

В. Е. Капуцкий, вед. науч. сотрудник; О. П. Собошук, ст. преподаватель

## МЕДИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И ХИМИКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ ВЕЩЕСТВ (СОЕДИНЕНИЙ, ПРЕПАРАТОВ)

The work is dedicated to getting ecological, less dangerous antimicrobial preparations on the basis of natural polymeric substances, particularly cellulose. The method of receiving polymeric chlorhexidin antiseptic, that prolongs antimicrobial effect, has been worked out. The original methods of researching antimicrobial effects of polymeric antiseptic have been suggested.

Применение антибиотиков и других синтетических противомикробных веществ и препаратов в последние полстолетия позволило решить многие вопросы дезинфекции, асептики, антисептики и химиотерапии. Однако все возрастающее бессистемное и безоснованное использование этих препаратов ведет к новым проблемам. Так, к примеру, состязание между скоростью синтеза все новых антибиотических соединений, с одной стороны, и темпами эволюции устойчивых к их действию форм микроорганизмов, с другой, происходит, бесспорно, не в пользу человека. Кроме того, сами эти новые синтезированные противомикробные препараты (ксенобиотики), как выяснилось, нередко обладают многосторонним побочным негативным действием на живой организм [1, 2].

С целью уменьшения побочного токсического действия в последние 20 лет достаточно широко развивается направление получения иммобилизованных на полимерных носителях соединений антимикробного пролонгированного действия [3, 4]. Уязвимым звеном этого направления оказалось то, что в качестве пролонгаторов низкомолекулярных противомикробных веществ предлагаются в большинстве случаев синтетические высокомолекулярные соединения, которые сами по себе также являются чужеродными веществами для живых систем.

Кроме того, независимо от степени очистки синтетические полимеры содержат в своем составе примеси исходных низкомолекулярных мономеров, олигомеров, катализаторов и, возможно, некоторых других ингредиентов, которые способны всасываться через кожу, слизистые и раневые поверхности во внутреннюю среду организма и оказывать неблагоприятное токсическое действие.

Между тем, в природе существуют классы полимерных соединений, к которым в процессе эволюции живые организмы адаптировались и которые могут служить прекрасными пролонгаторами многих низкомолекулярных противомикробных веществ. Это, в первую очередь, полисахариды. Кроме сравнительно инертных полимерных сахаров в состав природных биологических объектов входят целлюлоза и такие производные полисахаридов, как содержащие уруновые карбоксильные группы, т. е. распо-

ложенные в 6-м положении пиранового цикла. Это полиглюкуроновая кислота, альгиновая кислота и пектиновые вещества [5, 6]. Заслуживают внимания целлюлозные носители. Исходная целлюлоза содержит небольшое количество карбоксильных групп: порядка 0,1 мас. %. Из карбоксилсодержащих целлюлозных носителей перспективной, в первую очередь, является монокарбоксилцеллюлоза (МКЦ). МКЦ – это полиглюкуроновая кислота с различным содержанием карбоксильных групп. Путем окисления оксидами азота (IV) волокнистой целлюлозы получен препарат под наименованием «Марля кровоостанавливающая вискозогемостатическая»; за рубежом известна как целлюлозооксидиз. Этот препарат внесен в фармакопеи многих стран (бывший СССР, США, Великобритания и др.); на ее основе получены продукты присоединения различных антибиотиков, к примеру каноксицел, или продукт присоединения линкомицина к МКЦ в виде хлопчатобумажной салфетки, образующей на раневых поверхностях гелеобразную структуру и, вследствие этого, по недоразумению названной разработчиками технологии получения «Пленкой с линкомицином».

