

## ФАРМАКОКИНЕТИКА ПЕРСПЕКТИВНОГО КСЕРОГЕЛЯ НА ОСНОВЕ НЕЙТРАЛЬНОГО ГИДРОЗОЛЯ ДИОКСИДА ТИТАНА ДЛЯ ТЕРАПИИ ОЖОГОВЫХ РАН

Дуданов И.П.<sup>1,2</sup>, Виноградов В.В.<sup>1,2</sup>, Криштоп В.В.<sup>1</sup>, Никонорова В.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Университет ИТМО, Санкт-Петербург, e-mail: ortoped.ivanovo@rambler.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, e-mail: ipdudanov@gmail.com;

<sup>3</sup>ФГБОУ ВО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия имени Д.К. Беляева», Иваново, e-mail: bgnikon@gmail.com

Изучена фармакокинетика перспективного ксерогеля на основе нейтрального гидрозоля диоксида титана для терапии ожоговых ран. Исследовано распределение ксерогеля при его однократном внутривенном введении самцам крыс Wistar в дозах 0,2, 0,1 и 0,05 мл/кг. Взятие образцов крови проводилось до начала введения ксерогеля (фон) и далее спустя 10 минут, 20 минут, 40 минут, 1 час, 10 часов и 24 часа после введения. Взятие образцов органов (кожи, селезенки, печени, почки) проводили у животных, подвергнутых эвтаназии до начала введения ксерогеля (фон) и далее спустя 1, 24, 72, 120 часов после введения ксерогеля. Для определения содержания титана в образце методом ИСП-АЭС исследуемый образец минерализовали кислотным гидролизом с микроволновым разложением. По результатам экспериментов, на основании полученных первичных данных и общей биэкспоненциальной модели:  $C = A \cdot \exp(-\alpha t) + B \cdot \exp(-\beta t)$ . Динамика выведения ксерогеля диоксида титана из крови была достаточно медленной, для дозы 0,2 мл/кг основные фармакокинетические константы были следующими: C максимальное = 1,44 – 1,40 мкг/мл, K всасывания = 0,13562, K элиминации = 0,00044, клиренс = 15,372 мл/мин. Наблюдалось накопление соединения в печени (клиренс при введенной дозе 0,2 мл/кг составил 0,011 мл/мин.) и в селезенке (клиренс при введенной дозе 0,2 мл/кг составил 0,001 мл/мин.), фармакокинетические параметры были в значительной мере сопоставимыми для всех использованных доз. В коже накопления ксерогеля не наблюдалось, спустя 24 часа после внутривенного введения его концентрация в этом органе была нулевой, в почках концентрация диоксида титана была нулевой в течение всего периода эксперимента. Полученные результаты характеризуют безопасность использования полученного ксерогеля оксида титана в качестве потенциального противоожогового средства.

Ключевые слова: фармакокинетика, оксид титана, ксерогель, крысы.

## PHARMACOKINETICS OF PERSPECTIVE XEROGEL BASED ON THE NEUTRAL HYDROZOL OF TITANIUM DIOXIDE FOR BURNER THERAPY

Dudanov I.P.<sup>1,2</sup>, Vinogradov V.V.<sup>1,2</sup>, Chrishtop V. V.<sup>1</sup>, Nikonorova V.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ITMO University, St. Petersburg, e-mail: ortoped.ivanovo@rambler.ru;

<sup>2</sup>Petrozavodsk State University, Petrozavodsk, e-mail: ipdudanov@gmail.com;

<sup>3</sup>Ivanovo State Agricultural Academy named after D.K. Belyaev, Ivanovo, e-mail: bgnikon@gmail.com

