

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2024.3.69>

Оценка местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия жидкого экстракта полыни и комбинированного спрея на его основе

О.А. Сушинская, Н.С. Голяк

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2024. – Том 23, №3. – С. 69-78.

The assessment of local irritant and skin-resorptive effect of liquid extract of wormwood and combined spray based on it

O.A. Sushinskaya, N.S. Golyak

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2024;23(3):69-78.

Резюме.

Цель исследования – оценка безопасности жидкого экстракта полыни горькой и комбинированного спрея на его основе.

Материал и методы. Объектами исследования являлись жидкий экстракт полыни горькой (экстрагент – 70% этанол) и комбинированный спрей для наружного применения, содержащий ибупрофен и жидкий экстракт полыни горькой 1:1. Испытания по определению местно-раздражающего и кожно-резорбтивного действия проводили в соответствии с Инструкцией 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ». Для оценки раздражающего и резорбтивного действия определяли толщину кожных складок и их прирост после однократных и многократных аппликаций исследуемых веществ, изменение массы тела лабораторных животных и массовые коэффициенты их внутренних органов, показатели общего и биохимического анализов крови.

Результаты. По результатам количественной оценки степени индукции эритемы и отека кожных складок выраженность местно-раздражающих свойств для групп экспериментальных животных составила менее 1 балла. По показателю динамики массы тела статистически различимых результатов не выявлено. Массовые коэффициенты всех органов испытываемых животных оставались в пределах нормы. При оценке большинства гематологических показателей во всех испытываемых группах их значения оставались в пределах физиологической нормы, однако выявлено повышение уровня общего билирубина во всех испытываемых группах самок и испытываемой группе самцов, получавших экстракт.

Заключение. Результаты оценки безопасности позволили установить, что жидкий экстракт полыни горькой, а также комбинированный спрей не проявляют выраженного местно-раздражающего действия (ни в остром, ни в субхроническом эксперименте) и токсического кожно-резорбтивного действия.

Ключевые слова: жидкий экстракт, полынь горькая, ибупрофен, безопасность, местно-раздражающее действие, кожно-резорбтивное действие.

Abstract.

Objectives. To assess the safety of liquid extract of wormwood and combined spray based on it.

Material and methods. The objects of the study were liquid extract of wormwood (extractant – 70% ethanol) and combined spray for external use containing ibuprofen and liquid extract of wormwood 1:1. Tests to determine the local irritant and skin-resorptive effect were carried out in accordance with Instructions 1.1.11-12-35-2004 «Requirements for conducting experimental studies for primary toxicological assessment and hygienic regulation of substances». To assess the irritant and resorptive effect, the thickness of skin folds and their increase after single and multiple applications of the studied substances, changes in body weight of laboratory animals and mass coefficients of their internal organs, indicators of general and biochemical blood tests were determined.

Results. According to the results of quantitative assessment of the degree of erythema induction and edema of skin

folds, the severity of local irritant properties for the groups of experimental animals was less than 1 point. There were no statistically distinguishable results in terms of body weight dynamics. The mass coefficients of all organs of the tested animals remained within the normal range. When assessing the majority of hematological parameters in all test groups, their values remained within the physiological norm, however, an increase in the level of total bilirubin was revealed in all test groups of females and the test group of males receiving the extract.

Conclusions. The results of the safety assessment made it possible to establish that the liquid extract of wormwood, as well as the combined spray, do not exhibit a locally irritating effect (neither in acute nor in subchronic experiments) and a toxic skin-resorptive effect.

Keywords: liquid extract, wormwood, ibuprofen, safety, local irritant effect, skin-resorptive effect.

Введение

Полынь горькая – перспективное лекарственное растение, которое содержит большой спектр биологически активных веществ (БАВ) противовоспалительного действия. Известно, что введение экстракционных препаратов в состав топических лекарственных форм позволяет повысить эффективность терапии воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата [1]. Экстракционные препараты, получаемые из полыни горькой, являются перспективными объектами для исследований и могут использоваться как индивидуально, так и для усиления противовоспалительного эффекта лекарственных форм наружного применения, содержащих нестероидные противовоспалительные средства [2, 3].

Несмотря на противовоспалительный потенциал, сырье полыни горькой содержит группу сесквитерпеновых лактонов, которые помимо терапевтического эффекта могут оказывать раздражающее действие при накожном применении [4, 5].

Согласно компьютерному веб-приложению Pred-Skin 3.0, которое позволяет оценить сенсibilизацию кожи различными веществами, в том числе БАВ, многие горькие гликозиды и сесквитерпеновые лактоны, а также компоненты эфирного масла полыни горькой обладают потенциальной сенсibilизирующей активностью [6]. Pred-Skin 3.0 включает в себя несколько моделей количественной зависимости структура-активность (QSAR), разработанных с использованием данных *in vitro*, *in vivo* и *ex vivo*, интегрированных в байесовскую модель, которая предсказывает последствия для человека (табл. 1) [7].

