

## ПРИНЦИПЫ РАЗРАБОТКИ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ НАНОРАЗМЕРНОГО КРЕМНЕЗЕМА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И КЛИНИКЕ

**А.А. Чуйко, П.П. Горбик, А.А. Пентюк, А.В. Ильченко,  
Е.И. Штатко, Н.Б. Луцюк, А.А. Вильцанюк,  
Я.П. Вербиловский, О.И. Кутельмах**

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины  
ул. Генерала Наумова 17, 03164 Киев-164*

*Поверхность ВДК обладает уникальными физико-химическими свойствами, обеспечивающими его многообразные биологические эффекты: высокую гидрофильность, сродство к белкам, адсорбцию микроорганизмов и ряда низкомолекулярных веществ, преимущественно азотсодержащих. Указанные свойства ВДК, а также способность модулировать фармакокинетику и биотрансформацию других лекарственных средств при совместном применении, позволяют использовать его не только как средство аппликационной и энтеральной терапии, но и как матрицу-носитель при создании комбинированных препаратов. Препараты первого поколения – лекарственные формы исходной субстанции ВДК – порошок силикса для приготовления суспензии и коллоидного раствора ВДК (аквасил). К препаратам второго поколения относятся механические композиты – сложные порошки и суспензии ВДК с антисептическими, ферментными и другими препаратами (силоглюкан, фитосиллард, лизосил, лизотокс, флотоксан и т.п.), в которых присущие ВДК фармакологические эффекты сочетаются со специфическим действием других активных компонентов смеси. Препараты третьего поколения включают фармакотерапевтические системы наночастиц кремнезема с привитыми лекарственными средствами или капсулы с ядром кремнезема. При этом, в зависимости от технологии изготовления и концентрационных соотношений, получают препарат с ускоренным или, напротив, замедленным высвобождением иммобилизованного вещества. Создание комбинированных средств на основе ВДК перспективное направление фармации. Вышеупомянутые лекарственные препараты сейчас находятся на разных стадиях разработки, доклинических и клинических испытаний. В краткий срок при сравнительно небольших финансовых расходах они могли бы выпускаться фармацевтической промышленностью Украины, поскольку все их компоненты отечественного производства.*

*Physico-chemical properties of high disperse silica (HDS) surface are unique so providing its varied biological effects: high hydrophilicity, protein affinity, adsorption of microorganisms and some low-molecular substances, mainly nitrogen-containing ones. The HDS properties mentioned as well as its capability to modulate the pharmacokinetics and biotransformation of another drugs due to their combined application let us possible to use it not only as a tool of application and enteral therapy but also as a matrix-carrier for design of combined medicines. The drugs of the first generation – dosage forms of the intial HDS substance – silics powder for preparation of suspension and colloid solution of HDS (aquasil). The second generation drugs are mechanical composites – complex powders and suspensions with antiseptic, enzymatic, and other preparations (siloglucan, phytosilard, lysosil, lysotox,*

flotoxan and so on), where the pharmacological effects peculiar to HDS are combined with the specific action of other active components of the mixture. The drugs of the third generation include pharmacotherapeutic systems of silica nanoparticles with grafted medicines or capsules with silica core. At the same time, a preparation is produced with rapid or, on the contrary, slowed elimination of the immobilized substance. The creation of combined drugs based on HDS is a prospective line of the pharmacy. The medicines mentioned are nowadays at different stages of development, preclinical and clinical trials. They could be produced shortly by the pharmaceutical industry in Ukraine due to comparatively small financial expenses, as all their components are produced domestically.

**Введение**

Кислород и кремний – самые распространенные на Земле элементы. Следовательно, не удивительно, что именно их соединения – кремнезем (SiO<sub>2</sub>) и силикаты – составляют почти половину массы земной коры как основы твердого каркаса планеты. Эволюция живой материи на Земле происходила в постоянном ее контакте с ними. Существует гипотеза, что именно поверхность кремнезема служила матрицей для осуществления спонтанного синтеза первых биогенных молекул. Поэтому кремнезем и кремнеземсодержащие минералы не инородны для живых организмов и отличаются не только низкой токсичностью, но и активным участием во многих физиологических процессах. Доказательно-тканевых структур – стенок сосудов, хрящей, коллагена кожи и т.п. Кремнезем (в пределах 10 мг) незаменимый микронутриент для человека и животных, а в регионах с низким содержанием биоусваиваемого кремнезема увеличивается частота сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний. Вместе с тем кристаллические формы кремнезема при поступлении ингаляционным путем в виде аэрозольных частиц могут быть причиной развития фиброзного процесса в легких и других органах [1 – 4].

С лечебной целью используют кремнеземы как природного, так и синтетического происхождения. С давних времен и до наших дней в качестве адсорбирующих средств применяют каолин, тальк, бентониты, смектиты, анапульгит и другие природные минералы. Синтетические кремнеземы представлены преимущественно пористыми силикагелями и аморфным высокодисперсным пироженным кремнеземом. Последний, благодаря его особым свойствам, является предметом длительных комплексных исследований, которые проводятся в ИХП им. А.А. Чуйко НАН Украины и других научно-исследовательских и высших учебных заведениях [5].

Высокодисперсный аморфный кремнезем (ВДК) получают путем гидролиза пара тетраоксида кремния в водородно-воздушном пламени водорода. Он характеризуется рядом особенностей химической структуры, а первичные частицы ВДК нанометровых размеров не имеют пор. ВДК используют в фармации в качестве разрыхлителя таблеток, для повышения текучести и сыпучести порошков, в мягких лекарственных формах – для усиления вязкости и стабилизации [6, 7]. Физико-химические свойства ВДК уникальны и обеспечивают многообразие его биологических свойств и возможность многоцелевого использования в различных отраслях медицины и фармации. В частности, особенности химической структуры ВДК позволяют использовать его не только по прямому назначению, то есть как средство аппликационной и энтеральной терапии, но и как матрицу-носитель при создании комбинированных лекарственных препаратов [5, 6].

С химической точки зрения ядро частицы ВДК можно рассматривать как объемный полимер, структурными звеньями которого являются кремний-кислородные тетраэдры, соединенные между собой вершинами посредством силоксановых мостиков Si–O–Si. На поверхности частиц аморфного кремнезема расположено от 4 до 6 гидроксильных

групп/нм<sup>2</sup>, химически связанных с атомами кремния (Si–OH, "силанольная группа"). Гидроксильный покров ВДК обуславливает его высокую гидрофильность и гидроосмотическую активность. Поверхность ВДК в водной среде имеет слабые протондонорные свойства. Величина рК поверхностных гидроксильных групп лежит в интервале 6 – 8, тогда как изоэлектрическая точка отвечает рН 2 [5, 6].

**Медико-биологические свойства ВДК**

Приведем главные свойства ВДК, которые обуславливают его медико-биологическую активность: 1) высокая гидрофильность, 2) связывание большого количества белков, 3) адсорбция микроорганизмов и вирусов, 4) адсорбция ряда низкомолекулярных веществ, преимущественно азотсодержащих [5]. Основные механизмы терапевтического действия ВДК представлены в табл. 1.

**Таблица 1.** Механизмы терапевтического действия ВДК

Сорбция белков	Влияние на микроорганизмы
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Микробных токсинов</li> <li>• Антигенов и аллергенов</li> <li>• Эндотоксинов</li> <li>• Липопротеидных комплексов</li> <li>• Рецепторов энтероцитов</li> <li>• Стабилизация пищеварительных ферментов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Агглютинация бактерий</li> <li>• Микробная деконтаминация</li> <li>• Предотвращение инвазии и транслокации патогенной микрофлоры</li> <li>• Торможение гниения и брожения в желудочно-кишечном тракте</li> </ul>
Гидрофильность	Связывание низкомолекулярных веществ
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Гидроосмотичная активность</li> <li>• Адсорбция воды</li> <li>• Регуляция адсорбции и секреции в кишечнике</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Пептидов средней массы</li> <li>• Экзотоксинов</li> <li>• Токсичных метаболитов</li> </ul>

Указанные свойства ВДК, а также его способность модулировать фармакокинетику и биотрансформацию лекарственных препаратов были использованы при создании комбинированных препаратов нового поколения. В этом случае нами были применены особые подходы, которые позволили создать препараты, как с ускоренным, так и замедленным высвобождением активной субстанции из матрицы [5, 8]. Особые свойства ВДК позволяют использовать его в медицине и фармации в таких 4 направлениях:

1. ВДК как **вспомогательный компонент** лекарственных средств (таблетки, суппозитории, порошки). В качестве наполнителя и стабилизатора (согласно Фармакопее до 8 %) он обеспечивает необходимые механо-химические характеристики во многих готовых лекарственных формах, хотя сам ВДК практически не проявляет собственной терапевтической активности вследствие малой концентрации в лекарственной форме.

2. ВДК как **самостоятельное лекарственное средство** для энтерального и местного (аппликационного) применения (это известный препарат силикс и разработанный недавно коллоидный раствор ВДК – аквасил).

3. ВДК может быть основой **механических композиций** с другими препаратами (антисептиками, ферментами и т. п.), которые сочетают присущие ему фармакологические эффекты со специфическим действием других активных компонентов смеси.

4. На основе ВДК созданы комбинированные лекарственные формы с применением технологий иммобилизации на поверхности частиц кремнезема как матрицы других лекарственных средств. В этом случае удастся создать лекарственные формы с контролируемым высвобождением действующего вещества, чем достигается оптимизация фармакокинетики, а следовательно и терапевтического действия иммобилизованных веществ. При этом в зависимости от технологии изготовления и концентрационных соотношений получают препарат с ускоренным или, напротив, замедленным высвобождением иммобилизованного вещества.

Эти комбинированные препараты, о которых ниже будет сказано более детально, находятся на разных стадиях разработки, доклинических и клинических испытаний.

### Поколение препаратов на основе ВДК. Препараты первой генерации

Все созданные на основе ВДК лекарственные средства (ЛС), а также те, что находятся на стадии разработки и перспективного планирования, условно разделены нами на 3 генерации (табл. 2).

Препараты первого поколения включают лекарственные формы исходной субстанции ВДК – порошок силикса, пригодный для приготовления суспензии, и коллоидный раствор ВДК (аквасил). К препаратам второго поколения относятся механические композиты – сложные порошки и суспензии ВДК с антисептическими, ферментными и другими препаратами. Препараты третьего поколения включают фармакотерапевтические системы наночастиц кремнезема с привитыми к ним лекарственными средствами, способными к регулируемому высвобождению, или капсулы с ядром кремнезема.

Таблица 2. Генерации (поколения) препаратов, созданные на основе ВДК или находящиеся на стадии разработки

Генерации препаратов на основе ВДК	
ЛС первой генерации	Силикс (порошок), аквасил (суспензия)
ЛС второй генерации	Силоглюкан, фитосиллард, лизосил, лизетокс, флотоксан и др. (сложные порошки и суспензии, пластыри и повязки)
ЛС третьей генерации	Иммобилизованные препараты с регулируемой скоростью высвобождения действующего вещества (в том числе капсулы и контейнеры)

Препарат первого поколения силикс уже внедрен в медицинскую практику, его свойства и показатели для применения отражены во многих публикациях, в том числе в фундаментальном труде “Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния”, созданном под руководством академика НАН Украины А.А. Чуйко [5]. В связи с этим ниже приводятся данные лишь относительно препаратов второго и третьего поколений. Разработка препарата аквасил практически завершена и находится на стадии оформления документации.

### Препараты второй генерации

1. К числу препаратов второго поколения относится **силоглюкан** – регидратационный препарат с антидиарейными свойствами энтерального применения, сложный порошок для приготовления суспензии, смесь ВДК, солей, глюкозы, корригентов вкуса и запаха [9].

Известно, что коррекция нарушений водно-минерального обмена является основным подходом к лечению диарей инфекционного происхождения. С этой целью применяются препараты для регидратации – солевые смеси регидрон (ORION, Финляндия),

цитраглюкосолан (Россия), орасан (Sandoz, Швейцария), гастролит (Polfa, Польша) и др. Все эти препараты более или менее удовлетворительно восстанавливают нарушенный электролитный баланс при кишечных инфекциях, однако всем им присущи существенные недостатки. Во-первых, они не обладают прямым антидиарейным действием, а лишь устраняют часть осложнений кишечных инфекций. Во-вторых, коррекция нарушения водно-минерального обмена при тяжелых поражениях кишечника не всегда бывает эффективной вследствие повреждения транспортных систем клеточных мембран энтероцитов и торможения всасывания компонентов регидратационных смесей. Эти недостатки устраняются введением в состав регидратационных смесей ВДК, который: 1) способен связывать в кишечнике патогенные микроорганизмы и их токсины, 2) обладает прямым антидиарейным действием, 3) регулирует перистальтику кишечника и 4) имеет уникальную способность активировать процессы всасывания в кишечнике. Таким образом, в препарате силоглюкан нам удалось реализовать главный принцип фармакотерапии – соединить влияние лекарственного средства как на причину кишечных инфекций, так и на патогенетические механизмы развития заболевания.

Состав композиции силоглюкана (на 100 г готового продукта) [10]:

ВДК (ВФС 42-2668-96).....	33,0 г
Натрия хлорида (ГФ X, ст.426) .....	11,6 г
Калия хлорида (ГФ X, ст.362) .....	8,3 г
Натрия цитрата (ДФ Украины, с.423).....	9,6 г
Глюкозы (ГФ X, ст.311).....	36,5 г
Аспартама (сластилина) (ТУ 64-оп.5-151-88).....	0,5 г
Настойки мяты перечной (ГФ X, ст.689).....	0,5 г

Результаты исследований, проведенных в условиях *in vitro*, отображены в табл. Оказалось, что наличие в инкубационной среде ВДК существенно ускоряет всасывание катионов натрия и калия, анионов хлора и глюкозы через слизистую кишечника. Механизм этого эффекта окончательно не выяснен, однако имеются основания считать, что его основе лежит взаимодействие микрочастиц сорбента с белковыми структурами мембран энтероцитов.

Таблица 3. Влияние высокодисперсного кремнезема на транспорт компонентов силоглюкана (глюкозы и ионов, мкмоль/мл) на модели вывернутой кишки мешочков тонкой кишки крыс

Ингредиенты	Инкубационная среда	
	Регидратационная смесь (контроль)	Регидратационная смесь ВДК
Глюкоза	13,7 ± 1,6	21,5 ± 1,7 *
Cl <sup>-</sup>	27,7 ± 4,3	38,5 ± 3,3 *
Na <sup>+</sup>	219 ± 14,9	255 ± 17,2 *
K <sup>+</sup>	66,0 ± 3,3	78,3 ± 4,6 *

Примечание: в состав “регидратационной смеси” входят все компоненты силоглюкана кроме ВДК; знаком \* обозначена достоверная разность по сравнению с контролем ( $P < 0,05$ ).

Наличие у силоглюкана мощных антидиарейных и регидратационных эффектов было подтверждено в экспериментах по изучению его специфической активности на моделях сальмонеллеза у мышей и касторовой диареи и эксикоза у крыс.

Модель сальмонеллеза у 24 белых мышей была воспроизведена путем внутрибрюшинного введения суточной культуры *Salm.typhimurium* (штамм № 120, биовариант № 4, предоставленный баклабораторией Винницкой областной СЭС) в разбавлении 1 млрд. микробных клеток/мл по стандарту мутности – по 1 мл на животное (абсолютно смертельная доза). На следующий день животных разделили на 4 группы и начали лечение. Животным первой группы через металлический зонд в желудок вводили 1 мл силоглюкана (3 % суспензия по кремнеземному ингредиенту), второй группы – по 1 мл 3 % взвеси силикса, третьей – 1 мл раствора солей, входящих в состав силоглюкана (в адекватной концентрации), четвертой – 1 мл воды (группа "модель без лечения"). Введение осуществляли ежедневно, один раз в сутки, до гибели всех животных в опытных группах. Чистым контролем были 4 животных, которым культуру сальмонелл не вводили.

Результаты исследований приведены на рис. 1. Видно, что введение воды или раствора солей не защищало мышей от сальмонеллезной инфекции, в то время как силоглюкан и силикс более чем в 2 раза удлиняли продолжительность жизни животных.

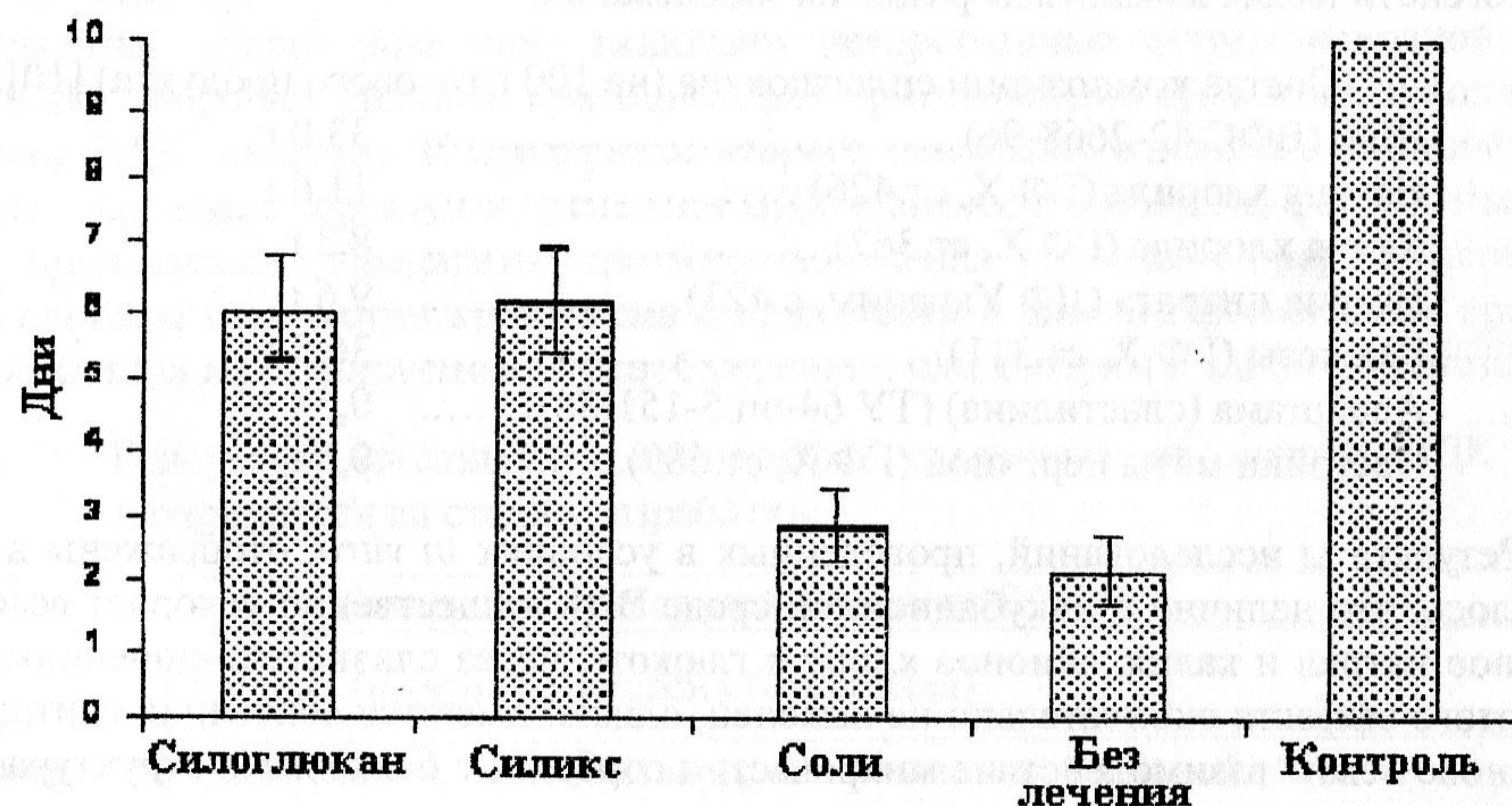


Рис. 1. Средняя продолжительность жизни мышей, получивших летальную дозу сальмонелл, в зависимости от лечения ( $M \pm m$ ,  $n = 6$ ).

Высокую эффективность силоглюкана демонстрируют также сравнительные (с регидроном) исследования крыс на модели, соединяющей диарейный синдром и обезвоживание (эксикоз), результаты которых приведены на рис. 2. Видно, что у животных, не подвергнутых лечению, резко возрастает гематокрит и происходит падение концентрации хлорид-анионов в крови. Применение солевой смеси регидрона, как и силикса (данные по силиксу на рис. 2 не приведены), лишь частично устраняет эти нарушения, следовательно, силоглюкан полностью их нормализует [11]. Таким образом, композиция силоглюкан по антидиарейным свойствам не уступает силиксу, выгодно отличаясь способностью нормализовать водно-минеральный обмен.

Можно полагать, что лечебное действие силоглюкана достигается благодаря связыванию препаратом в кишечнике патогенных микроорганизмов и их токсинов, замедлению перистальтики кишечника, ускорению всасывания компонентов солевой смеси и жидкости. Следовательно, на моделях касторовой диареи, эксикоза и сальмонеллеза силоглюкан в целом показал более высокую специфическую терапевтическую эффективность по сравнению с регидроном и силиксом.

