

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
FARMACIJOS FAKULTETAS
VAISTŲ TECHNOLOGIJOS IR SOCIALINĖS FARMACIJOS KATEDRA

FAUSTA PETRAUSKAITĖ

**GYVŪNŲ, SERGANČIŲ CUKRINIU DIABETU, ŽAIZDŲ GYDYMUI PUSIAU
KIETŲ FORMŲ MODELIAVIMAS**

Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovas

doc. dr. Saulė Velžienė

KAUNAS, 2019

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS
MEDICINOS AKADEMIJA
FARMACIJOS FAKULTETAS
VAISTŲ TECHNOLOGIJOS IR SOCIALINĖS FARMACIJOS KATEDRA

TVIRTINU:

Farmacijos fakulteto dekanė prof.dr. Ramunė Morkūnienė

Data:

**GYVŪNŲ, SERGANČIŲ CUKRINIU DIABETU, ŽAIZDŲ GYDYMUI PUSIAU KIETŲ
FORMŲ MODELIAVIMAS**

Magistro baigiamasis darbas

Darbo vadovas:

Doc. dr. Saulė Velžienė

Data:

Recenzentas:

Darbą atliko:

Magistrantė Fausta Petrauskaitė

Data:

Data:

TURINYS

SANTRAUKA	5
SUMMARY	6
SANTRUMPOS	8
ĮVADAS.....	9
DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI.....	10
1. LITERATŪROS APŽVALGA.....	11
1.1. Cukrinis diabetas ir diabetinės žaizdos.....	11
1.2. Salicilo rūgštis	14
1.3. Medus	14
1.4. Propolis.....	15
1.5. Dažinės ciberžolės šakniastiebių milteliai.....	16
1.6. Aliejai diabetinių žaizdų prevencijai	17
1.6.1. Šaltalankių aliejus	17
1.6.2. Arbatmedžio eterinis aliejus.....	18
1.7. Pusiau kietos vaisto formos	18
1.8. Tepalų pagrindai.....	19
1.8.1. Emulsinis tepalo pagrindas.....	19
1.8.2. Angliavandenilinis tepalo pagrindas	20
1.8.3. Absorbacinis tepalo pagrindas	20
1.8.4. Tirpstantis vandenyje pagrindas.....	21
2. TYRIMO METODIKA	22
2.1. Tyrime naudotos medžiagos ir prietaisai.....	22
2.1.1. Tepalo gamybai naudojamos medžiagos.....	22
2.1.2. Tyrime naudoti prietaisai ir aparatūra	22
2.2. Tepalo gamybos technologija.....	23
2.2.1. Tepalo sudėties parinkimas	23
2.3. Tepalų sudėtys	23
2.4. Centrifugavimas.....	24
2.5. Tepalų pH reikšmės nustatymas	26
2.6. Salicilo rūgšties kiekybinis nustatymas pusiau kietame preparate.....	26
2.7. Stabilumo tyrimai	27
3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	29
3.1. Tepalų pH reikšmės nustatymas	29
3.2. Salicilo rūgšties kiekybinis nustatymas pusiau kietame preparate.....	30

3.3. Stabilumo tyrimai	30
3.3.1. Klampos matavimas	30
3.3.2. Tekstūros analizė.....	35
4. IŠVADOS	43
5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS	44
6. LITERATŪROS SĄRAŠAS	45

SANTRAUKA

Fausta Petrauskaitė „Gyvūnų, sergančių cukriniu diabetu, žaizdų gydymui pusiau kietų formų modeliavimas“/ Mokslinio darbo vadovė doc. dr. Saulė Velžienė; Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Farmacijos fakulteto Vaistų technologijos ir socialinės farmacijos katedra. – Kaunas, 2019.

Tyrimo tikslas: parinkti tinkamą sudėtį pusiau kietų preparatų skirtų gyvūnų, sergančių cukriniu diabetu žaizdų gydymui ir pagaminti bei įvertinti jų stabilumą.

Tyrimo uždaviniai: Remiantis mokslinės literatūros analize, suprojektuoti ir pasiūlyti pusiau kietų preparatų sudėtis, kurios būtų tinkamos gydant žaizdas gyvūnams, sergantiems cukriniu diabetu. Parinkti veikliųjų ir pagalbinių medžiagų santykį ir kiekį. Pagaminti pasirinktų sudėčių pusiau kietas vaisto formas, naudojant emulsinį pagrindą. Parinkti tinkamą gamybos metodą, naudojant šildomąjį-šaldomąjį tepalų gamybos įrenginį ir homogenizatorių Unguator 2100. Įvertinti pagamintų tepalų kokybę, stabilumą centrifuguojant, tiriant tekstūrą, nustatant klampą, pH, įvertinant salicilo rūgšties kiekį preparate.

Tyrimo metodai: kokybė vertinta matuojant preparatų klampą esant skirtingoms laikymo sąlygoms, pH reikšmę, atliekama tekstūros analizė. Pusiau kietame preparate esančios salicilo rūgšties kiekis nustatomas spektrofotometriškai.

Tyrimo rezultatai ir išvados: Atlikus centrifugos testą, iš 15-os sudėčių buvo atrinktos 5-ios, su kuriomis buvo tęsiami tyrimai. Nustatyta pH priklausomybė nuo temperatūros: didėjant temperatūrai, pH reikšmė mažėja, o mažėjant temperatūrai – pH didėja. Tepalų pH – rūgštinė. Spektrofotometriškai įvertinus salicilo rūgšties kiekį tepale, nustatyta, jog A ir B tepaluose veikliosios medžiagos kiekis per mažas, o C, D ir E – atitinka Europos farmakopėjos keliamus reikalavimus. Atlikus klamos analizę, nustatyta, kad C ir E tepalai viso tyrimo metu išliko stabiliausi tiek laikant kambario, tiek šaldytuvo sąlygomis. Juose aliejų kiekis buvo mažiausias. A, B ir D tepalai po klamos tyrimo prarado technologines savybes. Manoma, kad dėl didžiausio eterinių aliejų kiekio. Dėl to su jais tyrimai buvo nebetęsiami. Tekstūros analizė parodė, kad E tepalas, kuriame yra ir medaus, ir eterinių aliejų, buvo stabilesnis nei tepalas C, kuriame medaus nebuvo, o eterinių aliejų kiekis buvo mažesnis. Visą tyrimo laikotarpį (6 mėn) E sudėties tepalas išliko stabilus.

SUMMARY

Fausta Petrauskaitė. “The Modeling of Semi-Solid Forms for the Treatment of Wounds of Animals with Diabetes”. Academic supervisor: Assoc. Prof. Dr. Saulė Velžienė; The Faculty of Pharmacy at the Medical Academy of Lithuanian University of Health Sciences, Department of Drug Technology and Social Pharmacy. – Kaunas, 2019.

The objective of the study: to select the right formulation for semi-solid preparations for the treatment of wounds of animals with diabetes, to make the preparations and measure their stability.

The tasks of the study: To design and suggest the composition of semi-solid preparations, which would be suitable for treating wounds of animals with diabetes, on the basis of scientific literature analysis. To select the ratio and the amount of active ingredients and excipients. To make semi-solid pharmaceutical forms of the chosen compositions using emulsion base. To select the right production method using the warming–cooling device for making ointments and the homogenizer *Unguator 2100*. To evaluate the quality and stability of the ointments, while centrifuging, analysing the texture and homogeneity, measuring the viscosity and pH, evaluating the amount of salicylic acid in the ointments.

The methods of the study: the quality has been evaluated by measuring the pH value and the viscosity of the preparations in different storage conditions, then the texture analysis was carried out. The amount of salicylic acid in the semi-solid preparation is estimated spectrophotometrically.

The results and conclusions of the study: After testing them by centrifuging, 5 compositions out of 15 were selected and they have been used while carrying out the study. It was established that the pH value is dependent on the temperature: when the temperature is increasing, the pH value is decreasing; when the temperature is decreasing, the pH value is increasing. The pH of the ointments is acidic. After spectrophotometrically estimating the amount of salicylic acid in the ointment, it was established that the amount of the active substance in ointments A and B is too small, while the amount in ointments C, D and E fulfills the requirements of the European Pharmacopoeia. After analyzing the viscosity, it was established that ointments C and E remained the most stable both at room temperature and during refrigerated storage. The amount of oils in them was the smallest. After analyzing their viscosity, ointments A, B and D lost their technological properties. It is assumed that that happened because of the biggest amount of essential oils in them. For that reason they were no longer being used while carrying out the study. The texture analysis has shown that ointment E, which included both honey and essential oils, was more stable than ointment C, which contained no honey and had a smaller amount of essential oils in it. The ointment with the composition E has remained stable during the whole time of the study (6 months).

PADEKA

Už suteiktas darbo sąlygas ir pagalbą atliekant magistro baigiamąjį darbą „Gyvūnų, sergančių cukriniu diabetu, žaizdų gydymui pusiau kietų formų modeliavimas“ dėkoju savo darbo vadovei doc. dr. Saulei Velžienei, taip pat doc. dr. Giedrei Kasparavičienei bei visam Vaistų technologijos ir socialinės farmacijos katedros kolektyvui.

SANTRUMPOS

proc. – procentai, %

ROS – reaktyvieji deguonies junginiai

Pa*s – paskaliai per sekundę

RPM – kartas per minutę (Rate per minute)

P – pagaminus

P2M – po dviejų mėnesių

P4M – po keturių mėnesių

P6M – po šešių mėnesių

IVADAS

Cukrinis diabetas (lot. *diabetes mellitus*) - tai lėtinė polietiologinė, polipatogenezinė liga, kuria sergant dėl absoliutaus arba santykinio insulino stygiaus bei jo veikimo sutrikimų pakinta medžiagų, pirmiausia angliavandenių, apykaita. Prastai kontroliuojama liga dažnai sukelia sunkias komplikacijas.

Įvairios žaizdos, nudegimai, įpjovimai sergančiam individui cukriniu diabetu gali sukelti rimtas sveikatos problemas. Dėl atsiradusios neuropatijos sutrinka jutimai, dėl to dažnai susižeidę sergantieji gali nieko nejausti. Žaizdos gyja labai sunkiai ir lėtai arba visai negyja, todėl per jas labai greitai patenka infekcija. Infekcija plinta į šalia esančius audinius bei kaulus. Tokios komplikacijos pasekmė – amputacija. Dažniausiai tai būna kojos piršto, pėdos ar visos galūnės amputacija, nes pačiam sergančiajam šiose vietose sunku pastebėti žaizdas. Taip pat dėl sutrikusios kraujotakos gali atsirasti trofinių opų, dėl kurių kyla gangrena.

Diabetinių žaizdų gydymui Lietuvos vaistinėse būtų sunku įsigyti preparatų, skirtų būtent dėl cukrinio diabeto atsiradusių žaizdų gydymui, kuris skatintų žaizdos gijimą, padėtų išvengti infekcijos, o svarbiausia – amputacijos. Dėl šios priežasties nutarta sumodeliuoti pusiau kietą vaisto formą, pasirenkant natūralias medžiagas, kurios pasižymi priešuždegiminėmis, antibakterinėmis, keratolitinėmis bei epitelį regeneruojančiomis savybėmis.

Cukriniu diabetu serga žmonės ir gyvūnai, todėl buvo tikslinga kurti tepalą, kurį galima būtų pritaikyti visų sergančiųjų (tiek žmonių, tiek gyvūnų) negyjančių žaizdų gydymui.

DARBO TIKSLAS IR UŽDAVINIAI

Darbo tikslas: parinkti tinkamą sudėtį pusiau kietų preparatų skirtų gyvūnų, sergančių cukriniu diabetu žaizdų gydymui ir įvertinti jų stabilumą.

Uždaviniai:

1. Remiantis mokslinės literatūros analize, suprojektuoti ir pasiūlyti pusiau kietų preparatų sudėtis, kurios būtų tinkamos gydant žaizdas gyvūnams, sergantiems cukriniu diabetu.
2. Parinkti veikliųjų ir pagalbinių medžiagų santykį ir kiekį.
3. Pagaminti pasirinktų sudėčių pusiau kietas vaisto formas, naudojant emulsinį pagrindą.
4. Parinkti tinkamą gamybos metodą, naudojant šildomąjį-šaldomąjį tepalų gamybos įrenginį ir homogenizatorių Unguator 2100.
5. Įvertinti pagamintų tepalų kokybę, stabilumą centrifuguojant, tiriant tekstūrą, nustatant klampą, pH, įvertinant salicilo rūgšties kiekį preparate.

1. LITERATŪROS APŽVALGA

1.1. Cukrinis diabetas ir diabetinės žaizdos

Cukrinis diabetas – tai lėtinė liga, kuria sergančiojo organizmas gamina nepakankamai insulino arba negali tinkamai jo panaudoti, todėl kraujyje gausėja gliukozės.

Cukrinis diabetas yra viena iš dažniausiai pasitaikančių metabolinių ligų, diagnozuojama įvairioms šunų ir kačių veislėms. Nuo 2011 metų iki 2015 metų, 32 procentais padidėjo šunų ir 16 procentų kačių sergamumas cukriniu diabetu. Maždaug 1 - as iš 308 šunų ir 1 - a iš 230 kačių yra sergantys šia liga. Daugiau už šiuos gyvūnus serga tik žmonės. Cukriniu diabetu retai kada suserga kiti naminiai gyvūnai, tokie kaip arkliai, galvijai, kiaulės ir kiti maži atrajotojai.[1]

Cukrinio diabeto klasifikacija dideliems ir smulkiems gyvūnams skiriasi, nors turi panašumų į žmogaus. Dažniausiai skirstomas į du tipus. 1-o tipo – autoimuninė liga, kai organizme insulinas negaminamas dėl kasos β -ląstelių destrukcijos. 2-o tipo cukrinį diabetą sąlygoja tokie mechanizmai kaip atsparumas insulinui ir insulino sekrecijos nepakankamumas. Cukrinio diabeto 2-am tipui atsirasti didelės įtakos turi amžius ir kūno masės indeksas.[2] Dar yra ir 3-ias tipas, tačiau jis išskiriamas tik veterinarijoje, ir dažniausiai nustatomas šunyse ir katėse. Jis pasireiškia kaip lėtinio pankreatito komplikacija.[1, 3]

Žmonių ir šunų cukrinio diabeto etiologija, simptomai, gydymas palyginami ir pateikiami 1-oje lentelėje.[3]

1 lentelė. Žmogaus ir šuns cukrinio diabeto palyginimas [3]

Požymis	1-o tipo cukrinis diabetas (žmogus)	Cukrinis diabetas (šuo)
Pasireiškimo pradžia	Vaikystė, paauglystė (tačiau gali būti diagnozuota ir bet kokiame amžiuje (<30 – 40))	Nuo vidutinio iki vyresnio amžiaus (8 metų)
Etiologija	<ul style="list-style-type: none"> • Genetiškai paveldėtas • Dėl imuninių procesų 	<ul style="list-style-type: none"> • Genetiškai paveldėtas • Dėl neaiškių/nenustatytų priežasčių • Antrinis diabetas dėl pankreatito

		<ul style="list-style-type: none"> • Langerhanso salelių sunaikinimas
Pagrindiniai simptomai	<ul style="list-style-type: none"> • Gausus/dažnas šlapinimasis • Troškulys • Nuolatinis alkis • Svorio netekimas • Nuovargis • Acetono kvapas iš burnos 	<ul style="list-style-type: none"> • Gausus/dažnas šlapinimasis • Troškulys • Nuolatinis alkis • Svorio netekimas • Susilpnėjęs regėjimas • Acetono kvapas iš burnos
Antriniai organų pažeidimai	<ul style="list-style-type: none"> • Mikrovaskulinės ligos (retinopatija, nefropatija) ir aterosklerozė • Odos pažeidimai (sunkios, negyjančios žaizdos, opos, diabetinė pėda) 	<ul style="list-style-type: none"> • Katarakta, vėliau apakimas • Sunkios, negyjančios žaizdos • Retai - aterosklerozė
Gydymas	<ul style="list-style-type: none"> • Insulinas • Mitybos suregulavimas, dieta 	<ul style="list-style-type: none"> • Insulinas • Mitybos suregulavimas, dieta

Kaip matyti iš lentelės, sergančių gyvūnų organizme cukrinio diabeto ligos mechanizmas, simptomai, gydymas yra labai panašūs į žmogaus, sergančio cukriniu diabetu. Būtent dėl šių panašumų, vykdomi įvairūs klinikiniai tyrimai ir moksliniai tiriamieji darbai smulkiuose laboratoriniuose gyvūnuose, nustatant ligos etiopatogenezę.[1]

Daugiau nei 422 milijonai pasaulio žmonių serga cukriniu diabetu. 29,1 milijonas (9,3 proc.) sudaro JAV populiacijos.[4]

Sergant cukriniu diabetu neišvengiamai atsiranda įvairių komplikacijų. Epidemiologiškai, apie 30 - čiai proc. žmonių, sergančių cukriniu diabetu, pasireiškia odos pažeidimai.[2] Didžiausia problema

yra prastai gyjančios arba uždelsto gijimo žaizdos, dėl šios priežasties lėtinės negyjančios žaizdos yra viena iš pavojingiausių diabeto komplikacijų.