Карты вероятностей, позволяющие визуализировать вклад структурных фрагментов БАВ, предсказанные с использованием модели, полученной на основе Pred-Skin 3.0 на примере абсинтина, приведены на рисунке 1.

Структурные фрагменты, окрашенные в зеленый цвет, соответствуют несенсibilизирующим, а фрагменты, окрашенные в фиолетовый цвет – способствующие повышению чувствительности кожи.

Таким образом, на основании литературных данных и компьютерного прогнозирования сенсibilизирующего действия некоторых БАВ полыни горькой, а также для возможности применения разрабатываемых топических препаратов на ее основе в медицинской практике обязательным является оценка их безопасности.

Цель исследования – оценка безопасности жидкого экстракта полыни горькой и комбинированного спрея на его основе.

Материал и методы

Объектами исследования являлись жидкий экстракт полыни горькой (экстрагент – 70% этанол) и комбинированный спрей для наружного применения, содержащий ибупрофен и жидкий экстракт полыни.

Исследования проводились в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [8]. В эксперименте использовались белые крысы обоих полов массой 200-210 г (самки) и 290-300 г (самцы) линии Wistar. Эксперимент проводился в виварии Белорусского государственного медицинского университета. Животные находились в одинаковых условиях с использованием стандартного пищевого рациона (естественный режим освещения; температура помещения 18-22°C; относительная влажность воздуха 40-45%) [9]. Постановка экспериментального исследования осуществлена в соответствии с рекомендациями Конвенции Совета Европы по охране позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях, Директи-

Таблица 1 – Прогнозирование сенсibilизирующей активности некоторых БАВ полыни горькой с помощью веб-приложения Pred-Skin 3.0

БАВ	Прогнозирование сенсibilизирующей активности					
	DPRA (<i>in chemico</i>)	KeratinoSens (<i>in vitro</i>)	h-CLAT (<i>in vitro</i>)	LLNA (<i>in vivo</i>)	HRIPT/HMT (<i>in vivo</i>)	Байесовская модель (<i>in silico</i>)
Абсинтин	+	+	+	+	+	Сенсibilизатор
Артемизин	+	-	+	-	+	Сенсibilизатор
Артабсин	+	-	+	+	+	Сенсibilизатор
Туйон	+	-	+	-	+	Сенсibilизатор
1,8-цинеол	+	+	-	+	+	Сенсibilизатор
Борнеол	+	-	+	-	-	Не сенсibilизатор
Матрицин	+	+	+	-	+	Сенсibilизатор
Фелландрен	+	-	+	+	+	Сенсibilизатор
Сабинен	+	-	+	+	+	Сенсibilизатор
Хамазулен	+	-	+	+	+	Сенсibilизатор
Кемпферол	+	+	-	+	+	Сенсibilизатор
Гиперозид	-	-	-	-	+	Сенсibilизатор
Кверцетин	-	-	+	+	+	Сенсibilизатор
Рутин	-	-	-	-	+	Сенсibilизатор
Хлорогеновая кислота	-	+	+	+	+	Сенсibilизатор

Примечание: +/- – наличие или отсутствие прогноза сенсibilизирующей активности; DPRA – прямой тест на реактивность пептидов; KeratinoSens – измерение активации цитопротекторного пути в кератиноцитах; h-CLAT – тест активации клеточной линии человека; LLNA – анализ местных лимфатических узлов мышей; HRIPT/HMT – повторный патч-тест и тест максимизации на человеке; Байесовская модель – модель прогнозирования на основе байесовского подхода, объединяющая прогнозы всех других анализов для интегративной качественной оценки риска сенсibilизации кожи.

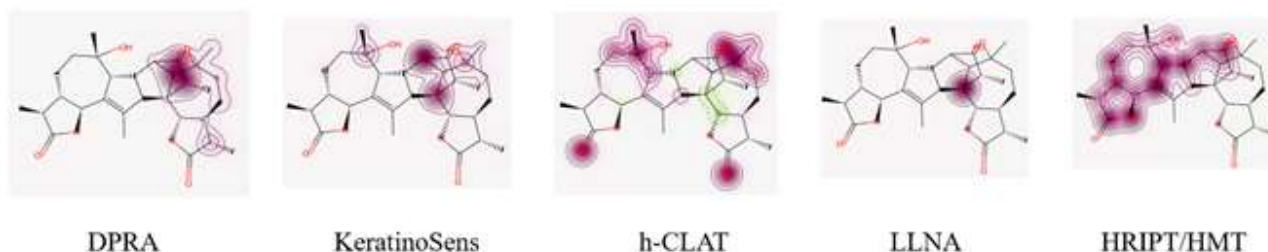


Рисунок 1 – Карты вероятностей сенсibilизирующей активности абсинтина

вой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза, а также в соответствии с Инструкцией 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» [10-12].

