

И. М. Кашликова¹, А. В. Беляцкая¹, И. И. Краснюк (мл.)¹, И. И. Краснюк¹,
Е. А. Воропаева², Е. А. Егорова², О. И. Степанова¹, А. Н. Воробьев³

АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ НИТРОФУРАЛА В РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

¹ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский университет), Россия, 119991, Москва.

² ИЛЦ ФБУН "Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского" Роспотребнадзора, Россия, Москва.

³ ФГАОУ ВО "Российский университет дружбы народов", Россия, 117198, Москва.

* E-mail: irina.kashlikova@mail.ru

Проведена сравнительная оценка антимикробной активности препаратов нитрофураала методом диффузии в агар. Определены зоны задержки роста микроорганизмов под действием гелей и растворов, содержащих твердую дисперсию нитрофураала с концентрацией действующего вещества 0,02 и 0,04 %, а также фурацилиновой мази 0,2 %. В качестве тест-штаммов использовали: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* и *Escherichia coli*. На основании полученных экспериментальных данных сделан вывод о более высокой антимикробной активности препаратов, содержащих твердую дисперсию нитрофураала, по сравнению с препаратами, представленными на фармацевтическом рынке.

Ключевые слова: нитрофураал; фурацилин; гели; твердые дисперсии.

По неспецифическому механизму действия нитрофураны близки к антисептикам, именно поэтому устойчивость патогенных микроорганизмов формируется к ним крайне медленно, кроме того, отсутствует перекрестная резистентность с другими классами антибиотиков [1 – 3], синтез ДНК и РНК и, в конечном счете, гибель бактериальных клеток [3].

Нитрофураал (фурацилин) обладает широким спектром действия и эффективен в отношении многих грамположительных и грамотрицательных бактерий (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella spp.* и др.), подавляет жизнедеятельность грибковой флоры [4, 5].

На фармацевтическом рынке представлены различные лекарственные формы (ЛФ) нитрофураала: таблетки для приготовления раствора для наружного применения, 0,02 г; раствор для местного и наружного применения 0,02 %; раствор для наружного применения (спиртовой) 0,067 %; таблетки шипучие для приготовления раствора для местного и наружного применения, 0,02 г; фурацилиновая мазь для наружного применения 0,2 % [5].

Низкая растворимость нитрофураала в воде (1:4200) и длительный процесс растворения ограничивают возможность его введения в гидрофильные мягкие ЛФ. Один из способов повышения растворимости и ускорения процесса растворения нитрофураала раскрыт в изобретении [6], описывающем получение быстрорастворимых ЛФ. За счет образования твердой дисперсии (ТД) с поливинилпирролидоном (ПВП)-10000 достигается увеличение растворимости действующего вещества (ДВ) в воде в 2 раза по сравнению с исходным

ДВ, а также увеличение скорости растворения вещества [6, 7].

ТД — это би- или многокомпонентные системы, состоящие из ДВ и носителя, представляющие собой высоко диспергированную твердую фазу ДВ или молекулярно-дисперсные твердые растворы с частичным образованием комплексов переменного состава с материалом носителя [8].

Повышение растворимости и скорости растворения ДВ за счет использования ТД нитрофураала позволяет ввести его в гидрофильные мягкие ЛФ (гели), основными преимуществами которых является значение рН, близкое к значению рН кожных покровов, образование тонкой равномерной пленки при нанесении, полное высвобождение ДВ, возможность пролонгированного действия. Гели обладают охлаждающим эффектом, эстетически приятны, функциональны в использовании, так как имеют приятный внешний вид и консистенцию [9].

Цель работы — сравнение антимикробной активности представленной на рынке ЛФ фурацилина с разработанными составами гелей нитрофураала с концентрацией ДВ 0,02 и 0,04 %.

Экспериментальная часть

В исследовании использованы образцы гелей с ТД нитрофураала на основе редкосшитых полимеров акриловой кислоты (РАП) различных составов с концентрацией 0,02 и 0,04 %.

В ходе исследований по разработке состава и технологии гелей нитрофураала изготовлено 12 составов гелей с концентрацией 0,02 % и 13 составов с концентрацией ДВ 0,04 % с использованием различной комбинации вспомогательных веществ (ВВ). В рамках

исследований проведен скрининг ВВ и по комплексу показателей качества (описание, подлинность, количественное определение содержания ДВ, оптическая микроскопия, рН, полнота высвобождения ДВ из ЛФ, определение реологических характеристик, определение стабильности при хранении и сроков годности), отобраны 4 состава гелей нитрофураля с концентрацией ДВ 0,02 % (№ 1, 3, 8, 11) и 4 состава с концентрацией ДВ 0,04 % (№ 1, 3, 8, 11). Данные образцы обладают наилучшими характеристиками качества и используются в данном исследовании для оценки антимикробной активности. Количественный состав гелей с ТД нитрофураля на основе РАП приведен в табл. 1.

