

*На правах рукописи*

**БАСАРЕВА Ольга Ильинична**

**ПРОТИВОМИКРОБНАЯ, ИММУНОМОДУЛИРУЮЩАЯ  
И РАНОЗАЖИВЛЯЮЩАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕЛЕЙ  
МЕТАЛЛОКОМПЛЕКСОВ N-(1-АДАМАНТИЛ)-2-ГИДРОКСИ-  
4-ОКСО-4-(N-ТОЛИЛ)-КРОТОНАМИДА И 1-( $\beta$ -ОКСИЭТИЛ)-  
2-МЕТИЛ-5-НИТРОИМИДАЗОЛА  
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВОСПАЛЕНИИ**

**14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология**

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

**Белгород – 2012**

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации

**Научный руководитель:** доктор биологических наук, профессор  
**Лазурина Людмила Петровна**

**Официальные оппоненты:** **Покровский Михаил Владимирович**  
доктор медицинских наук, профессор, ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», заведующий кафедрой фармакологии и фармацевтических дисциплин Института последипломного медицинского образования

**Сергиенко Аэлита Валерьевна**  
доктор биологических наук, ГБОУ ВПО «Пятигорская государственная фармацевтическая академия» Минздравсоцразвития России, профессор кафедры клинической фармакологии

**Ведущая организация:** **ОАО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ» (ВНЦ БАВ)**

Защита состоится \_\_\_\_\_ 2012 г. в \_\_\_\_\_ на заседании совета по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание учёной степени доктора наук Д 212.015.13 при ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» по адресу: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2012 г.

Учёный секретарь  
совета по защите диссертаций на соискание  
учёной степени кандидата наук, на соискание  
учёной степени доктора наук, д.б.н.



**В.И. Кочкаров**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** На современном этапе развития медицины проблема гнойно-воспалительных заболеваний все более привлекает внимание специалистов разного профиля (Сергиенко А.В., 2007).

Актуальность проблемы лечения гнойных ран объясняется появлением резистентных и полирезистентных форм микроорганизмов к имеющимся антибактериальным препаратам, увеличением числа иммунодефицитных состояний (Блатун Л.А., 2002; Абаев Ю.К., 2006)

Гнойно-воспалительные заболевания и их осложнения составляют 35-40% в структуре хирургической патологии. Ведущее место среди хирургической инфекции как по частоте развития, так и по возможным осложнениям занимают гнойные заболевания мягких тканей (Хачатрян Н.Н., Смирнов Г.Г., Фисенко Т.А., 2011; Козлов С.Н., 2009)

Исходя из сложного патогенеза раневого процесса с учетом его фазы, а также характера возбудителя и его чувствительности к лекарственным препаратам, необходим дифференцированный подход к выбору лекарственных средств для местного лечения инфицированных ран.

Поэтому разработка новых лекарственных средств и форм, отличающихся конкурентоспособными свойствами в отношении фармакотерапевтической эффективности, удобства применения, низкой стоимости и других характеристик имеет важное значение. Современный уровень теоретических и практических достижений общебиологических, медицинских и технических наук позволяет с новых позиций подойти к решению проблемы повышения эффективности лекарственных средств для лечения инфицированных ран.

В связи с этим оправданно повысился интерес к химической модификации лекарственных средств, которая может осуществляться различными способами.

Одним из перспективных направлений является введение антимикробных препаратов в волокнистые материалы и создание на их основе перевязочных материалов и средств нового поколения благодаря использованию полимеров (Кильдеева Н.Р., 2006; Олтаржевская Н.Д., 2010)

Поэтому поиск новых научно обоснованных способов получения биологически активных веществ и полимерных лекарственных форм на их основе, которые надежно и в короткий срок могут подавлять рост инфекционного агента, купировать болевой синдром и адсорбировать экссудат, то есть обладать выраженным многонаправленным действием, остается в настоящее время актуальной задачей.

Настоящая работа выполнена в соответствии с одним из научных направлений Курского государственного медицинского университета и кафедры биологической и химической технологии по проблеме «Медико-биологические информационные технологии» (№ госрегистрации ВНТИ Центра 12009565143).

**Целью работы** явилось изучение противомикробной, иммуно-

модулирующей и ранозаживляющей активности *in vitro* и *in vivo* полимерных лекарственных форм, содержащих металлокомплексы меди, серебра и цинка с N-(1-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(*n*-толил)-кротонамидом и I-( $\beta$ -оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазолом и при моделировании экспериментального воспаления.

#### **Задачи исследования.**

1. Изучить противомикробную и противогрибковую активность новых комплексных соединений серебра, меди и цинка с N-(1-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(*n*-толил)-кротонамидом и I-( $\beta$ -оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазолом и оценить их влияние на течение экспериментальной стафилококковой инфекции.

2. Изучить иммуномодулирующее действие металлокомплексов, общетоксическое, раздражающее, алергизирующее и противовоспалительное действие в эксперименте на животных, установив наиболее эффективные для дальнейшего изучения.

3. Изучить противомикробную активность металлокомплексов в составах для пропитки химически модифицированной медицинской марли.

4. Изучить противомикробную активность металлокомплексов в составе гидрофильных гелей, влияющих на гнойно-воспалительный процесс.

5. Изучить противомикробную активность металлокомплексов в составе многокомпонентных тканевых аппретов и их влияние на заживление инфицированной раны в эксперименте.

**Научная новизна работы.** Проведен комплекс исследований, в результате чего впервые установлено, что металлокомплексные соединения с производными адамантана и 5-нитроимидазола обладают противомикробной и противогрибковой активностью, противовоспалительным и иммуномодулирующим действием как в виде растворов, так и в составе гидрофильных гелей с целью их применения в дерматологии и косметологии.

Выявлено, что металлокомплексы относятся к классу малотоксичных веществ, не проявляют раздражающего и алергизирующего действия в эксперименте на животных.