Экспериментальные животные были разделены на 4 группы, n=10 (5 самцов и 5 самок):

Группа 1 – контрольная (вода очищенная);

Группа 2 – испытуемая (жидкий экстракт полыни);

Группа 3 – контрольная (спрей плацебо);

Группа 4 – испытуемая (комбинированный

состав, содержащий ибупрофен и жидкий экстракт полыни);

В эксперименте использовали упаренный жидкий экстракт полыни для нивелирования раздражающего действия этанола. Жидкий экстракт полыни упаривали на ротационном испарителе IKA RV 3 есо досуха и полученный остаток растворяли до начального объема в воде очищенной.

У каждой группы лабораторных животных за сутки до эксперимента на боковых сторонах туловища выстригали шерсть в виде кожного «окошка» 4x4 см (16 см²). Правый бок служил для нанесения изучаемого вещества, левый – для

контроля. Испытуемые пробы наносили на кожные «окошки» из расчета 0,02 мл на 1 см² (рис. 2).

Ежедневная экспозиция составила 4 часа. Испытания проводили в течение 20 дней. Оценка клинических проявлений интоксикации, а также состояние кожных покровов (эритема, отек) проводили после 1 часа экспозиции исследуемого вещества, затем через 16 часов наблюдения.

Для оценки отека микрометром измеряли толщину кожной складки (ТКС) на опытных (ТКСо) и контрольных (ТКСк) «окошках» лабораторных животных. Замеры проводили до начала испытаний, после однократной аппликации, через каждые 5 суток исследований (1, 5, 10, 15, 20 день). По разнице толщины опытных и контрольных «окошек» находили прирост (нарастание) ТКС. Результат учитывали с точностью до 0,01 мм. Количественные результаты интенсивности отека и наличия эритемы у каждого животного в отдельности оценивали в баллах, затем вычисляли среднюю оценку выраженности местно-раздражающего действия для групп экспериментальных животных. Результаты интерпретировали в соответствии с Приложениями 5,6 Инструкции 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» [9].

Оценка резорбтивного и сенсибилизирующего эффекта также проводилась через 1 и 16 часов после каждой аппликации и в конце субхронического эксперимента. При этом регистрировалось число летальных случаев, клинические симпто-



Рисунок 2 – Вид кожного «окошка» у лабораторного животного

мы интоксикации и признаки раздражения кожи, проводились исследования общего состояния животных.

На 21 день эксперимента животных подвергали эвтаназии для макроскопического исследования органов и определения их масс и массовых коэффициентов. Массовые коэффициенты внутренних органов животных вычисляли по формуле (1):

$$MK = Mo/M \times 100\% \quad (1),$$

где:

МК – массовый коэффициент внутреннего органа, %;

Mo – масса органа, г;

M – масса животного, г.

Также из венозного синуса животных осуществляли отбор крови для проведения общего и биохимического анализов крови. Основные показатели определяли на биохимическом анализаторе Random Access A-25 BioSystems (Испания) с использованием набора реагентов Fenox, гематологические исследования крови проводили на гематологическом анализаторе Norma iVet-5 (Венгрия) с использованием набора реагентов Norma PetPack. Все этапы отбора и пробоподготовки биологического материала осуществляли по стандартным операционным процедурам.

Статистическая обработка результатов испытаний проводилась с использованием программного обеспечения Statistica 10.0 («StatSoft, Inc.», США) и пакета анализа данных Microsoft Excel 2016. Нормальность распределения исследуемых данных оценивали с помощью критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Для оценки динамики изменения массы тела и толщины кожных складок лабораторных животных использовали непараметрический критерий Уилкоксона. Для сравнения массы тела, а также массовых коэффициентов органов животных опытных и контрольных групп использовали непараметрический ранговый U-критерий Манна-Уитни и непараметрический H-критерий Краскелла-Уоллиса. Различия считали статистически значимыми с вероятностью не менее 95% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Результаты оценки прироста толщины кожных складок при однократных и многократных аппликациях представлены в таблице 2.

Из полученных результатов видно достоверное увеличение толщины кожной складки во всех

контрольных и испытуемых группах в течение 20 дней эксперимента ($p < 0,05$, критерий Уилкоксона), что обусловлено увеличением массы тела лабораторных животных, при этом ТКС_к и ТКС_о статистически различались по отношению к контрольной группе только у испытуемой группы самок (экстракт) ($p < 0,05$, критерий Манна-Уитни) как до начала, так и после завершения эксперимента. Статистически значимых различий между ТКС_к и ТКС_о у самих контрольных и испытуемых групп самок и самцов при однократной и многократных аппликациях не выявлено ($p > 0,05$, критерий Манна-Уитни).

Классификационная оценка жидкого экстракта и комбинированного спрея по выраженности ирритативного действия представлена в таблице 3.

В ходе всего периода наблюдений во всех испытуемых группах отсутствовали признаки выраженного отека и покраснений. Выраженность раздражающего действия для жидкого экстракта полыни и комбинированного спрея на его основе составила менее 1 балла, что доказывает отсутствие их местно-раздражающего действия как при однократной, так и при многократных аппликациях.

Результаты динамики массы тела лабораторных животных представлены в таблице 4.

