УДК: 541(183.12+64):615.281.9

Новые перевязочные материалы пролонгированного действия

С. Н. Дронов[1,A,C], В. И. Мамчур[1,A,E,F], И. П. Кошевая[1,B,C], Д. А. Степанский[1,B,C], Г. Н. Кременчуцкий[1,A,E], В. Н. Торопин[2,A–D], Б. В. Мурашевич*[2,C,D], К. С. Бурмистров[2,C]

[1]ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро, [2]ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет», г. Днипро

A – концепция и дизайн исследования; B – сбор данных; C – анализ и интерпретация данных; D – написание статьи; E – редактирование статьи; F – окончательное утверждение статьи

Разработка и создание перевязочных материалов, не оказывающих токсического действия на организм, проявляющих выраженное антимикробное действие и не вызывающих резистентность болезнетворных микроорганизмов, а также ускоряющих процесс эпителизации, – актуальная задача современной медицины.

Цель работы – оценка токсикологических характеристик перевязочного материала с содержанием активного хлора 6 % и 9 % при одноразовом нанесении на кожные покровы, а также изучение действия перевязочного материала на скорость эпителизации неинфицированной раневой поверхности и определение его антимикробной и ранозаживляющей активности *in vivo* на модели раны, инфицированной *S. aureus* ATCC 6538.

Материалы и методы. Для оценки безопасности применения и фармакологической активности in vivo проведено экспериментальное изучение повязок с иммобилизированным полимерным N-хлорсульфонамидом натрия и N,N-дихлорсульфонамидом. Оценка токсикологических характеристик изучаемого перевязочного материала при одноразовом нанесении на кожные покровы проведена на лабораторных крысах и кроликах по общепринятой методике, изучение ранозаживляющего действия – в тесте Л. Н. Поповой, а антимикробной активности in vivo – на модели раны, инфицированной вшиванием шелковой нити, пропитанной суточной культурой *S. aureus* ATCC 6538.

Результаты. Фармакологическими исследованиями острой токсичности тест-образцов материалов с содержанием активного хлора 6 % и 9 % при одноразовом нанесении на кожные покровы крыс и кролей установлено, что аппликации не приводили к случаям гибели, а также изменениям в поведении животных, потреблении ими корма и воды. Скорость эпителизации неинфицированной раневой поверхности в условиях применения повязок как с N-хлорсульфонамидом натрия, так и содержащих N,N-дихлорсульфонамид к окончанию периода наблюдения (14 сутки) достоверно значимо увеличивалась в среднем в 1,5 раза по сравнению с животными группы контроля. Согласно полученным данным, аппликации повязок с N-хлорсульфонамидом натрия на инфицированные суточной культурой *S. aureus* ATCC 6538 раны существенно снижали интенсивность местных проявлений воспалительного процесса и в 4–10 раз уменьшали количество патогенных стафилококков под повязками на 8 сутки наблюдения.

Выводы. Однократное нанесение на кожные покровы животных материалов в нативном виде не вызывает случаи летального исхода. Накожная аппликация полимерных материалов на неинфицированных ранах стимулирует процессы природной репарации, а на инфицированных стафилококком снижает количество патогенных микроорганизмов в раневом отделяемом и сокращает сроки заживления.

Ключевые слова: иммобилизованный волокнистый N-хлорсульфонамид натрия, N,N-дихлорсульфонамид, перевязочный материал, токсичность, антибактериальная активность *in vivo*.

Запорожский медицинский журнал. – 2019. – Т. 21, № 3(114). – С. 365–372

DOI: 10.14739/2310-1210.2019.3.169189

***E-mail:** murashevych.b@gmail.com

Нові перев'язувальні матеріали пролонгованої дії

С. М. Дронов, В. Й. Мамчур, І. П. Кошова, Д. О. Степанський, Г. М. Кременчуцький, В. М. Торопін, Б. В. Мурашевич, К. С. Бурмістров

Розроблення, створення перев'язувальних матеріалів, що не мають токсичного впливу на організм, виявляють виражену антимікробну дію та не викликають резистентність хвороботворних мікроорганізмів, а також прискорюють процес епітелізації, – актуальна проблема сучасної медицини.

Мета роботи – оцінювання токсикологічних характеристик перев'язувального матеріалу з вмістом активного хлору 6 % і 9 % при одноразовому нанесенні на шкіру, а також вивчення дії перев'язувального матеріалу на швидкість епітелізації неінфікованої ранової поверхні, визначення його антимікробної та ранозагоювальної активності *in vivo* на моделі рани, що інфікована *S. aureus* ATCC 6538.

Матеріали та методи. Для оцінювання безпеки застосування та фармакологічної активності in vivo виконали експериментальне вивчення пов'язок з іммобілізованим полімерним N-хлорсульфонамідом натрію та N,N-дихлорсульфонамідом. Визначення токсикологічних характеристик досліджуваного перев'язувального матеріалу при одноразовому нанесенні на шкірні покриви виконали на лабораторних щурах і кроликах за загальноприйнятою методикою, вивчення ранозагоювальної дії – в тесті Л. Н. Попової, антимікробної активності in vivo – на моделі рани, що інфікована вшиванням шовкової нитки, просоченої добовою культурою *S. aureus* ATCC 6538.

Результати. Фармакологічними дослідженнями гострої токсичності тест-зразків матеріалів із вмістом активного хлору 6 % і 9 % при одноразовому нанесенні на шкірні покриви щурів і кролів встановлено, що аплікації не призводили до випадків загибелі, а також змін у поведінці тварин, споживанні ними корму, води. Швидкість епітелізації неінфікованої поверхні рани за умов застосування пов'язок як з N-хлорсульфонамідом натрію, так і з N,N-дихлорсульфонамідом до завершення періоду спостереження (14 доба) вірогідно значущо збільшувалася в середньому в 1,5 раза порівняно з тваринами групи

Ключові слова: іммобілізований волокнистий N-хлорсульфонамід натрію, N,N-дихлорсульфонамід, перев'язувальний матеріал, токсичність, антибактеріальна активність *in vivo*.

