

УДК: 660.5-001.4-089:660.5-77



<https://dx.doi.org/10.36522/2181-9637-2019-2-7>

БИОДЕГРАДАЦИЯЛОВЧИ ЖАРОҲАТ ҚОПЛАМАЛАРИНИНГ ЯНГИ КОМПОЗИЦИЯЛАРИНИ ЯРАТИШ ВА УЛАРНИНГ РЕГЕНЕРАТИВ ХУСУСИЯТЛАРИНИ ЎРГАНИШ

Цеомашко Наталья Евгеньевна

б.ф.д., катта илмий ходим, № ПЗ-2017092910 грант раҳбари,
Олий таълим муассасалараро илмий текшириш лабораторияси (ОТМИТА)
Тошкент тиббиёт академияси

Абидова Азиза Джалиловна

мустақил изланувчи, кичик илмий ходим, грант № ПЗ-2017092910,
ОТМИТА, Тошкент тиббиёт академияси

Аннотация. *Saphora japonica* гул куртакларидан (кверцетин, рутин) ажратилган флавоноидлар ва *Convolvulus* туркумидаги ўсимликдан ажратилган алкалоидлар (конволвин, конволамин, филлальбин) биологик фаол моддалар қўшилган каламуш думининг пайларидан ажратилган коллаген асосидаги жароҳат қопламалари яратилди. Алкалоидлар ва флавоноидлардан рутин антимикроб фаолликка эга эканлиги аниқланди. Физико-химик хусусиятларига қараганда таркибида алкалоидлари бор жароҳат қопламаларининг ёпишқоқлиги ва мустаҳкамлиги етарли даражада талабга жавоб бермади. Теридаги йирингли жароҳатларни даволашда жароҳат қопламалари кверцетин, филлальбин ва рутин билан ижобий натижаларни берди. Тажрибалардан шу нарса маълум бўлдики, йирингли жароҳатлар моделини даволашда КВ-ЖҚ билан жароҳат эпителизацияси $11,1-12,2$ суткага қисқарди (жароҳатнинг тўлиқ эпителизацияси $17,2 \pm 0,1$ суткаларга тўғри келди), РУ-ЖҚ билан йирингли жароҳат эпителизацияси $8,4 - 9,2$ суткаларга қисқарди (тўлиқ эпителизация $20,1 \pm 0,2$ суткаларга тўғри келди) ва Ф-ЖҚ йирингли жароҳат эпителизацияси $11,5-12,4$ суткага қисқартириб энг яхши натижани берди (тўлиқ эпителизация $28,9 \pm 0,6$ суткаларга тўғри келди), бу натижаларнинг бари даволашсиз кузатувда бўлган назорат гуруҳига нисбатан олинган (тўлиқ эпителизация $28,9 \pm 0,6$ суткаларга тўғри келди). Филлальбин, кверцетин ва рутиннинг антиоксидант ва пролифератив хусусиятлари, бундан ташқари, антимикроб фаоллигининг табиий, гипоаллерген ва гистологик мос коллаген матриксидан фойдаланилганлик натижасида самарали натижага эришилганлиги билан характерланади. Олинган жароҳат қопламалари токсик эмас (хавфликнинг 5-синфига таалуқли) маҳаллий раздразнения, гистологик мос келувчан, гипоаллерген ва жароҳат қопламалари учун қўйилган барча хусусиятларга мос келади.

Таянч тушунчалар: жароҳат қопламалари, коллаген, кверцетин, рутин, конволвин, конволамин, филлальбин.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ БИОДЕГРАДИРУЕМЫХ КОМПОЗИЦИЙ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЙ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ РЕГЕНЕРАТИВНЫХ СВОЙСТВ

Цеомашко Наталья Евгеньевна

д.б.н., с.н.с., руководитель гранта № ПЗ-2017092910,
Межвузовская научно-исследовательская лаборатория (МНИЛ),
Ташкентская медицинская академия

Абидова Азиза Джалиловна

самостоятельный соискатель, м.н.с. гранта № ПЗ-2017092910
МНИЛ, Ташкентская медицинская академия

Аннотация. Созданы композиции раневых покрытий на основе коллагена (РПК), выделенного из сухожилий хвостов крыс, с добавлением биологически активных соединений, таких как алкалоиды из растений рода *Convolvulus* (конволвин, конволамин, филлальбин), и флавоноидов, выделенных из бутонов растения *Saphora japonica* (кверцетин, рутин). Установлено, что алкалоиды и флавоноиды рутин обладают антимикробной активностью. По физико-химическим свойствам РПК с алкалоидами были отклонены, из-за

низкой адгезии и прочности. РПК с кверцетином (КВ-РПК), с филлальбином (Ф-РПК) и рутином (РУ-РПК) показали хороший эффект при лечении гнойных ран кожи. В экспериментальных моделях гнойных ран КВ-РПК сократили время эпителизации гнойных ран на 11,1-12,2 сутки (полностью раны эпителизировались на $17,2 \pm 0,1$ сутки), РУ-РПК сократили сроки эпителизации гнойных ран на 8,4-9,2 суток (полностью раны эпителизировались на $20,1 \pm 0,2$ сутки) и лучший эффект проявили Ф-РПК сократив срок заживления гнойных ран на 11,5-12,4 суток (полностью раны эпителизировались на $16,9 \pm 0,2$ сутки) по сравнению с контрольными ранами без лечения (полностью раны были эпителизированы в течение $28,9 \pm 0,6$ дня). Эффект обусловлен антиоксидантными и пролиферативными свойствами филлальбина, кверцетина и рутина, а также антимикробной активностью филлальбина и рутина, а также за счёт использования природного, гипоаллергенного и гистосовместимого коллагенового матрикса. Полученные композиции РП не токсичны (класс опасности 5), не вызывают местного раздражения, являются гистосовместимыми, гипоаллергенными и соответствуют свойствам, указанным для раневых покрытий.