Установлено статистически значимое увеличение массы тела крыс обоего пола в ходе эксперимента ($p < 0,05$, критерий Уилкоксона). Во всех испытуемых группах изменения массы тела самок в среднем составило $28,6 \pm 5,1$ г, самцов – на $31,1 \pm 2,7$ г, в контрольных группах изменения мас-

Таблица 2 – Оценка прироста толщины кожных складок лабораторных животных

Группа животных	ТКС до испытаний, мм		День эксперимента					ТКС после испытаний, мм	
	ТКС _к	ТКС _о	1	5	10	15	20	ТКС _к	ТКС _о
			Прирост толщины кожной складки (ТКС _о - ТКС _к), мм						
Самки									
1	1,76±0,21	1,76±0,20	0,01±0,01	0,02±0,02	0,03±0,04	0,03±0,04	0,02±0,02	2,09±0,15	2,11±0,13
2	2,14±0,07*	2,16±0,08*	0,02±0,02	0,01±0,02	0,004±0,009	0,01±0,01	0,02±0,02	2,46±0,15*	2,47±0,13*
3	1,93±0,19	1,95±0,19	0,01±0,01	0,06±0,03	0,04±0,03	0,01±0,02	0,01±0,02	2,23±0,19	2,22±0,20
4	1,86±0,21	1,85±0,23	0,02±0,02	0,04±0,04	0,07±0,06	0,05±0,04	0,03±0,03	2,15±0,20	2,18±0,19
Самцы									
1	2,31±0,15	2,32±0,16	0,02±0,01	0,02±0,02	0,02±0,03	0,01±0,02	0,02±0,03	2,69±0,19	2,69±0,22
2	2,18±0,36	2,18±0,37	0,01±0,01	0,04±0,04	0,02±0,02	0,02±0,04	0,03±0,02	2,49±0,35	2,52±0,33
3	2,27±0,30	2,26±0,29	0,02±0,01	0,01±0,03	0,02±0,03	0,02±0,03	0,02±0,02	2,48±0,28	2,47±0,30
4	2,35±0,38	2,35±0,37	0,01±0,01	0,05±0,05	0,03±0,03	0,03±0,05	0,03±0,03	2,60±0,39	2,62±0,38

Примечание: * – статистически значимые различия по сравнению с контрольными группами, $p < 0,05$ (критерий Манна-Уитни).

Таблица 3 – Выраженность ирритативного действия жидкого экстракта полыни горькой и комбинированного спрея

Группа животных	Средний суммарный балл выраженности ирритативного действия				
	День эксперимента				
	1	5	10	15	20
Самки					
1	0	0	0	0,2	0
2	0,4	0,2	0	0	0,2
3	0,2	1	0,4	0	0
4	0,4	0,4	0,8	0,8	0,4
Самцы					
1	0	0	0,2	0	0
2	0,2	0,6	0,2	0,2	0,2
3	0	0,2	0,2	0,2	0,2
4	0,2	0,6	0,2	0,4	0,2

сы тела самок составили $27,5 \pm 4,0$ г, самцов – на $31,2 \pm 4,4$ г.

По окончании эксперимента после эвтаназии животных определяли массу органов крыс – сердца, легких, печени и почек, надпочечников, селезенки, мозга. Результаты определения массовых коэффициентов органов представлены в таблице 5.

Как видно из результатов, представленных в таблице, статистически значимые различия в массовых коэффициентах органов были выявлены для печени в группе самцов (экстракт), печени и почек – в группах самок (спрей) ($p < 0,05$), при этом все величины у опытных групп находились в пределах нормы. Отличия в массовых коэффициентах остальных органов были статистически незначимыми ($p > 0,05$). При макроскопическом исследовании внутренних органов патологических изменений, вызванных применением экстракта и комбинированного спрея, выявлено не было (табл. 6).

Результаты общего анализа крови представлены в таблице 7.

Основные показатели общего анализа крови как у контрольных, так и испытуемых групп самок находились в пределах нормы, при этом статистически различимых результатов по отношению к контрольным группам выявлено не было ($p > 0,05$). Наблюдались статистически значимые различия уровня тромбоцитов и тромбокриты у испытуемой группы самцов (спрей), среднего объема эритроцитов и количество гемоглобина в эритроцитах у испытуемой группы самцов (экстракт) по отношению к контрольным группам ($p < 0,05$), при этом показатели находились в пределах физиологической нормы.

Результаты биохимического анализа крови представлены в таблице 8.

Как следует из таблицы, большинство представленных биохимических показателей у животных опытной и контрольной групп находятся примерно на одном уровне и статистически незначимы между собой ($p > 0,05$). Однако имеется повышение уровня общего билирубина в обеих испытуемых группах самок в 2,7 раза (в группе экстракта) и 3,4 раза (в группе спрея) соответственно, в испытуемой группе самцов (экстракт) в 6,5 раза ($p < 0,05$).

Также в испытуемой группе самок (спрей) наблюдалось достоверное увеличение уровня АсАТ ($p < 0,05$), однако значения находились в пределах нормы.

