Получено: 18.04.2023 г. | Принято: 24.04.2023 г. | DOI: https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.3-4.196.202
Научная статья

НАНОМЕДИЦИНА. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ, ПРОИЗВЕДЕННЫХ БИОСИНТЕЗОМ, В СОЗДАНИИ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ ДЕПО-МАТЕРИАЛОВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Г.Е.Кричевский[1], д.т.н., проф., *ORCID: 0000-0001-9777-9257* / ***gek20003@gmail.com***
Н.Д.Олтаржевская[1], д.т.н., проф., генеральный директор
М.А.Щедрина[2], к.м.н., доц., ст. науч. сотр., *ORCID: 0000-0002-4265-012X*
Ю.С.Фидоровская[1], к.т.н., науч. сотр., *ORCID: 0000-0001-6091-2878*

Аннотация. Нанотехнологии как междисциплинарные и межотраслевые технологии в настоящее время используются в мире практически во всех областях науки и техники и во всех отраслях индустрии. Стоимость продукции, полученной по нанотехнологиям, составляет триллионы долларов. Эффективно используются нанотехнологии и во всех областях медицины. Появились и закрепились новые направления: наномедицина, нанотерапия, нанодиагностика. Особое место в медицине играют наночастицы разной природы. Данная статья посвящена практическому использованию наночастиц серебра в заживлении гнойных ран. Показана эффективность разработанной аппликации, содержащей наночастицы серебра и ферменты.

Ключевые слова: нанотехнологии, наночастицы, ранозаживление

Для цитирования: Г.Е. Кричевский, Н.Д. Олтаржевская, М.А. Щедрина, Ю.С. Фидоровская. Наномедицина. Использование наночастиц металлов, произведенных биосинтезом, в создании ранозаживляющих депо-материалов нового поколения. НАНОИНДУСТРИЯ. 2023. Т. 16, № 3–4. С. 196–202. https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.3-4.196.202

Received: 18.04.2023 | Accepted: 24.04.2023 | DOI: https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.3-4.196.202
Original paper

NANOMEDICINE. THE USE OF BIOSYNTHETICALLY PRODUCED METAL NANOPARTICLES IN A NEW GENERATION OF WOUND-HEALING DEPOT-MATERIALS DEVELOPMENT

G.E.Krichevsky[1], Doct. of Sci. (Tech), Prof., *ORCID: 0000-0001-9777-9257* / ***gek20003@gmail.com***
N.D.Oltarzhevskaya[1], Doct. of Sci. (Tech), Prof., General Director
M.A.Shchedrina[2], Cand. of Sci. (Medicine), Docent, Senior Researcher, *ORCID: 0000-0002-4265-012X*
Y.S.Fidorovskaya[1], Cand. of Sci. (Tech), Researcher, *ORCID: 0000-0001-6091-2878*

1 ООО "Колетекс", Москва, Россия / Coletex JSC, Moscow, Russia
2 Федеральное государственное бюджетное учреждение "Главный военный клинический госпиталь имени академика Н.Н.Бурденко" Министерства обороны Российской Федерации, Москва, Россия / Federal State Budgetary Institution "Burdenko Central Military Clinical Hospital" of the Ministry of Defence of the Russian Federation, Moscow, Russia

Abstract. Nanotechnology, as an interdisciplinary and cross-sectoral technology, is now used worldwide in almost all fields of science and technology and in all branches of modern industry. The value of products derived from nanotechnology amounts to trillions of dollars. Nanotechnology is also being used effectively in all fields of medicine. New fields have appeared and consolidated: nanomedicine, nanotherapy, nanodiagnostics. Nanoparticles of various natures have a special place in medicine. This paper is devoted to practical use of silver nanoparticles in wound healing of purulent wounds. The effectiveness of the developed application containing silver nanoparticles and enzymes is presented.

Keywords: nanotechnologies, nanoparticles, wound healing

For citation: G.E. Krichevsky, N.D. Oltarzhevskaya, M.A. Shchedrina, Y.S. Fidorovskaya. New green, nature-like technologies for the biosynthesis of noble and heavy metal nanoparticles. NANOINDUSTRY. 2023. V. 16, no. 3–4. PP. 196–202. https://doi.org/10.22184/1993-8578.2023.16.3-4.196.202.

