

УДК 615.454.1:[54-386:547.565.2]

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТЕХНОЛОГИИ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ ГЕЛЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ КОМПЛЕКС СЕРЕБРА(I) С 2-(4,6-ДИ-ТРЕТ-БУТИЛ-2,3- ДИГИДРОКСИФЕНИЛСУЛЬФАНИЛ)УКСУСНОЙ КИСЛОТОЙ

Г. И. ГОРБАЦЕВИЧ¹⁾, С. И. СТАХЕВИЧ¹⁾, Н. В. ЛОГИНОВА¹⁾,
Г. А. КСЕНДЗОВА²⁾, Н. П. ОСИПОВИЧ²⁾, И. Н. СЛАБКО³⁾,
В. В. БУТКЕВИЧ³⁾, Ж. А. МАКАРЕВИЧ³⁾, Л. В. БУТЬКО³⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

²⁾Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь

³⁾Белорусский государственный медицинский университет,
пр. Дзержинского, 83, 220089, г. Минск, Беларусь

Целью работы является разработка оптимального состава геля с ранозаживляющей способностью на основе комплекса Ag(I) с 2-(4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксифенилсульфанил)уксусной кислотой для создания нового эффективного средства. Установлено, что пропиленгликоль (ПГ) способствует образованию более тонкой суспензии комплекса Ag(I), а введение поливинилпирролидона (ПВП) препятствует агрегации частиц комплекса, что обеспечивает оптимальную дисперсность геля-суспензии. Гели на основе метилцеллюлозы (МЦ) характеризуются приемлемой степенью высвобождения комплекса Ag(I). Наиболее полно активное вещество высвобождается

Образец цитирования:

Горбацевич ГИ, Стахевич СИ, Логинова НВ, Ксендзова ГА, Осипович НП, Слабко ИН, Буткевич ВВ, Макаревич ЖА, Бутько ЛВ. Биофармацевтические аспекты технологии ранозаживляющих гелей, содержащих комплекс серебра(I) с 2-(4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксифенилсульфанил)уксусной кислотой. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2019;2:29–39.
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2019-2-29-39>

For citation:

Harbatsevich HI, Stakhevich SI, Loginova NV, Ksendzova GA, Osipovich NP, Slabko IN, Butkevich VV, Makarevich ZhA, But'ko LV. Biopharmaceutical aspects of technology of wound-healing gels containing silver(I) complex with 2-(4,6-di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxyphenylsulphanyl)acetic acid. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2019;2:29–39. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2520-257X-2019-2-29-39>

Авторы:

Глеб Иванович Горбацевич – кандидат химических наук; доцент кафедры радиационной химии и химико-фармацевтических технологий химического факультета.

Сергей Игоревич Стахевич – магистрант кафедры неорганической химии химического факультета. Научный руководитель – Н. В. Логинова.

Наталья Васильевна Логинова – доктор химических наук, профессор; профессор кафедры неорганической химии химического факультета.

Галина Анатольевна Ксендзова – кандидат химических наук; старший научный сотрудник лаборатории химии свободнорадикальных процессов.

Николай Павлович Осипович – кандидат химических наук; старший научный сотрудник лаборатории химии свободнорадикальных процессов.

Ирина Николаевна Слабко – старший научный сотрудник лаборатории внутрибольничных инфекций.

Василий Владимирович Буткевич – младший научный сотрудник лаборатории внутрибольничных инфекций.

Жанна Анатольевна Макаревич – заведующий экспериментально-биологической клиникой (виварием).

Людмила Владимировна Бутько – кандидат ветеринарных наук; ветеринарный врач экспериментально-биологической клиникой (вивария).

Authors:

Hleb I. Harbatsevich, PhD (chemistry); associate professor at the department of radiation chemistry and chemical technology, faculty of chemistry.

hleb.harbatsevich@gmail.com

Sergei I. Stakhevich, master's degree course student at the department of inorganic chemistry, faculty of chemistry.

sergeu19_95@mail.ru

Natalia V. Loginova, doctor of science (chemistry), full professor; professor at the department of inorganic chemistry, faculty of chemistry.

loginovv@gmail.com

Galina A. Ksendzova, PhD (chemistry); senior researcher at the laboratory of chemistry of free radical processes.

ksja-bn@tut.by

Nikolai P. Osipovich, PhD (chemistry); senior researcher at the laboratory of chemistry of free radical processes.

osipovichnp@gmail.com

Irina N. Slabko, senior researcher at the laboratory of nosocomial infections.

Vasily V. Butkevich, junior researcher at the laboratory of nosocomial infections.

Zhanna A. Makarevich, head of experimental biological clinic (vivarium).

Lyudmila V. But'ko, PhD (veterinary medicine); veterinarian of the experimental biological clinic (vivarium).

из гелей, содержащих ПГ и ПВП, что согласуется с данными об оптимальной дисперсности. Установлено, что введение в состав геля ПГ и ПВП значительно увеличивает его осмотическую активность. Определен оптимальный состав мазевой основы, %: МЦ – 3,5; ПВП – 5,0; 0,1 моль/л раствора лимонной кислоты – 5,0; ПГ – 20,0; воды для инъекций – до 100,0. Показано, что полученный гель превосходит по ранозаживляющей способности крем «Дермазин» и мазь «Левомеколь» при значительно более низком содержании активного вещества (0,5 %), а также способствует быстрому и полному очищению ран от микроорганизмов. Установлено, что при медицинском применении геля не происходит кумуляции серебра в печени.

Ключевые слова: комплекс серебра(I); гидрогель; метилцеллюлоза; реологические свойства; высвобождение активного ингредиента; ранозаживляющая способность.

BIOPHARMACEUTICAL ASPECTS OF TECHNOLOGY OF WOUND-HEALING GELS CONTAINING SILVER(I) COMPLEX WITH 2-(4,6-DI-TERT-BUTYL-2,3-DIHYDROXYPHENYLSULPHANYL)ACETIC ACID

*H. I. HARBATSEVICH^a, S. I. STAKHEVICH^a, N. V. LOGINOVA^a,
G. A. KSENDZOVA^b, N. P. OSIPOVICH^b, I. N. SLABKO^c,
V. V. BUTKEVICH^c, Zh. A. MAKAREVICH^c, L. V. BUT'KO^c*

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

^bResearch Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,
14 Lieninhradskaja Street, Minsk 220006, Belarus

^cBelarusian State Medical University, 83 Džaržynskaga Avenue, Minsk 220089, Belarus

Corresponding author: H. I. Harbatsevich (hlebarbatsevich@gmail.com)

The object of the work is to develop optimal composition of a gel with wound-healing ability based on Ag(I) complex with 2-(4,6-di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxyphenylsulphonyl)acetic acid to produce a novel effective remedy. It was found that propylene glycol (PG) favours the formation of more fine suspension of Ag(I) complex, and introduction of polyvinylpyrrolidone (PVP) hinders aggregation of the particles of the complex, thus providing optimal dispersity of the gel suspension. The gels based on methyl cellulose (MC) are characterized by an acceptable degree of release of Ag(I) complex. It is the gels containing PG and PVP that are characterized by the most complete release of the active substance, which is in agreement with the data on the optimal dispersity. It was found that PG and PVP being introduced into the gel composition increase the osmotic activity of the gel considerably. The optimal composition of the ointment base was determined, %: MC – 3.5; PVP – 5.0; 0.1 mol/L citric acid solution – 5.0; PG – 20.0; water for injections – up to 100.0. The gel obtained was shown to surpass «Dermazin» cream and «Levomocol» ointment in wound-healing ability, while the content of the active substance was significantly lower (0.5 %), and to promote wounds to be cleansed of microorganisms fast and completely too. No accumulation of silver in the liver was found when the gel was used medicinally.