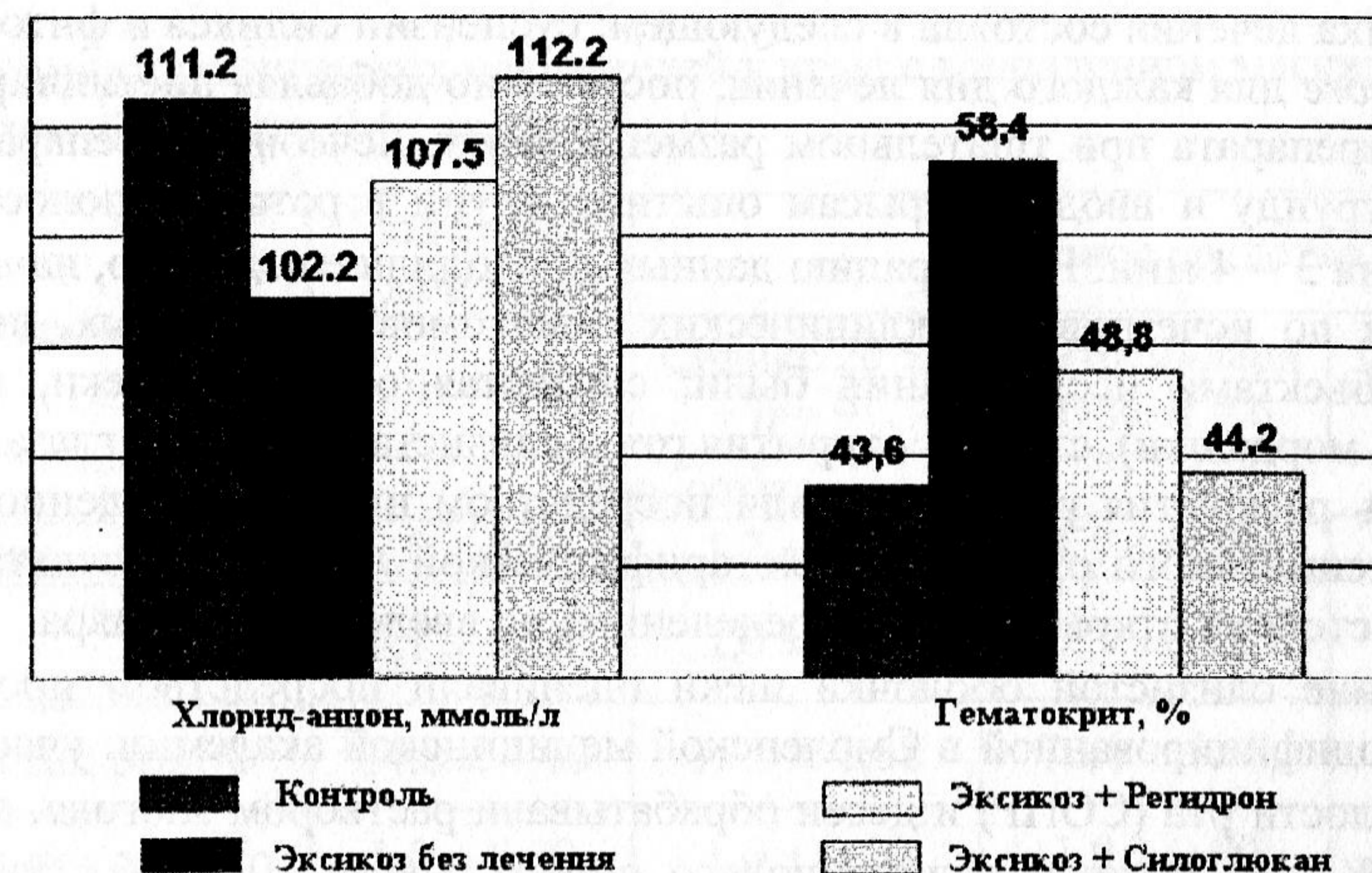


Рис. 2. Эффективность возобновления гематокрита и уровня хлорид-анионов в крови крыс с моделью диареи-эксикоза препаратами регидрон и силоглюкан.

Поскольку все компоненты силоглюкана известны и нетоксичны в использованных дозах, исследование безвредности нового препарата было проведено в сокращенном варианте.

По результатам исследований разработан ФС на регидратационно-антидиарейное средство силоглюкан. Препарат был рекомендован для клинических испытаний [11].

2. К препаратам второго поколения относятся также фитосиллард (эхинацея, иммобилизованная на силиксе) и фитосиллард в сочетании с нестероидным противовоспалительным препаратом нимесулидом – фитосиллард – нимесил.

Результаты доклинических исследований свидетельствуют о высокой противовоспалительной активности этих препаратов на моделях гингивита и пародонтоза воспалительных процессов мягких тканей ротовой полости (десен и околозубной ткани пародонта) [12, 13].

Для оценки эффективности аппликационного применения фитосилларда по сравнению с базовым препаратом – силиксом – при асептическом воспалительном процессе в мягких тканях ротовой полости крыс нами была воспроизведена модель асептического воспаления мягких тканей ротовой полости, разработанная в Одесском НИИС, но в собственной модификации: рекомендованная доза очищенного скипидара была увеличена в 10 раз, т. е. до 0,4 мл/кг массы крысы [12].

Исследование, продолжавшееся 6 дней, проведено на 33 крысах линии Виста обоего пола стадного разведения возрастом 3 – 4 месяца, которые содержались на рационе вивария.

Животные были разделены на четыре группы: первая – контрольная – модель без лечения (9 крыс); во второй (9 животных) в качестве лечебного средства использовался силикс 20 %-ной концентрации на воде пастообразной формы; животных третьей и четвертой групп (соответственно 6 и 9 крыс) лечили комплексным препаратом фитосиллард, используя его в двух разных концентрациях: 20 %-ная суспензия и 40 %-ная пастообразная форма.

Во всех группах воспаление моделировали по методике: индивидуальную дозу очищенного скипидара инсулиновым шприцем с фиксированной канюлей и нанесенным на расстоянии 3 мм от конца иглы ограничителем вводили в переходную складку с вестибулярной стороны нижней челюсти справа в проекции первого-второго моляра.

Методика лечения состояла в следующем: суспензии силикса и фитосилларда готовили *ex tempore* для каждого дня лечения, постепенно добавляя дистиллированную воду к порошку препарата при тщательном размешивании. Лечебный препарат наносили на марлевую турунду и вводили крысам опытных групп в ротовую полость со стороны воспаления на 3 – 4 мин. Регистрацию данных проводили ежедневно, начиная с первого дня опыта и до исчезновения клинических симптомов у животных, подвергавшихся лечению. Объектами исследования были: слизистая оболочка щеки, наличие отека (асимметрия мордашки), степень открытия рта и слизистая оболочка глаза.

Степень раскрытия рта определяли посредством циркуля, введенного между резцами до максимального открытия, и логарифмической линейки. Результат выражали в процентах к степени открытия рта, определенной до введения скипидара.

Состояние слизистой оболочки щеки оценивали посредством пробы Шиллера-Писарева, модифицированной в Смоленской медицинской академии: участок слизистой оболочки полости рта (СОПР) и десен обрабатывали раствором Люголя, а через 30–60 с наносили 1 %-ный раствор толуидинового синего. Через 10 – 30 с участки острого воспаления приобретают буро-фиолетовый цвет в отличие от слабо окрашенных участков здоровой слизистой оболочки. Наличие эрозии или язвы регистрировалось при непосредственном наблюдении, результаты которого выражались в баллах.

Асимметрию, возникающую в результате отека правой щеки, определяли по ширине мордашки посредством циркуля и логарифмической линейки. Отмечали также степень воспаления слизистой глаза на стороне поражения. Оба этих показателя также выражали в баллах. Полученные результаты обрабатывали статистически, данные приведены в табл. 4.

Инъекция скипидара через 3 – 4 ч вызывала отек правой щеки у животных всех групп. На следующие сутки появлялось слезотечение из глаза и увеличивался отек щеки, тризм жевательной мускулатуры ограничивал открытие рта, на слизистой оболочке щеки наблюдалась гиперемия.

В дальнейшем на гиперемиеванных участках внутренней поверхности правой щеки возникала эрозия или язва диаметром 2 – 5 мм в одних случаях, в других – появлялось легкое шелушение.

В контрольной группе у трех крыс было зафиксировано воспаление десен с вестибулярной стороны с частичным перекрытием коронок моляров.

Как видно из табл. 4 уже со второго дня наблюдения степень открытия рта была достоверно большей, а поражение слизистой глаза уменьшалось во всех группах, получавших лечение, по сравнению с животными, не подвергавшимся лечению, но позитивная динамика состояния слизистой оболочки ротовой полости отмечалась лишь в группе, получавшей фитосиллард (40 %-ная суспензия).

С третьего дня у крыс, подвергнутых лечению, достоверно уменьшался отек щеки, в группе, получавшей силикс также достоверно уменьшались проявления поражения слизистой оболочки ротовой полости.

Положительная динамика клинических симптомов к последнему дню лечения достоверно ускорялась по сравнению контрольной группой животных, только в группе, получавшей фитосиллард (20 %-ная суспензия) состояние слизистой оболочки ротовой полости достоверно не отличалось от контрольной группы животных – т. е. местное влияние этой концентрации фитосилларда было недостаточным.

Гистологические исследования показали, что к концу срока наблюдения у крыс, не получавших лекарственных средства, обнаруживаются значительные реактивные изменения в базальном слое эпителия слизистой оболочки щеки по сравнению со здоровым контролем (рис. 3) – многорядность, перинуклеарная вакуолизация, инвазия лимфоцитов из-под базальной мембраны в дистрофически измененные эпителиоциты (рис. 4).

Таблица 4. Динамика клинических показателей у крыс с воспалением мягких тканей ротовой полости ( $M \pm m, n = 6...9$ )

Клинические проявления	Модель без лечения	Лечебное средство		
	n = 9	Силикс 20 %, n = 9	Фитосиллард 20 %, n = 6	Фитосиллард 40 %, n = 9
1 день опыта				
Отек щеки, балл	1,8 ± 0,24	1,7 ± 0,12	1,7 ± 0,18	1,8 ± 0,3
Состояние слизистой глаза, балл	2,1 ± 0,24	2,0 ± 0,24	2,0 ± 0,35	2,1 ± 0,3
Степень открытия рта, %	64,8 ± 4,40	70,9 ± 2,38	70,0 ± 5,48	71,2 ± 3,4
Дефект СОПР, балл	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,00	1,0 ± 0,0
2 день опыта				
Отек щеки, балл	1,1 ± 0,24	1,1 ± 0,24	1,0 ± 0,35	1,2 ± 0,1
Состояние слизистой глаза, балл	1,89 ± 0,12	1,33 ± 0,12*	1,17 ± 0,35*	0,89 ± 0,2
Степень открытия рта %	68,0 ± 4,76	79,6 ± 2,62*	81,0 ± 4,24*	80,2 ± 3,4
Дефект СОПР, балл	1,78 ± 0,24	2,0 ± 0,24	2,0 ± 0,35	1,2 ± 0,1
3 день опыта				
Отек щеки, балл	1,20 ± 0,24	0,78 ± 0,12*	0,83 ± 0,18*	0,78 ± 0,1
Состояние слизистой глаза, балл	1,22 ± 0,12	0,44 ± 0,24*	0,67 ± 0,18*	0,56 ± 0,1
Степень открытия рта %	72,5 ± 3,93	87,7 ± 3,21*	83,3 ± 2,65*	86,4 ± 2,1
Дефект СОПР, балл	1,78 ± 0,24	1,22 ± 0,12*	1,33 ± 0,53	0,78 ± 0,1
4 день опыта				
Отек щеки, балл	1,1 ± 0,12	0,44 ± 0,12*	0,67 ± 0,18*	0,56 ± 0,1
Состояние слизистой глаза, балл	1,1 ± 0,12	0,22 ± 0,12*	0,16 ± 0,18*	0,33 ± 0,1
Степень открытия рта %	76,4 ± 3,33	88,0 ± 3,21*	85,0 ± 1,77	91,3 ± 2,1
Дефект СОПР, балл	1,67 ± 0,24	0,33 ± 0,12*	1,13 ± 0,53	0,11 ± 0,1
5 день опыта				
Отек щеки, балл	0,89 ± 0,12	0,0 ± 0,00*	0,33 ± 0,18*	0,22 ± 0,1
Состояние слизистой глаза, балл	0,44 ± 0,12	0,0 ± 0,00*	0,0 ± 0,00*	0,0 ± 0,0
Степень открытия рта %	82,7 ± 2,50	99,3 ± 0,60*	93,5 ± 1,59*	97,8 ± 0,1
Дефект СОПР, балл	1,17 ± 0,21	0,22 ± 0,12*	0,89 ± 0,53	0,0 ± 0,0

\* – достоверные отличия от показателей группы “модель без лечения”

Встречаются очаги гнойного воспаления непосредственно в деструктурированных участках эпителия слизистой оболочки. В собственной пластинке слизистой оболочки базальной мембраной – полнокровие капилляров, наличие моноцитов, гистиоцитов, нейтрофилов, эозинофилов, набухание коллагеновых волокон. Имеет место гнойный периваскулит. В мускульной оболочке щеки гнойное воспаление проявляется абсцессом.

дированием с фрагментацией некротизированных мускульных волокон, развитием флегмонозного процесса. В целом ничем не корректируемый моделируемый воспалительный процесс в щеке крыс до конца наблюдений характеризуется выраженной альтерацией и экссудацией и почти отсутствующей пролиферацией.

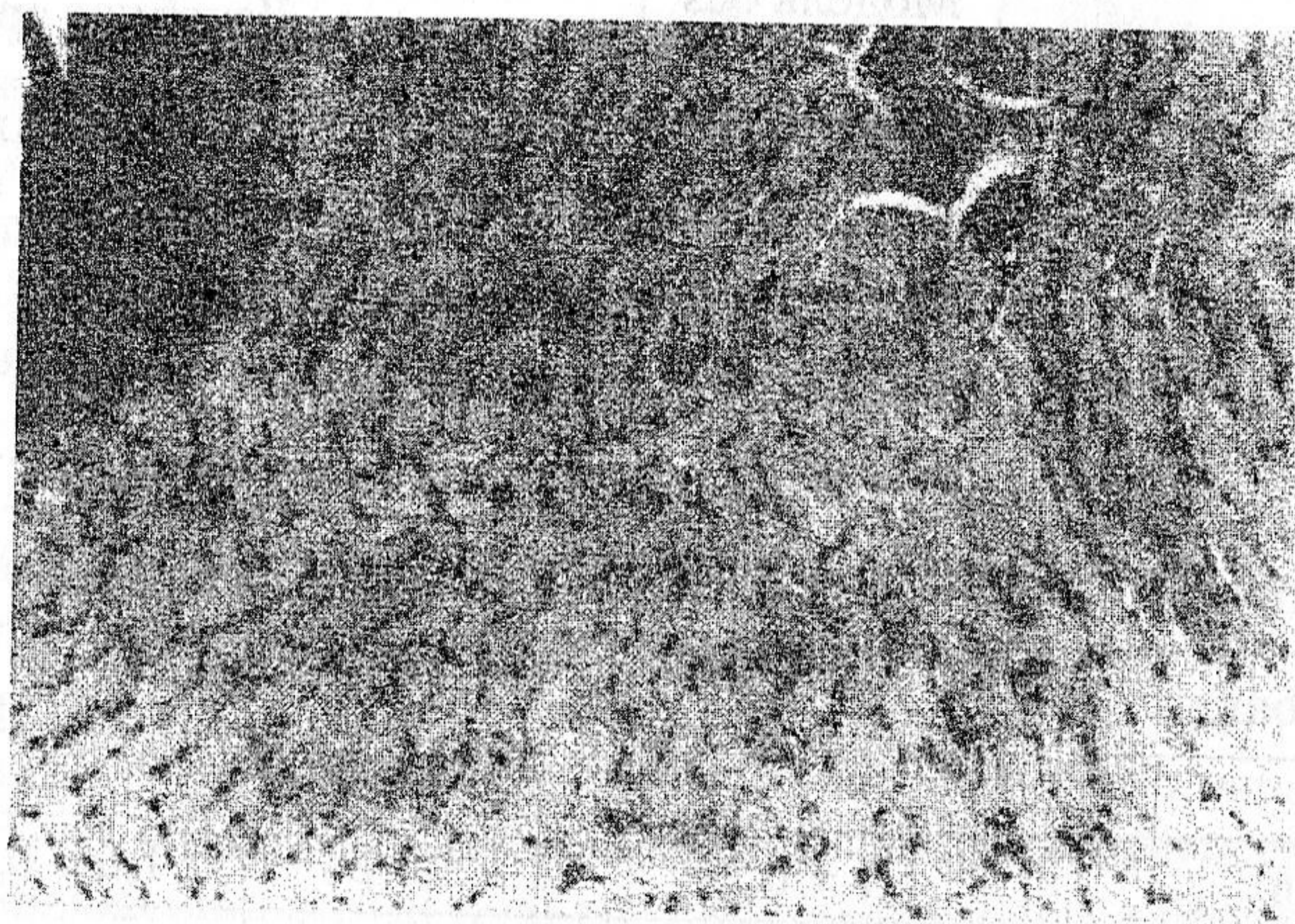


Рис. 3. Мускульная оболочка щеки крысы. Контроль. Гематоксилин-эозин,  $\times 10 \times 40$ .

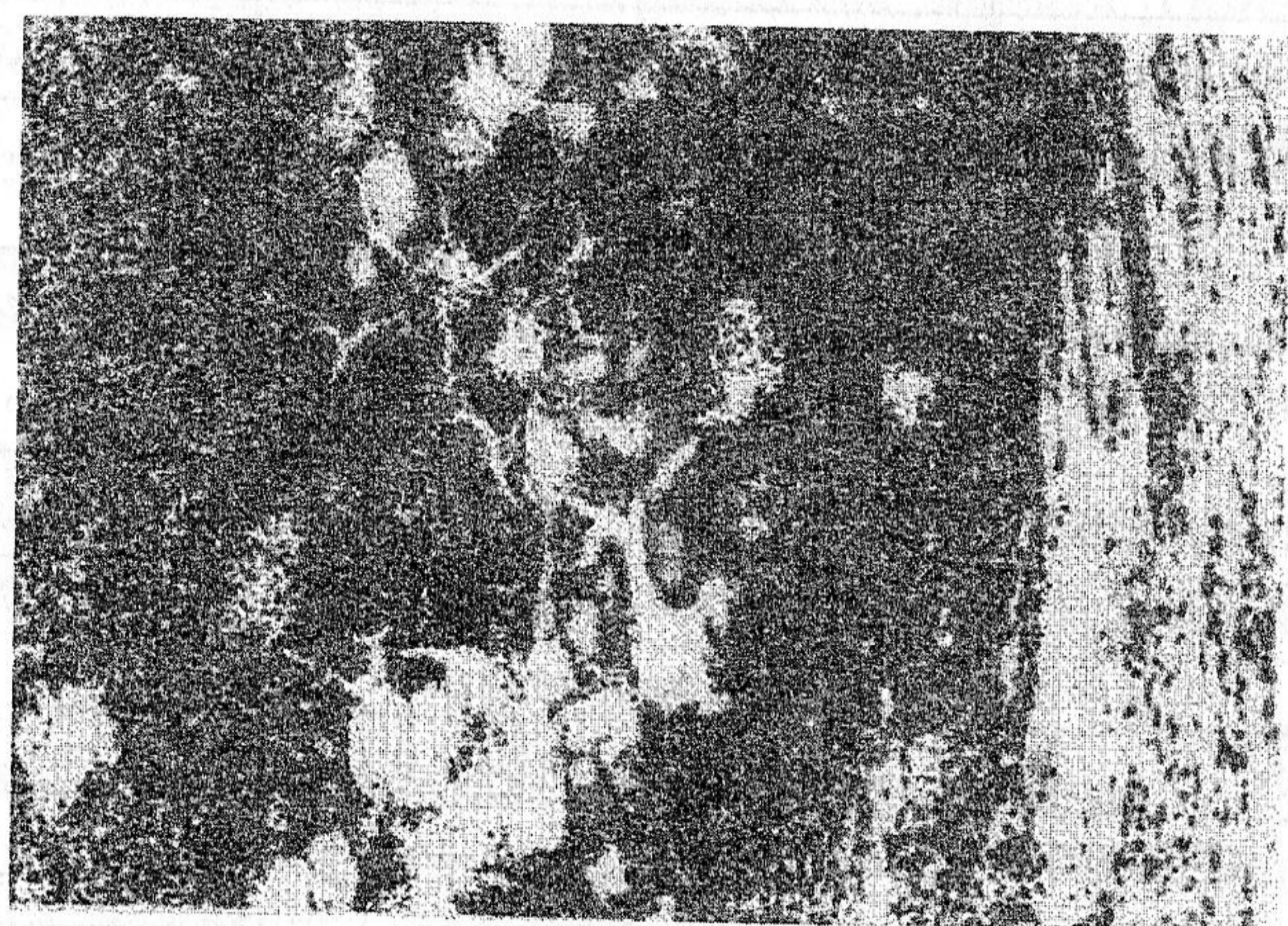


Рис. 4. Ячейка гнойного воспаления. Фрагменты некротизированных мускульных волокон в гнойном экссудате. Гематоксилин-эозин,  $\times 10 \times 10$ .

Лечение крыс 20 %-ным силиксом обуславливает развитие эффективной фазы пролиферации в слизистой оболочке щеки (рис. 5), которая проявляется регенераторными процессами. Вокруг гнойных ячеек образуется и проникает в них обычная грануляционная ткань с макрофагами, лимфоцитами, многочисленными фибробластами. Много новообразованных капилляров и ангиобластических начал. Вокруг гнойных фокусов появляется коллагеновая граница как результат инкапсуляции абсцесса. В целом грануляционный процесс интенсивно распространяется, а зоны гнойного воспаления сужаются. В грануляциях очень незначительное содержание нейтрофилов. Кое-где наблюдается еще более продвинутое завершение воспалительного процесса: грануляционная ткань перешла к фазе фибротизации, хотя и неодинаковой плотности.

Приемлемыми и результативными выглядят в целом морфологические метаморфозы в тканях щеки крыс в случае лечения их 20 %-ным фитосиллардом (рис. 6). Выраженность гнойного воспалительного процесса ослабляется везде, хотя продуктивные

реакции сопровождаются значительным присутствием нейтрофилов и в собственной пластинке и в участках с грануляционной тканью, где по сравнению с предыдущей серией слабее выглядят фибробластическая и ангиобластическая активность. Наблюдается линейный склероз с атрофией мускульных волокон. Сохраняются реактивные изменения в эпителии слизистой оболочки инвазия его лимфоцитами.