Впервые изучено и предложено сочетание металлокомплексов в составе растворов и гидрофильных гелей для пропитки активированной медицинской марли и оценено их влияние на биодоступность ингредиентов.

Впервые показано противомикробное, противовоспалительное и ранозаживляющее действие многокомпонентных тканевых аппретов, содержащих металлокомплексы при экспериментальном воспалении.

**Практическая значимость работы.** Проведенные исследования позволяют с новых позиций подойти к решению проблемы повышения эффективности уже известных лекарственных средств для лечения инфицированных ран, отличающихся конкурентоспособными свойствами в отношении фармакотера-

пептической эффективности, стимулирующего действия на различные системы организма, безопасности применения, удобства эксплуатации и низкой стоимости.

Получение металлокомплексов и иммобилизация их в полимерные формы позволяют увеличить противомикробную, противогрибковую и противовоспалительную активность, обеспечивают обезболивающий, ранозаживляющий и регенерирующий эффекты и являются научно-экспериментальным обоснованием их использования при местном лечении и профилактике инфицированных ран.

Материалы диссертации используются в научно-исследовательской работе и учебном процессе кафедры фармакологии ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, НИИ экологической медицины ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России и кафедры фармакологии и фармацевтических дисциплин Института последипломного медицинского образования ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на: Международной научно-технической конференции «Медико-экологические информационные технологии» (Курск, 2003), Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов «Социально экономическое развитие регионов: реальность и перспективы» (Воронеж, 2003), юбилейной научной конференции, посвященной 70-летию Курского государственного медицинского университета, «Университетская наука: Взгляд в будущее» (Курск, 2005), 71-й итоговой научной конференции молодых ученых ГОУ ВПО КГМУ «Университетская наука: Взгляд в будущее» (Курск, 2006), 72-й итоговой научной конференции молодых ученых ГОУ ВПО КГМУ «Университетская наука: Взгляд в будущее» (Курск, 2007), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Биотехнология. Биомедицинская инженерия и технология социальных практик» (Курск, 2009-2011).

**Личное участие автора.** Автором проанализированы отечественные и зарубежные источники по теме диссертационного исследования, проведены серии экспериментов, получены и обобщены результаты исследования, проведена статистическая обработка и анализ полученных данных. Лично проведено моделирование дизайна исследования, научное обоснование и выбор методов исследования. Автор лично участвовал в апробации результатов исследования, в подготовке основных научных публикаций по теме выполненной работы.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 15 работ, в том числе 3 в журналах из перечня ВАК Минобрнауки РФ, получен 1 патент на изобретение.

### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Комплексообразование меди, серебра и цинка с N-(I-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(n-толил)-кротонамидом и I-(β-оксиэтил)-2-метил-5- нитроимидазолом позволяет увеличить противомикробную, противогрибковую активность и противовоспалительное действие, повышая индекс активности при экспериментальном стафилококковом воспалении.

2. Комплексные соединения металлов значимо усиливают стимулирующие действия на факторы неспецифической резистентности (фагоцитоз, лизоцим, бактерицидная активность сыворотки крови), гуморального и клеточного иммунитета и относятся к классу малотоксичных соединений.

3. Составы для пропитки, гидрофильные гели, многокомпонентные тканевые аппреты, содержащие комплексные соединения (0,5%), проявляют противомикробную активность, обеспечивают атравматичность, многонаправленное действие и пролонгированное высвобождение компонентов, быстрее купируют экссудативную фазу воспалительного процесса, стимулируют процессы репаративной регенерации, сокращая сроки лечения инфицированных ран в эксперименте на 3-4 дня.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов и списка литературы; изложена на 144 страницах компьютерного текста, содержит 28 таблиц и 5 рисунков. Библиографический указатель включает 194 отечественных и 56 зарубежных литературных источников.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы исследования**

Все экспериментальные работы проводили согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (Фисенко В.П., Арзамасцев Е.В., Бабаян Э.А., 2000) с определением ЛД<sub>50</sub> (Беленький М.А., Арзамасцев Е.В., 2000), «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (под редакцией Хабриева Р.У., 2005), «Методическим рекомендациям по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран» (Даценко Б.М., Калинин Н.Ф., Лепехин В.К., 1995), «Методическим рекомендациям по экспериментальному изучению местноанестезирующих средств (Игнатов Ю.Д., Васильев Ю.Н., Жуков В.Н., 1990), «Методическим рекомендациям по выведению животных из эксперимента» (Куфлина С.А., 1985), «Руководству для врачей» (под редакцией Кузина М.И., Костюченко Б.М., 1990).

Биологическую активность металлокомплексов серебра, меди и цинка изучали в эксперименте *in vitro* и *in vivo* с установлением противомикробной,

противогрибковой и иммуномодулирующей активности. Для оценки безопасности металлокомплексов и предлагаемых полимерных тканевых аппретов изучено общетоксическое действие: острая токсичность, раздражающее и аллергизирующее действие.

Исследование специфической фармакологической активности полимерных тканевых аппретов проводили в эксперименте на биосовместимость и биофармацевтическую доступность ингредиентов с использованием адекватных экспериментальных моделей лабораторных животных. Работа выполнялась стандартными методами *in vitro* и *in vivo* на микроорганизмах.

При выполнении экспериментальных исследований были использованы теплокровные животные 4 видов (белые мыши массой 18-20 г (354 особи), белые крысы линии Wistar массой 100-150 г и 180-220 г (262 особи), кролики массой 2,5-3,0 кг (8 особей), морские свинки массой 320-350 г обоего пола (47 особей). Все исследования проводились в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приказом МЗ СССР № 75 от 12.08.1977 г.