Keywords: silver(I) complex; hydrogel; methyl cellulose; rheological properties; release of the active ingredient; wound-healing ability.

Введение

Местное использование лекарственных средств – наиболее древний способ лечения ран, однако проблема развития гнойных осложнений, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов, остается весьма актуальной [1]. Основные задачи при лечении инфицированных ран сводятся к комплексному воздействию на факторы, способствующие развитию раневой инфекции и замедляющие процесс заживления [2]. Основные принципы терапии заключаются в создании условий, направленных на скорейшее очищение ран от погибших тканей, снижение степени микробной обсемененности, удаление экссудата [3]. Фармакотерапия должна при этом находиться в строгом соответствии с патогенезом раневого процесса: в первой фазе происходит очищение раны от некротизированных тканей и уничтожение содержащейся в них в огромном количестве микрофлоры; во второй фазе наблюдается регенерация тканей, сопровождающаяся ростом грануляций [4]. Подобный подход направлен на предотвращение развития генерализованных процессов и распространения инфекции.

Хирургическая обработка ран не может привести к полной стерилизации раневой поверхности, в связи с чем необходим поиск новых средств, подавляющих рост микроорганизмов и способствующих заживлению ран. В этом отношении весьма перспективными являются серебросодержащие средства [5; 6], которые проявляют высокую антимикробную активность широкого спектра с низкой индукцией резистентности, интенсифицируют реактивные процессы в организме, что способствует сокращению сроков лечения по сравнению с использованием антибиотиков [7].

При разработке препарата для лечения ран большая роль отводится выбору лекарственной формы. Известно, что водные растворы разбавляются раневым отделяемым и высыхают в течение 3–6 ч, их действие оказывается кратковременным, а необходимая для подавления микрофлоры концентрация лекарственного вещества в ране, как правило, не создается [4]. Не лишены недостатков и твердые лекарственные формы (порошки), нанесенные под повязку: возможно их некролитическое действие за счет создания локальных гипертонических концентраций, и, кроме того, абсорбирующее действие марлевой повязки крайне ограничено (уже через 6 ч марлевые тампоны пропитываются гноем, который препятствует оттоку раневого экссудата) [4]. Мази на гидрофобных основах обеспечивают низкую степень высвобождения действующего вещества, не смешиваются с раневым экссудатом и не поглощают таковой, что препятствует его оттоку и задерживает отторжение некротических масс [8]. С учетом этого предпочтение отдается гелям и кремам, которые при правильном подборе вспомогательных веществ имеют следующие преимущества [9]: 1) растворение и поглощение экссудата; 2) высокая степень высвобождения действующего вещества; 3) удобство в нанесении и удалении с кожи; 4) длительность действия; 5) образование защитной пленки при высыхании (гели). Отметим, однако, что выпуск серебросодержащих средств в форме гелей ограничен, что связано с низкой стабильностью этих композиций [6; 10].

Нами разработана оригинальная методика синтеза комплексов $Ag(I)$, позволяющая регулировать лигандное окружение иона $Ag(I)$ и получать комплексы с *o*-дифенольными производными тиокарбоновых кислот, гидразона и тиосемикарбазона [11–13]. По результатам первичного фармакологического скрининга было определено соединение-лидер с широким спектром антимикробного действия – комплекс серебра(I) с 2-(4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензилсульфанил)уксусной кислотой (AgL_2) [14; 15], и на основе этого соединения получены гели [16]. Установлено, что стабильность AgL_2 в составе мази на основе гидрогеля метилцеллюлозы (МЦ) обеспечивается за счет использования добавок пропиленгликоля (ПГ) (растворитель субстанции), лимонной кислоты (регулятор pH-среды) и поливинилпирролидона (ПВП) (стабилизатор). Показано, что гели проявляют высокую антимикробную активность в отношении грамотрицательных (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*), дрожжевых (*Candida spp.*) и плесневых грибов (*Aspergillus niger*). На основании этого гели представляются перспективными для лечения инфицированных ран.

Создание новых гелей невозможно без всестороннего исследования роли факторов, оказывающих влияние на степень высвобождения лекарственных веществ из мазей, скорость и полноту их резорбции, местное или направленное воздействие на ткани, органы, жидкости организма, т. е. без их биофармацевтического изучения. Наиболее существенными биофармацевтическими факторами, влияющими на фармакокинетическую активность мазей, являются: 1) физико-химические свойства действующих веществ (полиморфизм, дисперсность); 2) природа основы; 3) технологический процесс получения [8; 10].

Цель работы – разработка состава геля, обеспечивающего оптимальные структурно-механические свойства, степень высвобождения действующего вещества, осмотическую активность и, как следствие, высокую ранозаживляющую способность и антимикробную активность *in vivo*.

Материалы и методы

Действующим веществом в составе изготавливаемых мазей являлся свежесинтезированный комплекс AgL_2 . В качестве мазевой основы использовали МЦ (ТУ 2231-107-57684455–2003), в качестве регулятора pH мазевой композиции в нее вводили лимонную кислоту (ГОСТ 3652–69), а в качестве растворителя для AgL_2 применяли 1,2-ПГ (ТУ 6-09-2434–81). Для подавления агрегации наночастиц серебра, которые могут формироваться при применении мази на раневой поверхности, использовали ПВП низкомолекулярный медицинский (молекулярная масса $12\ 600 \pm 2700$ Да) [17].

Исследуемые образцы мазей (табл. 1) получали в асептических условиях. Порошок МЦ заливали горячей водой для инъекций (80 °С), охлаждали до 20 °С и перемешивали до полного растворения полимера. ПВП растворяли в воде отдельно при температуре 20 °С, непрерывно перемешивая. Полученные растворы соединяли, вводили 0,1 моль/л раствор лимонной кислоты. Комплекс AgL_2 растворяли в ПГ (образцы 3–8) при 20 °С в защищенном от света месте или растирали с небольшим количеством мазевой основы (образцы 1, 2). Раствор комплекса AgL_2 при перемешивании постепенно вводили в мазевую основу. Полученную мазь расфасовывали в темные пластиковые контейнеры, герметично укупоривали и хранили при температуре 4–9 °С.

