

УДК 615.454.1:615.262:615.322

<https://doi.org/10.24959/ubphj.20.254>О. А. Колпакова<sup>1,2</sup>, Н. В. Кучеренко<sup>2</sup>, О. В. Ханіна<sup>2</sup><sup>1</sup> *Інститут хімічних технологій Східноукраїнського національного університету імені В. Даля, Україна*<sup>2</sup> *ДЗ «Луганський державний медичний університет», Україна*

## ОБҐРУНТУВАННЯ ВИБОРУ КОНЦЕНТРАЦІЇ ВОДОРОЗЧИННОГО БІЛКОВО-ПОЛІСАХАРИДНОГО КОМПЛЕКСУ ГРИБА ПЛЕВРОТ ЧЕРЕПИЧАСТИЙ ДЛЯ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ПРОТИРУБЦЕВОЇ ДІЇ

**Мета роботи.** Встановлення оптимальної концентрації діючої субстанції для м'якої лікарської форми протирубцевої дії.

**Матеріали та методи.** Для оцінки впливу водорозчинного білково-полісахаридного комплексу (ВБПСК) гриба Плеврот черепичастий на сполучну тканину при лікуванні рубців було проведено моделювання впливу цієї субстанції на хрящові тканини курки з наступним мікроскопічним дослідженням дії ВБПСК на колагенові волокна. Приготування мікропрепаратів та їх фарбування проводили відповідно до сучасних методик.

**Результати та їх обговорення.** У ході мікроскопічного дослідження було встановлено, що під впливом активно діючої субстанції гіаліновий хрящ руйнується за рахунок деструкції міжклітинного матриксу та збільшення площі хрящових клітин. Морфометрична оцінка результатів показала, що введення 5% ВБПСК до складу м'якої лікарської форми забезпечить необхідний ступінь лізису сполучної тканини та відповідний фармакологічний ефект препарату.

**Висновки.** У ході дослідження було встановлено оптимальну концентрацію діючої субстанції, яка є достатньою для прояву впливу на сполучну тканину та в подальшому забезпечить протирубцеву дію препарату, що створюється.

**Ключові слова:** концентрація діючої субстанції; мазь; водорозчинний білково-полісахаридний комплекс; мікроскопія

O. Kolpakova<sup>1,2</sup>, N. Kucherenko<sup>2</sup>, O. Hanina<sup>2</sup><sup>1</sup> *Institute of Chemical Technologies of V. Dahl East Ukrainian National University, Ukraine*<sup>2</sup> *SI "Lugansk State Medical University", Ukraine*

### The choice substantiation of the concentration of water-soluble protein-polysaccharide complex of Oyster mushroom for the soft medicinal form with anti-scarring action

**Topicality.** The problem of scar formation therapy is quite urgent. It is connected with presence of large number of patients having this pathology, the frequency and unpredictable appearance of scars, which significantly impairs the person quality of life and causes a great deal of inconvenience.

**Aim.** To establish the optimal concentration of active substance for the soft medicinal form with anti-scarring action.

**Materials and methods.** Modeling of the effect of water-soluble protein-polysaccharide complex (WSPPC) on a cartilage of chicken with followed microscopic examination was performed to assess the impact of this substance effect on collagen fibers. Micropreparations were prepared and stained in accordance with well-known methods.

**Results and discussion.** During a microscopic examination it was found that under the influence of an active substance hyaline cartilage is destroyed due to the intercellular matrix destruction and an increase in the area of cartilage cells. Morphometric evaluation of the results showed that the introduction of 5 % WSPPC in the composition of the soft dosage form will provide the desired degree of lysis of the connective tissue and the corresponding pharmacological effect of the medicine.

**Conclusions.** During the study the optimal concentration of the active substance was established, which is sufficient for the manifestation of influence on the connective tissue and in the future will provide an anti-scarring effect of the created medicine.

**Key words:** concentration of the active substance; ointment; water-soluble protein-polysaccharide complex; microscopy

O. A. Колпакова<sup>1,2</sup>, Н. В. Кучеренко<sup>2</sup>, Е. В. Ханіна<sup>2</sup><sup>1</sup> *Інститут хімічних технологій Восточноукраїнського національного університету імені В. Даля, Україна*<sup>2</sup> *ГУ «Луганский государственный медицинский университет», Украина*

### Обоснование выбора концентрации водорастворимого белково-полисахаридного комплекса гриба Вешенка обыкновенная для мягкой лекарственной формы противорубцового действия

**Цель работы.** Установление оптимальной концентрации действующей субстанции для мягкой лекарственной формы противорубцового действия.