ВВЕДЕНИЕ

Нанотехнология (НТ) органично входит в научно-технологический кластер НБИКС (нано-, био-, когни-, социотехнологии) как одна из определяющих развитие цивилизации в 21 веке [1, 2]. Медицина, наука о жизни являются приоритетными направлениями практического приложения НБИКС. Нанотехнология играет величайшую роль в развитии современной медицины, формируя все новые направления и термины: наномедицина, нанотерапия, нанодиагностика и др. НТ проникла практически во все области медицины, используется на всех иерархических уровнях живого организма – молекулярном, клеточном, тканевом, органном и, наконец, организма в целом [3].

Наночастицы разной природы и видов широко используются во всех областях медицины. Одним из самых прогрессивных направлений современной медицины является адресная доставка лекарств к патогенным клеткам и органам

INTRODUCTION

Nanotechnology (NT) is organically included in science and technology cluster NBICS (nano-, bio-, cognitive-, socio-technology) as one of the determinants of civilization development in the 21st century [1, 2]. Medicine, as life science, is a priority area of NBICS practical application. Nanotechnology plays a great role in development of modern medicine, forming all new directions and terms: nanomedicine, nanotherapy, nanodiagnostics, etc. NT has penetrated into almost all fields of medicine and is used at all hierarchical levels of a living organism – molecular, cellular, intercellular, tissue (organs) and, finally, a body as a whole [3].

Nanoparticles of various nature and species are widely used in all fields of medicine. One of the most advanced areas of modern medicine is the targeted delivery of drugs to pathogenic cells and organs using nanocarriers. Nanocarriers load drugs and deliver them to the damaged organs, tissues and cells without

Таблица 1. Уровни использования НТ в медицине
Table 1. Levels of NT usage in medicine

Молекула Molecular	Клетка Cell	Орган Organs	Организм Human body
• Локальная доставка лекарств Local drug delivery • Генная терапия Gene therapy • Быстрая диагностика Rapid diagnosis	• Улучшение клеточного материала Improving cellular material • Инженерия тканей Tissue engineering • Рост клеток Cell growth • Терапия стволовыми клетками Stem cell therapy	• Искусственные органы Artificial organs • Датчики биотехнологических показателей Biotech Performance Sensors • Локальная доставка лекарств Local drug delivery • Нейростимуляция Neurostimulation • Сердечная стимуляция Cardiac stimulation	• Неинвазивная и инвазивная диагностика Non-invasive and invasive diagnostics • Приборы Devices • Адресная терапия рака Targeted cancer therapy

Таблица 2. Области использования НЧМ
Table 2. MNPs applications

№	Области использования НЧМ в медицине Areas of use of NPMs in medicine
1	Медицинские инструменты Medical tools
2	Бандажи, раневые покрытия Bandages, wound coverings
3	Медицинские катетеры Medical catheters
4	Имплантаты, скрепление костей Implants, bone fusion
5	Контактные линзы Contact lenses
6	Искусственные кровеносные сосуды Artificial blood vessels
7	Диагностические методы и приборы Diagnostic methods and tools
8	Антибактериальные, антивирусные и антимикробные препараты Antibacterials, antivirals and antimicrobials
9	Противораковые препараты Anti-cancer drugs

с помощью нанотранспортеров. Нанотранспортеры нагружаются лекарствами и доставляют их по адресу к поврежденным органам, тканям, клеткам, не задерживаясь в здоровых тканях. Это позволяет, по возможности, исключить побочное (порой токсическое) действие лекарств по пути движения нанотранспортеров через весь организм.

Важное место в НТ занимают наночастицы благородных и тяжелых металлов (НЧМ), обладающие уникальными свойствами, позволяющими их эффективно использовать как в различных областях науки и техники (оптика, катализ, защита окружающей среды, агротехника, современная упаковка), так и во многих областях медицины. В табл.2 показано, какие заболевания можно лечить с помощью НЧМ [3].

НЧМ широко используются как в нанотерапии многих заболеваний, так и в современной нанодиагностике. Нанотерапия с помощью НЧМ основана на их уникальной биологической активности на клеточном и молекулярном уровнях. НЧМ являются универсальными биоцидами, которые "бьют" все патогенные микроорганизмы и вирусы, lingering in healthy tissues. This eliminates, where possible, the side (sometimes toxic) effects of the drugs along the nanotransporters route through the human body.