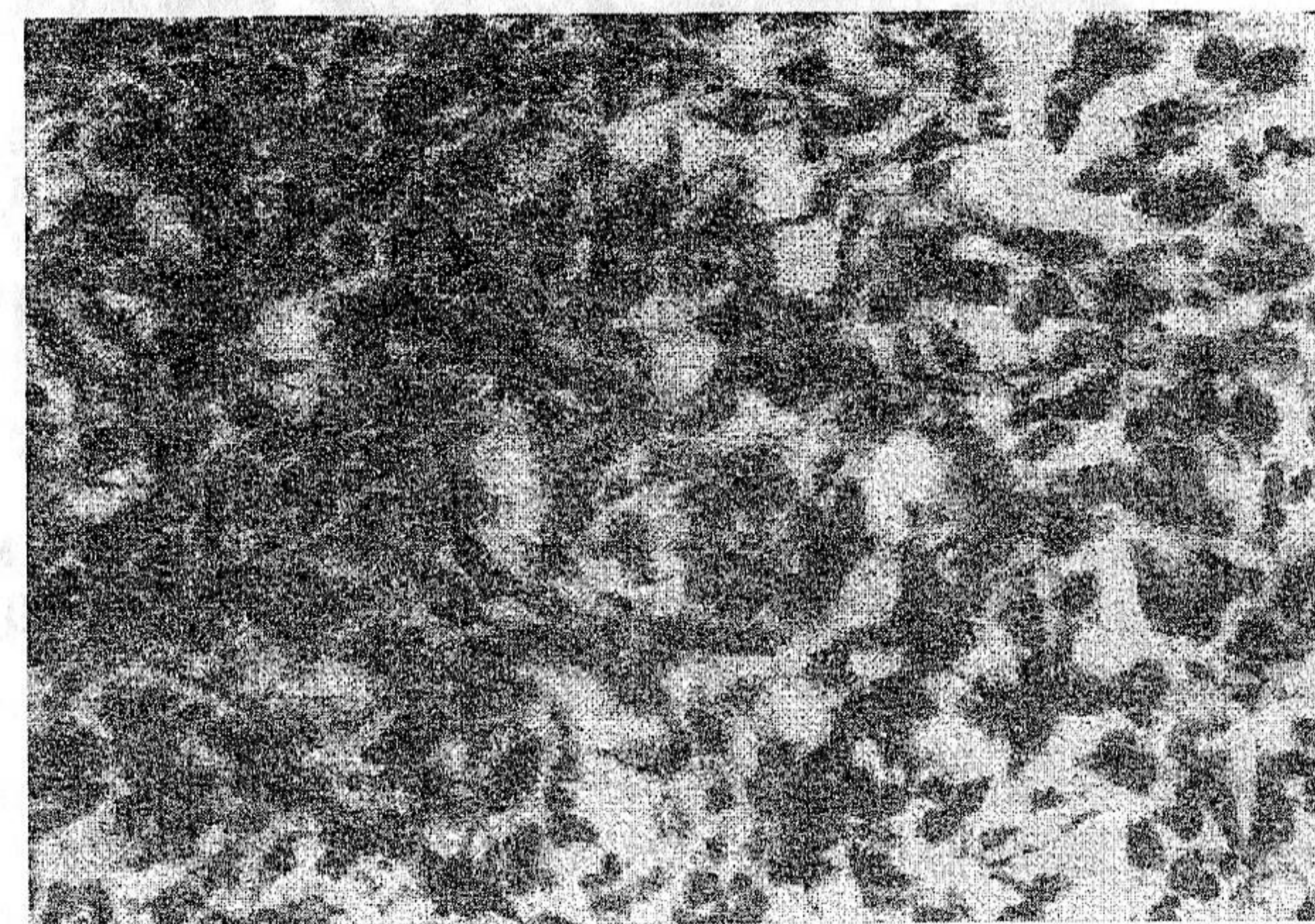


Рис. 5. Активная фибробластическая и ангиобластическая реакции на месте химической альтерации и гнойного воспаления в щеке крысы. Лечение силиксом. Толуидиновый синий,  $\times 10 \times 40$ .

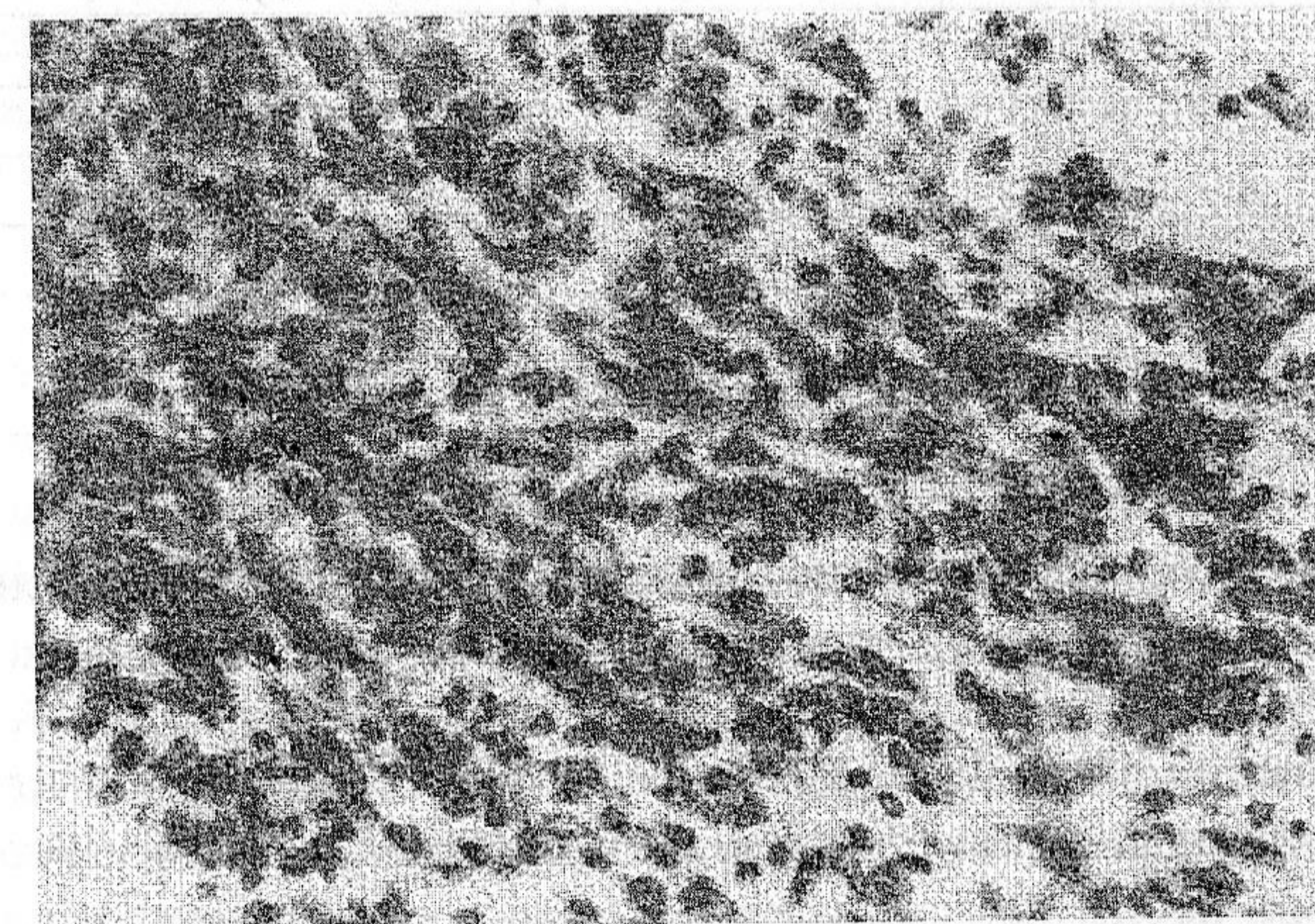


Рис. 6. Лейкоциты среди фибробластов и еще неканализированных новообразованных капилляров. Лечение фитосиллардом 20 %. Толуидиновый синий,  $\times 10 \times 40$ .

Использование в качестве лечебного средства 40 %-ного фитосилларда оказалось наиболее результативным – по морфологической картине состояние репарационных процессов в тканях щеки крыс было подобным наблюдавшемуся у животных, подвергавшихся лечению силиксом, но более выразительным (рис. 7).

С учетом полученных в первом опыте результатов была проведена оценка состояния гематологических показателей у крыс с воспалением мягких тканей ротовой полости (табл. 5). После воссоздания соответствующей модели, крысы были разделены на три группы: 10 животных лечили силиксом (20 %-ная суспензия), 9 – фитосиллардом (40 %-ная суспензия), 12 крыс лечения не получали. Контролем были 7 здоровых крыс.

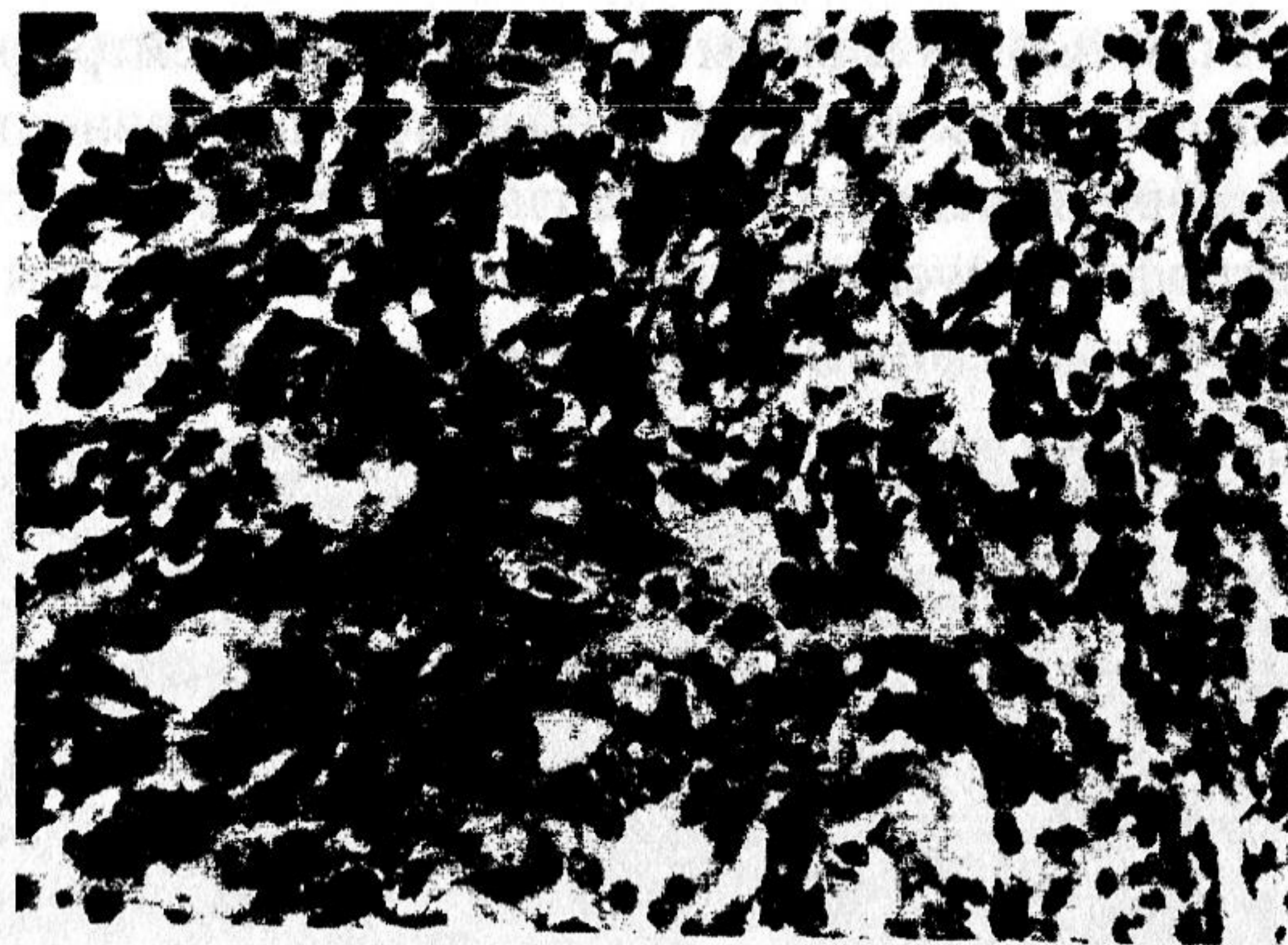


Рис. 7. Грануляционная ткань. Тяжи фибробластов и ангиобластов, макрофаги, лимфоциты, одиночные нейтрофилы. Лечение фитосиллардом 40 %. Гематоксилин-эозин,  $\times 10 \times 40$ .

Таблица 5. Гематологические показатели у животных с воспалением мягких тканей ротовой полости ( $M \pm m$ ,  $n = 7 - 12$ )

	Контроль ( $n = 7$ )	Силикс 20 % ( $n = 10$ )	Фитосиллард 40% ( $n = 9$ )	Модель без лечения ( $n = 12$ )
Гемоглобин	$107,7 \pm 3,33$	$102,6 \pm 3,32$	$98,7 \pm 3,93$	$111,9 \pm 1,38$
СОЕ	$5,7 \pm 1,21$	$4,9 \pm 0,97$	$5,4 \pm 1,19$	$7,1 \pm 0,56$
Лейкоциты	$7,5 \pm 0,54$	$8,2 \pm 0,84$	$8,0 \pm 0,70$	$8,9 \pm 0,65$
Эозинофилы	$2,9 \pm 0,76$	$3,3 \pm 0,54$	$3,4 \pm 0,66$	$2,3 \pm 0,56$
Пал.ядерные	$2,7 \pm 0,76$	$3,2 \pm 0,54$	$2,4 \pm 0,66$	$3,2 \pm 0,65$
Сегм.ядерные	$62,0 \pm 3,48$	$58,0 \pm 3,85$	$57,6 \pm 3,05$	$46,0 \pm 2,0^{**}$
Лимфоциты	$26,7 \pm 3,18$	$28,0 \pm 3,03$	$29,0 \pm 3,45$	$40,0 \pm 2,0^{**}$
Моноциты	$4,6 \pm 1,66$	$6,4 \pm 1,06$	$6,8 \pm 1,33$	$8,1 \pm 0,93^*$

\* $P < 0,1$ , \*\* $P < 0,01$

Как видно из табл. 5 достоверного различия таких показателей, как СОЕ, общее количество лейкоцитов, процент эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов между животными, которые не лечились и другими группами не наблюдалось, хотя первые два показателя у них были несколько увеличены. Однако процент сегментоядерных нейтрофилов у крыс с воспалением был достоверно меньшим, а лимфоцитов – больше, чем у здоровых животных, наблюдалась также тенденция к увеличению процента моноцитов, тогда как эти показатели в обеих группах, проходивших лечение не отличались от контроля. Соотношение гранулоциты/лимфоциты в контроле составляло 2,4, в группах “силикс” и “фитосиллард” – 2,1 и 2,0 соответственно, в контрольной группе животных – лишь 1,2.

Уровень гемоглобина ни в одной группе не имел достоверного различия с контролем, однако следует заметить, что у животных, подвергавшихся лечению, этот показатель проявлял тенденцию к снижению, а у контрольной группы – к увеличению.

Выраженные противовоспалительный и кератопластический эффекты фитосилларда послужили основанием для последующего изучения его терапевтического действия на модели экспериментального пародонтита.

Исследование, длительностью 60 дней, проведено на 33 крысах-самцах линии Вистар, весом 140 – 160 г, возрастом 3 месяца, содержащихся на рационе вивария. Нами была воспроизведена пероксидная модель экспериментального пародонтита [13],

разработанная в Одесском НИИС, в собственной модификации, в которой классический вариант со скормливанием животным окисленного подсолнечного масла (ОПМ) сочетался с локальным применением последнего. Окисленное масло готовили по следующей методике: рафинированное масло прогревали 45 мин при температуре  $150^\circ\text{C}$ , продувая воздух в присутствии катализатора – 0,1 % сульфата меди. Перекисное число ОПМ составляло 2,7 (в г иода).

В ходе опыта 25 опытных крыс в течение 45 дней получали в качестве добавки к рациону окисленное подсолнечное масло (ОПМ) в расчете 5 % от суточной массы корма и дополнительно один раз в день, аппликацию ОПМ на десны нижней челюсти с помощью марлевого тампона, который вводился в полость рта на 1 – 2 мин. В контрольной группе (8 животных), как добавление к рациону и для аппликаций, использовали обычное рафинированное подсолнечное масло с перекисным числом 0,35 (в г иода).

На 46 день опытных животных разделили на 4 группы. Первая группа составляла модель без лечения (6 крыс); во второй (6 животных) в качестве лечебного средства использовали силикс – 20 %-ную пастообразную суспензию; животных третьей (6 крыс) лечили фитосиллардом (40 %-ная суспензия), а четвертой (7 животных) – композицией фитосиллард + нимесулид (20 и 3 %, соответственно). Интактные 8 крыс составили пятую, контрольную группу.

Методика лечения была следующей: суспензии отмеченных препаратов готовили *ex tempore* для каждого дня лечения, постепенно добавляя дистиллированную воду к порошку при тщательном перемешивании. Животным каждой опытной группы соответствующий препарат вводили с помощью большого шприца в преддверие рта с обеих сторон нижней челюсти 1 раз в сутки в течение 2 недель.

После завершения лечения, на 60-й день опыта, животных всех групп подвергали эвтаназии под эфирным наркозом, тотальным кровопусканием из сердца, делали забор крови и выделяли ткани пародонта для биохимического и гистологического исследования.

В крови определяли морфологические показатели (развернутый анализ крови). По результатам гематогаммы отличий между группами животных не наблюдалось.

Для биохимических исследований брали сыворотку крови и приготовленный на 1,15 %-ном растворе хлорида калия гомогенат слизистой оболочки десен участка коренных зубов нижней челюсти. В исследуемых тканях уровень пероксидного окисления липидов оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) [14]; выраженность воспалительного процесса – по активности гидролитических ферментов: катепсина *D* (маркерного фермента лизосом) [15] и щелочной фосфатазы (маркер состояния костной ткани) [16]; степень антирадикальной защиты – по активности антиоксидантного фермента супероксиддисмутазы [17].

По результатам биохимических исследований у животных, не принимавших лекарственных препараты с пародонтитом, в сыворотке и в гомогенате слизистой десен возрастала активность ПОЛ (уровень малонового диальдегида), гидролитических процессов (катепсина *D* и щелочной фосфатазы) и снижалась степень антирадикальной защиты (активность супероксиддисмутазы) (табл. 6 и 7).

Проведенная терапия улучшала изучаемые показатели у всех животных, подвергнутых лечению, по сравнению с моделью без лечения, хотя в ни одной из групп не нормализовала полностью их. В сыворотке крови только уровень катепсина *D* у всех животных, принимавших препараты, не отличался от интактного контроля. При применении фитосилларда уровень МДА в сыворотке крови также достигал нормальных величин, а у крыс, подвергнутых лечению комбинацией фитосилларда с нимесулидом досто

верно возрастала и активность СОД, так что лишь у них изучаемые показатели не отличались от контрольных (табл. 6).

Таблица 6. Влияние препаратов на основе силикса на биохимические показатели в сыворотке крови у крыс с моделью пародонтита ( $M \pm m$ )

Группы животных	Показатели в сыворотке крови			
	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Катепсин D, ед. опт. пл. на 1 мг белка за 10 мин	Щелочная фосфатаза, мкмоль/мин/мл	Супероксид-дисмутаза % торможение на 1 мг белка
Интактный контроль, $n = 8$	12,5±1,34	0,040±0,007	0,360±0,026	36,8±1,74
Модель пародонтита				
Нелеченные животные, $n = 6$	19,7±1,18*	0,078±0,008*	0,537±0,038*	26,4±1,59*
Силикс, $n = 6$	17,5±1,90*	0,054±0,006 #	0,453±0,027*	30,4±0,63*#
Фитосиллард, $n = 6$	15,1±2,25	0,052±0,007 #	0,438±0,023*#	31,5±1,53*#
Фитосиллард+ нимесулид, $n = 7$	13,8±1,60 #	0,049±0,006 #	0,403±0,035 #	33,8±1,39 #

\* $P < 0,05$  относительно интактного контроля; # $P < 0,05$  относительно животных, не подвергавшихся лечению.

По положительной динамике отмеченные показатели в гомогенатах несколько отставали от сывороточных. Только при сочетании фитосилларда с нимесулидом уровни МДА и катепсина D достигали значений контроля. В группах, получавших силикс и только фитосиллард, изучаемые показатели имели достоверные отличия и от интактных, и от нелеченных животных. Однако терапия фитосиллардом была более эффективной, чем использование в качестве лечебного средства только суспензии силикса (табл. 7).

Таблица 7. Влияние препаратов на основе силикса на биохимические показатели в гомогенате слизистой оболочки десен у крыс с моделью пародонтита ( $M \pm m$ )

Группы животных	Показатели у гомогенате слизистой оболочки			
	Малоновый диальдегид, нмоль/мг белка	Катепсин D, ед. опт. пл. на 1 мг белка за 10 мин	Щелочная фосфатаза, нмоль/мин/мг белка	Супероксид-дисмутаза % торможение на 1 мг белка
Интактный контроль, $n = 8$	2,94±0,31	0,096±0,007	7,15±0,41	44,4±1,85
Модель пародонтита				
Нелеченные животные, $n = 6$	6,31±0,27*	0,210±0,009*	12,5±0,74*	16,0±1,67*
Силикс, $n = 6$	4,43±0,30*#	0,154±0,008*#	10,3±0,55*#	38,4±1,66*#
Фитосиллард, $n = 6$	3,71±0,11*#	0,140±0,010*#	10,2±0,35*#	31,9±2,04*#
Фитосиллард+ нимесулид, $n = 7$	2,99±0,24 #	0,120±0,011 #	9,16±0,41*#	34,2±1,98*#

\* $P < 0,05$  относительно интактного контроля; # $P < 0,05$  относительно животных, не подвергавшихся лечению.

