

**Ставский Евгений Александрович**  
д.м.н., доцент, НГМУ, Новосибирск  
Stavsky Evgeniy Aleksandrovich  
MD, DSc, Associate Professor, NSMU, Novosibirsk

**Теплякова Тамара Владимировна**  
д.б.н., профессор, ГНЦ ВБ «Вектор»  
НСО, п. Кольцово

**Ермаченко Максим Александрович**  
преподаватель, НГМУ, Новосибирск

**Ставская Анастасия Александровна**  
студентка, НГМУ, Новосибирск

**Осадчая Александра Романовна**  
студентка, НГМУ, Новосибирск

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА IN VIVO ЛЕЧЕБНЫХ СВОЙСТВ МАЗЕЙ  
НА ОСНОВЕ МЕЛАНИНОВ ИЗ ГРИБА ЧАГИ INONOTUS OBLIQUUS И МАЗИ  
НА ОСНОВЕ МИКРОБНОЙ АССОЦИАЦИИ  
COMPARATIVE IN VIVO EVALUATION OF THE MEDICAL PROPERTIES  
OF OINTMENTS BASED ON MELANINS FROM THE CHAGA FUNGUS INONOTUS  
OBLIQUUS AND OINTMENTS BASED ON MICROBIAL ASSOCIATION**

**Аннотация:** В статье рассматриваются лечебные свойства мазей на основе меланинов из природного сырья гриба чаги *Inonotus obliquus* и его глубинной культуры, а также мази на основе микробной ассоциации из бактерий *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*. Мазь на основе микробной ассоциации продемонстрировала *in vivo* наиболее высокую скорость ранозаживления инфицированных ран у экспериментальных животных по сравнению с контрольной мазью сравнения Ируксол и меланинсодержащими мазями.

**Abstract:** The article discusses the medicinal properties of ointments based on melanins from the natural raw materials of the chaga mushroom *Inonotus obliquus* and its deep culture, as well as ointments based on a microbial association from the bacteria *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*. An ointment based on microbial association demonstrated *in vivo* the highest rate of wound healing of infected wounds in experimental animals compared to the control ointment Iruksol and melanin-containing ointments.

**Ключевые слова:** меланин, гриб чага *Inonotus obliquus*, мазь, кожная резаная рана, ранозаживление, микробная ассоциация.

**Keywords:** melanin, chaga mushroom *Inonotus obliquus*, ointment, cutaneous wound, wound healing, microbial association.

В современных условиях растущей антибиотикорезистентности гноеродной микрофлоры и измененной реактивности организма проблема местного (медикаментозного) лечения ран становится все более сложной. Известны разные способы [1-4], а также большой перечень лекарственных препаратов для лечения инфицированных и других видов ран [1-7]. При этом по характеру своего действия [1-3,5,8] и составу эти препараты являются представителями весьма различающихся между собой групп [4,6,7,9,10]. Тем не менее, проблема лечения ран различной этиологии, поиск исходного сырья и новых лекарственных эффективных средств местного лечения инфицированных ран остаётся по-прежнему актуальной проблемой современной медицины и фармакологии.



Целью работы являлась экспериментальная сравнительная оценка ранозаживляющих свойств мази на основе микробной ассоциации – мази Биосептин и мазей на основе меланинов из гриба чаги *Inonotus obliquus*.

В качестве контрольной мази сравнения использовали мазь Ируксол производства АО «Плива», Загреб, Хорватия. Один грамм мази содержит клостридиопептидазу А, стандартизованную на 0,6 ЕД активности коллагеназы и на 0,12 ЕД активности протеиназы, 10 мг хлорамфеникола. Мазь является комбинированным препаратом для местного применения, оказывает антимикробное действие, способствует ферментативному очищению ран и их грануляции [11].

Мазь на основе микробной ассоциации бактерий *Bacillus subtilis* штамм ВКПМ В-7048 и *Bacillus licheniformis* штамм ВКПМ В-7038 производства ООО НПФ «Исследовательский Центр» (мазь Биосептин), обладающих высокой антагонистической активностью по отношению к широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Мазь является комбинированным препаратом для местного применения [12].

Меланинсодержащие мази получали на основе меланинов из природного сырья и её глубинной культуры чаги. Меланины указанных видов и мази на их основе получали согласно разработанным методам. При этом прописи мазей содержали меланины из природного сырья чаги и из её глубинной культуры по 0,25 г на 25 г готовой мази и мазевую основу: вазелиновое масло и ланолин в качестве эмульгатора [10-13].