Таблица 1

Составы образцов мазей, мас. %

Table 1

Composition of the ointment samples, wt. %

Компонент	Номер образца										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
AgL ₂	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	–	–
МЦ	4,0	4,0	4,0	4,0	3,5	3,0	–	–	–	3,5	–
Карбопол 980 NF	–	–	–	–	–	–	0,4	0,4	–	–	0,4
ПВП	–	5,0	–	5,0	5,0	5,0	–	–	–	5,0	–
0,1 моль/л натрия гидроксид	–	–	–	–	–	–	10,0	5,0	–	–	10,0
0,1 моль/л лимонной кислоты	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	–	–	–	5,0	–
ПГ	–	–	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	–	20,0	20,0
Вода для инъекций	90,5	85,5	70,5	65,5	66,0	66,5	69,1	74,1	–	66,5	69,6
Ланолин безводный	–	–	–	–	–	–	–	–	40,0	–	–
Вазелин	–	–	–	–	–	–	–	–	59,0	–	–

Для получения образцов 7 и 8 карбопол 980 NF смешивали с водой и оставляли для набухания, затем вводили при перемешивании 0,1 моль/л раствор натрия гидроксида (ГОСТ 4328–77), разбавляли водой и прибавляли суспензию AgL₂ в ПГ [18].

Образцы 10 и 11, используемые в качестве контроля, получали вышеописанным способом, но без добавления комплекса AgL₂. Образец сравнения 9 был приготовлен по методике, изложенной в [19].

Изучение реологических характеристик гелей проводили на ротационном вискозиметре Реотест-2 (Германия) при температуре 20 и 37 °С. В ходе исследования определяли зависимость напряжения сдвига τ от градиента скорости сдвига D_r при различных скоростях вращения цилиндра [20].

Кинетику высвобождения комплекса AgL₂ из образцов мазей исследовали методом равновесного диализа по Кривчинскому [21]. В прибор, состоящий из трубки диаметром 30 мм, один конец которой затянута целлофановой пленкой (Visking Dialysis Tubing Type 20/32), помещали навеску мази массой 1,0 г, нанося ее на внутреннюю поверхность пленки. Трубки опускали в сосуд с 35,0 мл 0,01 моль/л цитратного буфера с pH 7,4 на 2–3 мм и термостатировали при 37 °С. Через определенные промежутки времени из сосуда отбирали аликвоты объемом 5,0 мл с восполнением объема системы. Количественное определение высвободившегося в раствор вещества осуществляли спектрофотометрически при длине волны 364 нм [22].

Изучение влияния компонентов мазевой основы на размер частиц дисперсной фазы (AgL₂) проводили методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ), используя прибор модели Carl Zeiss LEO-1455VP. Образец геля наносили тонким слоем на покровное стекло, высушивали в сушильном шкафу в течение 4 ч при температуре 50 °С. Затем получали фотографии при 200-кратном увеличении и определяли размер частиц при помощи программы *ImageJ 1.50i*.

Осмотическую активность мазей изучали гравиметрически методом равновесного диализа. На внутреннюю поверхность закрепленной на трубке пленки (Visking Dialysis Tubing Type 20/32) наносили мазь массой 1,00 г и взвешивали. Затем трубку помещали в сосуд с водой очищенной на 2–3 мм, термостатировали при 37 °С и через определенные промежутки времени определяли ее массу.

При изучении ранозаживляющей способности мазей использовали модель полнослойной инфицированной раны у крыс (протокол заседания Комитета по биомедицинской этике БГМУ № 6 от 06.01.2017 г.) [23]. Эксперимент выполняли на 30 беспородных крысах-самцах (по 6 особей в группе). Животных массой (250 ± 30) г без внешних признаков заболеваний содержали в виварии в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов. В качестве средства для общей анестезии при моделировании раны у животных брали 1 % раствор тиопентала натрия. Рану площадью (304 ± 17) мм² наносили по трафарету посередине предварительно выбритого участка на дорсальной поверхности тела крысы с использованием скальпеля и ножниц. В раны вводили суспензию *Staphylococcus aureus ATCC 6538* (10⁹ КОЕ/мл). Спустя 3 сут

в соответствии с разделением животных на группы на поврежденный участок ежедневно наносили около 0,2 г исследуемых образцов мазей. Степень заживления ран оценивали планиметрически: в течение 40 сут раны ежедневно фотографировали для измерения их площади в программе *ImageJ 1.50i*. Статистическую обработку данных с использованием *t*-критерия Стьюдента проводили в программе *MS Excel*.

Для определения концентрации микроорганизмов в ранах из них производили высевы на 3-и сутки после заражения. Забор материала осуществляли с помощью желатиновых тампонов по всей поверхности раны (стерильные стеклянные палочки вносили в 0,5 % раствор желатина, стерилизованный в течение 15 мин при 121 °С). В желатиновые тампоны перед посевом добавляли 0,9 мл физиологического раствора (разведение 1 : 10) и расплавляли при 37 °С, готовили разведения 1 : 50 и 1 : 100. Каждое разведение высевали по 0,02 и 0,1 мл на желточно-солевой агар. Чашки со средами инкубировали 24 ч в термостате при 37 °С. Количество микроорганизмов (*N*) в 1 мл экссудата определяли по формуле

$$N = n \cdot 50/d,$$

где *n* – общее количество микроорганизмов; *d* – степень разведения.

На 40-е сутки животных выводили из эксперимента и осуществляли забор их печеней в соответствии с делением на группы. Органы животных гомогенизировали и к 10 г полученного препарата прибавляли 10 мл концентрированной серной кислоты, оставляли на сутки, затем прибавляли 10 мл смеси серной и азотной кислот и воды (1 : 1 : 1) и нагревали на песчаной бане в течение 6 ч, периодически прибавляя смесь азотной кислоты с водой (1 : 1). По окончании минерализации проводили денитрацию раствора формалином. Минерализат количественно переносили в мерную колбу на 25,0 мл и доводили до метки водой. Для построения калибровочного графика использовали растворы нитрата Ag(I), содержащие 0,1–1,0 мкг/г серебра. Определение концентрации серебра в полученных растворах осуществляли методом атомной абсорбционной спектроскопии на приборе ZEE nit 700 (*Analytik Jena*, Германия) с пламенной атомизацией (смесь ацетилен – воздух).

Результаты и их обсуждение

При разработке мазей необходимо учитывать их структурно-механические характеристики, от которых зависят потребительские свойства (консистенция, намазывающая способность и др.). По результатам исследования влияния пластификаторов на реологические свойства гелей МЦ при 20 °С (рис. 1) установлено, что ПВП и ПГ способны уменьшать вязкость геля, однако для используемых концентраций пластификаторов не достигается реологический оптимум.

При изучении влияния концентрации гелеобразователя (МЦ) на реологические характеристики гелей при 20 °С (см. рис. 1) установлено, что оптимальное содержание МЦ составляет 3,5 % (образец 5 в табл. 1) и что структура соответствующего геля обладает тиксотропией, а характер течения геля квази-пластичный.

