



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61L 15/36 (2025.01); A61L 15/20 (2025.01); A61L 15/44 (2025.01); A61P 17/02 (2025.01)

(21)(22) Заявка: 2024118950, 08.07.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
08.07.2024

Дата регистрации:
02.06.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 08.07.2024

(45) Опубликовано: 02.06.2025 Бюл. № 16

Адрес для переписки:

308015, г.Белгород, ул. Победы, 85, НИУ
"БелГУ", Токтарева Татьяна Михайловна

(72) Автор(ы):

Автина Наталья Валерьевна (RU),
Сенченков Владислав Юрьевич (RU),
Жилякова Елена Теодоровна (RU),
Соляникова Инна Петровна (RU),
Покровский Михаил Владимирович (RU),
Автина Татьяна Валерьевна (RU),
Костина Дарья Александровна (RU),
Круть Ульяна Александровна (RU),
Смирнова Виктория Николаевна (RU),
Аленина Анастасия Игоревна (RU),
Лебедева Надежда Михайловна (RU),
Выросткова Алина Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2736061 C1, 11.11.2020. RU
2733137 C1, 29.09.2020. Rzhepakovsky I. et al.
Composite of bacterial cellulose and gelatin: A
versatile biocompatible scaffold for tissue
engineering/ International Journal of Biological
Macromolecules, v. 256, Part 1, January 2024. RU
2597291 C1, 10.09.2016.

(54) Способ получения раневого покрытия

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к способу получения раневого биокомпозита на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы, обладающего высокой абсорбирующей способностью, ранозаживляющим и антибактериальным действием, включающему получение гель-пленки бактериальной целлюлозы путем культивирования штамма бактерий, ее отделение и очищение, измельчение и лиофильную сушку, характеризующемуся тем, что для

получения гель-пленки бактериальной целлюлозы осуществляют культивирование штамма бактерий *Medusomyces gisevii* в статических условиях в течение 7 суток при комнатной температуре с использованием комплексной жидкой питательной среды, содержащей следующие ингредиенты, масс. %: глюкоза – 0,99; сахароза – 0,99; дрожжевой экстракт – 0,99; пептон – 0,69; лимонная кислота – 0,02; ледяная уксусная кислота – 0,099 и этанол – 1,32, вода очищенная

– до 100 мл; причем для приготовления комплексной жидкой питательной среды сначала в воде очищенной растворяют глюкозу, сахарозу, дрожжевой экстракт, пептон и лимонную кислоту, затем полученный раствор автоклавируют при 115°C в течение 30 мин и после охлаждения добавляют при перемешивании этанол и ледяную уксусную кислоту; после отделения гель-пленки от питательной среды осуществляют её очищение путем обработки 0,1 Н раствором NaOH при нагревании на водяной бане до 90°C в течение 60 мин, после чего образцы замачивают в 3% растворе перекиси водорода при комнатной температуре в течение 1,5-2 часов, затем промывают водой очищенной до достижения нейтральной реакции и измельчают с помощью гомогенизатора механического; измельченную гель-плёнку перемешивают до получения гомогенной массы однородной консистенции в соотношении 1:1 с водным раствором активных и вспомогательных ингредиентов, взятых из расчета содержания в граммах на 100 квадратных сантиметров раневого покрытия: бета-циклодекстрин – 0,2, метронидазол – 0,2, коллаген – 0,2, декспантенол – 0,5, бензалкония хлорид – 0,05, при этом указанный раствор изготавливают

путем последовательного растворения в воде очищенной при 70°C сначала бета-циклодекстрина и метронидазола, а коллаген, декспантенол и бензалкония хлорид растворяют после охлаждения полученного водного раствора; полученную массу распределяют на подложку слоем толщиной 8 мм, выдерживают в морозильной камере при температуре минус 40°C в течение суток, после чего высушивают в лиофильной сушилке в течение 24 часов по следующей программе: 5 минут – температура лиофилизации минус 40°C, давление 1 мбар без нагрева полок; 18 часов – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,2 мбар, температура полок 30°C; 4 часа – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,15 мбар, температура полок 40°C; 2 часа – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,1 мбар, температура полок 50°C. Настоящее изобретение обеспечивает создание способа получения раневого покрытия на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы, обладающего высокой абсорбционной способностью, а также ранозаживляющим и антибактериальным действием. 3 табл., 5 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