Для гистологического исследования брали образцы слизистой оболочки десен нижней челюсти. Ткани фиксировали в 10 %-ном растворе формалина, потом по общепринятой методике заливали в парафин, готовили срезы, окрашивали гематоксилин-эозином и изучали микроскопически [18].

В гистологических препаратах десен крыс с экспериментальным пародонтитом (модель без лечения) наблюдались дегенеративные изменения эпителия слизистой оболочки десен на фоне выраженного гнойного воспаления среди структур собственной пластинки. Клетки базального слоя, ближайшие к ячейке воспаления, были разрушены, отмечались гидропически измененные клетки острого слоя и нарушения стратификации эпителиоцитов других слоев и клеток экссудата. В собственной пластинке – выраженная лейкоцитарная инфильтрация (рис. 8).



Рис. 8. Экспериментальный пародонтит (модель без лечения). Деструктивные изменения в эпителии десен и лейкоцитарная инфильтрация соединительно-тканной основы. Гематоксилин-эозин, x400.

Относительно животных, получавших лечение, данные морфологии подтвердили результаты биохимических исследований – все изучаемые препараты оказывали положительное терапевтическое действие на поврежденную воспалительным процессом морфологическую структуру десен (рис. 9 – 11).

Лечение крыс с моделированным пародонтитом силиксом представляется достаточно эффективным. Однако обнаруживаются участки, где на границе с собственной пластинкой слизистой оболочки десен базальный слой эпителия, который должен был бы иметь обычный состав с базофильно окрашенными клетками овальной и палочковидной формы, фактически отсутствует. Вместо этого клетки базальной мембранной локализации значительны по размерам, с круглым ядром, сероголубой цитоплазмой и нередко перинуклеарной вакуолизацией. Эпителиоциты шиповатого слоя в состоянии дистрофии. В собственной пластинке слизистой оболочки, в проекции описанных имеющих еще деструктивных изменений эпителия, на расстоянии от базальной мембраны эпителиального слоя кое-где встречаются тонкие гирлянды или неширокие полосы лейкоцитарной инфильтрации среди коллагеновых волокон. В целом в гистопрепаратах десен крыс этой группы наблюдаются явления угасания различных фаз процесса острого воспаления.

В эпителиальном покрове и собственной пластинке слизистой оболочки десен крыс после лечения их фитосиллардом уже не наблюдается проявлений сильной альтерации клеток или настоящих компонентов воспалительного процесса соединительной ткани под эпителием (рис. 10).



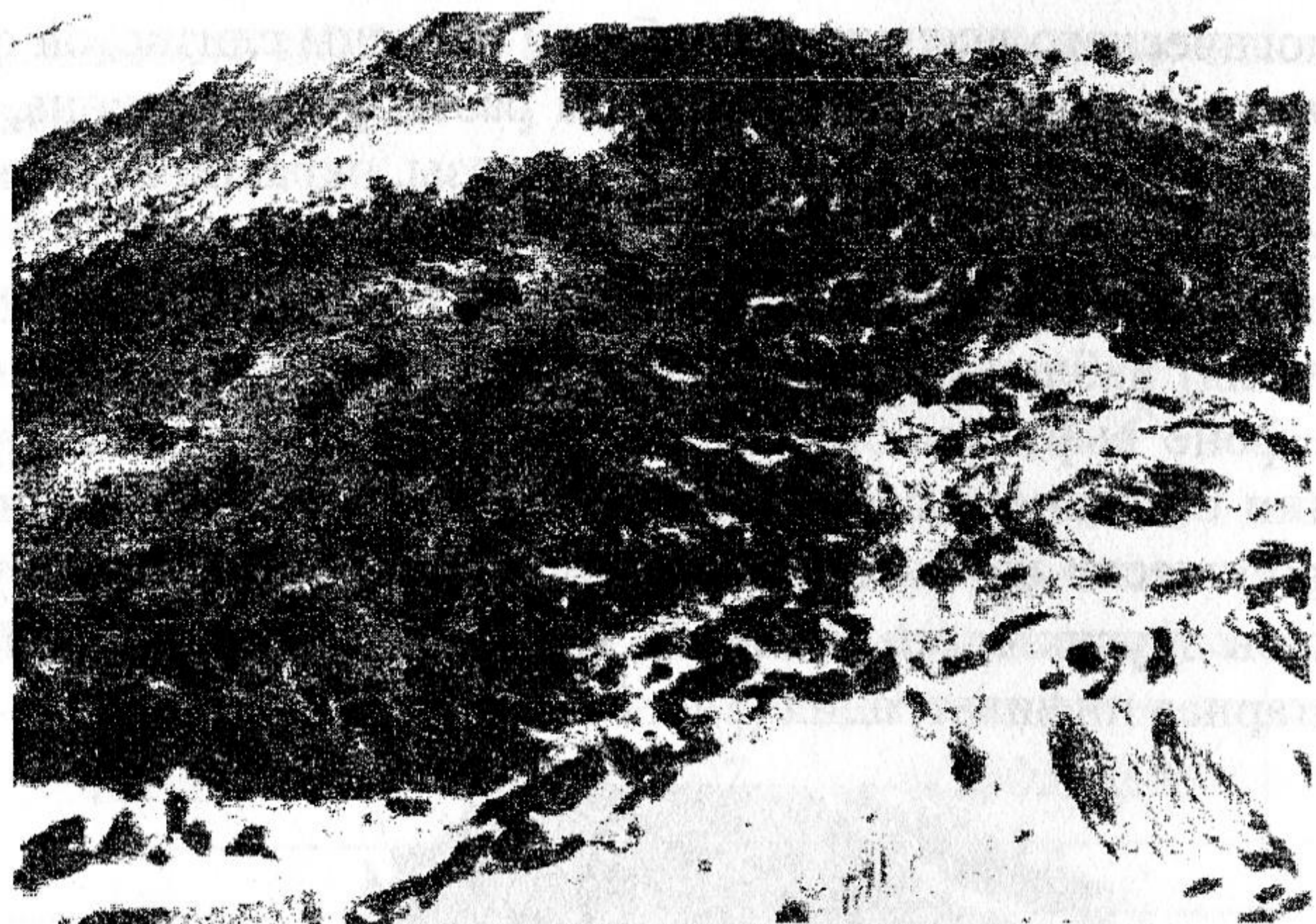


Рис. 9. Новая генерация эпителиальных клеток базального слоя, вакуолизация их цитоплазмы и клеток шиповатого слоя. Лечение силиксом. Гематоксилин-эозин, x400.

При микроскопическом обследовании эпителиального пласта установлено, что клетки его базального слоя почти везде структурно сохранены, хотя они неодинаково базофильны и неоднобразны по форме и ориентации. Кое-где они залегают горизонтально, встречаются одиночные пикнотизированные эпителиоциты, перинуклеарная вакуолизация клеток и отдельные лимфоциты, вошедшие в зону эпителия. На отдельных участках слизистой оболочки в состоянии набухания и перинуклеарной вакуолизации, иногда с деформированным, уплотненным ядром находятся клетки шиповатого слоя эпителия. В зернистом слое структура клеток не изменена. Содержание и распределение гранул кератогиалина в них не отличается от контроля. Все же на большинстве эпителиальных участков слизистой оболочки десен альтеративные изменения отсутствуют, четкая стратификация эпителиоцитов. В собственной пластинке нет остаточных признаков прежнего гнойного воспаления, проявляющегося на самой модели пародонтита.



Рис. 10. Состояние базального слоя эпителиальной пластинки десен. Лечение фитосиллардом. Гематоксилин-эозин, x400.

Результаты лечения комбинацией фитосиллард-нимесулид оказались наилучшими по сравнению с последствиями использования ранее упомянутых препаратов. У живот-

ных этой экспериментальной группы в эпителиальных клетках кое-где также отмечаются еще некоторые деструктивные проявления, такие как набухание, перинуклеарная интрануклеарная вакуолизация, в меньшей степени в базальном слое и в большей в шиповатом. Эпизодически попадаются участки неполного восстановления эпителия слизистой оболочки.

В собственной пластинке слизистой оболочки фактически нет признаков прежнего гнойного воспаления. Между коллагеновыми волокнами главным образом заметны молодые фибробласты, фиброциты, немного макрофагов.

В целом же микроскопическое изучение эпителиального покрова слизистой оболочки десен крыс этой серии выявило абсолютное преимущество участков, которых структуризация эпителиальных единиц и единичные недостатки не отличаются от здорового контроля (рис. 11, 12.).

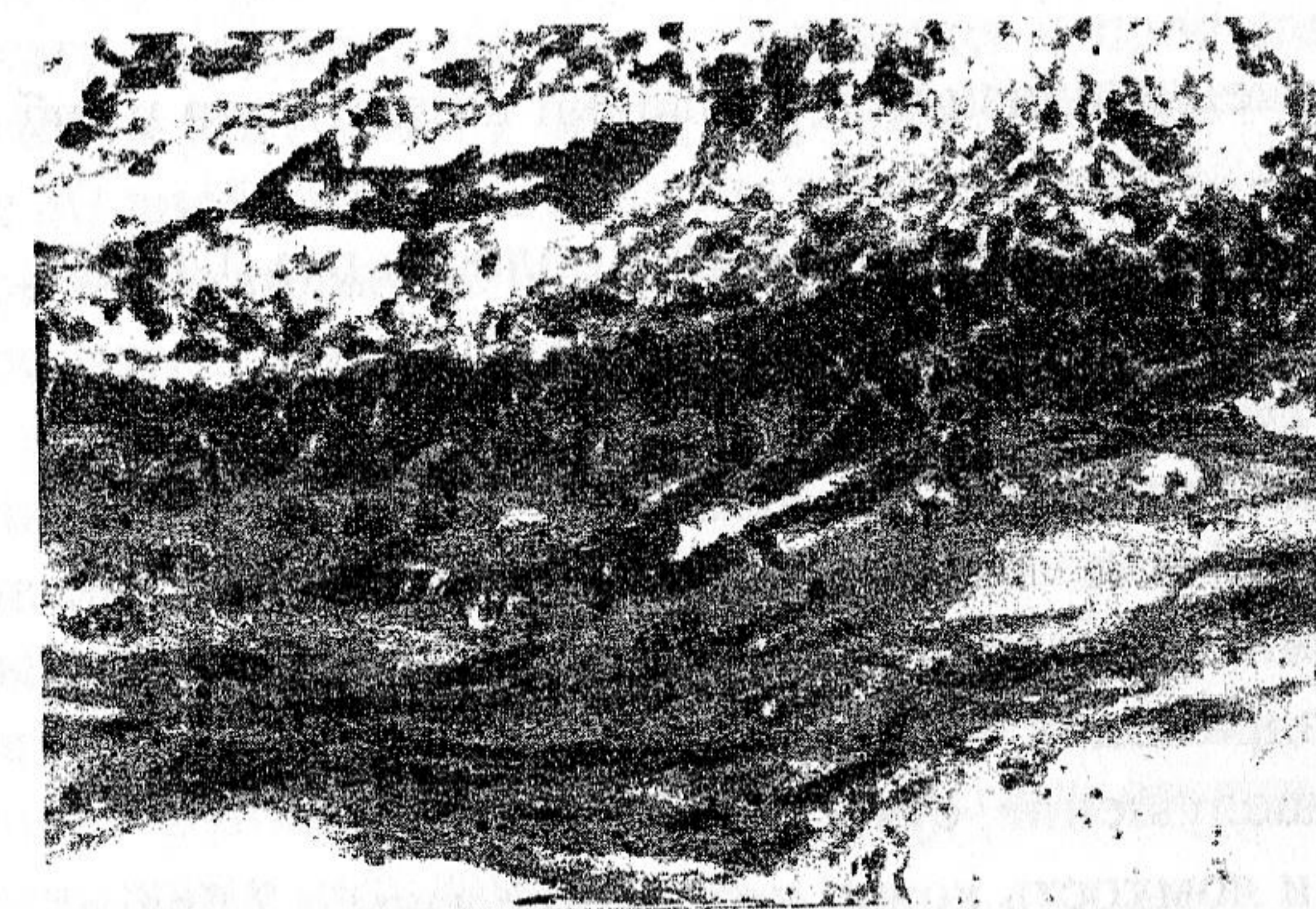


Рис. 11. Обычное состояние и нормальное расположение клеток эпителиальной пластинки слизистой оболочки десен. Лечение фитосиллардом нимесулидом. Гематоксилин-эозин, x400.

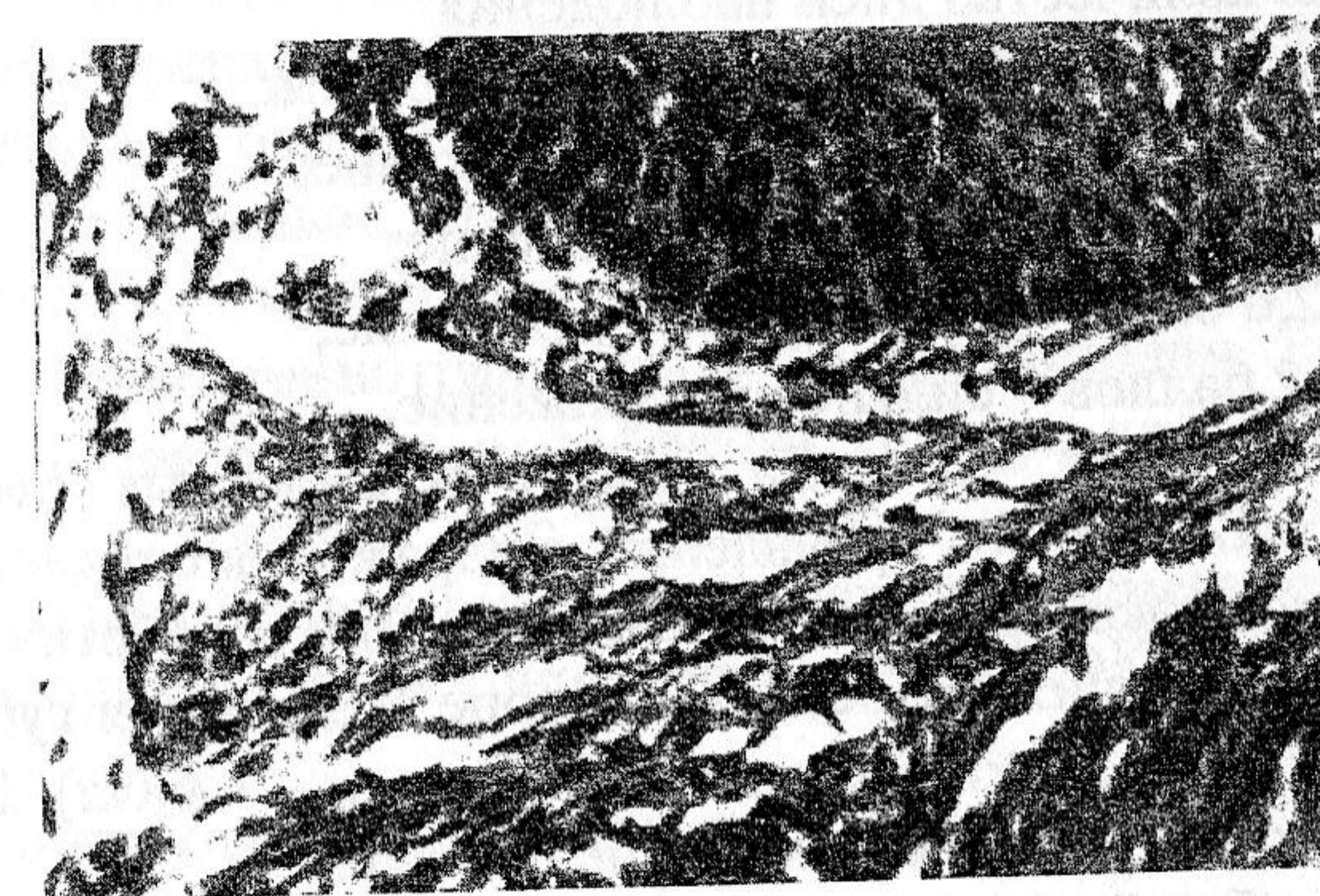


Рис. 12. Слизистая оболочка десен. Интактный контроль. Гематоксилин-эозин, x400.

Таким образом, при лечении экспериментального пародонтита (пероксидная дель), наилучший эффект производила комбинация фитосиллард-нимесулид. Лучшая эффективность комбинации фитосиллард-нимесулид является следствием сочетания кератопластического действия фитосилларда с высокими противовоспалительными свойствами нимесулида, селективного ингибитора циклооксигеназы-2. Этот фермент является продуцентом простагландинов – медиаторов, ответственных за развитие боли и гипертермии в очаге воспаления.

В соответствии с "Методическими рекомендациями по доклиническому изучению средств для лечения и профилактики заболеваний слизистой оболочки полости рта (СОПР)" МОЗ Украины от 2002 г., была проведена оценка местно-раздражающего действия и субхронической токсичности комплексного препарата фитосиллард-нимесулид.

Исследование было выполнено на 20 белых имбредных крысах обоих полов, по 10 животных в группе. Перед началом испытаний у животных оценивали состояние слизистой оболочки полости рта и губ. В течение 4 следующих дней проводили обработку ротовой полости фитосиллардом 4 раза в сутки, расходуя на каждое животное по 0,25 мл 50 %-ной суспензии фитосилларда, которую равномерно наносили на поверхность СОПР посредством атравматического тампона в течение 30 с. Контрольным 10 животным полость рта аналогично обрабатывали стерильным физраствором. Срок наблюдения составлял 7 дней (4 дня испытаний и 3 дня после завершения обработки полости рта фитосиллардом).

Степень раздражения слизистой оболочки полости рта и губ оценивали в баллах по 4-бальной шкале.

1) Степень раздражения слизистой оболочки полости рта (СОПР):

- отсутствие раздражения – 0 баллов;
- потеря цвета, легкое шелушение – 1 балл;
- шелушение в разных участках – 2 балла;
- появление язв 3 балла.

2) Степень раздражения зоны соединения губ:

- отсутствие раздражения – 0 баллов;
- покраснение, шелушение, сухость – 1 балл;
- сморщивание и ломкость кожи, небольшие язвы – 2 балла;
- кровотечения, растрескивание – 3 балла;

Коэффициент раздражения вычисляли путем составления среднего ежедневного группового балла по обоим показателям (раздражение слизистой оболочки полости рта и губ), разделенного на количество дней наблюдения.

Интерпретацию осуществляли следующим образом:

- 0 – 0,4 балла – очень слабое раздражение;
- 0,5 – 1,0 баллов – слабое раздражение;
- 1,1 – 2,0 балла – умеренное раздражение;
- более 2 баллов – сильное раздражение.

Исследования показали, что у ни одного из животных как контрольной, так и опытной группы не наблюдалось проявлений раздражения слизистой оболочки полости рта (СОПР). На 4-й день эксперимента (последний день обработки ротовой полости) у 4 самцов и 3 самок, получавших фитосиллард в зоне соединения губ наблюдалось слабое раздражение слизистой оболочки (шелушение, сухость – 1 балл). На следующий день у всех животных симптомов раздражения уже не отмечалось.

Следовательно, общий эффект местного применения фитосилларда можно оценить как очень слабое раздражение. Спустя сутки после прекращения применения препарата указанные изменения уже не регистрировались.

Целью изучения субхронической токсичности была характеристика степени общего повреждающего действия препарата фитосиллард при его длительном введении и выявления наиболее чувствительных органов и систем организма.

Опыты по изучению субхронической токсичности фитосилларда были проведены на половозрелых животных обоих полов: 34 белых крысах породы Вистар, которые после взвешивания и разметки были разделены на две группы – опытную (18 крыс – по 9 самцов и самок) ("экспериментальная группа") и контрольную (16 крыс – 9 самцов и 7

самок). Группы животных формировали методом случайной выборки с учетом массы тела в качестве определяющего показателя.

Животные находились в виварии Винницкого национального медуниверситета им. Н.И.Пирогова в условиях, отвечающим действующим санитарным правилам экспериментально-биологических клиник (вивариев), со свободным доступом к воде и сбалансированному по калорийности корму, удовлетворяющему нормам стандартного рациона вивария.

Экспериментальная работа с животными проводилась в соответствии со стандартными операционными процедурами, отвечающим международным условиям гуманного отношения к экспериментальным животным.

Поскольку длительность введения фармакологических веществ экспериментальным животным при изучении хронической токсичности зависит от длительности его применения у человека, в соответствии с действующими "Методическими рекомендациями по доклиническому изучению средств для лечения и профилактики заболеваний слизистой оболочки полости рта (СОПР)" МОЗ Украины" от 2002 г. фитосиллард вводили животным в течение 80 дней ежедневно, путем нанесения 10 %-ной суспензии препарата на слизистую полость рта шприцем объемом 1 мл с атравматической насадкой.

Животным контрольных групп (самцам и самкам) в аналогичных условиях эксперимента вводили эквивалентное количество стерильного физраствора.

Во время эксперимента оценивали поведение подопытных животных и их общее состояние, регистрировали динамику массы тела, определяли суточную потребность корма и воды. Животных выводили из опыта на 81-й день эксперимента путем декапитации в соответствии с методическими рекомендациями.

Влияние препарата на функциональные характеристики организма изучали гематологическими и биохимическими методами.

Влияние фитосилларда на систему крови оценивали по следующим гематологическим показателям периферийной крови: количество гемоглобина (прибор эритрогеметр), эритроцитов, лейкоцитов, соотношение разных видов лейкоцитов (окраска мазков по Романовскому) и скорости оседания эритроцитов.

