

УДК 615.32-071:616-002]-092.4

DOI <https://doi.org/10.32782/health-2023.4.21>

ДОСЛІДЖЕННЯ РАНОЗАГОЮВАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МЕДИЧНИХ ОЛІВЦІВ ІЗ РОСЛИННИМИ ЕКСТРАКТАМИ

Нестерук Тетяна Миколаївна,доктор філософії, голова циклової комісії фармацевтичних дисциплін
Фахового медичного коледжу
КЗВО «Рівненська медична академія»
ORCID: 0000-0002-0447-9026**Литкін Дмитро Віталійович,**кандидат біологічних наук, заступник директора
Навчально-наукового інституту прикладної фармації
Національного фармацевтичного університету
ORCID: 0000-0002-4173-3046**Половко Наталя Петрівна,**доктор фармацевтичних наук, професор,
професор кафедри аптечної технології ліків
Національного фармацевтичного університету
ORCID: 0000-0002-1224-1739**Ткачук Оксана Миколаївна,**доктор філософії,
завідувач кафедри хіміко-фармацевтичних дисциплін
КЗВО «Рівненська медична академія»
ORCID: 0000-0002-1907-3408

Роботу присвячено дослідженню ранозагоювальної дії зразків медичних олівців. Дослідження проводили на щурах із дотриманням етичних норм і рекомендацій щодо гуманного відношення до лабораторних тварин. Ранозагоювальну активність зразків вивчали на моделі повношарової трафаретної рани. Дослідження проводили на 36 щурах самцях масою 250 ± 20 г, яких розподіляли на шість груп по шість тварин у кожній. Група 1 була позитивним контролем, тваринам якої не проводили лікування; група 2 – тварини, яким наносили основу олівця; група 3 – олівець з екстрактом манго; група 4 – олівець з олійним екстрактом лікарської рослинної сировини (ЛРС); група 5 – олійний екстракт ЛРС; група 6 – олівець з олійним екстрактом ЛРС та екстрактом манго. Досліджувані зразки наносили раз на добу тонким шаром у дозі 100 мг/см^2 упродовж 21 доби, а олійний екстракт, який наносили аналогічно, але в дозі 60 мг, еквівалентній за вмістом олійного екстракту в засобі. Показником ранозагоювальної дії зразків була зміна площі ран, контроль якої проводили в динаміці через одну добу. Характер загоєння ран оцінювали за наявності набряку та гіперемії у динаміці. Результати дослідження показали, що у тварин групи позитивного контролю загоєння рани не закінчується на 21 добу і супроводжується гіперемією та набряком. Застосування основи олівця не прискорює процес загоєння. Використання олівця з екстрактом манго також не призводило до помітного прискорення загоювального процесу. Зразок олівця з олійним екстрактом ЛРС та сам екстракт продемонстрували наявність помітної репаративної активності без значних відмінностей динаміки загоєння. Найбільш значний репаративний ефект продемонстрував зразок олівця з комбінацією екстрактів манго і олійного екстракту суміші ЛРС. Застосування препарату з комбінацією екстрактів під час лікування трафаретної рани сприяє більш швидкому перебігу загоєння та скороченню площі ранового дефекту. Розроблений препарат також може бути впроваджений як косметико-гігієнічний засіб для використання при потрісканих губах, викликаних сухістю.

Ключові слова: ранозагоювальна активність, медичні олівці, хейліти, тріщини губ.

Tetiana Nesteruk, Dmytro Lytkin, Natalia Polovko, Oksana Tkachuk. Study of wound-healing properties of medical pencils with plant extracts