A61L 15/36 (2006.01)

A61L 15/20 (2006.01)

A61L 15/44 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

A61L 15/36 (2025.01); A61L 15/20 (2025.01); A61L 15/44 (2025.01); A61P 17/02 (2025.01)

(21)(22) Application: 2024118950, 08.07.2024

(24) Effective date for property rights:
08.07.2024Registration date:
02.06.2025

Priority:

(22) Date of filing: 08.07.2024

(45) Date of publication: 02.06.2025 Bull. № 16

Mail address:

308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",
Toktareva Tatyana Mikhajlovna

(72) Inventor(s):

Avtina Natalia Valerevna (RU),
Senchenkov Vladislav Iurevich (RU),
Zhiliakova Elena Teodorovna (RU),
Solianikova Inna Petrovna (RU),
Pokrovskii Mikhail Vladimirovich (RU),
Avtina Tatiana Valerevna (RU),
Kostina Daria Aleksandrovna (RU),
Krut Uliana Aleksandrovna (RU),
Smirnova Viktoriia Nikolaevna (RU),
Alenina Anastasiia Igorevna (RU),
Lebedeva Nadezhda Mikhailovna (RU),
Vyrostkova Alina Sergeevna (RU)

(73) Proprietor(s):

federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU
"BelGU") (RU)

(54) METHOD OF PRODUCING WOUND COVER

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: present invention relates to a method for producing a wound biocomposite based on bacterial cellulose hydrogel, having a high absorbent capacity, wound healing and antibacterial action, comprising obtaining a bacterial cellulose gel film by culturing a bacteria strain, separation and purification thereof, milling and lyophilic drying, characterized in that in order to obtain a gel film of bacterial cellulose, the strain of bacteria *Medusomyces gisevii* is cultivated under static conditions for 7 days at room temperature using a complex liquid nutrient medium containing the following ingredients, wt. %: glucose – 0.99; sucrose – 0.99; yeast extract – 0.99; peptone – 0.69; citric acid – 0.02; glacial acetic acid – 0.099 and ethanol – 1.32, purified water – up to 100 ml; wherein for preparation of complex liquid nutrient medium glucose, sucrose, yeast extract, peptone and citric acid are first dissolved

in purified water, then obtained solution is autoclaved at 115 °C for 30 minutes and after cooling, while stirring, adding ethanol and glacial acetic acid; after separation of the gel film from the nutrient medium, it is purified by treatment with 0.1 N NaOH solution while heating on a water bath to 90 °C for 60 minutes, after which the samples are soaked in 3% solution of hydrogen peroxide at room temperature for 1.5-2 hours, then washed with purified water until neutral reaction is achieved and crushed using a mechanical homogeniser; ground gel film is stirred to produce a homogenous mass of homogeneous consistency in ratio 1:1 with an aqueous solution of active and auxiliary ingredients taken at the following ratio, g per 100 square cm of the wound cover: beta-cyclodextrin – 0.2, metronidazole – 0.2, collagen – 0.2, dexpanthenol – 0.5, benzalkonium chloride – 0.05, wherein said solution is prepared by successive dissolution in water purified

at 70 °C, first, beta-cyclodextrin and metronidazole, and collagen, dexpanthenol and benzalkonium chloride are dissolved after cooling the obtained aqueous solution; produced mass is distributed on a substrate with layer of 8 mm thickness, held in a freezing chamber at a temperature of minus 40 °C during the day, followed by drying in a lyophilic dryer for 24 hours according to the following program: 5 minutes – lyophilisation temperature minus 40 °C, pressure 1 mbar without heating shelves; 18 hours – lyophilisation temperature minus 40 °C, pressure 0.2 mbar,

temperature of shelves 30 °C; 4 hours – lyophilisation temperature minus 40 °C, pressure 0.15 mbar, temperature of shelves 40 °C; 2 hours – lyophilisation temperature minus 40 °C, pressure 0.1 mbar, temperature of shelves 50 °C.