Запорізький медичний журнал. – 2019. – Т. 21, № 3(114). – С. 365–372

контролю. За отриманими даними, аплікації пов'язок із N-хлорсульфонамідом натрію на інфіковані добовою культурою *S. aureus* ATCC 6538 рани істотно знижували інтенсивність місцевих проявів запального процесу і в 4–10 разів зменшували кількість патогенних стафілококів під пов'язками на 8 добу спостережень.

Висновки. Одноразове нанесення на шкірні покриви тварин матеріалів у нативному вигляді не викликає летальні випадки. Нашкірна аплікація полімерних матеріалів на неінфікованих ранах стимулює процеси природної репарації, а інфікованих стафілококом – знижує кількість патогенних мікроорганізмів у рановому ексудаті та скорочує терміни загоєння.

Key words: immobilized fibrous sodium N-chlorosulfonamide, N,N-dichlorosulfonamide, dressing, toxicity, anti-infective agents.

Zaporozhye medical journal 2019; 21 (3), 365–372

A novel wound dressing material with prolonged action

S. M. Dronov, V. Yo. Mamchur, I. P. Koshova, D. O. Stepanskyi, H. M. Kremenchutskyi, V. M. Toropin, B. V. Murashevych, K. S. Burmistrov

The development and creation of non-toxic dressing materials exhibiting pronounced antimicrobial effect and accelerating wound-healing process without increasing pathogenic microorganisms drug resistance is an actual task of modern medicine.

Aim. Evaluation of toxicological characteristics of a dressing material containing 6 % and 9 % active chlorine in a single application on the skin as well as the study of dressing material effect on the epithelization rate of the uninfected wound surface and determination of its antimicrobial and wound healing activity *in vivo* on a model of *S. aureus* ATCC 6538-infected wound.

Materials and methods. An experimental study of the dressings with immobilized polymeric N-chlorosulfonamide sodium and N,N-dichlorosulfonamide was performed to evaluate the safety in use and pharmacological activity *in vivo*. Evaluation of the dressing material toxicological characteristics in a single application on the skin was carried out on laboratory rats and rabbits according to the generally accepted method, the wound healing effect was studied using the test by L. N. Popova and antimicrobial activity *in vivo* – on a model of wound infected by the insertion of a 24-hour culture of *S. aureus* ATCC 6538 contaminated silk thread through the skin.

Results. Acute toxicity pharmacological studies of material test-samples containing 6 % and 9 % active chlorine in a single application on the skin of rats and rabbits found that these applications did not lead to deaths, as well as changes in their behavioral pattern, consumption of feed and water. The epithelization rate of uninfected wound surface in application of dressings containing both sodium N-chlorosulfonamide and N, N-dichlorosulfonamide was significantly, on average 1.5 times, faster at the end of the observational period (day 14) in comparison with the control group animals. According to the data obtained, the application of dressings containing sodium N-chlorosulfonamide on the 24-hour culture of *S. aureus* ATCC 6538 infected wound significantly reduced the intensity of the inflammatory process local manifestations and 4–10 times decreased the number of pathogenic staphylococci under bandages on day 8 of observation.

Conclusions. Thus, a single application of native materials on the animal skin does not cause a lethal outcome. Skin application of polymeric materials on uninfected wounds stimulates the processes of natural reparation, and decreases the number of pathogenic microorganisms in wound fluid as well as shortens the healing time in staphylococcus-infected wounds.

Наиболее распространенные перевязочные материалы – хлопковые стерильные повязки и бинты. Такие повязки препятствуют дополнительному загрязнению ран и, при тщательной предварительной обработке ран дезинфицирующими средствами, обеспечивают достаточно эффективную их защиту от повторного инфицирования. Однако намокание повязок выделениями из раневых тканей создает благоприятную среду для размножения микроорганизмов, что требует частой смены повязок и повторной обработки ран асептическими средствами. Основной недостаток стерильных повязок – их неэффективность в условиях чрезвычайных ситуаций, когда предварительная асептическая обработка ран затруднена или даже невозможна. Отсутствие такой предварительной обработки часто приводит к тяжелым последствиям при транспортировке больных в стационарные лечебные учреждения.

Для устранения этих недостатков используют пропитку стерильных повязок асептическими растворами при их наложении на раны. Более поздний подход – это использование материалов, предварительно пропитанных растворами антисептиков. Но в этом случае антисептики, удерживаемые лишь адсорбционными силами, оказываются эффективными только на короткий период. Превращение антисептического раствора в гель позволило устранить этот недостаток. При помощи этого метода были созданы повязки «ОпикУн», «АрмаГель», «Активтекс», «Апполо» и др., содержащие в составе геля антимикробные ингредиенты [1–3]. Тем не менее, патогенные микроорганизмы, особенно золотистый стафилококк, проявляют высокую устойчивость и резистентность к традиционным антимикробным препаратам [4].

Известно, что хлорноватистая кислота и гипохлорит-ион – биогенные соединения, синтезируемые клетками организма человека (нейтрофилами, гепатоцитами) при инфекциях для борьбы с чужеродными микроорганизмами [5]. Именно по этой причине к ним нет привыкания болезнетворных микроорганизмов, они широко используются как антимикробные и дезинфицирующие агенты [6]. Растворы гипохлорита, предложенные Дакеном, успешно применяли в Первую мировую войну при лечении огнестрельных и ожоговых ран [7]. В настоящее время повязки, пропитанные растворами хлорамина Б, дихлоризоцианурата натрия, используются в медицине, обладают выраженным антимикробным действием, ускоряют процесс эпителизации и не оказывают токсического действия на организм [8]. Фармацевтическая компания «Nova Bay Pharmaceuticals» (США) выпускает стабилизированный раствор хлорноватистой кислоты

концентрацией 100 мг/дм^3 – препарат «NeutroPhase®». Его успешно применяют для лечения труднозаживающих инфицированных ран в США, Китае, Малайзии и других странах [9,10]. Недостаток этих материалов и препаратов – быстрое всасывание в рану и короткий срок действия. В связи с этим разработка нового перевязочного материала с активным хлором пролонгированного действия является актуальной.