Заключение

1. В рамках проведения фармацевтической разработки комбинированного спрея противовоспалительного действия и в связи с наличием в составе спрея жидкого экстракта полыни горькой, обладающего потенциальным сенсibiliзирующим действием, проведены исследования по оценке кожно-резорбтивного и местно-раздражающего действия.

2. При оценке безопасности жидкого экстракта полыни горькой 1:1 и комбинированного спрея на его основе большинство показателей оставалось без значимых изменений. По показателю динамики массы тела статистически различимых результатов не выявлено. Массовые коэффициенты всех органов испытуемых животных оставались в пределах нормы.

3. При оценке большинства гематологических показателей во всех испытуемых группах их значения оставались в пределах нормального физиологического диапазона, однако выявлено повышение уровня общего билирубина относи-

Таблица 4 – Изменения массы тела лабораторных животных в ходе эксперимента

Группа животных	Масса тела, г			
	Самки		Самцы	
	До испытаний	21-й день	До испытаний	21-й день
1	204,2±2,5	229,4±5,4	293,5±2,0	323,0±2,4
2	203,7±2,1	230,8±6,0*	293,5±1,4	324,6±3,2*
3	202,7±1,6	232,4±3,9	294,5±2,1	327,3±5,5
4	203,4±2,6	233,6±7,0*	293,7±2,4	324,8±4,4*
U-критерий Манна-Уитни, p				
1-2	0,6761		1,0000	
3-4	0,8345		0,4647	

Примечание: * – статистически незначимые различия по сравнению с контрольными группами, $p > 0,05$.

Таблица 5 – Массовые коэффициенты внутренних органов лабораторных животных

Орган	Массовый коэффициент, %				U-критерий Манна-Уитни, p		H-критерий Краскелла-Уоллиса
	Группа животных (№)						
	1	2	3	4	1-2	3-4	
Самки							
Сердце	0,36±0,04	0,35±0,04	0,32±0,01	0,35±0,04	1,0000	0,1437	H=2,725714, df=3, p=0,4359
Легкие	0,70±0,04	0,70±0,09	0,72±0,04	0,67±0,08	1,0000	0,5309	H=0,8514286, df=3, p=0,8371
Печень	3,72±0,39	3,10±0,38	3,25±0,31	3,87±0,27*	0,0601	0,0367	H=9,925714, df=3, p=0,0192
Почки	0,70±0,09	0,62±0,06	0,59±0,02	0,71±0,05*	0,1437	0,0122	H=12,06050, df=3, p=0,0072
Надпочечники	0,03±0,004	0,03±0,003	0,03±0,004	0,03±0,01	0,2963	1,0000	H=1,332579, df=3, p=0,7214
Селезенка	0,36±0,06	0,35±0,02	0,36±0,03	0,38±0,08	1,0000	0,8345	H=0,2114286, df=3, p=0,9757
Мозг	0,63±0,02	0,60±0,08	0,64±0,07	0,70±0,07	0,2963	0,2101	H=7,459789, df=3, p=0,0586
Самцы							
Сердце	0,32±0,03	0,28±0,03	0,23±0,07	0,28±0,02	0,0601	0,5309	H=5,445714, df=3, p=0,1419
Легкие	0,63±0,11	0,53±0,05	0,47±0,11	0,59±0,06	0,1437	0,0947	H=4,817143, df=3, p=0,1857
Печень	3,43±0,56	2,31±0,24*	2,53±0,99	3,45±0,23	0,0122	0,1437	H=8,794286, df=3, p=0,0322
Почки	0,62±0,03	0,53±0,06	0,50±0,12	0,59±0,05	0,0601	0,2963	H=5,651429, df=3, p=0,1299
Надпочечники	0,02±0,002	0,02±0,001	0,02±0,01	0,02±0,002	0,4034	1,0000	H=3,423449, df=3, p=0,3308
Селезенка	0,32±0,04	0,29±0,04	0,23±0,10	0,32±0,04	0,5309	0,1437	H=3,765714, df=3, p=0,2879
Мозг	0,51±0,04	0,51±0,06	0,45±0,03	0,54±0,07	1,0000	0,0947	H=5,651429, df=3, p=0,1299

Таблица 6 – Макроскопическое описание исследуемых органов лабораторных животных

Сердце	Увеличение в размерах у всех лабораторных животных не наблюдалось, имело овоидно-сферическую форму, гладкую поверхность, темно-бордовый цвет. Признаков кровоизлияний не выявлено.
Легкие	Увеличения размера органа не выявлено. Правое легкое имело форму конуса, усеченного продольно, левое - поперечно уплощено. Ткань легких гладкая, без структурных изменений, спаяк и кровоизлияний.
Печень	Увеличение в размерах у всех лабораторных животных не наблюдалось. Структура печени не изменена, имеет коричневый цвет, гладкую поверхность. Признаков кровоизлияний или спаяк не выявлено.
Почки	Увеличение в размерах у всех лабораторных животных не наблюдалось, имели бобовидную форму, темно-бордового цвета, с гладкой и блестящей поверхностью. На разрезе четко различимы корковое и мозговое вещество, структура которых хорошо сохранена. Признаков кровоизлияний не выявлено.
Надпочечники	Увеличения размера органа не выявлено, имели пирамидальную форму, желтоватого цвета. Структура надпочечников имела плотную консистенцию, не изменена.
Селезенка	Форма селезенки – удлинённая с небольшим уплощением. Увеличения размера органа не выявлено, структура не изменена. Имела темно-бордовый цвет, с гладкой и блестящей поверхностью. Признаков кровоизлияний или спаяк не выявлено.
Мозг	Имел слегка вытянутую по длине форму, розовато-бежевого цвета, структура хорошо сохранена, не изменена. Признаков кровоизлияний не выявлено.

