

# АНТИМИКРОБНАЯ И АНТИМИКОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КОСТНОГО МАТРИКСА, ИМПРЕГНИРОВАННОГО РАСТВОРОМ САНГВИРИТРИНА ПОСЛЕ СТЕРИЛИЗАЦИИ ОЗОНО-КИСЛОРОДНОЙ СМЕСЬЮ

## Ю.Ю. Литвинов

к.б.н., вед. науч. сотрудник, научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва, Россия)  
E-mail: vilar.litvinov@mail.ru

## В.П. Панин

к.б.н., вед. науч. сотрудник, научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва, Россия)  
E-mail: zip1@list.ru

## В.В. Краснов

д.б.н., гл. науч. сотрудник, научно-исследовательский и учебно-методический центр биомедицинских технологий, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений» (Москва, Россия)  
E-mail: v.v.krasnov@mail.ru

**Актуальность.** В настоящее время продолжает оставаться актуальной проблема создания имплантационных материалов на основе биodeградируемых полимеров природного происхождения с заданными свойствами.

**Цель исследования** – оценка антимикробных свойств образцов костного матрикса, импрегнированных раствором сангвиритрина после стерилизации озono-кислородной смесью.

**Материал и методы.** В работе использовали цилиндрические образцы кортикальной кости и костного матрикса, импрегнированные субстанцией сангвиритрина – лекарственным средством растительного происхождения. Образцы стерилизовали озono-кислородной смесью с концентрацией озона 8 мг/л. Антимикробную активность проверяли с использованием штаммов бактерий: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*; штаммов микромицетов: *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*.

**Результаты.** В исследовании установлено отсутствие существенного влияния озono-кислородной стерилизации с концентрацией озона 8 мг/л и продолжительностью 15 мин в проточном режиме на антибактериальные и антимикотические свойства исследуемых костных образцов импрегнированными раствором антимикробного и противогрибкового лекарственного средства растительного происхождения – сангвиритрин. Высвобождаемые после стерилизации из деминерализованного и деорганифицированного костного матрикса алкалоиды сангвиритрина не утрачивают своих антимикробных и антимикотических свойств в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микромицетов.

**Заключение.** Предложенный в исследовании подход может быть использован с целью дальнейшего совершенствования и разработки новых имплантационных препаратов с заданными антимикробными свойствами и способов их стерилизации.

**Ключевые слова:** костные имплантаты, сангвиритрин, стерилизация, озono-кислородная смесь.

**Для цитирования:** Литвинов Ю.Ю., Панин В.П., Краснов В.В. Антимикробная и антимикотическая активность костного матрикса, импрегнированного раствором сангвиритрина после стерилизации озono-кислородной смесью. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2022;25(11):23–28. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-04>

В настоящее время разработка и получение имплантационных биоматериалов и препаратов является стремительно развивающимся направлением в современной науке. В связи с этим продолжает оставаться актуальной проблема создания материалов медицинского назначения на основе биodeградируемых полимеров природного происхождения с заданными свойствами [1]. Деминерализованные и деорганифицированные костные имплантаты отли-

чаются хорошей биосовместимостью и широко используются в клинической практике для реконструкции дефектов костной ткани [2].

Однако на фоне увеличения в мире частоты гнойно-воспалительных заболеваний костей скелета борьба с хирургической инфекцией и профилактика инфицирования костной ткани в процессе их реконструкции продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем гнойной хирургии.

Для решения этой проблемы предлагается широкий арсенал методов и средств [3]. Традиционное использование синтетических антибактериальных средств зачастую приводит к тяжелым токсико-аллергическим реакциям, поэтому вполне объясним повышенный в настоящее время интерес к имплантационным препаратам с антибактериальными свойствами природного и растительного происхождения [4].

Актуальность проблемы также связана с возрастающей в последнее время резистентностью микроорганизмов к антибиотикам. В связи с этим при разработке способов получения новых имплантационных препаратов возникает потребность в применении антимикробных средств с иным механизмом действия [5].

Следует отметить, что в современных условиях приобрело особую важность строгое соблюдение требований к стерильности биоимплантатов, применяемых при выполнении высокотехнологичных операций [6]. Это обусловило необходимость проведения дополнительных исследований, направленных на адаптацию известных методов стерилизации, в частности озono-кислородной смесью, для разрабатываемых биоимплантатов с действующим на их основе антибактериальным веществом растительного происхождения.