Цель работы

Оценка токсикологических характеристик перевязочного материала с содержанием активного хлора 6 % и 9 % при одноразовом нанесении на кожные покровы; изучение действия перевязочного материала на скорость эпителизации неинфицированной раневой поверхности, а также оценка его антимикробной и ранозаживляющей активности in vivo на модели раны, инфицированной *S. aureus* ATCC 6538.

Материалы и методы исследования

Предмет доклинических исследований – N-хлорсульфонамид натрия (I) и N,N-дихлорсульфонамид (II), иммобилизованные на сополимере стирола с дивинилбензолом, привитом к полипропиленовому волокну в форме нетканого полотна. Полимерные материалы (I и II) синтезированы коллективом авторов [11] методом химических превращений катионита «Фибан К-1» ТУ РБ 100185198.062-2001.

Волокнистый катионит «Фибан К-1» получают методом радиационной прививочной сополимеризации стирола и дивинилбензола к полипропиленовому волокну и последующего сульфирования сополимера [12]. Синтезированные на его основе полимеры (I и II) не содержат остаточные количества инициаторов и катализаторов, что важно для использования в медицине. Полимерные материалы (I и II) имеют такие основные характеристики:

– диаметр моноволокон – 40–50 мкм;

– толщина полотна – 2–3 мм, плотность – 270–350 г/м^2;

– влажность – 4–8 %;

– содержание активного хлора – 5–18 % (регулируется условиями синтеза; предварительными испытаниями установлено, что для N-хлорсульфонамида оптимальная концентрация составляет 6–10 %, а для N,N-дихлорсульфонамида – 9–11 %);

– поглощение воды – 800–900 %;

– потеря активного хлора при хранении – 0,5 % в год.

При погружении материалов (I и II) в дистиллированную воду происходит медленное выделение активного хлора концентрацией 2–4 мг/дм^3. В присутствии солей аммония, аммиака, аминокислот или биологически загрязненной среды материалы интенсивно выделяют в раствор активный хлор, при этом носитель активного хлора остается закрепленным на полимерной матрице и не попадает в биологическую среду [13]. Отработанный материал может быть регенерирован действием раствора гипохлорита натрия.

Ранее модифицированным методом «агаровых пластин» на МПА определены антибактериальные свойства и антимикотическое действие полимерных N-хлорсульфонамида (I) и N,N-дихлорсульфонамида (II) [14–16]. Предположили, что материалы (I и II) при соприкосновении с сухими кожными покровами будут оставаться неактивными, а при контакте с кровью, раневым экссудатом активироваться с постепенным выделением активного хлора [14]. В связи с этим целесообразно проведение исследований материалов (I и II) на ранозаживляющее, противовоспалительное, антимикробное действие, а также изучение их токсикологических характеристик.

Исследования материалов (I и II) in vivo на лабораторных животных проводили с учетом норм Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которые используются для лабораторных исследований [17].

Тест-образцы материалов (I и II), используемых для исследований, контролировали на содержание активного хлора и отсутствие солей и щелочи.

На первом этапе экспериментальных исследований изучили токсикологические характеристики материалов (I и II) и их репаративной активности на неинфицированных ранах лабораторных животных. В качестве действующей субстанции для токсикологических исследований материалов и референс-препарата при изучении ранозаживляющей, противовоспалительной и антимикробной активности материалов использовали электрохимически генерированный 0,06 % раствор гипохлорита натрия, полученный разведением дистиллированной водой препарата «ВетОкс-1000» производства ООО «Бровафарма» (г. Бровары, Украина)

В доклинических исследованиях задействованы нелинейные половозрелые крысы обоих полов, полученные из вивария ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины». Крыс содержали в стандартных клетках (пластмассовый ящик с оцинкованной сеткой) размерами 500 × 320 × 160 мм. Уход, содержание и кормление животных осуществляли согласно требованиям нормативных документов в стандартных условиях вивария ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины».

Оценку острых токсикологических параметров изучаемых материалов проводили путем одноразовой аппликации на кожные покровы крыс массой 200–220 г и кроликов массой 2,0–2,5 кг. Полимерные N-хлорсульфонамид натрия (I) с содержанием активного хлора 6 % и N,N-дихлорсульфонамид (II) с содержанием активного хлора 9 % были упакованы в чехлы из полипропиленовой ткани, изготовленной методом «спанлейс» размером 1,5 × 1,5 см. Материалы накладывали на специально выстриженные от шерсти участки кожи животных размером 2 × 4 см (крысы) и 4 × 6 см (кроли). Количество животных в экспериментальных группах: белых крыс – 16, кроликов – 5. Кроме того, в ходе токсикологических исследований крысам внутрибрюшинно в возрастающих дозах, начиная с объема, соответствующего максимально допустимому, в зависимости от массы тела вводили действующую субстанцию повязок (0,06 % раствор гипохлорита натрия) [18]. Наблюдения

за состоянием животных проводили каждый день на протяжении 14 дней. При наблюдении обращали внимание на внешний вид животных, их поведение, потребление ими еды и воды. Критериями эффекта были время появления и степень выраженности симптомов интоксикации, наличие/отсутствие летальных случаев.

Ранозаживляющую активность тест-образцов материалов (I и II) и 0,06 % раствора гипохлорита натрия оценивали по методике Е. А. Ефимова [19]. Патологию индуцировали под ингаляционным наркозом. Как анестезирующее вещество использовали диэтиловый эфир. Перед нанесением ран готовили операционное поле, для чего шерсть на дорсальной поверхности животных выстригали, а затем выбривали вдоль позвоночника. Раны наносили по трафарету при помощи скальпеля посередине выстриженного участка. Средняя площадь ран составила 695,5 мм^2. В течение 14 суток 2 раза в день ежедневно на раневую поверхность производили аппликацию исследуемых материалов. Крысы при этом находились в плексигласовых домиках в течение получаса.