Для оценки влияния препарата на функциональное состояние внутренних органов унифицированными методами определяли следующие биохимические показатели крови у крыс: общий белок – биуретовым, глюкозу – глюкозооксидазным, мочевины – диацетилмонооксимным методом, холестерин – ферментативным методом, аспартат-амино-трансферазу (АСТ) и аланинаминотрансферазу (АЛТ) методом Райтмана-Френкеля, щелочную фосфатазу – с динатрийфенилфосфатом, (наборы реактивов фирм "Simko" и "Филисит диагностика" – Украина, "Агат" – Россия), малоновый диальдегид (МДА) – по реакции с тиобарбитуровой кислотой [14]. Средствами измерительной техники служили колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2МП и спектрофотометр СФ-26.

Статистическую обработку результатов исследований выполняли стандартными параметрическими методами.

В течение 80 дней введения 20 %-ной суспензии фитосилларда крысам внешний вид и поведение животных не отличались от соответствующих характеристик у крыс контрольной группы, которым вводили стерильный физраствор. При всех сроках наблюдения животные были активными, употребление корма и воды отвечало физиологической норме. Во время эксперимента погибло 2 самки в контрольной группе. Проведенная секция погибших животных позволяет утверждать, что причиной летальности были врожденные аномалии или последствия ранее перенесенных заболеваний, пропущенные при выбраковке. Регулярное взвешивание крыс во время эксперимента не выявило

существенной разницы в приросте массы тела контрольных и опытных животных соответствующего пола.

Крысы (самцы и самки), получавшие фитосиллард в течение 80 дней, по завершению введения препарата не имели достоверных изменений показателей периферической крови по сравнению с группой контроля (табл. 8). По таким показателям, как количество лейкоцитов, моноцитов и СОЕ, разногласия прослеживались на уровне тенденции. Явления полового диморфизма достоверно не наблюдались. Следует заметить, что все исследуемые показатели не выходили за рамки физиологической нормы для животных данного вида и пола.

Таблица 8. Показатели периферической крови крыс, получавших фитосиллард, в сравнении с контролем

Показатель	Фитосиллард	Контроль
Гемоглобин, г/л	119,8 ± 1,78	118,8 ± 3,86
Эритроциты, млн/мм <sup>3</sup>	3,7 ± 0,08	3,9 ± 0,19
Лейкоциты, тыс/мм <sup>3</sup>	11,1 ± 1,24	9,8 ± 1,02
Лейкограмма:		
Палочкоядерные, %	1,9 ± 0,24	2,2 ± 0,43
Сегментоядерные, %	33,1 ± 2,67	32,3 ± 3,88
Лимфоциты, %	46,7 ± 2,67	48,8 ± 3,39
Эозинофилы, %	3,2 ± 0,53	3,7 ± 0,93
Моноциты, %	14,4 ± 0,93	12,3 ± 1,31
СОЕ, мм/ч	3,9 ± 0,44	2,9 ± 0,61

Проведенные исследования показали, что препарат фитосиллард не проявляет повреждающего действия на кроветворную систему подопытных животных.

Поскольку для крыс характерно явление полового диморфизма относительно многих биохимических показателей, сравнение проводилось между однополыми животными опытной и контрольной групп (табл. 9).

Таблица 9. Биохимические показатели сыворотки крови крыс, получавших фитосиллард, в сравнении с контролем

Показатель	Фитосиллард	Контроль	
Общий белок, г/л	+	83,9 ± 1,67	80,9 ± 1,97
	>	82,8 ± 1,74	81,4 ± 2,78
АСТ, нмоль/мл/мин	+	44,3 ± 1,82	39,0 ± 2,31
	>	42,2 ± 1,89	44,2 ± 3,35
АЛТ, нмоль/мл/мин	+	50,9 ± 5,88	45,9 ± 6,87
	>	48,6 ± 4,16	49,7 ± 5,05
Щелочная фосфатаза, нмоль/мл/мин	+	270,2 ± 23,14	272,0 ± 20,09
	>	245,1 ± 23,61	267,4 ± 20,02
Мочевина, ммоль/л	+	5,4 ± 0,54	4,7 ± 0,63
	>	4,9 ± 0,44	4,3 ± 0,45
МДА, нмоль/мг белка	+	3,8 ± 0,26	4,2 ± 0,32
	>	3,9 ± 0,42	4,1 ± 0,31
Глюкоза, ммоль/л	+	5,3 ± 0,30	5,6 ± 0,36
	>	5,8 ± 0,29	5,2 ± 0,39
Холестерин, ммоль/л	+	1,79 ± 0,11	1,76 ± 0,27
	>	1,52 ± 0,14	1,68 ± 0,19

При биохимическом исследовании сыворотки крови крыс по завершении введения фитосилларда и физраствора, соответственно, не наблюдалось статистически достоверной разницы в группах сравнения по таким показателям, как содержание общего белка, холестерина, мочевины и МДА, а также активность АЛТ и щелочной фосфатазы (табл. 9).

В опытной группе, по сравнению с соответствующим контролем, на уровне тенденции увеличивалась активность АСТ – у самок (приблизительно на 12 %) и уровень глюкозы – у самцов (около 10 %), но эти отличия сравниваемых показателей находились в границах обычных колебаний для данного вида животных. Таким образом, проведенные исследования показали, что препарат фитосиллард не вызывает значительных изменений биохимических показателей сыворотки крови у опытных животных.

Для гистологического исследования брали головной мозг, тонкую и толстую кишку, желудок, печень, почки, подязычные слюнные железы в комплексе с лимфатическими узлами и костный красный мозг. Головной мозг фиксировали в смеси Буена, остальной материал – в 10 %-ном водном растворе нейтрального формалина, парафиновые срезы органов окрашивали гематоксилин-эозином. Для выявления хроматофильной субстанции в нейронах дополнительно головной мозг фиксировали еще толуидиновым синим методом Нисля, а костный мозг – азурII-эозином по методу Романовского-Гимзе.

В результате проведенного эксперимента с целью морфологического обоснования наличия или отсутствия потенциально вероятных следствий длительного действия на организм применяемой лечебной композиции фитосилларда с нимесулидом получены доказательства развития слабых реактивных изменений в нервной системе, слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта, печени и почках подопытных животных.

В полушариях головного мозга нейроны коры и ядер ствола несколько набухшие, в некоторых из них наблюдается несущественная эктопия ядра, слабое очаговое разрежение тигроида. Реакция со стороны клеток нейроглии проявляется в образовании мелких глиальных скоплений. По этим признакам выявленные изменения являются крайне незначительными и безусловно обратимыми. Тщательной микроскопией определен одиночный факт аутонейрофагии.

В частицах печени кое-где немного расширены синусоидные капилляры. Гепатоциты, преимущественно во второй и в третьей зонах печеночных ацинусов, не отличаются от контрольных образцов. В первой зоне, в частности вблизи триад, такие клетки набухшие, содержат в цитоплазме грубоватую эозинофильную зернистость или гидропичные вакуоли. Подобная локализация изменений в печеночных частицах может свидетельствовать об их токсикогенном происхождении. Однако немасштабность этих дистрофических изменений и отсутствие некроза гепатоцитов на исходе эксперимента свидетельствуют о возможности полной обратимости таких явлений после прекращения действия препарата.

Отсутствуют признаки прямого повреждения слизистой оболочки желудка, тонкой и толстой кишки. В слизистой оболочке тонкой и толстой кишки возрастает количество бокаловидных клеток, слизистый секрет которых является защитой эпителиальной пластинки слизистой оболочки всего среднего отдела пищеварительного канала. В желудке выявлено защитное приспособление к определенному раздражению, которое заключается в активизации и увеличении числа мукоцитов главных желез. В почках наблюдается слабое набухание эпителиального покрытия проксимальных извилистых канальцев с мелкой эозинофильной зернистостью в цитоплазме. Не выявлены изменения в микроскопическом строении красного костного мозга, а также в паренхиме и строме взятых для исследования подязычных слюнных желез.

В структуре лимфатических узлов заметно присутствие больших вторичных (активизированных) лимфоидных узелков, т. е. в этом периферическом органе иммунной

системы наблюдается активация функции В-звена иммунитета. Проявлениями возбуждения неспецифической и специфической защиты следует считать также наличие гипертрофированных клеток Купфера вдоль синусоидов печеночных частиц, а также лимфоидно-макрофаговые инфильтраты в триадах печени и в строме почек, в том числе вблизи эпителия почечных чашечек.

Незначительность отмеченных изменений и отсутствие в составе выявленных отклонений от нормы процессов деструктивного характера оставляет невредимыми регенеративные свойства органов на внутриклеточном и тканевом уровнях в полном объеме, что абсолютно обеспечивает обратимость установленных изменений, без возникновения угрозы каких-либо осложнений.

Исходя из анализа, осуществленного на основании микроскопических исследований, можно отметить, что 80-дневное введение в организм экспериментальных животных исследуемой лечебной композиции нимесулида с фитосиллардом, предлагаемой для аппликационного применения в стоматологической практике, существенно не вредит ни органам пищеварения, ни почкам, ни гемопоэзу, ни элементам нервной системы. При этом умеренно активируются макрофаги печени и В-зоны лимфатических узлов; образуются лимфоидно-макрофагальные инфильтраты в печени и в почках, что следует считать физиологическим проявлением реакции организма на элементы композита, как на определенный ксенобиотик, к которым можно отнести, собственно, большинство лекарственных средств.

Выраженная специфическая активность, низкая токсичность при субхроническом введении и отсутствие местно-раздражающего действия препаратов фитосиллард и фитосиллард-нимесулид стали основанием для проведения клинических их испытаний, начавшихся в последнее время.

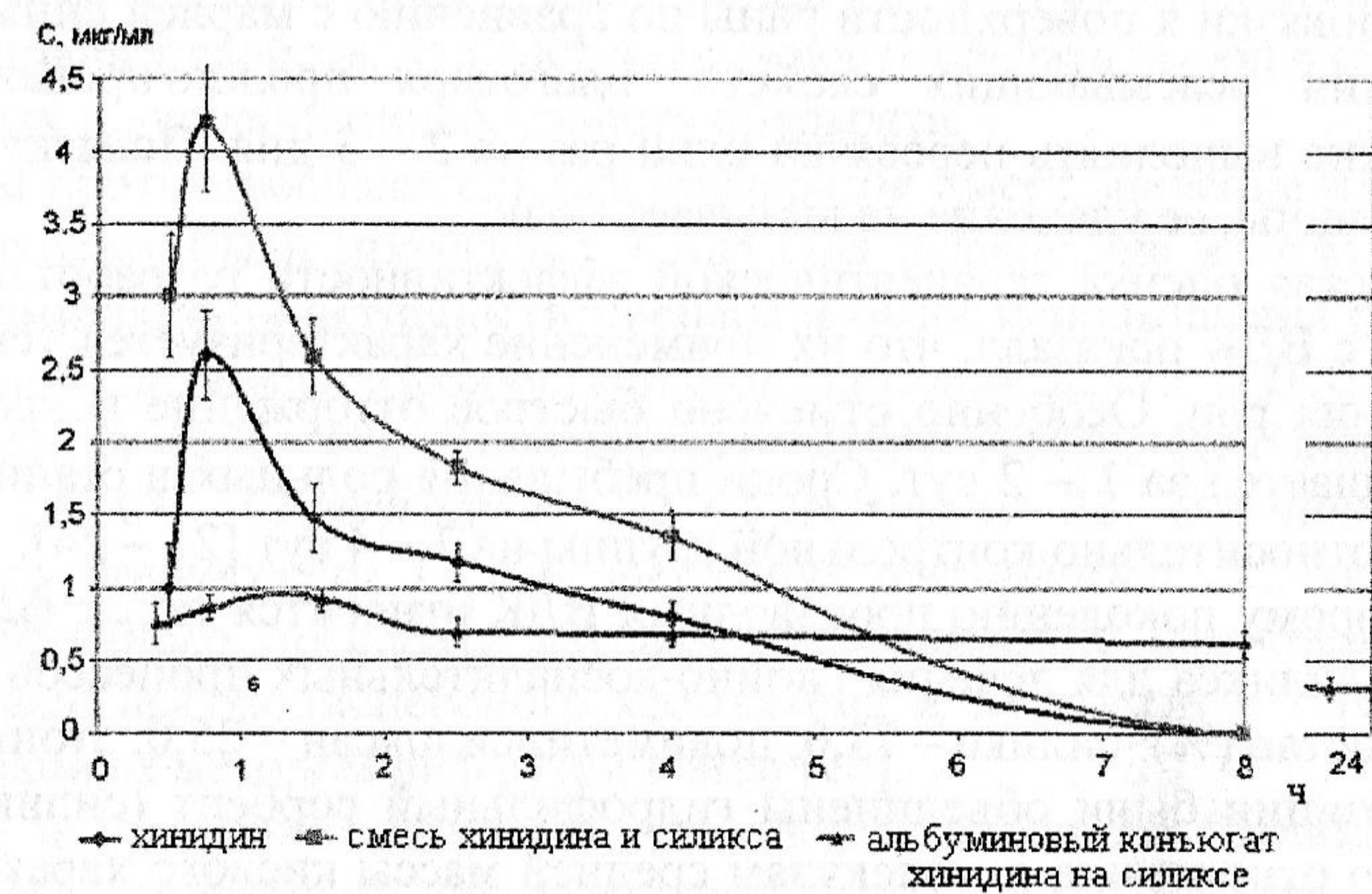
**3. Комбинированный препарат ВДК с хинидином.** Проведены доклинические исследования этой оригинальной лекарственной формы **противоаритмического действия**. Известно, что алкалоид хинидин является чуть ли не единственным лекарственным средством, способным эффективно нормализовать сердечный ритм при мерцательной аритмии предсердий и тем самым избежать применения электрокардиоверсии. При этом существует настоятельная потребность как в лекарственной форме с ускоренным всасыванием для быстрого снятия приступа мерцательной аритмии, так и в лекарственной форме с замедленным всасыванием для поддержания терапевтических концентраций хинидина, т. е. таких минимальных уровней хинидина в крови, которые обезопасят больного от рецидива аритмии.

Первая лекарственная форма представляет собой простую смесь хинидина с ВДК, который обеспечивает ускорение всасывания хинидина из кишечника. Вторая лекарственная форма представляет собой хинидин, иммобилизованный на поверхности ВДК с помощью веществ **фастенеров** (*fastener* – скрепка). В качестве последних для иммобилизации хинидина на ВДК были использованы поверхностно-активные вещества, в частности альбумин. Нами детально была изучена лекарственная форма, полученная путем соосаждения на поверхности ВДК комплексов хинидина с сывороточным альбумином [5, 19].

Фармакокинетические исследования показали (рис. 13), что при введении в желудок крысам простой смеси хинидина с ВДК имеет место ускорение всасывания хинидина с достижением более значительных пиковых концентраций хинидина в крови по сравнению с введением только хинидина. Именно эта особенность и обеспечивает быстрое прекращение приступа мерцательной аритмии.

С другой стороны, хинидин, иммобилизованный на ВДК, имеет противоположные фармакокинетические характеристики. На основании данных биофармацевтических и фармакокинетических исследований нами был сделан вывод, что он иде-

ально отвечает требованиям для пролонгированных лекарственных средств [5, 19, 20]. Из рис. 13 видно, что при пероральном введении животным конъюгата хинидин– альбумин–ВДК происходит не только уменьшение пиковых концентраций хинидина в крови, но и существенное замедленное выведение препарата из крови. При этом период полувыведения хинидина из крови продлевается более, чем вдвое, и следовые концентрации хинидина в крови обнаруживаются даже через 24 ч. Кроме того, при введении этой лекарственной формы биодоступность хинидина максимальна, т. е. в созданной нами лекарственной форме хинидин наиболее полно переходит из кишечника во внутреннюю среду организма. Такая лекарственная форма способна обеспечить длительное противоаритмическое действие хинидина.



**Рис. 13.** Фармакокинетические характеристики композиций хинидина и силикса в зависимости от способа иммобилизации алкалоида.

**4.** Для лечения гнойных ран были созданы новые композиции **“Лизосил”** и **“Лизетокс”** [21 – 24], которые также относятся к препаратам второго поколения.

Ранозаживляющая композиция **“Лизосил”** содержит силикс (96 %), кристаллический трипсин или химопсин (1 %) и буру (3 %). Терапевтический эффект композиции при санации гнойно-воспалительных очагов обусловлен комплексным действием ее компонентов: протеаза разреживает экссудат и расщепляет некротические ткани; ВДК связывает и нейтрализует микроорганизмы, патогенные белки и продукты некролиза, предотвращая их всасывание; слабый антисептик бура выполняет функцию буферного вещества, которое поддерживает в среде раны необходимый для работы фермента рН-оптимум (около 7). Использование основного вещества – буры – обосновано также тем, что во время развития гнойных осложнений в ране, как правило, наблюдается ацидоз (рН < 6,5). По осмотической активности **“Лизосил”** не отличается от ВДК (около 500 %).

При разработке композиции **“Лизетокс”** нами впервые была достигнута стабилизация трипсина в рабочей среде путем введения антимикробного препарата этония, который относится к классу бис-четвертичных аммониевых соединений. При физиологической температуре (37 °С) активность стабилизированного этонием трипсина в течение 7 ч остается практически на исходном уровне, а его минимальное содержание, при котором сохраняется достаточно высокая протеолитическая активность, можно снизить почти в 4 раза. **“Лизетокс”** – (ВДК (до 97 %), кристаллический трипсин (1 %), этоний (1,5 – 1,7 %) – по белоксорбирующей способности и по гидроосмотической активности (около 500 %) не уступает ВДК.

сорбционной повязки. Повязка представляет собой 6–8 слоев марли, наполненных ВДК и другими лекарственными веществами и спрессованных. Наполнителями могут быть те же “Лизосил” и “Лизетокс”, а также другие антисептики, анестетики и т. п. или их смесь. Точное дозирование достигается тем, что повязка имеет стандартную форму (“таблетка” диаметром 40 мм и толщиной около 3 мм). Помещенная в герметическую упаковку повязка подвергается стерилизации в паровом стерилизаторе.

При оптимизации технологии изготовления повязки было установлено, что оптимальное давление прессования составляет 10 – 15 кг/см<sup>2</sup>, а состав должен включать 35 – 45 % марлевой основы, 35 – 45 % ВДК, 10 – 20 % вспомогательных веществ. При этом адгезия повязки к поверхности раны по сравнению с марлей снижена в 2,5 – 3 раза при сохранении всасывающих свойств. Благодаря пролонгированному лечебному действию можно выполнять перевязки один раз на 2 – 3 дня. Повязку можно вводить в полости и затечины, ее удаление не вызывает боли.

Клиническая оценка терапевтической эффективности разработанных композиций по сравнению с ВДК показала, что их применение характеризуется ускоренной динамикой заживления ран. Особенно отмечено быстрое отторжение некротических тканей, которое завершается за 1 – 2 сут. Сроки пребывания больных в стационаре достоверно сокращаются относительно контрольной группы на 3 – 4 сут [21 – 24].

5. Ко второму поколению производных ВДК относится также флотоксан – препарат на основе силикса для лечения гнойно-воспалительных процессов (Патент Украины № 32088А). Состав (%): силикс – 73,0; полиметилсилоксан – 25,0; этоний – 2,0 (рис. 14).

В композиции были объединены гидрофильный сорбент (силикс), адсорбционно-неактивный по отношению к молекулам средней массы кислого характера, и гидрофобный сорбент (полиметилсилоксан), практически не сорбирующий высокомолекулярные соединения.

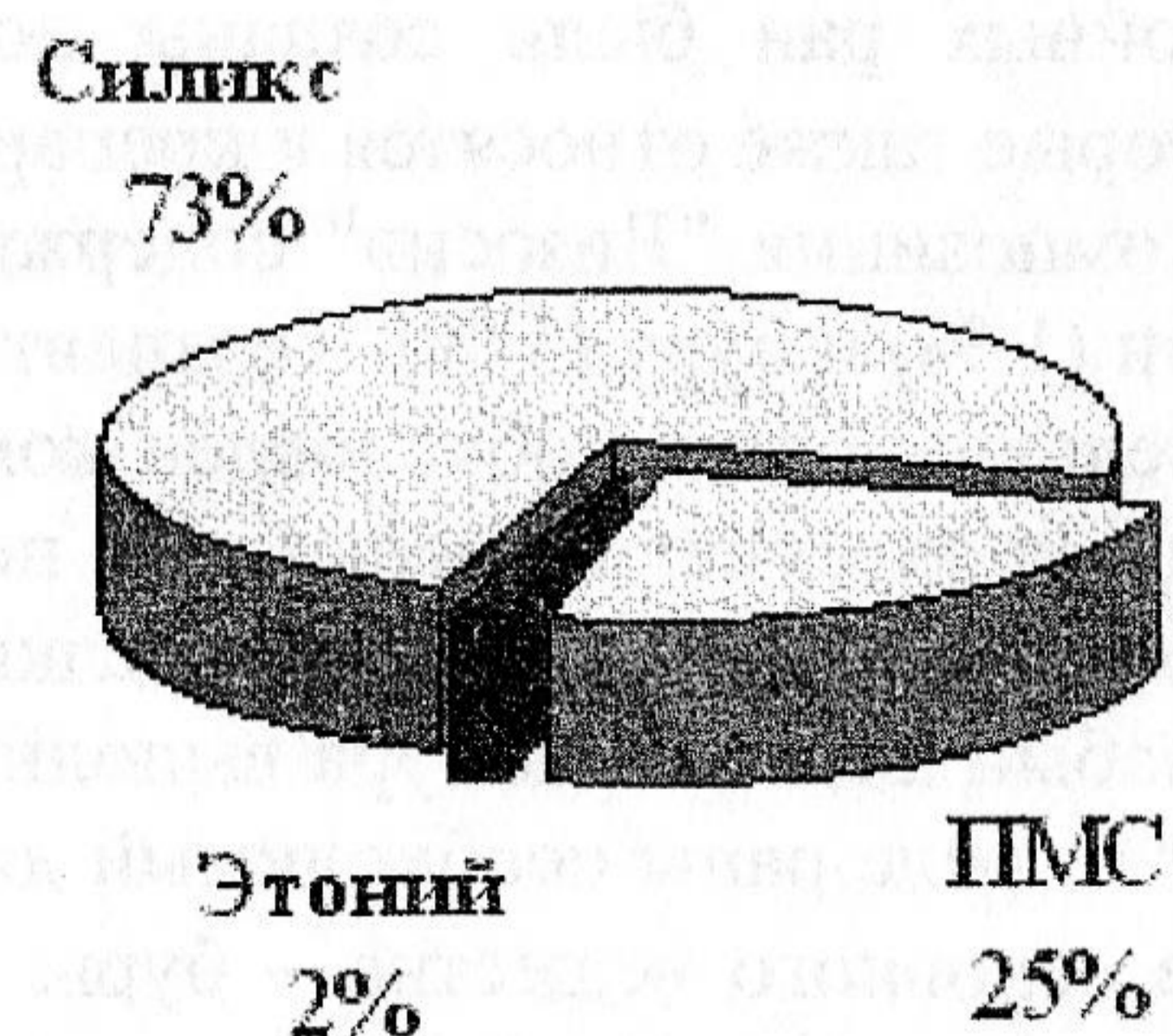


Рис 14. Компоненты флотоксана и их соотношение.