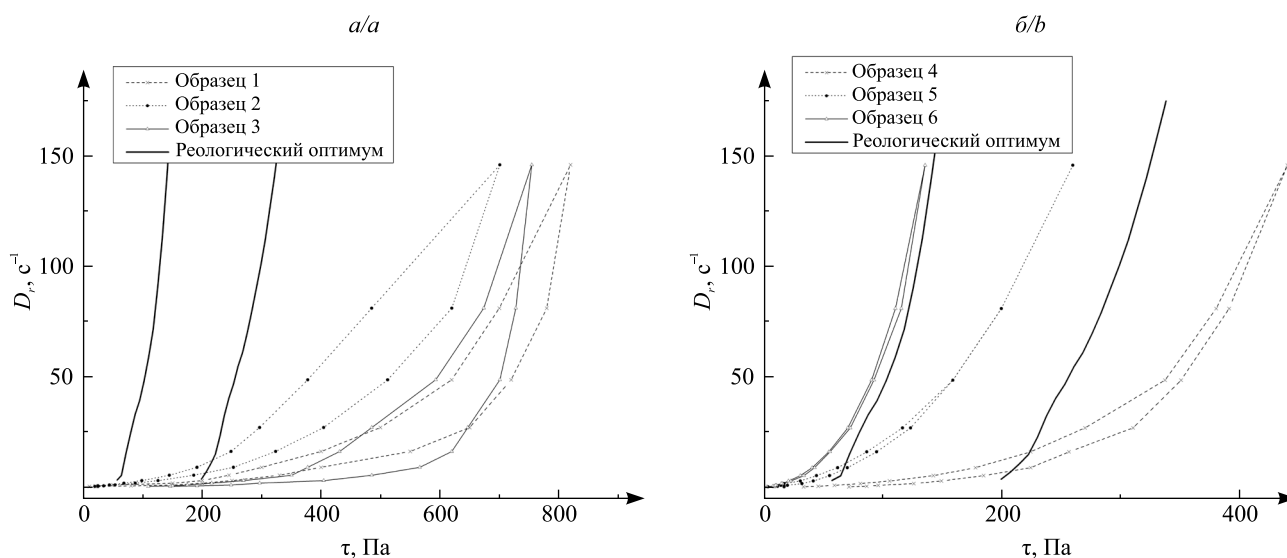


Рис. 1. Влияние концентрации пластификаторов и гелеобразователя на реологические свойства гелей МЦ при 20 °С: а – образцы 1–3; б – образцы 4–6

Fig. 1. The effect of the plasticizers and gelling agent concentrations on the rheological properties of the methylcellulose gels at 20 °С: а – samples 1–3; б – samples 4–6

Для оценки удобства медицинского применения гелей изучены их реологические свойства при температуре 37 °С (рис. 2). Установлено, что образец 5 (см. табл. 1) попадает в реологический оптимум [24].

Следует отметить, что гель на основе карбопола (образец 7 в табл. 1) характеризуется приемлемыми для медицинского применения структурно-механическими свойствами. Однако вследствие относительно высокого значения рН (6,1–7,0), необходимого для образования геля, в его составе резко снижается стабильность AgL_2 (см. табл. 1), что исключает возможность использования этой основы [16]. Напротив, при уменьшении рН (образец 8) гель карбопола становится более стабильным, однако реологические свойства системы не удовлетворяют требованиям практического применения (рис. 3).

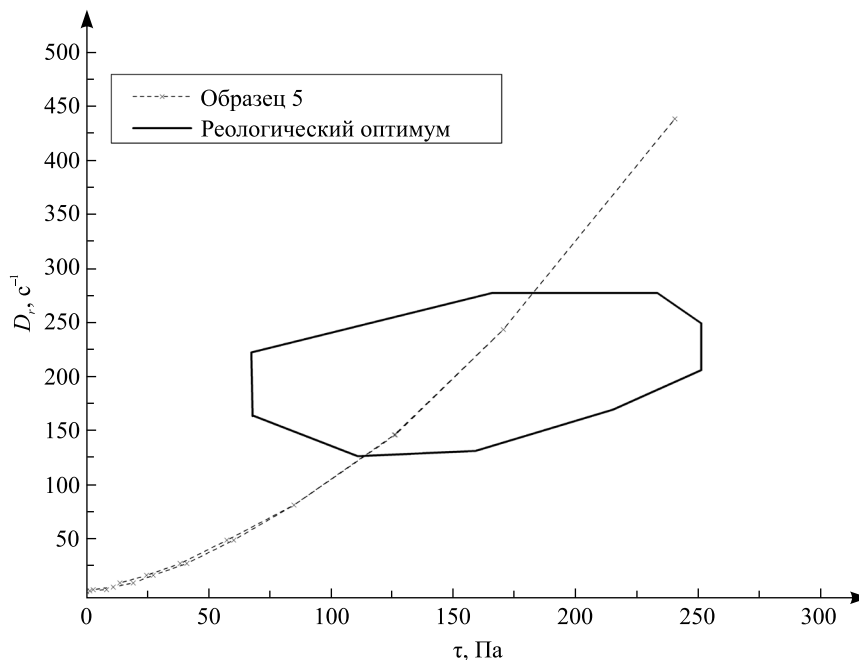


Рис. 2. Реограмма течения образца 5 при 37 °С
Fig. 2. Flow rheogram of the sample 5 at 37 °С

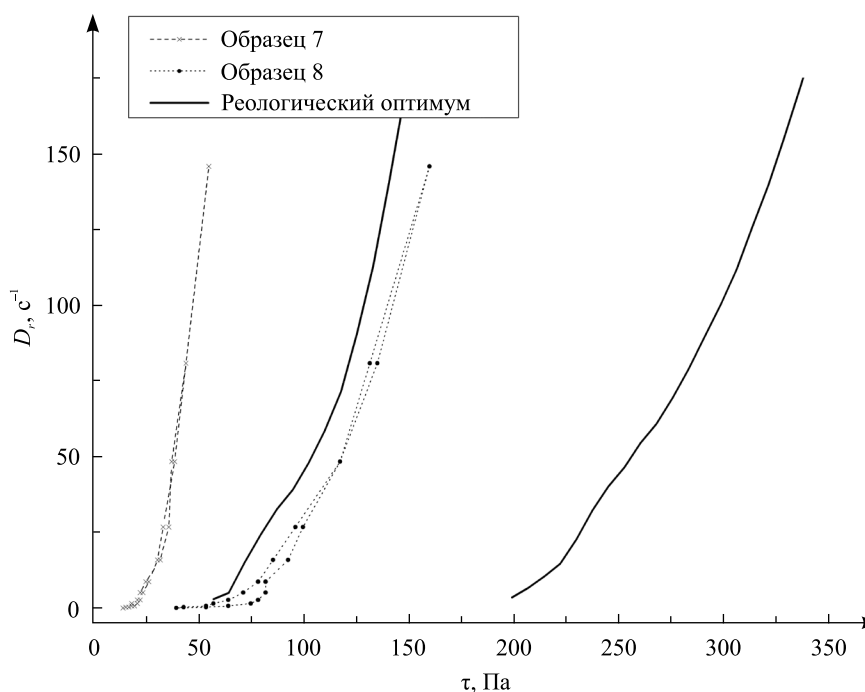


Рис. 3. Реограмма течения гелей карбопола при 20 °С
Fig. 3. Flow rheogram of the carbopol gels at 20 °С