EFFECT: present invention provides a method for preparing the wound cover of bacterial cellulose hydrogel possessing high absorption capacity, as well as wound-healing and antibacterial action.

1 cl, 3 tbl, 5 ex

R U 2 8 4 1 0 5 5 C 1

R U 2 8 4 1 0 5 5 C 1

Изобретение относится к области биотехнологии и медицины, а именно к способу получения биокompозита на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы с коллагеном, обладающего высокой абсорбционной способностью, а также ранозаживляющим и антибактериальным действием, и может быть использовано в качестве раневого

покрытия в медицине и ветеринарии.

Покрывтия, применяемые с целью заживления раневых повреждений тканей, становятся более многофункциональными. В настоящее время ведется разработка состава и технологии медицинских материалов, представляющих собой текстильные и полимерные композиции, содержащие субстанции различные по своим

фармакологическим свойствам.

Известно достаточно много разнообразных покрытий, предназначенных для лечения ран и ожоговых поверхностей, изготовленных на основе вспомогательных веществ, природного или синтетического происхождения, с введенными в них лекарственными веществами. Перспективным вспомогательным веществом для получения раневых

покрытий следует считать целлюлозу бактериального происхождения (бактериальная целлюлоза).

Известны различные способы получения бактериальной целлюлозы, представленные в изобретениях RU 2536973, МПК C12N 1/20, опубл. 27.12.2014, RU 2536257, МПК C12N 1/20, опубл. 20.12.2014, RU 2597291 C1, опубл. 10.09.2016.

Известен способ получения раневого покрытия, обеспечивающего сохранность оптимальной влажности и газопроницаемости, необходимые для создания благоприятных условий процесса заживления и изолирования поврежденной поверхности от воздуха. Покрытие из бактериальной целлюлозы является небиodeградируемым, что позволяет легко отделять его от раны. Способ получения покрытия включает

культивирование бактерий *Gluconacetobacter sucrofermentans* ВКПМ В-11267 на мелассе, получения гидрогеля бактериальной целлюлозы и смешивание с 2% раствором хитозана в 1%-ой уксусной кислоте (соотношение 50:50) или с 2% раствором хитозана в 1%-ой уксусной кислоте, 10% раствором желатина, 20% раствором транслглютаминазы (соотношение 5:5:15:5), добавление фузидина натрия, ферментов, низкомолекулярных пептидов (СА 2632767, МПК А61К 37/715, опубл. 07.06.2007).

Недостатком указанного способа получения раневого покрытия является сложность получения композиции на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы, полученной в результате культивирования бактерий *Gluconacetobacter sucrofermentans*, и

однонаправленность действия полученного покрытия за счет введения

антибактериального средства фузидина натрия.

Предложен способ получения биокompозита с антибактериальными свойствами на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы, включающий культивирование *Komagataeibacter sucrofermentans* ВКПМ В-11267 в статических условиях на среде с мелассой, отделение полученной гель-пленки бактериальной целлюлозы от

культуральной среды, ее очищение; затем гель-пленку механически измельчают с

получением гидрогеля бактериальной целлюлозы с гидромодулем с соотношением 1:3 и вносят антибиотик фузидина натрия или фермент лизоцима в концентрации 7,5 мг/мл и 1 мг/мл гидрогеля соответственно. (RU 2771864 C1, опубл. 13.05.2022).

Указанное средство характеризуется сложностью получения композита на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы, полученной в результате культивирования *Komagataeibacter sucrofermentans*.

Известно биологически активное раневое покрытие с использованием клеточного материала человека, изготовленное путем нанесения на гидратированную микробную

целлюлозу коллагенового геля, который содержит десятикратный концентрат ростовой среды М199 и источник ростовых факторов, например, тромбоциты крови и /или клетки мезодермального и эктодермального типа, а также может содержать антибиотики, например, смесь антибиотиков пенициллин от 50 до 100 единиц/мл и стрептомицин от 0,05 до 0,1 мг/мл. (RU 2430743, МПК А61L 15/28, А61F 13/02, А61L 15/44, опубл. 10.10.2011).

