

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

Яшина Таисия Александровна,
студентка, НГМУ, Новосибирск

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЛЕЧЕБНЫХ СВОЙСТВ МАЗИ НА ОСНОВЕ
МЕЛАНИНА ИЗ ПРИРОДНОГО СЫРЬЯ ЧАГИ *INONOTUS OBLIQUUS* И МАЗЬЮ
НА ОСНОВЕ ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ГРИБА ВЕШЕНКИ ПРОСТОЙ
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE ACTION OF MELANIN-BASED
OINTMENT FROM NATURAL RAW MATERIALS OF CHAGA *INONOTUS OBLIQUUS*
AND OINTMENT BASED ON POLYSACCHARIDES FROM OYSTER MUSHROOM**

Аннотация: в работе приведены результаты сравнительной оценки лечебных свойств мазей на основе меланина из природного сырья чаги *Inonotus obliquus* и мази на основе полисахаридов из гриба вешенки простой на экспериментальных животных. Показано, что мазь на основе комплекса полисахаридов, обеспечила на 7-9 суток более раннее заживление резаных кожных ран, в сравнении с мазью Левомикон-ТФФ и мазью, содержащей 0,05 г меланина на 25 г мази.

Abstract: the paper presents the results of a comparative assessment of the therapeutic properties of melanin-based ointments from natural raw materials of *Inonotus obliquus* chaga and ointments based on polysaccharides from oyster mushroom on experimental animals. It was shown that an ointment based on a complex of polysaccharides provided 7-9 days earlier healing of incised skin wounds, in comparison with Levomikon-TFF ointment and an ointment containing 0.05 g of melanin per 25 g of ointment.

Ключевые слова: грибы, мазь, меланин, полисахарид, кожная резаная рана.

Keywords: mushrooms, ointment, melanin, polysaccharide, cutaneous wound.

В последние годы в связи с приобретением устойчивости к антибиотикам гноеродной микробиоты научное сообщество вынуждено искать новые способы лечения гнойных ран, а также перспективные источники получения лекарственных средств [1-5]. В качестве возможных источников рассматриваются высшие базидиальные грибы, а также их производные [6-10]. Среди указанных грибов, например, вешенка обыкновенная *Pleurotus ostreatus* и чага *Inonotus obliquus*, обладающие большим набором биологически активных компонентов с широким спектром полезных свойств (антибактериальными, противовирусными, иммуномодулирующими и др.) [6-9,11,12] могут оказаться перспективными источниками получения новых лекарственных средств.

Целью исследования являлась экспериментальная сравнительная оценка ранозаживляющей активности мази, основанной на меланинах из природного сырья чаги *Inonotus obliquus* и мази, полученной из полисахаридов гриба вешенки *Pleurotus ostreatus*.



Меланины из природного сырья гриба *Inonotus obliquus* получали методом щелочного гидролиза [13]. В готовом виде водорастворимая форма меланина представляет собой черные кристаллы с ярким мерцающим блеском [13].

Для выделения суммарных полисахаридов измельченную с помощью гомогенизатора биомассу гриба в воде (объемное соотношение – сырая биомасса: дистиллированная вода – 1:5) прогревали на кипящей водяной бане в течение 12 часов. Выделившиеся в раствор полисахариды осаждали с помощью 96 % этилового спирта (соотношение водный экстракт: этиловый спирт – 1:1) в течение 18 часов при температуре 6 ± 2 °С, отделяли центрифугированием в течение 20 мин, высушивали [7]. Суммарные полисахариды, полученные из плодовых тел вешенки обыкновенной при дневном освещении на белом листе бумаги, представляли собой серо-коричневые частицы, после перетирания в фарфоровой ступке, светло-серый мелкокристаллический порошок.

Для получения 25,0 г меланинсодержащей мази использовали 50 мг измельченного порошка меланина, растворяли в 2,5 мл физиологического раствора, смешивали раствор с 2,5 г ланолина (в качестве эмульгатора), добавляли 20,0 г вазелина при постоянном растирании смеси в ступке и температуре 50-60° С до достижения её однородности, а затем расфасовывали. Для получения 25,0 г полисахаридсодержащих мазей 0,5 г суммарных полисахаридов гриба вешенки, соответственно, растирали до мельчайшего порошка в фарфоровой ступке, затем растворяли в 2,5 мл физиологического раствора, добавляли в качестве эмульгатора 2,5 г ланолина, затем 20,0 г вазелина продолжая при этом растирание смеси в ступке при 50-60°С до получения гомогенной мази, а затем расфасовывали. Полученные мази указанных выше прописей представляли собой, в первом случае, темно-коричневые, во втором случае гомогенные светло-коричневого или бежевого цвета смеси, аналогичные по своей консистенции мазевым лекарственным формам [14].

