

УДК 615.454.12+616-001.41

**ИССЛЕДОВАНИЕ РЕПАРАТИВНЫХ СВОЙСТВ ФИТОГЕЛЯ,  
СОДЕРЖАЩЕГО ЭКСТРАКТЫ ЧАБРЕЦА И СОЛОДКИ****<sup>1</sup>Володина Т.А., <sup>1</sup>Пеньевская Н.А., <sup>2</sup>Викторов С.И., <sup>1</sup>Огай М.А., <sup>3</sup>Майорова А.В.**<sup>1</sup>*ГБОУ ВПО Омская государственная медицинская академия, Омск;*<sup>2</sup>*МУЗ «Городская больница №3», Омск;*<sup>3</sup>*РУДН, Москва, e-mail: gnom.tv@mail.ru*

В статье приведены результаты изучения биологической активности фитогеля оригинального состава. В качестве биологических объектов эксперимента использовали культуру клеток *Parametium caudatum* и белых крыс линии Вистар. Для исследования были сконструированы пять композиций, которые отличались долевыми соотношениями каждого из компонентов. В тестах на культуре клеток *Parametium caudatum* по антиоксидантной и мембраностабилизирующей активности из пяти экспериментальных композиций выбрана оптимальная. Проведенные фармакологические и гистоморфологические исследования с использованием модели линейной кожной раны на самцах крыс линии Вистар показали, что фитогель обладает выраженными репаративными свойствами, способствующими более быстрому заживлению линейной раны, формированию и созреванию рубца, чем в контроле.

**Ключевые слова:** репарация, фитогель**STUDY OF REPARATIVE PROPERTIES OF PHYTOGEL CONTAINING EXTRACTS  
OF THYME, GLYCYRRHIZA****<sup>1</sup>Volodina T.A., <sup>1</sup>Penevskaya N.A., <sup>2</sup>Viktorov S.I., <sup>1</sup>Ogay M.A., <sup>3</sup>Majorova A.V.**<sup>1</sup>*Omsk State Medical Academy, Omsk;*<sup>2</sup>*«City Hospital № 3», Omsk;*<sup>3</sup>*RUFN, Moscow, e-mail: gnom.tv@mail.ru*

Results of studying of biological activity of phytogel of original composition are given in article. As biological objects using a cell culture experiment *Parametium caudatum* and white Wistar rats. For the study we constructed five compositions that were different equity ratios of each component. In tests on culture of *Parametium caudatum* on antioxidant and membrane stabilizing activity the optimum is chosen from five experimental compositions. Past pharmacological and hystomorphological researches with use of model of a linear skin wound on males of rats of the line Vistar showed that phytogel possesses the expressed reparation properties promoting faster healing of a linear wound, to formation and hem maturing, than in control.

**Keywords:** reparation, phytogel

Несмотря на обилие имеющихся на фармацевтическом рынке лекарственных средств для местного лечения раневых и воспалительных процессов, приходится констатировать, что желаемая степень терапевтического эффекта до сих пор не достигнута [1, 4, 5]. В последнее десятилетие отмечается возрастающий интерес к средствам растительного происхождения, что объясняется наличием широкого спектра фармакологического действия, мягко и гармонично воздействующего на все системы организма при минимальном количестве побочных эффектов в условиях длительного применения, а также экономичностью.

Рациональное лечение ран – одна из наиболее острых и сложных проблем современной медицинской практики. На сегодняшний день ни один из методов лечения ран с использованием лекарственных средств не является универсальным, надежным, в полной мере удовлетворяющим клиницистов. Этиология и патогенез раневого процесса делают необходимым дифференцировать подход к созданию лекарственных форм для местного лечения раневой патологии [3,5].

**Цель:** изучить биологическую активность фитогеля оригинального состава.**Материалы и методы исследования**

На первом этапе исследования были сконструированы 5 композиций из густых экстрактов чабреца, каштана, солодки, крапивы, масляного экстракта зверобоя и дигидрокверцетина. Композиции отличались долевыми соотношениями каждого из компонентов.