The work is devoted to the study of the wound-healing effect of samples of medical pencils. The study was conducted on rats in compliance with ethical standards and recommendations for humane treatment of laboratory animals. The wound-healing activity of the samples was studied on the model of a full-layer stencil wound. The study was conducted on 36 male rats weighing 250 ± 20 g, which were divided into 6 groups of 6 animals each. Group 1 was a positive control,

the animals of which were not treated; 2nd group – animals that were treated with a pencil base; group 3 – pencil with mango extract; group 4 – pencil with oil extract of medicinal plant raw material; group 5 – oil extract of medicinal plant raw material; group 6 – pencil with oil extract of medicinal plant raw material and mango extract. The studied samples were applied once a day with a thin layer at a dose of 100 mg/cm² for 21 days, and the oil extract, which was applied similarly, but in a dose of 60 mg, equivalent to the content of the oil extract in the product. The indicator of the wound-healing effect of the samples was the change in the area of the wounds, which was monitored dynamically after 1 day. The nature of wound healing was assessed by the presence of edema and hyperemia in dynamics. The results of the study showed that in the animals of the positive control group, wound healing does not end on the 21st day and is accompanied by hyperemia and edema. Using a pencil base does not speed up the healing process. The use of a pencil with mango extract also did not significantly accelerate the healing process. A pencil sample with an oil extract of medicinal plant raw material and the extract itself demonstrated the presence of appreciable reparative activity without significant differences in healing dynamics. The most significant reparative effect was demonstrated by a sample of a pencil with a combination of mango extracts and an oil extract of the medicinal plant raw material mixture. The use of the drug with a combination of extracts in the treatment of a stencil wound contributes to faster healing and reduction of the area of the wound defect. The developed drug can also be introduced as a cosmetic and hygienic agent for use in case of chapped lips, which is caused by their dryness.

Key words: wound healing activity, medical pencils, cheilitis, lip cracks.

Одними з поширених патологій шкіри губ є хейліти, тріщини і герпес. Терапія цих захворювань повинна забезпечити репаративний, протизапальний, антимікробний та протівірусний ефект. Найбільш перспективними є препарати, які містять витяжки з лікарської рослинної сировини, які повинні сприяти регенерації шкіри губ і проявляти інші необхідні фармакологічні ефекти. Обґрунтованим є використання лікарської форми на жировосковій основі, яка додатково проявлятиме захисну та зволожувальну дію.

Мета роботи – дослідження ранозагоювальної дії медичних олівців, що містять рослинні екстракти.

Матеріали та методи. Вивчення фармакологічної активності дослідних зразків проводили на базі Навчально-наукового інституту прикладної фармації (ННІПФ) Національного фармацевтичного університету (НФаУ). Дослідні зразки олівців із рослинними екстрактами були розроблені колективом авторів на кафедрі аптечної технології ліків НФаУ [1].

Об'єктами дослідження були: зразок № 1 – основа олівця, яка містила ущільнювачі – масло какао і бджолиний віск по 10%, ланолін – 5%, карнаубський і канделільський віск – 3% та 7% відповідно та олію кукурудзяну – до 100,0; зразок № 2 – олівець із 5% екстракту манго; зразок № 3 – олівець з олійним екстрактом суміші лікарської рослинної сировини (ЛРС), що містить шавлії лікарської траву, евкаліпту прутоподібного листя, нагідок лікарських квітки, ромашки лікарської квітки у співвідношенні (2:1:1:1) – 60%; зразок № 4 – олійний екстракт вищезазначеної суміші ЛРС; зразок № 5 – олівець з олійним екстрактом ЛРС та екстрактом манго.

Дослідження проводили на щурах. Тварини утримувалися у віварію Навчально-наукового тре-

нінгового центру медико-біологічних досліджень (ННТЦ МБД) НФаУ, що відповідало діючим правилам по пристроях, обладнанню та утриманню віваріїв. Тварини отримували стандартне харчування відповідно до чинних норм [2]. Догляд за тваринами проводили згідно з рекомендаціями і з дотриманням принципів GLP [3; 4].

Під час проведення експериментів дотримувалися етичних норм і рекомендації щодо гуманного відношення до лабораторних тварин [4; 5], які введені Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, використовуваних для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), а також наказами МОЗ України № 944 від 14.12.2009 і № 95 від 16.02.2009.

У роботі використано фармакологічні, інструментальні, лабораторні та статистичні методи досліджень.

