

**ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ
РАСТИТЕЛЬНОГО ЭКСТРАКТА САМШИТ
(VÍXUS) ПРИ ЛЕЧЕНИИ СОСТОЯНИЙ,
СВЯЗАННЫХ С НАРУШЕНИЕМ
АНАТОМИЧЕСКОЙ ЦЕЛОСТНОСТИ
КОЖНОГО ПОКРОВА**



О.Е. Кузнецов, доцент
Зайед Фатима Хамид Зайед, магистр
Гродненский государственный
университет им. Я. Купалы



Актуальность

- Еще древнегреческие врачи заметили, что самшит вечнозеленый имеет множество необычных полезных свойств. Флейта Афродиты была изготовлена из древесины самшита вечнозеленого. Из самшита готовили специальные обереги от злых сил, приписывали ему свойство отгонять ночные кошмары.
- В настоящее время Самшит используется только в народной медицине, хотя обладает гипотензивным, мочегонным, потогонным, антисептическим эффектом, антибактериальным, болеутоляющим, жаропонижающим, желчегонным действием.
- Химический состав растения и возможные терапевтические и профилактические эффекты изучены недостаточно



Цель работы

- оценить состав растительного экстракта Самшит (*Vixus*) и изучить терапевтические возможности при лечении состояний, связанных с нарушением анатомической целостности кожных покровов



- Для испытания состава Самшит приготовлен спиртовой экстракт (70%), n=50. Стандартизация композиции экстракта - «чистый» Самшит, (96% этанол, без разбавления). Терапевтический препарат для заживления ран: 40% по массе Самшит из целого растения, 20% по массе - 96% этиловый спирт, 40 % по массе - vaselinum album (углеводородная основа, используется в липофильных мазях). Динамика заживления (дни после ранения) кожных ран были изучены у белых крыс (Wistar), обработанных разработанным средством. Все животные разделялись на группы в зависимости от применяемого метода лечения (по 10): I группа - на рану не наносился препарат – контрольная; II группа - использовался хлоргексидина (согласно стандартному протоколу лечения инфицированных ран); III группа - препарат с экстрактом Самшит. Методы исследования: хроматографический (газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, идентификация - NIST11, Viley 14, пользовательская библиотека масс-спектров), иммунологический (фагоцитарный индекс, фагоцитарное число), гистологический, статистический.

Результаты и их обсуждение



- Стандартизацию композиции экстракта проводили на «чистом» экстракте Самшит, приготовленном из 96% этанола без разбавления: количество веществ, обнаруженных с помощью масс-хроматографии, составило 125. Среднее количество детектируемых биологически активных веществ составило $118,3 \pm 11,1$. Количество анализируемых биологически активных веществ и их производных в пробах колебалось от 36 до 102 (среднее количество составило $69,00 \pm 16,14$). Разница в обнаруженных и проанализированных веществах составила $17,3 \pm 7,4$ ($p = 0,01$).
- Основываясь на полученных данных приняты во внимание субстанции экстракта, обладающие активным эффектом, при разработке терапевтического препарата для лечения ран. Активность ингредиентов с вероятностью определения ниже 50,0% не может считаться неактивной. В зависимости от способа использования экстракта действие этих веществ может быть значительным.

Экстракты веществ с чувствительностью идентификации >70,0% (Самшит)

RT	%	Пик	Биологическое вещество, производное
7,777	77,68	43	Guanidine, N,N-dimethyl-
9,125	71,76	75	L-(+)-Lactic acid, trimethylsilyl ether
9,735	74,27	73	Lactic Acid, 2TMS derivative
10,02	90,29	147	Glycolic acid, 2TMS derivative
10,257	76,94	147	2-Propenoic acid, 2-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester
11,353	70,26	75	Hydracrylic acid, 2TMS derivative
11,725	72,77	75	Propanoic acid, 3-(trimethylsilyl)-, ethyl ester
13,04	88,82	147	4-Hydroxybutanoic acid, 2TMS derivative
13,164	91,68	179	Benzoic Acid, TMS derivative
14,037	71,62	73	3-Butenoic acid, 3-(trimethylsiloxy)-, trimethylsilyl ester
14,826	89,92	73	Glyceric acid, 3TMS derivative
14,957	71,89	73	2-Butenedioic acid, (Z)-, 2TMS derivative
16,7	74,63	73	Malic acid, 4-ethyl ester, 2TMS
17,255	78,58	73	Glycerol, 3TMS derivative
17,39	88,77	73	Malic acid, 3TMS derivative
17,485	71,49	58	Pyruvic acid, TMS derivative
17,956	71,51	73	4-Aminobutanoic acid, 3TMS derivative
19,581	78,77	73	2,3,4,5-Tetrahydroxypentanoic acid-1,4-lactone, tris(trimethylsilyl)-
22,112	86,74	73	D-(-)-Fructofuranose, pentakis(trimethylsilyl) ether (isomer 1)
22,689	79,75	73	D-Fructose, 5TMS derivative
22,817	76,07	73	Quinic acid (5TMS)
24,555	96,22	204	D-Mannose, 5TMS derivative
25,019	93,18	73	Palmitic Acid, TMS derivative