The pharmacokinetics of a promising xerogel based on neutral titanium dioxide hydrosol for the treatment of burn wounds has been studied. The distribution of xerogel was studied after its single intravenous administration to male Wistar rats at doses of 0.2 ml / kg, 0.1 ml / kg and 0.05 ml / kg. Taking blood samples was carried out before the start of the xerogel injection (background) and then later, 10 minutes, 20 minutes, 40 minutes, 1 hour, 10 hours and 24 hours after the injection. Organ samples (skin, spleen, liver, kidney) were taken from animals euthanized before the start of xerogel injection (background) and then 1 hour, 24 hours, 72 hours, 120 hours after xerogel injection. To determine the titanium content in the sample by the ICP-AES method, the test sample was mineralized by acid hydrolysis with microwave decomposition. According to the results of experiments, on the basis of the obtained primary data and the general biexponential model:  $C = A \cdot \exp(-\alpha t) + B \cdot \exp(-\beta t)$ . The dynamics of elimination of titer dioxide xerogel from the blood was rather slow, for a dose of 0.2 ml / kg, the main pharmacokinetic constants were as follows: C maximum = 1.44 - 1.40  $\mu\text{g} / \text{ml}$ , K absorption = 0.13562, K elimination = 0,00044, Clearance = 15.372 ml / min. There was an accumulation of the compound in the liver (clearance at a dose of 0.2 ml / kg introduced was 0.011 ml / min.) and in the spleen (clearance at a dose of 0.2 ml / kg was 0.001 ml / min.), Pharmacokinetic parameters were significant comparable to all used doses. No accumulation of the drug was observed in the skin, 24 hours after intravenous administration, its concentration in this organ was zero, and in the kidneys, the concentration of titanium dioxide was zero throughout the entire period of the experiment. The results obtained characterize the safety of using the obtained xerogel of titanium oxide as a potential anti-burn agent.

Keywords: pharmacokinetics, titanium oxide, xerogel, rats.

Ксерогель, в отличие от гидрогеля, состоит из сшитых полимеров, из которых удалена жидкая среда, благодаря этому уменьшается пористость, давление внутри геля, вязкость, а коэффициент диффузии при этом имеет очень высокое значение, благодаря этому ксерогели представляют большой интерес для биомедицинских исследований [1]. Ксерогелевые материалы можно адаптировать под конкретные задачи раневой повязки, пористость, весовое соотношение и желаемую кинетику лекарственного средства [2]. На сегодняшний день нами обнаружено только одно средство против шрамов и рубцов на ксерогелевой основе XERAGEL (КСЕРОГЕЛЬ) BIODERMIS XSO-797, регистрационное удостоверение: РЗН 2013/1085 от 05.09.2013. Производитель: Biodermis, 1820 Whitney Mesa Drive, Henderson, Nevada 89014, USA (США). Отечественных аналогов нет.

Цель исследования - оценить фармакокинетику ксерогеля на основе нейтрального гидрозоля диоксида титана при внутривенном введении, для последующего применения в качестве противоожогового средства.

#### **Материал и методы исследования**

Синтез ксерогеля на основе нейтрального гидрозоля диоксида титана был осуществлен в лаборатории SCAMT Университета ИТМО.

Распределение ксерогеля при его однократном внутривенном введении было изучено на самцах крыс Wistar, массой 180–200 граммов, содержащихся в стандартных условиях вивария. Было сформировано 3 группы крыс по 16 животных, в каждой из групп ксерогель вводили в дозах 0,2, 0,1 и 0,05 мл/кг соответственно. Взятие образцов крови проводилось до начала введения ксерогеля (фон) и далее спустя 10 минут, 20 минут, 40 минут, 1 час, 10 часов и 24 часа после введения. Взятие образцов органов (кожи, селезенки, печени, почки) проводили у животных, подвергнутых эвтаназии до начала введения ксерогеля (фон) и далее спустя 1, 24, 72, 120 часов после введения ксерогеля. В каждую временную точку все образцы забирали не менее чем от 4 животных. Все манипуляции с использованием животных проводились в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006). Стандартные образцы анализируемого элемента для калибровочных растворов были приготовлены из монокомпонентного стандарта Ti MERCK в 0,1 N HNO<sub>3</sub>. Диапазон калибровочных растворов: 0,001-10 мг/л. По результатам экспериментов, на основании полученных первичных данных и общей биэкспоненциальной модели:  $C = A \cdot \exp(-\alpha t) + B \cdot \exp(-\beta t)$  [3] (1), были построены фармакокинетические модели выведения ксерогеля из