Žaizdų gijimas yra kompleksinis ir dinaminis procesas, kurio metu yra atstatomos ląstelinės struktūros ir audinių sluoksniai.[5] Sveikame organizme normalų žaizdos gijimo procesą sudaro 3 fazės: uždegimo fazė, proliferacijos (audinių vešėjimo) fazė ir atsinaujinimo fazė. Visose 3 fazėse vyksta tokie procesai kaip chemotaksis, fagocitozė, neokolagenozė, kolageno nykimas, kolageno atsistatymas. Žaizdų gijimui ypač svarbūs procesai yra angiogenezė, epitelizacija, glikozaminoglikanų ir proteinglikanų gamyba. Visų šių biologinių procesų rezultatas yra normalios odos struktūros pasikeitimas į fibroblastinį randinį audinį.

Vykstant uždegimo fazei, kraujagyslės susitraukia, trombocitai sulimpa, aktyvuojama kraujo krešėjimo sistema. Tuo metu susiformuoja fibrino krešulys, kuris suteikia pirminę atramą bepradedančiai gyti žaizdai. Neutrofilai yra pirmosios ląstelės, kurios atkeliauja į pažeistą vietą išvalyti ir sunaikinti svetimkūnius, negyvas ląsteles bei bakterijas. Žaizdos vietoje monocitai diferencijuojasi į makrofagus, kurie inicijuoja žaizdos gijimo proliferacijos fazę. Proliferacijos metu vyksta skirtingų ląstelių tipų, tokių kaip endotelio ląstelių, fibroblastų, keratinocitų, migracija ir vešėjimas. Keratinocitai yra atsakingi už angiogenezę, grūdėtojo audinio formavimąsi, žaizdos susitraukimą ir reepitelizaciją. Paskutinėje, atsinaujinimo fazėje, naujos kraujagyslės išnyksta ir dauguma ląstelių, dalyvavusių proliferacijos fazėje, taip pat palieka žaizdos vietą arba žūva. Žaizdos vieta tampa be kraujagyslių, su keliomis ląstelėmis. III tipo kolagenas, kuris buvo gaminamas grūdėtajame audinyje yra pakeičiamas stipresniu I tipo kolagenu, kuris padidina randinio audinio tempimo stiprumo ribą.[4]

Diabetinių žaizdų gijimas užstringa ties uždegimo faze, kuri yra charakterizuojama padidėjusiu prouždegiminių citokinų, proteazių ir reaktyviųjų deguonies junginių (ROS) lygiu. Diabetinės žaizdos yra labai linkusios į infekcijas, o tai sąlygoja pernelyg didelį uždegiminių ląstelių kaupimąsi, kurios gamina įvairius ROS ir pažeidžia struktūrinius ekstraląstelinio matrikso elementus. ROS skatina serino proteazių ir matrikso metaloproteinazių (MMP) ekspresiją, dėl kurių degraduoja ekstraląstelinis matriksas ir augimo faktoriai, taip pat kaip ir proteinazės inhibitoriai. Dėl to slopinamas žaizdos tolimesnis gijimas. Dėl kraujagyslių pažeidimų, žaizdoje vyksta lėtinė hipoksija dėl nepakankamo deguonies kiekio, to rezultatas – dar daugiau gaminama reaktyviųjų deguonies junginių. Visų šių procesų rezultatas – žaizda patenka į keblų užsitęsios uždegiminės fazės ciklą, kuris išderina molekulinę ir ląstelinę žaizdos mikroaplinką, dėl to susidaro nepalankios sąlygos žaizdai gyti.[2, 6]

Dėl hiperglikemijos sukelti epigeniniai pasikeitimai ląstelėse yra dar viena priežastis, dėl kurios žaizdų gijimas sergant diabetu yra uždelstas. Nustatyta, jog makrofagai, kraujagyslių lygiųjų raumenų ląstelės ir endotelio ląstelės, išskirtos iš diabetu sergančių graužikų arba kultivuotos, esant didelei gliukozės koncentracijai, ilgesnį laiko tarpą sąlygoja priešuždegiminę aplinką.[7]

1.2. Salicilo rūgštis

Salicilo rūgštis – 2-hidroksibenzoinė rūgštis, gamtoje randama gluosnio žievėje ir beržo lapuose. Taip pat sintezuojama ir cheminiu būdu. Salicilo rūgštis plačiai naudojama dėl analgezinio, antipiretinio ir antiuždegiminio poveikio. [8]

Salicilo rūgštis naudojama išoriškai dėl keratolitinio, bakteriostatinio ir fungicidinio poveikio. Naudojant išoriškai nustatyta, kad sumažėja keratinocitų proliferacijos lygis. Salicilo rūgštis tiesiogiai tirpdo raginį sluoksnį tirpinant tarpląstelinę medžiagą, esančią tarp epitelio ląstelių.[9] Salicilo rūgšties absorbcija iš pusiau kietos formos kintanti, tačiau gali būti greita. Absorbcija per sveiką odą siekia 60 procentų. [10, 11]

Sergant cukriniu diabetu labai svarbu, kad tepalo sudėtyje būtų salicilo rūgštis, ypač kojų pėdų priežiūrai. Kietą kojų pėdų odą tepalas su salicilo rūgštimi efektyviai minkština ir nusluoksniuoja t.y. tirpdo negyvas odos ląsteles ir skatina jos atsinaujinimą.

1.3. Medus

Medus – saldi medžiaga, bičių (*Apis mellifera*) gaminama iš augalų nektaro, augalų gyvųjų dalių išskyrų arba ant augalo gyvųjų dalių likusių augalais mintančių vabzdžių išskyrų, kurias bitės surenka, perdirba, papildydamos specifinėmis savo medžiagomis, supila į korius, padeda iš jų išgarinti drėgmę ir palieka subręsti. Augalų nektare daugiausiai aptinkama sacharozės. Kai bitė nektarą įtraukia į medaus skilvelį, veikiant fermentui invertazei, sacharozė suskyla į gliukozę ir fruktozę.

Meduje daugiausiai randama angliavandenių: apie 30 proc. gliukozės, 40 proc. fruktozės, 5 proc. sacharozės, taip pat apie 20 proc. vandens. Kitos medų sudarančios medžiagos: flavonoidai (chrizinas, kvercetas, kemferolis), baltymai, aminorūgštys, vitaminai (askorbo rūgštis, biotinas, nikotino rūgštis, pantotėninė rūgštis, piridoksinas, tiaminas), mineralai (kalis, magnis, fosforas, kalcis, geležis, varis) ir fermentai (diastazė, invertazė, gliukozės oksidazė, katalazė).[12-14]

Terapinis medaus veikimo spektras platus. Jis pasižymi antioksidantiniu, antimikrobinu, priešuždegiminiu poveikiu, stiprina imuninę sistemą. Dėl savo savybių, jis žymiai prisideda prie žaizdų gijimo proceso.[15] Medus, naudojamas žaizdų tvarstymui, stimuliuoja audinio regeneraciją, pašalina negyvas audinio ląsteles, sumažina tinimą. Taip pat malšina uždegimą, sumažina randėjimą, stimuliuoja angiogenezę.[16] Fizikinės medaus savybės sukuria tinkamą aplinką žaizdų gijimui. Rūgštinė medaus terpė (pH = 3,2 – 4,5) slopina patogeninių bakterijų augimą žaizdos viduje. Jis drėkina žaizdos vietą,

skatina fibroblastų migraciją, granuliacinio audinio formavimąsi ir epitelizaciją, mažina skausmą.[17] Klinikiniais ir laboratoriniais tyrimais įrodyta, jog medus veikia prieš tokias bakterijas kaip *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, meticilinui jautrūs *S. aureus* ir vankomicinui jautrios *E. coli*. [16]

Diabetinių žaizdų gijimas yra sustabdomas uždegimo/proliferacijos stadijose vietoj trijų normalių žaizdų gijimo stadijų. Dėl medaus antiuždegiminio poveikio sumažėja per didelės kolagenazės ir elastazės aktyvumas, dėl kurio įvyksta priešlaikinė kolageno ir augimo faktorių žaizdoje degradacija. Medus pasižymi insulino-mimetiniu poveikiu: kai naudojamas aerozolinis inhaliatorius, medus reikšmingai sumažina gliukozės kiekį kraujyje (matuota 30 min po inhaliacijos) ir taip pat sumažina didėjančią gliukozės kiekį kraujyje (3 val. po inhaliacijos), dėl to hiperglikemijos stiprumas sumažėja po medaus inhaliacijos atliekant gliukozės tolerancijos testą. [18]

1.4. Propolis

Propolis, arba bičių pikis, yra sakinga, stipraus kvapo ir kartoko, aštraus skonio medžiaga. Bitės renka dervas nuo beržų, kaštonų, pušų, drebulių, gluosnių ir kitų medžių lipnių pumpurų, ūglių ir jas sumaišo su savo seilėmis. Seilių fermentai dalinai apvirškina ir gauta lipni masė sumaišoma su vašku, žiedadulkėmis, nektaru. Gaunamas propolis, kuris naudojamas avilyje korio plyšiams klijuoti, medui akiuoti.

Propolis sudarytas iš dervų (50 proc.), vaško (30 proc.), eterinių aliejų (10 proc.), žiedadulkių (5 proc.) ir kitų organinių junginių (5 proc.). Fenoliniai junginiai, esteriai, flavonoidai, terpenai, beta-steroidai, aromatiniai aldehidai ir alkoholiai yra labai svarbūs organiniai junginiai, esantys propolyje. 12 skirtingų flavonoidų buvo išskirta kapiliarinės zonų elektroforezės metu: pinocembrinas, akacetinas, chrizinas, rutinas, luteolinas, kemferolis, apigeninas, miricetinas, katechinas, naringeninas, galanginas, kvercetinas; 2 fenolinės rūgštys: kavos rūgštis ir cinamono rūgštis; antioksidantas resveratrolis. Propolyje gausu tokių vitaminų kaip vitaminai B1, B2, B6, C ir E, taip pat mineralų: magnio, kalcio, kalio, natrio, vario, cinko, mangano ir geležies, fermentų: sukcinato dehidrogenazė, gliukozės-6-fosfatazė, adenozino trifosfatazė ir rūgštinė fosfatazė. [14, 19]

Propolis pasižymi antioksidantiniu poveikiu dėl jame esančių polifenolinių junginių. Taip pat veikia priešuždegimiškai, esant tiek lėtiniam, tiek ūminiam uždegimui. Propolyje gausu biologiškai aktyvių medžiagų, tokių kaip kavos rūgštis, kavos fenilo esteris, artepilinas, kvercetinas, kemferolis, galanginas, kurios skatina ląstelių proliferaciją arba apoptozę. Flavonoidai padeda išvengti staigaus

gliukozės kiekio pakilimo kraujo serume, taip pat diabetikus apsaugo nuo diabeto sukiamų komplikacijų. *In vivo* tyrimai su pelėmis, sergančiomis cukriniu diabetu, parodė, jog vartojant propolio ekstraktą, sumažėja gliukozės kiekis kraujyje. Propolis taip pat pasižymi antibakterinėmis savybėmis. Buvo nustatyta, kad didesnis aktyvumas yra prieš gram-teigiamas bakterijas nei prieš gram-neigiamas. Antibakterinis poveikis grindžiamas daugumos junginių, esančių propolyje, sinergistiniu veikimu. Pavyzdžiui, pinocembrinas veikia prieš *Streptococcus* sp., apigeninas inhibuoja bakterijų glikoziltransferazę, p-kumarino rūgštis, artepilinas C efektyvūs prieš *Helicobacter pylori*. [20, 21]

Tyrimai su graužikais parodė, jog propolio vartojimas stimuliuoja diabetinių žaizdų gijimo procesą ir reepitelizaciją, normalizuoja makrofagų patekimą į žaizdos vietą. [22] Propolis taip pat stimuliuoja transformuojančio augimo faktoriaus (TGF- β) ekspresiją, kuris dalyvauja ankstyvosiose žaizdos gijimo fazėse, tokiose kaip hemostazė ir uždegimas. [20]

1.5. Dažinės ciberžolės šakniastiebių milteliai

Dažinė ciberžolė (lot. *Curcuma longa*) – augalas, priklausantis imbirinių šeimai (lot. *Zingiberaceae*). Tai vienas svarbiausių prieskoninių augalų Azijoje. Dažinė ciberžolė yra daugiameis augalas, turi didelius lapus, šakniastiebiai geltonai rudi. Iš dažinės ciberžolės šakniastiebių gaunama pudra, vadinama kurkuma. [23]

Kurkuma – ryškiai geltonos spalvos medžiaga, priklausanti kurkuminoidams – natūraliems fenoliams. Chemiškai, kurkuminas yra diarilheptanoidas, pagal IUPAC - (1E,6E)-1,7-Bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)hepta-1,6-dien-3,5-dionas. [24]

Kiekvienoje žaizdos gijimo fazėje kurkuma atlieka svarbų vaidmenį. Pirmoje fazėje – uždegimo - pagrindinė priežastis – ROS (*reactive oxygen species*) - reaktyvieji deguonies junginiai. Jiems priklauso tokie junginiai kaip vandenilio peroksidas (H_2O_2), superoksido anijonas (O_2^-), hidroksilo radikalas (OH^\bullet). Laisvieji radikalai sukelia oksidacinį stresą, dėl to vyksta lipidų peroksidacija, DNR pažeidimai, fermentų inaktyvacija, o visa tai slopina normalų žaizdos gijimo procesą. [25] Tyrimai su laboratorinėmis pelėmis parodė, jog ant žaizdų išoriškai vartojama kurkuma slopina vandenilio peroksido sukeltą keratinocitų ir fibroblastų pažeidimus. [26] Proliferacijos fazėje, atlikti tyrimai rodo, jog gydant kurkuma, fibroblastų proliferacija žaizdos vietoje skatinama. [27] Granuliacinis audinys, išoriškai vartojant kurkumą diabetu sergančiose pelėse, pradeda anksčiau formuotis, o miofibroblastų kiekis didesnis. Taip pat diabetu sergančiose pelėse pastebėtas išaugęs smulkių kapiliarų formavimasis - neovaskuliarizacija. [23, 28] Kolagenas yra pagrindinis odos baltymas, nes daugiausiai dėl jo gyjant žaizdai susidaro randinis audinys. Kurkuma gydytos grupės, lyginant su kontroline, rezultatuose

pastebėta, kad dėl kurkumos poveikio, kolagenas tapo kompaktiškesnis, geriau jungėsi, o jo skaidulos storesnės.[23, 29] Dauguma tyrimų įrodo kurkumos gebėjimą padidinti žaizdos susitraukimą, o tuo pačiu ir pagreitina žaizdos gijimą. Pavyzdžiui, viename tyrime išmatuotas žaizdos plotas, jo dydis buvo stebimas ir po gydymo kurkuma nustatyta, kad žaizdos susitraukimas reikšmingai išaugo 20 proc. lyginant su kontrole. Paskutinėje žaizdos gijimo fazėje – reepitalizacijos, arba atsinaujinimo – kurkuma reikšmingai sumažina epitelizacijos laiką nuo 23 dienų iki 11 dienų lyginant su kontroline grupe.