В опыте использовали четыре группы (по 20 мышей в каждой) здоровых неинбредных мышей с массой тела 19-20 г. колонии ICR обоего пола. После премедикации белых мышей хлороформом животным на спине наносили нестерильными ножницами без соблюдения правил асептики плоскую резаную кожную рану. Для моделирования тяжелой экспериментальной первичной гнойной раны у мышей групп №№ 1 и 2, их раны инфицировали в две точки на дне раны по 0,5 см<sup>3</sup> смеси, содержащей  $0,4 \cdot 10^9$  и  $0,2 \cdot 10^9$  бактериальных клеток *P. aeruginosa* № 656 и *S. aureus* В – 653, соответственно. Для этого использовали выращенные при 37°C в течение 48 часов на чашках с плотной питательной средой на основе пептона ферментативного и дрожжевого экстракта бактериальные культуры штаммов *Pseudomonas aeruginosa* № 656 и *Staphylococcus aureus* В – 653, депонированных в музейной коллекции ГНЦ ВБ «Вектор» [10,14,15].

Животных распределяли по группам: контрольная, леченная мазью сравнения (мазь Ируксол) - группа № 1; группа № 2 – опытная, леченная Биосептином; группы № 3 и № 4 опытные, леченные меланинсодержащими мазями – с природным и глубинным меланинами, соответственно.

Экспериментальных животных групп №№ 1 – 4 лечили ежедневно путем нанесения на раны шпателем 0,2 г мази Ируксола (группа № 1) и по 0,2 г мазей с меланинами (природным и глубинным), с содержанием в них по 2,0 мг указанных меланинов. Лечение мышей групп №№ 1-2 начинали только после формирования у них гнойной раны (через трое суток с момента инфицирования). В целом, мышей групп №№ 1-4 продолжали лечить до момента заживления у них резаных ран. Ежедневно у мышей во всех группах оценивали площади ран, процент уменьшения площади раны (ПУП) по методу Л. Н. Поповой [9,10,15], скорость контракции ран [9], двигательную активность, аппетит, динамику и характер заживления ран. Через каждые трое суток оценивали изменение у них массы тела. Все данные обрабатывались статистически с помощью программ Microsoft Excel и Statistica. Полученные данные представлены в табл. 1-2 и на рисунке.

Из данных, представленных в табл. 1, следует, что динамика показателей прироста массы тела у мышей в группах №1 (контрольной) и №2 (опытной) существенно различалась от животных в группах №№3-4. При этом значения этих показателей в указанных группах были очень близкими и не различались с достоверностью 95% между собой. В ходе эксперимента подопытные животные в группах №№ 1-2 в течение первых пяти дней выглядели менее активными, по сравнению с мышами №№ 3-4 групп. При этом у животных



групп №№ 1-2 до конца всего периода наблюдения практически отсутствовала положительная динамика прироста массы тела. Более того показатели общего прироста массы тела мышей от исходных в группах №№1-2 различались с достоверностью 95% от аналогичных показателей животных групп №№3-4, что свидетельствовало о выраженном токсическом воздействии со стороны гнойной раны на организм экспериментальных животных в группах №№1-2. Мыши групп №№ 3-4 охотно поедали свой корм, более того, после нанесения мази мыши частично съедали меланиновую мазь с ран друг у друга. На 18 сутки наблюдения общий прирост массы тела у мышей в группах №№ 3-4 (табл.1) достиг сопоставимых величин, не различавшихся между собой с достоверностью 95%, что свидетельствовало об отсутствии негативного влияния обоих видов меланинов чаги, а также мазевых основ их прописей на организм мышей. Динамика заживления ран в контрольной и опытных группах животных (табл. 2) была различной. Визуально у мышей опытной группы № 2, леченных мазью Биосептин, раны зарубцевались уже к 9 суткам наблюдения. У мышей контрольной группы №1, а также групп №№3-4 корочки на ранах отпали на 9 - 12 сутки. Раны зарубцевались, на поверхности рубцов покрытых по периферии отрастающей шерстью остались только следы от корочек размерами 0,01-0,02 см<sup>2</sup>.