организма экспериментальных животных. В этой модели  $\alpha$  – константа, характеризующая скорость нарастания концентрации вещества,  $\beta$  – константа, описывающая скорость элиминации изучаемого соединения,  $t$  – время, прошедшее после введения ксерогеля, в минутах,  $A$  и  $B$  – константы, описывающие амплитуду изменения исследуемого вещества.  $C$  – концентрация исследуемого соединения в исследуемом образце. Для каждой из моделей рассчитывались следующие параметры: константа всасывания ксерогеля ( $K_a$ ), константа элиминации ксерогеля ( $K_{el}$ ), объем распределения ксерогеля в мл ( $V_d$ ), клиренс ксерогеля, мл/мин. ( $Cl$ ), площадь под фармакокинетической кривой, мкг/мл/мин. ( $AUC$ ). Между расчетными, модельными показателями и экспериментальными значениями рассчитывался коэффициент линейной корреляции Пирсона. Проверка значимости модели регрессии проводилась с использованием F-критерия Фишера, при заданном уровне значимости ( $p$ )  $p < 0,01$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Количественные данные по концентрации ксерогеля в крови были получены только для максимальной дозы 2000 мкг/крысу, поскольку при введении меньших доз концентрация ксерогеля в крови, вследствие его адсорбции в органах, была недостаточна для количественной оценки, анализ проб показал значения ниже пределов чувствительности метода (табл. 1). При этом используемая математическая модель приняла вид:

$$C = 1,196 \times \exp(-0,13562t) + 0,283 \times \exp(-0,00044t). \quad (2)$$

Результаты расчетов на основании выражения (2) представлены в таблице 1.

Таблица 1

Значения концентрации оксида титана в крови животных при однократном в/в введении в дозе 2000 мкг

Время, t, мин.	$C_э$ , мкг/мл	$C_м$ , мкг/мл	$\Delta$ , $C_м - C_э$ , мкг/мл
10	0,59	0,59	0,00
20	0,36	0,36	0,00
40	0,34	0,28	-0,06
60	0,20	0,28	0,08
600	0,21	0,22	0,01
1440	0,15	0,15	0,00

Примечания. Экспериментальные ( $C_э$ ) и модельные ( $C_м$ ),  $\Delta$  – разность между значениями ( $C_м - C_э$ ); коэффициент корреляции ( $r$ ) между значениями ( $C_м$ ) и ( $C_э$ ); коэффициент корреляции  $r = 0,961$ , уровень значимости ( $p$ )  $p = 0,002 (< 0,01)$ .

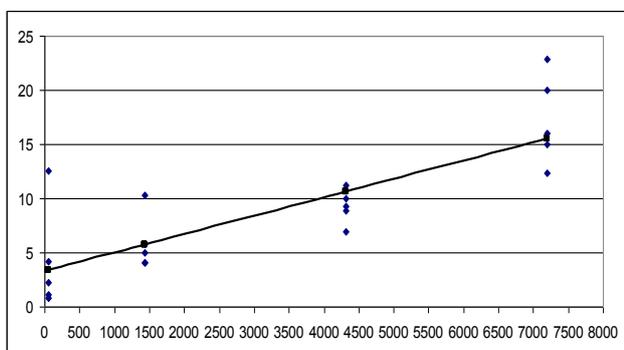
Таблица 2

Фармакокинетические параметры динамики нейтрального гидрозоля диоксида титана

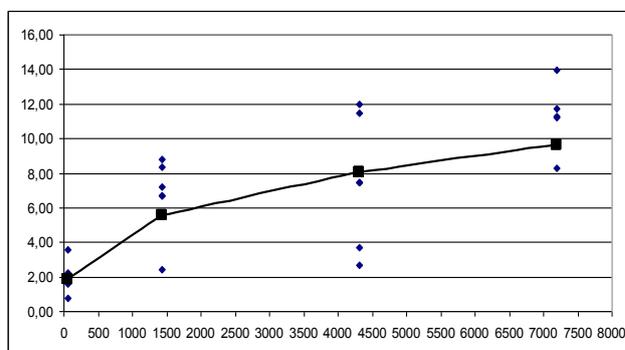
Исследуемый объект	Кровь	Гомогенат печени			Гомогенат селезенки		
		(2)	(6)	(7)	(8)	(12)	(13)
Номер модели	(2)	(6)	(7)	(8)	(12)	(13)	(14)
Ka	0,13562	0,00030	0,00011	0,00065	0,00007	0,00041	0,00108.
Kel	0,00044	0,00009	0,00004	0,00029	0,00002	0,00013	0,00039
Vd, мл	6761,325	113,298	47,887	51,228	47,807	50,472	51,001
Kl, мл/мин.	15.372	0.011	0.002	0.015	0.001	0.007	0.020
AUC, мкг/мл/мин.	650.5	189811,9	550078,8	33540,9	1901577,4	147859,0	25202,4

