

Л. Г. Розина, Э. Э. Кузнецова, В. Г. Горохова, А. С. Коган, Е. Г. Григорьев

**МЕТРОПОЛ — НОВЫЙ ПРЕПАРАТ ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ  
ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АНАЭРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ**Институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, Иркутск;  
Центр реконструктивной и восстановительной хирургии ВСНЦ СО РАМН, Иркутск

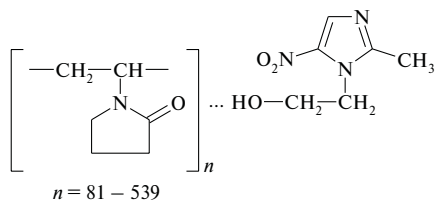
Метронидазол является эффективным средством борьбы с анаэробной инфекцией. Однако его ограниченная растворимость в воде и необходимость 3-х – 4-х кратного введения в сутки явилась причиной для создания иммобилизованной формы метронидазола — метропола.

Метропол — это комплексный препарат, в котором метронидазол связан с полимерной матрицей — поливинилпирролидоном медицинским с молек. массой 12600 или 35000. Такой состав препарата дает возможность поддержания концентрации метронидазола на эффективном уровне в очаге инфекции в течение длительного времени (до 2-х сут). Поливинилпирролидон создает депо лекарства непосредственно в очаге поражения и, освободившись от иммобилизованного препарата, выполняет роль сорбента, поглощая из раневого отделяемого микроорганизмы, кислые токсические метаболиты, а также повышает концентрацию иммуноглобулина М.

*Экспериментальная часть*

Комплекс метронидазола с поливинилпирролидоном получали путем длительного нагревания при 70 °С компонентов в реакторе и дальнейшего лиофильного высушивания. Стерилизацию инъекционной формы проводили при 120 °С и 1,2 ат.

Структурная формула полученного комплекса:



Строение комплекса доказывали физическими методами [1].

В ИК-спектрах образование комплекса характеризуется уменьшением или исчезновением полосы внутримолекулярной водородной связи поливинилпирролидона при 2930 см<sup>-1</sup> и смещением полосы межмолекулярной водородной связи полимера из области 3430 см<sup>-1</sup> к 3390 см<sup>-1</sup>. Кроме того, в УФ-спектрах поглощения наблюдается смещение максимума, характерного для метронидазола, с 319 до 325 нм. Об образовании комплекса свидетельствует также увеличение предельной растворимости метронидазола в водных средах при добавлении поливинилпирролидона.

Изучение антибактериальной активности препарата *in vitro* проводили стандартными методами с использованием серийных разведений в жидкой тиогликолевой или полужидкой среде АС, а также серийных раз-

ведений в питательной среде — 5 % анаэробном геммагаре с геминимом и менадином в соответствии с требованиями Международной фармакопеи для тестирования анаэробных возбудителей. Использовали также среду Китт – Тароцци с добавлением мясного фарша и кусочков печени. В качестве тест – штамма была взята культура *Cl.perfringens* т. А, № 28, которая была исследована по тинкториальным, морфологическим и биохимическим свойствам и рассеяна на 10 пробирок (матричная культура). В работе использовали 24-часовую агаровую культуру *Cl.perfringens* с концентрацией микробных тел в питательной среде 1000 м.т./мл и 10000 м.т./мл, а также путем внесения 2-х капель бульонной культуры. Взвесь микробов готовили путем смыва с поверхности агара изотоническим раствором хлорида натрия. По оптическому стандарту мутности доводили до концентрации 1 млрд. клеток и последующими разведениями — до концентрации 10<sup>3</sup> м.т./мл и 10<sup>4</sup> м.т./мл.

Чистые культуры анаэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов получали у больных первичными (травматическими, послеоперационными) и вторичными (после вскрытия и первичной хирургической обработки флегмон, абсцессов) гнойными ранами. Концентрация микроорганизмов, использованная в работе, составляла 10<sup>6</sup> в 1 мл по отношению к стандарту ГИСКА (кишечная палочка). Учет результатов проводили через 24 ч для факультативных бактерий и 2 – 6 сут для анаэробов.

Для изучения антибактериальной активности препарата *in vivo* использовали модель раневой анаэробной инфекции на белых крысах массой 120 – 150 г, которым внутримышечно вводили 1,0 мл 10 % раствора CaCl<sub>2</sub>, индуцирующего развитие некроза ткани. Спустя 30 мин инокулировали тест – культуру микроорганизмов (*Cl.perfringens*) в дозе, соответствующей ЛД<sub>90</sub>. Метропол вводили однократно внутривенно в дозе 15 и 30 мг/кг. Наблюдали за животными в течение 1 недели.