В качестве биологических объектов использовали культуру клеток *Parametium caudatum* и белых крыс линии Вистар. *Parametium caudatum* легко культивировать и при исследовании ее роста и размножения возможно быстро получить большой объем цифровой информации [2, 4]. Для культивирования парамеций использовали среду Лозина-Лозинского при pH водной среды 6,2–7,8 и температурном оптимуме 20–26°C. Пищей для парамеций служили живые дрожжи – *Rhodotorula gracilis* с добавлением пшеничной муки. Для определения чувствительности парамеций на предметное стекло наносили две капли среды (число парамеций в каждой капле не менее 5 особей), одна капля служила контролем, во второй тангенциально наносили каплю соответствующего объема 0,9% раствора натрия хлорида. При этом парамеции считаются чувствительными в случае ускорения движения не более 4 особей из 5 по результатам 5 измерений. Двигательная активность парамеций во многом формируется на основе работы

ионных каналов, встроенных в мембрану ресничек, и является характеристикой, отражающей функциональное состояние клетки [2]. При этом *Paramecium caudatum* функционирует в направлении сохранения мембранного потенциала. В результате снижения мембранного потенциала клетки двигаются медленнее или вращаются на месте вокруг одного конца. Для оценки чувствительности по параметру – замедление движений – использовали 0,5%-й раствор калия хлорида и проводили опыты по аналогичной методике. При этом парамеции считаются чувствительными в случае замедления движения не менее 4 особей из 5 по сравнению с контролем. Для изучения протективного (антиоксидантного и мембраностабилизирующего) действия исследуемых композиций оценивали их влияние на продолжительность периода активности инфузорий в среде с добавлением токсических веществ: 1%-й раствор водорода пероксида (токсикант, который *in vivo* расщепляется до перекисных радикалов и повреждает преимущественно липидную часть мембраны) и 14%-й этиловый спирт (токсикант, преимущественно повреждающий белковые структуры биомембраны). Под микроскопом оценивали состояние парамеций по следующим критериям: индифферентность – клетки совершают равномерные броуновские движения; биоактивность – движения клеток изменены: биоцидность-50 – погибло около 50% клеток, биоцидность-100 – гибель 100% клеток. Для подсчета числа инфузорий использовали гемцитометрический способ (камера Горяева).

Самцов крыс линии Вистар массой 180–200 г содержали в стандартных условиях по 3–4 особи в клетке с контролируемыми режимами температуры (24°C) и освещения (в течение 12 ч), со свободным доступом к воде и пище. Все животные перед экспериментом проходили карантинный период продолжительностью 21 день. При проведении эксперимента на животных были соблюдены все этические правила и нормы по отношению к ним.

Раневой процесс воспроизводили на модели линейной кожной раны, которую наносили под ком-

бинированным наркозом – ксилазина гидрохлорид (3 мг/кг), эфир диэтиловый. Кожу спины разрезали до собственной фасции. Длина разреза составила в среднем 25 мм. Затем на равном расстоянии от краев раны накладывали 1 шов, сближающий края раны. Для удобства последующего измерения размеров ран швы накладывались с таким расчетом, чтобы эпителий боковых краев раны не соприкасался, и в этом случае эпителизация происходила от конечных краев раны. Оценку ранозаживляющего действия проводили по характеру клинического течения (наличия нагноения, времени полного отторжения струпа, времени и динамике полного срастания краев раны) на 4, 8, 12, 16, 20 дни наблюдения. В исследовании использовали фитогель оригинального состава на основе чабреца, который наносили на рану 1 раз в день ежедневно в течение 20 дней.

Материал для гистологического исследования брали на 25 сутки после нанесения линейной раны. Образцы кожи брали таким образом, чтобы в поле зрения попадал, как участок поврежденной кожи, так и соседний неповрежденный участок. Эти участки рассматривались как интактные для сравнения с поврежденными.