Для оценки скорости заживления ран использовали тест Л. Н. Поповой, основанный на измерении площади раны в динамике. На рану (0, 4, 10, 14 дни лечения) накладывали стерильный лист целлофана, на который чернилами наносили контуры раны. Затем целлофан с полученным контуром накладывали на миллиметровую бумагу и определяли площадь раны, подсчитывая количество мм^2 внутри контура. Процент уменьшения раны определяли по отклонению от исходного фона.

На втором этапе экспериментальных исследований изучено действие материала (I) на моделированные инфицированные раны по методике, описанной в работе [20]. Для исследований 34 крысам (3 экспериментальных группы по 6 животных, группа сравнения с референс-препаратом (0,06 % раствор гипохлорита натрия) из 6 животных, контрольная группа из 10 животных) под кожу вшивали шовный материал (шелковая нить), который пропитан суточной культурой *S. aureus* ATCC 6538 (доза 10^9 КОЕ/мл). Наблюдали за временем проявления местных симптомов гнойно-воспалительного процесса и интенсивностью его развития. Через 3 суток после инфицирования на раны животных в исследуемых группах накладывали повязки из материала на срок 4–12 часов (1 группа – 4 часа, 2 группа – 8 часов, 3 группа – 12 часов, группа сравнения – 8 часов). В контрольной группе лечение не проводили. Время наблюдения – 3 недели. Контролируемые показатели: количество погибших животных, интенсивность проявления местных клинических симптомов воспаления путем осмотра ран и время их заживления.

Бактериологический контроль воспалительных процессов осуществляли согласно методике [21] на содержание в них стафилококков. Для выделения микрофлоры использовали плотные питательные среды: кровяной агар (КА) – для выделения индивидуальных микроорганизмов и определения гемолитической активности; желтково-солевой агар (ЖСА, или среда Чистовича) – для выделения стафилококков; агар эндо – для выделения кишечных бактерий; среда Сабуро – для выделения грибов. Засеянные чашки с КА, средой эндо инкубировали 18–24 ч при 37 °С, ЖСА, или средой Чистовича – 24 ч при 37 °С и 24 ч при 20–22 °С, средой Сабуро – 18–24 ч при 37 °С и 4 суток при 22 °С. Идентификацию культур проводили согласно действующим стандартным методикам [21]. Количество микроорганизмов оценивали в Lg КОЕ/тампон.

Для статистического анализа использовали программный продукт Statistica v.6.1 (StatSoft Inc., серийный № AGAR909E415822FA). В условиях нормального закона распределения показатели представлены в виде средней арифметической (M), стандартной ошибки средней величины (m). Сравнение статистических характеристик в различных группах и в динамике наблюдения проводили с использованием параметрических и непараметрических критериев:

1) оценка достоверности различий средних для несвязанных выборок – по критериям Стьюдента (t) и Манна–Уитни (U), для связанных – по соответствующему критерию Стьюдента (T);

2) множественное сравнение – по однофакторному дисперсионному анализу ANOVA с парным сравнением (Post-hoc) по критериям Шеффе (Scheffe test) и Даннет (Dunnett test);

3) достоверность различий относительных величин – по двусторонним точным критериям Фишера (Fisher exact p, two-tailed).

Статистически значимыми считали различия при $p \le 0,05$.

Результаты

Исследования по оценке острой токсичности тест-образцов материалов (I) и (II) при одноразовом нанесении на кожные покровы животных показало, что аппликации этими материалами (экспозиция 4 часа) в нативном виде не приводили к изменениям в их поведении, потреблении корма и воды. Гибели экспериментальных животных в течение всего периода наблюдений (14 суток) не было. Однократная накожная аппликация тест-образцов не вызывала изменения показателей относительной массы внутренних органов животных опытных групп по сравнению с группой контроля (*табл. 1*).

Расчет среднесмертельной дозы (LD_{50}) исследуемых тест-образцов при накожном нанесении не проводили ввиду невозможности достичь необходимой концентрации действующей субстанции в данной лекарственной форме.

Оценкой острых токсикологических характеристик действующей субстанции материалов повязок (0,06 % раствор гипохлорита натрия) при внутрибрюшинном введении 30 крысам в объемах 1/10 – 2 ОЦК установлено отсутствие случаев летального исхода в течение как первых суток, так и последующего двухнедельного периода наблюдений (*табл. 2*).

Выполнен анализ результатов изучения ранозаживляющей активности материалов I и II. Следует отметить, что после повреждения кожи в исходном состоянии раны животных как контрольной, так и экспериментальных групп представляли собой влажный и выделяющий сукровицу очаг (*рис. 1*). Показано, что в течение первых 4 дней наблюдения какие-либо отличия в процессах природной репарации поврежденных кожных покровов в экспериментальных группах относительно показателей

в контрольной группе не зарегистрированы – отмечена умеренная тенденция к уменьшению площади ран у животных в экспериментальных группах, группе сравнения и контрольной группе (*табл. 3*).

Дальнейшие наблюдения показали, что к 10 и 14 дню эксперимента скорость эпителизации раневой поверхности у животных в экспериментальных группах была выше в 1,2 и 1,6 ($p < 0,05$) раза соответственно, чем в группе контроля (*табл. 3*, *рис. 2*). Сопоставимый характер изменений скорости репаративных процессов зарегистрирован и в группе сравнения: у грызунов, которым осуществляли аппликацию стандартных марлевых повязок с экстемпоральным 0,06 % раствором NaOCl, площадь раны уменьшилась на 39 % и 65 % на 10 и 14 сутки соответственно; в контрольной группе животных процессы природной репарации характеризовались снижением площади поражения на 10 сутки на 25 % и 46 % на 14 сутки по сравнению с исходными данными (*табл. 3*). Патоморфологическое изучение кожного покрова животных в месте раны после завершения лечения показало, что при аппликациях N-хлорсульфонамидом натрия (I) деструктивные изменения ткани не обнаружены, а после применения N,N-дихлорсульфонамида (II) установлены изменения гистоархитектоники эпидермиса (утолщение зернистого слоя, конгломераты интенсивно базофильно окрашенных групп клеток в поверхностном слое вместо строго упорядоченных рядов). Этот результат может быть объяснен сильными окислительными свойствами N,N-дихлорсульфонамида.