**Материалы и методы.** Для оценки воздействия водорастворимого белково-полисахаридного комплекса (ВБПСК) гриба Вешенка обыкновенная на соединительную ткань было проведено моделирование влияния этой субстанции на хрящевые ткани курицы с последующим микроскопическим исследованием действия ВБПСК на коллагеновые волокна. Микропрепараты готовили и красили в соответствии с общеизвестными методиками.

**Результаты и их обсуждение.** В ходе микроскопического исследования было установлено, что под влиянием активно действующей субстанции гиалиновый хрящ разрушается за счет деструкции межклеточного матрикса и увеличения площади хрящевых клеток. Морфометрическая оценка результатов показала, что введение 5 % ВБПСК в состав мягкой лекарственной формы обеспечит нужную степень лизиса соединительной ткани и соответствующий фармакологический эффект препарата.

**Выводы.** В ходе исследования была установлена оптимальная концентрация действующей субстанции, которая является достаточной для проявления влияния на соединительную ткань и в дальнейшем обеспечит противорубцовое действие разрабатываемого препарата.

**Ключевые слова:** концентрация действующей субстанции; мазь; водорастворимый белково-полисахаридный комплекс; микроскопия

## ВСТУП

Проблема терапії рубцевих утворень шкіри є достатньо актуальною. Це пов'язано з великою кількістю пацієнтів з даною патологією, частотою та непередбачуваним проявом рубців, що значно погіршує якість життя людини та викликає велику кількість незручностей. На теперішній час існує велика кількість методів та засобів для лікування і профілактики даної патології, проте найбільш популярним є використання лікарських препаратів, а саме м'яких лікарських засобів місцевої дії, що пов'язано з доступністю та простотою застосування [1].

Серед засобів медикаментозного лікування рубцевих утворень найбільш перспективними є ферментні препарати, які діють літично на рубець і поновлюють функції прилеглих частин шкіри чи слизової оболонки, а також підвищують тканинне проникнення, покращують рух міжклітинної рідини, зменшують набряк, розм'якшують рубці та попереджають їх утворення [2].

Ця обставина дозволяє нам у розробці нового лікарського засобу для лікування рубцевих утворень шкіри використовувати активно діючу субстанцію гриба *Pleurotus ostreatus* – водорозчинний білково-полісахаридний комплекс (ВБПСК), що складається з полісахаридів різної молекулярної маси, амінокислот і білка – фермента [3, 4]. Встановлено, що саме завдяки наявності фермента ця субстанція володіє гіполіпідемічною дією та має тропність до лігніну (лігнін, у свою чергу, має споріднену структуру з молекулою холестерину) і тим самим виявляє конкурентний антагонізм до 3-гідрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктази (HMG-CoA), що виражається в гальмуванні синтезу холестерину в печінці на стадії мевалонової кислоти [5]. Проте у біохімічному плані походження макромолекул організму людини має схожі риси. Тому субстанція, яка впливає на метаболізм субстрату атерогенного процесу (атерогенні ліпопротеїни крові) і чинить гіполіпідемічну дію, є потенційним засобом для деструкції колагенових волокон і розм'якшення рубців.

Таким чином, оптимальним шляхом вирішення проблеми терапії рубцевих утворень шкіри є розробка м'якої лікарської форми протирубцевої дії з ВБПСК гриба Плеврот черепчастий. Одним із важливих етапів створення нового лікарського засобу є вибір опти-

мальної концентрації активно діючого інгредієнта, адже від цього залежить відповідний фармакологічний ефект та передбачувана терапевтична дія препарату.

**Мета роботи.** Встановлення концентрації ВБПСК, яка чинить відчутний вплив на лізис структурних компонентів сполучної тканини і яка потенційно далі буде аналізуватися щодо впливу на колагенові волокна і розм'якшення рубців.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження була хрящова тканина грудного відділу курки. Це пояснюється тим, що вона представляє собою гіаліновий хрящ, який складається з хрящових клітин та міжклітинної речовини, що за хімічною будовою схожа на колагенові волокна [7].

