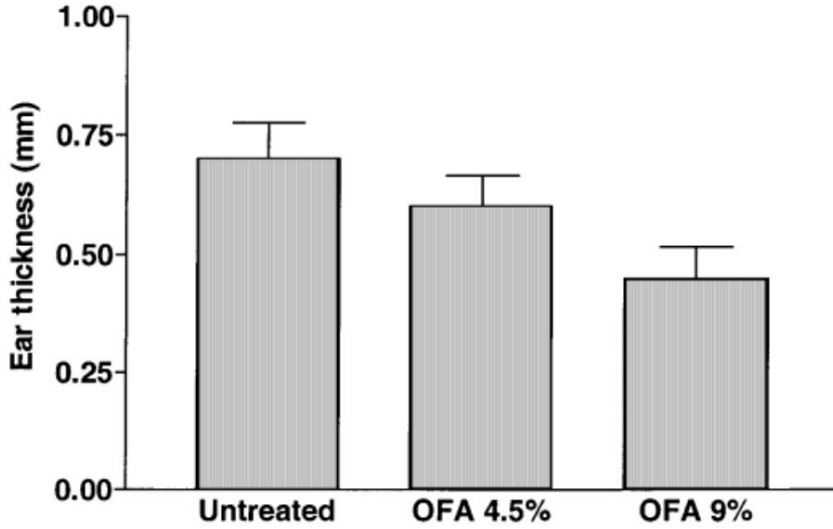
1. Uygun miktarlarda oksifulvik asit ve ek suyun emülsifiye edici merhem BP'ye karıştırılmasıyla üretilen sulu oksifulvik asit kremleri (%4.5 ve %9).
2. Diklofen sodyum %1 (Voltaren Emulgel).
3. Betametazon %0.1 (Betnovate).
4. Kontrol olarak emülsifiye edici merhem BP.

Kulağın kalınlığı, mühendislik kaliperleri ile kulak ucundan 1 mm mesafede, uygulamadan önce ve 24 saat ve 48 saat sonra ölçüldü. Son ölçümden sonra fareler öldürüldü ve kontrol grubunun yanı sıra oksifulvik asit gruplarının etkilenen kulakları mikroskopik değerlendirme için parafine gömüldü. Kulakların kalınlığı uçtan 5 mm mikroskopik olarak ölçüldü.



Şekil 1. Dinitroflorobenzen ile duyarlılaştırılmış olarak topikal olarak uygulanan %1 diklofen sodyum ve %0.1 betametazon ile karşılaştırıldığında oksifulvik asidin (OFA) (%4.5 ve %9) antiinflamatuvar özellikleri

fareler. Sonuçlar, yükmeden önce ve yükmeden 24 saat ve 48 saat sonra mühendislik kaliperleri ile ölçülen kulakların ortalama \pm SEM kalınlığı olarak ifade edilir.



Şekil 2. Dinitro florobenzen ile hassaslaştırılmış farelerde oksifulvik asidin (OFA) (%4.5 ve %9) antiinflamatuvar özellikleri. Sonuçlar, parafin mumu içine gömülmüş kulakların ortalama \pm SEM kalınlığı olarak ifade edilir ve tehditten 48 saat sonra kulak ucundan mikroskopik olarak 5 mm ölçülür.

İstatistiksel Analiz

Sonuçları ortalama \pm SEM olarak ifade edilir. İkili değerler için Student t-testi kullanılarak istatistiksel karşılaştırmalar yapıldı.

SONUÇLAR

Dört tedavinin tümü, her iki günde de kulak şişmesinde önemli bir azalmaya ($P < 0.05$) neden oldu (Şekil 1). Diklofen sodyum ve betametazon 1. günde oksifulvik asidin her iki konsantrasyonundan daha iyi olduğu kanıtlanmışken, 2. günde %9 oksifulvik asit kremi ve diklofen sodyum betametazon ve %4.5 oksifulvik asitten daha üstündü. Oksifulvik asit ile elde edilen sonuçlar 2. günde tedavi mikroskopik olarak doğrulandı (Şekil 2). Bu durumda, sadece %9 oksifulvik asit tedavisi kulak şişmesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur ($P < 0.05$). Histolojik olarak, enfekte bölgelerdeki nötrofil, lenfosit ve makrofaj sayılarında kontrol ve oksifulvik asit tedavisi grupları arasında fark görülmedi.

