

Изобретение относится к составам, обладающим бактерицидными свойствами, включающим антибиотик и биологический металлокомплекс на полимерном носителе, которые могут найти применение в аппликационной терапии для заживления ран различного происхождения.

Для ускорения заживления ран используют биологически активные субстанции, иммобилизованные на поверхности носителя, в частности полимерного. Известно использование для этих целей состава для лечения повреждений, вызванных тепловым и световым излучением, включающего γ -L-глутамилтаурин на инертном носителе (РСТ № 91/12798).

Известен также противовоспалительный препарат для наружного применения, содержащий соль цинка, жирные кислоты и, возможно, аспирин на фармакологически приемлемых носителях (ФРГ № 3913194); известна композиция для наружного применения в виде твердого геля, включающего мало- или нерастворимое в воде и растворимое в жирах лекарственное средство, суспензию натуральной смолы или поливинилового спирта (ЕПВ № 3928451).

Наиболее близкой к заявляемой композиции является композиция, описанная в а.с.СССР № 1144699, представляющая собой гентамицин, иммобилизованный на поверхности полиметилсилоксана (ПМС) - кремнийорганического полимера, полученного путем реакции гидролитической поликонденсации кремнийорганических соединений - метилсиликоната натрия или эфира ортокремниевой кислоты (а.с.СССР № 16827).

Препарат обладает высокой ранозаживляющей активностью, которая однако не всегда может быть достаточна и ограничена функциональными возможностями составляющих композиции.

В основу изобретения положена задача создания композиции, обладающей бактерицидным и ранозаживляющим свойствами, которая за счет введения дополнительного биологически активного компонента, а также его синергизма с антибиотиком и носителем, позволяет повысить ее бактерицидные и ранозаживляющие свойства.

Сущность изобретения заключается в композиции на основе антибиотика, иммобилизованного на поверхности полимерного носителя, который, согласно изобретению, дополнительно содержит комплекс d-металла с биолигандом, который также иммобилизован на поверхности полимерного носителя при соотношении компонентов композиции в массовых частях:

Антибиотик	1,3-2,5
Комплекс d-металла с биолигандом	1,3-2,5

на 100 частей полимерного носителя.

Сущность изобретения заключается также в том, что наиболее эффективной ранозаживляющей композицией является композиция, содержащая в качестве носителя полиметилсилоксан, в качестве антибиотика - гентамицин, а в качестве комплекса d-металла с биолигандом, согласно изобретению - цинк-триптофан.

Композицию готовили следующим образом: полимерный носитель смачивали этиловым спиртом, а затем смешивали с водными растворами антибиотика и комплекса d-металла с биолигандом.

Комплекс d-металла с биолигандом готовили растворением хлорида (или сульфата) металла и лиганда в минимальном количестве воды, доведением pH до требуемой величины, концентрированием, фильтрованием образовавшегося осадка и его сушкой до постоянного веса при комнатной температуре на воздухе. Полученные комплексные соединения общих формул MA_2 , $MA \cdot Cl$, $MA \cdot 1/2SO_4$ охарактеризованы данными элементного анализа, термогравиметрии, ИК- и электронной спектроскопии.

Бактерицидные свойства и ранозаживляющее действие заявляемой композиции изучены в сопоставительном эксперименте на различных составах композиции и ее компонентов:

№ 1. Полиметилсилоксан (ПМС) с иммобилизованным гентамицином (ГМ) и цинк-триптофаном (ПМС + ГМ + $Zn(Trp)_2$).

№ 2. Поливиниловый спирт с иммобилизованным гентамицином и цинк-триптофаном (ПВС + ГМ + $Zn(Trp)_2$).

№ 3. Полиметилсилоксан с иммобилизованным гентамицином и медь-триптофаном (ПМС + ГМ + $Cu(Trp)_2$).

№ 4. Полиметилсилоксан с иммобилизованным гентамицином (ПМС+ГМ).

№ 5. Полиметилсилоксан с иммобилизованным цинк-триптофаном (ПМС+ $Zn(Trp)_2$).

№ 6. Цинк-триптофаном ($Zn(Trp)_2$).