An important place in NT is occupied by noble and heavy metal nanoparticles (MNP), which have unique properties that allow their effective use both in various fields of science and technology (optics, catalysis, environmental protection, agricultural engineering, modern packaging) and in many areas of medicine. Table 2 shows which diseases can be treated using MNPs [3].

MNPs are widely used both in nanotherapy of many diseases and in modern nanodiagnostics. Nanotherapy with MNPs is based on their unique biological activity at the cellular and molecular level. MNPs are universal biocides that "beat" all pathogenic microorganisms and viruses, as well as their colonies. Upon contact with the cell wall of the microorganism, MNPs interact with one of the components of the wall, glycoprotein, destroying a wall and penetrating inside a cell, where they then interact with most of the major components of the cell (DNA, RNA, enzymes, etc.) This results in a destructive oxidative stress (ROS) in the cell. All these transformations stop cell growth because the heredity apparatus is destroyed (see Fig.1).

This destructive effect of MNPs occurs in relation to all types of cells. If they come into contact with pathogenic microorganisms (bacteria, fungi), with viruses, their growth stops and, moreover, they die at certain concentrations of MNPs. There is a similar mechanism of interaction of MNPs with oncocytes, towards which MNPs act as cytostatics, suppressing growth of oncocytes [3]. Unfortunately, in a number of cases, MNPs in contact with healthy cells also suppress the growth and even kill them, i.e. act as toxic substances. This situation must be taken into account when using MNPs in various types of therapy, avoiding toxicity if possible by selecting optimal concentrations of MNPs.

The MNPs properties, including bioactivity, depend significantly on their morphology (particle size, shape) [2]. Therefore, it is useful to always specify these parameters when describing an experiment.

This paper will focus on the use of MNPs for healing chronic wounds, a disease that is very common and problematic throughout the world, bringing great suffering to people and enormous costs to solve this economic and social problem (loss of quality of life, disability, costly treatment).

The problem is now exacerbated by the number of military conflicts, technological disasters. There are now 1.5–2 million people in Europe suffering from chronic wounds, with £5 billion spent annually in

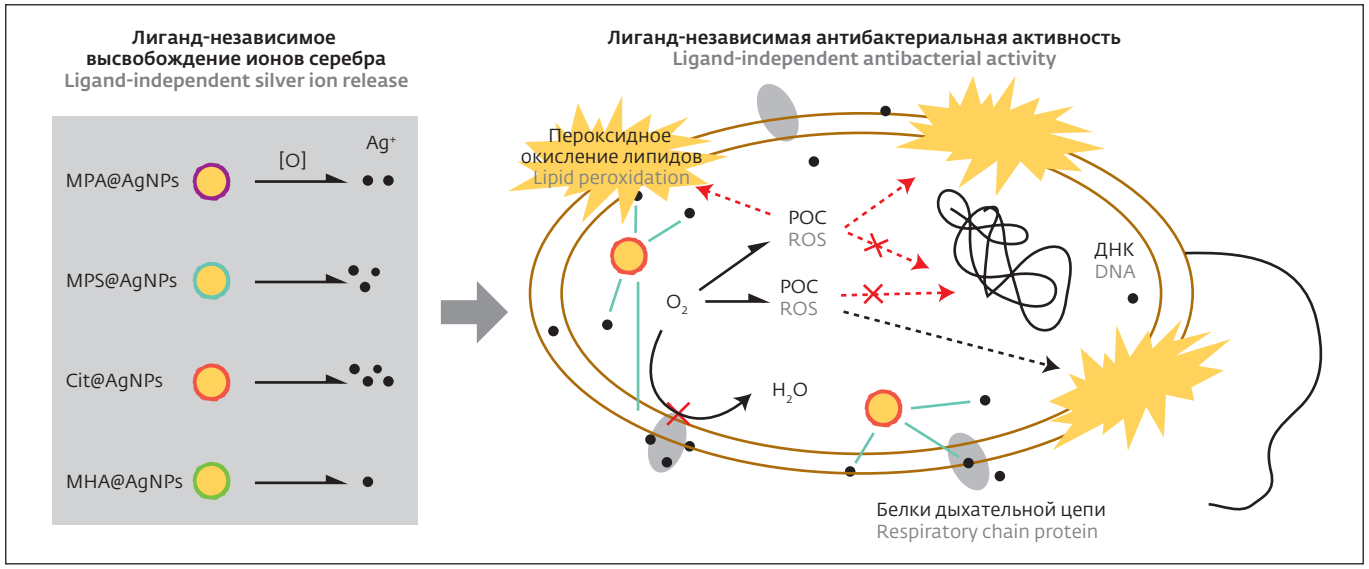

Рис.1. Роль окислительного стресса ROS в механизме разрушения клетки катионами и наночастицами серебра [1]
Fig.1. Role of ROS in cell destruction mechanism of silver cations and silver nanoparticles [1]