Динамика изменения скорости контракции ран (процент уменьшения площади ран) в процессе лечения (см. рисунок) подтвердила указанные выше данные по ранозаживлению у животных контрольной и опытных групп. Полученные в ходе работы экспериментальные данные продемонстрировали, таким образом, выраженные противовоспалительные и регенеративные свойства всех испытанных мазей: Ируксола, Биосептина и мазей, содержащих меланины, полученных как из природного сырья, так и из глубинной культуры гриба чаги.

### Выводы

1. Мазь на основе микробной ассоциации из бактерий *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* обладает высокой эффективностью и скоростью заживления гнойных кожных ран у экспериментальных животных. Обладает выраженным регенеративным и антимикробным действием. Способствует очищению инфицированных ран, их грануляции и более быстрому заживлению по сравнению с контрольной мазью сравнения Ируксол и меланинсодержащими мазями. Является перспективной в качестве препарата для местного лечения инфицированных ран.

2. Мази, полученные на основе меланинов из природного сырья и глубинной культуры чаги *Inonotus obliquus* являются нетоксичными, обладают сопоставимой с контрольной мазью сравнения Ируксол эффективностью заживления ран у мышей, однако по скорости заживления резаных кожных инфицированных ран уступают мази на основе микробной ассоциации из бактерий *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*.

Таблица 1

Динамика показателей прироста массы тела у мышей (г)

№ группы	Сроки наблюдения, сутки							Общий прирост массы тела
	3	6	9	12	15	18	21	
Группа 1 (кон- трольная, Мазь Ируксол)	$0,7 \pm 0,23$	$0,001 \pm 1,12$	$0,02 \pm 1,61$	$0,07 \pm 1,42$	$0,001 \pm 1,38$	$0,001 \pm 1,86$	$0,001 \pm 1,90$	$0,794 \pm 9,52$
	$0,7 \pm 0,10$	$0,001 \pm 0,49$	$0,02 \pm 0,84$	$0,07 \pm 0,67$	$0,001 \pm 0,72$	$0,001 \pm 1,10$	$0,001 \pm 1,10$	$0,794 \pm 5,02$
Группа 2 (опытная, мазь Биосеп- тин)	$0,9 \pm 0,22$	$-0,01 \pm 0,89$	$0,001 \pm 1,40$	$0,001 \pm 1,58$	$0,001 \pm 1,63$	$-0,02 \pm 1,38$	$0,06 \pm 1,60$	$0,933 \pm 8,70$
	$0,9 \pm 0,12$	$-0,01 \pm 0,39$	$0,001 \pm 0,70$	$0,001 \pm 0,75$	$0,001 \pm 0,86$	$-0,02 \pm 0,82$	$0,06 \pm 1,50$	$0,933 \pm 5,14$



Группа 3 (опытная, 0,25МПр)	$2,4 \pm 0,23$	$0,7 \pm 0,23$	$2,1 \pm 0,32$	$2,0 \pm 0,28$	$1,4 \pm 0,22$	$2,1 \pm 0,34$	$1,0 \pm 0,28$	$11,7 \pm 1,09$
	$2,4 \pm 0,10$	$0,7 \pm 0,10$	$2,1 \pm 0,15$	$2,0 \pm 0,14$	$1,4 \pm 0,11$	$2,1 \pm 0,18$	$1,0 \pm 0,15$	$11,7 \pm 0,93$
Группа 4 (опытная, 0,25Мгл)	$2,2 \pm 0,22$	$1,6 \pm 0,33$	$2,4 \pm 0,29$	$2,0 \pm 0,33$	$1,1 \pm 0,29$	$2,2 \pm 0,26$	$1,5 \pm 0,31$	$13,0 \pm 2,03$
	$2,2 \pm 0,10$	$1,6 \pm 0,15$	$2,4 \pm 0,14$	$2,0 \pm 0,16$	$1,1 \pm 0,15$	$2,2 \pm 0,14$	$1,5 \pm 0,17$	$13,0 \pm 1,01$

Таблица 2

Динамика изменения площади раны у мышей (см<sup>2</sup>)