В качестве объектов сравнения выбраны фурацилиновая мазь 0,2 % (ООО “Тульская фармацевтическая фабрика”, Россия) как образец единственной представленной на рынке мягкой ЛФ ДВ; растворы с ТД нитрофураля с концентрацией ДВ 0,02 и 0,04 %, состоящие из субстанции нитрофураля и ПВП-10000 ± 2000, приготовленные в рамках проведения эксперимента. Выбор растворов ТД ДВ в качестве объектов сравнения обусловлен тем, что конечной формой применения твердых ЛФ нитрофураля, широко представленных на рынке, являются растворы, и данное исследование позволит сравнить эффективность ТД нитрофураля в различных ЛФ. Состав объектов сравнения представлен в табл. 1.

Для изготовления образцов гелей и растворов использовали субстанцию нитрофураля (ОАО “Ирбитский химфармзавод”, Россия, ФС.2.1.0148.18), и ПВП-10000 ± 2000 (Sigma-Aldrich, США) в соотношении 1:2. Такое соотношение позволяет ускорить процесс растворения ДВ из ТД (для концентрации 0,02 %) и увеличить растворимость нитрофураля в воде в 2 раза (для концентрации 0,04 %) [6, 7].

Микробиологическое исследование проводили по методике ОФС.1.2.4.0010.18 “Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар” [10].

Выбор тест-штаммов обусловлен тем, что в группе пациентов с острыми гнойными заболеваниями ста-

филококк в монокультуре выявляется в 69,5 % случаев, а также тем, что основными возбудителями амбулаторных инфекций являются представители семейства *Enterobacteriaceae* (86 % случаев). При этом наиболее частым патогеном является *E. coli* (90 % пациентов) [1, 11]. Исследование проводили с использованием наиболее распространенных и клинически значимых штаммов микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) и *Escherichia coli* (ATCC 25922).

В качестве питательной среды использовали агар Muller Hinton (Oxoid). В пластмассовые стерильные чашки Петри размером 90 мм × 14 мм, установленные на столиках со строго горизонтальной поверхностью, разливали расплавленные питательные среды. Верхний слой расплавленной питательной среды при (49 ± 1) °С засеивали соответствующим тест-микроорганизмом. Для этого использовали бактериальную суспензию из 24-часовой культуры микроорганизмов. Суспензию стандартизовали по стандарту МакФарланда (0,5). Оптимальную посевную дозу определяли опытным путем. Для нижнего слоя использовали стерильные незасеянные среды.

В толще застывшего агара с помощью стерильного сверла делали лунки диаметром 6 мм. В лунки каждой чашки вносили равные количества образцов, приготовленных на стерильных растворителях. Для уменьшения влияния колебаний во времени между внесением образцов, используемых в опыте, после внесения их выдерживали в чашках при комнатной температуре в течение 1 – 2 ч. Затем чашки инкубировали при температуре (36 ± 1) °С в течение 18 ч. Диаметры зон угнетения роста тест-микроорганизма измеряли при помощи соответствующих приборов с точностью до 0,1 мм.

Для сравнения антимикробной активности образцов гелей нитрофураля использовали фурацилиновую мазь промышленного производства на гидрофобной основе с концентрацией 0,2 %, а также растворы нитрофураля с концентрацией 0,02 и 0,04 %, приготовленные с использованием ТД с ДВ. В качестве контроля использовали гели-плацебо на основе РАП и растворы

Т а б л и ц а 1

Составы препаратов нитрофураля (%) для оценки антимикробной активности

Ингредиент	Номер состава или наименование анализируемого образца										
	№ 1, 0,02 %	№ 3, 0,02 %	№ 8, 0,02 %	№ 11, 0,02 %	№ 1, 0,04 %	№ 3, 0,04 %	№ 8, 0,04 %	№ 11, 0,04 %	фурацили- новая мазь 0,2 %	раствор ТД НФ	
										0,02 %	0,04 %
Нитрофураля (НФ)	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04	0,04	0,04	0,04	0,2	0,02	0,04
ПВП-10000	0,04	0,04	0,04	0,04	0,08	0,08	0,08	0,08		0,04	0,08
Карбопол 980NF	1,0	1,0	-	-	1,0	1,0	-	-	-	-	-
Карбопол ЕТD2020	-	-	1,0	1,0	-	-	1,0	1,0	-	-	-
Водный раствор NaOH 5 %	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	6,0	-	-	-
Глицерин	-	10,0	-	10,0	-	10,0	-	10,0	-	-	-
Вазелин	-	-	-	-	-	-	-	-	до 100,0	-	-
Вода очищенная	до 100,0								-	до 100,0	

ПВП. Статистическую обработку результатов проводили согласно ОФС.1.1.0013.15.