Таблица 7 – Показатели общего анализа крови лабораторных животных

Показатель	Группа животных (№)				Критерий Манна-Уитни, p	
	1	2	3	4	1-2	3-4
Самки						
RBC x10 ¹² /л	7,6±0,8	8,0±0,2	8,0±0,6	7,6±0,5	1,0000	0,2963
HGB г/л	123,4±11,6	132,4±5,2	133,8±7,0	125,8±5,8	0,2100	0,1172
PLT x10 ⁹ /л	652,8±178,1	710,8±96,9	565,8±100,5	610,2±286,6	0,8345	0,2963
WBC x10 ⁹ /л	8,4±2,2	9,4±3,4	5,3±1,5	6,1±1,4	1,0000	0,4647
LYM %	72,9±19,6	77,3±16,9	72,4±6,8	73,8±3,1	1,0000	0,7540
MON %	1,3±1,4	1,4±2,9	0,3±6,8	0,7±0,4	0,5309	0,1172
NEU %	23,9±18,7	18,5±13,0	24,9±6,9	23,6±3,0	1,0000	0,8345
EOS %	1,8±1,7	2,6±2,3	2,4±1,3	2,0±0,9	0,6761	0,5309
BAS %	0,08±0,11	0,16±0,26	0,02±0,04	0	0,9168	0,6761
HCT %	38,4±3,85	40,8±2,17	41,0±3,08	39,0±2,45	0,3472	0,2506
PCT%	0,40±0,12	0,43±0,06	0,35±0,06	0,36±0,18	0,6761	0,2963
MCV фл	50,2±0,84	50,4±2,30	51,6±0,55	51,2±1,64	0,9168	0,6761
MCHC г/л	323,4±8,65	327,2±8,81	325,8±7,82	323,6±6,23	0,4034	0,6761
Самцы						
RBC x10 ¹² /л	8,4±1,0	8,8±1,0	8,5±1,2	8,3±0,4	1,0000	0,2963
HGB г/л	133,0±8,4	132,8±9,4	129,0±11,7	127,6±3,6	1,0000	0,2963
PLT x10 ⁹ /л	742,8±188,4	818,2±182,8	555,4±200,6	816,0±59,8*	0,6761	0,0122
WBC x10 ⁹ /л	7,0±2,9	6,3±1,4	11,9±6,6	9,7±3,8	0,6015	0,5309
LYM %	71,0±10,7	81,8±11,2	61,2±22,6	78,4±16,3	0,1437	0,2101
MON %	1,1±0,7	0,5±0,5	2,6±1,4	1,4±2,0	0,1437	0,2963
NEU %	25,7±9,4	16,5±10,3	34,2±21,8	19,2±14,3	0,2101	0,2963
EOS %	2,1±1,1	1,1±1,1	1,9±1,8	1,0±0,6	0,3472	0,3472
BAS %	0,10±0,14	0,02±0,04	0,14±0,22	0,08±0,2	0,5309	0,6761
HCT %	42,8±4,02	40,4±4,16	40,4±4,28	39,6±1,14	0,3472	0,1745
PCT%	0,46±0,12	0,50±0,12	0,35±0,13	0,49±0,03*	1,0000	0,0122
MCV фл	51,0±2,65	46,4±2,88*	47,6±2,70	47,8±1,10	0,0472	0,8345
MCHC г/л	311,8±10,76	328,6±4,72*	321,4±9,48	324,0±4,53	0,0472	0,4647

Примечание: здесь и в табл. 8 – * – значимые различия относительно контрольной группы, p<0,05.