а также и их колонии. При контакте со стенкой клетки микроорганизма НЧМ взаимодействуют с одним из компонентов стенки-гликопротеином, разрушают стенку и проникают внутрь, где затем взаимодействуют с большинством важнейших составляющих клетки (ДНК, РНК, ферменты и др.). В результате в клетке возникает разрушительный окислительный стресс (ROS). Все эти превращения останавливают рост клеток, поскольку разрушается аппарат наследственности (см. рис.1).

Такое деструктивное действие НЧМ имеет место по отношению ко всем видам клеток. Если они контактируют с патогенными микроорганизмами (бактерии, грибы), с вирусами, то их рост прекращается, и, более того, они при определенных концентрациях НЧМ погибают. Близкий механизм взаимодействия НЧМ с онкоклетками, по отношению к которым НЧМ выступают как цитостатики, подавляя рост онкоклеток [3]. К сожалению, НЧМ при контакте со здоровыми клетками в ряде случаев так же подавляют рост и даже их убивают, то есть выступают в роли токсичных веществ. Эту ситуацию необходимо учитывать при использовании НЧМ в различных видах терапии, по возможности избегая проявления токсичности за счет выбора оптимальных концентраций НЧМ.

Свойства НЧМ, в том числе биоактивность, существенно зависят от их морфологии (размер, форма частиц) [2]. Поэтому, полезно всегда указывать эти параметры при описании эксперимента.

В данной статье сосредоточимся на использовании НЧМ для заживления хронических ран, заболевания, которое является весьма

the UK and up to $25 billion in the US on treating the disease.

DEVELOPMENT OF A NEW GENERATION OF WOUND HEALING AGENTS USING MNPS

The treatment of chronic wounds is based on the knowledge of the natural multistage healing process; to be effective, the wound must first be cleared of protein breakdown products, which is done mechanically or by enzymes, reducing viscosity of discharge and evacuating it from the wound, then the inflammatory process, determined by pathogens, is tackled, followed by the repair (regeneration) of damaged tissue. In real life, it is not possible to completely separate one stage from the other, although treatment process most often uses wound lysis agents sequentially followed by antimicrobials.

Silver nitrate was chosen as the antimicrobial component due to its wide range of antimicrobial activity, but conversion of the silver nitrate precursor into nanoform was important to achieve effective treatment and reduce toxicity. Local targeted delivery of silver cations and nanoparticles to the lesion site was envisaged, for which a textile material made of hydrophilic viscose fibres was applied to the wound with a viscous hydrogel composition made of natural biopolymer-polysaccharide sodium alginate and silver nitrate salt introduced on one side of it. The choice of sodium alginate is not accidental. In addition to its important properties for use in medicine – anti-allergenicity, haemostatic properties, high content of trace elements contributing to tissue regeneration – alginate in

распространенным и проблемным во всем мире, приносит большие страдания людям и огромные затраты на решение этой экономической и социальной проблемы (потеря качества жизни, нетрудоспособность, дорогостоящее лечение).

Проблема в настоящее время усугубляется числом военных конфликтов, технологических катастроф. В Европе сегодня насчитывается 1,5–2 млн человек, страдающих от хронических ран, на лечение этого заболевания в Великобритании ежегодно тратят 5 млрд фунтов стерлингов, в США – до 25 млрд долл.

СОЗДАНИЕ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩИХ СРЕДСТВ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЧМ

Лечение хронических ран базируется на знании природного многостадийного процесса их заживления; чтобы добиться эффекта, рану следует в начале освободить от продуктов белкового распада, что делается механически или с помощью ферментов, снижая вязкость отделяемого и эвакуируя его из раны, а затем справиться с воспалительным процессом, определяемым патогенными микроорганизмами, после чего следует процесс восстановления (регенерации) поврежденных тканей. В реальных условиях полностью отделить одну стадию от другой не представляется возможным, хотя в процессе лечения чаще всего используют последовательно средства для лизиса раневого отделяемого и затем – антимикробные препараты.