Результаты и их обсуждение

Изучена чувствительность культур *S. aureus* (ATCC 25923), *S. epidermidis* (ATCC 1228), *E. coli* (ATCC 25922) *in vitro* к исследуемым образцам гелей нитрофура, к фурацилиновой мази 0,2 % промышленного производства, растворам с ТД нитрофура с концентрацией 0,02 и 0,04 %. Результаты исследования представлены в табл. 2.

В ходе исследования установлено, что плацебо гелей и растворы ПВП не обладают антимикробным действием, так как для их образцов не было отмечено зон задержки роста микроорганизмов.

Результаты определения зон задержки роста стандартных культур *St. aureus*, *St. epidermidis* и *E. coli* свидетельствуют о существенном различии в проявлении антимикробных свойств у образцов, содержащих нитрофура в различных концентрациях, и в зависимости от типа дисперсной системы (растворы, гели, мазь).

Образец с наибольшим содержанием ДВ (фурацилиновая мазь) показал наименьшую антимикробную активность по отношению к использованным тест-штаммам, зоны задержки роста микроорганизмов для фурацилиновой мази 0,2 % составили менее 5 мм, что свидетельствует о низкой противомикробной активности мягкой ЛФ, изготовленной промышленно, вследствие низкого высвобождения ДВ из гидрофобной (вазелиновой) основы.

Антимикробная активность нитрофура различается при одинаковом содержании ДВ в различных ЛФ. Зоны задержки роста микроорганизмов при использовании раствора ТД нитрофура с ПВП с концентрацией 0,02 % составили от 18 до 22 мм. В то же время разработанные гели нитрофура с концентрацией 0,02 % формируют зону задержки роста от 20 до

28 мм, что в среднем на 2 – 5 мм больше, чем при использовании раствора ТД.

При более высоком содержании ДВ (0,04 %) раствор ТД нитрофура с концентрацией 0,04 % образует зону задержки роста от 22 до 29 мм; при воздействии на микроорганизмы геля нитрофура с концентрацией 0,04 % зона задержки роста составляет от 25 до 33 мм. Формируемая зона задержки роста при воздействии на микроорганизмы гелей больше в среднем на 3 – 5 мм.

Таким образом, можно сделать вывод о более высокой антимикробной активности ТД нитрофура в мягкой гидрофильной ЛФ по сравнению с раствором его ТД при одинаковом содержании ДВ.

При сравнении антимикробной активности гелей нитрофура с различными концентрациями отмечено, что гели с концентрацией 0,04 % обладают большей активностью в сравнении с гелями с концентрацией 0,02 %. При этом зона задержки роста при воздействии на микроорганизмы последних меньше в среднем на 5 мм, что говорит об увеличении противомикробной активности с увеличением концентрации нитрофура в гелях.

Наблюдаются различия антимикробного эффекта нитрофура по отношению к используемым штаммам микроорганизмов. Наиболее чувствительна к воздействию нитрофура культура *S. epidermidis*. Для каждой из ЛФ зона задержки роста у стандартной культуры в среднем на 5 мм больше, чем при воздействии на культуры *S. aureus* и *E. coli*. Максимально высокая способность к подавлению роста культуры стафилококка отмечена в случае использования гелей нитрофура в концентрации 0,04 %, зона задержки роста составила от 32 до 34 мм.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что образцы разработанных гелей проявляют наиболее выраженный анти-