При оценке зависимости доли высвободившейся субстанции из образцов мазей от времени (рис. 4) было установлено, что все гели на основе МЦ характеризуются большей степенью высвобождения активного ингредиента по сравнению с липофильной мазью (образец 9). Наиболее полно вещество высвобождается из мазей, содержащих ПГ, что может быть связано с лучшей растворимостью комплекса AgL_2 в этих основах. Введение ПВП в мазевую основу также способствует увеличению степени высвобождения AgL_2 за счет создания на его частицах защитного слоя, тормозящего процессы их агрегации. Скорость и полнота высвобождения соединения AgL_2 из полученных гелей ограничивается его высокой липофильностью ($\log P_{ow} = 4,1$) [25] и низкой растворимостью в воде.

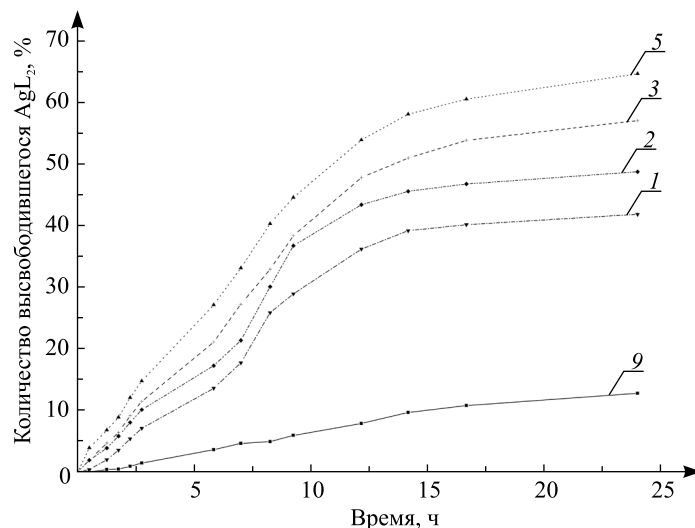


Рис. 4. Кинетический профиль высвобождения комплекса AgL_2 из образцов мазей (номер образца указан на кривой)

Fig. 4. The release kinetics of the AgL_2 complex from the ointment samples (sample number is indicated on the curve)

Для подтверждения полученных результатов методом СЭМ (рис. 5) изучено влияние вспомогательных веществ мазевых основ на размер частиц AgL_2 . Установлено, что частицы комплекса $Ag(I)$ в геле на основе МЦ (образец 1 в табл. 1) имеют размер 10,4 мкм. При добавлении в состав геля ПВП (образец 2) размер частиц уменьшается (6,1 мкм), а при совместном введении ПГ и ПВП (образец 4) гель имеет оптимальную дисперсность (2,8 мкм), поскольку введение ПГ способствует образованию более тонкой суспензии AgL_2 , а ПВП ее стабилизирует.

Зависимость степени поглощения воды образцами мазей от продолжительности экспозиции представлена на рис. 6. Установлено, что введение ПГ в состав геля значительно увеличивает его абсорбирующую способность.

Полученные результаты подтверждают возможность использования образца 5 (см. табл. 1) для лечения гнойных ран: указанная мазевая основа проявляет высокий уровень водопоглощения, что очень важно в фазе I раневого процесса, поскольку отток гнойного экссудата и очищение раны значительно сокращают длительность раневого процесса, способствуя дальнейшей репарации тканей [26].

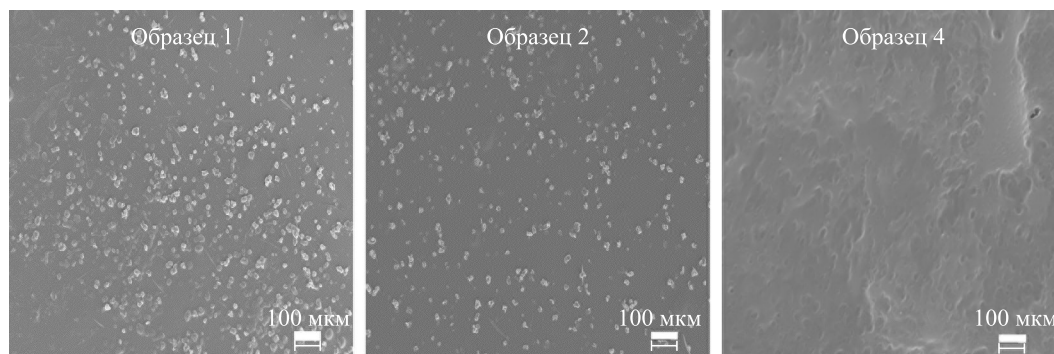


Рис. 5. СЭМ-изображения частиц AgL_2 в образцах мазей

Fig. 5. SEM images of AgL_2 particles in the ointment samples

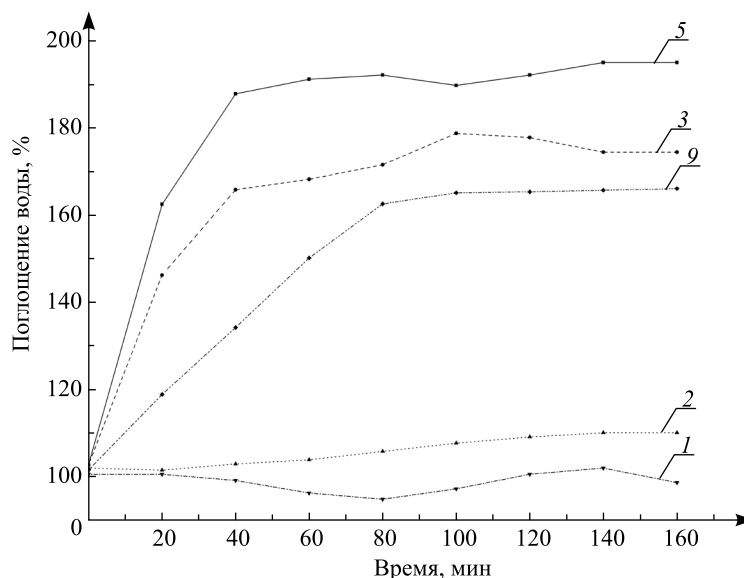


Рис. 6. Осмотическая активность образцов мазей (номер образца указан на кривой)

Fig. 6. Osmotic activity of the ointment samples (sample number is indicated on the curve)

В качестве объекта для изучения ранозаживляющей способности на животных был выбран образец 5, характеризующийся приемлемыми реологическими свойствами (см. рис. 1–3), высокими стабильностью [16] и степенью высвобождения действующего вещества (см. рис. 4), требуемыми осмотическими свойствами (см. рис. 6) и хорошей антимикробной активностью широкого спектра при сравнительно небольшом содержании комплекса Ag(I) [27]. В качестве плацебо использовали образец 10, отрицательного контроля – 0,9 % раствор натрия хлорида, положительного контроля – крем «Дермазин» и мазь «Левомеколь» (Нижфарм, Россия).