1.6. Aliejai diabetinių žaizdų prevencijai

1.6.1. Šaltalankių aliejus

Dygliuotasis šaltalankis (lot. *Hippophae rhamnoides*) – žilakrūminių šeimos (lot. *Eleagnaceae*) šakotas, dygliuotas, metantis lapus, krūmas, daugiausiai paplitęs Azijoje ir Europoje.[30] Užauga iki 7 metrų aukščio, gerai auga tiek sauringose vietose, tiek esant šaltam klimatui. Dygliuotasis šaltalankis pražysta vėlai balandį ir ankstyvą gegužę. Po žydėjimo, sunoksta skanios ir maistingos uogos, dažniausiai geltonos, oranžinės spalvos, kurios renkamos rugsėjo mėnesį. Vaisiai turi nedidelį kauliuką, yra kartoko ir rūgštaus skonio, kvepia ananasais. [31]

Visos dygliuotojo šaltalankio dalys yra turtingos biologiškai aktyviomis medžiagomis. Uogose gausu tokių vitaminų kaip C, A (α -, β - karotenas, likopenas, liuteinas), E (tokoferoliai), folinės rūgšties, vitamino B komplekso: B1, B2, B6. Vaisiuose taip pat gausu flavonoidų (kvercetas, izorhamnetinas, kemferolis, izorhamnetino-3- β -D-gliukozidas), katechinų ir procianidinų, fosfolipidų, taninų, cukrų (galaktozės, fruktozės, ksilozės), organinių rūgščių (maleinės rūgšties, oksalo rūgšties), fenolinių rūgščių (ferulo rūgštis), aminorūgščių.[31-33] Dygliuotojo šaltalankio lapuose taip pat yra biologiškai aktyvių medžiagų: flavonoidų, karotinoidų, triterpenolių, antioksidantų (β - karotenas, vitaminas E), folinės rūgšties, mikroelementų (kalcis, magnis, natrij).[33]

Dygliuotojo šaltalankio vaisių aliejuje yra gausu riebalų rūgščių. Lyginant su kitų augalų aliejais, šaltalankio aliejuje yra reta palmitoleinė rūgštis (omega-7), kuri yra sudėtinė lipidų dalis odoje, ir stimuliuoja atsinaujinančius procesus epidermyje bei žaizdų gijime. Aliejuje dar yra tokių nesočiųjų rūgščių kaip α -linoleno rūgštis (omega-3), γ -linoleno rūgštis (omega-6), linolio rūgštis (omega-6), oleinė rūgštis (omega-9). Taip pat šis aliejus stimuliuoja fiziologines odos funkcijas ir sumažina odos randėjimą. Vartojant išoriškai sumažina odos nudegimą, pragulas ir trofinius odos pakitimus.[31] Tyrimai rodo, kad, jog išoriškai vartojamas šaltalankių aliejus pagerina lėtinių ir ūminių žaizdų, esant tiek nudegimams, tiek diabetinėms žaizdoms, gijimą laboratorinėse pelėse. Gydytiems gyvūnams

pasireiškė greitesnis gijimas lyginant su kontrole ir sidabro sulfadiazinu. Vartojant išoriškai šaltalankių aliejus skatina neovaskuliarizaciją, kolageno gamybą ir stabilizaciją žaizdos vietoje.[33]

1.6.2. Arbatmedžio eterinis aliejus

Pražangialapė mirtenė (lot. *Melaleuca alternifolia*) – dar vadinama arbatmedžiu, priklauso mirtinių (lot. *Myrtaceae*) šeimai. Tai 2-30 metrų aukščio krūmai ir medžiai. Visžaliai, lapai pražanginiai, ovalūs arba lancetiški. Žiedai tankiai išsidėstę, gali būti baltos, raudonos, gelsvos spalvos. Daugiausiai auga miškuose ir krūmynuose prie upių ir pelkių.[34]

Arbatmedžio aliejus yra eterinis aliejus, kuris gaunamas garų distiliacijos būdu iš arbatmedžio lapų ir viršūninių šakų. Arbatmedžio eteriniame aliejuje aptinkama apie 100 komponentų, dauguma jų yra monoterpenai ir panašūs į alkoholius. Aliejuje yra minimalus kiekis – 30 proc. terpinen-4-olio ir maksimalus kiekis – 15 proc. 1,8-cineolio.[35] Taip pat eteriniame aliejuje aptikti tokie junginiai kaip α -pinenas, sabinenas, α -terpinenas, limonenas, γ -terpinenas, terpinolenas ir kiti.[36]

Terpinen-4-olis yra svarbiausias arbatmedžio eteriniame aliejuje esantis junginys, kuris pasižymi stipriu antimikrobiniu, antiseptiniu ir antiuždegiminiu poveikiu. [35] Dėl šių savybių, arbatmedžio eterinis aliejus yra sudėtyje išoriškai vartojamų preparatų žaizdoms gydyti. [37] Jis efektyvus prieš meticilinui jautrius *Staphylococcus aureus* ir daugumą kitų gram-neigiamų bakterijų, tačiau neefektyvus prieš *Pseudomona aeruginosa*. [38]

1.7. Pusiau kietos vaisto formos

Pusiau kieti preparatai – tai vaistiniai preparatai, vartojami ant odos, kurie sukelia vietinį poveikį. Skirstomi į tokias kategorijas:

- Tepalai. Sudaryti iš vienfazio pagrindo, į kurį įterpiamos kietos arba skystos medžiagos.
- Kremai. Sudaryti iš daugiafazio pagrindo. Skirstomi į lipofilinius, kurių vientisa fazė lipofilinė, ir hidrofilinius, kurių vientisa fazė vandeningė.
- Geliai. Sudaryti iš skysčių, gelifikuotų tam tikromis medžiagomis. Skirstomi į lipofilinius ir hidrofilinius gelius.
- Pastos. Jų pagrinde daug disperguotų kietųjų medžiagų, daugiau kaip 25 proc.
- Šutekliai. Sudaryti iš hidrofiliinio, šilumą sulaikančio pagrindo.
- Pleistrai. Lankstūs preparatai, palaiko veikliosios medžiagos glaudų sąlytį su oda.

Tepalas – tai pusiau kieta vaisto forma, klampios konsistencijos, vartojamas išoriškai ant odos, žaizdų, gleivinės. Jame disperguotos skystos arba kietos vaistinės medžiagos. Tepalo pagrindas suteikia reikiamą masės kiekį ir konsistenciją, o nuo jo kilmės priklauso vaistinės medžiagos atpalaidavimo greitis ir tepalo stabilumas. Tepalo pagrindas turi atitikti tokius keliamus reikalavimus: 1) chemiškai ir fiziškai stabilus, esant normalioms laikymo sąlygoms; 2) turi nesąveikauti su vaistinėmis ir pagalbinėmis medžiagomis, t.y. būti farmakologiškai indiferentiškas; 3) be nepageidaujamo kvapo; 4) netoksiškas, nedirginantis ir nesukeliantis alergijų; 5) lengvai ir kokybiškai tepamas; 6) lengvai nuplaunamas nuo odos. [39]

1.8. Tepalų pagrindai

1.8.1. Emulsinis tepalo pagrindas

Aliejus-vandenyje emulsija (A/V). Tai hidrofilinis tepalas, klasifikuojamas kaip kremas. Pagrindiniai emulsinio A/V tipo tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai nurodomi 2-oje lentelėje.

2 lentelė. Emulsinio tepalo pagrindo A/V privalumai ir trūkumai

Privalumai	Trūkumai
Lengvai nuplaunamas nuo odos	Mažiau minkštinantis ir apsaugantis lyginant su absorbciniu pagrindu
Neužkemša odos porų	Dėl esančio vandens gali kisti stabilumas
Neriebaluoja odos	Dėl esančio vandens gali pradėti daugintis mikroorganizmai

Šio tepalo pagrindo dažniausiai naudojami pavyzdžiai: hidrofilinis tepalas, „*Vanishing*“ kremas, dermabazė.[40]

Vanduo-aliejuje emulsija (V/A). V/A pagrindai pasižymi geresniu vaistinės medžiagos prasiskverbimu į odą nei absorbcinio ir hidrofobinio tepalų. Pagrindiniai emulsinio V/A tipo tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai nurodomi 3-oje lentelėje.

3 lentelė. Emulsinio tepalo pagrindo V/A privalumai ir trūkumai

Privalumai	Trūkumai
Geros apsaugančios, drėkinančios savybės	Užkemša odos poras

Minkština odą	Dėl esančio vandens gali pradėti daugintis mikroorganizmai
Gali absorbuoti vandenį	Kai kurie yra lipnūs ir riebūs
Lengvai nenusiplauna nuo odos, dėl to palaiko tinkamą įterptų vaistų sąlytį su oda	Kai kurie turi nemalonų kvapų

Jis netirpsta vandenyje, nesimaišo su vandeniu. [39, 40] Šio tepalo pagrindo dažniausiai naudojami pavyzdžiai: hidrintas lanolinas, šaltasis kremas, *Nivea*.

1.8.2. Angliavandenilinis tepalo pagrindas

Šis pagrindas nesimaišo su vandeniu ir nesusigeria į odą. Jis pasižymi indiferentiškumu, absorbuoja labai nedidelį vandens kiekį iš formuluotės ar odos. Pagrindiniai angliavandenilinio tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai nurodomi 4-oje lentelėje.

4 lentelė. Angliavandenilinio tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai

Privalumai	Trūkumai
Pigus	Prastai toleruojami dėl ant odos liekančio riebumo
Nesukelia alergijų	Nėra lengvai nuplaunami nuo odos
Nedirginantis	Sunkiai pašalinami iš drabužių
Geros apsauginės bei minkštinančios savybės	

Angliavandenilinis pagrindas apsaugo odą nuo vandens netekimo sudarydamas vandens nepraleidžiančią plėvelę. Vaistinės medžiagos blogai rezorbuojasi iš šio pagrindo. Vazelinai ir parafinai dažniausiai naudojami šio tipo pagrindai. [39]

1.8.3. Absorbcinis tepalo pagrindas

Absorbcinis pagrindas yra suformuojamas pridėdamas medžiagų, kurios maišosi su angliavandeniliais. Šie pagrindai nesimaišo su vandeniu, netirpsta vandenyje, bevandeniai. [40] Pagrindiniai absorbcinio tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai nurodomi 5-oje lentelėje.

5 lentelė. Absorbacinio tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai

Privalumai	Trūkumai
Geros minkštinančios savybės	Prastai toleruojami dėl ant odos liekančio riebumo
Gali absorbuoti vandenį	Nelengvai nuplaunami nuo odos ir drabužių
	Nestabilumas
	Gali atsirasti mikrobinis užterštumas

Hidrofilinis vazelinai, bevandenis lanolinas yra dažniausiai naudojami šio tipo pagrindai.

1.8.4. Tirpstantis vandenyje pagrindas

Vandenyje tirpstantis pagrindas paruošiamas maišant didelės ir mažos molekulinės masės polietilenglikolį. Šis pagrindas tirpsta vandenyje ir su juo maišosi. [39, 40] Pagrindiniai vandenyje tirpstančio tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai pateikti 6-oje lentelėje.

6 lentelė. Tirpstančio vandenyje tepalo pagrindo privalumai ir trūkumai

Privalumai	Trūkumai
Neriebaluoja odos	Gali dirginti odą
Lengvai nuplaunami nuo odos ir drabužių	Praktiškai nepasižymi drėkinančiomis savybėmis
Neužkemša odos porų	Gali kilti stabilumo dėl esančio vandens, dėl to reikalingi konservantai

Vandenyje tirpstančio pagrindo dažniausiai naudojamas pavyzdys – polietilenglikolio tepalas.

Dėl vis didėjančio sergamumo cukriniu diabetu ir kylančių komplikacijų buvo tikslinga sumodeliuoti pusiau kietą vaisto formą, skirtą cukriniu diabetu sergančiųjų negyjančių žaizdų gydymui. Išanalizavus mokslinę literatūrą pasirinktos natūralios medžiagos: medus, propolis, dažinės ciberžolės šakniastiebių milteliai, šaltalankių aliejus, arbatmedžio eterinis aliejus ir salicilo rūgštis, kurios pasižymi naudingomis savybėmis gydant cukrinio diabeto sukeltas žaizdas.

2. TYRIMO METODIKA

2.1. Tyrime naudotos medžiagos ir prietaisai

2.1.1. Tepalo gamybai naudojamos medžiagos

- Baltasis vazelinas („Sigma-Aldrich”, Vokietija);
- Emulsiklis T2 – (W/0320/53 „Fisher Scientific“, Jungtinė Karalystė);
- Medus (Lietuva);
- Šaltalankių aliejus (Biolit, Naturalnye masla, Rusija);
- Arbatmedžio eterinis aliejus (Carl Roth GmbH+Co.);
- Propolio etanolinė tinktūra 10 proc. (UAB „Medicata Filia“, Lietuva);
- Dažinės ciberžolės šakniastiebių milteliai (Lietuva);
- Salicilo rūgštis (Sigma-Aldrich, Vokietija);
- Etanolis 96 % (AB „Vilniaus degtinė“, Lietuva);
- Išgrynintas vanduo (*Ph. Eur.* 01/2009:0008).