Результаты и их обсуждение



- Количество обнаруженных веществ составило 125. Среднее количество анализируемых биологически активных веществ и их производных в пробах составило $69,00 \pm 16,14$. Разница в обнаруженных и проанализированных веществах составила $17,3 \pm 7,4$ ($p=0,01$).
- Основные вещества экстракта, обладающие активным эффектом, содержали компоненты с вероятностью обнаружения 95% и чувствительностью идентификации $>70,0\%$: гуанидины, флавоноиды.
- Разработанный и изученный препарат для заживления ран (мазь – вазелиновая основа в объеме 40-70 мас.%) обеспечивающий регенерацию заживления ран, согласно предложенной рецептуре, содержащий в качестве активного ингредиента спиртовой растительный экстракт, эмульгированный или суспендированный в органической среде: экстракт Самшит в объеме 15-40 мас.% (активные вещества флавоноиды, полифенолы, дубильные вещества, соединения амина и минеральные соли), спирт этиловый в объеме 10-20 мас.%.

Результаты и их обсуждение



- Проведенное микробиологическое исследование экстракта Самшит показало его высокую антимикробную активность, в данном случае ассоциированную нами с соединением гуанидин.
- Флавоноиды, содержащиеся в экстракте, как герметики для стенок мелких кровеносных сосудов нашли применение в качестве кровоостанавливающих средств. Их действие связано с ингибированием ферментов, в стенках сосудов – гиалуронидазы, которая ответственна за увеличение проницаемости межклеточных пространств. Флавоноиды также оказывают антиагрегационное действие на тромбоциты.

Результаты и их обсуждение

Проведенное микробиологическое исследование экстракта Самшит показало его высокую антимикробную активность, в данном случае ассоциированную нами с соединением гуанидин.

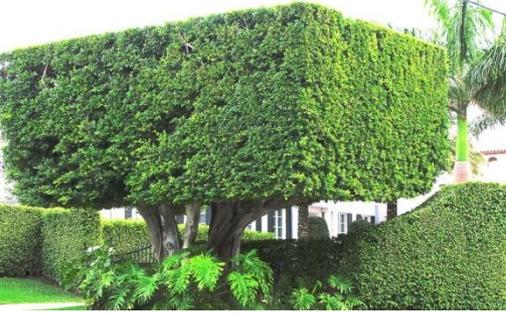
Для доказательства проведена оценка активности полученного экстракта в отношении типовых тест-культур *E.coli*, *St.aureus*, *C.albicans* и *Asp.niger* в соответствии с инструкцией по применению Министерства здравоохранения Республики Беларусь «Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств.

Микроорганизмами инфицировали тестовые объекты, которые затем обрабатывали экстрактом. По истечении времени выдержки (5-10-15-20-25-30-35-40-45-50-55-60 минут) засеивали на питательные среды. Исследования выполнены как по истечению времени выдержки, так и во времени. Учет результатов

Установлено, что средство проявило эффективность (бактериоцидность) относительно исследуемых штаммов культур: *E.coli* $1,0 \times 10^9$ КОЕ/мл – на 10-15 минуте; *St.aureus* $1,2 \times 10^9$ КОЕ/мл – на 20-25 минуте; *C.albicans* 9×10^8 КОЕ/мл – на 20-30 минуте.