Полнослойный фрагмент кожи иссекали в области раны, фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина и затем заливали в парафин по стандартной методике. Срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилин-эозином, а также пикрофуксином по Ван Гизону для выявления коллагеновых волокон.

### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты изучения биологической активности пяти экспериментальных фитоконпозиций в остром (продолжительность сохранения двигательной активности парамеций после добавления клеточных ядов) и хроническом (темп роста парамеций) опытах представлены в табл. 1.

**Таблица 1**  
Экспресс-оценка биологической активности экспериментальных фитоконпозиций в остром и хроническом опытах

Объект исследования	Количество парамеций в 0,05 мл через 3 суток (при исходном 4–5 в 0,05мл)	Размер парамеций (мкм)	Характер движения (биологическая активность)	Время остановки парамеций в 14% этаноле, мин	Время остановки парамеций в 1%-м р-ре H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , мин
Композиция №1	> 100	148 ± 11	-*	13,3 ± 0,4	3,4 ± 0,1
Композиция №2	> 100	142 ± 9	-*	14,1 ± 0,1	5,2 ± 0,2
Композиция №3	> 100	147 ± 9	-*	15,3 ± 0,5	5,8 ± 0,3
Композиция №4	> 200	151 ± 16	-*	17,8 ± 0,7	7,1 ± 0,5
Композиция №5	> 100	146 ± 11	-*	15,9 ± 0,4	4,6 ± 0,2
Контроль	40–50	145 ± 11	-*	8,9 ± 0,3	2,4 ± 0,1

**Примечание.** \* – отсутствие биологической активности, инфузории совершают хаотичные броуновские движения.

Клетки парамеций в опытных группах (культуральная среда: очищенная вода с добавлением испытуемой комбинации) по размеру и форме не отличались от клеток

контрольной группы (культуральная среда: очищенная вода). Кроме того, инфузории в среде, содержащей четвертую фитоконпозицию, отличались значительно более

высокой подвижностью, чем в контроле. Результаты хронического опыта свидетельствуют, что экспериментальные композиции являются экологически благоприятными для выбранной биологической модели. Также установлено, что фитокомпозиции существенно и статистически значимо ( $p < 0,05$ ) удлиняли период сохранения двигательной активности инфузорий от момента добавления токсиканта до их остановки.

Таким образом, предварительный скрининг на *Paramecium caudatum* показал что, наиболее благоприятной для используемой биологической модели оказалась композиция №4, под воздействием которой заметно повышалась двигательная активность и частота деления клеток парамеций, в результате чего к третьим суткам их количе-

ство превосходило контроль в 5 раз. Кроме того, композиция № 4 оказывала максимальные мембраностабилизирующий и антиоксидантный эффекты, что проявлялось в статистически значимом удлинении времени остановки движения парамеций под воздействием спирта этилового (в 2 раза) и перекиси водорода (в 3 раза).

В дальнейшем экспериментальная композиция № 4 была использована для создания фитогеля, репаративные свойства которого были изучены на модели линейной кожной раны у крыс (табл. 2). Все животные были разделены на три группы: контрольная группа (без лечения), опытная группа (лечение фитогелем) и группа сравнения (лечение мазью «левомеколь»).

Таблица 2

Влияние разработанного фитогеля на время заживления линейной кожной раны

Исследуемый объект	Средний линейный размер раны, мм					
	исходный	на 4 день	на 8 день	на 12 день	на 16 день	на 20 день
Контрольная группа ( $n = 7$ )	26,6 ± 1,3	22,9 ± 0,6	17,8 ± 1,7	5,3 ± 0,5	3,1 ± 0,6	1,3 ± 0,7
Группа сравнения ( $n = 7$ )	28,0 ± 1,0	22,0 ± 1,1	17,6 ± 1,1	4,3 ± 0,7	2,7 ± 0,5	0
Опытная группа ( $n = 7$ )	25,1 ± 1,4	19,8 ± 1,4	15,2 ± 1,1	2,7 ± 0,5	1,4 ± 0,5	0