В качестве антимикробного компонента нами было выбрано азотнокислое серебро, что связано с широким спектром его антимикробного действия, однако важным для достижения эффективного лечения и снижения токсичности был перевод прекурсора нирата серебра в наноформу. Предполагалась местная направленная доставка катионов и наночастиц серебра к очагу поражения, для чего использовали накладываемый на рану текстильный материал из гидрофильного вискозного волокна, на одну сторону которого наносилась вязкая гидрогелевая композиция из природного биополимера-полисахарида альгината натрия и введенной в нее соли азотнокислого серебра. Выбор альгината натрия не случаен. Наряду с важными для использования в медицине свойствами – антиаллергенностью, гемостатичностью, большим содержанием микроэлементов, способствующих регенерации тканей – альгинат в данном случае играет роль восстановителя катионов серебра до наночастиц, то есть становится своеобразным биореактором, а также выполняет роль коллоидного стабилизатора нанодисперсий частиц металлов. Для усиления восстановления ионов серебра до наночастиц

Рис.2. Динамика течения раневого процесса у пациентки с пролежнем в области средней части бедра
Fig.2. Wound progression in a patient with sacral decubitus

this case plays the role of reducing silver cations to nanoparticles, i.e. becomes a kind of bioreactor, and also acts as a colloidal stabilizer of metal particles nanodispersions. To enhance reduction of silver ions to nanoparticles, alkali in the form of sodium carbonate was introduced into the polymer composition. In addition to indicated function, as evidenced by the appearance of a brown tint to composition, an alkaline environment at pH 7.0–8.5 favours wound healing. To prove the nanoparticles formation under these conditions, an alginate composition (composition 0.05%, 0.1M $AgNO_3$, 6% sodium alginate) applied to the surface of a fresh mica chip was examined by probe microscopy; the study confirmed formation of silver nanoparticles, crystallized as tetrahedrons up to 50 nm in height. Transfer of silver cations into the nanoform was approximately 80 %; however, due to the higher bactericidal activity of the nanoform, the larger contact surface with pathogenic microflora, the effect is higher than that of metal cations and is achieved at a lower concentration of silver nitrate; silver cations, also with bactericidal activity, are involved in the antimicrobial action.

The desirable simultaneous effect of both stages of the wound process – lysis of wound discharge and antimicrobial effect – in treatment of long-term non-healing wounds was mentioned earlier. The natural proteolytic enzyme papain was used to achieve lysis of purulent secretions, which has a rather mild effect on the tissue and acts in a wide

в полимерную композицию вводилась щелочь в виде карбоната натрия. Кроме указанной функции, подтверждаемой возникновением коричневого оттенка композиции, щелочная среда при pH 7,0–8,5 благоприятствует заживлению раны. Для доказательства образования наночастиц в этих условиях проводилось исследование композиции альгината (состав 0,05%, 0,1М $AgNO_3$, 6% альгинат натрия), нанесенной на поверхность свежего скола слюды, с помощью зондовой микроскопии; исследование подтвердило образование наночастиц серебра, выкристаллизованных в виде тетраэдров высотой до 50 нм. Переход катионов серебра в наноформу составлял примерно 80% однако ввиду большей бактерицидной активности наноформы, большей поверхности соприкосновения с патогенной микрофлорой эффект воздействия выше, чем у катионов металла и достигается при более низкой концентрации нитрата серебра; катионы серебра, так же обладающие бактерицидностью, участвуют в антимикробном воздействии.

Ранее говорилось о желательном одновременном воздействии при лечении длительно незаживающих ран на обе стадии раневого процесса – лизис раневого отделяемого и антимикробный эффект, проходящие одновременно. Для достижения лизиса гнойного отделяемого нами был использован природный протеолитический фермент папаин, обладающий достаточно мягким воздействием на ткани и действующий в широком интервале pH и температуры. Необходимо было оценить возможное влияние на совместное использование папаина и ионов серебра на переход последнего в наноформу и снижение активности фермента, так как известно о нежелательном взаимодействии катионов металлов и ферментов [4]. Методом зондовой микроскопии подтверждено образование в указанной композиции наночастиц серебра (при наличии частиц в ионной форме), а определение активности папаина – методом Ансона показало ее сохранение, причем предложенное введение в композицию второго полимера, а именно – гидроксипропилметилцеллюлозы, позволило защитить фермент даже в случае обязательной для медицинских изделий операции гамма-стерилизации, сохраняя реологические параметры композиции.