Флотоксан, благодаря присутствию в его составе катионного ПАВ – антисептика этония – характеризуется высокой антимикробной активностью, а в водных растворах представляет собой стабильную взвесь, не выпадающую в осадок, что позволяет использовать ее для промывания гнойных полостей.

Сравнительная оценка свойств флотоксана и его составляющих в стендовых опытах показала, что флотоксан практически не уступает силиксу по белоксорбирующим свойствам (соответственно 320 и 330 мг/г), но его активность в отношении молекул средней массы основного характера (метиленового синего) вдвое ниже (соответственно 3,0 и 6,7 мг/г). Полиметилсилоксан не проявлял активности по отношению к высокомо-

лекулы средней массы кислого характера (конго красный), которые отнюдь не сорбирует силикс [25].

Изучение осмотической активности препарата методом диализа через полупроницаемую мембрану по сравнению с силиксом показало, что флотоксан отличается умеренной динамикой поглощения. За 12 ч опыта силикс связывал 300 % воды, флотоксан – 250 %. Через 24 ч процент водопоглощения достигал соответственно 400 и 340 %.

Следовательно, флотоксан по сравнению с исходными компонентами имеет умеренную водопоглощающую активность, практически не теряет белоксорбирующих свойств, а также проявляет способность к адсорбции молекул средней массы независимо от их кислотно-основных свойств, что дает возможность сделать вывод о сбалансированности гидрофильных и адсорбционных свойств препарата.

При создании противовоспалительных препаратов имеет значение их антимикробная активность, поэтому были проведены испытания флотоксана в этом направлении. Для изучения антимикробной активности препарата были использованы рекомендованные ВООЗ эталонные штаммы микроорганизмов *S.aureus* 25923 ATCC, *E.coli* 25922 ATCC, *Proteus vulgaris* 4636 “H”, *P.aeruginosae* 27853 ATCC, *B.subtilis* 6633 ATCC, *C.albicans* 885653 ATCC, *Cl.perfringens* 27, *Cl.perfringens* 28, *B.melaninogenicus* 97, *Peptococcus* 1, *Peptostreptococcus* 13, *Fuzobacterium necrophorum* 22. Антимикробную активность разработанного препарата изучали в сравнении с компонентами основы (полиметилсилоксана, высокодисперсного кремнезема и их смеси) и мази левомеколь согласно рекомендациям методом диффузии в агар [26].

Проведенные исследования показали, что элементы основы (силикс, полиметилсилоксан) не имеют выраженной бактерицидной активности, хотя их смесь давала незначительные зоны задержки роста от 2 до 6 мм ко всем тестируемым культурам за исключением *Pr.vulgaris* 4636 “H”, *Ps.aeruginosae* 27853 ATCC и *C.albicans* 885/653 ATCC, где зон задержки роста не отмечалось.

При сравнении антимикробной активности флотоксана и мази левомеколь (табл.10) установлено, что по отношению к *S.aureus* 25923 ATCC и *E.coli* 25922 ATCC различие в действии обоих препаратов отсутствует ( $p < 0,05$  и  $p > 0,01$  соответственно). По отношению к *Cl.perfringens* 27, *Cl.perfringens* 28 флотоксану также присуща высокая антимикробная активность, хотя она была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем активность препарата сравнения.

При изучении активности обоих препаратов по отношению к неклостридиальным анаэробным бактериям – *B.fragilis* 13/83 ATCC, *B.melaninogenicus* 97, *Peptococcus* 1, *Peptostreptococcus* 13 – во всех опытах активность флотоксана была достаточно высокой, но она была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ) активности левомеколя, за исключением *Fuzobacterium necrophorum* 22 и *C.albicans* 885653 ATCC, где разница в активности была недостоверна ( $p > 0,05$ ). Ниже всего была активность флотоксана по отношению к *P.vulgaris* 4636 “H”, *Ps.aeruginosae* 27853 ATCC.

Исследования антимикробной активности флотоксана относительно клинических штаммов микроорганизмов *S.aureus*, *E.coli*, *B.fragilis*, *Peptococcus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, выделенных из материала, взятого у больных с различной патологией мягких тканей и органов брюшной полости, также показали высокую активность препарата, хотя активность к клиническим штаммам микроорганизмов была достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем к эталонным тест-культурам (табл. 11). Активность препарата по отношению к клиническим штаммам *Ps.aeruginosae* и *Pr.vulgaris* была незначительной, так же как и к эталонным штаммам, о чем свидетельствовали незначительные зоны задержки роста на питательных средах.

Тест-культура	Зоны задержки роста, мм	
	Левомеколь	Флотоксан
<i>S.aureus</i> 25923 ATCC	19,7 ± 0,3	24,5 ± 2,3
<i>E.coli</i> 25922 ATCC	28,8 ± 0,1	28,9 ± 3,1
<i>Proteus vulgaris</i> 4636 "H"	23,6 ± 0,2	15,6 ± 0,2
<i>P.aeruginosae</i> 27853 ATCC	20,2 ± 0,4	13,1 ± 0,2
<i>B.subtilis</i> 6633 ATCC	27,0 ± 0,2	28,1 ± 0,06
<i>C.albicans</i> 885653 ATCC	13,1 ± 0,2	11,9 ± 0,4
<i>Cl.perfringens</i> 27	30,2 ± 0,3	26,4 ± 2,5
<i>Cl.perfringens</i> 28	29,3 ± 0,2	28,3 ± 1,2
<i>B.fragilis</i> 13/83 ATCC	28,0 ± 0,1	25,4 ± 1,6
<i>B.melaninogenicus</i> 97	28,9 ± 0,1	27,1 ± 2,3
<i>Peptococcus</i> 1	26,8 ± 0,2	24,2 ± 1,7
<i>Peptostreptococcus</i> 13	28,8 ± 0,1	26,8 ± 3,2
<i>Fusobacterium necrophorum</i> 22	27,1 ± 0,2	26,4 ± 0,8

Таблица 11. Антимикробная активность флотоксана *in vitro* по отношению к клиническим штаммам микроорганизмов

Тест-культура	Зоны задержки роста, в мм
<i>S.aureus</i>	23,6 ± 0,4
<i>E.coli</i>	25,2 ± 0,6
<i>Peptococcus sp.</i>	23,4 ± 0,5
<i>Peptostreptococcus sp.</i>	24,4 ± 0,5
<i>Cl.perfringens</i>	23,7 ± 0,8
<i>B.fragilis</i>	23,0 ± 0,6
<i>P.vulgaris</i>	11,4 ± 0,5
<i>P.aeruginosae</i>	12,4 ± 0,4

При обработке культур микроорганизмов флотоксаном и проведении определенной экспозиции во времени установлено, что культура *S.aureus* после обработки препаратом уже через 5 мин экспозиции роста на питательной среде не дает. Для угнетения роста клостридий достаточно 30-минутного контакта культуры с препаратом. Палочка сине-зеленого гноя после 24-часового контакта не растет на питательных средах.

Таким образом, порошковая композиция флотоксан обладает выраженной антибактериальной активностью по отношению к основным возбудителям гнойно-воспалительных заболеваний, включая клостридии и неклостридиальные анаэробы, а также аэробные бактерии: стафилококки, стрептококки, кишечную палочку. Препарат флотоксан *in vitro* имеет невысокую антимикробную активность в отношении протей и палочки сине-зеленого гноя.

Обоснование целесообразности использования разработанной композиции для местного лечения гнойных ран было проведено на моделях гнойных ран у кроликов согласно рекомендациям по доклиническому изучению препаратов для местного лечения гнойно-воспалительных процессов, при этом моделировались гнойные раны, вызванные как аэробными (*S.aureus* ATCC 25923), так и анаэробными бактериями (*Cl.perfringens* 27).

Исследования были проведены на 33 кроликах породы Шиншилла, массой тела 2 – 3 кг, разделенных на 6 групп (табл. 12).

Группа	Количество животных	Микроорганизм-возбудитель	Лечебное средство
1	6	<i>S.aureus</i>	10 % раствор NaCl
2	6	<i>Cl.perfringens</i>	10 % раствор NaCl
3	6	<i>S.aureus</i>	Левомеколь
4	6	<i>Cl.perfringens</i>	Левомеколь
5	6	<i>S.aureus</i>	Флотоксан
6	6	<i>Cl.perfringens</i>	Флотоксан

В группах 1, 3, 5 моделировали гнойно-воспалительный процесс введением стафилококка, а в 2, 4 и 6 – инфицированием клостридиями. Для моделирования стафилококковой инфекции на боковой поверхности кожи кроликов выстригали шерсть на участке 15 – 20 см. Для развития некроза в центр этого участка вводили 5 мл 10 %-ного раствора хлорида кальция вместе с 3 мл 0,5 % раствора новокаина, через 2 – 4 дня после формирования некротического участка в ее центр подкожно вводили суспензию суточной агаровой культуры бактерий в объеме 1,0 мл, в котором содержался 1 млрд микробных тел *S.aureus* ATCC 25923.

При создании экспериментальной раневой инфекции, обусловленной клостридиями, использовали 16 – 18-часовую культуру штамма *Cl.perfringens* 27. Агаровые культуры суспендировались в физрастворе из расчета 20 млрд микробных тел, после чего 0,1 мл такой суспензии смешивали с 0,9 мл полужидкой тиогликолевой питательной среды. Затем 1 мл этой суспензии вводили подкожно в центр выстриженного участка кожи.

Во всех опытных группах после стадии гиперемии и формирования гнойно-воспалительного инфильтрата проводили вскрытие гнойного очага, гной и некротизированные ткани удаляли, если возникало кровотечение его останавливали 3 %-ным раствором пероксида водорода и ежедневно налагали повязки с определенным лекарственным средством. В группах 1 и 2 гнойно-воспалительный процесс лечили 10 %-ным раствором хлорида натрия, в группах 3, 4 – левомеколем (мазь на гидрофильной основе), а в группах 5 и 6 – флотоксаном.

В послеоперационный период всем животным, кроме перевязок с лечебными средствами, ежедневно измеряли температуру тела, проводили взвешивание, а также клинические наблюдения, включавшие оценку общего состояния, подвижную активность, аппетита. Кроме этого, обращали внимание на сроки ликвидации перифокального отека, гиперемии, инфильтрации тканей, количество и характер экссудата, сроки завершения некролиза, сроки появления грануляций и степени адгезии повязки.

Проведенные исследования показали, что использование флотоксана обеспечивало более благоприятный ход раневого процесса при лечении экспериментальных гнойных ран (рис. 15).

Так, при использовании флотоксана, уже на 3 сутки наблюдения, микробная загрязненность ран составляла лишь 103 – 104 КОЕ/г ткани. Перифокальный отек и инфильтрация краев раны значительно уменьшались, поверхность раны почти полностью очищалась от некротических тканей, появлялись грануляции, а уровень молекул средней массы в периферийной крови достоверно отличался ( $p < 0,05$ ) от аналогичных показателей во всех предыдущих сериях опытов и составлял  $0,280 \pm 0,08$  усл. ед. Через 7 сут раны полностью очищались от некротических тканей, наполнялись грануляциями, отмечалась эпителизация ран в виде одиночных островков, уровень молекул средней

массы составлял  $0,259 \pm 0,11$  усл. ед. Полная эпителизация ран наступала на 10 – 11 сутки. К этому сроку наблюдения уровень молекул средней массы составлял  $0,246 \pm 0,19$  усл. ед. и достоверно не отличался ( $p > 0,05$ ) от нормальных показателей.

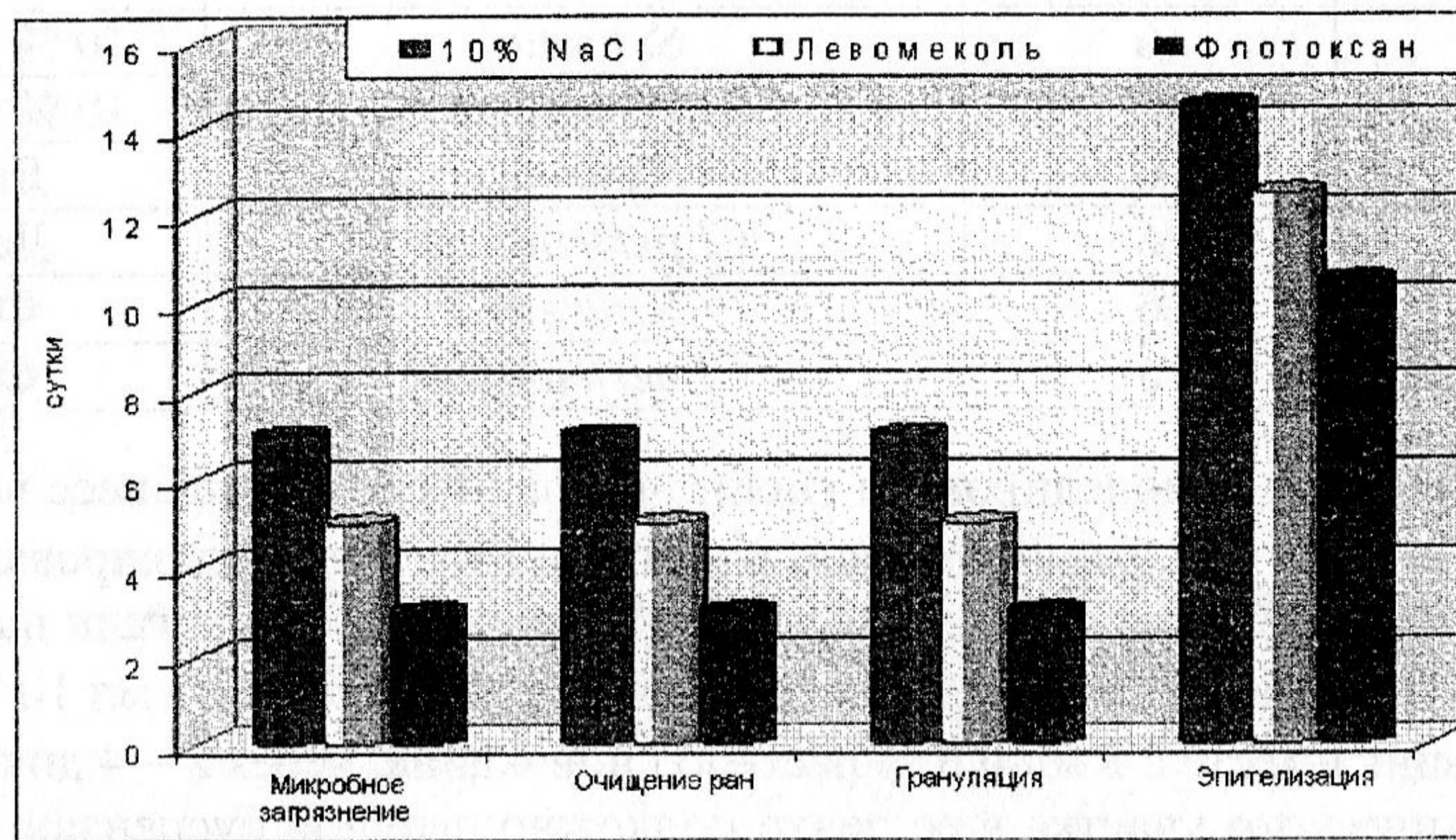


Рис. 15. Динамика изменений основных показателей хода раневого процесса при лечении экспериментальных гнойных ран, вызванного *S. aureus* 25923, 10%-ным раствором NaCl, осмотически активной мазью левомеколь и флотоксаном.

При лечении гнойных процессов вызванных *Cl. perfringens* 27 применение 10%-ного раствора хлорида натрия оказалось неэффективным, и все кролики погибли на 3–5 сутки после оперативного вмешательства на фоне кластридиального сепсиса и выраженной интоксикации (уровень молекул средней массы достигал  $0,379 \pm 0,70$  усл. ед.).

Основные показатели эффективности лечения гнойных ран, инфицированных *Cl. perfringens*, левомеколем и флотоксаном показаны на рис. 16.

При использовании флотоксана для лечения гнойных ран, инфицированных кластридиями, на 3 сутки, в отличие от левомеколя, отек тканей вокруг ран значительно уменьшался, количество некротических тканей в ранах было значительно меньше, бактерии высевались в 102 – 103 КОЕ/г ткани, уровень молекул средней массы был достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем в предыдущем сроке наблюдения и составлял  $0,309 \pm 0,11$  усл. ед.

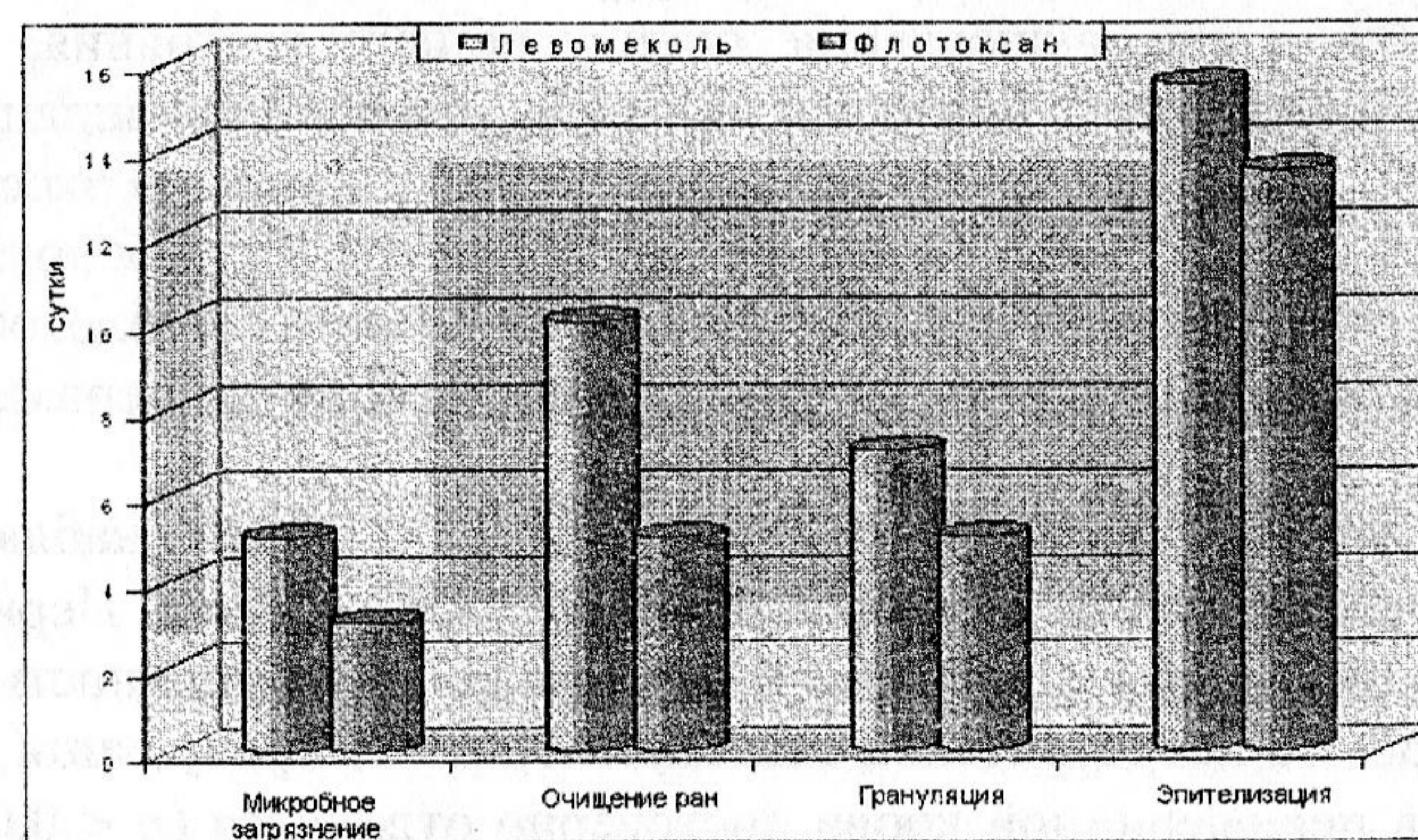


Рис. 16. Динамика изменений основных показателей хода раневого процесса при лечении экспериментальных гнойных ран, вызванных *Cl. perfringens* 27.

вьялые грануляции. При микробиологическом исследовании высевались одиночные колонии микроорганизмов, уровень молекул средней массы составлял  $0,289 \pm 0,01$  усл. ед., что было достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем во всех сериях опытов на этот срок наблюдения. Через 7 суток раны полностью очищались от некротических тканей, наполнялись грануляциями, появлялись островки эпителизации. Уровень молекул средней массы составлял  $0,260 \pm 0,07$  усл. ед. Полная эпителизация ран завершалась на 11 – 12 сутки и соответствовала нормальным показателям уровня молекул средней массы.