Ключевые слова: раневые покрытия, коллаген, кверцетин, рутин, конвольвин, конволамин, филлальбин.

DEVELOPMENT OF NEW BIODEGRADABLE COMPOSITIONS OF WOUND COVERINGS AND THE STUDY OF THEIR REGENERATIVE PROPERTIES

Tseomashko Natalya Yevgenievna

Doctor of biological sciences, senior researcher, head of grant No. PZ-2017092910, Interuniversity Research Laboratory (IRL), Tashkent Medical Academy

Abidova Aziza Djalilovna

Independent applicant, junior researcher. Grant No. PZ-2017092910, IRL, Tashkent Medical Academy

Annotation. The compositions of wound coatings based on collagen (WCC) have been created. They were isolated from cattle tendons with additives of biologically active compounds, such as alkaloids from plants of the genus *Convolvulus* (convolvin, convolamin, phyllalbine), and flavonoids isolated from the buds of the *Saphora japonica* plant (quercetin, rutin). The study showed that alkaloids and flavonoid rutin have antimicrobial activity. The WCC with alkaloids were rejected based on the physical-chemical properties, due to low adhesion and strength. The WCC with quercetin (QU-WCC), phyllalbine (F-WCC) and rutin (RU-WCC) showed a good effect in the treatment of purulent wounds of the skin. In experimental models of purulent wounds, QU-WCC reduced the time of epithelialization of purulent wounds by 11.1-12.2 days (fully wounds were epithelized by 17.2 ± 0.1 days), RU-WCC reduced the terms of epithelialization of purulent wounds by 8.4 – 9.2 days (fully wounds were epithelized for 20.1 ± 0.2 days), F-WCC reduced the time of epithelialization of purulent wounds by 11,5-12,4 days (fully wounds were epithelized by $16,9 \pm 0,2$ days) compared with control wounds with no treatment (completely wounds were epithelized for 28.9 ± 0.6 days). The effect is due to the antioxidant properties of quercetin and rutin, as well as the antimicrobial activity of rutin and the natural, hypoallergenic and histocompatible collagen matrix. The obtained RP compositions are non-toxic (hazard class 5), do not cause local irritation, histocompatible, hypoallergenic and correspond to the properties specified for wound coverings.

Key words: wound coverings, collagen, quercetin, rutin, convolvin, convolamine, phyllalbine.

Актуальность исследования

Проблема лечения ран и раневой инфекции остается актуальной на протяжении всей истории травматологии, комбустиологии и хирургии [1, 2, 3, 4]. Актуальность данной проблемы подчеркивается еще и тем, что многие исследователи прямо или косвенно связывают причину нарушения заживления ран с микробной агрессией [5, 6]. Однако, анали-

зируя сложившуюся ситуацию по данным литературы, приходится признать, что роль микробного фактора в нарушении заживления ран, несомненно, существует, но ее значение до конца не изучено. Об этом свидетельствуют исследования Levenson et al (2008), которые убедительно показали, что замедление заживления ран связано как раз с отсутствием микробного фактора, и для усиления процес-

са заживления ран необходимо в рану вводить микроорганизмы, в частности золотистый стафилококк [7]. В связи с этим за последние годы возникла необходимость в пересмотре взглядов на роль микробной обсемененности ран и высказать предположение, что в нарушении их заживления большая роль принадлежит местным изменениям в зоне раны (состояние свободно-радикальных реакции (СРР), уровни эндотоксинов и т.д.) [5, 7]. Ферменты протеолиза способны к взаимодействию с радикалами, локализованными в основном в гидрофобной зоне мембран и липопротеидов [7]. Гидрофильные антиоксиданты и их различные компоненты в составе раневых покрытий, в практической медицине для лечения ран стали применяться относительно недавно [6, 7].

Цели исследования

Различные раневые покрытия можно отнести к своеобразной лекарственной форме. Применение раневых покрытий позволяет существенно повысить эффективность лечения ран и ожогов [3, 5, 6]. В настоящее время в клинической практике используется более 300 видов раневых покрытий [4].

Основные требования, предъявляемые к раневым покрытиям, заключаются в создании оптимальной микросреды для заживления ран, высокой абсорбционной способности в отношении раневого экссудата, способности предотвращать проникновение микроорганизмов, достаточной проницаемости для газов, паров воды, ультрафиолетовых и инфракрасных лучей при использовании препаратов для фотодинамической терапии, эластичности, отсутствии пирогенного, антигенного, токсического, местного раздражающего и аллергического действий [2].