№ 7. Полиметилсилоксан с иммобилизованным гентамицином и цинк-фенилаланином (ПМС + ГМ + $Zn(Phe)_2$).

№ 8. Полиметилсилоксан с иммобилизованным полимиксином и цинк-триптофаном (ПМС + ПМ + $Zn(Trp)_2$).

№ 9. Полиметилсилоксан с иммобилизованным гентамицином и цинк-триптофан-сульфатом (ПМС + ГМ + $Zn(Trp) \cdot 1/2SO_4$).

№ 10. Полиметилсилоксан с иммобилизованным гентамицином и цинк-триптофан-хлоридом (ПМС + ГМ + $Zn(Trp) \cdot Cl$).

№ 11. Цинк-триптофан-сульфат ($Zn(Trp)$ x $1/2SO_4$).

№ 12. Цинк-триптофан-хлорид ($Zn(Trp)$ x Cl).

Методика исследования антибактериальной активности композиций заключалась в следующем.

В стерильные чашки Петри, помещенные на столик с ватерпасом, разливали АГВ в количестве 25 мл в каждую чашку. В течение 24 ч чашки с АГВ инкубировали в термостате при 35°C, после чего специальным стерильным металлическим пробойником с внутренним диаметром, равным 5 мм, прорезали в АГВ лунки. Поверхность АГВ орошали 1 мл суспензии, содержащей $5 \cdot 10^7$ клеток соответствующего тест-штамма в 1 мл физиологического раствора NaCl. Излишек жидкости удаляли с поверхности АГВ. Тест-культуры готовились из 18-часовых агаровых культур микроорганизмов по оптическому стандарту мутности 5 ед.

Доза композиции подобрана экспериментально и составила 20 мг на 1 см² раневой поверхности.

Об антибактериальной активности композиции судили по диаметру зоны задержки роста тест-микроба *Ps.aeruginosa*.

Данные исследований конкретных составов композиции сведены в таблицу 1.

Как видно из данных табл.1, препараты $Zn(Trp)_2$ и ПМС+ $Zn(Trp)_2$ малочувствительные к *Ps.aeruginosa*. Добавление $Zn(Trp)_2$ комплекса к препарату ПМС+ГМ (прототип) усиливает антибактериальную активность последнего (композиции № 1 и 4), поскольку увеличивается диаметр зоны задержки роста тест-культуры.

Ранозаживляющие свойства композиции исследовались на белых беспородных крысах массой 150-200 г, у которых моделировалась инфицированная рана.

Модель инфицированной раны создавалась следующим образом: после иссечения кожного лоскута в лопаточной области размером 2х2 см (400 мм²) до мышечного слоя проводилось раздавливание краев раны и мышц зажимом Кохера. С целью стандартизации условий лечения и исключения ретракции раны к кожным краям ее шелковыми лигатурами фиксировалась пластмассовая рамка.

Таблица 1

Результаты изучения антибактериальной активности

№ композиции	Состав композиции в мг/г носителя			Доза, мг	Диаметр зоны задержки роста тест-микроба, мм
	качественный состав	количество антибиотика	количество комплекса d-металла		
1	ПМС+ГМ+ $Zn(Trp)_2$	25	25	20	20,7±0,5
		13	13	20	19,1±0,5
		20	20	20	19,5±0,5
2	ПВС+ГМ+ $Zn(Trp)_2$	25	25	20	19,5±0,5
3	ПМС+ГМ+Cu(Trp) ₂	25	25	20	33,7±1,4
4	ПМС+ГМ (прототип)	25	—	20	18,7±0,5

Продолжение табл. 1

№ композиции	Состав композиции в мг/г носителя			Доза, мг	Диаметр зоны задержки роста тест-микроба, мм
	качественный состав	количество антибиотика	количество комплекса d-металла		
5	ПМС+ $Zn(Trp)_2$	-	25	20	9,2±0,5
6	$Zn(Trp)_2$	-	25	20	не чувствит.
7	ПМС+ГМ+ $Zn(Phe)_2$	25	25	20	19,6±0,5
8	ПМС+ГМ+ $Zn(Trp)_2$	25	25	20	18,0±0,5
9	ПМС+ГМ+ $Zn(Trp) \cdot 1/2SO_4$	25	13,6	20	20,5±0,5

10	ПМС+ГМ+ Zn(Trp) · Cl	25	13	20	20,3±0,5
11	Zn(Trp) · 1/2SO ₄	-	13,6	20	не чувствит.
12	Zn(Trp) · Cl	-	13	20	не чувствит.