Следовательно, применение флотоксана эффективно при лечении экспериментальной раневой инфекции, вызванной как стафилококком, так и кластридиями. Препарат обеспечивал быструю очистку ран от микроорганизмов, некротических тканей и снижал интоксикацию и тем самым способствовал быстрой регенерации поврежденных тканей.

Таким образом, разработанная композиция на основе гидрофильного и гидрофобного сорбентов в смеси с поверхностно-активным веществом имеет высокую осмотическую активность, способность сорбировать белки, бактерии, метаболиты средней массы и удерживать их на своей поверхности. При этом за счет активации протеаз гнойного содержимого препарат имеет протеолитическую активность, о чем свидетельствует быстрая очистка раневой поверхности от некротических тканей. Также препарат снижает уровень эндогенной интоксикации за счет связывания токсичных продуктов на своей поверхности и приостановки повторной их резорбции через раневую поверхность [27] (рис. 17).

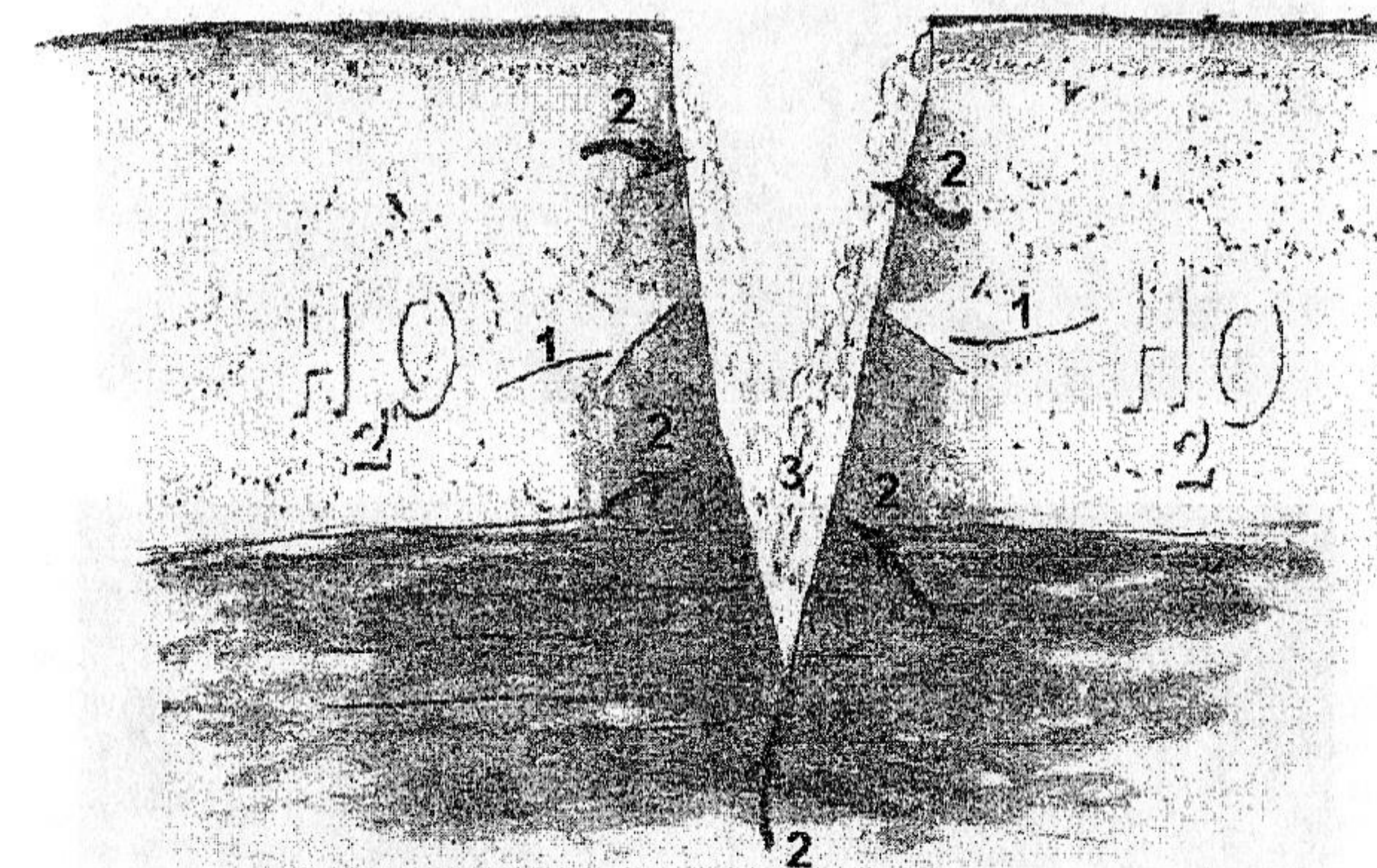


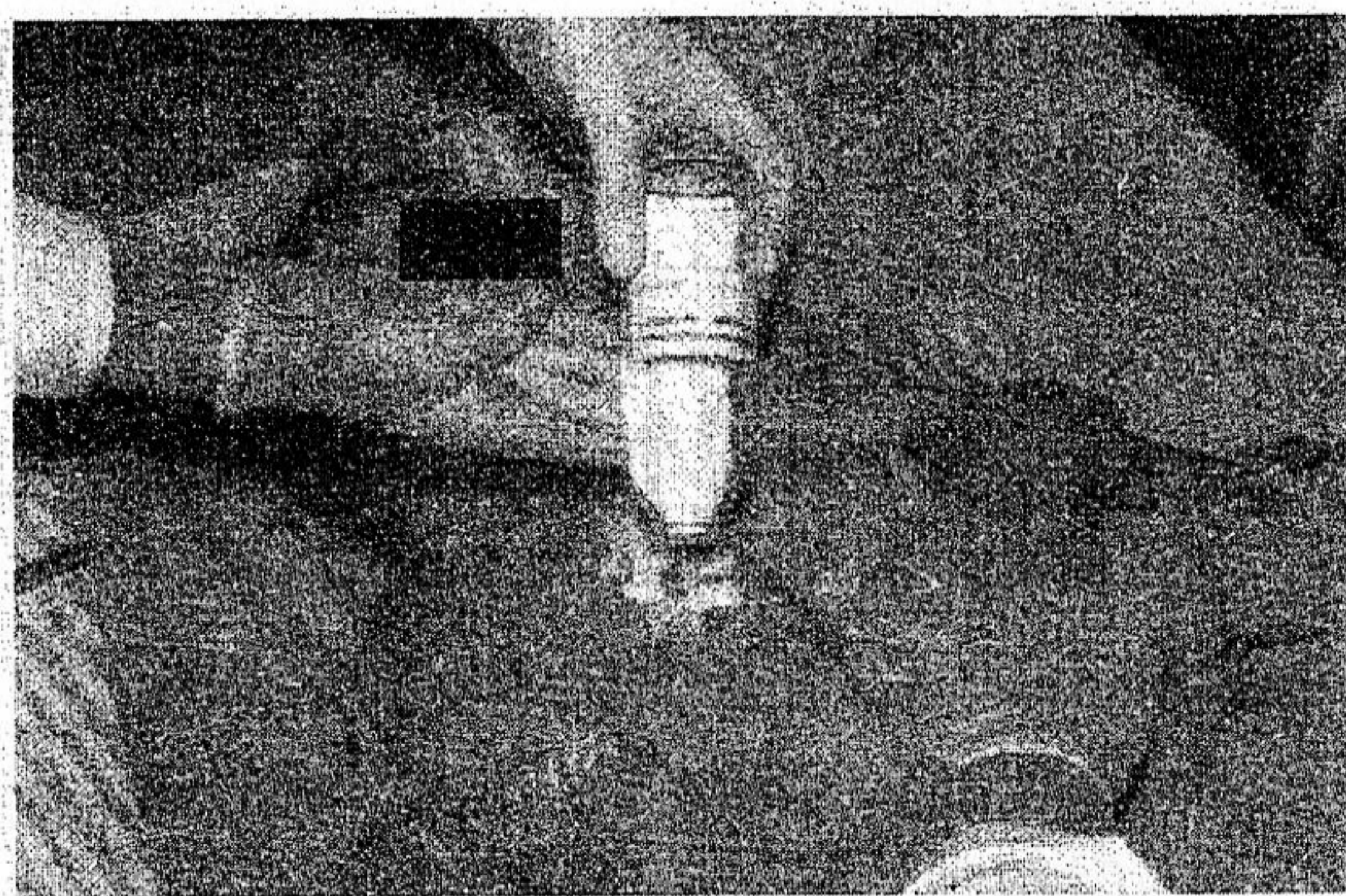
Рис. 17. Действие флотоксана в гнойной ране: 1 – движение тканевой жидкости, 2 – движение тканевой жидкости с токсинами, 3 – флотоксан в гнойной ране.

Ниже приведены данные по клинической эффективности использования флотоксана в комплексном лечении гнойно-воспалительных процессов и послеоперационных гнойных осложнений.

Сравнительная оценка эффективности композиции флотоксан для местного лечения гнойно-воспалительных процессов проведена нами для 87 больных с послеоперационными гнойными осложнениями и гнойно-воспалительными заболеваниями. Из них 40 больных (контрольная группа) лечение проводили общепринятым методом с использованием мазей на гидрофильной основе, а у 47 больных (основная группа) был применен флотоксан. Характеристика патологических процессов у больных контрольной и основной групп приведена в табл. 13.

Патология	Контрольная группа	Основная группа
Нагноение послеоперационной раны	21	20
Карбункулы	8	11
Постинъекционные абсцессы	5	8
Флегмоны	6	8
Всего	40	47

После проведения адекватного обезболивания и широкого раскрытия гнойного очага полость гнойника промывали растворами антисептиков (пероксид водорода, декаметоксин), высушивали марлевыми салфетками, после чего на раневую поверхность наносили флотоксан или средство традиционной терапии. При наличии глубоко расположенных гнойно-воспалительных очагов препарат инсуфлировали с помощью шприца, присоединенного к полихлорвиниловой трубке (рис. 18).



а



б

**Рис. 18.** Технология использования флотоксана при лечении гнойных ран: а – введение композиции в рану; б – введение композиции в гнойную полость с помощью шприца.

Проведенное микробиологическое исследование показало, что у всех больных микробная загрязненность ран была высокой и достигала 108 – 109 КОЕ/г ткани. При цитологическом исследовании содержимого раны выявлен тканевой детрит, большое количество микроорганизмов и нейтрофильных гранулоцитов с признаками незавер-

одиничные макрофаги с резко выраженными дегенеративными изменениями. Микробиоценоз флора была представлена преимущественно *S.aureus*, *Str.epidermidis*, *E.coli*, а в отдельных случаях высевались анаэробные бактерии, преимущественно кокки.

Спустя сутки после операции у всех больных опытной и контрольной группы сохранялся отек тканей и гиперемия кожи. Но в группе больных, где использовалась разрабатываемая композиция, отек был несколько меньшим и температура тела снижалась до 37,5 – 37,8 °С, тогда как в контрольной группе температура оставалась высокой и колебалась почти в тех же границах, что и до операции – 38,0 – 38,5 °С. Поверхность раны была с гнойно-некротическими тканями, а в основной группе больных они приобретали гелевидную консистенцию и легче отделялась от стенок раны, тогда как в контрольной группе некротические ткани отделялись только с помощью инструментов.

При цитологическом исследовании были обнаружены в большом количестве нейтрофильные лейкоциты с признаками дистрофии и незавершенного фагоцитоза, макрофаги и фибробласты в мазках-отпечатках отсутствовали. При бактериологическом исследовании микробная загрязненность ран уменьшалась и составляла 107 – 108 КОЕ/г ткани в контрольной группе против 106 – 107 КОЕ/г ткани в опытной группе.

На 3 – 4 сутки общее состояние больных, леченных флотоксаном, значительно улучшалось, тенденции к распространению процесса не отмечалось, уменьшались признаки интоксикации, температура тела снижалась до 37 °С. Значительно уменьшались отек, инфильтрация тканей и гиперемия кожи. Кроме этого, раны почти полностью очищались от некротических тканей, остатки некротических тканей легко удалялись вместе с препаратом. Появлялись одиночные грануляции. Микробная загрязненность ран была ниже критического уровня и составляла 104 – 105 КОЕ/г ткани. Цитологические проявления воспаления уменьшались, что проявлялось в уменьшении количества поврежденных нейтрофилов, в мазках-отпечатках обнаруживались скопления фибробластов, однако к этому сроку наблюдения в некоторых нейтрофилах сохранялся незавершенный фагоцитоз, кроме этого в мазках-отпечатках, между клетками, обнаруживались бактерии.

К этому сроку наблюдения в контрольной группе также отмечалось определенное улучшение состояния больных, но температура тела в вечернее время была 37,5–37,8 °С, продолжала тревожить боль в ране, отек и гиперемия кожи осталась выраженными. Количество некротических тканей в ране было достаточно большим, некротические ткани приходилось удалять иссечением. При цитологическом исследовании были обнаружены в большом количестве нейтрофильные лейкоциты с признаком дистрофии и незавершенного фагоцитоза, встречались одиночные фибробласты, макрофаги отсутствовали. По данным бактериологического исследования микробная загрязненность в этот срок наблюдения была достаточно высокой и составляла 106 – 107 КОЕ/г ткани.

На 5 – 6 сутки от начала лечения при использовании флотоксана признаков гиперемии кожи и отека не отмечалось. К этому сроку наблюдения раны полностью очищались от некротических тканей, появлялись ярко красные грануляции. Цитологическая картина воспаления почти исчезала по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. Соответственно росту грануляционной ткани заметно активировалась пролиферация фибробластов. В мазках-отпечатках наблюдалось увеличение их количества, они определялись в виде групповых скоплений. Бактериальная загрязненность раны составляла 0 – 122 КОЕ/г ткани, что ниже критического уровня. При этом значительно улучшались лабораторные показатели крови, что проявлялось в уменьшении лейкоцитоза, замечалась тенденция к снижению СОЭ.



В отличие от опытной в контрольной группе на 5 – 6 сутки у больных температура тела оставалась повышенной до 37,0 – 37,2 °С, отмечался отек, раны были с некротическими тканями, хотя и появлялись одиночные грануляции. Полностью раны очищались от некротических тканей на 7 – 8 сутки, и только к этому сроку наблюдения микробная загрязненность раны была ниже критического уровня и составляла 102 – 103 КОЕ/г ткани (рис. 19, 20).



Рис. 19. Динамика снижения микробного загрязнения раны (КОЕ/г ткани).

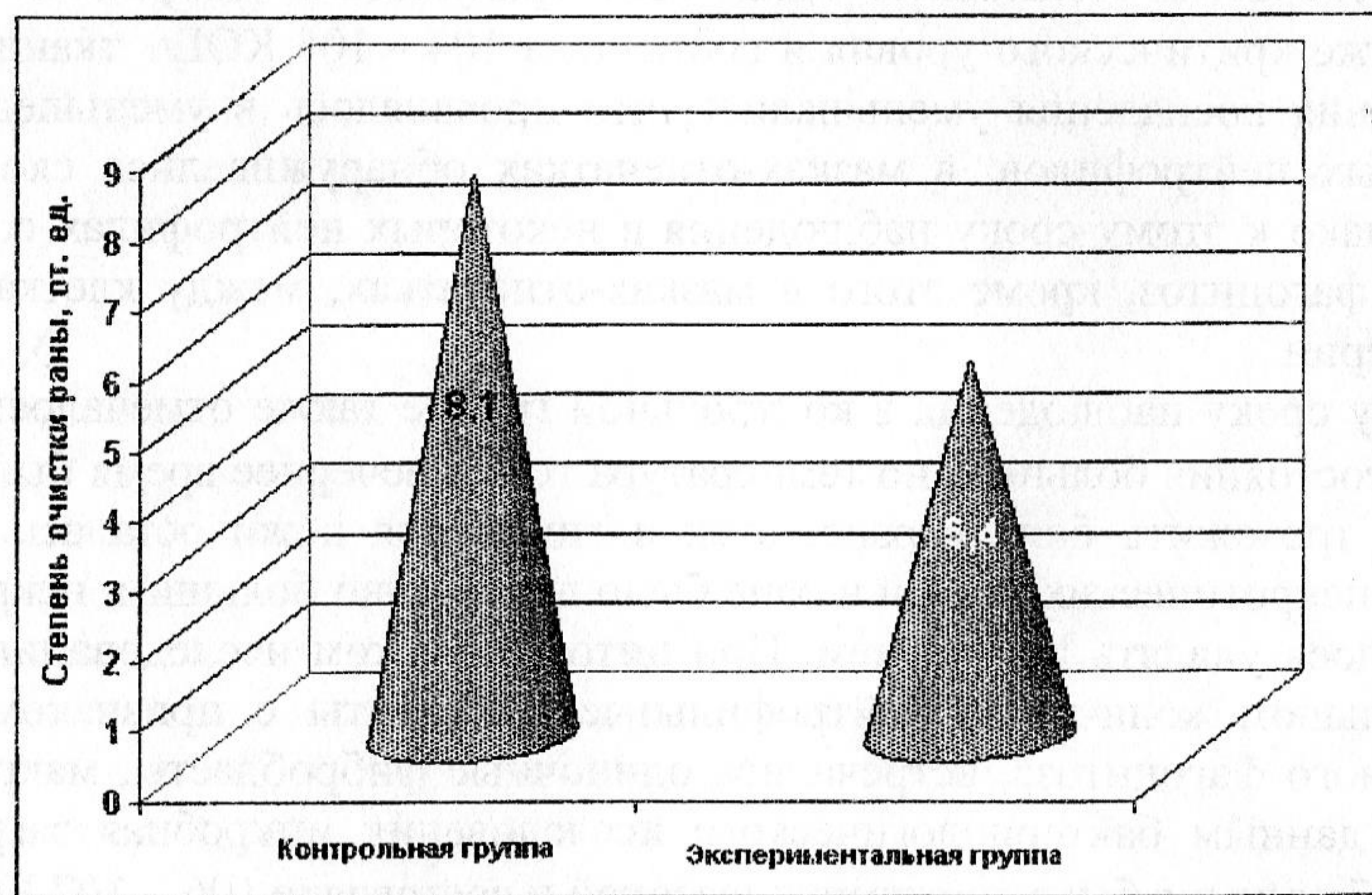


Рис. 20. Сроки очистки ран от некротических тканей.

Как видно из приведенных данных, флотоксан проявляет высокую осмотическую активность, способность сорбировать белки, бактерии, метаболиты средней массы и удерживать их на своей поверхности. При этом за счет активации протеаз гнойного содержимого (возможно в результате разрушения бактерий и оболочек лейкоцитов, которые находятся в гнойном содержимом) препарат имеет протеолитическую активность, о чем свидетельствует быстрая очистка раневой поверхности от некротических тканей. Кроме этого, препарат снижает эндогенную интоксикацию за счет связей, которые позволяют удерживать токсичные продукты на своей поверхности и не дает возможности повторной их резорбции через раневую поверхность, что может происходить при использовании других препаратов, не имеющих сорбционной активности.

Клиническое применение препарата флотоксан в комплексном лечении больных с гнойно-воспалительными процессами в первой фазе хода раневого процесса ускоряло выздоровление и обеспечивало сокращение срока лечения в среднем на 2 – 3 сут [27].

### Препараты третьей генерации

К этой группе (третьей генерации) мы отнесли иммобилизованный на ВДК антиаритмичный препарат пролонгированного действия хинидин, а также препарат и устройство (капсулу) с программируемым высвобождением антимикробных средств для профилактики инфицирования брюшной полости кишечной микрофлорой в послеоперационном периоде. Это устройство вводится в просвет кишки во время операции (рис. 21) [28].

Методика использования устройства проиллюстрирована на рис. 22.

Разработанное устройство представляет собой двухслойную капсулу, изготовленную из глютоидной желатин с инкорпорированным в ее стенках антисептиком – этони-ем, которая заполнена антимикробными препаратами в смеси с силиком (рис. 23).

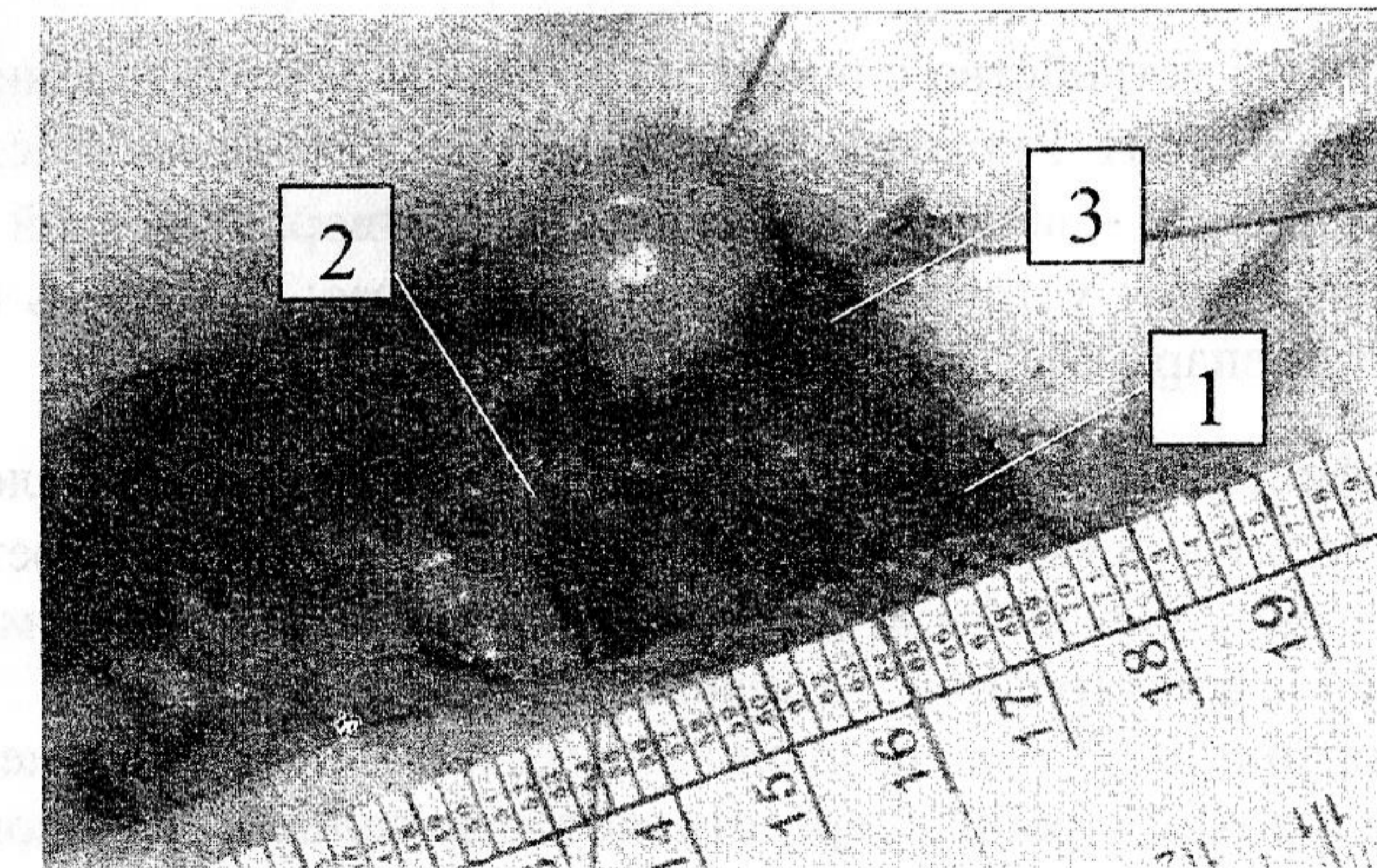


Рис. 21. Введение биоразвормого устройства в просвет кишки: 1 – приводной отдел кишки; 2 – отводной отдел кишки; 3 – биоразвормое устройство.