По своему происхождению раневые покрытия можно условно разделить на природные и синтетические [6]. Препараты природного происхождения являются «золотым стандартом» раневого покрытия и включают чаще всего компоненты кожи человека и животных, амниотические мембраны и др. Зарубежными фирмами из донорской кожи человека выпускаются покрытия: TransCyte (биосинтетическая полупроницаемая мембрана силикона

на нейлоновой сетке, покрытая свиным коллагеном и человеческими фибробластами), Dermagraft (фибробласты на биоабсорбируемой сетке полилактина), Apligraf (клетки кератиноцитов и фибробластов), Integra (коллаген, хондроитин-6-сульфат, гликозаминогликан из хрящей акулы) и др. [6, 7].

Большое количество раневых покрытий биологического происхождения разрабатываются и в странах СНГ. Такие как «Свидерм» и AlloaskD» (клетки кожи свиней), «Коллост» (коллаген 1 типа из кожи крупного рогатого скота), РП на основе белково-полисахаридных комплексов и клеток кожи [8, 9], «Коллахит» и «Коллахит ФА» (с антисептическим препаратом «Фурагин» и местным анестетиком анилокаин), «Коллахит III» (с антисептиком растительного происхождения – шиконином), «Литопласт», «Гиаматрикс», «Биатравма» и «Ресорб» с сорбентом [10, 11, 12, 13].

Биодеградируемые раневые покрытия на основе природных полимеров, например, в виде коллагеновых губок или повязок, на которые нанесены активные вещества, являются наиболее приемлемыми в терапии глубоких повреждений дермы. Известны, пористые губки для лечения ран из коллагена [2, 4], смеси желатина, хитозана и формальдегида [11], желатина и формальдегида с добавлением антибиотиков [12], целлюлозы и хитозана [13], коллагена и хитозана [6].

Изучив мировой опыт и отталкиваясь от собственных исследований в данном направлении [9], был сделан вывод, что коллаген является оптимальным материалом для создания раневых покрытий. Коллаген как основа межклеточного матрикса соединительной ткани и кожи физиологически является наиболее приемлемой субстанцией для формирования биодеградируемых, биосовместимых раневых покрытий. Коллагеновая среда – это органичная среда для роста и дифференциации плюрипотентных клеток кожи и соединительной ткани – фибробластов. Создание благоприятных условий для жизнедеятельности фибробластов как источников коллагена и большого ряда факторов роста приведет к ускорению регенеративных свойств тканей раневого ложе и

формированию правильной архитектоники околорубцовой и рубцовой зон репарации. А введение в коллагеновое покрытие антисептических, антиоксидантных соединений, желательно природного происхождения [5], позволит еще более ускорить регенеративный процесс, очищая раневое ложе от микробной флоры и свободных радикалов.

В этой связи целью нашей работы стало создание отечественных высокоэффективных эластичных нетоксичных прозрачных и биодиградируемых раневых покрытий, способных:

создавать оптимальную микросреду для заживления ран, с высокой адсорбционной способностью в отношении раневого экссудата;

стимулировать регенеративные процессы кожи;

угнетать патогенные микроорганизмы и предотвращать их проникновение;

ускорять репаративные процессы благодаря достаточной проницаемости для паров воды и газов.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования проведены с соблюдением правил, принятых Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных научных целей (ETS N 123, Страсбург, 18.03.1986 г.). Полученные результаты подвергли статистической обработке с использованием стандартного пакета программ Statistika for Windows по общеизвестным методам вариационной статистики с оценкой значимости показателей ($M \pm m$) и различий рассматриваемых выборок по t-критерию Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне значимости 95 % ($p < 0,05$).

В работе использовались белые беспородные мыши массой 15-20 г, крысы массой 150-180 г, кролики породы шиншилла весом 2-3 кг. Биологически активные компоненты для РПК: с антимикробной активностью – это субстанция «Консубин» и сумма алкалоидов (конвольвин и конволамин), полученные из надземной части и корней *Convolvulus krauseanus* в лаборатории алкалоидов Института химии растительных веществ при Ака-

демии наук Республики Узбекистан (ИХРВ АН РУз) под руководством профессора Ариповой С.Ф.; с пролиферативной активностью – индивидуальное соединение филлальбин, выделенное из надземной части и корней растения *Convolvulus subhirsutus* в лаборатории алкалоидов ИХРВ АН РУз под руководством профессора Ариповой С.Ф.; с антиоксидантной активностью – два соединения из бутонов японской сафоры *Saphora japonica*, это флавоноид кверцетин и его гликозид – рутозид или рутин, полученные в Ташкентском фармацевтическом институте; с лекарственным препаратом – раствором антибиотика – антимикотика, содержащего 10000 Ед пенициллина, 10 мг/мл стрептомицина и 25 мг/мл амфотерицина В в 0,9%-ном физрастворе (концентрат приобретен в ООО «GEETA PHARMA»).