Для инфицирования раны применялась стандартная культура патогенного золотистого стафилококка (штамм № 209) в количестве 1 мл, содержащая 1 млрд. микробных клеток. Операция проводилась под тиопенталовым наркозом (из расчета 15 мг сухой массы внутривенно), животных фиксировали на специальном столике.

Лечение начинали через сутки, когда имелись признаки гнойного воспаления. Первая опытная группа - 27 крыс, у которых лечение проводили аппликацией на рану гентаксана.

Контрольная группа - 33 крысы, лечение проводили орошением 10% раствором хлористого натрия.

Эффективность лечения оценивали по степени гнойно-воспалительных явлений в ране (отек, гиперемия, наличие и характер раневого отделяемого, состояние дна раны). Критериями заживления раны являлись: сроки очищения раны от гнойно-некротических тканей, сроки появления грануляций, сроки эпителизации раны, ее площадь. Для определения площади раны применялась методика Л.И.Поповой, которая заключается в переносе контуров раны на простерилизованную в парах эфира целлофановую пленку. Измерения проводились 1 раз в 5 суток. Процент уменьшения площади раны определяли по формуле:

$$X = \frac{(S - S_n)}{S - t} \cdot 100\%,$$

где S - площадь предыдущего измерения в мм²,

S_n - площадь данного измерения в мм²,

t - число дней между измерениями.

Крысам в области правого бедра наносили кожную рану размером 2х0,5 см (площадь 1 см²), которых затем однократно облучали в дозе 500 рентген.

Полученные данные по изучению ранозаживляющих свойств композиции приведены в таблицах 2 и 3.

Таблица 2

Изучение ранозаживляющих свойств композиции на модели инфицированных ран у интактных животных

№ композиции	Масса крыс, г	Доза, мг	День опыта				
			1	5	10	15	20
1	200	20	1,00	0,14	заживление	-	-
3	198	20	1,00	0,30	0,14	заживление	-
7	198	20	1,00	0,25	0,16	заживление	-
8	200	20	1,00	0,40	0,15	заживление	-
9	200	20	1,00	0,13	заживление	-	-
10	199	20	1,00	0,14	заживление	-	-
контроль	200	20	1,00	0,47	0,23	0,13	заживление

Таблица 3

Изучение ранозаживляющих свойств композиции у облученных животных

№ композиции	Масса крыс, г	Доза, мг	День опыта						
			1	5	10	15	20	25	30

1	210	20	1,00	0,68	0,33	0,06	зажив- ление	-	-
3	200	20	1,00	0,72	0,50	0,20	0,25	зажив- ление	-

Продолжение табл. 3

№ ком- позиции	Масса крыс, г	Доза, мг	День опыта						
			1	5	10	15	20	25	30
7	205	20	1,00	0,76	0,65	0,30	0,20	зажив- ление	-
8	205	20	1,00	0,79	0,50	0,35	0,25	зажив- ление	-
9	208	20	1,00	0,67	0,32	0,05	зажив- ление	-	-
10	207	20	1,00	0,68	0,33	0,07	зажив- ление	-	-
конт- роль	210	20	1,00	0,89	0,82	0,40	0,25	0,11	зажив- ление

Данные, приведенные в таблицах 2 и 3, показывают, что наибольшей ранозаживляющей активностью обладают композиции;

№ 1 (ПМС+ГМ+Zn(Trp)₂),

№ 9 (ПМС+ГМ+ZnCTrp) · 1/2SO₄),

№ 10 (ПМС+ГМ+Zn(Trp) · Cl),

содержащие одинаковое количество цинка, в то время как наибольшим бактерицидным действием обладает композиция № 3, содержащая комплекс меди.

Аппликация раневой поверхности различными составами заявляемой композиции обеспечивает появление грануляции и эпителизации в более ранние сроки и сокращение сроков лечения в 1,5-2 раза.

Тираж 50 екз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