Недостатком способа получения раневого покрытия является сложность получения, необходимость введения большого количества ингредиентов, в том числе антибиотиков пенициллина и стрептомицина, к которым быстро развивается устойчивость микроорганизмов.

Известен биоактивный гидрогель для регенерации кожи, полученный посредством химической сшивки желатина глутаровым диальдегидом. Данный гидрогель характеризуется пониженным содержанием и расходом сшивающего агента, пониженной остаточной токсичностью сшивающего агента, повышенной биосовместимостью, повышенной регенеративной активностью. Биоактивный гидрогель дополнительно содержит анионный полимер и бивалентный металл в конечной концентрации не более 50 мМ (RU 2659383, МПК А61K 38/17, опубл. 29.06.2018).

Известен способ получения биокомпозита с регенерационными свойствами на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы. Биокомпозит представляет собой гидрогель бактериальная целлюлоза-хитозан в соотношениях 50:50 путем смешения 2%-го раствора хитозана в 1%-ой уксусной кислоте, гидрогеля бактериальной целлюлозы, 25%-го глутарового альдегида, а также получении гидрогеля бактериальная целлюлоза:хитозан:желатин:трансглутаминаза в соотношении 5:5:15:5 соответственно и добавлением фузицина натрия, физиологически активных соединений полифенольной природы в виде дегидрохлоридов или ресвератрола, ферментов в виде трипсина, химотрипсина или лизоцима, низкомолекулярных пептидов (RU 2733137, МПК С12N 1/20, А61L 15/36, опубл. 29.09.2020).

Недостатками известного решения является сложность композиционного состава и сложность технологического процесса.

Наиболее близким решением, взятым в качестве прототипа, является способ получения биокомпозита на основе аэрогеля бактериальной целлюлозы, обладающего кровоостанавливающими свойствами. Получение аэрогеля заключается в получении гель-пленки бактериальной целлюлозы путем культивирования штамма бактерий *Gluconacetobacter sucrofermentans* ВКПМ В-11267 в статических условиях на среде с мелассой, отделении и ее очищении, измельчении и получения аэрогелей путем лиофильной сушки гидрогелей бактериальной целлюлозы с 2%-ым раствором хитозана в 1%-й уксусной кислоте (в соотношении 80:20) и добавления фузицина натрия (RU 2736061 С1, МПК А61K 35/74, А61K 47/36, А61L 15/28, А61L 15/18, С12N 1/20, А61P 7/04, опубл. 11.11.2020).

Предложенный аэрогель обладает однонаправленностью действия и сложен в техническом исполнении.

Задачей предлагаемого изобретения, является создание нового способа получения раневого покрытия на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы.

Технический результат заявленного изобретения заключается в создании способа получения раневого покрытия на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы, обладающего высокой абсорбционной способностью, а также ранозаживляющим и антибактериальным действием.

Сущность изобретения заключается в том, что способ получения раневого покрытия

в виде биокомпозита на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы заключается в получении гель-пленки бактериальной целлюлозы путем культивирования штамма бактерий, ее отделении и очищении, измельчении и лиофильной сушки, в которую внесены следующие новые признаки:

- 5 - для получения гель-пленки бактериальной целлюлозы осуществляют культивирование штамма бактерий *Medusomyces gisevii* в статических условиях на комплексной жидкой питательной среде в течение 7 суток при комнатной температуре;
- комплексная жидкая питательная среда для культивирования биомассы из *Medusomyces gisevii* содержит следующие ингредиенты, масс. %: глюкоза – 0,99; сахара
10 – 0,99; дрожжевой экстракт – 0,99; пептон – 0,69; лимонная кислота – 0,02; ледяная уксусная кислота – 0,099 и этанол – 1,32, вода очищенная – до 100; причем для приготовления сначала в воде очищенной растворяют глюкозу, сахарозу, дрожжевой экстракт, пептон и лимонную кислоту, затем полученный раствор автоклавируют при 115°C в течение 30 мин и после охлаждения добавляют при перемешивании этанол и
15 ледяную уксусную кислоту;
- после отделения гель-пленки от питательной среды осуществляют её очищение путем обработки 0,1 Н раствором NaOH при нагревании на водяной бане до 90°C в течение 60 мин, после чего образцы замачивают в 3% растворе перекиси водорода при комнатной температуре в течение 1,5-2 часов, после чего промывают водой очищенной
20 до достижения нейтральной реакции и измельчают с помощью гомогенизатора механического;
- после измельчения гель-плёнку перемешивают до получения однородной массы однородной консистенции в соотношении 1:1 с водным раствором активных и
25 вспомогательных ингредиентов, взятых из расчета содержания в граммах на 100 квадратных сантиметров раневого покрытия: коллаген – 0,2, метронидазол – 0,2, бетациклодекстрин – 0,2, декспантенол – 0,5, бензалкония хлорид – 0,05, при этом указанный раствор изготавливают при нагревании до 70°C, путем последовательного растворения в воде очищенной сначала бета-циклодекстрина и метронидазола, а коллаген, декспантенол и бензалкония хлорид растворяют после охлаждения
30 полученного водного раствора;
- полученную массу распределяют на подложку слоем толщиной 8 мм, выдерживают в морозильной камере при температуре минус 40°C в течение суток, после чего высушивают в лиофильной сушилке в течение 24 часов по следующей программе:
 - 1) 5 минут – температура лиофилизации минус 40°C, давление 1 мбар, без нагрева
35 полок;
 - 2) 18 часов – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,2 мбар, температура полок 30°C;
 - 3) 4 часа – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,15 мбар, температура полок 40°C;
 - 40 4) 2 часа – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,1 мбар, температура полок 50°C.

В качестве продуцента бактериальной целлюлозы в заявленном изобретении использована симбиотическая культура *Medusomyces gisevii*, положительными характеристиками которой являются высокая адаптивная способность, устойчивость
45 к фагам, способность саморегулировать уровень активной кислотности в процессе ее культивирования, которая формирует матрицу-носитель из тонкой сети нановолокон, обладающая высокой влагосвязывающей и влагоудерживающей способностью, селективной проницаемостью для газов и пара, отсутствием проницаемости для бактерий

(интернет-источник: <https://cyberleninka.ru/article/n/biosintez-bakterialnoy-tsellyulozy-kulturoy-medusomyces-gisevii/viewer>).

Коллаген обеспечивает гомеостатическое действие, снижает воспалительные реакции, активизирует репаративные процессы и сокращает сроки заживления ран.

5 Декспантенол обладает дерматопротективным, противовоспалительным, стимулирующим регенерацию действием. Восполняет дефицит пантотеновой кислоты, обладает противовоспалительным действием, стимулирует процессы регенерации. В организме образует активный метаболит – пантотеновую кислоту, являющуюся субстратным (единственный незаменимый компонент) стимулятором синтеза кофермента А; последний катализирует в организме ацилирование, участвует 10 практически во всех метаболических процессах (цикл трикарбоновых кислот, обмен углеводов, жиров и жирных кислот, фосфолипидов, белков и др.), обеспечивает образование кортикостероидов, ацилирование холина с образованием ацетилхолина. При местном применении быстро абсорбируется и превращается в пантотеновую 15 кислоту, связывается с белками плазмы (главным образом с бета-глобулином и альбумином). Стимулирует регенерацию кожи.

Метронидазол относится к антибактериальным химиотерапевтическим препаратам, обладает высокой активностью в отношении широкого спектра бактерий и простейших. Механизм действия метронидазола заключается в биохимическом восстановлении 5- 20 нитрогруппы внутриклеточными транспортными протеинами анаэробов и простейших. Восстановленная 5-нитрогруппа взаимодействует с ДНК микроорганизмов и ингибирует ее синтез, приводя к подавлению роста и гибели патогенной микрофлоры.

Бета-циклодекстрин – вспомогательное вещество, обладающее солюбилизирующей активностью, повышает растворимость труднорастворимых в воде препаратов за счет 25 гидрофильной наружной оболочки, увеличивает биодоступность, снижает раздражающее действие веществ на слизистые оболочки.

