

Е. В. Нижникова¹, А. П. Подтероб¹, О. П. Собещук²

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ХЛОРГЕКСИДИНА НА ЦЕЛЛЮЛОЗОСОДЕРЖАЩИХ НОСИТЕЛЯХ

¹ Белорусский государственный университет, Минск;

² Белорусский государственный технологический университет, Минск

Современные требования к качеству лекарственных средств суживают число природных и синтетических полимеров, которые можно использовать для получения препаратов на полимерной основе [1 – 4].

К полисахаридам, удовлетворяющим этим требованиям, относится целлюлоза. Из всех модифицированных целлюлоз монокарбоксилцеллюлоза (МКЦ) имеет наиболее разнообразные области эффективного медицинского применения, что обусловлено успешным сочетанием её физико-химических и медико-биологических свойств [5, 6]. Методом ионообменной сорбции антибиотиков основного характера (линкомицин, стрептомицин, канамицин, мономицин) на МКЦ уже получены препараты, содержащие до 40 – 50 % антибиотиков и характеризующиеся определенной скоростью всасывания в организме. Фармакотоксикологическая и микробиологическая оценка подтвердила их безвредность для организма при имплантации и высокую антимикробную активность в условиях модельной патологии на различных видах лабораторных животных [7].

Широкие возможности торфа как технологического сырья для получения эффективных продуктов и материалов для нужд здравоохранения, промышленности, сельского хозяйства и охраны окружающей среды показаны в [8]. Торф, являясь уникальным комплексом ценных биологически активных компонентов, обладает отличными адсорбционными свойствами. Это обуславливает возможность создания на его основе комбинированных высокоэффективных лекарственных форм, оптимизирующих фармако-лечебное действие специфических лекарственных средств [9, 10]. Возможность использования торфа как перевязочного материала показана в работе [11].

Хлоргексидин (ХГ) как антисептик, воздействующий на широкий спектр микроорганизмов, находит широкое применение. Авторами [12] разработана потенциометрическая методика анализа биглюконата хлоргексидина (ХГ-Б) — удобный и быстрый метод исследования процессов распределения катионных ПАВ-антисептиков между водной фазой и сорбционно-активными материалами.

В данной работе была поставлена задача показать возможность разработки новых перевязочных средств пролонгированного антимикробного действия на основе МКЦ и верхового малоразложившегося торфа *magellanicum*, а также применимости потенциометрического метода для изучения сорбции-десорбции ХГ в динамических условиях.

Экспериментальная часть

В работе были использованы сорбенты: МКЦ на основе гидратцеллюлозы с обменной емкостью (ОЕ) 1,05 мг · экв/г и влажностью 10,1 %; верховой торф *magellanicum* в форме Н-катионита с ОЕ 1,14 мг · экв/г и влажностью 11,6 %.

Растворы биглюконата хлоргексидина (ХГ-Б) готовили разбавлением в воде 20 % раствора ХГ-Б (для наружного применения, концерн “Укрмедбиопрот”). Содержание ХГ в водных растворах проверяли методом осадительного потенциометрического титрования тетрафенилборатом натрия (ТФБНа) с использованием электродной пары ионоселективный электрод (ИСЭ), обратимый к ХГ — хлоридсеребряный электрод сравнения (ЭВЛ — 1МЗ.1). Изменения потенциала регистрировали иономером ЭВ-74. Мембрану ХГ²⁺-ИСЭ готовили согласно [12]. Растворы ХГ-Б для построения градуировочных графиков готовили точным разбавлением титрованных растворов.

Исследуемые сорбенты в измельченном состоянии в количестве, указанном в табл. 1 (порядка 0,11 г), с плотностью набивки около 0,1 г/см³ помещали в стеклянные колонки диаметром 4 – 6 мм, длиной 100 – 150 мм. Сорбенты заливали водой и оставляли на сутки для набухания. Затем через колонки с постоянной скоростью (2 мл/мин в случае МКЦ, 1 мл/мин в случае торфа) пропускали водный раствор ХГ-Б следующих концентраций — $1,86 \cdot 10^{-3}$ и $2,00 \cdot 10^{-3}$ мг · экв/мл для МКЦ и торфа соответственно. Концентрацию ХГ на выходе определяли методом прямой потенциометрии, используя ХГ²⁺-ИСЭ (градуировочный график представлен на рис. 1, 1). После выравнивания концентрации ХГ на входе в колонку пропускание раствора прекращали. Кривые насыщения ХГ колонок с МКЦ и торфом представлены на рис. 2 (1 и 2).