Визуальные наблюдения показали, что заживление линейной раны было более интенсивным в группе животных, подвергавшихся лечению фитогелем. Уже на 12 послеоперационные сутки происходило значительное уменьшение раневой поверхности и отечности у опытных животных, по сравнению с контрольной группой, не подвергавшейся никакому воздействию. Средний размер линейной раны в опытной группе статистически значимо ( $p < 0,05$ ) был почти в 2 раза меньше, чем в контроле. В группе сравнения, как и в контроле, наблюдали уменьшение размера линейной раны, однако при данном количестве животных различия статистически незначимы (4,3мм и 5,3 мм). Как известно, 15–20 сутки соответствуют третьей фазе заживления ран – фазе формирования рубца и его эпителизации. По нашим наблюдениям, на 20 сутки в опытной группе и группе сравнения животных раны были очищены от струпа, рубец полностью эпителизован и покрыт волосным покровом в отличие от контроля, где и на 22 сутки еще сохранялся струп. В контрольной группе полное заживление ран наблюдалось к 24 суткам.

На 25 день были взяты образцы для гистологического исследования. Результаты гистоморфологического исследования представлены на рис. 1–4. Макроскопически к 25 дню отмечалось полное заживление ран во всех группах. Поверхности линейных ран очищены от струпа. Кожные рубцы на дан-

ный день после операции были различимы с трудом, особенно в опытной группе.

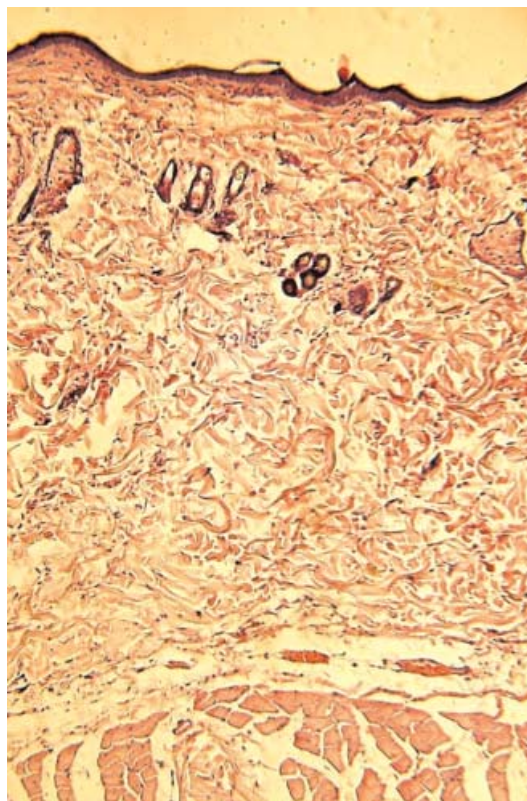
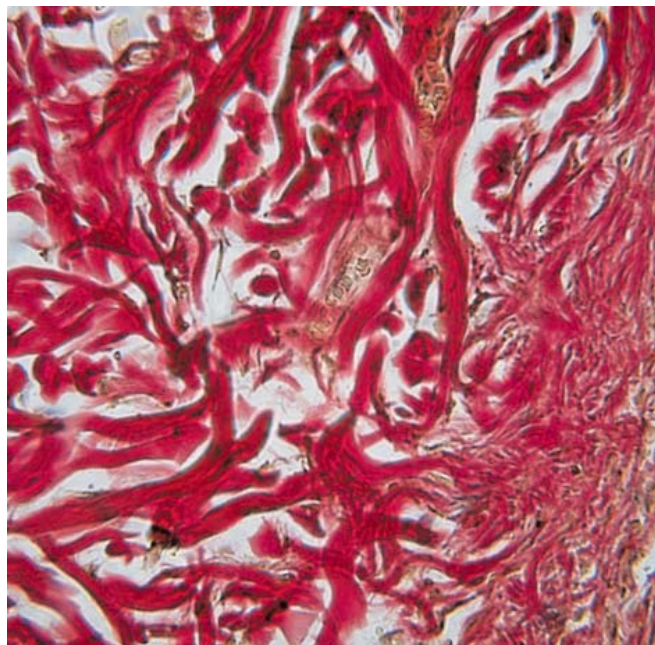