В связи с этим, для изучения эффективности антимикробной терапии в условиях моделированного гнойно-воспалительного процесса использовали только полимерный N-хлорсульфонамид натрия (I).

Анализом эффективности антимикробной терапии в условиях моделированного гнойно-воспалительного процесса с использованием тест-модели стафилококковой инфекции на крысах показано, что на 2–3 сутки после инфицирования развивались выраженные симптомы воспаления, которые сохранялись на протяжении 10–13 суток. Стафилококки при подкожном введении интенсивно размножались и способствовали нарастанию местных проявлений инфекции (*рис. 3*).

В первой экспериментальной группе животных при накладывании повязок с полимерным N-хлорсульфонамидом натрия на 4 часа в сутки животные начинали выздоравливать на 9 сутки с момента инфицирования. Выздоровление животных из второй группы (наложение повязок на 8 часов) начиналось на 8 сутки, а третьей группы (наложение повязок на 12 часов) – на 7 сутки с момента инфицирования (*рис. 4*). Гибели животных ни в одной из экспериментальных групп не было.

По нашим наблюдениям, полимерный N-хлорсульфонамид натрия (I) не вызывал раздражающего действия при его нанесении на раны. При снятии повязки не отметили ее прилипание к раневой поверхности. Заживление ран в группе сравнения с 0,06 % раствор гипохлорита натрия начиналось на 8 сутки, в те же сроки что и в исследуемой группе (наложение повязок на 8 часов), но полное выздоровление происходило позже (на 14 сутки). В контрольной группе выздоровление животных шло гораздо медленнее, при этом одна крыса погибла от развития стафилококкового сепсиса (*рис. 3*).

Таблица 1. Массовые коэффициенты (%) внутренних органов крыс после однократной накожной аппликации тест-образцов, 14 сутки (M ± m, n = 16)

Исследуемый орган	Тестируемые показатели	
	Масса органа, г	Относительная масса, г /100 г
Головной мозг	1,793 ± 0,075	0,855 ± 0,008
Сердце	0,675 ± 0,019	0,323 ± 0,008
Печень	6,942 ± 0,290	3,313 ± 0,035
Почки	1,262 ± 0,048	0,603 ± 0,008
Надпочечники	0,033 ± 0,001	0,016 ± 0,001

Таблица 2. Показатели выживаемости экспериментальных животных в условиях однократного внутривенного введения 0,06 % раствора гипохлорита натрия, 14 сутки

Условия опыта	Количество животных	Вводимый объем	Погибло/всего животных
0,06 % раствор NaOCl	n = 6	1/10 ОЦК	0/6
	n = 6	1/5 ОЦК	0/6
	n = 6	1/2 ОЦК	0/6
	n = 6	1 ОЦК	0/6
	n = 6	2 ОЦК	0/6
Контроль (0,9 % раствор NaCl)	**n = 6**	**2 ОЦК**	**0/6**

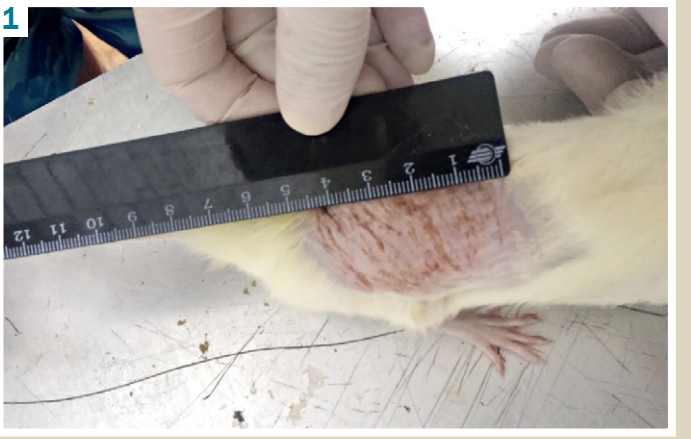

Рис. 1. Состояние неинфицированной раны кожи лабораторной крысы до аппликации изучаемыми материалами.

Рис. 2. Состояние неинфицированной раны кожи лабораторной крысы на 14 сутки после аппликации полимерным N-хлорсульфонамидом натрия.

Рис. 3. Инфекционно-воспалительный процесс в контрольной группе при развитии стафилококкового сепсиса (14 сутки).

Рис. 4. Состояние раны после аппликации полимерным N-хлорсульфонамидом натрия 12 часов в сутки (7 сутки).

Результаты наблюдений за выздоровлением в экспериментальных и контрольной группах и интенсивность местных проявлений воспалительного процесса приведены в *таблице 4* и на *рисунке 4*.

Параллельно с мониторингом воспалительных процессов осуществляли бактериологический контроль выделений из ран на содержание стафилококков (*табл. 5*).

При сравнении антимикробной эффективности исследуемого материала и 0,06 % раствора NaOCl оказалось, что они действуют приблизительно одинаково. Согласно полученным данным, количество патогенных стафилококков как под повязками с полимерным N-хлорсульфонамидом натрия, так и с 0,06 % раствором NaOCl на 8 сутки наблюдений было в 4–10 раз меньше, чем в контрольной группе.

По нашему мнению, механизм ранозаживляющего действия материалов (I и II) заключается в способности длительное время генерировать в рану биогенные соединения активного хлора, постоянное присутствие которых в ране ускоряет репаративные процессы.