При изучении продолжительности антимикробного действия ХГ через колонки пропускали изотонический раствор (0,9 % раствор NaCl) со скоростью 1,5 и 0,6 мл/мин для МКЦ и торфа соответственно. Концентрацию ХГ в элюате определяли методом прямой потенциометрии, градуировку делали на фоне изотонического раствора. Градуировка на фоне изотонического раствора приведена на рис. 1 (кривая 2).

В случае вымывания ХГ из колонки с МКЦ установление концентрации ХГ в элюате на последнем этапе производили с помощью спектрофотометрического метода, т.к. он характеризуется более низким пределом обнаружения по сравнению с прямой потенциометрией (10^{-6} и 10^{-5} мг · экв/мл соответственно).

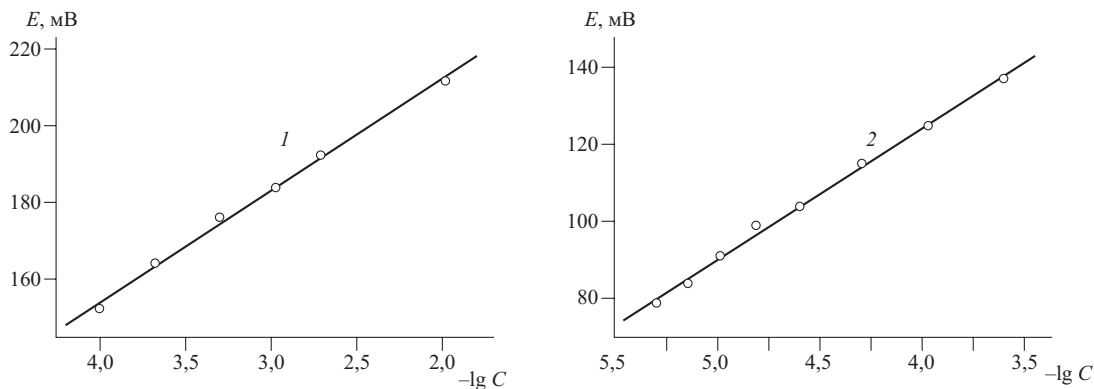


Рис. 1. Градуировочные кривые ХГ-ИСЭ в чистых водных растворах (1) и в растворах на фоне 0,9 %-ного NaCl (2).

Измерения производили на спектрофотометре СФ-26 при длине волны $\lambda = 254$ нм. Коэффициент молярного поглощения для ХГ определяли с помощью измерения оптической плотности стандартных растворов. Спектр водного раствора ХГ-Б, представленный на рис. 3, подтверждает приведенные в фармакопеех данные о максимуме поглощения ХГ, наблюдаемом при $\lambda = 254$ нм.

В случае с торфом использование спектрофотометрического метода невозможно из-за сложности состава применяемого сорбента. Входящие в состав торфа гуминовые кислоты вымываются изотоническим рас-

твором вместе с ХГ и, не оказывая влияния на результаты потенциометрического анализа, делают невозможным применение спектрофотометрического метода, т.к. поглощают в той же области спектра, что и ХГ.

Кривые элюирования ХГ из полимерных антисептиков на основе МКЦ и торфа приведены на рис. 2 (кривые 3–6). Для интерпретации полученных данных в свете антимикробной активности ХГ необходимо использовать табл. 2.

Результаты и их обсуждение

Полученные результаты позволяют оценить массу ХГ, введенного в полимер (табл. 1), и свидетельствуют о том, что в ходе эксперимента были получены полимерные антисептики с содержанием ХГ 0,2 %.