При выполнении поставленных задач применен комплекс современных фармакологических, микробиологических, иммунологических, гистологических, физико-химических и математических методов. Объекты исследования: комплексные соединения, образцы цельной крови, некоторые органы (селезенка, печень, почки) и биологические ткани экспериментальных животных. Растворы комплексных соединений готовили на стерильном физиологическом растворе натрия хлорида, готовили суспензии в твине-80 и физиологическом растворе натрия хлорида, воде для инъекций и вводили внутривенно и внутримышечно (мыши, крысы, морские свинки), а также наносили в виде растворов и кожных аппликаций на эпилированные участки кожи спины (крысы, морские свинки) и аппликаций на роговицу глаза (кролики). Контрольные группы животных получали физиологический раствор в эквивалентном объеме.

В экспериментах использовались субстанции металлокомплексов и их гидрофильные гели, а также дополнительные вещества, полученные с заводоизготовителей с соответствующими протоколами анализа по требованиям НД (ГФ СССР X и XI изданий, отдельных ВФС и ФС, ГОСТ, ОСТ и ТУ).

Определение противомикробной активности в отношении облигатных анаэробных микроорганизмов проводили методом двухслойной агаровой культуры. Противомикробную активность растворов металлокомплексов (концентрация 10 мг/мл) и полимерных тканевых аппретов (0,5%), приготовленных на их основе, в отношении факультативно-анаэробных микроорганизмов определяли *in vitro* методом диффузии в агар в соответствии с рекомендациями ВОЗ и Государственной фармакопеи.

Минимальная подавляющая концентрация металлокомплексов определялась методом серийных разведений в отношении тех же тест-культур микроор-

ганизмов. Двукратные разведения препаратов в жидкой питательной среде проводили в концентрации от 10,0 до 0,31 мг/мл. Тест-культуры вносили в объеме 0,1 мл взвеси с концентрацией 1 млрд.м.г./мл.

В опытах *in vivo* активность металлокомплексов изучали на белых мышах (весом 18-20 г) при моделировании стафилококковой инфекции внутрибрюшинным заражением суточной агаровой культурой *Staphylococcus aureus* № 554, в дозе, вызывающей гибель 50% мышей в течение 7 суток ( $1 \times 10^7$  микробных клеток в 1 мл), и через сутки после заражения в течение 7 дней ежедневно вводили внутримышечно (0,1 мл) исследуемые препараты.

В экспериментальных исследованиях *in vivo* производные вводили внутримышечно в дозах 5% от ЛД<sub>50</sub>, что составляло 70 мг/кг для производного 5-нитроимидазола и 40 мг/кг для производного адамантана. Терапевтическую эффективность металлокомплексов оценивали по выживаемости животных. Определение острой токсичности биокомплексов проводили на мышах при внутрибрюшинном способе введения (Беленький М.А., 1963; Arzamastsev E.V., 1988) свежеприготовленных подогретых водных растворов металлокомплексов. Определение показателей токсичности соединений проводилось с использованием комбинированного метода определения ЛД<sub>50</sub> и других параметров (ЛД<sub>10</sub>, ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>84</sub>).

Местноанестезирующую активность гидрофильных гелей изучали в опытах *in vivo* методом Ренье-Валета (Игнатов Ю.Д., Васильев Ю.Н., Жуков В.Н., 1990).

При изучении действия новых биокомплексов на гуморальный иммунный ответ крысам линии Wistar внутримышечно вводили исследуемые препараты в твине и физиологическом растворе натрия хлорида 1 раз в сутки в течение 5 дней с последующей иммунизацией животных эритроцитами барана и определением в селезенке количества антителообразующих клеток (Мальберг К., Зигль Э., 1987).

Изучение влияния биокомплексов на показатели врожденного иммунитета проведено на крысах линии Wistar. Из факторов неспецифической защиты определяли фагоцитарную активность лейкоцитов, активность бактерицидных систем фагоцитов (кислородзависимых и кислороднезависимых), резервную функцию системы фагоцитоза, уровень сывороточного лизоцима и бактерицидную активность сыворотки крови (БАС) (Виксман М.Е., Маянский А.Н., 1979; Дорофейчук В.Г., 1968).

Изучение общетоксического, кожно-раздражающего и аллергизирующего действия на кожу экспериментальных морских свинок влияния на некоторые обменные процессы в коже (содержание суммарных липидов, общих и растворимых белков) проведено согласно «Инструкции по экспериментально-клинической апробации косметических средств» (Бобков Ю.Г., 1986).

Изучение терапевтической эффективности полимерных тканевых аппре-



тов, содержащих новые комплексные соединения, проведено на крысах-самцах линии Wistar (модель инфицированной гнойной раны).

Химическую модификацию медицинской марли проводили путем обработки водными растворами гидроксида натрия (10-20%) и мочевины (30-50%). Физико-химические показатели активированной медицинской марли определяли в соответствии с ГОСТ 3618-81.

Все полученные данные подвергнуты статистической обработке с определением критерия Стьюдента при помощи программы "Biostat", с использованием персонального компьютера.

### **Результаты исследований и их обсуждение**

В качестве металлов-комплексобразователей были выбраны медь, цинк и серебро и лекарственное вещество производное 5-нитроимидазола – I-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазол и новое синтезированное на основе адамантана соединение производное адамантана – N-(I-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(п-толил)-кротонамид. Данные химического и элементного анализа, ИК-спектроскопии позволили доказать индивидуальность структуры полученных соединений.

Изучение противомикробного действия новых комплексных соединений по отношению к облигатно-анаэробным микроорганизмам показало отсутствие достоверных различий по отношению к соединениям сравнения. В отношении факультативно-анаэробных микроорганизмов металлокомплексы обладают выраженной противомикробной активностью, так как зона задержки роста бактерий была значимо выше по сравнению с соединениями сравнения (табл. 1).