В медицинской практике до сих пор преимущественно применяются антибиотики. Их производство постоянно возрастает. Между тем, долгое применение антибиотиков выявило их отрицательные последствия воздействия на организм человека: побочное действие, снижение иммунитета, быстрое формирование устойчивых форм, что в большинстве случаев затрудняет решение связанных с этими явлениями проблем. Одним из путей решения проблем, связанных с широким применением антибиотиков, является сокращение их применения там, где это возможно, и замена их другими антимикробными препаратами. Исследования, проведенные в плане сопоставления активности антибиотиков и антисептиков в отношении госпитальных и внегоспитальных экovarов энтеробактерий, стафилококков, псевдомонад, выявили, например, преимущественное применение в местной терапии антисептических препаратов перед антибиотиками. Наши исследования, проведенные в отношении стафилококков, подтвердили такой вывод.

Выживаемость микробных популяций находится в прямой пропорциональной зависимости от степени гетерогенности популяций по спектру и уровню устойчивости к повреждающим факторам, в том числе к антибиотикам и антисептикам. Чем больше гетерогенность по признаку устойчивости к антимикробным препаратам, тем больше шансов у популяции выжить в неблагоприятных условиях. Поэтому гетерогенность бактериальных популяций в известной мере определяет эффективность противомикробных препаратов и устойчивость к ним бактерий.

О гетерогенности популяции можно судить по коэффициенту толерантности (КТ), который представляет собой отношение максимального значения минимально ингибирующей концентрации (МИК) к минимальному значению МИК антибиотиков и антисептиков в отношении популяции стафилококков. Таким образом, по коэффициенту толерантности можно судить о гетерогенности популяции микроорганизмов по отношению к какому-либо антимикробному препарату.

Гетерогенность стафилококков в отношении антибиотиков существенно больше по сравнению с антисептиками. КТ антисептиков варьировал от 5,6 до 17 857, антибиотиков – от 8533 до 409 600. Следовательно, вероятность полной элиминации бактерий из биотопа при введении антисептика выше, чем при введении антибиотика, а возможность селекции устойчивых к антибиотикам вариантов больше, чем к антисептикам.

Сопоставление средних МИК антибиотика и антисептика стафилококков показало, что по бактериальной активности антисептики не уступали антибиотикам. Диапазон колебаний значений МИК всех испытанных антибиотиков (пенициллин, ампициллин, карбенициллин, оксациллин, канамицин, бруламицин, сизомицин, амикацин, гентамицин, бенемидин, тетрациклин, кефзол, эритромицин, линкомицин) составлял  $4,0 \pm 0,7 - 820 \pm 67$  мкг/мл, антисептиков (цетилпиридиний хлорид, септонекс, роккал, хлоргексидин, этоний, декаметоксин, фурагин, фурацилин, йодопирон, первомур, этакридин лактат) –  $9,0 \pm 2 - 650 \pm 50$ . Однако давно применяемые антисептики (диоксидин, резорцин, борная кислота, сульфацил натрия, хлорамин) практически утратили свою активность. Их средние МИК превышали средние МИК антибиотиков в 10–1000 раз ( $1530 \pm 40 - 143 200 \pm 3600$  мкг/мл).

Сопоставление частоты выделения устойчивых вариантов стафилококков к антибиотикам и антисептикам было не в пользу антибиотиков. Устойчивые варианты стафилококков по отношению к антисептикам не обнаружены или обнаружены в небольшом количестве ( $0,0 \pm 0,2 - 14,0 \pm 1,5\%$ ).

С биологических позиций устойчивость к тому или иному антимикробному веществу яв-

ляется понятием относительным, т. е. расценивать данный микроорганизм как устойчивый, например, к эритромицину следует тогда, когда эритромицин подавляет рост данного микроорганизма в концентрации 8 мкг/мл и выше. Такая концентрация оказывает токсическое воздействие на макроорганизм и не может использоваться в лечебных целях. Как показали исследования чувствительности стафилококков к эритромицину, он подавлял рост золотистого стафилококка в среднестатистической концентрации  $820 \pm 67$  мкг/мл, т. е. частота встречаемости устойчивых форм золотистого стафилококка составила  $92,2 \pm 2,3\%$ .