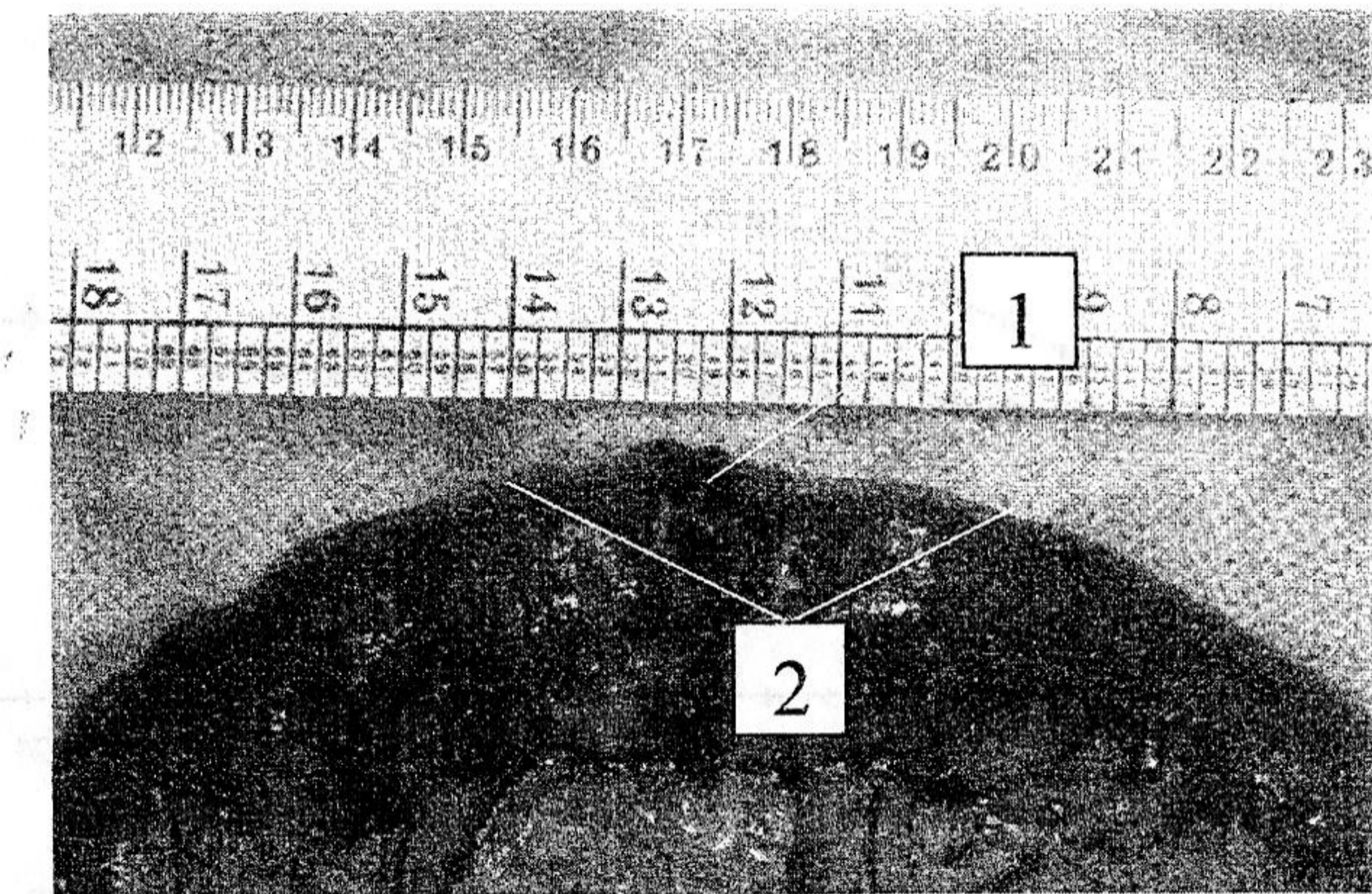
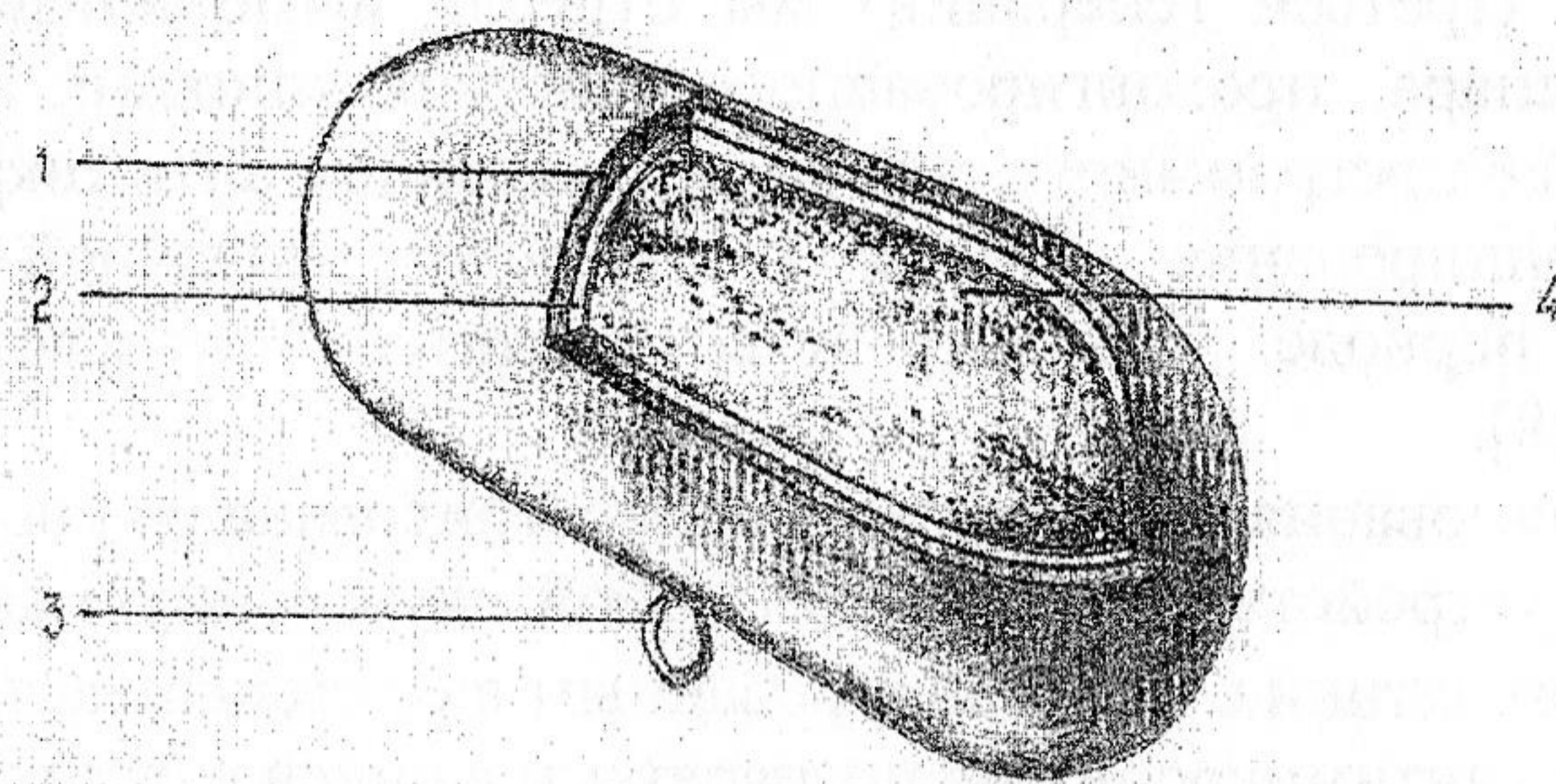


Рис. 22. Общий вид сформированного межкишечного анастомоза: 1 – линия швов; 2 – контуры биоразвормого устройства в просвете кишки.

Устройство действует следующим образом: после его введения в просвет кишки при формировании межкишечного соединения начинается растворение внешнего слоя. В

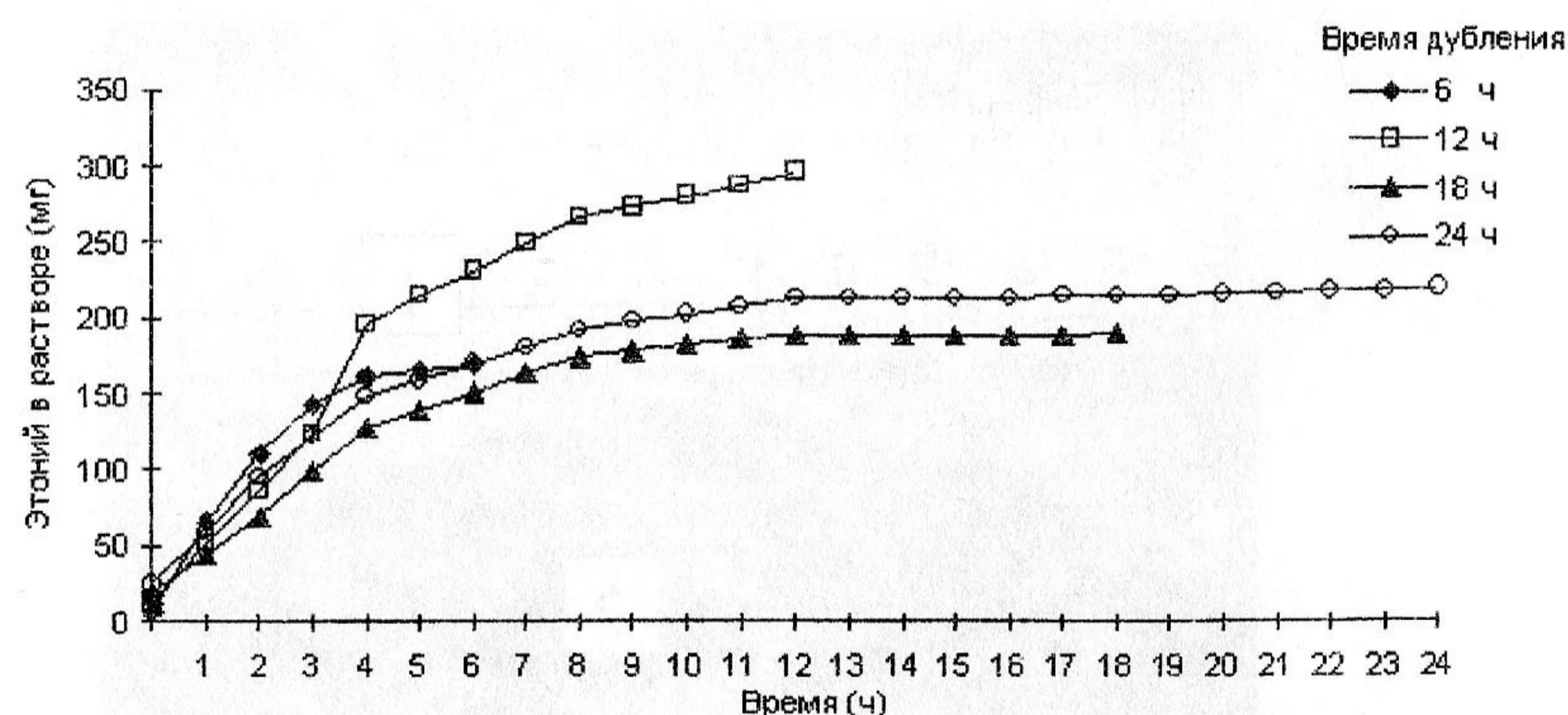
ходе этого процесса в зоне кишечных швов создается терапевтическая концентрация антисептика. На протяжении суток после операции происходит постепенное растворение внутреннего слоя устройства. Вследствие этого концентрация антисептика поддерживается на постоянном уровне.



**Рис. 23.** Биорастворимое устройство с программируемым высвобождением антимикробных средств (патент Украины № 41529А): 1 – внешний быстрорастворимый слой устройства; 2 – внутренний медленно растворимый слой устройства; 3 – ушко для фиксации устройства в зоне анастомоза; 4 – смесь силикса и антимикробных препаратов.

Поскольку инфицирование брюшной полости кишечной микрофлорой в наибольшей степени происходит в первые часы после операции, а именно через 8 – 24 ч после наложения швов, то устройство было сконструировано таким образом, чтобы первый слой растворялся за 4 ч, а внутренний – в течение 24 ч.

После растворения внутреннего слоя происходит высвобождение в просвет кишки смеси сорбентов и антимикробных средств, которые содержатся в зоне соединения в виде гелевой субстанции до появления перистальтики кишечника, т. е. в течение 2–3 суток после операции [28, 29]. Кинетика высвобождения антисептика из слоев капсулы показана на рис. 24.



**Рис. 24.** Кинетика высвобождения этония из оболочек устройства в зависимости от длительности дублирования в парах формальдегида.

Использование биорастворимого устройства (капсулы) с запрограммированным высвобождением антимикробных средств и сорбционного компонента эффективно предупреждает инфицирование брюшной полости через линию соединения кишечника

после операции и предотвращения развития кровотечения внутрибрюшинных осложнений с 19,5 до 5,9 %, сокращение длительности лечения больных с 18,6 до 12 дней и снижение летальности с 13,8 до 2,9 % [30].

## Выводы

Таким образом, создание комбинированных средств на основе ВДК – перспективное направление в фармации. Вышеупомянутые лекарственные препараты в короткий срок и при сравнительно небольших финансовых расходах могли бы выпускаться фармацевтической промышленностью Украины, поскольку все их компоненты отечественного производства.

## Литература

1. Айлер Р. Химия кремнезема. – М.: Мир, 1982. – Ч.1/2. – 1127 с.
2. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова. – М.: Медицина. – 1991. – С. 323 – 337.
3. Silica and renal diseases: no longer a problem in 21st century? / Stratta P., Canavese C., Messuerotti A., Fenoglio N., Fubini B. // J.Nephrol. – 2001. – N 14. – P. 228 – 247.
4. The quartz hazard: effects surface and matrix on inflammogenic activity / K.Donaldson, V.Stone, R.Duffin, A.Clouter, R.Schins, P.Borm // J. Environ Pathol. Toxicol. Oncol. – 2001. – V. 20, S.1. – P. 101 – 110.
5. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. – Киев: Наук. думка, 2003. – 416 с.
6. Химия поверхности кремнезема / Под ред. А.А.Чуйко. – Киев: УкрИНТЕИ, – 2001. – Т. 1. – Ч. 2. – 500 с.
7. Полимеры в фармации / Под ред. А.И. Тенцовой, М.Т. Аллошина. – М., Медицина, 1985. – 246 с.
8. Мороз В.М., Чуйко О.О., Пентюк О.О. Досягнення в розробці лікарських препаратів на основі високодисперсного кремнезему // Вісн. Вінницьк. мед. ун – ту. – 1999. – Т. 3, № 1. – С. 1 – 3.
9. Пат. 34129 А Україна, UA 99063112 МКВ 6 А61К31/70 А61К31/185 А61К33/14 А61К35/78. Антидіарейний засіб "Силоглокан" / О.О.Пентюк, І.І. Геращенко, Я.П.Вербіловський, О.І.Штатко, О.О.Чуйко. Заявл. 07.06.99; Опубл. 15.02.2001, Бюл.№1.
10. Механохимическое получение и исследование композиции высокодисперсного кремнезема с хлоридами натрия и калия, цитратом натрия и глюкозой / Я.П. Вербиловский, И.И. Геращенко, Е.И. Штатко, Т.И. Ющенко // Хим.-фарм. журн. – 2003. – Т. 37, № 12. – С. 45 – 48.
11. Розробка та доклінічне вивчення сорбційно-сольової композиції "Силоглокан" / Я.П. Вербіловський, І.І. Геращенко, О.І. Штатко, Т.І. Ющенко // Клін. фармація. – 2002. – Т. 6, № 3. – С. 51.
12. Кутельмах О.І., Чумакова Ю.Г., Штатко О.І. Порівняльна оцінка впливу силіксу та фітосиларду на перебіг асептичного запалення м'яких тканин порожнини рота щурів // Вісн. стоматології. – 2004. – № 2. – С. 13 – 18.
13. Кутельмах О.І., Чумакова Ю.Г. Вплив комплексних препаратів на основі силіксу на тканини пародонту при експериментальному пародонтиті у щурів // Вісн. стоматології. – 2006. – № 1. – С. 12 – 18.
14. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современ. методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. – М., 1977. – С. 66 – 68.

15. Покровский А.А., Арчаков А.И. Методы разделения и ферментной идентификации субклеточных фракций // Современ. методы в биохимии. – М.: Медицина, 1968. – С. 5 – 59.
16. Лабораторные методы исследования в клинике: / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 205 – 209.
17. Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.В. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопросы мед. химии. – 1990. – N 2. – С. 88 – 91.
18. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. – М.: Медицина, 1982. – 304 с.
19. Пат. 32545 Україна, UA 94020331 МКВ 7 В 01 J 8/00, В 01 J 19//00. Спосіб збільшення кількості речовини, імобілізованої одиницею поверхні носія / О.В. Ільченко. – Заявл. 11.05.93; Опубл. 15.02.01; Бюл. № 1.
20. Ильченко А.В. Кинетика сорбции алкалоидов на энтеросорбенте полисорб МП // Тез. докл. Всероссий. конф. «Сорбционные, электрохимические и гравитационные методы в современной медицине». – М., 26–28 окт. 1999. – С. 44 – 45.
21. Пат. 15308 А Україна, UA 94117598 МКВ А 61 F 13/04. Пов'язка для ран / І.І. Геращенко, С.В.Сандер, О.І.Бондарчук, В.І.Богомаз, О.О.Чуйко. – 94117598; Заявл. 18.11.94; Опубл. 30.06.97; Бюл. № 3.
22. Пат. 32088 Україна UA 98126795 МКВ 5А 61 А 31/695, А 61 К 31/14. Раноцілющий препарат та спосіб його одержання / Ю.М. Шевченко, І.І. Геращенко, О.А. Вільцанюк; Заявл. 23.12.1998; Опубл. 15.12.2000, Бюл. № 7 – 11.
23. Механосорбционное получение композиций высокодисперсного кремнезема с трипсином и катионными ПАВ / И.И. Геращенко, Е.Ф. Воронин, А.С. Барыло, В.А. Тертых, Е.М. Пахлов // Хим.-фарм. журн. – 2001. – Т.35, № 2. – С. 16 – 17.
24. Пат. 67501 Україна, UA 109074 МКВ 7А 61В 17/00. Спосіб місцевого лікування гнійно-запальних процесів / О.А. Вільцанюк, І.І. Геращенко, М.М. Рубан. Заявл. 07.10.2003; Опубл. 15.06.2004, Бюл. № 1.
25. Вільцанюк О.А. Експериментальна оцінка ефективності флотоксану при лікуванні гнійних ран // Вісн. морфології Вінницьк. мед. ун-ту. – 2005. – № 1. – С. 38 – 42.
26. Вільцанюк О.А. Антимікробна активність порошкової композиції флотоксан // Вісн. Вінницьк. мед. ун-ту. – 2002. – Т.6, № 2. – С. 390-391.
27. Вільцанюк О.А., Рубан М.М. Результати хірургічного лікування післяін'єкційних гнійно-запальних ускладнень опійної наркоманії // Biomedical and biosocial anthropology. – 2005. – № 1. – С. 111 – 124.
28. Пат. 41529А Україна, UA МКВ А 61 В 17/00. Спосіб профілактики септичних ускладнень після операцій на шлунково-кишковому тракті / О.О.Вільцанюк, І.І.Геращенко, А.І.Ошовський, О.О.Чуйко. Заявл. 06.02.93; Опубл.17.09.01, Бюл.№ 8.
29. Вильцанюк А.А., Ошовский А.И. Морфологическое обоснование эффективности применения биорастворимой капсулы для профилактики послеоперационных осложнений // Вісн. морфології Вінницьк. мед. ун-ту. – 2001. – №1. – С.121 – 122.
30. Вільцанюк О.О., Геращенко І.І., Ошовський А.І. Застосування розчинної капсули, заповненої сорбентом, для профілактики післяопераційного перитоніту // Вісн. Вінницьк. мед. ун-ту. – 1999. – № 3. – С. 216 – 217.