Установлено, что PAd и PMn оказывают подавляющее действие в отношении изучаемых тест-штаммов в концентрациях 2,5-5,0 мг/мл, а их металлокомплексы – в концентрациях 0,63 – 1,25 мг/мл. PMn оказывает подавляющее действие на *S.aureus*, *E.coli*, *B.subtilis*, *B.cereus*, *C.albicans* в концентрации 2,5 мг/мл, а на *P.vulgaris*, *P.aeruginosa* – 5,0 мг/мл. PMnAg оказывало подавляющее действие на все тест-культуры независимо от структуры клеточной стенки в дозе 0,63 мг/мл. МПК PMnZn в отношении грамположительных микроорганизмов изменялись в диапазоне от 0,63 до 1,25 мг/мл, в отношении же грамотрицательных бактерий и грибов составила – 1,25 мг/мл. PMnCu оказывало подавляющее действие на *S.aureus*, *B.subtilis*, *E.coli* в концентрациях 0,63 мг/мл, а на *B.cereus*, *P.aeruginosa*, *P.vulgaris* и *C.albicans* в концентрации 1,25 мг/мл.

Таким образом, комплексообразование меди, серебра и цинка с PAd и PMn значимо повышало их активность *in vitro*, что позволило рекомендовать новые комплексные соединения для дальнейших исследований.

Поскольку далеко не всегда установленное *in vitro* противомикробное действие может совпадать с его активностью в живом организме, а наиболее часто встречающимся ассоциатом при хирургической инфекции является

*S.aureus*, были проведены исследования протективной активности комплексов меди, серебра и цинка в опытах на мышах при внутрибрюшинном их заражении культурой *Staphylococcus aureus* № 554.

Сравнительный анализ полученных данных позволил установить увеличение терапевтической активности металлокомплексов *in vivo* по сравнению с соединениями сравнения и контролем, так как индекс активности возрастал при стафилококковой инфекции для PMnCu, PMnZn и PMnAg – в 5-8 раз, а для PAdCu, PAdZn PAdAg – в 2,5-4 раза.

Следует отметить, что изучаемые соединения относятся к классу малотоксичных веществ. Исследование показателей острой токсичности соединений проведено на мышах с использованием метода пробит-анализа по Литчфилду и Уилкоксону с определением точных значения ЛД<sub>50</sub> и других показателей токсичности (ЛД<sub>10</sub>, ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>84</sub>): PMn – 1403±130 мг/кг, для PAd – 799±40 мг/кг, а для комплексных соединений: PMnZn – 447±45 мг/кг, PMnCu – 378±21 мг/кг и PMnAg – 252±17 мг/кг; PAdZn – 604±35 мг/кг, PAdCu – 405±65 мг/кг и PAdAg – 258±65 мг/кг.

Таблица 1

**Противомикробная активность комплексных соединений  
в отношении факультативно-анаэробных микроорганизмов (M±m)**

Тест-культура	Диаметр зоны задержки роста тест-штаммов, мм							
	PMn	PMnCu	PMnAg	PMnZn	PAd	PAdCu	PAdAg	PAdZn
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	9,2±0,2	22,3±0,4 <sup>1</sup>	20,3±0,4 <sup>1</sup>	20,6±0,5 <sup>1</sup>	8,9±0,3	18,2±0,2 <sup>5</sup>	8,5±0,3 <sup>5</sup>	18,7±0,4 <sup>5</sup>
<i>S.aureus</i> 209-P	8,2±0,2	23,5±0,3 <sup>1</sup>	23,1±0,5 <sup>1</sup>	23,3±0,4 <sup>1</sup>	8,2±0,3	16,8±0,3 <sup>5</sup>	17,0±0,3 <sup>5</sup>	16,5±0,3 <sup>5</sup>
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	9,8±0,2	25,1±0,2 <sup>1</sup>	25,3±0,4 <sup>1</sup>	24,0±0,5 <sup>1</sup>	8,9±0,3	17,9±0,2 <sup>5</sup>	19,0±0,3 <sup>5</sup>	18,4±0,4 <sup>5</sup>
<i>B.cereus</i> ATCC 10702	6,8±0,3	23,2±0,2 <sup>1</sup>	21,0±0,5 <sup>1</sup>	20,3±0,5 <sup>1</sup>	7,0±0,2	16,6±0,3 <sup>5</sup>	16,8±0,2 <sup>5</sup>	16,2±0,3 <sup>5</sup>
<i>E.coli</i> ATCC 25922	8,2±0,3	20,3±0,3 <sup>1</sup>	20,0±0,3 <sup>1</sup>	20,0±0,5 <sup>1</sup>	7,6±0,2	16,8±0,2 <sup>5</sup>	17,1±0,3 <sup>5</sup>	16,4±0,3 <sup>5</sup>
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	7,9±0,3	19,4±0,2 <sup>1</sup>	19,2±0,4 <sup>1</sup>	19,6±0,4 <sup>1</sup>	6,4±0,2	15,2±0,2 <sup>5</sup>	16,2±0,3 <sup>5</sup>	15,8±0,2 <sup>5</sup>
<i>C.albicans</i> NCTC 2625	7,0±0,2	18,8±0,3 <sup>1</sup>	18,2±0,4 <sup>1</sup>	18,0±0,5 <sup>1</sup>	6,0±0,2	15,8±0,2 <sup>5</sup>	16,0±0,2 <sup>5</sup>	15,0±0,2 <sup>5</sup>

**Примечание.** PMn - производное 5-нитроимидазола; PMnZn – комплексное соединение цинка с производным 5-нитроимидазола; PMnAg – комплексное соединение серебра с производным 5-нитроимидазола; PMnCu – комплексное соединение меди с производным 5-нитроимидазола; PAd – производное адамантана; PAdZn – комплексное соединение цинка с производным адамантана; PAdAg – комплексное соединение серебра с производным адамантана; PAdCu – комплексное соединение меди с производным адамантана; различия данных по отношению к производному 5-нитроимидазола <sup>1</sup> достоверно (p<0,05); различия данных по отношению к производному адамантана <sup>5</sup> достоверно (p<0,05).