Рис. 1. Срез кожи крыс до повреждения (окраска гематоксилин-эозином, увеличение ×400)



На рис. 2 представлена окраска среза кожи крысы контрольной группы (без лечения) по Ван Гизону. В интактной зоне коллагеновые волокна отличаются значительной толщиной и расположены рыхло. В области заживления линейной раны наблюдается формирование грануляционной ткани,

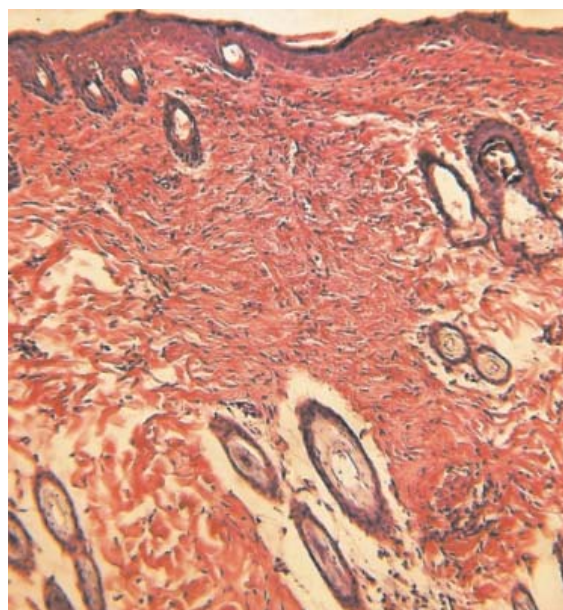
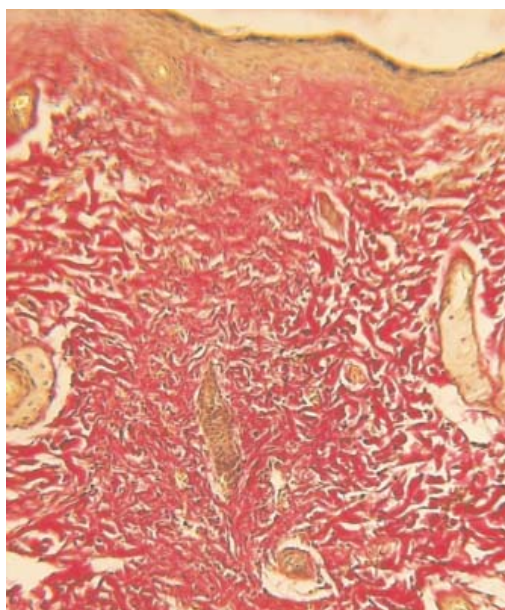
в которой коллагеновые волокна заметно тоньше, достаточно плотно прилегают друг к другу, менее интенсивно окрашены. Сохраняется большое количество капиллярных сосудов, в которых содержатся эритроциты. Наличие сосудов свидетельствует о незрелости образовавшегося рубца.



*Рис. 2. Срез кожи крысы контрольной группы (без лечения), окраска по Ван Гизону (увеличение  $\times 800$ ), фрагмент рубца (справа)*