Ранозаживляющую эффективность мазей оценивали на трех группах (по 20 мышей в каждой) здоровых неинбредных мышах с массой тела 19-20 г. колонии ICR обоего пола питомника ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Животных распределяли по группам: группа №1 - контрольная, леченная мазью сравнения (мазь Левомикон-ТФФ) [15]; группа №2 - опытная, леченная мазью на основе меланина из природного сырья чаги *Inonotus obliquus*; Группа №3- опытная, леченная мазью на основе полисахаридного комплекса из гриба вешенки обыкновенной. После премедикации хлороформом мышам наносили на спину плоскую резаную рану без соблюдения норм асептики. Экспериментальных животных групп №№ 1-3 лечили ежедневно путем нанесения на раны шпателем мазей. Группе №1 наносили 0,2 грамма мази Левомикон – ТФФ. Группе №2 наносили 0,2 г мази, содержащей 0,4 мг меланинов из природного сырья чаги, а группе №3 – 0,2 г мази, содержащей 4,0 мг полисахаридного комплекса гриба вешенки. Мышей всех групп лечили до момента заживления у них нанесенных резаных ран. Через каждые трое суток оценивали изменение у них массы тела (табл.1). Ежедневно у мышей во всех группах оценивали площади ран (табл. 2), двигательную активность, аппетит, динамику и характер заживления ран [2,3,16,17]. Гистоморфологическое изучение резаной кожной раны у экспериментальных животных (см. рис.) проводили с интервалом в три дня. Для получения тканевых образцов животных согласно сроку наблюдения, выводили из опыта эвтаназией методом цервикальной дислокации под эфирным наркозом. Тканевые образцы, иссеченные из раны, исследовали на 3, 6, 9 и 12 дни лечения кожной резаной раны. Образцы для световой микроскопии готовили и окрашивали согласно методам [18]. Просмотр препаратов и микрофотосъемку проводили на световом микроскопе Jenaval (фирмы CarlZeiss, Jena, Германия). Все данные обрабатывались статистически с помощью программ Microsoft Excel и Statistica.

Полученные в ходе исследований результаты представлены в таблице и на рисунке.

В ходе работы установили, что составные компоненты мазевых основ меланинсодержащих и полисахаридсодержащих мазей, а также меланин, полученный из природного сырья гриба чаги и суммарный полисахарид гриба вешенки, не обладают токсическими свойствами для мышей. Общий прирост массы тела мышей от исходной за



весь период наблюдения для группы № 1 составил (11,1±0,94) г; для группы № 2 – (14,6±0,93) г; для группы № 3 – (12,3±0,98) г. Мазь на основе природного меланина в концентрации 0,05 г на 25 г мази, по своей ранозаживляющей эффективности, не уступает контрольной мази сравнения – Левомикон-ТФФ. Мазь, содержащая полисахариды, продемонстрировала лучшую эффективность ранозаживления, по сравнению с мазями, указанными выше, обеспечив на 7-9 суток более раннее полное рубцевание раны. При гистоморфологическом изучении у животных, леченных.

Таблица

Динамика показателей прироста массы тела (г) и изменения площади раны (см²) у мышей

№ группы	Сроки наблюдения, сутки						
	3	6	9	12	15	18	21
Группа 1	2,6 ± 0,08	2,7 ± 0,15	0,6 ± 0,11	1,4 ± 0,15	1,3 ± 0,13	1,5 ± 0,17	1,0 ± 0,15
	1,32 ± 0,12	1,22 ± 0,14	0,94 ± 0,14	0,23 ± 0,16	0,17 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,03 ± 0,00
Группа 2	1,2 ± 0,10	3,2 ± 0,14	3,3 ± 0,11	3,3 ± 0,13	1,1 ± 0,15	0,9 ± 0,12	1,6 ± 0,18
	1,49 ± 0,22	1,46 ± 0,12	0,64 ± 0,08	0,19 ± 0,04	0,19 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,01 ± 0,00
Группа 3	2,3 ± 0,10	2,5 ± 0,10	0,7 ± 0,11	1,7 ± 0,19	1,6 ± 0,15	1,5 ± 0,11	2,0 ± 0,22
	1,12 ± 0,10	0,83 ± 0,09	0,40 ± 0,07	0,03 ± 0,01 *	0 *	0 *	0 *