2.1.2. Tyrime naudoti prietaisai ir aparatūra

- Elektroninės svarstyklės (Kern EMB 200-3, Kern GmbH, Vokietija);
- Automatinė maišyklė (IKA Eurostar-200 digital, Vokietija);
- Homogenizatorius Unguator 2100 (Vokietija);
- Centrifuga “Sigma 3-18KS” (Vokietija).
- Tekstūros analizatorius TA.XT.plus (Stable Micro Systems Ltd, Godalming, Surrey, Jungtinė Karalystė);
- Viskozimetras “Fungilab Alpha” (Ispanija);
- pH – metras (Winlab® Data Line pH – meter, Windaus Labortechnik, Vokietija);

- UV spektrofotometras (Shimadzu UV-1800 Spectrophotometer, JAV);

2.2. Tepalo gamybos technologija

2.2.1. Tepalo sudėties parinkimas

Remiantis mokslinės literatūros šaltiniais, parinktos sudėtinės tepalo dalys: medus, propolis, arbatmedžio eterinis aliejus, šaltalankių aliejus, dažinių ciberžolių šakniastiebių milteliai ir salicilo rūgštis. Gaminama eilė skirtingų sudėčių, kuriuose varijuoja medžiagų kiekiai, tepalų. Pagaminti tepalai turi atitikti tepalo technologines savybes: vientisa struktūra, geras tepumas, arbatmedžio eterinio aliejaus kvapas ir dėl esančio šaltalankio aliejaus ir kurkumino – nuo šviesios iki ryškiai oranžinės spalvos.

Pagaminamas emulsinis pagrindas naudojant šildomąjį-šaldomąjį įrenginį. Šildomame tepalų gamybos katile išlydomas vazelinas ir emulsiklis T2 (80 – 85 °C). Į lydinį supilamas karštas distiliuotas vanduo, ir emulsuojama aušinant 15-30 min. Gautas pagrindas paliekamas šaldytuve, kad būtų subrandintas.

Tepalo gamybos eiga: porceliano lėkštelėje virš vandens vonios išlydomas emulsinis pagrindas, medus. Tuomet grūstuvėje maišoma salicilo rūgštis ir perkeliama į lėkštelę. Ciberžolės šakniastiebių milteliai ekstrahuojami 96 proc. etanoliu 14 valandų ir po to įterpiami į pagrindą. Paskutiniai įdedami propolis, šaltalankių aliejus ir arbatmedžio eterinis aliejus. Maišoma automatine maišykle iki vienalytės masės. Tepalas homogenizuojamas naudojant prietaisą Unguator 2100. Perkeliama į laikymo indą.

Buvo sumodeliuota 15 - lika sudėčių, iš jų atrinktos 5 – ios. Kiekvieno tepalo pagaminama 50 g porcija, vienos sudėties po du indelius, kurių vienas laikomas šaldytuve ($2^{\circ}\text{C} \pm 8^{\circ}\text{C}$), o kitas kambario temperatūroje ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei.

Visi pagaminti tepalai, naudojant centrifugą, yra testuojami ir nustatoma, kurios sudėtys išlaiko tinkamas tepalui savybes, esant padidintoms streso sąlygoms.

2.3. Tepalų sudėtys

Atlikus eilę bandymų su medžiagomis, taikant skirtingus jų kiekius, buvo atrinktos penkiolika skirtingų sudėčių. Sudėtys pateiktos 7-oje lentelėje.

7 lentelė. Pagamintų tepalų sudėtys

Tepalo žymuo	Emulsinis pagrindas	Medus	Šaltalankių aliejus	Arbatmedžio eterinis aliejus	Ciberžolės šakniastiebių ekstraktas	Propolis	Salicilo rūgštis
01	25 g	15 g	1,5 g	2 g	2 g	0 g	4,5 g
02	20 g	20 g	0,5 g	1 g	3,5 g	4 g	1 g
03	35 g	0 g	5,5 g	3 g	0 g	3,5 g	3 g
04	30 g	8 g	6 g	2 g	0 g	0 g	4 g
05	40 g	0 g	0,25 g	0,25 g	4,5 g	4,5 g	0,5 g
06	40 g	5 g	0,5 g	0,5 g	1 g	1 g	2 g
07	40 g	0 g	2 g	2 g	1,5 g	1,5 g	3 g
08	35 g	6 g	1 g	1 g	3 g	3 g	1 g
09	35 g	0 g	5 g	3 g	1,5 g	1,5 g	4 g
10	30 g	8 g	3,5 g	1,5 g	0 g	2 g	5 g
11	30 g	14 g	4 g	0 g	0,5 g	0 g	1,5 g
12	30 g	5 g	5,5 g	3 g	0 g	3,5 g	3 g
13	30 g	10 g	4 g	4 g	0 g	1 g	1 g
14	35 g	5 g	2 g	1,5 g	3 g	2 g	1,5 g
15	30 g	15 g	2 g	0 g	1,5 g	0 g	1,5 g

Visos penkiolika sudėčių tiriamos centrifugavimo metodu ir nustatoma, kurios sudėtys išlieka stabilios padidintomis streso sąlygomis.

2.4. Centrifugavimas

Centrifugavimas atliekamas naudojant centrifugą "Sigma 3-18KS" (Vokietija). Centrifugavimo testas atliekamas taip: 4 ml talpos plastikiniai mėgintuvėliai užpildomi 3 g tiriamojo tepalo, sudedami į centrifugą, centrifuguojama 5 min, esant 3500 apsisukimų per minutę, 25°C ± 2°C temperatūra, esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei. 1-ame paveiksle pateikti plastikiniai mėgintuvėliai su tiriamaisiais tepalais po centrifugavimo.



1 pav. Tepalai po centrifugavimo

Po centrifugavimo atrenkami tepalai, kurie padidintomis streso sąlygomis išliko stabiliausi. Įvertinamas tepalų fazių išsiskyrimas ir jos aukštis. 2-ame paveiksle pateikti išlikę stabiliausi tepalai po centrifugavimo testo.



2 pav. Atrinkti tepalai po centrifugavimo

Atrinktos tepalų sudėtys pasižymėjo mažiausiu fazių atskyrimu arba jo nebuvimu. Tai tepalai nr. 3, 4, 5, 9 ir 14. Jie atitinkamai pervadinami į A, B, C, D ir E. 8-oje lentelėje pateikiamos atrinktų tepalų sudėtys po centrifugavimo.

8 lentelė. Atrinktos tepalų sudėtys po centrifugavimo

Tepalo žymuo	Emulsinis pagrindas	Medus	Šaltalankių aliejus	Arbatmedžio eterinis aliejus	Ciberžolės šakniastiebių ekstraktas	Propolis	Salicilo rūgštis
A (03)	35 g	0 g	5,5 g	3 g	0 g	3,5 g	3 g
B (04)	30 g	8 g	6 g	2 g	0 g	0 g	4 g
C (05)	40 g	0 g	0,25 g	0,25 g	4,5 g	4,5 g	0,5 g
D (09)	35 g	0 g	5 g	3 g	1,5 g	1,5 g	4 g
E (14)	35 g	5 g	2 g	1,5 g	3 g	2 g	1,5 g

Visų penkių sudėčių pagaminti tepalai buvo laikomi kambario temperatūroje ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei, ir šaldytuve ($2^{\circ}\text{C} \pm 8^{\circ}\text{C}$). Kambario temperatūroje laikomi tepalai: A_K, B_K, C_K, D_K, E_K; šaldytuve: A_š, B_š, C_š, D_š, E_š. Su šiais tepalais toliau bus vykdomi stabilumo tyrimai.

2.5. Tepalų pH reikšmės nustatymas

Tepalų pH reikšmė nustatoma su pH – metru (Winlab® Data Line pH – meter, Windaus Labortechnik, Vokietija). Norint nustatyti pusiau kietų preparatų pH, reikalinga pagaminti 5 proc. vandeninius jų tirpalus. 1,0 g tiriamojo tepalo ištirpinama 20 ml išgryninto vandens, šildoma virš vandens vonios. Gautas tirpalas košiamas ir atvėsinaamas iki kambario temperatūros.

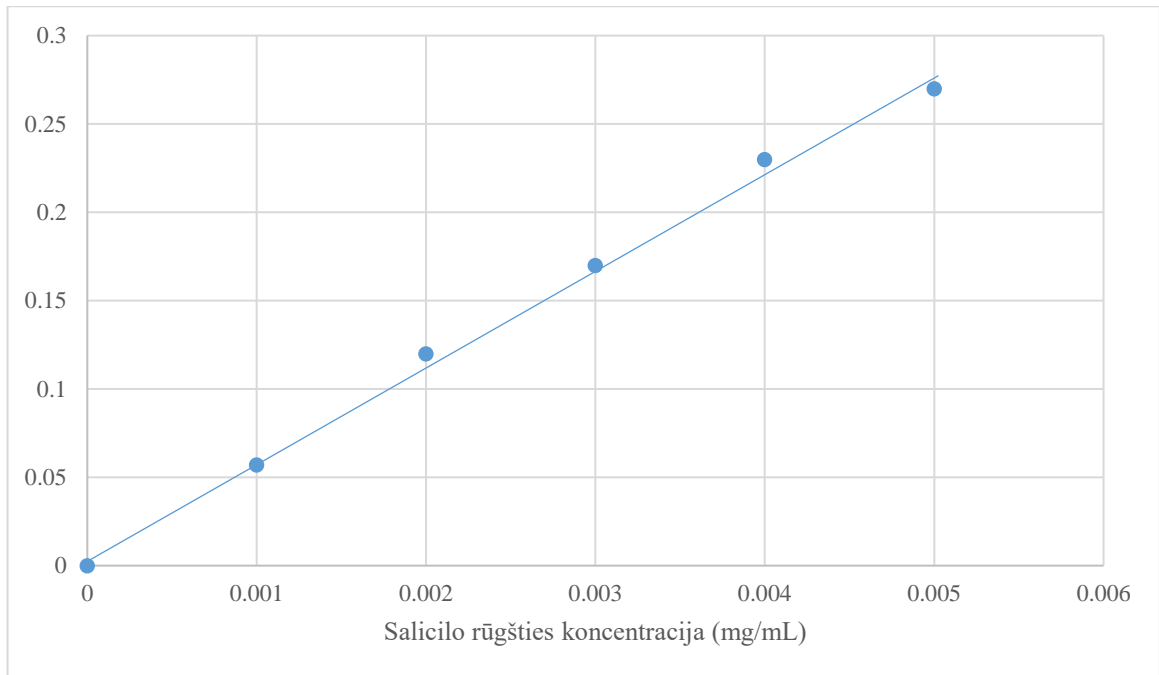
Į gautą vandeninį tirpalą merkiamas pH – metro elektrodas, kurio ekrane parodoma reikšmė. pH reikšmė matuojama kambario temperatūroje ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei, ir šaldytuve ($2^{\circ}\text{C} \pm 8^{\circ}\text{C}$) buvusių tepalų, siekiant nustatyti temperatūros įtaką pH reikšmei. Matuojama 5 kartus, vedamas vidurkis.

2.6. Salicilo rūgšties kiekybinis nustatymas pusiau kietame preparate

Norint patikrinti salicilo rūgšties pasiskirstymą tepale atliekamas kiekybinis jos nustatymas naudojant spektrofotometrą.

Sudaromas kalibracinis grafikas. Jam sudaryti pagaminami salicilo rūgšties etaloniniai tirpalai 96 proc. etanolyje (1; 2; 3; 4; 5 mg/ml) ir matuojama absorbcija prie 296 nm ilgio bangos. Lyginamasis tirpalas – etanolis.

Pagal gautus duomenis nubraižytas kalibracinis grafikas. Kalibracinės kreivės lygtis $y = 53,714x + 0,0057$, koreliacijos koeficientas (R^2) – 0,9979. 3-ame paveiksle pavaizduota salicilo rūgšties kalibracinis grafikas.



3 pav. Salicilo rūgšties kalibracinis grafikas

Tyrimui atlikti atsveriamas 0,45 g tepalo ir tirpinamas 100 ml 96 proc. etanolyje. Purtoma tol, kol tepalas ištirpsta. Filtruojama per filtravimo popierių. Matuojama 5 kartus, vedamas vidurkis.

2.7. Stabilumo tyrimai

Stabilumo tyrimai atliekami siekiant nustatyti pagamintų tepalų kokybę ir kaip ji kinta laikymo metu. Vertinami tepalai laikomi skirtingomis sąlygomis, sandariai uždarytose talpyklėse: kambario temperatūroje ($25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei, ir šaldytuve ($2^{\circ}\text{C} \pm 8^{\circ}\text{C}$).

Klampa matuojama rotaciniu viskozimetru „Fungilab Alpha“. Matavimo tikslumas ± 1 %. Tyrimo eiga: į indelį pridedama tiriamojo tepalo taip, kad neliktų oro puslelių. Viskozimetro suklys įdedamas į indelio su tepalu centrą iki tam tikros ribos ir matuojama 20 min. Šaldytuve laikomų tepalų klampa matuojama jiems esant kambario temperatūros. Kokybė vertinama po 2, 4, 6 mėnesių kambario temperatūroje ir šaldytuve laikomų tepalų. Pasirinktas suklys L4, sukimo greitis 2,0 RPM, mėginių temperatūra 20°C . Gauti rezultatai: klampa ($\text{Pa}\cdot\text{s}$) ir sukimo momentas (%). 4-ame paveiksle pateikiamas klamos matavimas viskozimetru.



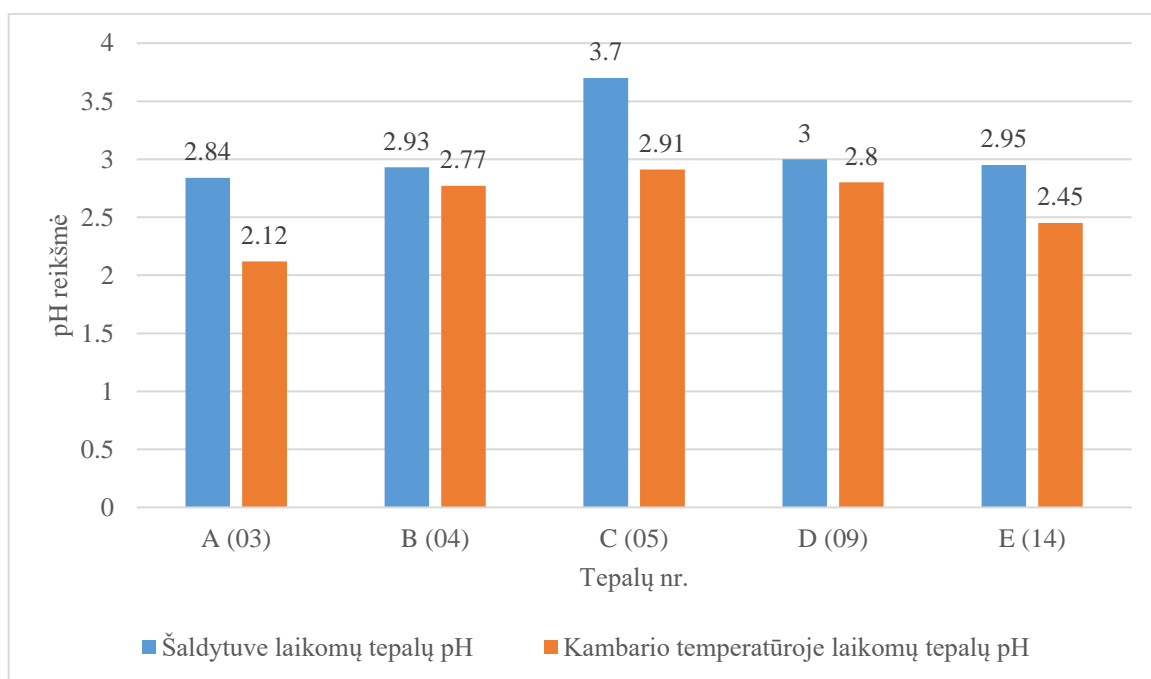
4 pav. Klampos matavimas viskozimetru „Fungilab Alpha“

Po klampos tyrimo rezultatų, stabiliausi išlikę tepalai analizuojami tekstūros analizatoriumi. Tekstūros analizatoriumi nustatomos tepalo savybės, tokios kaip tepumas, adhezija, konsistencija ir kaip jos keičiasi laikant skirtingomis sąlygomis laikui einant. Matavimai užrašomi naudojant programą The Exponent. Nustatomi parametrai: greitis – 2,0 mm/s, atstumas – 15,0 mm. Rezultatai fiksuojami 5 kartus, išvedami vidurkiai.

3. REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

3.1. Tepalų pH reikšmės nustatymas

Tyrimo metu nustatyta skirtingų sudėčių tepalų vandeninių tirpalų pH reikšmės. Tiriamųjų tirpalų pH reikšmės buvo išmatuotos naudojant pH – metrą (Winlab® Data Line pH – meter, Windaus Labortechnik, Vokietija). Tyrimas atliekamas pagal metodiką, aprašytą 2.4. skyriuje. Gauti rezultatai pavaizduoti 5-ame paveiksle.



5 pav. Pagamintų tepalų pH reikšmės priklausomybė nuo temperatūros

Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Išmatavus skirtingų sudėčių tepalų 5 proc. vandeninių tirpalų pH reikšmes nustatyta, jog pH reikšmės tarp tiriamųjų, laikomų kambario temperatūroje, svyruoja nuo $2,12 \pm 0,402$ iki $2,91 \pm 0,440$, o šaldytuve laikomų nuo $2,93 \pm 0,107$ iki $3,7 \pm 0,03$. Kaip matyti iš grafiko, pH reikšmė kinant temperatūrai, taip pat kinta. Pastebima, kad didėjant temperatūrai, pH reikšmė mažėja, o temperatūrai mažėjant – pH reikšmė didėja. Pagal gautus rezultatus matyti, jog tepalų pH yra rūgštinė. Aukščiausią pH reikšmę turi tepalas C (05). Tam įtakos turi didelis propolio kiekis, kurio pH 4,3. Kituose tepaluose rūgštinę terpę įtakoja didesnis salicilo rūgšties kiekis, medus.

3.2. Salicilo rūgšties kiekybinis nustatymas pusiau kietame preparate

Salicilo rūgšties kiekis tepaluose nustatytas spektrofotometriniu būdu. Rezultatai pateikiami 9-oje lentelėje.

9 lentelė. Salicilo rūgšties pasiskirstymas, %

Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Tepalo žymuo	Salicilo rūgšties pasiskirstymas, %
A (03)	92,53 ± 1,21
B (04)	94,15 ± 1,61
C (05)	96,47 ± 1,73
D (09)	95,21 ± 2,05
E (14)	97,62 ± 1,53

Išanalizavus lentelėje pateiktus rezultatus matyti, kad salicilo rūgšties pasiskirstymas tepale varijuoja nuo 92,53 ± 1,21 proc. iki 97,62 ± 1,53 proc. Tepaluose A ir B veikliosios medžiagos kiekis yra per mažas, atitinkamai 92,53 ± 1,21 proc. ir 94,15 ± 1,61 proc. Pagal Europos farmakopėjos reikalavimus, veikliosios medžiagos kiekis galutiniame produkte turi būti 95 - 105 proc. Tepaluose C, D ir E veikliosios medžiagos kiekis atitinka Europos farmakopėjos keliamus reikalavimus. Juose salicilo rūgšties koncentracija buvo nuo 95,21 ± 2,05 proc. iki 97,62 ± 1,53 proc.

3.3. Stabilumo tyrimai

3.3.1. Klamos matavimas

Klampa matuojama tepalų, buvusių kambario temperatūroje (25 ± 2°C), esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei ir šaldytuve (2 ± 8°C). Tepalai, kurie buvo laikomi šaldytuve, palaikomi iki kambario temperatūros. Kiekvienas preparatas matuojamas po 15 minučių. Tepalų, kurie buvo laikomi kambario temperatūroje, rezultatai pateikiami 10-oje lentelėje.

10 lentelė. Klamos matavimų rezultatai kambario temperatūroje**Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)**

Tepalo žymuo	Pagaminus		Po 2 mėnesių		Po 4 mėnesių		Po 6 mėnesių	
	Pa*s	%	Pa*s	%	Pa*s	%	Pa*s	%
A_K	132133	43,8	122178	40,5	111619	37	109205	36,2
B_K	213283	70,7	96535	32,1	90502	30	88692	29,4
C_K	271203	89,9	256422	85	259740	86,1	259438	86
D_K	272408	90,3	267279	88,6	261551	86,7	213886	70,9
E_K	294429	97,6	292317	96,9	284477	94,3	294768	95,7

Matuotų tepalų klampa svyruoja nuo 29,4 % iki 98,1 %. Tepalų, laikytų kambario temperatūroje klampa varijuoja nuo 97,6 % iki 29,4 %.

Tepalų, kurie buvo laikomi šaldytuvo sąlygomis, rezultatai pateikiami 11-oje lentelėje.

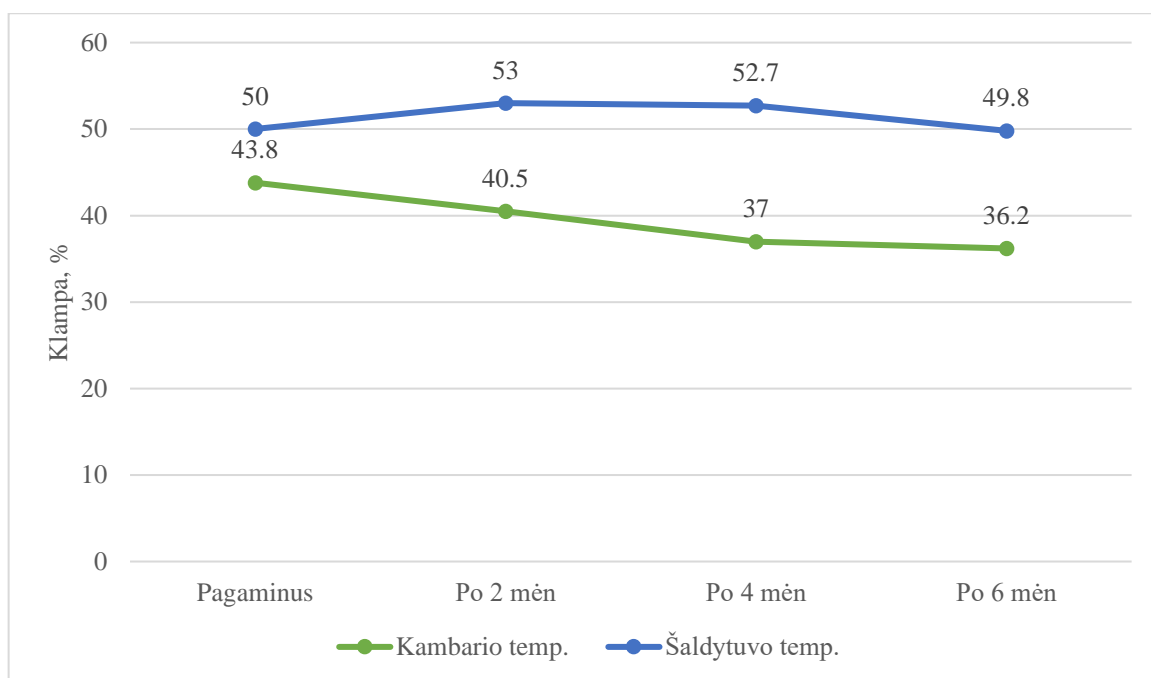
11 lentelė. Klamos matavimų rezultatai šaldytuvo sąlygomis**Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)**

Tepalo žymuo	Pagaminus		Po 2 mėnesių		Po 4 mėnesių		Po 6 mėnesių	
	Pa*s	%	Pa*s	%	Pa*s	%	Pa*s	%
A_š	150835	50	159887	53	158982	52,7	150233	49,8
B_š	209361	69,4	184021	61	165618	54,9	161998	53,7
C_š	257627	85,4	257025	85,2	255819	84,8	253406	84
D_š	271201	89,9	26000	86,2	259137	85,9	259137	80
E_š	295635	98	295937	98,1	294733	97,7	281157	94,2

Laikytų šaldytuve tepalų klampa varijuoja nuo 98,1 % iki 49,8 %.

Toliau kiekvienos sudėties klamos rezultatai nagrinėjami atskirai.

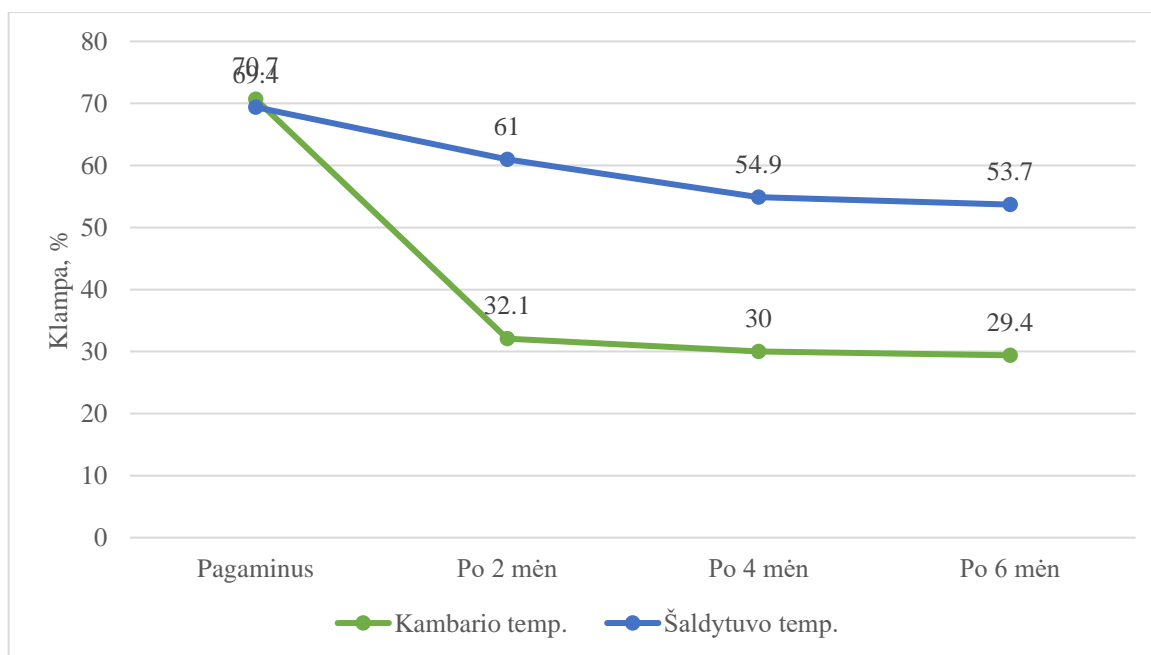
A sudėties tepalo klamos kitimą, esant $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ir $2 \pm 8^{\circ}\text{C}$ temperatūrai, matome 6-ame paveiksle.



6 pav. A sudėties tepalo klampos kitimas laikant skirtingomis sąlygomis laikui einant

Iš grafiko matyti, kaip A sudėties tepalo klampumas mažėja laikui einant. Tepalo, kuris buvo laikytas šaldytuve, klampumas po 2 mėnesių padidėjo, vėliau ėmė mažėti. Tepalo, laikyto kambario temperatūroje, stabilumas nuosekliai mažėjo. Šaldytuve laikyto tepalo klampumas visą laikotarpį išliko didesnis nei laikyto kambario temperatūroje. Po 6 mėnesių, tepalas pradėjo po truputį skystėti. Manome, kad dėl didelio eterinių aliejų kiekio.

B sudėties tepalo klampos kitimas pateikiamas 7-ame paveiksle.

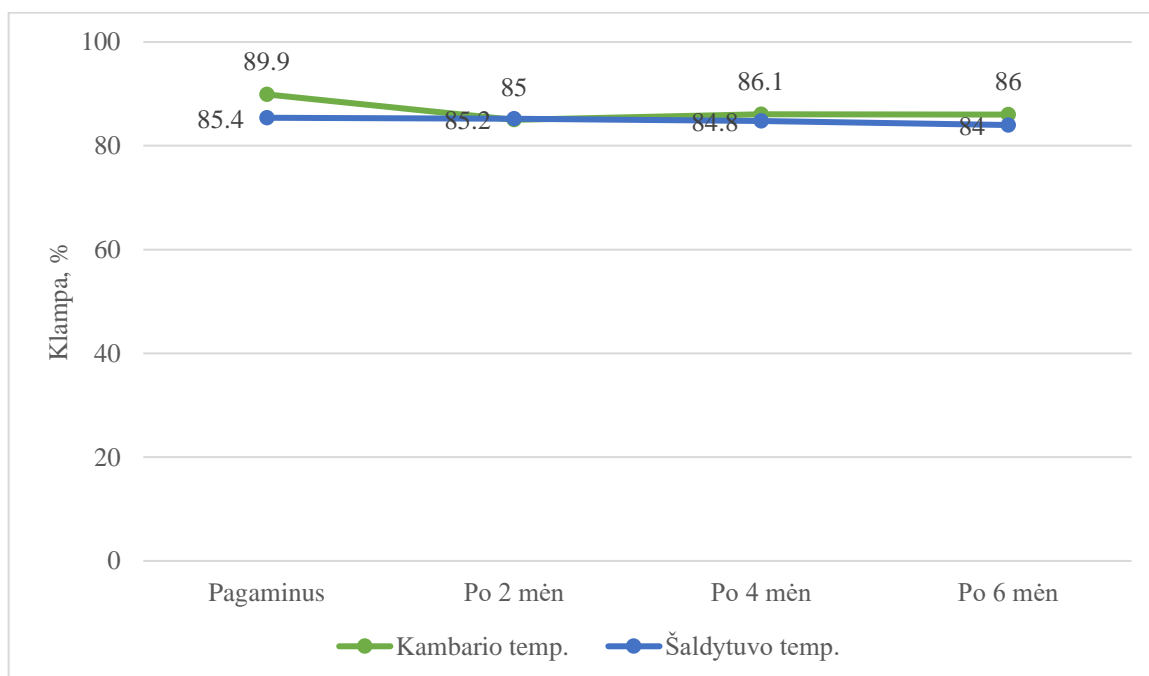


7 pav. B sudėties tepalo klampos kitimas laikant skirtingomis sąlygomis laikui einant

Šios sudėties tepalo, laikant kambario temperatūroje, klampa po 2 mėnesių staigiai sumažėja nuo 70,7 % iki 32,1 %. Toliau laikant, tepalo klampa toliau mažėja, bet palaipsniui (32,1% - 30% - 29,4%). Tepalas skystėja, viršuje kaupiasi aliejų mišinys, o apačioje susikaupia atsiskyręs tamsiai rudas medaus sluoksniš. Tepalas praranda technologines savybes.