Цель исследования – оценка антибактериальных и антимикотических свойств деминерализованных и деорганифицированных костных образцов, импрегнированных раствором сангвиритрина после стерилизации озono-кислородной смесью.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали цилиндрические образцы кортикальной кости от клинически здоровых животных (бык, возраст 1,5–2 года) диаметром 5 мм и высотой 7,5 мм, которые в последующем подвергали деминерализации и деорганификации [7].

Для придания антибактериальных и антимикотических свойств костным образцам их импрегнировали 0,2%-ным спиртовым раствором сангвиритрина (АО «Фармцентр ВИЛАР», Россия) [8, 9]. Затем образцы помещали в упаковку и стерилизовали озono-кислородной смесью в проточном режиме с использованием промышленного генератора медицинского озона типа А-с-ГОКСф-5-02-ОЗОН (ОАО «Электромашиностроительный завод «Лепсе», Россия) и концентратора кислорода Vision Aire (США) [10]. Для контроля реального

текущего значения концентрации озono-кислородной смеси применяли измеритель концентрации озона ИКО-50 (ОАО «Электромашиностроительный завод «Лепсе», Россия). Концентрация озона в воздушно-кислородной смеси составляла 8 мг/л, продолжительность стерилизации в проточном режиме – 15 мин. После стерилизации упаковку с образцами герметично запаивали.

В эксперименте использовали деминерализованные и деорганифицированные костные образцы (интактные группы 1а, 1б), аналогичные образцы импрегнированные сангвиритрином (контрольные группы 2а, 2б), а также образцы импрегнированные сангвиритрином после стерилизации озono-кислородной смесью (экспериментальные группы 3а, 3б) (рис. 1).

Для оценки антибактериальной и антимикотической активности экспериментальных образцов использовали штаммы микроорганизмов из биocolлекции ФГБНУ ВИЛАР: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*. Их чувствительность к антимикробному действию алкалоидов сангвиритрина показана в ранее проведенных исследованиях [11]. Бактериостатические и микостатические свойства экспериментальных образцов оценивали диффузным методом. Выявление роста грибов проводили на среде Сабуро, бактерий – на тиогликолевой среде. Микроорганизмы высевали газоном на агаризованные питательные среды, сваренные не ранее, чем за 24 ч до начала эксперимента, и разлитые по чашкам Петри. Через 15 мин тестируемые образцы помещали в асептических условиях на поверхность агара в каплю стерильной дистиллированной воды объемом 0,03 мл для обеспечения процесса диффузии молекул алкалоидов сангвиритрина на поверхность питательной среды. Чашки Петри инкубировали в термостате в течение 24–60 ч при 25 °С – для грибов и 37 °С – для бактерий. Критерием наличия антибактериальной и антимикотической активности образцов служило появление вокруг образцов зоны подавления роста колоний бактерий и грибов.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 13.3 (TIBCO Software Inc, США). Для каждого показателя вычисляли среднее значение ( $M$ ) и стандартную ошибку ( $m$ ). Для сравнения средних значений в двух независимых группах применяли  $t$ -критерий Стьюдента. Различия показателей считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