Примечание: в таблице представлены средние показатели прироста массы тела у мышей с их доверительными интервалами для вероятности 95% ($\bar{X} \pm P_{0,05}$; числитель) и средние показатели динамики площади ран у мышей с их доверительными интервалами для вероятности 95% ($\bar{X} \pm P_{0,05}$; знаменатель). \bar{X} – среднее арифметическое; $P_{0,05}$ – доверительный интервал для вероятности 95%; * - достоверные различия от аналогичных показателей для животных группы № 1-2.

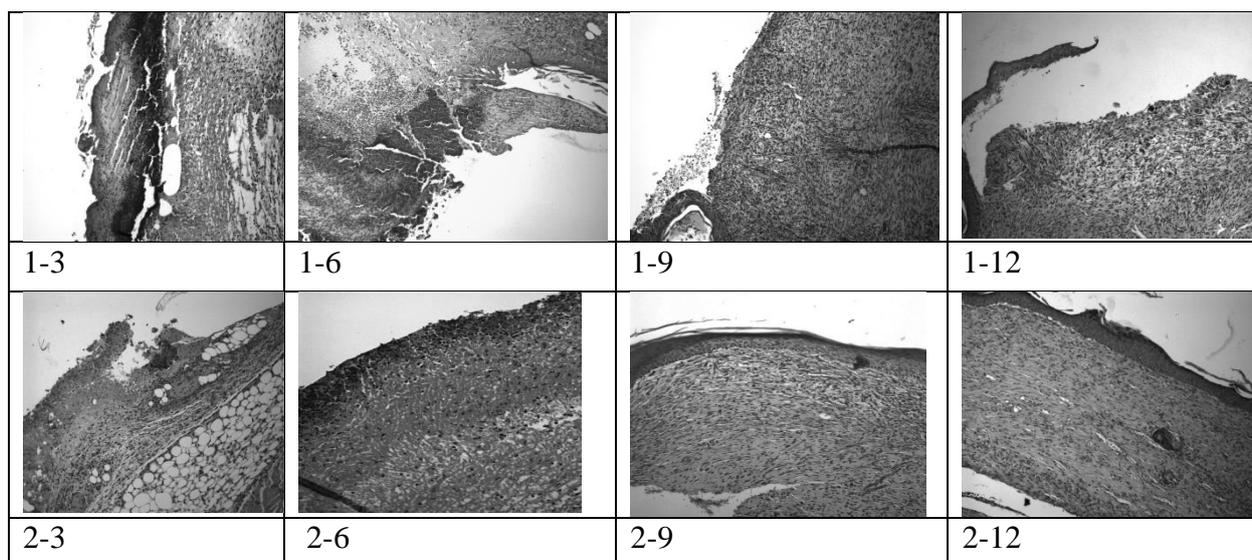


Рисунок. Гистоморфологическая характеристика срезов кожи в области раневого дефекта у экспериментальных животных на 3, 6, 9 и 12 сутки лечения: 1-3; 1-6; 1-9; 1-12 - динамика регенерации раны у мышей 1-й и 2-й групп; 2-3; 2-6; 2-9; 2-12- животных, леченных мазью, содержащей полисахариды. Окраска гематоксилином и эозином. Увел. 250.

Мазью на основе суммарных полисахаридов, установлено полное замещение дефекта кожи многослойным плоским эпителием уже на 12 сутки. При этом в дерме выявлен склероз с воспалительной инфильтрацией из макрофагов и лимфоцитов, придатки кожи отсутствовали. Подобный результат был достигнут у животных, леченных меланиносодержащей мазью и контрольной мазью сравнения только на 21 сутки.



Выводы.