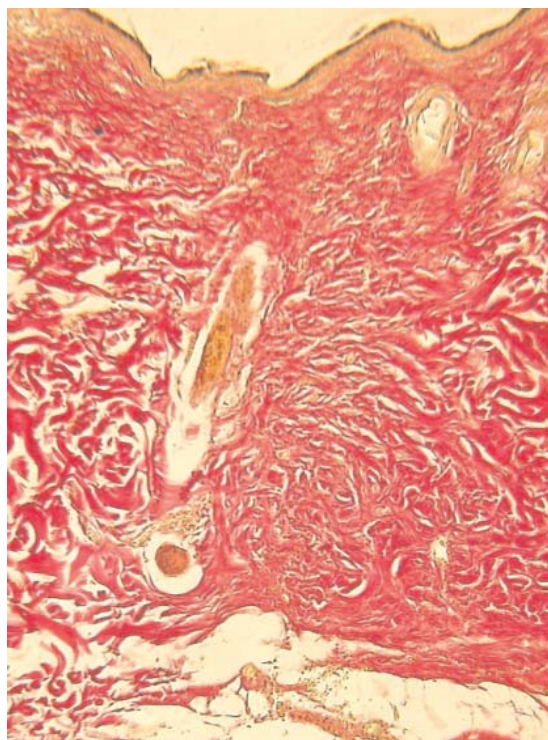
Микроскопически к 25 дню в опытной группе имела место полная эпителизация раневой поверхности (рис. 3). В контроле (рис. 4) микроскопически видны легкая борозда и незавершенная регенерация эпите-

лия в зоне консолидации краев раны. В контрольной группе, в отличие от опытной, под эпителием и в структуре рубца отмечались очагово-диффузные воспалительные инфильтраты.



*Рис. 3. Фитогель, окраска по Ван Гизону и гематоксилин-эозином*

Площадь зоны рубца и количество сосудов капиллярного типа в ней в срезах кожи животных контрольной группы (рис. 4) были значительно больше, чем у животных опытной группы (рис. 3). Отмечены различия в глубине проникновения рубцовой ткани.



В опытной группе (несмотря на одинаковую глубину нанесения раны) к 25 дню рубец заканчивался на уровне волосяных фолликулов, тогда как в контроле грануляционная ткань распространялась глубоко в дерму до границы с подкожно-жировой клетчаткой.

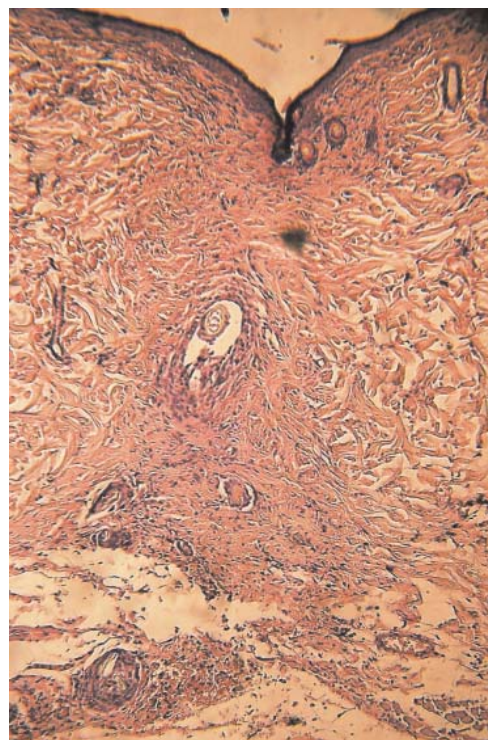


Рис. 4. Контрольная группа (без лечения), окраска по Ван Гизону и гематоксилин-эозином

В контроле на границе рубца с неповрежденной тканью сохранялась сосудистая зона грануляционной ткани, что свидетельствует о незавершенности формирования рубца. Кроме того, на границе проникновения рубца в дерму имела место зона воспаления (васкулиты). Количество клеточных элементов преобладает над волокнистыми. В опытной группе признаков воспаления нет, отмечается запустевание сосудов, в структуре рубцовой ткани отмечается преобладание волокнистых элементов над клеточными, что говорит о завершении созревания рубца.

Число структурных образований, характерных для нормальной кожи (волосяных фолликулов и сальных желез), было заметно больше в опытной группе по сравнению с контрольной.

#### Выводы

1. Наиболее благоприятной в экологическом отношении для *Parametium caudatum* оказалась фитокомпозиция № 4, которая

оказывала максимальные мембраностабилизирующий и антиоксидантный эффекты.

2. Фитогель оригинального состава на основе композиции № 4 обладает репаративными свойствами, не уступающими препарату сравнения.