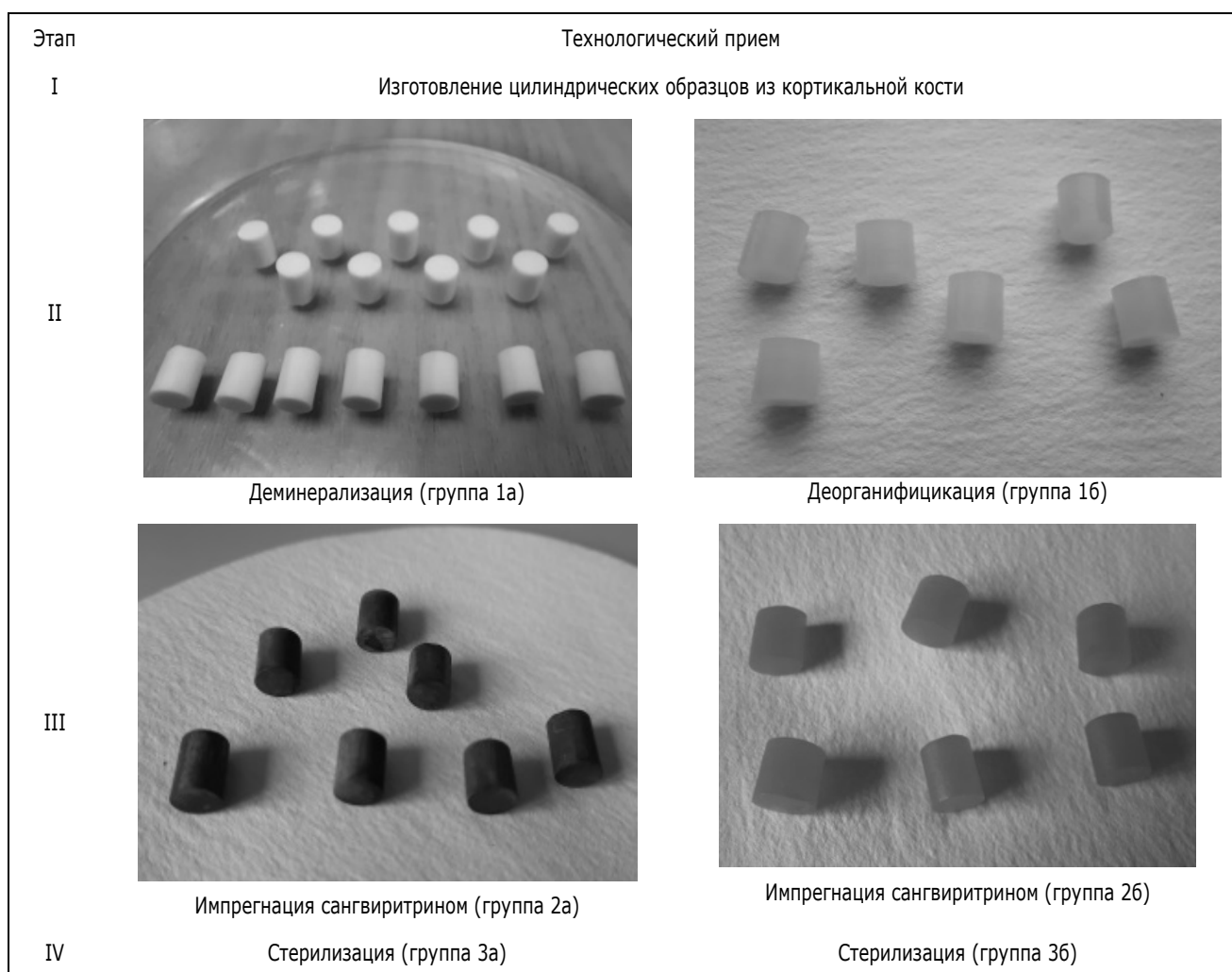


Рис. 1. Схема подготовки экспериментальных костных образцов

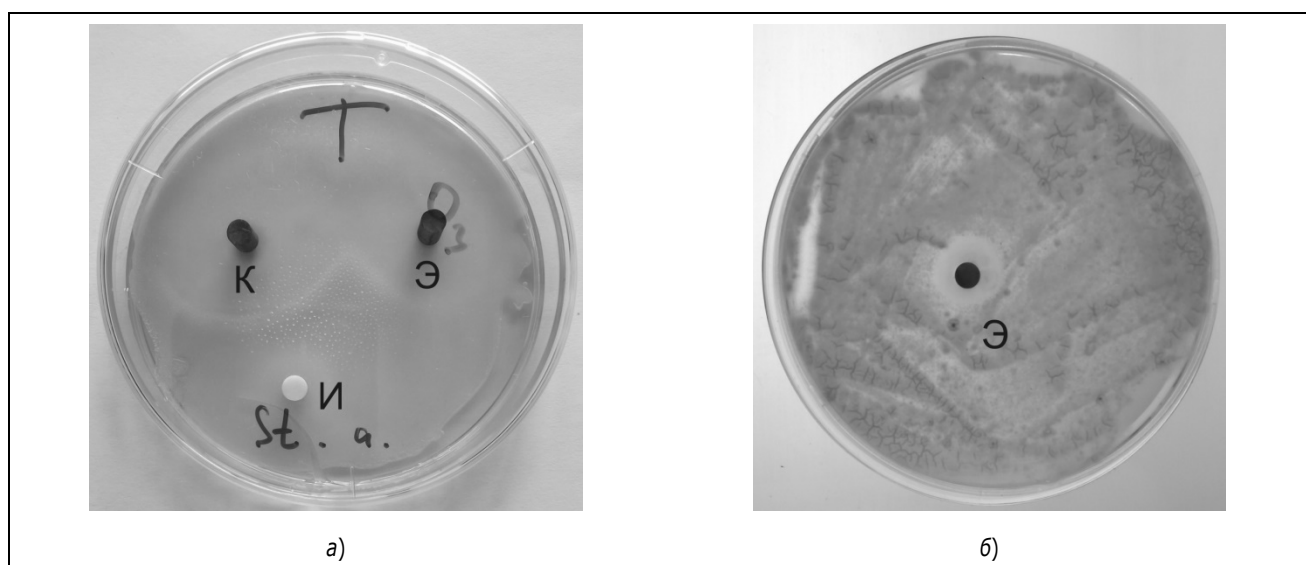


Рис. 2. Зоны подавления роста микроорганизмов деорганифицированными образцами костной ткани: а – *Staphylococcus aureus*; б – *Cladosporium herbarum* (образцы: «И» – интактный, «К» – контрольный, «Э» – экспериментальный)

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ выполненных исследований показал, что алкалоиды сангвиритрина после высвобождения из исследуемых образцов контрольных групп сохраняли свою антимикробную активность. После стерилизации озono-кислородной смесью образцы экспериментальных групп не утрачивали своей бактерио- и микостатической активности. В области контакта с питательной средой деминерализованных и деорганифицированных образцов как без стерилизации, так и подвергнутых озono-кислородной стерилизации наблюдалось пролонгированное высвобождение алкалоидов сангви-

ритрина, вызывающих угнетение формирования колоний микроорганизмов (рис. 2).

Как и ожидалось, интактные образцы не показали в эксперименте наличия какого-либо бактерицидного и антигрибкового эффекта. Вокруг как минерального, так и органического матрикса кости отсутствовала зона подавления роста микроорганизмов.

Диаметры зон подавления роста грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также микромицетов костными образцами с сангвиритрином до и после стерилизации озono-кислородной смесью представлены в таблице.

**Таблица. Диаметр зон торможения колонеобразования штаммов микроорганизмов вокруг образцов, импрегнированных сангвиритрином**

| Штаммы микроорганизмов       | Диаметр зон ингибирования роста микроорганизмов ( $n=12$ )*, мм ( $M\pm m$ ) |                    |  |                    |
|------------------------------|--|--------------------|--|--------------------|
|                              | без озono-кислородной стерилизации (контроль)                                |                    | после озono-кислородной стерилизации (эксперимент) |                    |