Выводы

1. Однократное нанесение на кожные покровы животных материалов в нативном виде с содержанием активного хлора 6 % (N-хлорсульфонамид натрия), и 9 % (N,N-дихлорсульфонамид), а также внутрибрюшинное введение крысам действующей субстанции материалов

Таблица 3. Влияние повязок с полимерными материалами (I и II) на размеры площади поверхности ран у крыс, M ± m

Условия эксперимента	Сроки наблюдения						
	Исходное состояние	4 сутки		10 суток		14 суток	
	Средняя площадь раны, см²	Средняя площадь раны, см²	% изменений	Средняя площадь раны, см²	% изменений	Средняя площадь раны, см²	% изменений
Контроль	6,8 ± 0,7	6,4 ± 0,6	- 5,8	5,1 ± 0,5	- 25	3,7 ± 0,4*	- 46
Тест-образец материала (I), 6 % активного хлора	7,1 ± 0,7	6,5 ± 0,6	- 8,4	4,3 ± 0,4*	- 39	2,3 ± 0,2*•	- 68
Тест-образец материала (II), 9 % активного хлора	7,0 ± 0,7	6,3 ± 0,6	- 10,0	4,4 ± 0,4*	- 37	2,5 ± 0,2*•	- 64

*: p < 0,05 по отношению к показателям исходного состояния; •: p < 0,05 по отношению к показателям контроля.

Таблица 4. Интенсивность развития местных проявлений воспаления при стафилококковой инфекции животных в экспериментальных группах, группе сравнения и контрольной группе

Время аппликации	Количество животных	Летальность	Характер гнойно-некротического процесса					Сроки наблюдения, сутки/ Количество случаев «выздоровления» животных									
			Всего	В том числе с интенсивностью													
				++++	+++	++	+	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
4 часа	6	0	6	2	2	1	1	0	0	2	1	0	1	2	0	0	0
8 часов	6	0	6	3	1	0	2	0	1	2	0	2	1	0	0	0	0
12 часов	6	0	6	1	3	1	1	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0
Контроль	10	1	9	3	3	1	2	0	0	0	0	1	1	2	1	2	2

++++: гиперемия и отек окружающих рану тканей резко выражены, выделения обильны; +++: гиперемия и отек выражены умеренно, выделения серозно-геморрагичные; ++: гиперемия и отек выражены слабо, поверхность раны покрыта струпом; +: незначительная гиперемия вокруг раны, покрытой струпом.

Таблица 5. Логарифм среднего количества стафилококков в выделениях из ран

Условия опыта, время аппликаций в сутки	Количество животных	Время наблюдения после нанесения повязки (в сутках)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
		Lg среднего количества стафилококков							
Аппликация 4 часа	6	5,6	5,3	5,0	5,0	4,9	4,5	4,0	3,8
Аппликация 8 часов	6	5,5	5,2	5,0	4,5	4,0	3,9	3,7	3,2
Аппликация 8 часов 0,06 % раствор гипохлорита натрия	6	5,6	5,5	5,2	4,8	4,5	4,2	4,0	3,7
Аппликация 12 часов	6	5,3	5,0	4,5	4,1	3,7	3,2	2,9	2,5
Контрольная группа	10	6,6	6,9	6,5	6,1	6,1	5,9	5,3	4,8

(0,06 % раствора гипохлорита натрия) в объемах 1/10 – 2 ОЦК случаи летального исхода не вызывает.

2. Накожная аппликация повязок с полимерными N-хлорсульфонамидом натрия и N,N-дихлорсульфонамидом на неинфицированные раны стимулирует процессы природной репарации, сокращая сроки заживления.

3. При наложении повязок с полимерным N-хлорсульфонамидом натрия на инфицированные раны ускоряется их заживление и в 4–10 раз снижается количество патогенных микроорганизмов в раневом отделяемом.

4. На основании результатов изучения острой токсичности, ранозаживляющего, противомикробного действия на лабораторных животных показана фармакологическая активность и безопасность повязок с полимерным N-хлорсульфонамидом натрия.

Перспективы дальнейших исследований. Полимерный N-хлорсульфонамид натрия в виде нетканого полотна – новый перспективный перевязочный материал пролонгированного действия, рекомендуемый для использования медициной катастроф и неотложных состояний. Целесообразно продолжить экспериментальное изучение местно-раздражающего, кожно-раздражающего и аллергизирующего действия, а также безопасности материала (физиологические, гематологические, биохимические и морфологические показатели) в условиях субострого применения.

Финансирование
Работа выполнена в рамках гранта конкурса «Vernadski Chellenge-2015» от компании Noosphere Ventures (США) и грантов «Молодые ученые Днепропетровщины» 2014 и 2017 гг.

Конфликт интересов: отсутствует.
Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 21.06.2018
Після доопрацювання / Revised: 17.10.2018
Прийнято до друку / Accepted: 30.10.2018

Сведения об авторах:
Дронов С. Н., канд. мед. наук, доцент каф. фармакологии и клинической фармакологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.
Мамчур В. И., д-р мед. наук, профессор каф. фармакологии и клинической фармакологии ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.
Кошевая И. П., канд. мед. наук, доцент каф. общей и клинической фармации, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.
Степанский Д. А., канд. мед. наук, зав. каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии и эпидемиологии, ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.
Кременчуцкий Г. Н., д-р мед. наук, профессор каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии и эпидемиологии ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины», г. Днипро.
Торопин В. Н., соискатель каф. технологии органических веществ и фармацевтических препаратов, ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет», главный государственный инспектор-эксперт Днепропетровского отдела по вопросам экспертизы и исследований Специализированной лаборатории по вопросам экспертизы и исследований Государственной фискальной службы Украины, г. Днипро.
Мурашевич Б. В., канд. хим. наук, доцент каф. физической химии, ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет», г. Днипро.
Бурмистров К. С., д-р хим. наук, профессор каф. технологии органических веществ и фармацевтических препаратов, ГВУЗ «Украинский государственный химико-технологический университет», г. Днипро.

Відомості про авторів:
Дронов С. М., канд. мед. наук, доцент каф. фармакології та клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Мамчур В. Й., д-р мед. наук, професор каф. фармакології й клінічної фармакології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Кошова І. П., канд. мед. наук, доцент каф. загальної та клінічної фармації, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Степанський Д. О., канд. мед. наук, зав. каф. мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Кременчуцький Г. М., д-р мед. наук, професор каф. мікробіології, вірусології, імунології і епідеміології, ДУ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», м. Дніпро.
Торопін В. М., здобувач каф. технології органічних речовин і фармацевтичних препаратів, ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», головний державний інспектор-експерт Дніпропетровського відділу з питань експертизи та досліджень Спеціалізованої лабораторії з питань експертизи та досліджень Державної фіскальної служби України, м. Дніпро.
Мурашевич Б. В., канд. хім. наук, доцент каф. фізичної хімії, ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет», м. Дніпро.
Бурмістров К. С., д-р хім. наук, професор каф. технології органічних речовин і фармацевтичних препаратів, ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічній університет», м. Дніпро.