Дослідження виконано на аутбредних ставовозрілих щурах (самцях), що утримувалися у віварію ННТЦ МБД НФаУ. Тварин утримували в окремій кімнаті з контрольованими параметрами мікроклімату: температура повітря – 18–22°C, відносна вологість повітря – 50–65%, світловий режим – «12 годин день/ніч», у пластикових клітках з індивідуальною вентиляцією [2]. Стерилізацію приміщення за допомогою УФ-лампи здійснювали щоденно. Тварини мали вільний доступ до води (попередньо відстояна водопровідна вода з напувалок). Для годування тварин використовували гранульовані збалансовані комбікорми (ТУ. У15.7-2123600159-001:2007). Догляд за тваринами проводили відповідно до стандартних операційних процедур ННТЦ МБД НФаУ. Усі етапи дослідження проведені згідно з Директивою Європейського Парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. «Про захист тварин, що використовуються в наукових цілях» [4].

Перед проведенням експерименту тварини пройшли акліматизацію протягом семи діб. Протягом періоду акліматизації проводили щоденний огляд кожної тварини (оцінювали поведінку та загальний фізичний стан), спостерігали за тваринами для виявлення можливих випадків захворюваності або смертності.

Ранозагоювальну активність дослідних зразків вивчали на моделі повношарової трафаретної рани [6]. Дослідження проводили на 36 щурах самцях масою 250 ± 20 г, віком 3,5 місяці.

Площинні рани відтворювали на попередньо депільованій ділянці шкіри, у наркотизованих тварин (тіопентал, 40 мг/кг), для цього вирізали шкіру за допомогою хірургічних ножиць, пінцету та трафарету. Трафаретні рани були виконані розміром 2×2 см² (400 мм²). Шкіру та інструменти обробляли 96% розчином етилового спирту. Після хірургічного втручання рану обробляли 3% розчином перекису водню.

Тварин розподіляли на шість експериментальних груп по шість тварин у кожній:

Група № 1 – позитивний контроль, тварини у яких не проводили лікування (ПК).

Група № 2 – тварини, яким на тлі лікування наносили жирно-воскову основу олівця без діючих речовин.

Група № 3 – тварини, яким на тлі лікування наносили олівець з екстрактом манго.

Група № 4 – тварини, яким на тлі лікування наносили олівець з олійним екстрактом ЛРС.

Група № 5 – тварини, яким на тлі лікування наносили олійний екстракт ЛРС.

Група № 6 – тварини, яким на тлі лікування наносили олівець з олійним екстрактом ЛРС та екстрактом манго.

Досліджувані зразки наносили щодоби один раз на добу тонким шаром в емпіричній дозі 100 мг/см² (без втирання) впродовж 21 доби. Винятком був олійний екстракт, який наносили в аналогічному режимі, але в дозі 60 мг, для порівняння активності засобу та самої діючої речовини, що були еквівалентними за вмістом олійного екстракту.

Показником верифікації виразності ранозагоювальної дії зразків була зміна площі трафаретних ран (S, мм²), контроль якої проводили в динаміці через одну добу. Характер загоєння ран оцінювали за наявності набряку та гіперемії у динаміці. Площу вимірювали за методом Л.Н. Попової [7], прикладаючи до рани прозорий трафаретний міліметровий папір, і вираховували площу ран (у мм²).

Отримані результати виражали у вигляді середнього арифметичного значення (M) та стандартної помилки середнього (SEM). Порівняння між досліджуваними групами проводили за допомогою параметричних методів аналізу (post-hoc Tukey HSD test). Вірогідність відмінностей визначали за рівнем значущості $P < 0,05$. Статистична обробка проведена з використанням базового пакету програм MS Excel 2007 та IBM SPSS Statistics 22 [8].

Результати дослідження показали, що у тварин із групи позитивного контролю процес загоєння рани супроводжувався гіперемією та набряком, які спостерігалися протягом декількох днів, після чого рани починали покриватися сухою кіркою. Макроскопічні ознаки запалення з часом поступово зменшувалися, у подальшому спостерігалася епітелізація рани. Візуальних ознак приєднання інфекційного процесу у жодній оперованій тварини не спостерігали.