Данные планиметрического исследования, а также сроки полузаживления ран представлены в табл. 2, из которой следует, что при использовании образца 5 заживление кожных ран происходило быстрее, чем в отрицательном контроле. Сравнение периодов полузаживления в группах плацебо с соответствующей величиной в контрольной группе свидетельствует об эффективности использования выбранных мазевых основ в процессе лечения ран. По сравнению с положительным контролем образец 5 обеспечивал сокращение периода полузаживления ран на 1,1 сут ($p < 0,05$). В группах с образцом 5 наблюдали сильное стягивание краев раны, а уже на 7-е сутки отмечали отсутствие очагов воспаления. Полученные данные указывают на высокую эффективность разработанного средства в заживлении кожных ран у млекопитающих *in vivo*.

Таблица 2

Динамика заживления ран у крыс ($n = 6$)

Table 2

The wound healing dynamics in rats ($n = 6$)

Состав	Площадь ран в процентах от исходной по суткам							Период полузаживления, сут
	3-и	5-е	7-е	9-е	13-е	18-е	23-и	
Образец 5	90,7±3,3 ^a	72,8±3,3 ^{a, б, в}	55,3±2,1 ^a	35,2±1,9 ^{a, в}	14,0±1,3 ^{a, в}	4,7±0,7 ^{a, в}	2,7±0,5 ^{a, в}	7,5±0,4 ^{a, б, в}
Плацебо	98,7±2,0	88,8±2,1	66,4±2,5 ^a	45,4±1,7 ^a	25,4±2,4	12,2±1,8	6,5±1,3	8,5±0,3 ^a
«Дермазин»	92,6±2,4 ^a	86,6±3,7	68,0±6,5	44,0±5,6	19,5±3,0 ^a	7,4±2,7	3,5±1,1	8,6±1,1 ^a
«Левомеколь»	94,3±1,8 ^a	83,3±2,7 ^a	65,8±4,0	45,6±3,3 ^a	20,1±2,2 ^a	9,3±1,4	6,5±0,9	8,6±0,7 ^a
0,9 % NaCl	103,3±3,3 ^{б, в}	97,5±3,1 ^в	76,0±2,8	58,7±3,5 ^в	38,3±4,9 ^{б, в}	17,6±3,6	12,4±3,7	10,9±1,6 ^{б, в}

Примечание. ^a – изменения статистически достоверны по отношению к контролю, $p \leq 0,05$; ^б – изменения статистически достоверны по отношению к крему «Дермазин», $p \leq 0,05$; ^в – изменения статистически достоверны по отношению к группе мази «Левомеколь», $p \leq 0,05$.

Результаты микробиологического исследования, представленные в табл. 3, показали, что в контрольной группе наблюдалось постепенное снижение концентрации микроорганизмов в ране с $1,7 \cdot 10^5$ (3-и сутки) до $1,2 \cdot 10^3$ КОЕ/мл (15-е сутки). Хотя образец-плацебо подавлял рост микроорганизмов на ранах, при его использовании значимого эффекта не наблюдали. При применении образца 5 происходило резкое снижение числа колониеобразующих единиц *St. aureus* в ранах, а уже на 7-е сутки отмечалось практически полное их отсутствие. В условиях эксперимента крем «Дермазин» и мазь «Левомеколь» способствовали очищению раны от золотистого стафилококка лишь на 13-е сутки, что свидетельствует о более высокой антимикробной активности *in vivo* нового разработанного средства.

Таблица 3

Результаты количественных высевов из моделированных инфицированных ран, КОЕ/мл

Table 3

The results of quantitative seeding from simulated infected wounds, CFU/ml

Состав	Концентрация микроорганизмов по суткам					
	3-и	5-е	7-е	9-е	13-е	15-е
Образец 5	$5,2 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10$	–	–	–	–
Плацебо	$7,9 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^4$	$3,9 \cdot 10^2$	$1,1 \cdot 10^2$	$2,5 \cdot 10$	–
«Дермазин»	$6,8 \cdot 10^5$	$1,0 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^2$	$2,4 \cdot 10$	–	–
«Левомеколь»	$2,9 \cdot 10^5$	$4,0 \cdot 10^2$	$8,5 \cdot 10$	$3,8 \cdot 10$	–	–
0,9 % NaCl	$1,7 \cdot 10^5$	$8,0 \cdot 10^4$	$5,2 \cdot 10^4$	$2,6 \cdot 10^4$	$5,0 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$

Содержание серебра в печени животных ($n = 3$) после курса лечения для крема «Дермазин» и образца 5 составило ($0,3 \pm 0,1$) и ($0,3 \pm 0,2$) мкг/г соответственно (в контроле – ($0,1 \pm 0,1$) мкг/г). Такое содержание накопившегося в организме металла соответствует принятым нормам ($0,3$ мкг/г) [28]. При применении разработанной мази в течение 40 сут не происходит существенной кумуляции металла в организме, что исключает риск развития заболеваний, связанных с токсическим действием серебра (аргирия и др.).

Таким образом, сочетание высокой эффективности и безопасности позволяет предположить, что разработанный гель найдет широкое применение в медицинской практике для лечения инфицированных поверхностных ран, ожогов, пролежней, язв и ссадин.