3. Воздействие фитогеля приводило к изменению динамики морфологических характеристик процесса регенерации кожных ран. Согласно макроскопическим и гистологическим критериям зрелости рубца (степень эпителизации, соотношения клеточных и волокнистых элементов соединительной ткани, степень выраженности и инволюции сосудистого компонента грануляционной ткани и др.), фитогель способствует более быстрому заживлению линейной раны (регенерации кожи), формированию и созреванию рубца.

#### Список литературы

1. Алексеева И.В. Разработка лекарственных форм для лечения ран / И.В. Алексеева // Фармация. – 2003. – № 2. – С. 43–46.



2. Воспроизведение потомства парameций и млекопитающих при различных величинах окислительно-восстановительного потенциала среды/ Е.Б. Сабитова, К.М. Резников, А.Д. Брездынюк// Научные Ведомости БелГУ. Серия Медицина. Фармация. – 2012. – №4(123). – Вып.17/1. – С. 219–222.

3. Исследования по разработке состава мази для лечения раневого процесса / Т.Е. Рюмина, И.В. Алексеева, В.И. Панцуркин, Л.Н. Шмакова // Санкт-Петербургский научный Форум. – 2003: материалы III Междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых. – СПб., 2003. – Т. 2. – С. 46–47.

4. Кудрин, А.Н. Система экспресс-методов интегральной оценки биологической активности индивидуальных и комплексных препаратов на биологических объектах / А.Н. Кудрин, В.В. Ананин, В.Ю. Балабян // Рос. Хим. журн. – 1997. – Т. 41. – № 5. – С. 114–123.

5. Опыт применения нового препарата при лечении раневого процесса / С.Х. Кичемасов, Е.К. Гуманенко, В.В. Воробьев, И.В. Алексеева и др. // Новые технологии в диагностике и лечении хирургической инфекции на основе доказательной медицины: материалы VI Всерос. конф. с междунар. участием «Раны и раневая инфекция». – М., 2003. – С. 55–57.

### References

1. Alekseeva I.V. Razrabotka lekarstvennich form dlya lecheniya ran / I.V. Alekseeva// Pharmaciya. 2003. no. 2. pp. 43–46.

2. Vosproizvedenie potomstva paramecii I mlecopitayushich pri raxlichnich velichinach okiskitelno-vosstanovitel'nogo

potenciala sredi/ E.B. Sabitova, K.M. Reznikov, A.D. Brezdinyuk// Naychnie Vedomosti BelGU. 2012. no. 4(123). 17/1. pp. 219–222.

3. Issledovaniya po razrabotke sostava mazi dlya lecheniya ranevogo processa/ T.E. Ryumina, I.V. Alekseeva V.I. Pancurkin, L.N. Shmakova// Sankt-Peterburgskii nauchnii forum. 2003: materialy III Megdunar. naych.-prakt. conf. molodich uchenich. P-Pb, 2003. T.2. pp. 46–47.

4. Kudrin, A.N. Sistema express-metodov integralnoi ocenki biologicheskoi aktivnosti individualnich I kompleksnich preparatov na biologicheskikh objektach/ A.N. Kudrin, V.V. Ananin, V.U. Balabyan // Ros. Chim. Journ. 1997. T.41. no. 5. pp. 114–123.

5. Oпит primeneniya novogo preparata pri lechenii ranevogo processa/ S.C. Kichemasov, E.K. Gumanenko, V.V. Vorobjov, I.V. Alekseeva I dr. // Novie tehnologii v diagnostike I lechenii chirurgicheskoi infekcii na osnove dokazatelnoi medicine: materialy VI Vseros. Conf. s megdunar. Uchastiem «Rani I ranevaya infekciya». Moskow, 2003. pp. 55–57.

### Рецензенты:

Степанова Э.Ф., д.фарм.н., профессор, профессор кафедры технологии лекарств ПятГФА, г. Пятигорск;

Шевченко А.М., д.фарм.н., профессор кафедры технологии лекарств ПятГФА, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 25.09.2012.