|                              | Деорганифицированные   | Деминерализованные | Деорганифицированные                               | Деминерализованные |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 31,86±0,44   | 24,01±0,44         | 31,46±0,4  | 23,7±0,38          |
| <i>Escherichia coli</i>      | 18,73±0,23   | 15,86±0,13         | 18,31±0,28   | 15,35±0,13         |
| <i>Aspergillus niger</i>     | 13,95±0,19   | 12,06±0,1          | 13,6±0,19  | 11,7±0,16          |
| <i>Cladosporium herbarum</i> | 15,38±0,12   | 13,75±0,16         | 14,96±0,11   | 13,26±0,17         |

Примечание: \* – число образцов в каждой группе.

Диаметры зон ингибирования роста бактерий и грибов в соответствующих контрольных и экспериментальных группах не имели статистически значимых отличий. Это подтверждает отсутствие негативного влияния озono-кислородной стерилизации на антибактериальные и антимикотические свойства деминерализованных и деорганифицированных костных образцов импрегнированных сангвиритрином.

Полученные результаты совпадают с единичными публикациями авторов, проводивших опыты по исследованию сангвиритрина [7, 8, 10].

Таким образом в нашей работе получены экспериментальные данные, показывающие отсутствие существенного влияния стерилизации озono-кислородной смесью с концентрацией озона 8 мг/л и продолжительностью 15 мин на антибактериальные и антимикотические свойства костных образцов, импрегнированных раствором лекарствен-

ного средства растительного происхождения – сангвиритрином.

## ВЫВОДЫ

На основании проведенных исследований установлено, что деминерализованные и деорганифицированные костные образцы, импрегнированные раствором сангвиритрина, после стерилизации озono-кислородной смесью сохраняют свою антибактериальную и антимикотическую активность. Этот факт позволяет рассмотреть предложенный подход для создания новых имплантационных препаратов с антибактериальными и антимикотическими свойствами с возможностью их применения в гнойной хирургии и репарации минерализованной соединительной ткани в инфицированных ранах.

Работа выполнена в рамках Государственного задания FGUU-2022-0008 «Изучение влияния экзогенных фак-

торов на биологические структуры, решение вопросов их репаративной регенерации и консервации».