Библиографические ссылки

1. Гостищев ВК. *Инфекции в хирургии: руководство для врачей*. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2007. 761 с.
2. Халилов МА. Вопросы оптимизации местного лечения гнойных ран. *Человек и его здоровье: научно-практический вестник*. 2009;3:31–37.
3. Мусалатов ХА. *Хирургия катастроф*. Москва: Медицина; 1998. 592 с.
4. Кузин МИ, Костюченко БМ, редакторы. *Раны и раневая инфекция. Руководство для врачей*. Москва: Медицина; 1990. 592 с.
5. Percival SL, Bowler PG, Russel D. Bacterial resistance to silver in wound care. *Journal of Hospital Infection*. 2005;60:1–7. DOI: 10.1016/j.jhin.2004.11.014.
6. Машковский МД. *Лекарственные средства*. Москва: Медицина; 1998.
7. Блажитко ЕМ, Бугайченко НВ, Шорина ГН, Ильина ВН, Морозов ДВ. Местное лечение раневых инфекций. Проблемы и новые средства. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2003;1:99–102.
8. Тенцова АИ, Грецкий ВМ. *Современные аспекты исследования и производства мазей*. Москва: Медицина; 1980. 192 с.
9. Чернов ВН, Родаков АВ, Байрамов РН. Местное лечение гнойных ран с использованием повязки со стелланином-ПЭГ 3 %. *Медицинский вестник Юга России*. 2013;2:120–123.
10. Чуешов ВИ, Зайцев ОИ, Шебанова СТ, Чернов МЮ. *Промышленная технология лекарств. Том 1*. Чуешов ВИ, редактор. Харьков: МТК-Книга; 2002. 560 с. Совместное издание с НФаУ.
11. Loginova NV, Chernyavskaya AA, Polozov GI, Koval'chuk TV, Bondarenko EV, Osipovich NP, et al. Silver(I) interaction and complexation with sterically hindered sulfur-containing diphenol derivatives. *Polyhedron*. 2005;24:611–618. DOI: 10.1016/j.poly.2005.01.007.
12. Loginova N, Chernyavskaya A, Polozov G, Osipovich N, Koval'chuk T, Gres A, et al. Bioactive silver(I) complexes with phenolic derivatives of thioglycolic and thiopropionic acids. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 2013;10(3):227–240. DOI: 10.2174/1570193X11310030003.
13. Loginova NV, Koval'chuk TV, Gres AT, Osipovich NP, Polozov GI, Halauko YuS, et al. Redox-active metal complexes of sterically hindered phenolic ligands: antibacterial activity and reduction of cytochrome *c*. Part IV. Silver(I) complexes with hydrazone and thiosemicarbazone derivatives of 4,6-di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxybenzaldehyde. *Polyhedron*. 2015;88:125–137. DOI: 10.1016/j.poly.2014.12.014.

14. Бореко ЕИ, Ковальчук ТВ, Логинова НВ, Полозов ГИ, Шадыро ОИ, Чернявская АА, авторы; учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», правообладатель. Серебросодержащий антимикробный агент широкого спектра действия с антигерпетической активностью. Республика Беларусь 15000. 28 февраля 2011 г.
15. Логинова НВ, Чернявская АА, Осипович НП, Ковальчук ТВ, Полозов ГИ, Шадыро ОИ, авторы; учреждение Белорусского государственного университета «Научно-исследовательский институт физико-химических проблем», правообладатель. Серебросодержащий антифунгальный агент широкого спектра действия. Республика Беларусь 17021. 30 декабря 2012 г.
16. Горбачевич ГИ, Стахевич СИ, Логинова НВ, Осипович НП, Слабко ИН, Ксендзова ГА. Стабилизация комплекса серебра(I) с 2-(4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензилсульфанил)уксусной кислотой в антимикробной лекарственной форме. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*. 2017;2:59–67.
17. Свиридов ВВ, редактор. *Химическое осаждение металлов из водных растворов*. Минск: Университетское; 1987. 270 с.
18. Стахевич СИ, Горбачевич ГИ. Разработка серебросодержащих антимикробных мазей. В: *Актуальные вопросы современной медицины и фармации. 69-я итоговая научно-практическая конференция студентов и молодых ученых; 19–20 апреля 2017 г.; Витебск, Беларусь*. Витебск: Витебский государственный медицинский университет; 2017. с. 675–678.
19. Краснюк ИИ, Михайлова ГВ, Григорьева ОН. *Практикум по технологии лекарственных форм*. Краснюк ИИ, Михайлова ГВ, редакторы. Москва: Academia; 2010. 425 с.
20. Аркуша АА. *Оценка и контроль консистентных свойств мазей при помощи реограмм*. Харьков: Харьковский фармацевтический университет; 1986. 12 с.
21. Тихонов АИ, Ярных ТГ, Зупанец ИА. *Биофармация*. Харьков: Золотые страницы; 2003. 241 с.
22. Стахевич СИ, Горбачевич ГИ. Разработка и валидация методики спектрофотометрического определения комплекса серебра(I) с 2-(4,6-ди-*трет*-бутил-2,3-дигидроксибензилсульфанил)уксусной кислотой в ацетонитриле. В: *Инновации в медицине и фармации – 2016. Дистанционная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых; 10 октября – 17 ноября 2017 г.; Минск, Беларусь*. Минск: Белорусский государственный медицинский университет; 2016. с. 809–813.
23. Хабриев РУ, редактор. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*. Москва: Медицина; 2005. 832 с.
24. Аркуша АА. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимума консистенции [автореферат диссертации]. Харьков: Харьковский фармакологический институт; 1982. 23 с.
25. Loginova NV, Koval'chuk TV, Osipovich NP, Faletrov YV, Halauko YuS, Polozov GI, et al. Redox-active silver(I) complexes with sterically hindered 1,2-dihydroxybenzene derivatives: reduction of cytochrome *c* and antimicrobial activity. In: Thom R, editor. *Cytochromes b and c: Biochemical Properties, Biological Functions and Electrochemical Analysis*. New York: Nova Science Publishers; 2013. p. 121–172.
26. Гунько ВГ, Гунько АА, Мусиенко НМ. Изучение осмотической активности некоторых мазевых основ. *Химико-фармацевтический журнал*. 1982;3:89–91.
27. Стахевич СИ, Горбачевич ГИ. Антимикробная активность Ag(I)-содержащих гелей. *Молодая фармация – потенциал будущего. VII Всероссийская научная конференция студентов и аспирантов с международным участием; 24–25 апреля 2017 г.; Санкт-Петербург, Россия*. Санкт-Петербург: Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия; 2017. с. 589–592.
28. Roper WL. *Toxicological profile for silver*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Washington: U. S. Public Health Service; 1990. 157 p.