Для визначення оптимальної концентрації ВБПСК готували серію водних розчинів різної концентрації (1, 3, 5, 7, 10, 15 %) та занурювали в них хрящову тканину курки, відокремлену від інших тканин. Інтактний зразок сполучної тканини занурювали у воду. Занурення зразків у водні розчини пояснюється тим, що у склад мазей діюча субстанція вводиться в розчиненому у воді вигляді.

Усі зразки тримали в холодильнику для запобігання утворення плісняви та розмноження мікроорганізмів впродовж двох тижнів. Період експозиції пояснюється тим, що мазі використовуються впродовж певного періоду (не менше тижня), і тим, що довготривале тримання біологічних об'єктів без консервації призводить до розмноження мікроорганізмів і руйнації зразка.

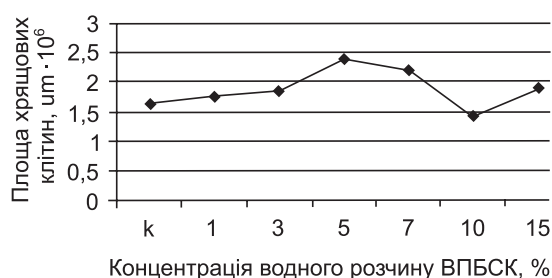
Далі зразки звільняли від розчинів ВБПСК, промивали водою та фіксували у 10 % розчині формаліну і готували мікропрепарати, використовуючи загальновідомі методи, та фарбували за методом Малорі [8]. Цей метод є найбільш часто використовуваним для микроскопічного дослідження сполучної тканини [8, 9].

Морфометричне вивчення мікропрепаратів проводили на лабораторному мікроскопі серії MC 100 з оптикою на безкінечність, укомплектованому тринокулярною візуальною насадкою Infinitiv та ахроматичними об'єктивами. В роботі використовували збільшення окуляра 10x та об'єктиву 60x, в той час як можливості мікроскопа у стандартному комплектуванні здатні збільшувати в межах 40-1000x. В осна-

Таблиця

**ЗАЛЕЖНІСТЬ ПЛОЩІ ХРЯЦОВИХ КЛІТИН ВІД КОНЦЕНТРАЦІЇ ВОДНОГО РОЗЧИНУ ВПБСК**

Концентрація водного розчину ВПБСК, %	Середня площа хрящових клітин, $\mu\text{m} \times 10^6$	n	$\bar{x}$	S	$S\bar{x}$	t (95 %, 2)	$\bar{x}\Delta \pm \bar{x}$	$\bar{\epsilon}$
k	1,6357	3	1,6357	0,0755	0,0436	4,3027	0,1874	0,1146
1	1,7691	3	1,7691	0,3461	0,1998	4,3027	0,8598	0,4860
3	1,8521	3	1,8521	0,4249	0,2453	4,3027	1,0555	0,5699
5	2,4026	3	2,4026	0,3868	0,2233	4,3027	0,9608	0,3999
7	2,2111	3	2,2111	0,2217	0,1280	4,3027	0,5507	0,2491
10	2,0761	3	2,0761	0,4036	0,2330	4,3027	1,0025	0,4829
15	1,9124	3	1,9124	0,1847	0,1066	4,3027	0,4588	0,2399

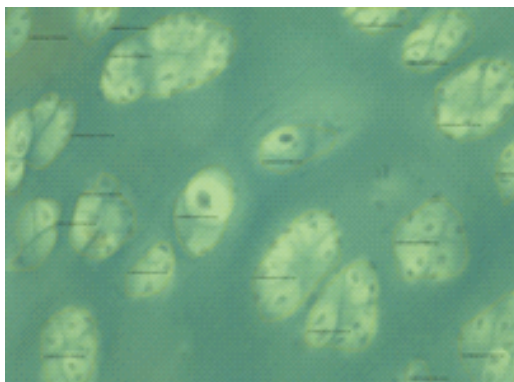


**Рис. 1.** Залежність площі хрящових клітин від концентрації розчинів ВПБСК

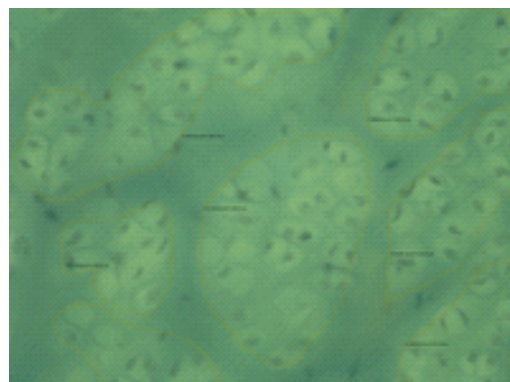
щення цього приладу входить камера та програмне забезпечення «MicroVisible», за допомогою якого вдалося кількісно оцінити зміни в хрящовій тканині (щільність упаковки елементів структури та їх площу).

**РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**

У процесі руйнування гіалінового хряща відбувається деструкція міжклітинного матриксу та збільшення кількості хрящових клітин [7, 8]. Таким чином,



1



2

**Рис. 2.** Мікрофотографії отриманих зрізів: 1 – контрольний зразок, 2 – після дії 5 % розчину ВПБСК

для оцінки впливу ВПБСК на сполучну тканину курки було вивчено ступінь лізису елементів сполучної тканини та визначено площу хрящових клітин у міжклітинній речовині. Результати дослідження представлені в таблиці.

Аналіз та обробку отриманих результатів було проведено за допомогою програми Microsoft Office Excel та отримано графік залежності середньої площі хрящових клітин від концентрації розчину ВПБСК, який представлено на рис. 1.

Отримані дані дають можливість зробити висновок, що 5 % розчин ВПБСК забезпечує необхідний ступінь деструкції міжклітинної речовини хрящової тканини курки.

Мікрофотографії контрольного зразка та зразка, що знаходився у 5 % розчині ВПБСК, представлено на рис. 2.

Аналізуючи мікрофотографії, можна сказати, що для контрольного зразка характерна більша кількість міжклітинної речовини, більш щільна упаковка елементів структури, а також рівномірне фарбування у порівнянні зі зразком, що піддавався дії ВПБСК. Таким чином, можна зробити висновок, що діюча суб-

станція гриба *Pleurotus ostreatus* помітно впливає на руйнування сполучної тканини та потенційно може бути використана у складі м'якої лікарської форми для боротьби з рубцевими утвореннями шкіри.

### ВИСНОВКИ

1. Вибір оптимальної концентрації активно діючого інгредієнта є важливим етапом створення нового лікарського засобу для забезпечення тривалого терапевтичного ефекту.

2. Концентрація 5 % розчину ВБПСК є достатньою для прояву ефекту впливу на сполучну тканину. Таким чином, для забезпечення необхідної фармакологічної дії мазі, що створюється, необхідно ввести до її складу 5 % діючої субстанції.

Таким чином, м'яка лікарська форма з 5% концентрацією ВБПСК у своєму складі буде забезпечувати необхідну фармакологічну дію та є перспективною для подальших досліджень.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Жуков, К. А. Современные методы терапии рубцов / К. А. Жуков, И. М. Романенко, Д. В. Радионов // Укр. мед. альманах. – 2014. – № 17 (4). – С. 136–139.
2. Воронков, А. В. Современные подходы фармакологической коррекции патологических рубцов / А. В. Воронков, Э. Ф. Степанова, Ю. Ю. Жидкова // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 3. – С. 301–308.
3. Varinsky, B. The research of free aminoacids of water-soluble protein-polysaccharide complex of oyster mushroom pleurotusostreatus / B. Varinsky, N. Kucherenko, O. Kolpakova // Sci. J. "ScienceRise : Pharmaceutical Science". – 2018. – № 4 (14). – P. 32–37. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2018.141412>
4. Кучеренко, Н. В. Розробка методик стандартизації водорозчинного білково-полісахаридного комплексу, отриманого з гриба PLEUROTUS OSTREATUS / Н. В. Кучеренко, А. В. Мартинов, В. Г. Дем'яненко // Фармац. журн. – 2008. – № 1. – С. 92–95.
5. Дем'яненко, В. Г. Гіполіпідемічна дія сухого екстракту гриба Pleurotusostreatus / В. Г. Дем'яненко, Н. В. Кучеренко, Ю. В. Столетов // Клін. фармація. – 2006. – № 1. – С. 36–39.
6. Фармацевтические и биологические аспекты мазей / И. М. Перцев, А. М. Котенко, О. В. Чуешов, Е. Л. Халаева. – Х. : Изд-во НФаУ «Золотые страницы», 2008. – 288 с.
7. Гистология, эмбриология, цитология : учебник / Ю. И. Афанасьев, Н. А. Юрина, Е. Ф. Котовский и др. ; под ред. Ю. И. Афанасьева, Н. А. Юриной. – 6-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 800 с.
8. Морфологическая диагностика. Подготовка материала для гистологического исследования и электронной микроскопии : руководство / под ред. Д. Э. Коржевского. – С.Пб. : СпецЛит, 2013. – 127 с.
9. Новак, В. П. Цитология, гистология, эмбриология : навч. посіб. / В. П. Новак, А. П. Мельниченко. – Біла Церква, 2005. – 256 с.