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с публикацией данной статьи.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова В.А., Футорянская А.М., Садыкова В.С. Синтез и антибактериальная активность наночастиц серебра, стабилизированных сукцинамидом хитозана. Прикладная биохимия и микробиология. 2020; 56(5): 497–502. doi: 10.31857/S0555109920050025
2. Кузнецова Д.С., Тимашев П.С., Баграташвили В.Н., Загайнова Е.В. Костные имплантаты на основе скаффолдов и клеточных систем в тканевой инженерии (обзор). Современные технологии в медицине. 2014; 6(4): 201–212.
3. Корель А.В., Кузнецов С.Б. Тканеинженерные стратегии для восстановления дефектов костной ткани. Современное состояние вопроса. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2019; 4: 228–234.
4. Фролова А.В., Бузук Г.Н., Царенков В.М., Петров П.Т., Трухачева Т.В., Дунец Л.Н. Лабораторная оценка влияния радиационной стерилизации на химический состав и антимикробную активность лекарственного средства «Фи-

- томп» и его компонента – Маклейи мелкоплодной. Вестник фармации. 2007; 1(35): 83–91.
5. Решетько О.В., Якимова Ю.Н. Инновационные антибиотики для системного применения. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015; 17(4): 272–285.
  6. Пантелеев И.В., Розанов В.В., Матвейчук И.В. Озоновые технологии: медико-биологические приложения в условиях современных вызовов. Русский инженер. 2021; 3: 43–46.
  7. Litvinov Y.Y., Matveychuk I.V., Rozanov V.V., Krasnov V.V. Optimization of Technologies for Manufacture of Demineralized Bone Implants for Drug Release. Biomedical Engineering. 2021; 54(6): 393–396. doi: 10.1007/s10527-021-10047-5.
  8. Вичканова С.А. Сангвиритрин. Подарок природы человеку: научное издание. М.: «OneBook.ru». 2015.
  9. Вичканова С.А. Данные клинического исследования антимикробного растительного препарата Сангвиритрин. Русский медицинский журнал. 2012; 20(2): 75–79.
  10. Розанов В.В., Матвейчук И.В., Литвинов Ю.Ю., Уланова А.А., Пантелеев И.В. Анализ архитектоники костной ткани как объекта стерилизации с использованием озона. Биорадикалы и антиоксиданты. 2016; 3(3): 229–230.
  11. Вичканова С.А., Крутикова Н.М. Клиническое применение сангвиритрина при дисбактериозе. Педиатрия. 2012; 91(5): 102–107.

Поступила 23 июня 2022 г.

## ANTIMICROBIAL AND ANTIMYCOTIC ACTIVITY OF BONE MATRIX IMPREGNATED WITH A SOLUTION OF SANGUIRITRIN AFTER STERILIZATION WITH AN OZONE-OXYGEN MIXTURE

© Authors, 2022

### Yu.Yu. Litvinov

Leading Researcher, Research and Educational Center of Biomedical Technologies, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow, Russia)  
E-mail: vilar.litvinov@mail.ru

### V.P. Panin

Leading Researcher, Research and Educational Center of Biomedical Technologies, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow, Russia)  
E-mail: zip1@list.ru

### V.V. Krasnov

Chief Researcher, Research and Educational Center of Biomedical Technologies, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow, Russia)  
E-mail: v.v.krasnov@mail.ru

**Relevance.** Currently, the problem of creating implantation materials based on biodegradable polymers of natural origin with specified properties continues to be relevant.

**Aim.** To evaluate the antimicrobial properties of bone matrix samples impregnated with sanguiritrin solution after sterilization with an ozone-oxygen mixture.

**Material and methods.** Cylindrical samples of cortical bone and bone matrix impregnated with sanguiritrin substance, a medicinal product of plant origin, were used in the work. The samples were sterilized with an ozone-oxygen mixture with an ozone concentration of 8 mg/l. Antimicrobial activity was tested using bacterial strains: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*; strains of micromycetes: *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*.

**Results.** The study found that there was no significant effect of ozone-oxygen sterilization with an ozone concentration of 8 mg/l and a duration of 15 minutes in the flow mode on the antibacterial and antimycotic properties of the studied bone samples impregnated with a solution of antimicrobial and antifungal medicinal product of plant origin – sanguiritrin. Sanguiritrin alkaloids released after sterilization from demineralized and disorganized bone matrix do not lose their antimicrobial and antimycotic properties against gram-positive and gram-negative bacteria, as well as micromycetes.