Бензалкония хлорид – антисептическое средство, как катионный детергент встраивается в клеточную оболочку, взаимодействует с мембранными липопротеидами микроорганизмов, повреждает мембраны и вызывает гибель клеток. Проявляет 30 бактерицидную активность в отношении различных грамположительных (в т.ч. стафилококки, стрептококки) и грамотрицательных (кишечная и синегнойная палочка, протей, клебсиелла и др.) микроорганизмов, фунгицидную – в отношении грибов.

Изложенные характеристики активных и вспомогательных веществ позволяют обеспечить высокую абсорбционную способность, а также ранозаживляющее и 35 антибактериальное действие предлагаемого состава раневого покрытия в виде биокомпозита на основе бактериальной целлюлозы.

Заявленное изобретение обладает новизной и изобретательским уровнем, т.к. из уровня техники неизвестен способ получения раневого покрытия путем культивирования биомассы из *Medusomyces gisevii* с использованием питательной среды следующего 40 состава, масс. %: глюкоза – 0,99; сахароза – 0,99; дрожжевой экстракт – 0,99; пептон – 0,69; лимонная кислота – 0,02; ледяная уксусная кислота – 0,099 и этанол – 1,32, вода очищенная – до 100; причем для приготовления сначала в воде очищенной растворяют глюкозу, сахарозу, дрожжевой экстракт, пептон и лимонную кислоту, затем полученный раствор автоклавируют при 115°C в течение 30 мин и после охлаждения добавляют 45 при перемешивании этанол и ледяную уксусную кислоту. Использование для культивирования указанного состава позволяет увеличить прирост биомассы на 60%, что значительно превышает прирост на других средах (таблица 1).

Таблица 1

Сравнительная характеристика питательных сред для получения бактериальной целлюлозы

	Питательная среда	Масса БЦ (г) начальная	Масса БЦ (г) спустя 7 дней роста
5	Молочная сыворотка автоклавированная и фильтрованная	0,6672	4,8132
	Черный чай фильтрованный	0,5323	3,9124
	Зеленый чай фильтрованный	0,6753	2,7115
10	Брага автоклавированная нефильтрованная фильтрованная	1,1394 0,3149	18,4265 4,9345
15	Мясокостная мука разной концентрации, подкисленная кислотой уксусной: 1% 2% 3%	0,5402 0,4222 0,4995	роста не обнаружено 6,3511 3,6472
	Меласса неочищенная разной концентрации: 1% 2% 3%	0,5442 0,3124 0,4003	4,8948 8,6694 10,4171
20	Меласса осветленная разной концентрации: 1% 2% 3%	0,3682 0,3187 0,2318	роста не обнаружено 6,5387 роста не обнаружено
	Среда HS (Хестрина-Шрамма)	1,0948	30,9994
25	Комплексная жидкая питательная среда согласно изобретению	0,8588	43,3524

Способ получения раневого покрытия репаративного и антибактериального действия на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы с коллагеном осуществляют следующим образом.

Пример 1. Получение гель-пленки бактериальной целлюлозы

Получают гель-пленку бактериальной целлюлозы путем культивирования симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* на комплексной жидкой питательной среде следующего состава: глюкоза – 3,0; сахароза – 3,0; дрожжевой экстракт – 3,0; пептон – 2,1; лимонная кислота – 0,06; вода очищенная – до метки 300 мл; далее раствор автоклавируют при 115°C в течение 30 мин, после автоклавирования добавляют этанол 4 мл и ледяную уксусную кислоту – 300 мкл. В питательную среду добавляют *Medusomyces gisevii* в количестве 1,0 грамм, культивируют в течение 7 суток при комнатной температуре.

После отделения гель-пленки от питательной среды осуществляют её очищение путем удаления клеток и компонентов культуральной среды, для чего проводят её обработку 0,1 Н раствором NaOH при нагревании на водяной бане до 90°C в течение 60 мин, после чего образцы замачивают в 3% растворе перекиси водорода при комнатной температуре в течение 1,5-2 часов и промывают водой очищенной до достижения нейтральной реакции. Полученные очищенные гель-пленки бактериальной целлюлозы подвергают измельчению до однородной массы с помощью гомогенизатора механического.