### REFERENCES

1. Zhukov, K. A., Romanenko, Y. M., Radionov, D. V. (2014). *Ukrainskii medichnii almanakh*, 4, 136–139.
2. Voronkov, A. V., Stepanova, Ye. F., Zhidkova, Yu. Yu. (2013). *Fundamentalnye issledovaniia*, 3, 301–308.
3. Varinsky, B., Kucherenko, N., & Kolpakova, O. (2018). The research of free aminoacids of water-soluble protein-polysaccharide complex of oyster mushroom pleurotus ostreatus. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 4 (14), 32–37. <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2018.141412>
4. Kucherenko, N. V., Martynov, A. V., Demianenko, V. H. (2008). *Farmatsevtichnyi zhurnal*, 1, 92–95.
5. Demianenko, V. H., Kucherenko, N. V., Stolyetov, Yu. V. (2006). *Klinichna farmatsiia*, 1, 36–39.
6. Pertcev, I. M., Kotenko, A. M., Chueshov, O. V., Khalaeva, E. L. (2008) *Farmatsevticheskie i biologicheskie aspekty mazei*. Kharkov : NUPh, 288.
7. Afanasev, Iu. I., Iurina, N. A., Kotoskii, E. F. (Eds.) (2012). *Gistologiya, embriologiya, tcitologiya: uchebnyk (6-edition)*. Moscow : GEOTAR-Media, 800.
8. Korzhevskii, D. E. (Ed.). (2013). *Morfologicheskaiia diagnostika. Podgotovka materiala dlia gistologicheskogo issledovaniia i elektronnoi mikroskopii: rukovodstvo*. St. Petersburg : SpetLit, 127.
9. Novak, V. P., Melnychenko, A. P. (2005). *Tsytolohiia, histolohiia, embriolohiia : Navch. Posibnyk*. Bila Tserkva, 256.

**Відомості про авторів:**

Колпакова О. А., ст. викладач кафедри хімічних та фармацевтичних технологій, Інститут хімічних технологій Східноукраїнського національного університету імені В. Даля

Кучеренко Н. В., канд. фармацевт. наук, доцент кафедри технології ліків, організації та економіки фармації з фармакологією, ДЗ «Луганський державний медичний університет». E-mail: kucherenko\_nata\_ua@ukr.net.

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6462-9295>

Ханіна О. В., асистент кафедри біології, гістології та ембріології, ДЗ «Луганський державний медичний університет»

**Information about authors:**

Kolpakova O., Senior Lecturer of the Department of Chemical and Pharmaceutical Technologies, Institute of Chemical Technologies, V. Dahl East Ukrainian National University

Kucherenko N., PhD, Associate Professor of the Department of Drug Technology, Organization and Economy of Pharmacy with Pharmacology, SI "Lugansk State Medical University". E-mail: kucherenko\_nata\_ua@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6462-9295>

Hanina O., Assistant of the Department of Biology, Histology and Embryology, SI "Lugansk State Medical University"

**Сведения об авторах:**

Колпакова О. А., ст. преподаватель кафедры химических и фармацевтических технологий, Институт химических технологий Восточноукраинского национального университета имени В. Даля

Кучеренко Н. В., канд. фармацевт. наук, доцент кафедры технологии лекарств, организации и экономики фармации с фармакологией, ГУ «Луганский государственный медицинский университет». E-mail: kucherenko\_nata\_ua@ukr.net.

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6462-9295>

Ханина Е. В., ассистент кафедры биологии, гистологии и эмбриологии, ГУ «Луганский государственный медицинский университет»

Надійшла до редакції 18.12.2019 р.