Масса ХГ, введенного в полимер, определялась двумя способами — взвешиванием хроматограмм и с помощью пакета Wolfram Mathematica 4.1. Из табл. 1 видно, что оба метода хорошо согласуются друг с другом при обработке кривых насыщения (или сорбции). При обработке кривых элюирования (или десорбции) наблюдаются небольшие расхождения между результатами, полученными этими двумя методами. Это может быть обусловлено усложнением обработки путем

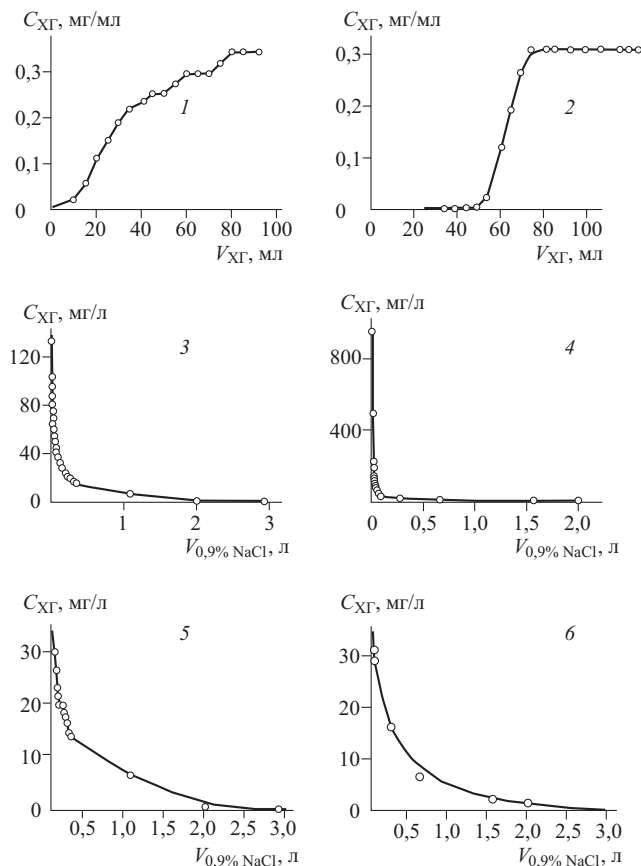


Рис. 2. Кривые сорбции (1, 2) и десорбции (3–6) ХГ на колонке с МКЦ (1, 3, 5) и торфом (2, 4, 6). Кривые 5 и 6 являются увеличенными фрагментами кривых 3 и 4 соответственно.

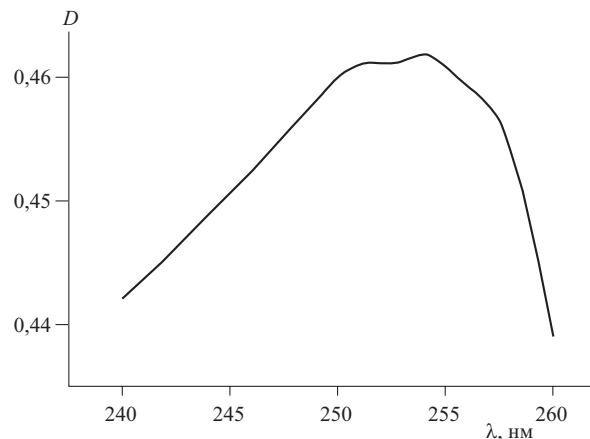


Рис. 3. Спектр ХГ-Б в водном растворе ($C_{\text{ХГ-Б}} = 3,64 \times 10^{-5}$ н., $L = 1,003$ см).

Исследование продолжительности антимикробного действия МКЦ и верхового торфа с иммобилизованным на них ХГ, 1 — весовой метод обработки графических данных, 2 — обработка с помощью пакета Wolfram Mathematica 4.1

Сорбент	Масса, г сухого вещества	Масса ХГ в колонке (мг), найденная по кривой				Продолжительность элюирования, сут	Суммарный объем элюата, л
		сорбции		десорбции			
		1	2	1	2		
МКЦ на основе гидратцеллюлозы	0,1079	23,5	23,5	24,3	23,5	4	3
Верховой торф magellanicum в форме Н-катионита	0,1064	31,5	31,5	28,5	25,2	5	3

Таблица 2

Антимикробная активность и спектр антимикробного действия ХГ-Б

Индикаторные тест культуры микроорганизмов	Минимально подавляющая концентрация (МПК), мг/л	
	статическая	цидная
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	9	7,8
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	4	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	15	125
<i>Bacillus subtilis</i> N 83	7,8	7,8
<i>Candida albicans</i> ATCC 885652	> 250	> 250