Пример 2. Формирование раневого покрытия

Для формирования 100 см² раневого покрытия изготавливают водный раствор ингредиентов при нагревании до 70°C, путем последовательного растворения в 25 мл

воды очищенной 0,2 г бета-циклодекстрина, 0,2 г метронидазола, полученный водный раствор охлаждают и в нем растворяют 0,2 г коллагена, 0,5 г декспантенола и 0,05 г бензалкония хлорида.

Изготавливают гидромодуль измельченной бактериальной целлюлозы с водным раствором ингредиентов в соотношении 1:1 путем перемешивания до получения

Полученную массу распределяют на подложку размером 10×10 см слоем толщиной 8 мм, выдерживают в морозильной камере при температуре минус 40°C в течение суток, после чего высушивают в лиофильной сушилке (модель АК 5-40) в течение 24 часов по

1) 5 минут – температура лиофилизации минус 40°C, давление 1 мбар, без нагрева полок;

2) 18 часов – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,2 мбар, температура полок 30°C;

3) 4 часа – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,15 мбар, температура полок 40°C;

4) 2 часа – температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,1 мбар, температура полок 50°C.

Полученное раневое покрытие по внешнему виду представляет собой легкую пористую пластину желтоватого цвета размером 10×10 см.

Пример 3. Изучение ранозаживляющей активности.

Изучение ранозаживляющей активности средства, полученного по примеру №2 проводили в эксперименте на крысах-самцах породы «Вистар» массой 180-200 г, у которых моделировали гнойную рану по методике П.И. Толстых (1976).

Экспериментальные животные были разделены на две группы по 36 животных в каждой: в 1-й контрольной группе лечение не проводили, во 2-й опытной группе проводили лечение предлагаемым средством один раз в сутки в течение первых 5 дней течения раневого процесса. Течение раневого процесса у экспериментальных животных оценивали планиметрическим методом Л.И. Поповой по площади заживления раневой поверхности. Применение раневого покрытия повышает скорость заживления раневой поверхности: на 3-и сутки при использовании средства отмечается слабая инфильтрация свежих грануляций лейкоцитами, на 10-е сутки происходит восстановление кожи – наплыв эпителиального вала с краев раны, на 14-е сутки рана эпителизирована, наблюдалось практически полное восстановление кожи (таблица 2).

Таблица 2

Ранозаживляющая активность

Группа	Заживление от исходной площади раны, %			
	3 сут	7 сут	10 сут	14 сут
Контрольная группа (без лечения)	1,78±0,17	15,55±1,18	44,52±3,54	60,73±3,42
Опытная группа (с лечением раневого покрытием)	2,8±0,06*	22,6±1,9*	56,68±3,67*	76±3,72*

Примечание: – $p < 0,05$ в сравнении с группой контроля на соответствующие сутки.

Пример 4 Изучение антибактериальной активности в отношении *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P

Антибактериальные свойства полученного средства по примеру 2 определяли методом, основанным на способности антибактериальных веществ диффундировать в агаровую среду и образовывать зоны задержки роста тест-культуры. В качестве тест-микроорганизма используют бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P. В центр чашки Петри, засеянной тест-культурой, помещают раневое покрытие размером 0,5×0,5 см. Зона отсутствия роста тест-культуры при использовании предложенного раневого покрытия, составила 19,3±2,1 мм. При этом обнаружен рост микроорганизмов при использовании раневого покрытия, полученного путем культивирования штамма бактерий *Medusomyces gisevii*, без добавления активных и вспомогательных ингредиентов.

Пример 5. Изучение адсорбирующей способности

Образцы раневого покрытия, полученного по примеру 2, с фиксированной массой помещали на фильтровальную бумагу и перемещали в чашки Петри с 10 мл воды очищенной. Затем через 5 мин переносили образец вместе с фильтровальной бумагой в центрифужную пробирку и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Поглощение рассчитывали по формуле 1:

$$I_a = (m_t - m_0) / m_0 \cdot 100\%, (1)$$

где m_t – масса образца покрытия после выдержки, г;

m_0 – начальная масса образца покрытия, г.