Получение раневых покрытий на основе коллагена. Для получения коллагена отсеченный крысиный хвост помещали в 70%-ный этанол, выдерживали при температуре -10°C не менее 15 минут, освобождали от кожи и при помощи двух зажимов разламывали на кусочки, вытягивая сухожильные нити. Их помещали в чашку Петри со стерильной дистиллированной водой. Сухожилия от одного хвоста расщепляли на отдельные волокна при помощи тонких пинцетов, опускали в колбу, содержащую 150 мл 0,1%-ного раствора ледяной уксусной кислоты, и оставляли в холодильнике на 48 ч. Затем содержимое колбы центрифугировали (6000 об/мин в течение 1 ч) и получали до 80 мл вязкого раствора. К осадку добавляли 30 мл 0,1%-ного раствора уксусной кислоты, через 24 ч центрифугировали и получали до 40 мл раствора коллагена. Перед использованием раствор коллагена подвергали диализу. Диализованный раствор коллагена наносили по 1 мл на чашки Петри. Коллагеновую пленку уплотняли парами аммиака. Через 2-5 мин восстановленный коллаген образовывал тонкую гелевую пленку. Для получения разновидностей РП на основе коллагена, таких как СА-РПК, К-РПК, Ф-РПК, КВ-РПК, РУ-РПК и АА-РПК, перед полимеризацией в коллаген вносили предварительно растворенные в спирте соединения (консубин, сумму алкалоидов, филлальбин, кверцетин, рутин и

антибиотик – антимикотик).

Изучение физико-химических свойств РП. Пленки РП изучены на физико-химические свойства, такие как сила адгезии, толщина, коэффициент набухания и полимеризации. Толщину пленок определяли в микрометрах (мкм) при помощи микрометра в различных местах пленок ($n=3$) и выводили среднее значение. Прочность пленок определяли на разрыв, для этого из каждой пленки вырезали полосу шириной 5 мм и длиной 50 мм. Концы пленки фиксировали зажимами и доводили до разрыва при помощи динамометра. В момент разрыва фиксировали приложенную силу в Ньютонах (Н). Для определения силы адгезии из каждой пленки вырезали исследуемые образцы площадью 1 см. Затем с одной стороны пленки при помощи цианоакрилового клея приклеивали равные по площади окружности ткани с прикрепленной шелковой нитью. После чего пленки увлажняли водой и приклеивали к влажному стеклу, при помощи динамометра определяли силу в Н, необходимую для отрыва пленки от поверхности стекла.

Изучение токсичности РП и компонентов РП. Изучение острой токсичности компонентов РП проводили на половозрелых белых крысах-самцах с исходной массой тела 138-160 г. Экспериментальные группы были сформированы по 6 единиц в каждой. Компоненты РП разводили до получения основных разведений – 200 мг/кг, сначала 96%-ным этиловым спиртом, а затем двукратным разведением в физрастворе. Таким образом получали следующие концентрации алкалоидов: 100–50–25–12,5–6,25–3,12 мг/кг, которые вводили однократно внутривенно и подкожно. Спустя 3-4 ч после введения компонентов животным давали натуральные и брикетные корма. Наблюдение за экспериментальными животными проводилось на протяжении 14 суток.

Опыты по хронической токсичности проводили на белых беспородных крысах – самцах массой 150-160 г. Растворы компонентов РП вводили в желудки крыс ежедневно в дозах 5–10–50 мг/кг в течение одного месяца. Каждую дозу испытывали на шести крысах. Контрольной группе животных в аналогич-

ных условиях вводили воду. Все подопытные и контрольные животные находились в одинаковых условиях и на обычном рационе. На протяжении всего опыта животные находились под ежедневным наблюдением; регистрировалось их общее состояние, поведение, потребление корма и воды, состояние волосных покровов и слизистых оболочек. Путем частичной резекции (0,5-1,0 см) хвостов экспериментальных животных, брали аликвоты крови для определения развернутых показателей на гематологическом анализаторе ВС-3000 (Mindray, P.R.China). Затем под легким эфирным наркозом у животных путем одномоментной декапитации собирали кровь для биохимических исследований.

Создание модели гнойных ран. Модели гнойных ран смоделированы на беспородных белых крысах самцах массой 150-170 г. Операции проводили под эфирным наркозом. На депилированных участках спинок животных по трафарету формировали полнослойные кожные раны размером 2х2 кв. см. Размеченный квадратным трафаретом кожно-фасциальный лоскут иссекали острым скальпелем. Мышечное дно раны раздавливали зажимом Кохера. Тампоны смачивали микробной смесью и наносили на ранки из расчета – на ранку 0,2 мл смеси, содержащей микроорганизмы следующих штаммов: №9572 *Candida albicans* Berkant, №M-3-87 *Staphylococcus epidermitis*, №ATCC 25922 *Escherichia coli* в концентрации 1×10^5 микробных тел/мл. Каждое животное содержалось в отдельной клетке. Контроль за течением раневого процесса производили на основании:

- данных клинического наблюдения, таких как наличие или отсутствие в области раны отека мягких тканей, гиперемия кожных покровов, болезненность при манипуляциях, наличие или отсутствие на поверхности раны некротического детрита и раневого экссудата;
- отмеченного времени купирования явления перифокального воспаления, появления грануляционной ткани, ее зрелости, начала эпителизации, сроков заживления;
- объективного критерия оценки течения раневого процесса – данных гистоморфологии зарубцованного участка.

Для оценки скорости заживления гнойных ран использовали планиметрические методы исследования. Для этого на рану накладывали стерильную пластину целлофана или полиакрила, на которую наносили контуры раны, а затем ее изображение переносили на миллиметровую бумагу и определяли размеры контуров на 3, 12 и 19 сутки.

Статистический анализ выполняли с использованием специальных программ медицинской статистики SSPS v10. и STATISTICA v6.0.