Tos pačios B sudėties tepalas, laikomas šaldytuve ($2 \pm 8^{\circ}\text{C}$), stabilesnis. Jo klampa mažėja, tačiau tokie staigūs pokyčiai, kokie įvyko laikant tepalą kambario temperatūroje, neįvyko. Dėl to galima daryti išvadą, jog šio tepalo klampa priklauso nuo temperatūros.

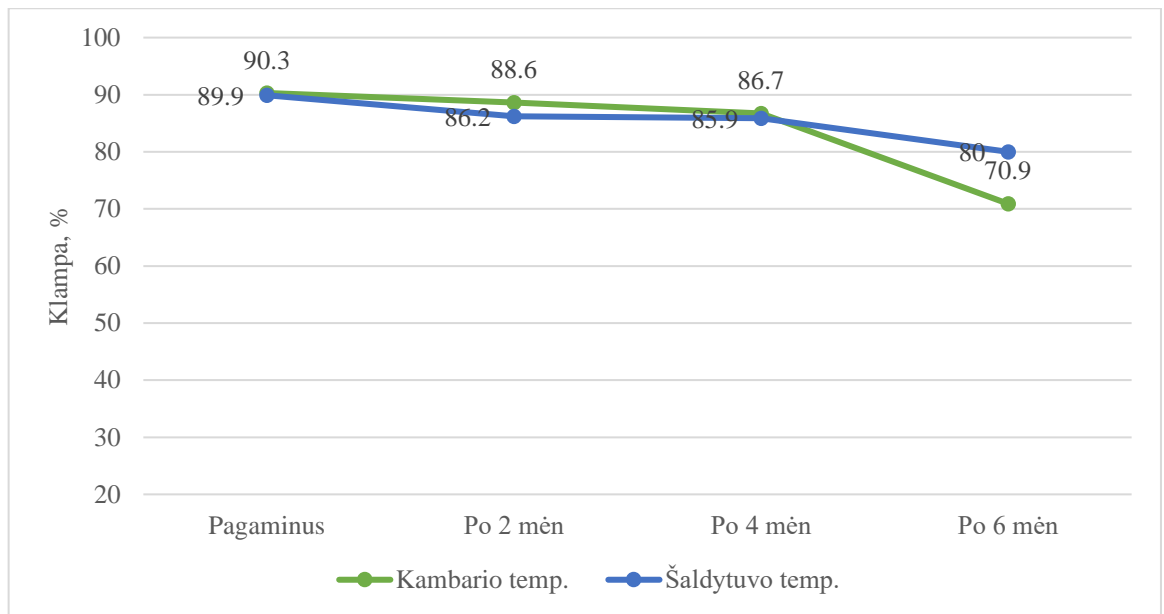
C sudėties tepalo klamos rezultatai pavaizduoti 8-ame paveiksle. Tepalo, laikyto kambario temperatūroje, klampa po 2 mėnesių pakito nežymiai – 4,9 %, o po 6 mėnesių – padidėjo 1,1 %. Laikyto šaldytuve stabilumas šiek tiek didesnis – klampa per visą laikotarpį (6 mėn) sumažėjo 1,4 %.



8 pav. C sudėties tepalo klamos kitimas laikant skirtingomis sąlygomis laikui einant

Šios sudėties tepalų klampa išliko viena didžiausių (86 % ir 84 %) per visą tyrimo laikotarpį. Tam įtakos galėjo turėti žymiai mažesnis eterinių aliejų kiekis sudėtyje. Galima daryti išvadą, jog tepalai, laikyti tiek kambario, tiek šaldytuvo temperatūroje, išlieka stabilūs, nes klamos pasikeitimai nėra reikšmingi.

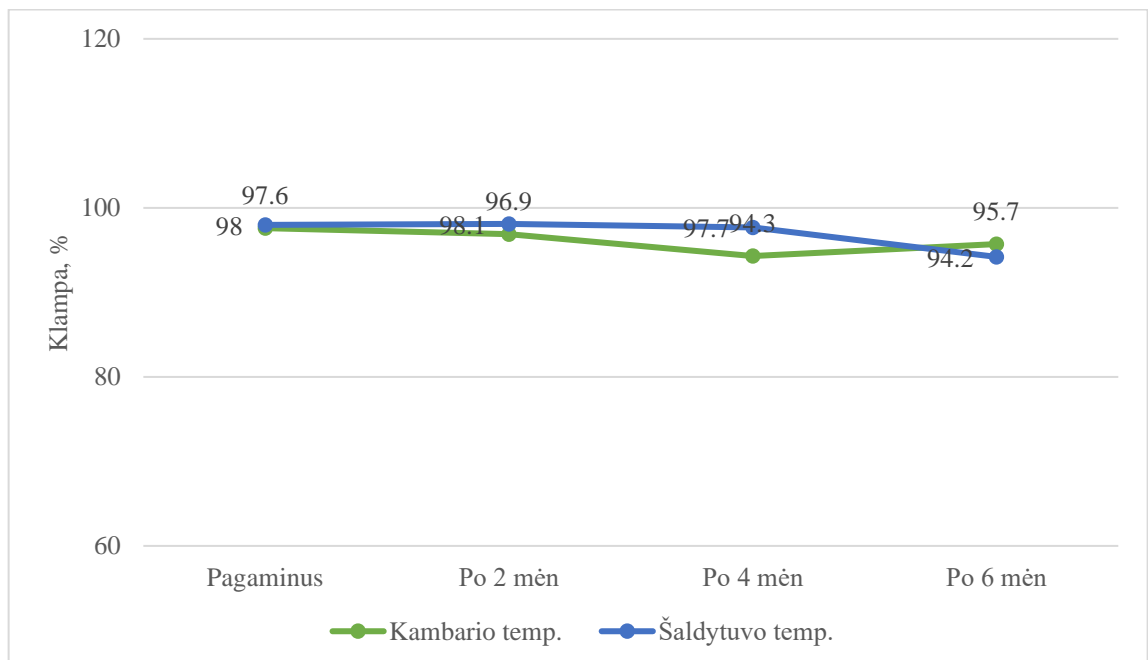
D sudėties tepalo klamos kitimas pavaizduotas 9-ame paveiksle. Kambario temperatūroje laikytas tepalo klampa visą tyrimo laikotarpį po truputį mažėjo: po 2 mėnesių sumažėjo 1,7 %, po 4 mėnesių – 3,6 %, po 6 mėnesių – 19,4 %.



9 pav. D sudėties tepalo klamos kitimas laikant skirtingomis sąlygomis laikui einant

Laikyto šaldytuve D sudėties tepalo klampa taip pat mažėjo: per visą tyrimo laikotarpį klampumas pakito 9,9 %. Tepalas, laikytas šaldytuvo sąlygomis, išliko stabilesnis nei laikomas kambario temperatūroje.

E sudėties tepalo klamos rezultatai skirtingomis sąlygomis per laiko tarpą pavaizduoti 10-ame paveiksle.

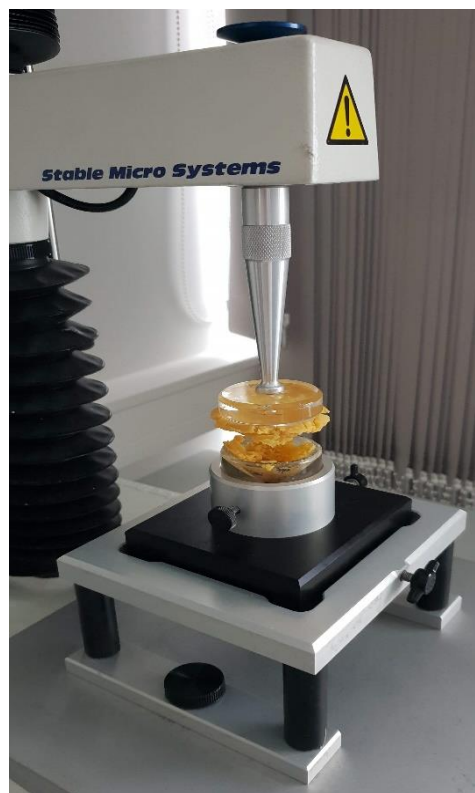


10 pav. E sudėties tepalo klamos kitimas laikant skirtingomis sąlygomis laikui einant

Iš kreivių matyti, kad laikant tiek kambario temperatūroje, tiek šaldytuve, tepalai liko stabilūs. Laikant kambario temperatūroje, klampa kito nežymiai (97,6 % - 96,9 % - 94,3 % - 95,7 %). Laikant šaldytuve klampumas pirmus 4 mėnesius išliko aukštesnis nei kambario temperatūroje (98 % - 98,1 % - 97,7 % - 94,2 %). Šios sudėties tepalų klampa išliko didžiausia lyginant su kitų sudėčių tepalais.

3.3.2. Tekstūros analizė

Kitas metodas stabilumui tirti – tekstūros analizė. Po klamos tyrimo atrinkti likę stabiliausi tepalai – C (05) ir E (14) toliau tiriami tekstūros analizatoriumi. Lyginama, kaip skirtingų sudėčių tepalų stabilumas keičiasi laikant skirtingomis sąlygomis: kambario ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei, ir šaldytuvo ($2 \pm 8^\circ\text{C}$) temperatūroje per laiko tarpą. 11-ame paveiksle pavaizduotas tekstūros analizatorius.



11 pav. Tekstūros analizė

Pusiaus kietų preparatų tekstūra matuojama ką tik pagaminus, praėjus 2, 4 ir 6 mėnesiams. Prieš atliekant tyrimą, mėginiai, kurie buvo laikomi šaldytuve, atšildomi iki kambario temperatūros. Kiekvienas preparatas matuojamas po penkis kartus ($n=5$), išvedami vidurkiai.

Gauti konsistencijos, šlyties ir lipnumo (adhezijos) rezultatai, laikant tepalus kambario temperatūroje, pateikiami 12-oje.

12 lentelė. Tekstūros analizės rezultatai kambario sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Tepalo žymuo	Laikas	Konsistencija, g	Šlytis, g/s	Lipnumas, g
C_K	P	1077,2	1146,22	-746,5
	P2M	1190,5	1254,23	-886,1
	P4M	1268,7	1462,2	-1051,4
	P6M	1762,2	1613,78	-1321,3
E_K	P	1388,2	1418,3	-1159,1
	P2M	1468,7	1536,42	-1207,1
	P4M	1964,3	1719,9	-1441,5
	P6M	2298,4	2069,57	-1653,8

C sudėties tepalo konsistencijos reikšmė kambario sąlygomis ($25 \pm 2^\circ\text{C}$), esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei laikui einant kito nuo 1077,2 g iki 1762,2 g, šlytis kito nuo 1146,22 g/s iki 1613,78 g/s, o adhezija pakito nuo -746,5 g iki 1321,3 g. Tomis pačiomis sąlygomis laikomas E sudėties tepalas laikui einant kito taip: konsistencija – nuo 1388,2 g iki 2298,4 g, šlytis – nuo 1418,3 g/s iki 2069,57 g/s, o lipnumas nuo -1159,1 g iki -1653,8 g.

Gauti konsistencijos, šlyties ir lipnumo (adhezijos) rezultatai, laikant tepalus šaldytuvo temperatūroje, pateikiami 13-oje lentelėje.

13 lentelė. Tekstūros analizės rezultatai šaldytuvo sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

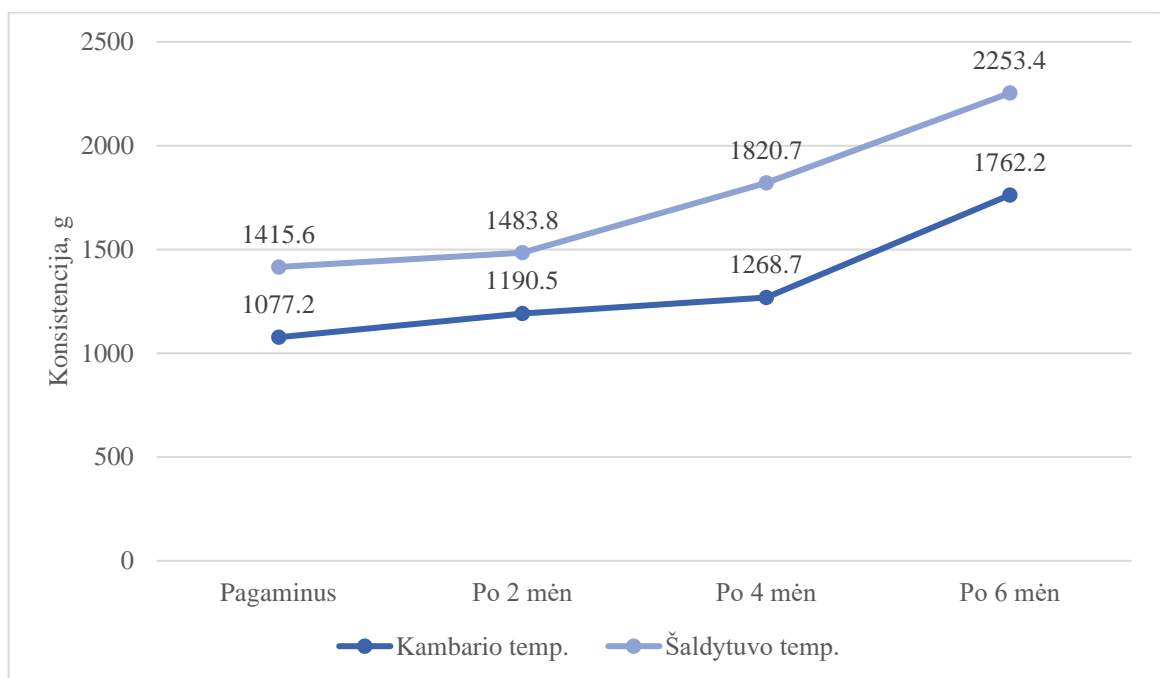
Tepalo žymuo	Laikas	Konsistencija, g	Šlytis, g/s	Lipnumas, g
C_š	P	1415,6	1308,94	-928,1
	P2M	1483,8	1365,31	-1072,4
	P4M	1820,7	1831,56	-1209,5

	P6M	2253,4	2189,23	-1413,5
Eš	P	1990,3	1690,6	-1330,2
	P2M	2116,6	1774,59	-1339,8
	P4M	2284,7	1940,6	-1402,5
	P6M	2419,6	2124,6	-1678,6

C sudėties tepalo konsistencijos reikšmė šaldytuvo sąlygomis ($2 \pm 8^{\circ}\text{C}$) laikui einant kito nuo 1415,6 g iki 2253,4 g, šlytis kito nuo 1308,94 g/s iki 2189,23 g/s, o adhezija pakito nuo -928,1 g iki -1413,5 g. Tomis pačiomis sąlygomis laikomas E sudėties tepalas laikui einant kito taip: konsistencija – nuo 1990,3 g iki 2419,6 g, šlytis – nuo 1690,6 g/s iki 2124,6 g/s, o adhezija nuo -1330,2 g iki -1678,6 g.