Комплексные соединения не проявляли общетоксического действия на экспериментальных животных – аппетит, привес, реактивность, подвижность, состояние кожи и шерсти не отличались от контроля. Кожно-раздражающее и аллергизирующее действие изучали в методе накожных аппликаций на морских свинках, которым на выстриженный участок кожи наносили раствор или гель по раздражающему действию конъюнктивы, введением тестируемых соединений под верхнее веко морским свинкам. Оценку кожно-раздражающего действия проводили ежедневно визуально. Установлено, что металлокомплексы не обладали раздражающим и аллергизирующим действием на кожу и конъюнктиву морских свинок в 0,5% и 5,0% концентрациях, не оказывали отрицательного воздействия на морфологическую структуру кожи и печени.

Металлокомплексные соединения оказывали эффективное противовоспалительное действие – угнетение воспаления через 1 час составило 30-40%, через 2 часа – 45-55% и через 3 часа – 60-66%.

Изучено влияние новых металлокомплексов на показатели иммунного ответа. Исследование проводили на белых крысах-самцах линии Wistar, препараты вводили внутримышечно в твине-80 и физиологическом растворе натрия хлорида в течение 5 дней в дозе 5% ЛД<sub>50</sub>, что составило PAd – 40 мг/кг, а для PMn – 70 мг/кг. Через 5 дней животных иммунизировали эритроцитами барана (ЭБ) и определяли в селезенке количество антителообразующих клеток (АОК), один из ведущих показателей, который позволяет судить о выраженности гуморального иммунного ответа. Важным фактором антиинфекционной защиты, определяющим дальнейшее развитие инфекционного процесса, является ее неспецифическое звено. Проведенные исследования позволили сделать вывод, что изучаемые металлокомплексы меди, серебра и цинка повышают фагоцитарную активность нейтрофилов и стимулируют бактерицидную активность сыворотки крови крыс, повышают уровень сывороточного лизоцима, завершенность фагоцитоза, а также можно констатировать факт более выраженного действия на гуморальное звено иммунитета, так как количество антителообразующих клеток увеличивается в 1,5-2 раза для комплексных соединений с PMn и в 1,4-1,7 раза для комплексных соединений с PAd.

Изучено влияние металлокомплексов цинка, серебра и меди на противомикробную активность в составе наружных полимерных лекарственных форм.

Целлюлозные материалы, в частности медицинская марля в качестве основы-носителя лекарственных веществ, обладают рядом необходимых свойств после химической модификации, а именно: повышенной сорбционной способностью, капиллярностью и увеличенным количеством активных центров, т.е. улучшенными физико-химическими показателями. Проведенные сравнительные исследования позволили установить, что химическая модификация медицинской марли (50% раствором мочевины с 4% NaOH от веса раствора с последующей термообработкой при 150<sup>0</sup>С) обеспечивает получение сорбционно-активных производных, которые при дальнейшей обработке металлокомплексами обладают значимой антимикробной активностью в отношении изучаемых микроорганизмов и сохраняют её после многократных обработок (до 20 обра-

боток) ПАВ неионогенного характера по сравнению с обычной, немодифицированной марлей.

Проведены исследования, заключающиеся в иммобилизации комплексных соединений в полимерных композициях на активированную медицинскую марлю, что обеспечивает атравматичность и пролонгированное антимикробное действие.

Исследование противомикробной активности полученных гелей (тканевых аппретов) позволило установить выраженную антимикробную активность в отношении всех изучаемых тест-штаммов, т.к. диаметр зоны задержки роста микроорганизмов в среднем увеличивался в 1,5 раза относительно PMn, т.е. изучаемые комплексные соединения сохраняли свою противомикробную активность в предлагаемых полимерных составах (табл. 2).

Таблица 2

**Противомикробная активность тканевых аппретов,  
содержащих металлокомплексы \* (M+m)**

№ гр	Составы тканевых аппретов		Диаметр зоны задержки роста тест-штаммов, мм					
			<i>S.aureus</i> 209-P	<i>E.coli</i> ATCC 25922	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	<i>B.cereus</i> ATCC 10702	<i>C.albicans</i> NCTC 2625	
1	Состав 1: коллаген, ПВП, глицерин, вода очи- щенная	1	PMn	15,0±0,3	16,0±0,3	16,8±0,4	17,0±0,4	16,3±0,4
		2	PMnZn	27,1±0,4 <sup>1</sup>	25,0±0,3 <sup>1</sup>	28,0±0,4 <sup>1</sup>	25,0±0,2 <sup>1</sup>	20,9±0,3 <sup>1</sup>
		3	PMnCu	27,8±0,3 <sup>1</sup>	25,0±0,3 <sup>1</sup>	28,3±0,4 <sup>1</sup>	27,5±0,3 <sup>1</sup>	25,0±0,2 <sup>1</sup>
2	Состав 2: ГПМЦ, ПВП, глицерин, вода очи- щенная	4	PMn	15,8±0,3	16,5±0,2	17,0±0,3	17,0±0,3	16,0±0,3
		5	PMnZn	27,3±0,4 <sup>4</sup>	25,0±0,4 <sup>4</sup>	28,2±0,4 <sup>4</sup>	24,9±0,3 <sup>4</sup>	20,3±0,4 <sup>4</sup>
		6	PMnCu	28,0±0,4 <sup>4</sup>	25,7±0,4 <sup>4</sup>	29,0±0,3 <sup>4</sup>	27,5±0,4 <sup>4</sup>	25,0±0,3 <sup>4</sup>
3	Состав 3: хондроитина сульфат, ПВП, глицерин, вода очи- щенная	7	PMn	15,5±0,4	16,7±0,3	17,5±0,2	17,0±0,4	16,5±0,3
		8	PMnZn	27,7±0,3 <sup>7</sup>	25,3±0,3 <sup>7</sup>	28,1±0,3 <sup>7</sup>	25,5±0,4 <sup>7</sup>	23,0±0,3 <sup>7</sup>
		9	PMnCu	28,3±0,3 <sup>7</sup>	26,0±0,3 <sup>7</sup>	29,1±0,4 <sup>7</sup>	28,0±0,3 <sup>7</sup>	24,8±0,4 <sup>7</sup>
4	Состав 4: ПВП, глицерин, вода очи- щенная	10	PMn	16,4±0,4	17,5±0,3	16,7±0,4	16,0±0,3	15,4±0,2
		11	PMnZn	24,5±0,2 <sup>10</sup>	27,8±0,3 <sup>10</sup>	25,3±0,3 <sup>10</sup>	22,4±0,4 <sup>10</sup>	27,4±0,3 <sup>10</sup>
		12	PMnCu	25,0±0,3 <sup>10</sup>	28,5±0,4 <sup>10</sup>	26,5±0,3 <sup>10</sup>	23,4±0,3 <sup>10</sup>	28,0±0,4 <sup>10</sup>