Information about authors:
Dronov S. M., MD, PhD, Associate Professor, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.
Mamchur V. Yo., MD, PhD, DSc, Professor, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.
Koshova I. P., MD, PhD, Associate Professor, Department of General and Clinical Pharmacy, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.
Stepanskyi D. O., MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, Immunology and Epidemiology SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.
Kremenchutskyi H. M., MD, PhD, DSc, Professor, Department of Microbiology, Virology, Immunology and Epidemiology, SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro.
Toropin V. M., Postgraduate student, Department of Technology of Organic Substances and Pharmaceutical Preparations, Ukrainian State University of Chemical Technology; Chief State Inspector-Expert of the Dnipropetrovsk Examination and Research Division of the Tax and Customs Inspection Department of the SFS of Ukraine, Dnipro.
Murashevych B. V., PhD, Associate Professor, Department of Physical Chemistry, State Higher Educational Institution «Ukrainian State University of Chemical Technology», Dnipro.
Burmistrov K. S., Dr. hab., Professor, Department of Technology of Organic Substances and Pharmaceutical Preparations, State Higher Educational Institution «Ukrainian State University of Chemical Technology», Dnipro.

Список литературы

[1] Effects of calcium alginate on cellular wound healing processes modeled in vitro / J. W. Doyle et al. J. *Biomed. Mater. Res.* 1996. Vol. 32. Issue 4. P. 561–568.

[2] Місюра В. М., Роїк О. М. Пов'язки гелеві антимікробні «ОпікУн» – сучасний перев'язувальний засіб лікування ран і опіків. *Екстрена медицина: від науки до практики*. 2014. №5–6(11). С. 232–233.

[3] Сутковская Ю. В. Пролежни и трофические язвы: появилась ли надежда. *Участковый врач*. 2016. №3(44). – С. 38–39.

[4] Stewart P. S. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*. 2001. Vol. 358. P. 135–138.

[5] Weiss J., Klein R., Slivka A., Wei M. Chlorination of taurine by human neutrophils. *J.Clin.Invest*. 1982. Vol. 70. Issue 3. P. 598–607.

[6] White's Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants. New Jersey: John Wiley and Sons, 2011. 1062 p.

[7] Dakin H. D. On the use of certain antiseptic substances in the treatment of infected wounds. *Br.Med. J*. 1915. Vol. 2. P. 318–320.

[8] Абаев Ю. К. Раневые повязки в хирургии. *Медицинские новости*. 2003. №12. С. 30–37.

[9] NeutroPhase® in chronic non-healing wounds / J. Crew et al. *Int. J. Burn Trauma*. 2012. Vol. 2. Issue 3. P. 126–134.

[10] Flow-through Instillation of Hypochlorous Acid in the Treatment of Necrotizing Fasciitis / J. R. Crew et al. *Wounds*. 2016. Vol. 28. Issue 2. P. 40–47.

[11] Полімерний матеріал з іммобілізованим «активним хлором», що проявляє антимікробні властивості : пат. №112187 Україна. МПК A01P 1/00, C08F 257/02, C08F 259/02 / К.С. Бурмістров, Б.В. Мурашевич, В.М. Торопін, М.В. Торопін; заявл. 13.05.2016; опубл. 12.12.2016, бюл. №23.

[12] Soldatov V., Pawlowski L. A., Shunkevich H. Wasag New materials and technologies for environmental engineering: synthesis and structure of ion exchange fibers. Lublin: Liber Duo Color, 2004. 130 p.

[13] Новый хлорвыделяющий материал широкого назначения. Строение и свойства / К. С. Бурмистров и др. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2016. №12. Т. 19. С. 10–14.

[14] Торопин В. Н., Сурмашева Е. В., Романенко Л. И. Изучение антимикробных свойств иммобилизованных волокнистых N-хлорсульфонамидов. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2016. №3. С. 54–58.

[15] Торопин В. Н., Бурмистров К. С., Сурмашева, Е. В., Романенко Л. И. Изучение антимикробных свойств иммобилизованных волокнистых N,N-дихлорсульфонамидов. *Science Rise: Pharmaceutical Science*. 2016. №4(4). С. 48–52.

[16] Вивчення антимікробних властивостей іммобілізованих волокнистих форм N-хлор– та N,N-дихлорсульфонамідів / О. В. Сурмашева та ін. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини :* матеріали підсумкової науково-практичної конференції (Тернопіль, 14 черв. 2017 р.). Тернопіль: ТДМУ, 2017. С. 358–360.

[17] European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Stientific Purposes. Strasburg: Council of Europe., 1986. №123. 52 p.

[18] Сидоров К. К. Введение веществ в желудок, в трахею, под кожу, в вену и другие пути введения ядов лабораторным животным. *Методы определения токсичности и опасности химических веществ*. Москва: Медицина, 1976. 87 с.

[19] Ефимов Е. А. Факторы, влияющие на полноту регенерации кожи у млекопитающих. *Известия РАН. Серия: Биология*. 1999. №4. С. 488–492.

[20] Пат. №2317818, RU. Ранозаживляющее и противомикробное средство. МПК A61K31/41, A61K31/165 / И. А. Мазур, В. И. Мамчур, Е. А. Подплетняя и др.; заявл. 07.04.2005; опубл. 27.02.2008.

[21] Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждениях : приказ МОЗ СССР от 22.04.1985 г. №535.