Таким образом, все компоненты создаваемого медицинского изделия (салфетка "Колетекс АСП", получено разрешение РЗН для широкого применения) оказывают лечебное воздействие: одновременное присутствие фермента и биоцида позволяют воздействовать на различные звенья

pH and temperature range. It was necessary to evaluate the possible effect on the joint use of papain and silver ions on the transition of the latter to the nanoform and decrease of the enzyme activity, as undesirable interaction between metal cations and enzymes is known [4]. Formation of silver nanoparticles in the above composition (in the presence of particles in ionic form) was confirmed by probe microscopy, and determination of papain activity by the Anson method showed its preservation, and proposed introduction of a second polymer, namely, hydroxypropyl methylcellulose, into the composition allowed the enzyme to be protected even in the case of the mandatory for medical products gamma sterilization operation, preserving rheological parameters of composition.

Thus, all components of the medical product created (Coletex ASP wipe, RZN approval for wide use) have a therapeutic effect: simultaneous presence of an enzyme and a biocide can affect different parts of the wound process to clean the wound and eliminate the purulent inflammatory focus, sodium alginate biopolymer helps to create a desired pH in the wound for healing, leads to increased regeneration processes, the textile material protects the wound from external influences, sorbs the wound.

Figure 2 shows the results of the chronic wound treatment in the middle third of the thigh. Within three weeks there is complete clearing of the wound, reduction of its area, reparative tissue regeneration and closure of the soft tissue defect (without surgical treatment).

CONCLUSIONS

- A new generation of domestic therapeutic depot material containing silver nanoparticles (universal biocide) and natural papain enzyme has been developed;
- the therapeutic depo-material obtained using this technology allows effective treatment of chronic wounds that are difficult to heal, which has been confirmed in clinical conditions.

PEER REVIEW INFO

Editorial board thanks the anonymous reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work. It is also grateful for their consent to publish papers on the journal's website and SEL eLibrary eLIBRARY.RU.

Declaration of Competing Interest. *The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.*

раневого процесса для очищения раны и ликвидации гнойно-воспалительного очага, биополимер альгинат натрия способствует созданию в ране желательного для заживления pH, приводит к усилению процессов регенерации, текстильный материал защищает рану от внешнего воздействия, сорбирует раневое оделяемое, за счет гидрогелевой формы композиции способствует атравматичности перевязок.

На рис.2 представлены результаты лечения хронической раны в области средней трети бедра. В течение трех месяцев наблюдается полное очищение раны, сокращение ее площади, репаративная регенерация тканей и закрытие мягкотканного дефекта (без применения хирургического лечения).

ВЫВОДЫ

- Разработана технология производства отечественного лечебного депо-материала нового поколения, содержащего наночастицы серебра (универсальный биоцид) и природный фермент папаин;
- полученный по данной технологии лечебный депо-материал позволяет эффективно лечить трудно заживляемые хронические раны, что подтверждено в клинических условиях.

ИНФОРМАЦИЯ О РЕЦЕНЗИРОВАНИИ

Редакция благодарит анонимного рецензента (рецензентов) за их вклад в рецензирование этой работы, а также за размещение статей на сайте журнала и передачу их в электронном виде в НЭБ eLIBRARY.RU.

Декларация о конфликте интересов. *Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов или личных отношений, которые могли бы повлиять на работу, представленную в данной статье.*

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Кричевский Г.Е.** Зеленые и природоподобные технологии – основа устойчивого развития цивилизации. Т.1. М., 2018.
2. **Кричевский Г.Е.** Зеленые и природоподобные технологии – основа устойчивого развития цивилизации для будущих поколений. Т.1. М., 2019.
3. **Кричевский Г.Е.** Зеленые и природоподобные технологии – основа устойчивого развития цивилизации. Т.1. М., 2020.
4. **Улахович Н.А., Медянцева Э.П., Бабкина С.С., Кутырева М.П.** Учебное пособие для лекционного курса "Основы бионеорганической химии". Казань, 2012.

25 YEARS

pharmtech & ingredients

25-я Юбилейная Международная выставка оборудования, сырья и технологий для фармацевтического производства

Забронируйте стенд

21–24 ноября 2023

Москва, Крокус Экспо

pharmtech-expo.ru

+7 (495) 799-55-85
pharmtech@ite.group

ITE ОРГАНИЗАТОР ORGANISER

0+