Целью данного исследования является решение задачи получения полимерных противомикробных веществ на основе карбоксилсодержащей целлюлозы и верхового торфа, являющихся аналогами природных уроновокарбоксилсодержащих полисахаридов, и низкомолекулярных аминокислотсодержащих антисептиков широкого спектра действия – хлоргексидин, декаметоксин, септонекс, этоний, цетилпиридиний и др. В качестве карбоксилсодержащей целлюлозы были получены окислением целлюлозы (марля медицинская, хлопчатобумажная трикотажная ткань и др.) оксидами азота в инертных органических растворителях препараты монокарбоксилцеллюлозы с различным содержанием карбоксильных групп (от 0,4 до 16–20 мас. %), являющиеся аналогами природной полиглюкуроновой кислоты. Кроме того, при помощи дешевых доступных окислителей (перекись водорода, гипохлорид натрия, кислород и др.) в различных условиях (рН, концентрация, температура, продолжительность) были получены карбоксилсодержащие волокнистые препараты целлюлозы с относительно небольшим содержанием карбоксильных групп (0,1–0,4 мас. %): такое содержание карбоксильных групп позволяет химически присоединять к ним до 0,5–2 мас. % низкомолекулярного антисептика.

#### Результаты экспериментальных исследований и их обсуждение

В работе путем ионообменной сорбции аминных антисептиков волокнистыми препаратами МКЦ получены их солевые формы с различным содержанием связанного антисептика [7]. Нами изучена хлоргексидиновая (ХГ) соль МКЦ, являющаяся, по существу, полимерным аналогом фармакопейного препарата ХГ биглюконата. МКЦ, химическое наименование которой – полиангидроглюкуроновая кислота, представляет из себя полимерную форму глюкуроновой кислоты, являющейся, как и линейного строения глюконовая кислота, карбоксилсодержащим окисленным производным глюкозы, только в циклической форме, т. е. глюкопиранозы.

Для исследования антимикробных свойств полученных полимерных антимикробных препаратов нами предложены оригинальные методики. Модифицированный метод определения минимально ингибирующей концентрации (МИК) для полимерных антисептиков (ПА) [8], в основе которого лежит метод серийных разведений низкомолекулярного антимикробного препарата (антибиотика) в жидкой питательной среде, является стандартным методом, используемым при разработке фармакопейных препаратов.

Результаты определения МИК волокнистых ХГ-содержащих целлюлозных препаратов представлены в таблице.

Видно, что полимерный целлюлозный антисептик (ПЦА) обладает большей активностью по сравнению с низкомолекулярным ХГ. Так, низкомолекулярный ХГБ оказывал статическое действие по отношению к золотистому стафилококку в концентрации 0,002 мг/мл, а в химически связанном виде ХГ-солей МКЦ с содержанием 1 и 6% ХГ-основания оказывал такое же действие в расчете на интегральный полимерный образец в концентрациях 0,19 и 0,02 мг/мл; этим концентрациям соответствовало 0,002 и 0,001 мг/мл ХГ-основания. Цидное действие ХГБ оказывал в концентрациях 0,0078 мг/мл, а в форме солей МКЦ – в концентрациях 0,39 и 0,05 мг/мл, что соответствовало 0,004 и 0,0035 мг/мл ХГБ.

Нами также предложены методы изучения антимикробного действия полимерного антисептика на основе [8].

Полученные этими методами результаты свидетельствуют, что длительность и выраженность антимикробного действия ПА зависит от количества ХГ, введенного в полимер. Так, для ХГ-солей МКЦ, содержащих 0,5; 1; 2; 6% ХГ-основания (0,100 г препарата), антимикробная активность элюата наблюдалась при пропускании соответственно 120, 210, 300 и 900 мл изотонического раствора.