При изучении фармакокинетики метропола использовали беспородных белых крыс обоего пола массой 150 – 170 г (в каждой группе было по 42 особи). Подопытным животным вводили метропол (I группа) однократно внутривенно в дозе 150 мг/кг, контрольным (II группа) — обычный метронидазол в такой же дозировке. Для исследования забирали кровь через 1, 3, 6, 24, 30, 40 и 48 ч. На каждый срок использовали по 6 животных. Через 24 ч после введения препаратов на анализ брали паренхиматозные органы (почки, печень, легкие). В сыворотке крови и гомогенатах ткани определяли содержание метронидазола методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, разработанным в лаборатории экспресс-диагностики и лекар-

Таблица 1  
Минимальная ингибирующая концентрация метропола в отношении *Cl.perfringens*

№ штамма <i>Cl.perfringens</i>	МИК в мкг/мл
28А	5
132А	5
151А	5
49А	5
216В	10
443С	5
446С	40

ственной терапии Центра восстановительной и реконструктивной хирургии ВСНЦ СО РАМН.

### Результаты и их обсуждение

Установлено, что минимальная ингибирующая концентрация (МИК) метропола в отношении изученной группы *Cl.perfringens* не превышает 40 мкг/мл (табл. 1).

Для дальнейшего изучения метропола были взяты тест – штаммы *Cl.novyi*. Концентрации препарата составляли от 320 до 0,625 мкг/мл. Результаты опытов учитывали через 24 и 48 ч.

Полученные данные свидетельствуют о том, что МИК препарата в отношении изученной группы *Cl.novyi* не превышает 5,0 мкг/мл и варьирует от 1,25 до 5,0 мкг/мл (табл. 2). Штамм № 3529 оказался мало чувствительным, его МИК – в пределах 80 мкг/мл.

МИК метропола в отношении *Cl.septicum* колеблется от 10 до 40 мкг/мл.

Были проведены исследования и на неклостридиальных анаэробах и факультативных анаэробах — изучены следующие виды микроорганизмов:

- Bacteroides melaninogenicus* — 30 штаммов
- Fusobacterium nucleatum* — 18 штаммов
- Peptococcus anaerobius* — 13 штаммов
- Peptostreptococcus intermedius* — 27 штаммов
- Staphylococcus aureus* — 30 штаммов
- Streptococcus pyogenes* — 20 штаммов
- Bac.cereus* — 10 штаммов

Таблица 2  
Минимальная ингибирующая концентрация метропола в отношении *Cl.novyi*.

№ штамма <i>Cl.novyi</i>	МИК в мкг/мл	
	Учет через 24 ч	Учет через 48 ч
4тА	1,25	2,5
66тА	2,5	5,0
79тА	0,625	2,5
109тА	1,25	2,5
224тА	1,25	2,5
120тА	0,625	1,25
150тА	1,25	1,25
156тА	1,25	1,25
138тА	2,5	2,5
198тА	2,5	2,5
3529	80,0	80,0

Таблица 3  
Чувствительность (в %) основных возбудителей гнойных ран к метрополу

Вид	n	Метропол	Обычный метронидазол
<i>B.melaninogenicus</i>	13	85	78
<i>F.Nucleatum</i>	10	90	80
<i>P. Anaerobius</i>	10	70	60
<i>P. Intermedius</i>	6	50	17
<i>S.aureus</i>	10	20	10
<i>Str. Pyogenes</i>	10	70	50
<i>Bacillus cereus</i>	10	80	60

Наибольшую активность препарат проявляет по отношению к *Bact.melaninogenicus* и *F.nucleatum* — соответственно 90 % и 94,4 % чувствительных штаммов (ЧШ) при интервалах МПК (минимальная подавляющая концентрация) 0,5 – 10 и 0,25 – 5 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 1,0 и 0,5 мкг/мл соответственно. Грамположительные анаэробные кокки менее чувствительны к препарату в низкой концентрации: для пептококков — 76 – 90 % ЧШ, интервал МПК от 5 до 100 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 10 мкг/мл, пептострептококки — 74 % ЧШ, интервал МПК от 1 до 50 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 10 мкг/мл. В отношении *Staphylococcus aureus* — 80 % ЧШ, интервал МПК от 10 до 200 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 100 мкг/мл, *Streptococcus pyogenes* — 75 % ЧШ, интервал МПК от 10 до 200 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 100 мкг/мл, *Bac. cereus* — 50 % ЧШ, интервал МПК от 20 до 200 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 150 мкг/мл.

Таким образом, наиболее выраженный антибактериальный эффект метропол проявляет в отношении грамотрицательных анаэробных микроорганизмов.