взвешивания хроматограмм, т.к. уменьшение площади, ограниченной кривой десорбции, влечет увеличение погрешности взвешивания. В случае с торфом наблюдается небольшое несоответствие между значениями массы ХГ, полученными обработкой кривых сорбции и десорбции, что связано с неполным вымыванием ХГ, т.к. для индикации точки, соответствующей полному вымыванию, использовали потенциометрический метод, предел обнаружения которого выше спектрофотометрического метода. Следовательно, для расчета процентного содержания ХГ в полимерных антисептиках правильнее использовать результаты обработки кривых сорбции.

Кривые элюирования (рис. 2, кривые 3 – 6) свидетельствуют о том, что для ХГ солей МКЦ и торфа, содержащих 0,2 % ХГ, антимикробная активность элюата наблюдается при пропускании 1 и 0,75 л 0,9 %-ного NaCl соответственно в отношении всех приведенных в табл. 2 микроорганизмов за исключением *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*. Концентрации ниже статических для всех микроорганизмов наблюдаются при элюировании ХГ соли МКЦ и ХГ соли торфа изотоническим раствором в количестве 3 л.

Кривые десорбции отражают постепенное высвобождение ХГ, что обеспечивает пролонгированность антисептического действия. ХГ соли МКЦ и торфа оказывают антимикробное действие путем отщепления катионов ХГ в результате реакции ионного обмена с катионами Na⁺ изотонического раствора. Необходимо отметить, что поскольку 0,9 % NaCl не вполне от-

вечает составу плазмы крови, в дальнейших экспериментах по исследованию антимикробной активности полимерных антисептиков целесообразно заменить изотонический раствор модельным раствором плазмы крови, включающим в себя ряд других электролитов и некоторых органических соединений.

Таким образом, показана возможность получения новых перевязочных средств пролонгированного антимикробного действия на основе МКЦ и верхового торфа в форме Н-катионита с иммобилизованным на них ХГ. ИСЭ, обратимые к ХГ, оказались удобным инструментом для исследования процессов сорбции-десорбции ХГ в динамических условиях (метод непрерывного проточного анализа). Иммобилизованный на носителях ХГ медленно элюируется изотоническим раствором, что указывает на продолжительное пролонгированное антимикробное действие вышеуказанных форм.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Платэ, А. Е. Васильев, Е. И. Янковский, *Хим.-фарм. журн.*, **14**(7), 16 – 30 (1980).
2. Н. А. Платэ, А. Е. Васильев, *Физиологически активные полимеры*, Химия, Москва (1986).
3. Й. Копчек, *Журн. всесоюзного хим. о-ва им. Д. И. Менделеева*, **30**(4), 372 (1985).
4. Ф. Н. Капуцкий, Т. Л. Юркштович, *Лекарственные препараты на основе производных целлюлозы*, Университетское, Минск (1989).
5. Ф. Н. Капуцкий, *Вестник БГУ*, Сер 2, № 1, 17 – 20 (1996).
6. Т. Л. Юркштович, Ф. Н. Капуцкий, *Тез. докл. конф., Природные вещества для здоровья и красоты*, Рига (1997), сс. 45 – 46.
7. Ф. Н. Капуцкий, В. А. Алиновская, В. А. Стельмах и др., *Весці АН Беларусі, Сер. біял. навук.*, № 1, 105 – 111 (1994).
8. И. И. Лиштван, *Тез. докл. Междунар. симп., Физика и химия торфа в решении проблем экологии*, Минск (2002).
9. Ф. И. Игнатович, А. М. Карабанов, *Тез. докл. Междунар. симп., Органическое вещество торфа*, Минск (1995).
10. В. П. Соловьева, Е. П. Сотникова, В. И. Иванов, Т. Д. Лотош, *Тез. докл. Междунар. симп., Органическое вещество торфа*, Минск (1995).
11. *Сборник статей о применении торфяного мха в медицине и санитарии*, Петроград (1917), 51 с.
12. В. В. Егоров, В. А. Репин, В. Е. Капуцкий, *Журн. аналит. химии*, **51**(10), 1080 – 1082 (1996).

Поступила 24.06.03.