**Примечание.** \* – концентрация в тканевых аппретатах металлокомплексов и соединений сравнения – 0,5%; 1, 4, 7, 10 – достоверность различий средних относительно 1, 4, 7, 10 групп (p<0,05).

Изучено влияние комплексных соединений на антимикробную активность многокомпонентных полимерных тканевых аппретов, содержащих хондроитина сульфат, ПВП, глицерин, анестетик, антисептик и витамины (табл. 3, 4).

Таблица 3

**Составы многокомпонентных полимерных тканевых аппретов**

№ п/п	Наименование ингредиентов	НТД	Количество ингредиентов, г	
			Композиция № 1	Композиция № 2
1	Производное 5-нитроимидазола – PMn	ВФС 42-2284-93	1,0	-
2	Комплексное соединение – PMnCu	-	-	0,5
3	Комплексное соединение – PMnZn	-	-	0,5
4	Хондроитина сульфат	ФС РБ 0568-04	5,0	5,0
5	ПВП	ФСП 42-0345-4368-03	5,0	5,0
6	Глицерин	ФС 42-2202-99	5,0	5,0
7	Анестетик (анестезин)	ФС 0000-43	3,0	3,0
8	Антисептик (мирамистин)	ФС 42-376-99	1,0	1,0
9	Витамин С	ФСП 0091С-2006	2,0	2,0
10	Вода очищенная	ФС 42-2619-97	78,0	78,0

Таблица 4

**Противомикробная активность полимерных тканевых аппретов\* (M±m)**

Тест-культура	Диаметр зоны задержки роста тест-штаммов, мм		
	Составы полимерных тканевых аппретов		
	Хондроитина сульфат, ПВП, глицерин, вода очищенная	Хондроитина сульфат, ПВП, глицерин, анестетик, антисептик, витамин, вода очищенная	
	PMn	PMn	PMnZn+ PMnCu
	1	2	3
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	15,5±0,4	27,7±0,8 <sup>1</sup>	34,5±1,2 <sup>1,2</sup>
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	17,5±0,2	26,4±0,5 <sup>1</sup>	32,1±1,3 <sup>1,2</sup>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 10702	17,0±0,3	26,6±0,7 <sup>1</sup>	33,2±0,9 <sup>1,2</sup>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	16,7±0,3	25,6±0,9 <sup>1</sup>	31,4±1,1 <sup>1,2</sup>
<i>Candida albicans</i> NCTC 2625	16,5±0,3	24,3±0,7 <sup>1</sup>	30,3±1,0 <sup>1,2</sup>

**Примечание.** PMn – производное 5-нитроимидазола; PMnCu – комплексное соединение меди с производным 5-нитроимидазола; PMnZn – комплексное соединение цинка с производным 5-нитроимидазола; 1, 2 - достоверность различий средних относительно 1, 2 групп (p<0,05); \* - концентрация в полимерных матрицах PMn и PMnCu+ PMnZn – 1,0%.

Введение местного анестетика обусловлено подавлением болевого синдрома при местном лечении ран, а введение витаминов - тем, что при воспалительных процессах имеет место тканевая витаминная недостаточность. Антисептики имеют неоспоримый ряд преимуществ перед антибиотиками и перспективны для использования в многокомпонентных лекарственных формах.

Местноанестезирующую активность полимерных тканевых аппретов изучали в опытах *in vivo* методом Ренье-Валета, время полной анестезии составляло 55-70 минут, индекс Ренье 1100-1300 усл. ед., время восстановления чувствительности 70-80 минут.

Изучение ранозаживляющей активности полимерных покрытий в эксперименте на животных проводили при моделировании полнослойной гнойной раны. Животные были разделены на несколько групп. Серии эксперимента и результаты представлены в табл. 5.

Проведенные гистологические исследования позволили установить, что комбинирование в составе полимерного тканевого аппрета новых комплексных соединений меди и цинка (PMnZn+PMnCu) активизирует процессы регенерации и созревания соединительной ткани, а также рост эпителия по поверхности раны, т.е. способствует ранозаживляющей активности в ране как относительно группы контроля (серия 1), так и групп сравнения (серия 2 и серия 4).