References

[1] Doyle, J. W., Roth, N. P., Smith, R. M., Li, Y. Q., & Dunn, R. M. (1996). Effects of calcium alginate on cellular wound healing processes modeled in vitro *J. Biomed. Mater. Res,* 32(4), 561–568. doi: 10.1002/(SICI)1097-4636(199612)32:4<561::AID-JBM9>3.0.CO;2-P

[2] Misiura, V. M., & Roik, O. M. (2014). Poviazky helevi antymikrobni «OpikUn» – suchasnyi pereviazuvalnyi zasib likuvannia ran i opikiv [Gel antimicrobial bandages «OpikUn» – a modern dressing wound and wound treatment]. *Ekstrenna medytsyna vid nauky do praktyky,* 5–6(11), 232–233. [in Ukrainian].

[3] Sutkovskaya, Yu. V. (2016). Prolezhni i troficheskie yazvy: poyavilas' li nadezhda [Bedsores and trophic ulcers: did hope appear]. *Uchastkovyj vrach,* 3(44), 38–39. [in Russian].

[4] Stewart, P. S. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, 358(9276), 135–8.

[5] Weiss, J., Klein, R., Slivka, A., & Wei, M. (1982). Chlorination of taurine by human neutrophils. *J.Clin.Invest*, 70(3), 598–607.

[6] *White's Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants* (2011). New Jersey: John Wiley and Sons.

[7] Dakin, H. D. (1915). On the use of certain antiseptic substances in the treatment of infected wounds. *Br.Med. J.,* 2, 318–320.

[8] Abaev, Yu. K. (2003). Wound dressings in surgery. *Medicinskie novosti*, 12, 30–37.

[9] Crew, J. R., Varilla, R., Rocas, T. A., Debabov, D., Wang, L., Najafi, A., et al. (2012). NeutroPhase® in chronic non-healing wounds *Int. J. Burn Trauma*, 2(3), 126–134.

[10] Crew, J. R., Thibodeaux, K. T., Speyrer, M. S., Gauto, A. R., Shiau, T., Pang, L., et al. (2016). Flow-through Instillation of Hypochlorous Acid in the Treatment of Necrotizing Fasciitis. *Wounds*, 28(2), 40–47.

[11] Burmistrov, K. S., Murashevych, B. V., Toropin, V. M., & Toropin, M. V. (2016) Pat. 112187 Ukraina. A01R 1/00, C08F 257/02, S08F 259/02. Polimernyi material z immobilizovanym «aktyvnym khlorom», scho proiavliaie antymikrobni vlastyvosti [Patent №112187 Ukraine Polymeric material with immobilized «active chlorine» exhibiting antimicrobial properties]. *Biuleten*, 23. [in Ukrainian].

[12] Soldatov, V., Pawlowski, L. A., & Shunkevich, H. (2004) *Wasag New materials and technologies for environmental engineering: synthesis and structure of ion exchange fibers.* Lublin: Liber Duo Color.

[13] Burmistrov, K. S., Toropin, V. N., Kremenchutskyy, G. N., Polikarpov, A. P., & Shunkevich, A. A. (2016). Novyj hlorvydelyayushhij material shirokogo naznacheniya. Stroenie i svojstva [New material chloro allocates wide application: structure and properties]. *Voprosy biologicheskoj, medicinskoj i farmacevticheskoj khimii*, 12(19), 10–14.

[14] Toropin, V. N., Surmasheva, E. V., & Romanenko, L. I. (2016). Izuchenie antimikrobnykh svojstv immobilizovannykh voloknistykh N– chlorosul'fonamidov [The study of antimicrobial properties of immobilized fi brous N-chloro sulfonamides]. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*, 3, 54–58. doi: 10.14739/2409-2932.2016.3.77993 [in Russian].

[15] Toropin, V. N., Burmistrov, K. S., Surmasheva, E. V, Romanenko, L. I. (2016). Izuchenie antimikrobnyh svojstv immobilizovannykh voloknistykh N,N-dikhlorsul'fonamidov [Study of the antimicrobial properties of immobilized fibrous N,N-dichlorosulfonamides]. *Science Rise: Pharmaceutical Science*, 4(4), 48–52. doi: 10.15587/2519-4852.2016.85905 [in Russian].

[16] Surmasheva, O. V., Romanenko, L. I., Kremenchutskyi H. M., Stepanskii, D. O., Koshova, I. P., Toropin, V. M., & Murashevich, B. V. (2017) Vyvchennia antymikrobnykh vlastyvostei immobilizovanykh voloknystykh form N-hlor– ta N,N-dikhlorsulfonamidiv [Study of antimicrobial properties of immobilized fibrous forms of N-chlorine N, N-dichlorosulfonamides]. *Zdobutky klinichnoi ta eksperymentalnoi medyctsyny Proceedings of the final Scientific and Practical Conference* (p. 358–360). [in Ukrainian].

[17] (1986). *European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Stientific Purposes*. Strasburg: Council of Europe.

[18] Sidorov, K. K. (1976). Vvedenie veshchestv v zheludok, v trakheyu, pod kozhu, v venu i drugie puti vvedenyia yadov laboratornym zhyvotnym [Introduction of substances into the stomach, into the trachea, under the skin, into a vein and other routes of administration of poisons to laboratory animals]. *Metody opredeleniya toksichnosti i opasnosti khimicheskikh veshhestv*. Moscow: Medicina. [in Russian].

[19] Efimov, E. A. (1999). Faktory, vliyayuschie na polnotu regeneracii kozhi u mlekopitayuschih [Factors affecting the completeness of skin regeneration in mammals]. *Izvestiya RAN. Seriya: Biologiya*, 4, 488–492. [in Russian].

[20] Mazur, I. A., Mamchur, V. I., Podpletnyaya, E. A., et al. (patentee) (2008) Patent №2317818, RU. MPK A61K31/41, A61K31/165. Ranozazhivlyayuschee i protivomikrobnoe sredstvo [Patent. №2317818. Wound healing and antimicrobial agent]. [in Russian].

[21] Prikaz MOZ SSSR «Ob unifikacii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya, primenyaemykh v kliniko-diagnosticheskikh laboratoriyakh lechebno-profilakticheskikh uchrezhdeniyakh» ot 22.04.1985 №535 [Order of the Ministry of Health of the USSR «On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories for treatment and prevention institutions» from 22.04.1985 №535]. [in Russian].