**Conclusion.** The approach proposed in the study can be used to further improve and develop new implantation drugs with specified antimicrobial properties and methods of their sterilization.

**Key words:** bone implants, sanguiritrin, sterilization, ozone-oxygen mixture.

**For citation:** Litvinov Yu.Yu., Panin V.P., Krasnov V.V. Antimicrobial and antimycotic activity of bone matrix impregnated with a solution of sanguiritrin after sterilization with an ozone-oxygen mixture. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2022;25(11):23–28. <https://doi.org/10.29296/25877313-2022-11-04>

## REFERENCES

1. Aleksandrova V.A., Futorjanskaja A.M., Sadykova V.S. Sintez i antibakterial'naja aktivnost' nanochastic serebra, stabilizirovannyh sukcinamidom hitozana. Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. 2020; 56(5): 497–502. doi: 10.31857/S0555109920050025.
2. Kuznecova D.S., Timashev P.S., Bagratashvili V.N., Zagajnova E.V. Kostnye implantaty na osnove skaffoldov i kletochnyh sistem v tkanevoj inzhenerii (obzor). Sovremennye tehnologii v medicine. 2014; 6(4): 201–212.
3. Korel' A.V., Kuznecov S.B. Tkaneinzhenernyye strategii dlja vosstanovlenija defektov kostnoj tkani. Sovremennoe sostojanie vopros. Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. 2019; 4: 228–234.
4. Frolova A.V., Buzuk G.N., Carenkov V.M., Petrov P.T., Truhacheva T.V., Dunec L.N. Laboratornaja ocenka vlijanija radiacionnoj sterilizacii na himicheskij sostav i antimikrobnuju aktivnost' lekarstvennogo sredstva «Fitomp» i ego komponenta – Makleji melkoplodnoj. Vestnik farmacii. 2007; 1(35): 83–91.
5. Reshet'ko O.V., Jakimova Ju.N. Innovacionnyye antibiotiki dlja sistemnogo primenenija. Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. 2015; 17(4): 272–285.
6. Pantelev I.V., Rozanov V.V., Matvejchuk I.V. Ozonovyje tehnologii: mediko-biologicheskie prilozhenija v uslovijah sovremennyh vyzovov. Russkij inzhener. 2021; 3: 43–46.
7. Litvinov Y.Y., Matvejchuk I.V., Rozanov V.V., Krasnov V.V. Optimization of Technologies for Manufacture of Demineralized Bone Implants for Drug Release. Biomedical Engineering. 2021; 54(6): 393–396. doi: 10.1007/s10527-021-10047-5.
8. Vichkanova S.A. Sangviritrin. Podarok prirody cheloveku: nauchnoe izdanie. M.: «OneBook.ru». 2015.
9. Vichkanova S.A. Dannye klinicheskogo issledovanija antimikrobnogo rastitel'nogo preparata Sangviritrin. Russkij medicinskij zhurnal. 2012; 20(2): 75–79.
10. Rozanov V.V., Matvejchuk I.V., Litvinov Ju.Ju., Ulanova A.A., Pantelev I.V. Analiz arhitektoniki kostnoj tkani kak ob'ekta sterilizacii s ispol'zovaniem ozona. Bioradikaly i antioksidanty. 2016; 3(3): 229–230.
11. Vichkanova S.A., Krutikova N.M. Klinicheskoe primenenie sangviritrina pri disbakterioze. Pediatrija. 2012; 91(5): 102–107.



## Лекарственные препараты, разработанные ВИЛАР

**Аллизарин** (таблетки, мазь), рег. №№ 85/507/2; 85/507/10; 85/507/16 – противовирусное средство, получаемое из травы копеечника альпийского (*Hedysarum alpinum* L.) или копеечника желтеющего (*Hedysarum flavescens* Rerel et Schmalh). По сравнению с ацикловиrom обладает более широким спектром действия.

**Аммифуриин** (таблетки, спиртовой раствор), рег. №№ 83/914/9; 70/151/47; 70/151/48 – фотосенсибилизирующее средство, получаемое из плодов амми большой (*Ammi majus* L.).

**Анмарин** (линимент, гель, лосьон (раствор)), рег. №№ 90/248/1; 95/178/5; 90/248/4 – антифунгальное, противогрибковое средство, получаемое из плодов амми большой (*Ammi majus* L.).

Тел. контакта: 8(495)388-55-09; 8(495)388-61-09; 8(495)712-10-45

Fax: 8(495)712-09-18;

e-mail: vilarnii.ru; www.vilarnii.ru