Результаты исследования

Для создания РП выделен и очищен коллаген, получена и очищена растительная субстанция на основе двух алкалоидов конвольвина, филлальбин, конволамина и их суммы, выделенные из растений рода *Convolvulus*, изучена их цитотоксичность [14]. Кроме того, получены и очищены флавоноид кверцетин и его гликозид – рутозид или рутин из бутонов японской сафоры *Saphora japonica*, известной своими антиоксидантными свойствами. Изучена антимикробная активность алкалоидов, выделенных из растений рода *Convolvulus*, и флавоноида рутина, выделенного из бутонов растения *Saphora japonica*. Изучение антимикробной активности алкалоидов, суммы алкалоидов и флавоноидов проводили с использованием условно-патогенных штаммов микроорганизмов, предоставленных Научно-исследовательским институтом эпидемиологии микробиологии и инфекционных заболеваний Минздрава Республики Узбекистан. Установлено, что 5%-ный раствор конвольвина и конволамина эффективен против широкого спектра стафилакокков, кишечной палочки и грибов рода *Candida*. Низкотоксичный филлальбин также подавлял рост микроорганизмов, но в гораздо более высоких концентрациях, чем исследуемая сумма алкалоидов, конвольвин и конволамин. Филлальбин более активно ингибировал рост штамма грибов *Candida albicans* 003592/723. При изучении антимикробной активности растворов рутина в изопропанол активностью не наблюдалась по отношению к *Pseudomonas aeruginosa* 003841/114, *Candida albicans* 003592/723, *Citrobacter freundii* 002801/27,

Serratiamarcescens 367, клинического изолята *Proteus mirabilis* 9. Рост *Staphylococcus aureus* 60 подавляли все растворы рутина, и диаметр зоны подавления роста составил 11 мм. У *Escherichia coli* NC101 наблюдалась чувствительность к растворам, содержащим 25, 50, 100 и 200 мкг/мл рутина, и диаметр зоны подавления роста составил 11 мм. У *Enterococcus faecalis* OGIFR1 наблюдалась чувствительность ко всем растворам рутина. Раствор, содержащий рутин 25 мкг/мл, оказался самым эффективным, диаметр зоны подавления роста составил 19 мм. Раствор, содержащий 12,5 мкг/мл рутина, подавлял рост *Klebsiella pneumoniae* B-1823 с образованием зоны подавления роста 11 мм в диаметре.

Из части очищенного гелеобразного коллагена создано 7 разновидностей пленок по 5 экземпляров (45 кв. мм) с биологически активными добавками, такими как кверцетин (КВ-РПК), филлальбин (Ф-РПК), консубин (К-РПК), сумма алкалоидов (СА-РПК), рутин (РУ-РПК) и раствор антибиотика – антимикотика, содержащего 10000 Ед пенициллина, 10 мг/мл стрептомицина и 25 мг/мл амфотерицина В в 0,9%-ном физрастворе (АА-РПК), а также без добавки (РПК).

Проведены исследования токсичности РП: острую токсичность при внутрижелудочном введении изучали на 252 белых крысах-самцах с массой тела 180-250 г. Экспериментальные животные подвергались внутрижелудочному воздействию водной суспензией препаратов в дозах: 500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000 и 7500 (максимально переносимая доза) мг/кг. Определена максимально переносимая доза препаратов на уровне 7500 мг/кг массы тела, в связи с отсутствием гибели животных расчитать уровень ЛД₅₀ не представилось возможным.

Данные пленки изучены на физико-химические свойства, такие как сила адгезии, толщина, коэффициент набухания и полимеризации с использованием микрометра и динамометра лаборатории механики физического факультета Национального университета им. М. Улугбека. Установлено, что пленки с суммой алкалоидов и консубином плохо полимеризовались. Толщину пленок определяли в мкм при по-

мощи микрометра в различных местах пленок ($n=3$) и выводили среднее значение. Установлено, что наибольшую толщину имели пленки с алкалоидами 732 ± 1 мкм, а наименьшую толщину пленки без добавок и с антибиотиками – 287 ± 1 мкм. Определяли прочность пленок на разрыв. Установлено, что наиболее прочной оказалась пленка без добавок – $37,66\pm 0,4$ Н и наиболее не прочными оказались пленки «СА-РПК» и «К-РПК» – $6,05\pm 0,1$ Н. Определили силу адгезии пленок. Установлено, что наибольшей адгезией обладает пленка без добавок – $0,75\pm 0,01$ Н, а наименьшей – пленки с кверцетином (КВ-РПК) – $0,22\pm 0,02$ Н.

Таким образом, после изучения физико-химических свойств дальнейшему исследованию подвергались пленки под аббревиатурами РПК, Ф-РПК, АА-РПК, КВ-РПК и РУ-РПК, а пленки СА-РПК и К-РПК отбракованы.

Проведены исследования кожно-резорбтивного действия препаратов РПК на 40 белых крысах с массой тела 190-200 г. Результаты исследований позволили установить, что все препараты не обладают кожно-резорбтивным действием.

Оценка местно-раздражающего действия на кожу всех РП производилась в соответствии с ГОСТ ISO 10993-11-2011. Результатами исследований установлено отсутствие у всех препаратов местно-раздражающего действия на кожу.

В результате установлено, что композиции на основе коллагена с добавками филлальбина, кверцетина, рутина и антибиотиков и коллаген без добавок при внутрижелудочном

введении относятся к 5 классу опасности – практически нетоксичным веществам.