№ группы	Сроки наблюдения, сутки							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Группа 1 (контрольная, мазь Ируксол)	$1,57 \pm 0,47$	$0,45 \pm 0,20$	$0,11 \pm 0,04$	$0,02 \pm 0,005$	$0,005 \pm 0,002$	0*	0*	0*
	$1,57 \pm 0,21$	$0,45 \pm 0,08$	$0,11 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,003$ *	$0,005 \pm 0,002$ *			
Группа 2 (опытная, мазь Биосептин)	$1,43 \pm 0,23$	$0,37 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,004$	$0,003 \pm 0,002$	0*	0*	0*	0*
	$1,43 \pm 0,10$	$0,37 \pm 0,004$	$0,13 \pm 0,002$	$0,003 \pm 0,001$ *				
Группа 3 (опытная, меланин природный)	$1,28 \pm 0,18$	$0,80 \pm 0,17$	$0,46 \pm 0,27$	$0,17 \pm 0,05$	$0,02 \pm 0,02$	0*	0*	0*
	$1,28 \pm 0,08$	$0,80 \pm 0,08$	$0,46 \pm 0,12$	$0,17 \pm 0,02$	$0,02 \pm 0,01$ *			
Группа 4 (опытная, меланин глубинный)	$1,70 \pm 0,18$	$0,92 \pm 0,16$	$0,54 \pm 0,29$	$0,18 \pm 0,05$	$0,03 \pm 0,03$	0*	0*	0*
	$1,70 \pm 0,08$	$0,920 \pm 0,07$	$0,54 \pm 0,13$	$0,18 \pm 0,02$	$0,03 \pm 0,01$ *			

Примечание: в табл. 1–2 представлены средние показатели прироста массы тела и площади ран у мышей с их стандартными отклонениями ( $\bar{X} \pm \sigma$ ; числитель); доверительными интервалами для вероятности 95% ( $\bar{X} \pm P_{0,05}$ ; знаменатель).  $\bar{X}$  – среднее арифметическое;  $\sigma$  – стандартное отклонение;  $P_{0,05}$  – доверительный интервал для вероятности 95%. (\*) в табл. 2 — обозначены достоверные различия средних величин для животных 3-4 групп от животных 1-2-й групп.

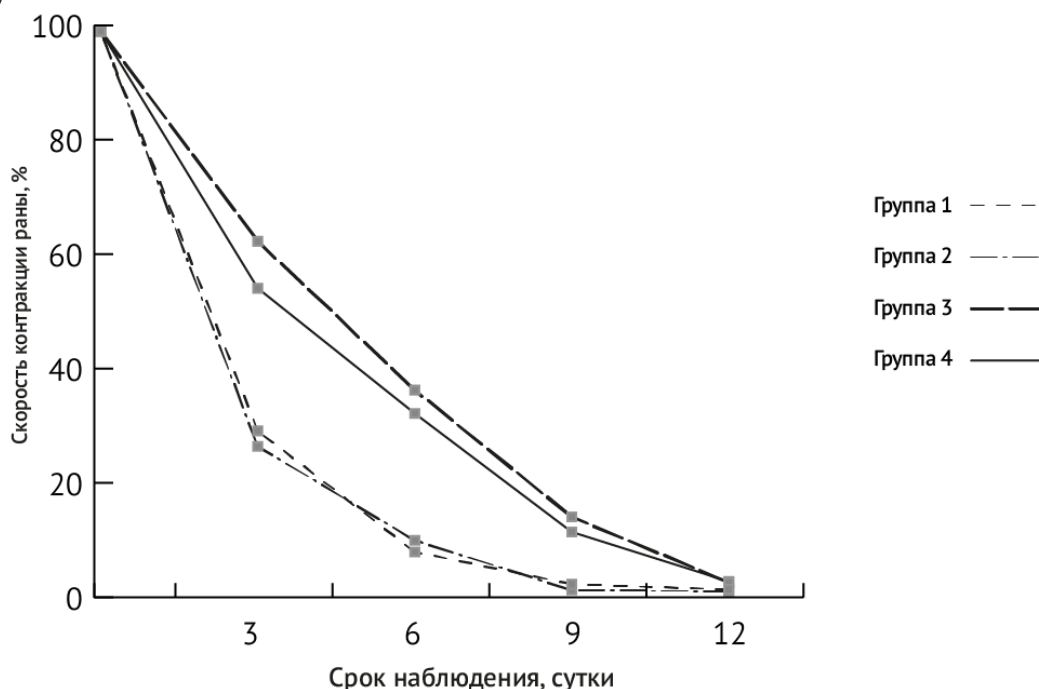


Рисунок. Скорость контракции ран в процессе лечения кожных резаных ран у мышей, леченных Ируксолом (контрольная группа № 1), Биосептином (опытная группа № 2) и меланинсодержащими мазями (опытные группы №№ 3-4). По оси ординат отложены различия между исходными площадями ран принятые за 100% и ПУП усредненных по группам для соответствующих сроков наблюдения).