References

1. Gostishchev VK. *Infektsii v khirurgii: rukovodstvo dlya vrachei* [Infections in surgery: guide for doctors]. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. 761 p. Russian.
2. Khalilov MA. Questions of optimization in local treatment of chronic wounds. *Chelovek i ego zdorov'ye: nauchno-prakticheskii vestnik*. 2009;3:31–37. Russian.
3. Musalatov XA. *Khirurgiya katastrof* [Disaster surgery]. Moscow: Meditsina; 1998. 592 p. Russian.
4. Kuzin MI, Kostyuchenok BM, editors. *Rany i ranevaya infektsiya. Rukovodstvo dlya vrachei* [Wounds and wound infection. A guide for doctors]. Moscow: Meditsina; 1990. 592 p. Russian.
5. Percival SL, Bowler PG, Russel D. Bacterial resistance to silver in wound care. *Journal of Hospital Infection*. 2005;60:1–7. DOI: 10.1016/j.jhin.2004.11.014.
6. Mashkovskii MD. *Lekarstvennye sredstva* [Medical drugs]. Moscow: Meditsina; 1998. Russian.
7. Blagitko EM, Bugaychenko NV, Shorina GN, Il'ina VN, Morozov DV. Local treatment of wound infections. Problems and new means. *Vestnik Smolenskoii gosudarstvennoii meditsinskoi akademii*. 2003;1:99–102. Russian.
8. Tentsova AI, Gretskey VM. *Sovremennye aspekty issledovaniya i proizvodstva mazei* [Modern aspects of research and production of ointments]. Moscow: Meditsina; 1980. 192 p. Russian.
9. Chernov VN, Rodakov AV, Bayramov RN. Local treatment of purulent wounds by use of bandage with stellanin-PEG 3 %. *Meditsinskii vestnik Yuga Rossii*. 2013;2:120–123. Russian.
10. Chueshov VI, Zaitsev OI, Shebanova ST, Chernov MYu. *Promyshlennaya tekhnologiya lekarstv. Tom 1* [Industrial technology of drugs. Volume 1]. Chueshov VI, editor. Kharkiv: MTK-Kniga; 2002. 560 p. Co-published by the NFall. Russian.
11. Loginova NV, Chernyavskaya AA, Polozov GI, Koval'chuk TV, Bondarenko EV, Osipovich NP, et al. Silver(I) interaction and complexation with sterically hindered sulfur-containing diphenol derivatives. *Polyhedron*. 2005;24:611–618. DOI: 10.1016/j.poly.2005.01.007.
12. Loginova N, Chernyavskaya A, Polozov G, Osipovich N, Koval'chuk T, Gres A, et al. Bioactive silver(I) complexes with phenolic derivatives of thioglycolic and thiopropionic acids. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*. 2013;10(3):227–240. DOI: 10.2174/1570193X11310030003.

13. Loginova NV, Koval'chuk TV, Gres AT, Osipovich NP, Polozov GI, Halauko YuS, et al. Redox-active metal complexes of sterically hindered phenolic ligands: antibacterial activity and reduction of cytochrome *c*. Part IV. Silver(I) complexes with hydrazone and thiosemicarbazone derivatives of 4,6-di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxybenzaldehyde. *Polyhedron*. 2015;88:125–137. DOI: 10.1016/j.poly.2014.12.014.
14. Boreko EI, Koval'chuk TV, Loginova NV, Polozov GI, Shadyro OI, Chernyavskaya AA, inventors; Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University, assignee. Silver-based broad-spectrum antimicrobial agent with an antiherpetic activity. Republic of Belarus 15000. 2011 February 28. Russian.
15. Loginova NV, Chernyavskaya AA, Osipovich NP, Koval'chuk TV, Polozov GI, Shadyro OI, inventors. Research Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University, assignee. Silver-containing antifungal agent with a wide spectrum of action. Republic of Belarus 17021. 2012 December 30. Russian.
16. Harbatsevich HI, Stakhevich SI, Loginova NV, Osipovich NP, Slabko IN, Ksendzova GA. Stabilization of the silver(I) complex with 2-(4,6-di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxyphenylsulfanyl)acetic acid in the antimicrobial dosage form. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*. 2017;2:59–67. Russian.
17. Sviridov VV, editor. *Chemical metals deposition from aqueous solutions*. Minsk: Universitetskoe; 1987. 270 p. Russian.
18. Stakhevich SI, Gorbatshevich GI. *Razrabotka serebrosoderzhashchikh antimikrobnykh mazei* [Development of silver-containing antimicrobial ointments]. In: *Aktual'nye voprosy sovremennoi meditsiny i farmatsii. 69-ya itogovaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya studentov i molodykh uchenykh; 19–20 aprelya 2017 g.; Vitebsk, Belarus'* [Actual issues of modern medicine and pharmacy. The 69th scientific practical conference; 2017 April 19–20; Vitebsk, Belarus]. Vitebsk: Vitebsk State Medical Institute; 2017. p. 675–678. Russian.
19. Krasnyuk II, Mikhailova GV, Grigorieva ON. *Praktikum po tekhnologii lekarstvennykh form* [Workshop on technology of medicinal forms]. Krasnyuk II, Mikhailova GV, editors. Moscow: Academia; 2010. 425 p. Russian.
20. Arkusha AA. *Otsenka i kontrol' konsistentnykh svoystv mazei pri pomoshchi reogramm* [Evaluation and control of the consistent properties of ointments using reograms]. Kharkiv: National University of Pharmacy; 1986. 12 p. Russian.
21. Tikhonov AI, Yarnykh TG, Zupanets IA. *Biofarmatsiya* [Biopharmacy]. Kharkiv: Zoloty strannitsy; 2003. 241 p. Russian.
22. Stakhevich SI, Harbatsevich HI. Development and validation of the method of spectrophotometric determination of silver(I) complex with 2-(4,6-di-*tert*-butyl-2,3-dihydroxyphenylsulfanyl)acetic acid in acetonitrile. In: *Innovatsii v meditsine i farmatsii – 2016. Distantionnaya nauchno-prakticheskaya konferentsiya studentov i molodykh uchenykh; 10 oktyabrya – 17 noyabrya 2017 g.; Minsk, Belarus* [Innovations in medicine and pharmacy – 2016. Remote scientific practical conference; 2017 October 10 – November 17; Minsk, Belarus]. Minsk: Belarusian State Medical University; 2016. p. 809–813. Russian.
23. Khabriev RU, editor. *Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv* [Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances]. Moscow: Meditsina; 2005. 832 p. Russian.
24. Arkusha AA. *Issledovanie strukturno-mekhanicheskikh svoystv mazei s tsel'yu opredeleniya optiuma konsistentsii* [Study of the structural and mechanical properties of ointments in order to determine the consistency optima] [dissertation abstract]. Kharkiv: National University of Pharmacy; 1982. 23 p. Russian.
25. Loginova NV, Koval'chuk TV, Osipovich NP, Faletrov YV, Halauko YuS, Polozov GI, et al. Redox-active silver(I) complexes with sterically hindered 1,2-dihydroxybenzene derivatives: reduction of cytochrome *c* and antimicrobial activity. In: Thom R, editor. *Cytochromes b and c: Biochemical Properties, Biological Functions and Electrochemical Analysis. Hauppauge*. New York: Nova Science Publisher's; 2013. p. 121–172.
26. Gunko VG, Gunko AA, Musienko NM. Study of the osmotic activity of some ointment bases. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 1982;3:89–91. Russian.
27. Stakhevich SI, Harbatsevich HI. Antimicrobial activity of Ag(I) containing gels. *Molodaya farmatsiya – potentsial budushchego. VII Vserossiiskaya nauchnaya konferentsiya studentov i aspirantov s mezhdunarodnym uchastiem; 24–25 aprelya 2017 g.; Sankt-Peterburg, Russia* [Young pharmacy – future potential. VII All-Russian scientific conference; 2017 April 24–25; Saint Petersburg, Russia]. Saint Petersburg: Saint Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy; 2017. p. 589–592. Russian.
28. Roper WL. *Toxicological profile for silver*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Washington: U. S. Public Health Service; 1990. 157 p.

Статья поступила в редакцию 03.05.2019.
Received by editorial board 03.05.2019.