Toliau kiekvienos sudėties tiriamas parametras nagrinėjamas atskirai.

C sudėties tepalo konsistencijos reikšmės kitimas skirtingomis sąlygomis pavaizduotas 12-ame paveiksle.

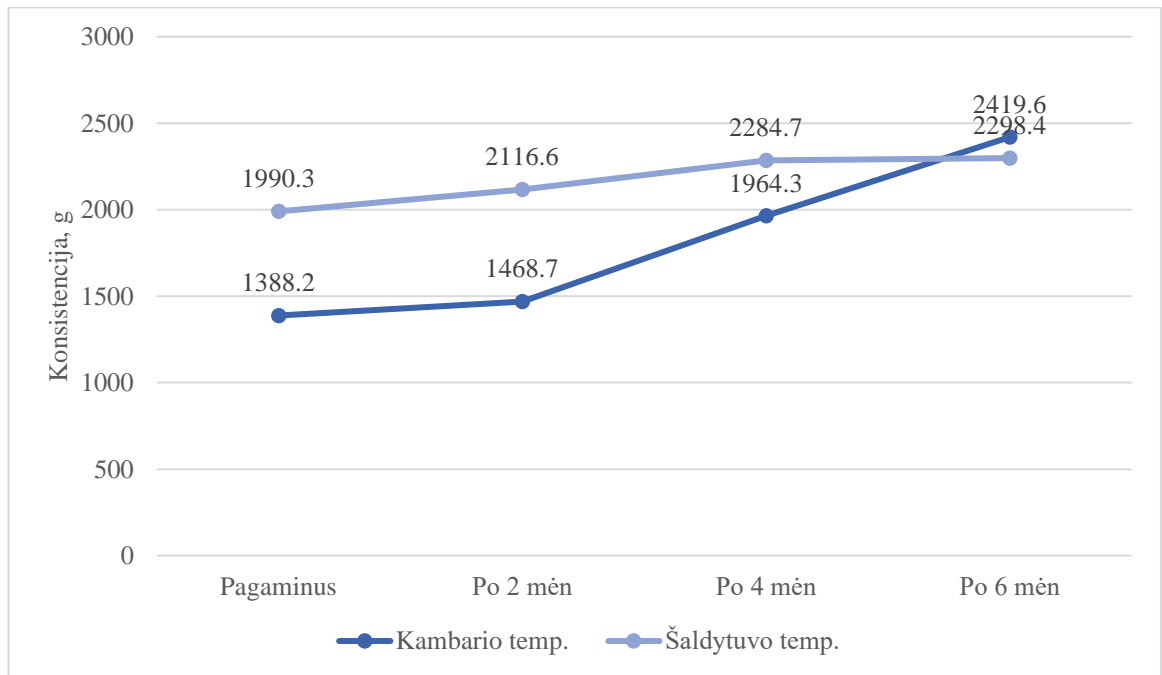


12 pav. C sudėties tepalo konsistencijos kitimas skirtingomis sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Kaip matyti iš kreivės, C sudėties tepalo konsistencijos reikšmė palaipsniui didėjo, nepriklausomai nuo to, kokios buvo laikymo sąlygos. Kambario temperatūroje laikomo tepalo konsistencijos reikšmė per visą laiką padidėjo 38,87 %, o laikyto šaldytuve – 37,18 %. Laikant kambario temperatūroje, tepalo konsistencijos reikšmė kito netolygiai: po 2 mėnesių padidėjo 9,51 %, po 4

mėnesių – 6,16 %, o po 6 mėnesių – 28 %. Šaldytuvo temperatūroje laikytas tepalas parodė šiek tiek mažesnius pakitimus: po 2 mėnesių konsistencijos reikšmė padidėjo 4,59 %, po 6 mėnesių – 18,5 %, o po 6 mėnesių – 19,2 %. Analizė parodė, jog C sudėties tepalo laikymo sąlygos neturi įtakos preparato technologinėms savybėms, kadangi po viso tyrimo laikotarpio (6 mėn), konsistencijos reikšmė susilygina.

E sudėties tepalo konsistencijos reikšmės kitimas skirtingomis sąlygomis pavaizduotas 13-ame paveiksle.

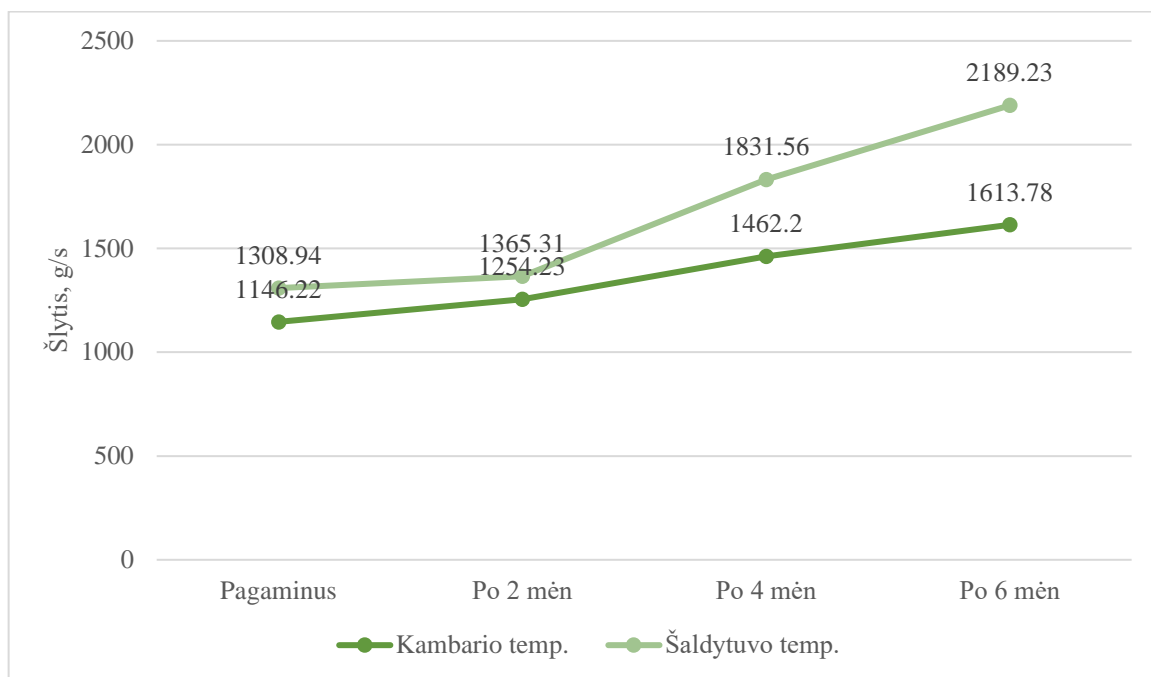


13 pav. E sudėties tepalo konsistencijos kitimas skirtingomis sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Iš pavaizduotų rezultatų matyti, jog E sudėties tepalo konsistencijos reikšmės taip pat didėjo laikui einant. Kambario temperatūroje laikomo tepalo konsistencijos reikšmė per visą tyrimo laiką padidėjo 42,62 %, o laikant šaldytuve – 13,4 %. Šios sudėties tepalo technologinės savybės priklauso nuo laikymo sąlygų. Laikant vėsiomis sąlygomis tepalo stabilumas ženkliai didesnis nei laikant kambario temperatūroje.

Lyginant C ir E tepalų sudėtis ir kaip nuo jų priklauso konsistencijos reikšmė, matyti, jog E sudėties tepalo konsistencijos reikšmės yra didesnės tiek laikant kambario, tiek šaldytuvo sąlygomis. Tam gali turėti įtakos E sudėtyje esantis medus (5 g), kurio C sudėtyje nebuvo, ir didesnis eterinių aliejų kiekis. Tačiau E sudėties tepalas šaldytuvo temperatūroje liko stabiliausias visą tyrimo laikotarpį lyginant su C sudėties tepalu.

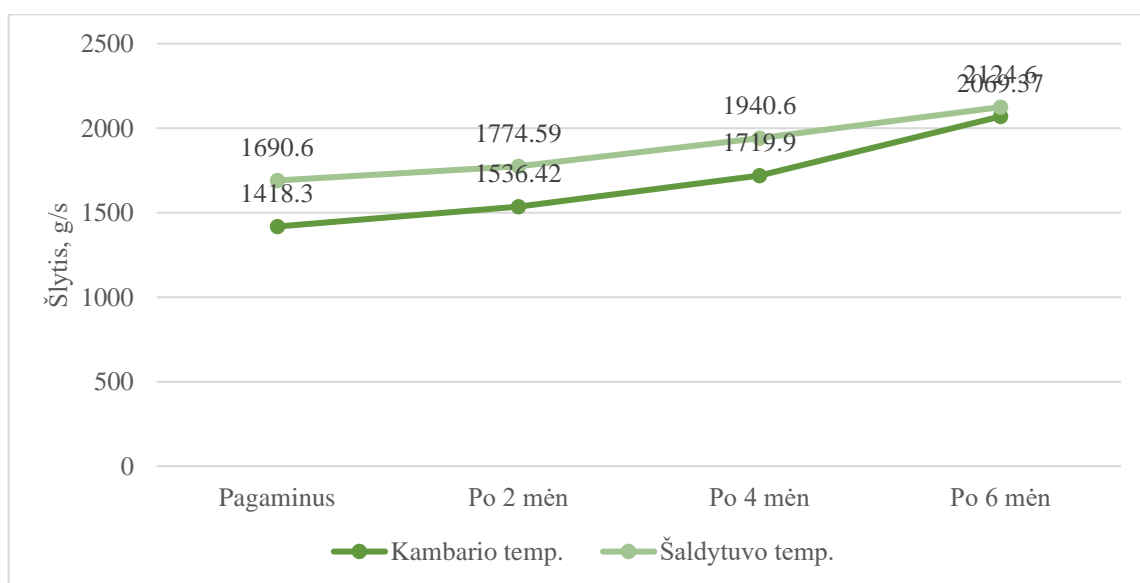
C sudėties tepalo šlyties jėgos kitimo rezultatai pavaizduoti 14-ame paveiksle. Iš kreivių matyti, jog šlytis laikui einant didėjo. Kambario temperatūroje laikomo tepalo šlytis per 6 mėnesius padidėjo 40,2 %, o laikant šaldytuve – 28,97 %.



14 pav. C sudėties tepalo šlyties kitimas skirtingomis sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Šaldytuve laikomas tepalas parodė mažesnius pakitimus nei kambario temperatūroje. Galima daryti išvadą, jog šios sudėties tepalą geriau laikyti vėsioje temperatūroje.

E sudėties tepalo šlyties kitimas laikui einant pavaizduotas 15-ame paveiksle.

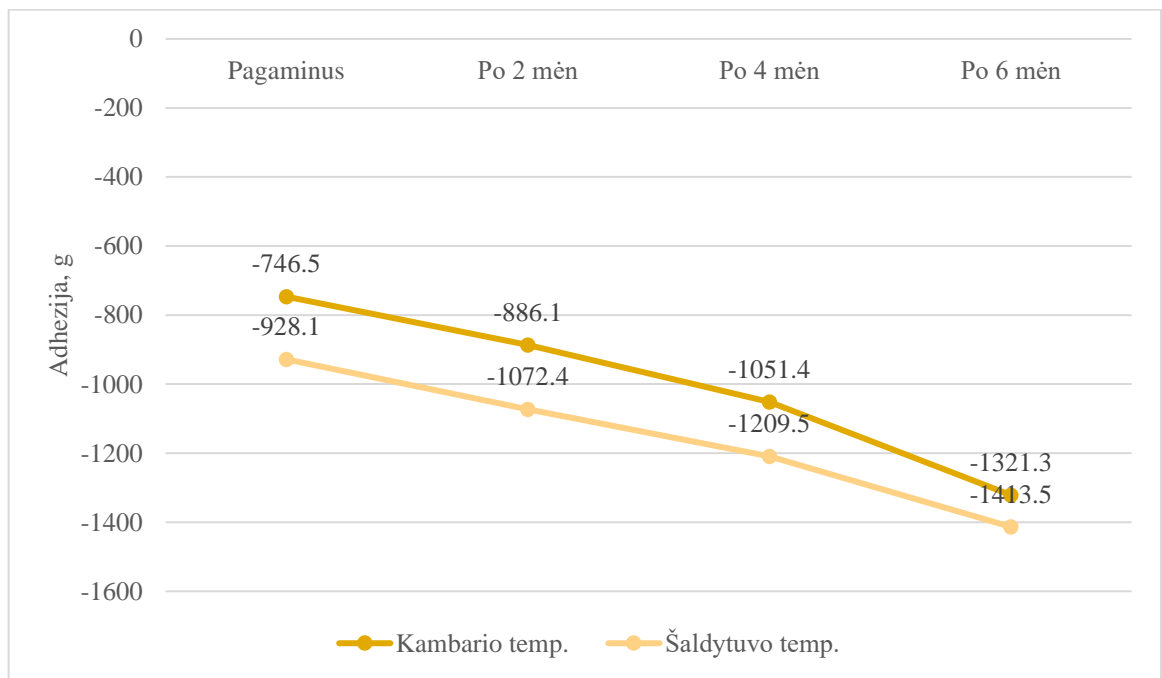


15 pav. E sudėties tepalo šlyties kitimas skirtingomis sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Laikant skirtingose temperatūrose, šlytis palaiptai didėjo abiem atvejais. Po 6 mėnesių E sudėties tepalo, laikyto $25 \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje, šlytis padidėjo 31,46 %. Laikant šaldytuve ($2 \pm 8^\circ\text{C}$), šlytis pakito nežymiai – 20,42 %. Iš šlyties rezultatų galima daryti išvadą, jog E sudėties tepalą laikant vėsioje temperatūroje, preparatas išlieka stabilus bent jau pirmus 6 mėnesius.

Lyginant C ir E sudėties tepalus ir kaip nuo jų priklauso šlytis, galima matyti, jog tiek esant kambario temperatūros, tiek šaldytuvo, E sudėties tepalo šlyties reikšmės didesnės. Todėl galima daryti išvadą, jog E sudėties tepalo tepumas yra geresnis nei C sudėties tepalo.

16-ame paveiksle pavaizduota C sudėties tepalo adhezijos (lipnumo) reikšmių kitimo kreivės.