Проведена оценка регенеративных свойств полученных раневых покрытий на моделях гнойных ран. Терапию ран производили на третий день, после ранений крыс, после визуального определения наличия у всех экспериментальных животных гнойных ран. Исходя из того, что две крысы погибли в течение первых двух дней, в контрольной группе оставили четырех животных. На третьи сутки эксперимента у всех групп животных из хвостовой вены путем частичной резекции (0,5-1,0 см) были взяты аликвоты крови для определения аллергенности РП. На гистоморфологию зарубцевавшиеся или еще не до конца зарубцевавшиеся части кожи были изъяты с одного животного из каждой группы на 22-е сутки после нанесения ран.

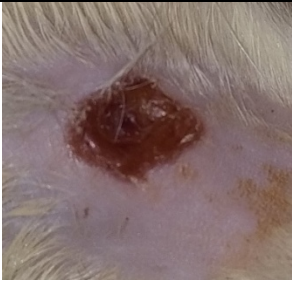
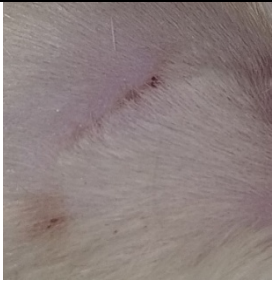
В результате установлено, что раневое покрытие на основе коллагена в 1,5 раза сокращает сроки заживления ран за счет введения экзогенного коллагена – матрикса для фибробластов, а внесение добавок в коллаген, таких как кверцетин, рутин и филлальбин, ведут к значительному сокращению фазы воспаления – с 5 дней до 2-3 дней, за счет антимикробных свойств филлальбина и рутина. Кроме того, филлальбин стимулирует пролиферативную активность фибробластов, а кверцетин и рутин улучшают микроциркуляцию крови и очистку ран от нежизнеспособных тканей, что ускоряет процесс миграции фибробластов и их пролиферацию, стягивание раны (табл. 1, рис. 1).

Таблица 1

Влияние РПК, Ф-РПК, АА-РПК, КВ-РПК, РУ-РПК на изменение площади ран и сроков заживления ($M\pm m$, $n=10$, $P<0,05$)

Условия опыта	Сроки регенерации ран			
	3-е сутки	12-е сутки	19-е сутки	сутки полной эпителизации ран
РПК	$3,3\pm 0,09$	$1,65\pm 0,11$	$0,55\pm 0,06$	$22,4\pm 1,1^{**}$
РУ-РПК	$3,2\pm 0,13$	$0,53\pm 0,07$	$0,05\pm 0,01$	$20,1\pm 0,2^*$
Ф-РПК	$3,2\pm 0,11$	$0,15\pm 0,02$	0	$16,9\pm 0,2^*$
КВ-РПК	$3,3\pm 0,5$	$0,55\pm 0,2$	0	$17,2\pm 0,1^*$
АА-РПК	$3,7\pm 0,5$	$0,93\pm 0,2$	$0,62\pm 0,04$	$23,0\pm 0,3^*$
Контроль	$3,9\pm 0,14$	$1,95\pm 0,16$	$0,98\pm 0,09$	$28,9\pm 0,6$

Примечание: * $P < 0,001$ по сравнению с контролем; ** $P < 0,002$ по сравнению с контролем

		
3-е сутки, РПК	12-е сутки, РПК	19-е сутки, РПК
		
3-е сутки, РУ-РПК	12-е сутки, РУ-РПК	19-е сутки, РУ-РПК
		
3-е сутки, Ф-РПК	12-е сутки, Ф-РПК	19-е сутки, Ф-РПК
		
3-е сутки, KB-РПК	12-е сутки, KB-РПК	19-е сутки, KB-РПК
		
3-е сутки, АА-РПК	12-е сутки, АА-РПК	19-е сутки, АА-РПК

		
3-е сутки, контроль	12-е сутки, контроль	19-е сутки, контроль

Рис. 1. Фотографии ран на 3-е, 12-е и 19-е сутки после нанесения на гнойные раны РПК, РУ-РПК, Ф-РПК, КВ-РПК, АА-РПК (контролем служили гнойные раны без терапии)

Как видно из таблицы 1, для полной эпителизации экспериментальных гнойных ран без вмешательства человека крысам потребовалось 28–29,5 суток, в то время как терапия гнойных ран РП на основе коллагена со-

кратила сроки полной эпителизации ран до 21,3–23,5 суток, а внесение в коллагеновое покрытие пролифераторов и антиоксидантов с антимикробными свойствами сокращает сроки эпителизации до 16,7–17,3 суток.