Повного загоєння плоскочарових ран у цій групі не спостерігалось на останню 21 добу спостереження, проте очевидно, що у цей термін процес загоєння майже підходив до завершення: 91,9% поверхні рани починаючи від першого спостереження було відновлено (табл. 1).

Застосування лікарської форми без діючої речовини жодним чином не прискорювало процес загоєння, а й навіть ускладнювало його. Так, на 7, 17, 19 та 21 добу середня площа рани у цій групі була вірогідно більшою, ніж відповідні за терміном спостереження показники в групі ПК (табл. 1). Імовірно, це пов'язано з олійною природою олівця, що створювало гідрофобну плівку, яка заважала на перших етапах загоєння та не давала рані підсушуватися.

Використання олівця з екстрактом манго як тест-зразка також не призводило до помітного прискорення загоювального процесу. Лише на останню 21 добу спостереження площа поверхні рани тварин групи 3 з екстрактом манго була статистично меншою на 35,6% порівняно з позитивним контролем, що, однак, не свідчить про наявність потужної репаративної активності цього зразка (табл. 1).

Тест-зразок з олійним екстрактом ЛРС у даному експерименті продемонстрував наявність помітної репаративної активності, що, по-перше, віддзеркалювалося у зменшенні часу, необхідного для повної репарації: на 21 добу спостереження ознак рани не спостерігалось у жодній тварини. Окрім того, починаючи з п'ятої доби спостереження середня площа рани у тварин у цій групі

Таблиця 1

**Динаміка планіметричних показників у щурів із графаретними ранами під час лікування
тест-зразками медичних олівців упродовж 21 доби спостереження, n=6, (M±SEM)**

Дослідні групи	Середня площа рани (S, мм ²) у динаміці										
	1 доба	3 доба	5 доба	7 доба	9 доба	11 доба	13 доба	15 доба	17 доба	19 доба	21 доба
ПК	392,833± 1,493	378,333± 2,171	366,667± 2,603	334,500± 4,646	308,500± 15,754	233,333± 5,852	179,833± 5,747	134,833± 6,570	85,500± 5,143	51,000± 6,890	31,833± 4,700
Зразок 1	390,667± 2,011	381,833± 1,759	371,667± 1,476	355,000± 2,191 ^{a,b}	327,333± 5,136	253,833± 3,646	199,000± 5,196	154,833± 5,400	108,333± 3,116 ^a	81,833± 3,371 ^a	50,500± 3,106 ^a
Зразок 2	394,333± 1,358	381,000± 1,265	368,833± 1,905	332,000± 2,887 ^b	303,833± 3,591	237,167± 5,319	164,000± 4,837 ^b	118,833± 4,175 ^b	78,833± 4,269 ^b	46,833± 3,070 ^b	20,500± 2,217 ^{a,b}
Зразок 3	391,667± 1,202	374,667± 2,824	327,833± 4,070 ^{a,b,c}	265,000± 5,756 ^{a,b,c}	217,667± 5,090 ^{a,b,c}	158,833± 7,291 ^{a,b,c}	108,000± 3,688 ^{a,b,c}	64,667± 4,224 ^{a,b,c}	27,500± 1,607 ^{a,b,c}	9,667± 1,820 ^{a,b,c}	0,000± 0,000 ^{a,b,c}
Зразок 4	391,667± 2,418	373,333± 1,745	322,833± 3,420 ^{a,b,c}	264,000± 6,213 ^{a,b,c}	187,167± 3,842 ^{a,b,c}	134,500± 3,622 ^{a,b,c,d}	89,833± 3,825 ^{a,b,c}	48,333± 2,813 ^{a,b,c}	16,000± 1,528 ^{a,b,c}	0,000± 0,000 ^{a,b,c}	0,000± 0,000 ^{a,b,c}
Зразок 5	389,833± 2,136	360,667± 3,201 ^{a,b,c,d,e}	307,333± 2,390 ^{a,b,c,d,e}	227,333± 5,457 ^{a,b,c,d,e}	144,000± 3,907 ^{a,b,c,d,e}	97,167± 5,449 ^{a,b,c,d,e}	54,333± 6,525 ^{a,b,c,d,e}	15,167± 4,989 ^{a,b,c,d,e}	0,000± 0,000 ^{a,b,c,d,e}	0,000± 0,000 ^{a,b,c}	0,000± 0,000 ^{a,b,c}