Длительность антимикробного действия выпускаемой на Борисовском заводе медпрепаратов РБ линкомициновой соли МКЦ (товарное наименование лекарственного препарата «Пленка с линкомицином») значительно уступала разработанному нами ХГ-содержащему целлюлозному антисептику. Несмотря на то что содержание линкомицина-основания в «Пленке с линкомицином» в 5–100 раз превышало содер-

жание ХГ-основания в ХГ-солях МКЦ, антимикробная активность элюата в случаях с «Пленкой с линкомицином» наблюдалась лишь при пропускании 60 мл изотонического раствора. Это свидетельствует о том, что молекулы ЛК связаны с полимерным носителем очень слабой лабильной связью и при контакте с электролитами легко отщепляются и переходят в раствор; более того, вымывание ЛК из линкомициновой соли МКЦ происходит и путем гидролиза дистиллированной водой. В связи с этим лекарственный препарат «Пленка с линкомицином», по существу, обладает слабо пролонгированным действием, а полученный нами ПА в виде ХГ-солей МКЦ представляется более перспективным в качестве антимикробного лекарственного препарата.

## Выводы

1. В работе заложены научные основы создания экологически менее опасных, по сравнению с традиционными, противомикробных веществ на полимерной основе.
2. Предложены оригинальные модифицированные методики исследования антимикробных свойств полимерных антисептиков.
3. Разработан метод получения на основе карбоксилсодержащей целлюлозы полимерных хлоргексидин-, декометоксин-, септонекс-, этоний-, цетилпиридинийсодержащих антисептиков пролонгированного антимикробного действия.

## Перспективы внедрения

В связи с тем что выпускаемая на Борисовском заводе медпрепаратов «Пленка с линкомицином», т. е. линкомициновая соль МКЦ, вследствие эволюции микрофлоры в значительной мере утратила спектр своего антимикробного действия и, к тому же, фактически не является препаратом с выраженным пролонгированным действием, в силу чего не нашла широкого применения в лечебной практике за период своего полупромышленного производства в течение 10 лет, представляется перспективным внедрение вместо нее разработанной нами хлоргексидиновой соли монокарбоксилцеллюлозы в промышленное производство и дальнейшее развитие данного направления с точки зрения расширения ассортимента антимикробных препаратов на основе целлюлозы и крахмала.

Таблица

### Антимикробная активность статическая (цидная) хлоргексидиновых солей монокарбоксилцеллюлозы

Индикаторные тест-культуры микроорганизмов	Минимально ингибирующая концентрация, мг/мл в расчете на интегральный полимерный образец с содержанием ХГ 1%	
		содержащийся в образце ХГ 6%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	0,19 (0,39)	0,02 (0,05)
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	0,80 (3,12)	0,05 (0,01)

## Литература

1. Andremont A. Impact des antibiotiques sur l'ecologie de la resistance bacterienne: Role du tube digestif // *Med. et malad. infec.* – 2000. – 30. Suppl., 3. – P. 178–184.
2. Zinner S., Wise R., Moelting R. Maximizing Antimicrobial Efficacy, Minimizing Antimicrobial Resistance: A paradigm for new millennium // *Clin. Infect. Diseases.* – 2001. – 33 Suppl. № 3. – P. 107.
3. Журнал Всесоюз. хим. общ-ва им. Д. И. Менделеева / Сб. научных статей по проблеме создания биологически активных синтетических и других полимеров. – М.: Химия, 1985. – Т. 30. – Вып. 4. – 360 с.
4. Афиногенов Г. Е., Панарин Е. Ф. Антимикробные полимеры. – СПб.: Гиппократ, 1993. – 261 с.
5. Степаненко Б. Н. Химия и биохимия углеводов (полисахариды): Учеб. пособие для вузов. – М.: Высш. школа, 1978. – 256 с.
6. Елинов Н. П. Химия микробных полисахаридов: Учеб. пособие для вузов по спец. «Фармация», «Биология». – М.: Высш. школа, 1984. – 256 с.
7. Зими́на И. Ф., Капуцкий В. Е., Каленик И. Е. Сорбция биологически активных минеральных и органических соединений целлюлозными катионообменниками // *Журн. прикл. химии.* – 1998. – Т. 71. – № 6. – С. 920–925.
8. Навашин С. М., Фомина И. П. Рациональная антибиотикотерапия. – М.: Медицина, 1982. – С. 38–39.