Таблица 8 – Показатели биохимического анализа крови лабораторных животных

Группа животных (№)	Показатель крови						
	АлАТ, Е/л	АсАТ, Е/л	Общий билирубин, мкмоль/л	Креатинин, мкмоль/л	Глюкоза, ммоль/л	Мочевина, ммоль/л	С-реактивный белок, ммоль/л
Самки							
1	79,6±17,3	157,4±40,6	8,7±4,5	72,7±12,8	10,6±2,2	2,4±0,5	0,40±0,00
2	78,8±88,0	136,0±95,6	23,6±7,2*	78,5±8,4	8,1±1,4	2,2±0,4	0,42±0,04
3	61,8±12,0	87,0±20,0	6,4±1,6	78,3±10,2	9,1±0,8	3,2±0,4	0,64±0,37
4	82,4±20,2	158,4±18,9*	21,6±6,9*	71,0±5,5	8,5±0,6	2,4±0,5	0,52±0,27
U-критерий Манна-Уитни, p							
1-2	0,1437	0,1437	0,0216	0,2963	0,0947	0,6761	0,6761
3-4	0,0947	0,0122	0,0122	0,2963	0,2101	0,0947	0,2101
Самцы							
1	77,2±26,1	120,8±23,9	6,5±3,4	76,9±14,76	8,1±0,7	2,4±0,5	0,42±0,04
2	59,4±13,0	110,2±21,4	42,3±14,6*	77,8±14,0	7,0±1,0	2,6±0,5	0,44±0,05
3	90,8±17,3	151,0±76,9	11,2±8,8	75,1±6,7	10,1±0,8	3,6±1,5	0,46±0,05
4	73,4±7,3	138,0±24,3	17,4±6,6	78,5±7,1	9,9±1,8	2,0±0,7	0,64±0,33
U-критерий Манна-Уитни, p							
1-2	0,2101	0,5309	0,0122	0,8345	0,0601	0,6761	0,6761
3-4	0,1437	0,6761	0,4034	0,6761	0,8345	0,0758	1,0000

тельно нормы во всех испытуемых группах самок и испытуемой группе самцов, получавших экстракт.

4. Результаты исследования безопасности позволили установить, что жидкий экстракт полыни горькой, а также комбинированный спрей не проявляют выраженного местно-раздражающего действия (ни в остром, ни субхроническом эксперименте) и токсического кожно-резорбтивного действия.

5. Комбинированный спрей для наружного применения, содержащий ибупрофен и жидкий экстракт полыни, может быть использован в терапии воспалительных заболеваний опорно-двигательного аппарата (например, артриты разной этиологии), при травматически обусловленных воспалениях сухожилий, связок, мышц и суставов, для снятия болевого синдрома.

Работа выполнена в рамках ГПНИ 2 – Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорганическая химия – подпрограммы 2.2 – Синтез и направленное модифицирование регуляторов биопроцессов (Биорегуляторы) – задания 2.2.3. – Получить и стандартизировать экстракционные лекарственные формы с повышенным содержанием биологически активных веществ (№ государственной регистрации 20220401 от 30.03.2022).

The study was conducted within the frames of State Research Programs 2 (GPNI 2) – Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorganic chemistry – of subprogram 2.2.3 – To get and standardize extraction dosage forms with an increased content of biologically active substances (№GR 20220401 of 30.03.2022).

Литература

1. Formulation of Topical Dosage Forms Containing Synthetic and Natural Anti-Inflammatory Agents for the Treatment of Rheumatoid Arthritis / T. Jurca [et al.] // *Molecules*. 2020 Dec. Vol. 26, N 1. P. 24.
2. Сушинская, О. А. Противовоспалительная активность спрея на основе ибупрофена и жидкого экстракта полыни / О. А. Сушинская, Н. С. Голяк // *Вестн. фармации*. 2021. № 3. С. 73–78.
3. Сушинская, О. А. Перспективы использования лекарственного растительного сырья в наружных формах противовоспалительного действия / О. А. Сушинская, Н. С. Голяк // *Рецепт*. 2021. Т. 24, № 1. С. 67–77. doi: 10.34883/PI.2021.24.1.006
4. Chemical Composition and Biological Uses of *Artemisia absinthium* (Wormwood) / R. R. Bhat [et al.] // *Plant Human Health*. 2019. Vol. 3. P. 37–63. doi: 10.1007/978-3-030-04408-4_3
5. Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and Pharmacokinetics of Wormwood (*Artemisia absinthium*) / G. E.-S. Batiha [et al.] // *Antibiotics*. 2020 Jun. Vol. 9, N 6. P. 353. doi: 10.3390/antibiotics9060353
6. Pred-Skin : Web App 3.0 [Electronic resource]. Mode of access: <http://predskin.labmol.com.br/>. Date of access: 29.05.2024.
7. Pred-Skin: A Web Portal for Accurate Prediction of Human Skin Sensitizers / J. V. B. Borba [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* 2021 Feb. Vol. 34, N 2. P. 258–6267.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / редкол.: А. Н. Миرون [и др.]. Москва : Гриф и К, 2012. 944 с.
9. Об утверждении санитарных правил и норм 2.1.2.12-18-2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)» : постановление Гл. гос. санитар. врача Респ. Беларусь, 31 окт. 2006 г., № 131 // Министерство здравоохранения Республики Беларусь [Электронный ресурс] : сайт. Режим доступа: https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/normativno-pravovaya-baza/baza-npa.php?ELEMENT_ID=332564. Дата доступа: 29.05.2024.
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [Electronic resource]. Mode of access: <https://rm.coe.int/168007a67b>. Date of access: 29.05.2024.
11. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях [Электронный ресурс]. Санкт-Петербург, 2012. Режим доступа: https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf. Дата доступа: 29.05.2024.
12. Об утверждении Инструкции 1.1.11-12-35-2004 «Требования к постановке экспериментальных исследований для первичной токсикологической оценки и гигиенической регламентации веществ» [Электронный ресурс] : постановление Гл. гос. санитар. врача Респ. Беларусь, 14 дек. 2004 г., № 131. Режим доступа: https://minzdrav.gov.by/upload/lcfiles/text_tnra/Инструкция_1.1.11-12-35-2004.pdf. Дата доступа: 29.05.2024.