Betametazon tedavisinin yanı sıra iki oksifulvik asit kremiyle yapılan 2 günlük tedavi sırasında hiçbir toksisite belirtisi gözlenmedi. Bununla birlikte, diklofen sodyum tedavi grubundaki fareler ciddi stres, ilgisizlik ve iştahsızlık belirtileri gösterdi.

TARTIŞMA

Serbest radikallerin inflamasyon ve doku yıkımındaki rolü iyi belgelenmiştir [Winrow ve diğerleri, 1993]. Fülvik asidin süperoksit ve hidroksil radikali süpürücü özelliklere sahip olduğu gösterilmiş olmasına rağmen [Wang ve diğerleri, 1996], in vivo antiinflamatuvar aktivitesi hakkında herhangi bir rapor yoktur.

Bu çalışmada, kömürden elde edilen topikal fulvik asitlerin antiinflamatuvar etkilerini aşağıdakilerle karşılaştırdık: Trueb RM, Brown GR, Dougherty I, Valdez-Silva M, Cruz PD Jr.

diklofen sodyum ve betametazon in vivo temas hiper duyarlılığı üzerine. Oksifulvik asit, kontakt hipersensitivite reaksiyonlarının bir inhibitörü olarak genel olarak kullanılan iki antiinflamatuvar ajanla karşılaştırıldığında daha avantajlıdır. Bununla birlikte, bu iki ajan, ciddi olumsuz yan etkilerle ilişkilidir [Grace ve diğ., 1999; Lebrun-Vignes ve diğerleri, 2000]. Öte yandan oksifulvik asit, deney hayvanlarında 90 günlük bir süre boyunca 1.000 mg/kg/gün'e akut veya subkronik oral veya dermal maruz kalma sırasında ölçülebilir herhangi bir toksisite üretmedi (Rapor, Biocon Pty Ltd.).

Antimikrobiyal özellikleriyle birlikte bu antiinflamatuvar özellikler, topikal olarak uygulanan oksifulvik asidin derinin inflamatuvar durumları için etkili ve güvenli bir tedavi olabileceğini düşündürür.

REFERANSLAR

- Bergh JJ, Cronje IJ, Dekker TG, Gerritsma LM, Mienie LJ. 1997. Su-bulamaç kömürün oksijenle katalitik olmayan oksidasyonu; fulvik asitlerin ve akut toksisitenin tanımlanması. Yakıt 76: 149-154.
- Dekker J, Medlen CE. Fulvik asit ve çeşitli durumların tedavisinde kullanımı. PTC Patent Başvurusu no. PCT/IB 99/01567.
- Grace D, Rogers J, Skeith K, Anderson K. 1999. Topikal diklofenak ve plasebo: diz osteoartriti hastalarda çift kör, randomize bir klinik çalışma. J Rheumatol 26:2659-2663.
- Lebrun-Vignes B, Legrain V, Amoric J, Taieb A. 2000. Mikronize desonid kreminin plazma kortizol seviyeleri üzerindeki etkinlik ve etkisinin karşılaştırmalı çalışması 0.1 s. 1000'e karşı betametazon dipropiyonat krem 0,05 p. Çocukluk çağı atopik dermatit tedavisinde 100. Ann Dermatol Venereol 127:590-595.
- MacCarthy P, Clapp CE, Malcolm RL, Bloom PR. 1985. Toprak ve mahsul bilimlerinde humik maddeler: seçilmiş okumalar. International Humic Substances Society, Soil Science Society of America, American Society of Agronomy and Crop Science Society of America tarafından düzenlenen bir sempozyumun tutanakları, Chigaco, Illinois, 2 Aralık 1985.
- Trueb RM, Brown GR, Dougherty I, Valdez-Silva M, Cruz PD Jr.

1997. Lenfotoksin- β 'nin adenovirüs aracılı blokajı, farelerde temas hassasiyetinin indüklenmesini engeller. *Exp Dermatol* 6: 175-180.
- Van Rensburg CEJ, Van Staden A, Dekker J. 2000. Oksifulvik asidin antimikrobiyal etkinliğinin araştırılması. *J Antimicrob Chemother* 46:853-854.
- Wang C, Wang Z, Peng A, Hou J, Xin W. 1996. Farklı kökenlere sahip fulvik asitler ve aktif oksijen radikalleri arasındaki etkileşim. *Sci China C Life Sci* 39:267-275.
- Winrow VR, Winyard PG, Morris CJ, Blake DR. 1993. Enflamasyonda serbest radikaller: ikinci haberciler ve doku yıkımının araçları. *Br Med Bull* 49:506-522.