Таблица 5

**Сроки заживления инфицированной раны  
в эксперименте на животных (M±m; n=10)**

№ гр.	Наименование группы	Сроки образования струпа, сутки
1	Животные с моделью инфицированной раны без лечения (серия 1, контроль)	14,7±0,6
2	Животные с моделью инфицированной раны, лечение полимерным тканевым аппретом, содержащим PMn, хондроитина сульфат, ПВП, глицерин (серия 2, группа сравнения)	13,0±0,8 <sup>1,4</sup>
3	Животные с моделью инфицированной раны, лечение полимерным тканевым аппретом, содержащим PMnZn + PMnCu, хондроитина сульфат, ПВП, глицерин, анестетик, антисептик (серия 3, опытная группа)	11,2±0,4 <sup>1,2,4</sup>
4	Животные с моделью инфицированной раны лечение мазью «Левомеколь» (серия 4, группа сравнения)	13,1±0,5 <sup>1</sup>

**Примечание.** Цифры надстрочного индекса обозначают номера групп, по сравнению с которыми наблюдается достоверные различия (p<0,05).

Подтверждением усиления процессов репаративной регенерации при использовании полимерного покрытия являются достоверно более ранние сроки образования струпа.

Цитограмма клеток подтверждала ускорение процессов очищения раны и ее регенерации: уменьшение количества нейтрофилов в поле зрения в 1,5-2 раза, увеличение числа макрофагов и фибробластов в 2 раза.

Таким образом, применение многокомпонентного покрытия, содержащего комплексные соединения меди и цинка, позволяет получить хороший эффект при лечении гнойных раневых процессов стафилококковой этиологии. Введение в состав полимерных покрытий дополнительно анестетика, антисептика и глицерина усиливает его антимикробную активность и ранозаживляющее действие и позволяет сократить сроки лечения до 11 суток.

## ВЫВОДЫ

1. Комплексные соединения меди, серебра и цинка с N-(1-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(п-толил)-кродонамидом и I-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазолом проявляют противомикробное действие и умеренную противогрибковую активность, превосходя по активности референтные соединения; увеличивают индекс активности при экспериментальной стафилококковой инфекции в 3-6 раз.

2. Металлокомплексы усиливают стимулирующее действие на факторы неспецифической резистентности (фагоцитоз, лизоцим, бактерицидную активность сыворотки крови), гуморального и клеточного иммунного ответа и относятся к классу малотоксичных веществ, не вызывают раздражающего и аллергизирующего действия, оказывают противовоспалительный эффект и регенеративное действие на метаболизм липидов и белков.

3. Составы для пропитки, содержащие комплексные соединения (0,5%), проявляют противомикробное действие, увеличивая антимикробную активность медицинской марли, активированной 50% раствором мочевины с 4% NaOH от веса раствора, с последующей термообработкой по отношению к патогенной микрофлоре.

4. Комплексные соединения (0,5%) в составе гидрофильных гелей обладают высокой противомикробной активностью, обладают обезболивающим действием, безопасны в применении и не препятствуют высвобождению изучаемых веществ.

5. Многокомпонентные тканевые аппреты, содержащие металлокомплексы (PMnZn (0,5%) + PMnCu (0,5%)), проявляют противомикробную активность, обеспечивают атравматичность, многонаправленное действие и пролонгированное высвобождение комплексных соединений, быстрее купируют экссудативную фазу воспалительного процесса, стимулируют процессы репаративной регенерации, сокращая сроки лечения в эксперименте на  $3,5 \pm 0,18$  суток.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Придание биоцидных свойств текстильным материалам медицинского назначения / О.И. Басарева, Л.П. Лазурина, В.М. Соломка [и др.] // Медико-экологические информационные технологии : сб. тр. VI междунар. науч.-техн. конф. (Курск, 21-22 мая 2003 г.) / Курск. гос. техн. ун-т ; редкол.: Н.А. Кореневский [и др.]. – Курск, 2003. – С. 121-123.

2. Разработка антимикробных мазей на основе коллагена / А.А. Краснов, О.И. Басарева, С.И. Московцев [и др.] // Социально-экономическое развитие регионов: реальность и перспективы : сб. науч. тр. междунар. науч.-практич. конф. молодых ученых и специалистов (Воронеж, 20-21 марта 2003 г.) / Воронеж. гос. ун-т ; редкол.: Н.А. Кореневский [и др.]. – Воронеж, 2003. – С. 103-104.

3. Антимикробная активность мазей, содержащих некоторые производные 5-нитроимидазола / С.И. Московцев, В.М. Соломка, И.В. Самохвалова, А.А. Краснов, О.И. Басарева, Л.П. Лазурина // Социально-экономическое развитие регионов: реальность и перспективы : сб. науч. тр. междунар. науч.-

практич. конф. молодых ученых и специалистов (Воронеж, 20-21 марта 2003 г.) / Воронеж. гос. ун-т ; редкол.: Н.А. Корневский [и др.]. – Воронеж, 2003. – С. 105.

4. Разработка гидрофильных препаратов антибактериального действия / А.А. Краснов, И.В. Самохвалова, О.И. Басарева [и др.] // Университетская наука: Взгляд в будущее : сб. тр. юбилейн. науч. конф. КГМУ и сес. Центр.-Чернозем. науч. центра РАМН, посвящ. 70-летию КГМУ : в 2 т. / под ред. А.И. Лазарева [и др.]. – Курск : Изд-во КГМУ, 2005. – Т. 2. – С. 291-292.

5. Определение микроколичеств 5-нитроимидазола с эссенциальными элементами в диализных средах / О.И. Басарева, О.В. Власова, А.А. Ячная, Л.П. Лазурина // Университетская наука: Взгляд в будущее : сб. тр. 71-й науч. конф. КГМУ и сес. Центр.-Чернозем. центра РАМН : в 2 т. / под ред. А.И. Лазарева [и др.]. – Курск : Изд-во КГМУ, 2006. – Т. 2. – С. 146.

6. К вопросу получения материалов медицинского назначения / О.И. Басарева, Л.П. Лазурина, С.В. Костров, Д.А. Хапчаева // Университетская наука: Взгляд в будущее : сб. тр. 72-й науч. конф. КГМУ и сес. Центр.-Чернозем. науч. центра РАМН : в 3 т. – Курск : Изд-во КГМУ, 2007. – Т. 3. – С. 153-154.