Таблица 4  
Спектр антибактериальной активности метропола

Клинические штаммы	n	Число чувствительных штаммов (при 10 мкг/мл)		Интервал МИК, мкг/мл
		Абс.	%	
<i>B.melaninogenicus</i>	45	40	88,9	0,5 – 10,0
<i>B.tetaiothamicon</i>	15	10	80	5,0 – 50,0
<i>F.nucleatum</i>	27	25	92,6	0,25 – 5,0
<i>Cl.perfringens</i>	10	9	90	10 – 50
<i>P.anaerobius</i>	42	31	73,8	1,0 – 50,0
<i>Peptococcus spp.</i>	26	20	76,9	5,0 – 80,0
<i>Str. Pyogenes</i>	30	22	73,3	10 – 100
<i>S.aureus</i>	45	27	60	10 – 100
<i>Bac.cereus</i>	16	8	50	10 – 150
<i>Acinetobacter spp.</i>	8	4	50	10 – 200

Таблица 5  
Антибактериальная активность метропола в опытах *in vivo*

Вид инфекции	n	Показатель летальности белых крыс, %		
		контроль	15 мг/кг	30 мг/кг
<i>Cl.perfringens</i>	6	100	50	0
<i>B.melaninogen. + S.aureus</i>	6	80	20	0

Содержание метронидазола (в мкг/мл) в сыворотке крови крыс после однократного введения метропола

Группа	Срок в ч						
	1	3	6	24	30	40	48
I (метропол)	93,6	42,2	46,9	12,02	8,8	1,7	0,1
II контроль (метронидазол)	105,7	45,5	10,3	0,2	0	0	0

Таблица 7

Распределение метронидазола и его метаболитов (в мкг/мл) в паренхиматозных органах и сыворотке крови через 24 ч после однократного введения метропола

Группа	Орган											
	сыворотка			печень			почки			легкие		
	M	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
I (метропол)	12,0	1,56	0,42	0,16	3,06	—	1,14	2,08	0,57	1,03	0,77	0,39
II контроль (метронидазол)	0,28	0,38	0,08	0,15	3,94	0,1	0,89	0,34	0,28	0,34	0,07	0,02

**Примечание:** M — неизмененный метронидазол, M<sub>1</sub> — метаболит-1, M<sub>2</sub> — метаболит-2

При более высокой подавляющей концентрации комплекс проявляет достаточную активность и к грамположительным анаэробным и факультативно-анаэробным микроорганизмам.

Анализ наших исследований указывает на расширение антибактериального спектра метронидазола в составе метропола по сравнению с обычным метронидазолом. В табл. 3 и 4 приведены данные изучения чувствительности основных возбудителей гнойных ран, из которых следует, что по сравнению с нативным препаратом метропол обладает более выраженным антибактериальным действием, что объясняется синергическим эффектом его компонентов. Необходимо отметить, что в отношении *S.aureus* антибактериальная активность в изучаемой концентрации довольно низкая (20 %), что обусловлено низкой активностью метронидазола к микроорганизмам данного вида. Наибольшая активность метропола проявлялась по отношению грамотрицательных анаэробных палочек, бацилл, более низкая — анаэробных и факультативных стрептококков.

Как следует из табл. 5, в которой приведены данные по изучению антибактериальной активности метропола в опытах *in vivo*, введение крысам возбудителя *Cl.perfringens* вызывает гибель всех 6 животных, взятых в опыт. При этом наблюдается типичная картина “газовой” инфекции. Метропол при дозах 15 и 30 мг/кг однократно обеспечивает выживаемость соответственно 3 и всех 6 животных, взятых в эксперимент.

При использовании модели микс-инфекции в контроле наблюдается развитие анаэробной гнойной инфекции и гибель 4 животных из 6. При использовании метропола в дозе 15 мг/кг погибает лишь 1 животное и при дозе 30 мг/кг — все животные остались живы (табл. 5).

Таким образом, спектр антибактериального действия метропола включает клостридиальные и неклостридиальные анаэробы, ряд возбудителей факультатив-

но-анаэробного ряда, прежде всего стафилококк и стрептококк.

В табл. 6 и 7 приведены результаты изучения фармакокинетики метропола.

Как видно из табл. 6, максимальная концентрация метронидазола в крови создается через 1 ч после введения во всех группах, к 6 ч уровень метронидазола стабилизируется в I группе, а в контрольной — снижается в 4,4 раза. Через сутки в I группе содержание метронидазола находится в пределах МИК для клостридиальных анаэробов и к 30 ч уровень препарата снижается до суббактериостатических концентраций, тогда как в контрольной группе к этому сроку определяются следовые количества препарата.

Из данных табл. 7 следует, что метронидазол, введенный в составе комплекса, хорошо проникает в паренхиматозные органы, циркулируя там в течение суток.

Из работы [2] известно, что метронидазол метаболизируется в печени путем окисления боковой цепи и гидроксирования с образованием кислотного и спиртового метаболитов, которые и обуславливают, особенно кислотный, его антимикробные свойства.

Как видно из табл. 7, в крови и органах в преобладающем количестве определялся сам метронидазол, содержание его метаболитов было значительно меньшим (за исключением печени).

Таким образом, учитывая широкий спектр антибактериального действия и большую длительность пребывания в организме комплексный лекарственный препарат метропол может быть рекомендован для клинического изучения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Патент РФ № 2157384, *РЖ Химия*, 19 С 537 П (2000)
2. R. D. Barker, *Anaerobicidal Agent-Flagil (Metronidazole)*, England (1979).

Поступила 01.06.01