Из общего числа ($n=96$) микробиологических исследований установлен уровень антимикробной активности в отношении изученных культур *E.coli*, *St.aureus*, *Asp.niger* ($p < 0,05$). Оценка эффекта роста микроорганизмов во времени позволяет сделать вывод, что рост микроорганизмов на обработанной поверхности не наблюдался во временном промежутке 5--12 часов.

Результаты и их обсуждение



- Разработанный травяной ранозаживляющий препарат показывает нормальный рост эпителия, ускоряет грануляцию, поддерживает влажность раневой поверхности и ускоряет ее заживление. Установлено, что экстракт Самшит по сравнению с контрольной группой ускоряет время заживления ран у экспериментальных животных. Первое отторжение струпа в III группе началось на 6-7 сутки, в контрольных группах (физиологический раствор, хлоргексидин) - 9 и 7-8 сутки соответственно ($p=0.04$). Окончательное отторжение струпа у крыс III группы произошло на 7-8 сутки. У животных, использующих экстракт Самшит, достигнута полная эпителизация раневой поверхности на 9 день, тогда как в контрольной группе полная эпителизация раневой поверхности наблюдалась на 12-13 день ($p<0.05$).

Результаты и их обсуждение



Процесс заживления	Группа		
	I Группа	II Группа	III Группа
Начало эпителизации, сутки	4,9±0,3	3,8±0,3	3,4±0,2
Начало отторжения струпа, сутки	8,8±0,4	7,5±0,4	6,4±0,4
Полное отторжение струпа, сутки	10,9±0,3	10,3±0,3	7,7±0,4
Полное заживление раны, сутки	12,9±0,89	11,5±0,18	9,1±0,6

Разработанный травяной ранозаживляющий препарат показывает нормальный рост эпителия, ускоряет грануляцию, поддерживает влажность раневой поверхности и ускоряет ее заживление.

Результаты и их обсуждение

Уровень фагоцитарной активности лейкоцитов при заживлении ран при применении экстракта Самшит

Группа	Время после повреждения					
	3 день		5 день		7 день	
	PI, %	PN	PI, %	PN	PI, %	PN
I Группа	53,50±1,10	6,0±1,1	81,00±2,21	12,0±2,4	65,10±4,13	12,6±3,0
II Группа	60,50±8,39	9,0±2,4	60,01±4,53	14,0±2,7	47,10±5,41	11,1±2,9
III Группа	81,30±1,30	15,0±3,1	88,00±0,41	21,0±2,2	41,10±3,40 ^a	9,1±1,4

Фагоцитарный индекс - PI, % фагоцитов, содержащих стафилококк;
Фагоцитарное число - PN, среднее количество стафилококков в 1 фагоците

Экстракт по сравнению с контрольной группой ускоряет время заживления ран. Первое отторжение струпа в III группе началось на 6-7 сутки, в контрольных группах (физиологический раствор, хлоргексидин) - 9 и 7-8 сутки соответственно ($p=0.04$). Окончательное отторжение струпа у III группы произошло на 7-8 сутки. У животных, использующих экстракт Самшит, достигнута эпителизация раневой поверхности на 9 день, в контрольной группе полная эпителизация раневой поверхности наблюдалась на 12-13 день ($p<0.05$).

Результаты и их обсуждение



Механизмы действия Самшит (*Buxus*) на процесс заживления, вероятно, обусловлены антимикробным действием гуанидина, расширением кровеносных сосудов и нормализацией нарушений микроциркуляции в тканях, улучшением тканевого метаболизма, усилением функции нейтрофильного фагоцитоза и активацией макрофагов, прямо или косвенно влияющих на пролиферацию и ангиогенез фибробластов



- Впервые был проведен полный анализ состава растительного экстракта Самшит (*Buxus*) на основе газовой хроматографии (масс-спектрометрическое детектирование).
- По результатам исследований экстракта Самшит (*Buxus*) на основе этанола установлены рациональные по составу и уровню биологически активные вещества (упорядочены по качеству): 70% этанол (123 субстанции, $\geq 70,0\%$).
- Разработана новая лекарственная форма – мазь для лечения и заживления ран, содержащая в составе экстракт Самшит (*Buxus*).
- Разработанное средство обладает высокой терапевтической активностью на каждой стадии заживления раны, ускоряет процессы заживления раны, интенсифицирует процессы пролиферации клеток и, таким образом, обеспечивает раннее полное заживление.

Спасибо