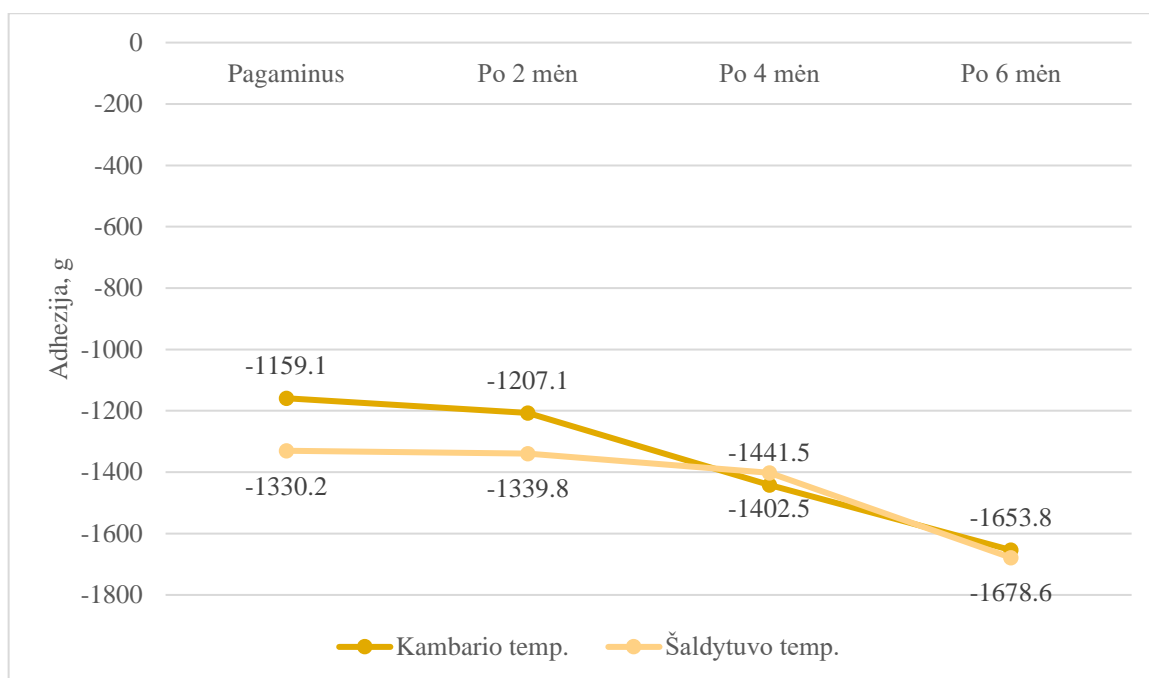


16 pav. C sudėties tepalo adhezijos kitimas skirtingomis sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus ($n=5$)

Lipnumo rodiklis svarbus norint įvertinti tepalo susilaikymo laiką žaizdos vietoje. Kuo lipnumo reikšmė didesnė, tuo prilipimas geresnis. C sudėties tepalo, esančio kambario sąlygomis, lipnumo reikšmė per 6 mėnesius padidėjo 43,5 %, o šaldytuve buvusio tepalo – 34,34 %. Šaldytuve laikomas tepalas parodė šiek tiek stabilesnius rezultatus nei buvęs kambaryje.

E sudėties tepalo lipnumo reikšmės kitimą vaizduojančios kreivės 17-ame paveiksle. Laikant tepalą $25 \pm 2^\circ\text{C}$ temperatūroje, lipnumo reikšmė per visą tyrimo laikotarpį pakito 29,91 %, o laikant vėsioje temperatūroje $2 \pm 8^\circ\text{C}$ – 20,75 %.

Per 6 mėnesių tyrimą nuosekliai lipnumo rodiklis didėjo. Galima daryti išvadą, jog laikant E sudėties tepalą $2 \pm 8^\circ\text{C}$ temperatūroje, esant 60 ± 5 proc. santykinei drėgmei, jo lipnumo reikšmė išlieka tinkama pirmus 6 mėnesius.



17 pav. E sudėties tepalo adhezijos kitimas skirtingomis sąlygomis laikui einant
Tyrimas kartotas 5 kartus (n=5)

Lyginant C ir E sudėties tepalus ir kaip nuo jų priklauso lipnumas, matyti, jog E sudėties tepalo lipnumo rodikliai didesni, kinta pamažu. Jo sudėtyje yra medaus, kuris gali turėti įtakos didesniems lipnumo rodikliams. Galima teigti, kad E tepalas yra stabilus, laikant šaldytuve, ir jo lipnumas geresnis nei C sudėties.

Apibendrinant gautus tekstūros analizės rezultatus, galima daryti išvadą, jog E sudėties tepalo tekstūra atitiko visus tepalui keliamus farmakopėjinius technologinius reikalavimus viso tyrimo metu jį laikant šaldytuvo sąlygomis. Tam galėjo turėti įtakos tinkamas emulsinio pagrindo, medaus, šaltalankių aliejaus ir arbatmedžio eterinio aliejaus – medžiagų, kurios labiausiai turi įtakos stabilumui – santykis. C sudėties tepale arbatmedžio eterinio aliejaus ir šaltalankių aliejaus kiekis buvo mažesnis nei E tepale, tačiau jame nebuvo medaus, o emulsinio pagrindo kiekis didesnis.

Atlikus centrifugos testą, iš 15-os sudėčių buvo atrinktos 5-ios, su kuriomis buvo tęsiami tyrimai. Nustatyta pH priklausomybė nuo temperatūros: didėjant temperatūrai, pH reikšmė mažėja, o mažėjant temperatūrai – pH didėja. Tepalų pH – rūgštinė. Spektrofotometriškai įvertinus salicilo rūgšties kiekį tepale, nustatyta, jog A ir B tepaluose veikliosios medžiagos kiekis per mažas, o C, D ir E – atitinka Europos farmakopėjos keliamus reikalavimus. Atlikus klampos analizę, nustatyta, kad C ir E tepalai viso tyrimo metu išliko stabiliausi tiek laikant kambario, tiek šaldytuvo sąlygomis. Juose aliejų kiekis buvo mažiausias. A, B ir D tepalai po klampos tyrimo prarado technologines savybes. Manoma, kad dėl didžiausio eterinių aliejų kiekio. Dėl to su jais tyrimai buvo nebetęsiami. Tekstūros analizė parodė, kad

E tepalas, kuriame yra ir medaus, ir eterinių aliejų, buvo stabilesnis nei tepalas C, kuriame medaus nebuvo, o eterinių aliejų kiekis buvo mažesnis. Visą tyrimo laikotarpį (6 mėnesius) E sudėties tepalas išliko stabilus.

4. IŠVADOS

1. Remiantis mokslinės literatūros analizės duomenimis, galima teigti, kad medus, propolis, šaltalankių aliejus, arbatmedžio eterinis aliejus, dažinės ciberžolės šakniastiebių ekstraktas, salicilo rūgštis pasižymi efektyviomis gydomosiomis savybėmis ir gali įeiti į tepalo sudėtį, sergančiųjų cukriniu diabetu žaizdų gydymui.
2. Įvertinus penkiolikos skirtingų sudėčių pusiau kietų preparatų pradinį stabilumo testą, naudojant centrifugą, atrinktos penkios sudėtys, su kuriomis buvo vykdomi tolimesni tyrimai: pH nustatymas, salicilo rūgšties kiekio nustatymas spektrofotometru, klamos ir tekstūros analizė.
3. Tepalams gaminti pasirinktas emulsinis pagrindas, V/A tipo. Naudojant tepalų gamybos šildomąjį-šaldomąjį įrenginį pagamintas emulsinis tepalo pagrindas, o visos sudėtinės dalys sumaišytos ir homogenizuotos prietaisu Unguator 2100.
4. Pagamintas tepalas E emulsiniu pagrindu (sudėtis – emulsinis pagrindas 35 g, medus 5 g, šaltalankių aliejus 2 g, arbatmedžio eterinis aliejus 1,5 g, ciberžolės šakniastiebių ekstraktas 3 g, propolis 2 g, salicilo rūgštis 1,5 g) išliko stabilus 6 mėnesius, kai jo pH = 2,95 ($2 \pm 8^{\circ}\text{C}$); pH = 2,45 ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$); salicilo rūgšties kiekis – 97,62 %.
5. Tekstūros analizė patvirtino, kad tepalas, kurio sudėtyje yra medus ir eteriniai aliejai, išlieka stabilesnis visą tyrimo laikotarpį (6 mėn. E sudėtis) nei tepalas, kuriame medaus nėra ir eterinių aliejų kiekis mažas.

5. PRAKTINĖS REKOMENDACIJOS

1. Rekomenduojama atlikti tolimesnius tyrimus su tinkamiausios E sudėties tepalu, nustatyti jo stabilumą ilgesniame laikotarpyje (12 mėn.)
2. Sumodeliuotą tepalą naudoti dėl cukrinio diabeto atsiradusių žaizdų gydymui. Rekomenduojama padaryti ikiklinikinių tyrimų ir įvertinti, kaip tepalas veikia sergančiojo cukriniu diabetu žaizdas.

6. LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Niaz K, Maqbool F, Khan F, Hassan FI, Momtaz S, Abdollahi M. Comparative occurrence of diabetes in canine, feline, and few wild animals and their association with pancreatic diseases and ketoacidosis with therapeutic approach. *Vet World*. 2018;11(4):410-22.
2. Gkogkolou P, Böhm M. Skin disorders in diabetes mellitus. *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft*. 2014;12(10):847-64.
3. Adin CA, Gilor C. The Diabetic Dog as a Translational Model for Human Islet Transplantation. *The Yale journal of biology and medicine*. 2017;90(3):509-15.
4. Cho H, Blatchley MR, Duh EJ, Gerecht S. Acellular and cellular approaches to improve diabetic wound healing. *Adv Drug Deliv Rev*. 2018.
5. Khan AW, Kotta S, Ansari SH, Sharma RK, Kumar A, Ali J. Formulation development, optimization and evaluation of aloe vera gel for wound healing. *Pharmacognosy Magazine*. 2013;9(Suppl 1):S6-S10.
6. de Macedo GM, Nunes S, Barreto T. Skin disorders in diabetes mellitus: an epidemiology and physiopathology review. *Diabetol Metab Syndr*. 2016;8(1):63.
7. Barbul A, Efron DT, Kavalukas SL. Wound Healing. In: Brunicki FC, Andersen DK, Billiar TR, Dunn DL, Hunter JG, Matthews JB, et al., editors. *Schwartz's Principles of Surgery*, 10e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2014.
8. Arif T. Salicylic acid as a peeling agent: a comprehensive review. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015;8:455-61.
9. Furman BL. *Salicylic Acid* 2018.
10. Kitagawa S, Fujiwara M, Okinaka Y, Yutani R, Teraoka R. Effects of mixing procedure itself on the structure, viscosity, and spreadability of white petrolatum and salicylic acid ointment and the skin permeation of salicylic acid. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2015;63(1):43-8.
11. Fluhr JW, Cavallotti C, Berardesca E. Emollients, moisturizers, and keratolytic agents in psoriasis. *Clin Dermatol*. 2008;26(4):380-6.
12. Jull AB, Walker N, Deshpande S. Honey as a topical treatment for wounds. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2013(2):Cd005083.
13. Burlando B, Cornara L. Honey in dermatology and skin care: a review. *Journal of cosmetic dermatology*. 2013;12(4):306-13.
14. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1259510.

15. Oryan A, Alemzadeh E, Moshiri A. Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: A narrative review and meta-analysis. *J Tissue Viability*. 2016;25(2):98-118.
16. Mohamed H, Salma MA, Al Lenjawi B, Abdi S, Gouda Z, Barakat N, et al. The efficacy and safety of natural honey on the healing of foot ulcers: a case series. *Wounds : a compendium of clinical research and practice*. 2015;27(4):103-14.
17. Molan P, Rhodes T. Honey: A Biologic Wound Dressing. *Wounds : a compendium of clinical research and practice*. 2015;27(6):141-51.
18. Molan PC, Betts JA. Using honey to heal diabetic foot ulcers. *Advances in skin & wound care*. 2008;21(7):313-6.
19. de Groot AC. Propolis: a review of properties, applications, chemical composition, contact allergy, and other adverse effects. *Dermatitis*. 2013;24(6):263-82.
20. Martinotti S, Ranzato E. Propolis: a new frontier for wound healing? *Burns Trauma*. 2015;3:9.
21. Toreti VC, Sato HH, Pastore GM, Park YK. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:697390.
22. McLennan SV, Bonner J, Milne S, Lo L, Charlton A, Kurup S, et al. The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*. 2008;16(5):706-13.
23. Akbik D, Ghadiri M, Chrzanowski W, Rohanizadeh R. Curcumin as a wound healing agent. *Life Sci*. 2014;116(1):1-7.
24. Nelson KM, Dahlin JL, Bisson J, Graham J, Pauli GF, Walters MA. The Essential Medicinal Chemistry of Curcumin. *J Med Chem*. 2017;60(5):1620-37.
25. Mohanty C, Sahoo SK. Curcumin and its topical formulations for wound healing applications. *Drug Discov Today*. 2017;22(10):1582-92.
26. Gadekar R, Saurabh M, Thakur GS, Saurabh A. Study of formulation, characterisation and wound healing potential of transdermal patches of Curcumin 2012. 225-30 p.
27. Mohanty C, Das M, Sahoo SK. Sustained wound healing activity of curcumin loaded oleic acid based polymeric bandage in a rat model. *Molecular pharmaceutics*. 2012;9(10):2801-11.
28. Kant V, Gopal A, Kumar D, Pathak NN, Ram M, Jangir BL, et al. Curcumin-induced angiogenesis hastens wound healing in diabetic rats. *J Surg Res*. 2015;193(2):978-88.
29. Zhang Y, McClain SA, Lee HM, Elburki MS, Yu H, Gu Y, et al. A Novel Chemically Modified Curcumin "Normalizes" Wound-Healing in Rats with Experimentally Induced Type I Diabetes: Initial Studies. *J Diabetes Res*. 2016;2016:5782904.

30. Edraki M, Akbarzadeh A, Hosseinzadeh M, Tanideh N, Salehi A, Koochi-Hosseiniabadi O. Healing effect of sea buckthorn, olive oil, and their mixture on full-thickness burn wounds. *Advances in skin & wound care*. 2014;27(7):317-23.
31. Zielinska A, Nowak I. Abundance of active ingredients in sea-buckthorn oil. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):95.
32. Yuan H, Zhu X, Wang W, Meng L, Chen D, Zhang C. Hypoglycemic and anti-inflammatory effects of seabuckthorn seed protein in diabetic ICR mice. *Food Funct*. 2016;7(3):1610-5.
33. Suryakumar G, Gupta A. Medicinal and therapeutic potential of Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J Ethnopharmacol*. 2011;138(2):268-78.
34. Larson D, Jacob SE. Tea tree oil. *Dermatitis*. 2012;23(1):48-9.
35. Pazyar N, Yaghoobi R, Bagherani N, Kazerouni A. A review of applications of tea tree oil in dermatology. *Int J Dermatol*. 2013;52(7):784-90.
36. Halcón L, Milkus K. *Staphylococcus aureus* and wounds: A review of tea tree oil as a promising antimicrobial. *American Journal of Infection Control*. 2004;32(7):402-8.
37. Low WL, Kenward K, Britland ST, Amin MC, Martin C. Essential oils and metal ions as alternative antimicrobial agents: a focus on tea tree oil and silver. *Int Wound J*. 2017;14(2):369-84.
38. Woollard AC, Tatham KC, Barker S. The influence of essential oils on the process of wound healing: a review of the current evidence. *Journal of wound care*. 2007;16(6):255-7.
39. De Villiers M. *Ointment Bases*. 2009. p. 277-90.
40. Bhowmik D, Gopinath H, Kumar BP, Duraivel S, Kumar KS. Recent advances in novel topical drug delivery system. *The Pharma Innovation*. 2012;1(9, Part A):12.