Таблица 2

Результаты определения антимикробной активности нитрофура в различных ЛФ

Номер состава или наименование анализируемого образца	Диаметр зоны задержки роста, мм ($\bar{X}_{cp} \pm \Delta\bar{X}$), $n = 5$, $p = 95\%$		
	<i>St. aureus</i> ATCC 25923	<i>St. epidermidis</i> ATCC 1228	<i>E. coli</i> ATCC 25922
№ 1, 0,02 %	22,0 ± 0,9	27,6 ± 1,1	22,0 ± 0,9
№ 3, 0,02 %	21,0 ± 1,2*	28,0 ± 1,5	20,8 ± 0,6
№ 8, 0,02 %	20,4 ± 0,7*	27,8 ± 1,0	22,0 ± 1,2
№ 11, 0,02 %	21,8 ± 1,0	27,0 ± 1,2	22,2 ± 1,0
№ 1, 0,04 %	25,6 ± 1,3	32,8 ± 1,0	25,6 ± 0,7
№ 3, 0,04 %	27,0 ± 1,2	34,2 ± 1,0	25,2 ± 1,3
№ 8, 0,04 %	26,2 ± 1,0	34,2 ± 0,6	25,8 ± 1,0
№ 11, 0,04 %	26,6 ± 0,7	33,4 ± 1,4	25,6 ± 0,7
Фурацилиновая мазь 0,2 %	менее 5,0	менее 5,0	менее 5,0
Раствор ТД нитрофура 0,02 %	19,4 ± 1,4	22,4 ± 1,1	18,4 ± 1,1
Раствор ТД нитрофура 0,04 %	24,0 ± 0,5	29,0 ± 1,5	22,2 ± 1,0

* Значения зоны задержки роста указанного образца статистически значимо не отличаются от значения зоны задержки роста раствора ТД фурацилина соответствующей концентрации ($t < t(95\%, 8)$).

Остальные значения зон задержки роста исследуемых образцов статистически значимо отличаются от значения зоны задержки роста раствора ТД фурацилина соответствующей концентрации ($t > t(95\%, 8)$).

микробный эффект, в сравнении с производимой промышленно фурацилиновой мазью на гидрофобной основе, а также в сравнении с растворами нитрофура-ла для наружного применения. При этом степень вы-раженности эффекта зависит от концентрации нитро-фура-ла в геле.

По результатам проведенных исследований в Рос-патент подана заявка на изобретение № 2019109124 “Средство для лечения повреждений кожи и способ его получения (варианты)”.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. В. Каштанова, А. А. Краснов, И. В. Самохвалова и др., *Совр. наукоемкие технол.*, № 2, 93 (2006).
2. Т. С. Перепанова, П. Л. Хазан, *Эффективная фармакотер. Урол. и нефрол.*, № 4, 20 – 29 (2007).

3. А. В. Беляцкая, И. М. Кашликова, А. О. Елагина и др., *Раз-работка и регистрация лек. средств*, **8**(2), 29 – 38 (2019).
4. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, Новая Вол-на, Москва (2016).
5. Регистр лекарственных средств России: РЛС. URL: [https:// www.rlsnet.ru / mnn index id 332.htm](https://www.rlsnet.ru / mnn index id 332.htm) (дата обращения: 19.04.2019).
6. Патент RU2578456, И. И. Краснюк (мл.), О. И. Степанова, А. В. Беляцкая, И. И. Краснюк и др. (2016).
7. О. И. Степанова, А. В. Беляцкая, И. И. Краснюк (мл.) и др., *Фармация*, № 3, 36 – 39 (2015).
8. А. В. Беляцкая, И. И. Краснюк (мл.), И. И. Краснюк и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(12), 39 – 44 (2018); *Pharm. Chem. J.*, **52**(12), 1001 – 1006 (2019).
9. О. А. Семкина, С. Н. Суслина, И. И. Краснюк, *Вестник РУДН*, № 4, 216 – 222 (2004).
10. *Государственная фармакопея XIV изд.*, Москва (2018).
11. Л. А. Блатун, *Хирургия*, № 4, 51 – 59 (2011).

Поступила 01.06.19

STUDY OF THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NITROFURAL IN VARIOUS DOSAGE FORMS

I. M. Kashlikova¹, A. V. Belyatskaya¹, I. I. Krasnyuk, Jr.¹, I. I. Krasnyuk¹, E. A. Voropaeva², E. A. Egorova², O. I. Stepanova¹, and A. N. Vorob'yov³

¹ I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991 Russia

² G. N. Gabrichevsky Moscow Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, 125212 Russia

³ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, 117198 Russia

Comparative evaluation of the antimicrobial activity of nitrofurural based preparations by agar-well diffusion method was carried out. Diameters of the growth inhibition zones caused by nitrofurural gels and solutions of solid nitrofurural dispersion with 0.02 and 0.04% concentrations, as well as ointment with the active substance content 0.2% were measured. *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* and *Escherichia coli* were used as the test strains. On the basis of obtained experimental data, it has been concluded that the antimicrobial activity of drugs containing solid dispersion of nitrofurural is significantly higher than the activity of drugs commercially available on the market at present.

Keywords: nitrofurural; furacilin; gels; solid dispersions.