Примітки:

1. *a* – відмінності вірогідні відносно групи позитивного контролю ПК ($p < 0,05$);
2. *b* – відмінності вірогідні відносно групи препарату порівняння ЛФ ($p < 0,05$);
3. *c* – відмінності вірогідні відносно групи тест-зразка ЛФ+ЕМ ($p < 0,05$);
4. *d* – відмінності вірогідні відносно групи препарату порівняння ЛФ+ОЕ ($p < 0,05$);
5. *e* – відмінності вірогідні відносно групи тест-зразка ОЕ ($p < 0,05$)

була вірогідно меншою, ніж у тварин у групі ПК, що свідчить про прискорення репаративних процесів на тлі застосування тест-зразка (табл. 1).

Застосування олійного екстракту ЛРС, який застосовували для приготування окремих тест-зразків, також продемонструвало помірний репаративний ефект. Як і в групі 4, починаючи з п'ятої доби спостереження середня площа рани у тварин у групі 5 була вірогідно меншою, ніж у тварин у групі ПК. Разом із тим значних відмінностей між динаміками загоєння в групах 4 та 5 не відзначалося. Лише на 11 добу була зареєстрована статистична різниця між аналогічними показниками у цих групах, проте це, скоріше за все, стохастичний випадок (табл. 1). Разом із цим слід відзначити, що час, необхідний для повного загоєння, у групі 5 зменшувався. Ураховуючи вищенаведене, а також той факт, що кількість рослинного екстракту в олівці була еквівалентною дозі в групі 5, можна припустити, що сама лікарська форма певним чином впливає на динаміку ранового процесу. Через утворення стійкої гідрофобної плівки репараційні процеси на стадії ексудації ускладнюються, тоді як за дозрівання рубцевої тканини та первинної епітелізації, навпаки, – прискорюються. Незважаючи на те що екстрагент також має ліпофільну природу, зразок у формі екстракту не міг зберігати постійну щільну адгезію з рановою площиною, що, ймовірно, прискорювало підсушення рани порівняно з олівцем. З іншого боку, ці результати також можуть указувати на прийнятні фармацевтичні характеристики лікарської форми олівцю, як то добрий контакт форми з місцем нанесення.

Найбільш значний репаративний ефект продемонстрував тест-зразок олівця з комбінацією екстракту манго та олійного екстракту суміші ЛРС. Уже на 17 добу спостереження рани тварин у групі 6 були повністю епітелізованими, а починаючи з третьої доби спостереження площа ранового дефекту в цій групі була статистично меншою, ніж у всіх інших експериментальних групах (табл. 1). Незважаючи на те що екстракт манго сам по собі не виявив помітних репаративних властивостей, очевидно, він певним чином був здатний потенціонувати ранозагоювальну активність олійного екстракту ЛРС, що давало йому змогу набагато швидше прискорювати процес регенерації.

Висновки. Таким чином, отримані дані позитивної динаміки планіметричних показників на моделі трафаретних ран у щурів продемонстрували наявність ранозагоювальної дії у тест-зразка з комбінованим складом – екстрактом манго та олійним екстрактом суміші ЛРС.

Застосування олівця з комбінацією екстрактів під час лікування трафаретної рани сприяє більш швидкому перебігу загоєння, що за клінічного застосування може сприяти зменшенню ризику інфікування, розповсюдженню інфекції та скороченню площі ранового дефекту. Зразок може бути впроваджений як косметико-гігієнічний репаративний препарат, наприклад для використання при потрісканих губах, викликаних сухістю.