1. Компоненты мазевых основ прописей меланин и полисахаридсодержащих мазей, а также собственно её лечебные составляющие – меланин из природного сырья гриба чаги и комплекс суммарных полисахаридов из гриба вешенки *Pleurotus ostreatus* не обладают токсичностью для экспериментальных животных.

2. Мазь, содержащая полисахаридный комплекс грибов *Pleurotus ostreatus*, обеспечивала на 7-9 суток более раннее заживление ран у экспериментальных животных по сравнению с мышами, леченных комбинированным противомикробным контрольным препаратом сравнения Левомикон – ТФФ и мазью содержащей 0,05 г меланина на 25 г мази. Полисахаридсодержащая мазь из высших базидиальных грибов может рассматриваться в качестве перспективной для местного лечения ран.

Список литературы:

1. Павлов А.А., Маскин С.С., Иголкин Л.А. Криовоздействие в лечении гнойных заболеваний кожи и подкожной клетчатки // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. 2018. № 1. С. 3–9.

2. Григорьян А.Ю., Бежин А.И., Панкрушева Т.А., Жилиева Л.В. Новые способы местного медикаментозного лечения гнойных ран // Исследования и практика в медицине. 2020; 7(2): 56-63.

3. Гончар А.М., Коган А.С., Салганик Р.И. Раневой процесс и иммобилизованные протеолитические ферменты. Новосибирск, 1986, 115 с.

4. Зотов Д.С., Панкрушева Т.А., Жилиева 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.

5. Краснолуцкая В.Н., Сесорова Д.В. Современные подходы к лечению гнойных ран // Медицина. 2017. № 5 (2). С. 10–12.

6. Теплякова Т.В., Косогова Т.А. Высшие грибы Западной Сибири - перспективные объекты для биотехнологии лекарственных препаратов. Новосибирск, 2014. – 298 с.

7. Косогова Т.А. /Штаммы базидиальных грибов юга Западной Сибири – перспективные продуценты биологически активных препаратов. Дисс. канд. биол. наук, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Кольцово, 2013.

8. Brugnari T. Effects of cooking and In Vitro digestion on antioxidant properties and cytotoxicity of the culinary-medicinal mushroom *Pleurotus ostreatus* (agaricomycetes)/T. Brugnari[et al.] // International Journal of Medicinal Mushrooms. – 2018. – Vol. 20, N 3. – Pp. 259 - 270.

9. Bindhi, J. Antimicrobial, antioxidant and anticancer activity of the ethanol extract of *Pleurotus ostreatus*/J.Bindhi [at al]//Jornal of nature remains.-2020.-Vol.20. - № 2. - P.110-115.

10. Сакович В.В., Жерносеков Д.Д. Базидиомицеты как источники биологически активных веществ // Вестник Полесского государственного университета. - 2018. - №1. - С. 3-13.

11.Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Иконникова Н.В. Меланиновый комплекс гриба *Inonotus obliquus* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2000. – Т. 36, №4. – С. 439-444.

12. Сушинская Н.В., Курченко В.П., Горовой Л.Ф., Сенюк О.Ф. Получение и использование в медицине меланинов из трутовых грибов // Успехи медицинской микологии. – 2005. – Т. 6. – С. 255-259.

13.Теплякова Т.В. и др. Противовирусное средство на основе меланина // Патент России No2011127305/15, 2011. Бюл. No12.

14. Ставский Е.А., Теплякова Т. В. Ранозаживляющая мазь для наружного применения // Патент России № 2787233/13, 2022.

15. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник. М.: Видаль Рус, 2019, 1200 с.



16. Пугач О.А., Цветкова В.А., Барашкин В.С., Ставский Е.А., Лебедев Л.Р., Теплякова Т.В. Оценка свойств меланина из чаги *in vivo* // Современные проблемы фитотерапии и травничества: Материалы 5-го Международного съезда фитотерапевтов и травников (Москва, 19-20 января 2019 г.) / под научной редакцией д.м.н., акад. РАЕН, проф. Корсуна В.Ф. – М.: Русские, 2019. - С. 330-334.
17. Савченко Ю.П., Федосова С.Р. Методы определения раневой поверхности. Вестник хирургии. 2007.-Т.-166.-№1.-с.102-105.
18. Саркисов Д.С., Перов Ю.Л. / Микроскопическая техника: руководство для врачей и лаборантов. - М.: Медицина, 1996. 543 с.