7. Изучение биологической активности комплексных соединений металлов с некоторыми антимикробными средствами / О.И. Басарева, А.В. Заикин, Д.А. Хапчаева [и др.] // Курский науч.-практич. вестник «Человек и его здоровье». – 2007. – № 4. – С. 5-11.

8. Создание новых лекарственных форм, содержащих комплексные соединения меди, серебра и цинка / Е.М. Букреева, А.В. Заикин, О.Н. Карпова, М.Т. Шехине, А.А. Краснов, О.И. Басарева // Молодежная наука и современность : сб. тр. 72-й науч. конф. : в 2 ч. / Курск. гос. мед. ун-т, Центр.-Чернозем. науч. центр. РАМН, Рос. акад. естеств. наук ; редкол.: А.И. Лазарев [и др.]. – Курск, 2007. – Ч. 2. – С. 101.

9. Изучение антимикробной активности комплексных соединений цинка, меди, железа и серебра с бета-лактамами антибиотиками / Д.А. Хапчаева, О.Н. Карпова, А.В. Заикин, А.С. Колоколов, О.С. Лосицкая, О.И. Басарева // Молодежная наука и современность : сб. тр. 72-й науч. конф. : в 2 ч. / Курск. гос. мед. ун-т, Центр.-Чернозем. науч. центр. РАМН, Рос. акад. естеств. наук ; редкол.: А.И. Лазарев [и др.]. – Курск, 2007. – Ч. 2. – С. 158.

10. Средство для лечения гнойно-воспалительных процессов кожи и слизистых оболочек различной этиологии : пат. 2326681 Рос. Федерации : МПК<sup>51</sup> А61К36/05, А61К 31/167, А61К31/375, А61К 31/4164, А61К9/06, А61К9/10, А61Р17/00, А61Р29/00 / Л.П. Лазурина, А.А. Краснов, И.В. Самохвалова, Е.В. Каштанова, Д.А. Хапчаева, В.М. Соломка, О.И. Басарева, П.В. Калущкий ; патентообладатель Л.П. Лазурина. – № 2005140128 ; заявл. 21.12.2005; опубл. 20.06.2008, Бюл. № 17. – 4 с.

11. Некоторые аспекты профилактики хирургической инфекции / О.И. Басарева, И.В. Самохвалова, С.В. Костров [и др.] // Биотехнология. Биомедицинская инженерия и технология социальных практик : сб. тр. Всерос. науч.-практич. конф. (Курск, 23-24 апр. 2009 г.) / Курск. гос. мед. ун-т ; под ред. В.А. Лазаренко [и др.]. – Курск, 2009. – С. 17-18.



12. Экспериментальная оценка биологической активности полимерной лекарственной формы / И.В. Самохвалова, О.И. Басарева, А.С. Самофалов [и др.] // Биотехнология. Биомедицинская инженерия и технология социальных практик : сб. тр. Всерос. науч.-практ. конф. (Курск, 23-24 апр. 2009 г.) / Курск. гос. мед. ун-т ; редкол.: В.А. Лазаренко [и др.]. – Курск, 2009. – С. 86-89.

13. Разработка антимикробных лекарственных форм / О.И. Басарева, О.С. Лосицкая, Е.М. Букреева, А.С. Самофалов // Биотехнология. Биомедицинская инженерия: сб. тр. III Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 75-летию КГМУ / Курск. гос. мед. ун-т ; редкол.: В.А. Лазаренко [и др.]. – Курск, 2010. – С. 174-175.

14. Изучение биологической активности некоторых комплексных соединений металлов / С.В. Костров, Л.П. Лазурина, П.В. Калущкий, О.И. Басарева [и др.] // Врач-аспирант. – 2010. – Вып. 3.1 (40). – С. 129-137.

15. Сравнительный анализ антимикробной активности новых биологически активных соединений и лекарственных форм на их основе [Электронный ресурс] / О.И. Басарева, С.В. Костров, Е.М. Букреева [и др.] // Современные проблемы науки и образования : электрон. науч. журн. – 2011. – № 5. – Режим доступа: [www.science-education.ru/99-4815](http://www.science-education.ru/99-4815), свободный.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АОК - антителообразующие клетки  
БАС - бактерицидная активность сыворотки крови  
ГМПЦ - гидроксипропилметилцеллюлоза  
ЛД<sub>10</sub> - доза вещества, вызывающая гибель 10% членов испытываемой группы животных  
ЛД<sub>16</sub> - доза вещества, вызывающая гибель 16% членов испытываемой группы животных  
ЛД<sub>50</sub> - средняя доза вещества, вызывающая гибель половины членов испытываемой группы животных  
ЛД<sub>84</sub> - доза вещества, вызывающая гибель 84% членов испытываемой группы животных  
ПАВ - поверхностно-активное вещество  
ПВП - поливинилпирролидон  
ПВС - поливиниловый спирт  
РАд - производное адамантана – (N-(I-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(n-толил)-кротонамид  
РАдCu - биокомплекс меди с N-(I-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(n-толил)-кротонамидом  
РАдZn - биокомплекс цинка с N-(I-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(n-толил)-кротонамидом  
РАдAg - биокомплекс серебра с N-(I-адамантил)-2-гидрокси-4-оксо-4-(n-толил)-кротонамидом

PMn	- производное нитроимидазола	-	I-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазол
PMnCu	- комплексное соединение меди	с	I-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазолом
PMnZn	- комплексное соединение цинка	с	I-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазолом
PMnAg	- комплексное соединение серебра	с	I-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазолом
МПК	- минимальная подавляющая концентрация		
ЭБ	- эритроциты барана		

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.

Сдано в набор 03.05.2012 г. Подписано в печать 04.05.2012 г.  
Формат 30x42<sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Rom.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ № 204"А".

Издательство Курского государственного медицинского университета  
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