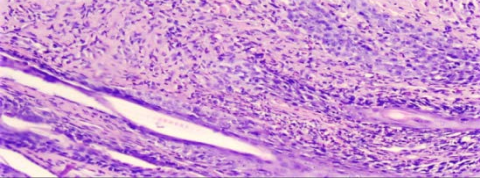
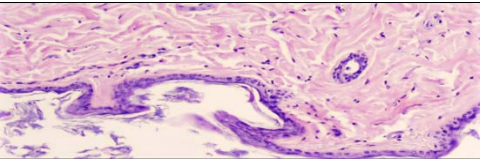
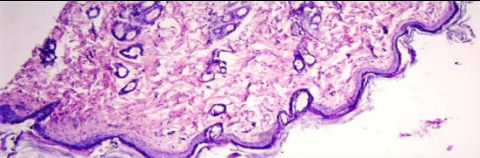
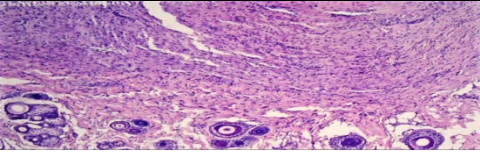
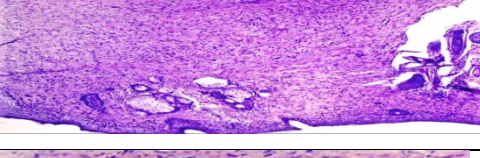
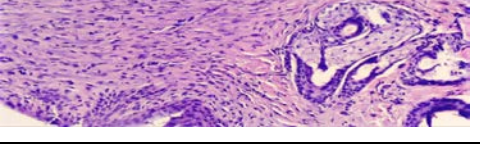
	Контроль: целостность кожного покрова с дистрофией, эрозирована, под эпидермисом выраженная лимфолейкоцитарная инфильтрация и фиброзирование ткани, что характерно при репарационных процессах. 3 балла
	КВ-РПК: целостность кожного покрова не нарушена, под эпидермисом видны коллагеновые волокна дермы и фолликулы. 1 балл
	Ф-РПК: ткань эпидермиса с ороговением, под ним отчетливо видны элементы дермы без особенностей. 0 балл (кожа без изменений)
	РУ-РПК: в дерме видны элементы репарации, такие как фибробласты и лимфоцитарная инфильтрация. При этом кожный покров не нарушен. 3 балла
	АА-РПК: в дерме видны элементы репарации, такие как фибробласты и лимфоцитарная инфильтрация. При этом кожный покров с атрофией. 4 балла
	РПК: ткань кожи с атрофией эпидермиса, местами гиперплазирована. В дерме видны элементы регенерации ткани в виде пролиферации фибробластов. 4 балла

Рис. 2. Гистоморфология рубцовой части кожи экспериментальных животных. Окраска ГЭ. Ув. 20x10. В зависимости от выраженности регенеративно-репаративных элементов, ткани оценивались от 0 до 5 баллов

Введение экзогенного коллагена обеспечивает скорую ликвидацию тканевого дефекта и прочность формирующегося рубца, о чем свидетельствуют данные гистоморфологии рубцовых тканей (рис. 2).

Как видно из рисунка 2, наилучший эффект дают раневые покрытия Ф-РПК и КВ-РПК, эпителизация к моменту изъятия образцов ткани полностью завершена, в то время как в остальных группах регенеративный процесс продолжается, тем не менее участок кожи ранее раненый и обработанный РУ-РПК полностью эпителизован, но регенеративные процессы в дерме продолжают.

Гистоморфология образцов тканей контроля, РПК и АА-РПК указывает на незаконченную эпителизацию ран, так как изъятые были на 22-е сутки эксперимента, что согласуется с данными таблицы 1 и фотографиями на рисунке 1.

В процессе эксперимента на моделях гнойных ран проводился мониторинг показателей периферической крови крыс, задействованных в эксперименте в два этапа. На первом этапе взята кровь у шести животных с ранами на 3-й день после нанесения ран с целью оценки наличия воспалительного процесса. Кровь брали из хвостовой вены путем частичной резекции (0,5–1 см). Развернутые показатели крови крыс производили на гематологическом анализаторе BC-3000 (Mindray, P.R.China). В результате определено, что количество лейкоцитов повысилось у животных с экспериментальными ранами ($P < 0,05$), что говорит о развитии воспалительных процессов, связанных с нагноением раневого ложе, и эффективности данной модели. В этот же день пять групп экспериментальных животных получили терапию, т.е. на раны были нанесены раневые покрытия. Через три дня после терапии были взяты аликвоты крови пяти крыс с каждой группы (только в контрольной группе кровь взяли у 4 животных, так как 2 крысы погибли ранее) и проверены на развернутые показатели крови. Во всех группах животных незначительно были повышены лейкоциты по сравнению с интактными животными, за исключением двух групп – контрольной группы животных и группы животных, получивших лечение с использованием раневого покрытия

АА-РПК, где лейкоциты достоверно выше таковых интактной группы ($P < 0,05$), что свидетельствует о затягивании воспалительных процессов в раневом ложе и задержке регенерации и эпителизации ран, что согласуется с результатами таблицы 1, рисунков 1 и 2.

Кроме того, также установлено, что применяемые в эксперименте РП на основе коллагена не оказывают существенного влияния на содержание иммуноглобулинов классов IgG, IgM и IgE в сыворотке крови крыс, так как полученные результаты содержания исследованных иммуноглобулинов статистически достоверно не отличались от аналогичных показателей, полученных для экспериментальных животных контрольной группы. Это свидетельствует об отсутствии иммуностимулирующего или иммуноингибирующего влияния данных РП на организм экспериментальных животных, а также об отсутствии аллергенности изученных РП.

Таким образом, наиболее перспективным для терапии гнойных ран являются раневые покрытия на коллагеновой основе с введением биологически активных веществ, таких как кверцетин и рутин.