Поступила 02.05.2024 г.

Принята в печать 14.06.2024 г.

References

1. Jurca T, Józsa L, Suciú R, Pallag A, Marian E, Bácskay I, Mureşan M, et al. Formulation of Topical Dosage Forms Containing Synthetic and Natural Anti-Inflammatory Agents for the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Molecules*. 2020 Dec;26(1):24. doi: 10.3390/molecules26010024
2. Sushinskaya OA, Golyak NS. Anti-inflammatory activity of a spray based on ibuprofen and liquid extract of wormwood. *Vestn Farmatsii*. 2021;(3):73-8. (In Russ.)
3. Sushinskaya OA, Golyak NS. Prospects for the use of medicinal plant raw materials in external forms of anti-inflammatory action. *Retsept*. 2021;24(1):67-77. (In Russ.). doi: 10.34883/PI.2021.24.1.006
4. Bhat RR, Rehman MU, Shabir A, Mir M, Ahmad A, Khan R, et al. Chemical Composition and Biological Uses of *Artemisia absinthium* (Wormwood). *Plant Human Health*. 2019;3:37-63. doi: 10.1007/978-3-030-04408-4_3
5. Batiha GE-S, Olatunde A, El-Mleeh A, Hetta HF, Al-Rejaie S, Alghamdi S, et al. Bioactive Compounds, Pharmacological Actions, and Pharmacokinetics of Wormwood (*Artemisia absinthium*). *Antibiotics (Basel)*. 2020 Jun;9(6):353. doi: 10.3390/antibiotics9060353
6. Pred-Skin: Web App 3.0 [Internet]. Available from: <http://predskin.labmol.com.br/>. [Accessed 29th May 2024].
7. Borba JVB, Braga RC, Alves VM, Muratov EN, Kleinstreuer N, Tropsha A, et al. Pred-Skin: A Web Portal for Accurate Prediction of Human Skin Sensitizers. *Chem Res Toxicol*. 2021 Feb;34(2):258-67. doi: 10.1021/acs.chemrestox.0c00186
8. Mironov AN, Bunyatyan ND, Vasilyev AN, Verstakova OL, Zhuravleva MV, Lepakhin VK, i dr. Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal products. Ch 1. Moscow, RF: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ.)
9. On approval of sanitary rules and norms 2.1.2.12-18-2006 "Design, equipment and maintenance of experimental-biological clinics (vivariums)" [Internet]: postanovlenie GI gos sanitarnykh vrachov Respubliki Belarus', 31 okt 2006 g, № 131. V: Ministerstvo zdravookhraneniya Respubliki Belarus': sait. Available from: https://minzdrav.gov.by/ru/dlya-spetsialistov/normativno-pravovaya-baza/baza-ntp.php?ELEMENT_ID=332564. [Accessed 29th May 2024]. (In Russ.)
10. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and Other Scientific Purposes [Internet]. Available from: <https://rm.coe.int/168007a67b>. [Accessed 29th May 2024].
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010 on the protection of animals used for scientific purposes [Internet]. St. Petersburg; 2012. Available from: https://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/Directive_201063_rus.pdf. [Accessed 29th May 2024]. (In Russ.)
12. On Approval of Instruction 1.1.11-12-35-2004 "Requirements for setting up experimental studies for primary toxicological assessment and hygienic regulation of substances" [Internet]: postanovlenie GI gos sanitarnykh vrachov Respubliki Belarus', 14 dek 2004 g, № 131. Available from: https://minzdrav.gov.by/upload/lcfiles/text_tnpa/Instrukcija_1.1.11-12-35-2004.pdf. [Accessed 29th May 2024]. (In Russ.)

Submitted 02.05.2024

Accepted 14.06.2024

Сведения об авторах:

О.А. Сушинская – м.ф.н., старший преподаватель кафедры фармацевтической технологии, Белорусский государственный медицинский университет, <https://orcid.org/0000-0002-6801-7285>, e-mail: sushinskayaoa@gmail.com – Сушинская Ольга Александровна;
Н.С. Голяк – к.ф.н., доцент, зав. кафедрой фармацевтической технологии, Белорусский государственный медицинский университет, <https://orcid.org/0000-0002-4904-6523>.

Information about authors:

O.A. Sushinskaya – Master of Pharmaceutical Sciences, senior lecturer of the Chair of Pharmaceutical Technology, Belarusian State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-6801-7285>, e-mail: sushinskayaoa@gmail.com – Olga A. Sushinskaya;
N.S. Golyak – Candidate of Pharmaceutical Sciences, associate professor, head of the Chair of Pharmaceutical Technology, Belarusian State Medical University, <https://orcid.org/0000-0002-4904-6523>.