Результаты определения абсорбирующей способности представлены в таблице 3. Исходя из полученных результатов, следует, что исследуемые образцы проявляют хорошую влагосвязывающую способность. Соотношение полученного покрытия и поглощенной воды и составляет 1:10.

Таблица 3

Изучение абсорбирующей способности

№ п/п	Показатели		
	m_0 , г	m_t , г	I_a , %
1	0,0782	0,7381	843,86%
2	0,0703	0,7368	948,08%
3	0,0750	0,7343	879,06%
4	0,0762	0,7296	857,48%
5	0,0753	0,7575	905,98%
Среднее значение	0,0750	0,7393	885,73%

Таким образом, предложенный способ позволяет получить раневое покрытие на основе бактериальной целлюлозы, обладающее абсорбирующей способностью, ранозаживляющим и антибактериальным действием, которое может применяться в медицине и ветеринарии. При этом, учитывая широкий спектр антибактериального и антимикробного действия, входящих в состав покрытия метронидазола и бензалкония хлорида, можно предполагать наличие соответствующей активности у раневого покрытия, полученного по предложенному способу.

Предлагаемое изобретение позволит расширить ассортимент раневых покрытий

полифакторного действия.

(57) Формула изобретения

Способ получения раневого биокомпозита на основе гидрогеля бактериальной целлюлозы, обладающего высокой абсорбирующей способностью, ранозаживляющим и антибактериальным действием, включающий получение гель-пленки бактериальной целлюлозы путем культивирования штамма бактерий, ее отделение и очищение, измельчение и лиофильную сушку, характеризующийся тем, что для получения гель-пленки бактериальной целлюлозы осуществляют культивирование штамма бактерий *Medusomyces gisevii* в статических условиях в течение 7 суток при комнатной температуре с использованием комплексной жидкой питательной среды, содержащей следующие ингредиенты, масс. %: глюкоза – 0,99; сахароза – 0,99; дрожжевой экстракт – 0,99; пептон – 0,69; лимонная кислота – 0,02; ледяная уксусная кислота – 0,099 и этанол – 1,32, вода очищенная – до 100 мл; причем для приготовления комплексной жидкой питательной среды сначала в воде очищенной растворяют глюкозу, сахарозу, дрожжевой экстракт, пептон и лимонную кислоту, затем полученный раствор автоклавируют при 115°C в течение 30 мин и после охлаждения добавляют при перемешивании этанол и ледяную уксусную кислоту; после отделения гель-пленки от питательной среды осуществляют её очищение путем обработки 0,1 Н раствором NaOH при нагревании на водяной бане до 90°C в течение 60 мин, после чего образцы замачивают в 3% растворе перекиси водорода при комнатной температуре в течение 1,5-2 часов, затем промывают водой очищенной до достижения нейтральной реакции и измельчают с помощью гомогенизатора механического; измельченную гель-плёнку перемешивают до получения гомогенной массы однородной консистенции в соотношении 1:1 с водным раствором активных и вспомогательных ингредиентов, взятых из расчета содержания в граммах на 100 квадратных сантиметров раневого покрытия: бета-циклодекстрин – 0,2, метронидазол – 0,2, коллаген – 0,2, декспантенол – 0,5, бензалкония хлорид – 0,05, при этом указанный раствор изготавливают путем последовательного растворения в воде очищенной при 70°C сначала бета-циклодекстрина и метронидазола, а коллаген, декспантенол и бензалкония хлорид растворяют после охлаждения полученного водного раствора; полученную массу распределяют на подложку слоем толщиной 8 мм, выдерживают в морозильной камере при температуре минус 40°C в течение суток, после чего высушивают в лиофильной сушилке в течение 24 часов по следующей программе:

- 5 минут - температура лиофилизации минус 40°C, давление 1 мбар, без нагрева полок;
- 18 часов - температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,2 мбар, температура полок 30°C;
- 4 часа - температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,15 мбар, температура полок 40°C;
- 2 часа - температура лиофилизации минус 40°C, давление 0,1 мбар, температура полок 50°C.