### Список литературы:

1. Л.С. Сандахчиев, Е.А. Ставский, В.В. Зиновьев, В.П. Назаров, И.В. Ренау, Т.Н. Сатрихина, Л.Р. Каткова, Л.А. Криницин, Н.А. Маркович, Л.В. Колесникова, О.С. Таранов, В.В. Омигов, Л.Г. Овечкина, Э.Г. Малыгин. Оценка воздействия мази, содержащей коллагеназу камчатского краба, на инфицированную рану в эксперименте. //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1997, Том 124, N 10, с. 421 – 424.
2. Смирнов В. В., Резник С. Р., Сорокулова И. Б., Вьюницкая В. А., Афонская С. В., Голота В. Я, Афиногенова Е. Н., Голота Л. Г., Иванюта С. О., Грохольский В. А. Способ лечения гнойно-септических послеродовых заболеваний. Государственный Комитет по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР. Бюл. № 20 от 30.05.88 – Авторское свидетельство № 1398868 (А 1), от 03.06.85.
3. Л.С. Сандахчиев, Е.А. Ставский, В.В. Зиновьев, Н.А. Маркович, Е.И. Рябчикова, Э.Г. Малыгин, Ю.Н. Мистюрин, Е.Д. Даниленко, Т.В. Воевода, Л.К. Федосова, В.И. Масычева. Средство для лечения гнойно-некротических ран и ожогов «Коллагель». Патент РФ N 2139044. Приоритет от 16.12.97 г. Выдан 10.10.99 г.
- 4.Краснолуцкая В.Н., Сесорова Д.В. Современные подходы к лечению гнойных ран // Медицина. 2017. № 5 (2). С. 10–12.
5. Л.С. Сандахчиев, Е.А. Ставский, В.В. Зиновьев, В.П. Назаров, И.В. Ренау, Т.Н. Сатрихина, Л.Р. Каткова, Л.А. Криницин, Л.В. Колесникова, О.С. Таранов, В.В. Омигов, Л.Г. Овечкина, Н.А. Маркович, Э.Г. Малыгин, Е.Д. Даниленко, Т.В. Воевода, Л.К. Федосова, Л.Ю. Сизова, В.И. Масычева. Экспериментальное изучение лечебных свойств и токсичности мази, содержащей коллагеназу камчатского краба. // Вестник РАМН.1998, N 4, с. 50 – 55.
6. Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Жилыева Л.В. Новые способы местного медикаментозного лечения гнойных ран // Исследования и практика в медицине. 2020; 7(2): 56-63.
7. Зотов Д.С., Панкрушева Т.А., Жилыева Л.В. и др. Сравнительная оценка применения иммобилизованной формы гексэтидина, фотодитазина и их комбинации в лечении гнойных ран // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2021. № 4(80). С. 149–154.
- 8.Радаева И. Ф., Костина Г. А. Гиалуроновая кислота: очистка, свойства, применение // Биотехнология.-1996.- № 5.- С.44 – 47.
9. Гончар А.М., Коган А.С., Салганик Р.И. Раневой процесс и иммобилизованные протеолитические ферменты. Новосибирск, 1986, 115 с.
10. Ставский Е. А., Теплякова Т. В., Андреева И. С., Ермаченко М. А., Ставская А. А. Экспериментальная оценка биологических свойств меланинов из гриба чаги // Международный научный журнал "Вектор научной мысли" №4(4) Ноябрь 2023 Сайт: [www.vektornm.ru](http://www.vektornm.ru)
11. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. М.: Видаль Рус, 2019, 1200 с.
12. Лечебно-профилактический препарат Биосептин. - РОСПАТЕНТ. - Свидетельство на полезную модель №46935 (7 А61К9/06). Приоритет от 2004.08.30. Дата публикации: 2005.08.10.
13. Ставский Е.А., Теплякова Т. В. Ранозаживляющая мазь для наружного применения. Патент России № 2787233/13, 30.12.2022. Бюл. № 1
14. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран. – Москва.: МЗ СССР, Фармакологический комитет. -1989, 46 с.
15. Савченко Ю.П., Федосова С.Р. Методы определения раневой поверхности. Вестник хирургии. 2007.-Т.-166.-№1.-с.102-105.