Выводы

1. Ф-РПК – РП на основе коллагена с добавлением алкалоида филлальбина эффективно при терапии гнойных ран кожных покровов, так как в экспериментальных моделях гнойных ран данное РП сократило время эпителизации гнойных ран на 11,5–12,4 суток (полностью раны эпителизовались на $16,9 \pm 0,2$ сутки) по сравнению с контрольными ранами, ничем не обработанными (полностью раны эпителизовались на $28,9 \pm 0,6$ сутки), что обусловлено антимикробными и пролиферативными свойствами алкалоида, а также естественной, гипоаллергенной и гистосовместимой матрицей (коллагена).

2. КВ-РПК и РУ-РПК – РП на основе коллагена с добавлением флавоноидов кверцетина и рутина эффективно при терапии гнойных ран кожных покровов, так как в экспериментальных моделях гнойных ран использование КВ-РПК позволило сократить время эпителизации гнойных ран на 11,1–12,2 суток (полностью раны эпителизовались на $17,2 \pm 0,1$ сутки), РУ-РПК сократили сроки эпителиза-

ции гнойных ран на 8,4-9,2 суток (полностью раны эпителизовались на $20,1 \pm 0,2$ сутки) по сравнению с контрольными ранами без лечения (полностью раны были эпителизованы в течение $28,9 \pm 0,6$ суток), что обусловлено антиоксидантными, противовоспалительными, антимикробными и ангиопротекторными свойствами флавоноидов, а также естественной, гипоаллергенной и гистосовместимой

матрицей (коллагена).

3. Поликомпозиционные, биоразлагаемые имплантаты на основе коллагена с филлальбином и кверцетином (Ф-РПК и КВ-РПК) не токсичны (5-й класс опасности), не вызывают местнораздражающих действий, гистосовместимы, гипоаллергенны и соответствуют свойствам, предъявляемым к РП.

Источники и литература

1. Адамян А.А. Разработка новых биологически активных перевязочных средств и методология их применения. // Хирургия Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2004. – № 12. – С. 29–36.
2. Куринова М.А., Гальбрайт Л.С., Скибина Д.Э. Современные раневые покрытия (Обзор) // Современная медицина: актуальные вопросы: сб. ст. по матер. XLVIII-XLIX междунар. науч.-практ. конф. – Новосибирск: СибАК, 2015. – № 10-11(43). – С. 2–19.
3. Лившиц В. С. Полимерные покрытия на раны и ожоги (обзор) // Хим-фарм. журнал. – 1988. – Т. 22. – № 7. – С. 790–798.
4. Цеомашко Н.Е., Садиков Р.А., Хегай Л.Н., Абидова А.Д. Современные раневые покрытия в комбустиологии и хирургии // Медицинский журнал Узбекистана. – №4. – 2018. – С. 55–59.
5. Толстых П.И., Клебанов Г.И., Шехтер А.Б. и др. Антиоксиданты и лазерное излучение в терапии ран и трофических язв. М.: Издательский дом «ЭКО». – 2001. – 240 с.
6. Joshua S. Boateng Wound healing dressings and drug delivery systems: a review / Joshua S. Boateng [et al.] // Journal of pharmaceutical sciences. – 2008. – V. 97, – № 8. – P. 2892–2923.
7. Levenson JL, Valverde R, Olbrisch ME. Factitious wound infections in an altruistic living liver donor // Prog Transplant. 2008 Mar;18(1). – P. 22–24.
8. Бодун Р.Д., Островский Н.В., Шиповская А.Б., Чернова Р.К., Беянина И.Б., Моисеенко Д.С. На пути к созданию живого дермального эквивалента // Бюл. Волгоградского научного центра РАМН. – 2001. – № 1. – С. 59–73.
9. Цеомашко Н.Е., Азимова Ш.С. Влияние фитоэкдистероидов и дермального эквивалента на процессы регенерации термических ожогов кожи. Фармацевтический журнал Узбекистана. – 2012. – №3. – С. 71–74.
10. Белова С.В., Бабушкина И.В., Мамонова И.А. Биodeградируемое раневое покрытие и способ получения биodeградируемого раневого покрытия. Патент РФ № 2519158. – 27 с.
11. Добровольская И.П., П.В. Попрядухин, В.Е. Юдин. Способ получения нановолокон из алифатических сополиамидов // Патент РФ № 2011110549, от 28.10.2011 г. – 28 с.
12. Кириленко Ю.К., Постнов С.Е., Решетов И.В., Чиссов В.И., Юданова Т.Н. Повязка для лечения ран. Патент РФ №2219954, 2003 г. – 32 с.
13. Колесников А.А., Сабиров Ш.Р. Сетка для гемостаза паренхиматозных органов, Патент РФ № 2005135007/14(039136) от 17.05.2006 г. – 29 с.
14. Tseomashko N.Y., Terent'eva E.O., Kodirova D.B., Okhunov I.I., Aripova S.F., Khashimova Z.S., Azimova Sh.S. Synthesis of convolinine and cytotoxic activity of alkaloids of the genus *Convolvulus* and their derivatives. Chemistry of Natural Compounds. – 2013. – 48(6). – P. 1039–1041.

Рецензент:

Аллаева М.Ж. д.б.н., доц., зав. кафедрой «Фармакология» Ташкентской медицинской академии