Ураховуючи вищезазначене, подальші фармакологічні дослідження саме комбінованого зразка є найбільш перспективними.

ЛІТЕРАТУРА

1. Нестерук Т.М., Половко Н.П. Обґрунтування складу медичного олівця для профілактики та лікування захворювань шкіри і червоної облямівки губ. *News of pharmacy*. 2022. № 2(104). С. 26–31. DOI: <https://doi.org/10.24959/nphj.22.95>
2. Кожем'якін Ю.М., Хромов О.С., Філоненко М.А., Сайфетдинова Г.А. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ : Авіцена, 2002. 156 с.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / за ред. О.В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. 528 с.
4. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. OJEU2010; L276: 33–79.
5. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика. Київ : Міністерство охорони здоров'я України, 2009. 27 с.
6. Яковлева Л.В., Ткачова О.В., Бутко Я.О., Лар'яновська Ю.Б. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран. Методичні рекомендації. Харків : НФаУ, 2013. 52 с.
7. Ткачова О.В. Фармакологічне вивчення нових лікарських препаратів, створених на основі природних субстанцій і призначених для місцевого лікування ранового процесу : автореф. дис. ... д-ра фармац. наук : 14 03.05. Харків, 2014. 45 с.
8. Indrayan A., Malhotra K. R. Medical biostatistics. 4th ed. Boca Raton : CRC Press, 2018. 685.

REFERENCES

1. Nesteruk T.M., Polovko N.P. (2022) Obgruntuvannia skladu medychnoho olivtsia dlia profilaktyky ta likuvannia zakhvoriuvan shkiry i chervonoj obliamivky hub [Justification of the composition of the medical pencil for the prevention and

treatment of skin diseases and red border of the lips]. *News of pharmacy*. № 2 (104). S. 26–31. DOI: <https://doi.org/10.24959/nphj.22.95> [In Ukrainian].

2. Yu.M. Kozhem'iakin, O.S. Khromov, M.A. Filonenko, H.A. Saifetdynova (2002) *Naukovo praktychni rekomendatsii z utrymattia laboratornykh tvaryn ta roboty z nymy* [Scientific and practical recommendations for keeping laboratory animals and working with them]. K.: Avitsena, 156 s. [In Ukrainian].

3. *Doklinichni doslidzhennia likarskykh zasobiv (metodychni rekomendatsii)* [Preclinical studies of medicinal products (methodical recommendations)] / Za redaktsiieiu chlen-kor. AMN Ukrainy O.V. Stefanova (2001). K.: Avitsena, 528 s. [In Ukrainian].

4. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (2010). *OJEU*, L276, 33–79 [in English].

5. *Likarski zasoby. Nalezna laboratorna praktyka* (2009) [Medicines. Good laboratory practice]. Kyiv: Ministerstvo okhorony zdorovia Ukrainy, 27 s. [in Ukrainian].

6. *Eksperymentalne vyvchennia novykh preparativ dlia mistsevoho likuvannia ran. Metodychni rekomendatsii* [Experimental study of new drugs for local treatment of wounds]. L.V. Yakovlieva, O.V. Tkachova. Ya.O. Butko, Yu.B. Larianovska (2013). Kharkiv: Vyd-vo NFaU, 52 s. [in Ukrainian].

7. Tkachova O.V. (2014) *Farmakolohichne vyvchennia novykh likarskykh preparativ, stvorenykh na osnovi pryrodnykh substansii i pryznachenykh dlia mistsevoho likuvannia ranovoho protsesu: avtoref. Dys... / d-ra farmats. Nauk : 14 03.05* [Pharmacological study of new medicinal preparations created on the basis of natural substances and intended for local treatment of the wound process: autoref. diss... / Dr. pharm. sciences: 14 03.05.]. Kh., 2014, 45 s.

8. Indrayan, A., Malhotra, K.R. (2018). *Medical biostatistics*. Boca Raton: CRC Press, 685 p. [in English].