На основании приведенных данных (табл. 2) можно заключить, что имеет место быстрая динамика всасывания ксерогеля и достаточно медленная динамика его выведения, т.к. значения  $Ka \gg Kel$ ,  $0,13562 \gg 0,00044$  соответственно. Коэффициенты корреляции ( $r = 0,961$ ) между экспериментальными и модельными значениями концентраций ксерогеля, а также уровень значимости  $p = 0,002$  ( $< 0,01$ ) демонстрируют адекватность используемой фармакокинетической модели для описания зависимости величины (C) от (t) [4]. Динамика выведения ксерогеля из крови крыс указывает на возможность его поступления и накопления во внутренних органах животных, например в селезенке и печени.

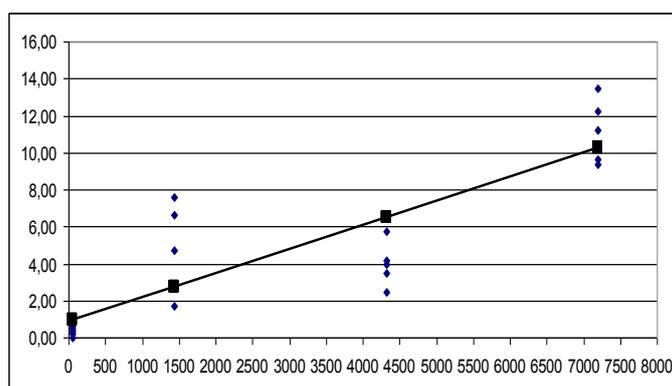
Количественные данные по концентрации ксерогеля в печени крыс были получены для всех использованных доз ксерогеля, которые составили 2000, 1000 и 500 мкг на крысу. В течение эксперимента наблюдалось увеличение концентрации ксерогеля в печени животных, данные в виде тренда приведены на (рис. 1 А-В).



А



Б



## В

*Рис. 1. Изменение концентрации диоксида титана в печени крыс после внутривенного введения ксерогеля: А) доза ксерогеля 2000 мкг, Б) доза ксерогеля 1000 мкг, В) доза ксерогеля 500 мкг*

Примечания. Ось абсцисс - время после введения ксерогеля, минут. Ось ординат - концентрация ксерогеля, С, мкг/гр. Сплошная линия – трендовые значения концентрации ксерогеля. Точки – экспериментальные значения концентрации ксерогеля.

Трендовая (не камерная) зависимость изменения параметра (С) от (t) для внутривенного введения 2000 мкг представлена в виде выражения (3):

$$C=3,3112+0,0017t, \quad (3)$$

где t – время, прошедшее после введения ксерогеля, минут;

для внутривенного введения 1000 мкг – в виде выражения (4):

$$C=0,4529 \times t^{0,3438}, \quad (4)$$

для внутривенного введения 500 мкг – в виде выражения (5):

$$C=0,8661+0,0013t. \quad (5)$$

Коэффициенты корреляции для выражений (3), (4) и (5) составили:  $r = 0,812$ ;  $r = 0,800$  и  $r = 0,845$  соответственно. Критерий Фишера (F) для выражений (3), (4) и (5) составил: 32,83; 30,6 и 45,07 соответственно, при  $p < 0,001$ .

Указанные статистические параметры для выражений (3), (4) и (5) демонстрируют достаточную информативность значимость полученных трендов на фоне трех исследованных доз, что позволяет сделать заключение о наличии эффекта накопления ксерогеля в печени экспериментальных животных. Однако отмечается высокая вариабельность концентраций ксерогеля в интервале доз от 500 до 2000 мкг/кг, что приводит к приближенным оценкам его фармакокинетических характеристик.

Параметры фармакокинетической модели для тренда (3) имеют следующий вид (6):

$$C = 25,433 \times (\exp(-0,00009t) - \exp(-0,00030t)). \quad (6)$$

Параметры фармакокинетической модели для тренда (4) имеют следующий вид (7):

$$C = 31,308 \times (\exp(-0,00004t) - \exp(-0,00011t)). \quad (7)$$

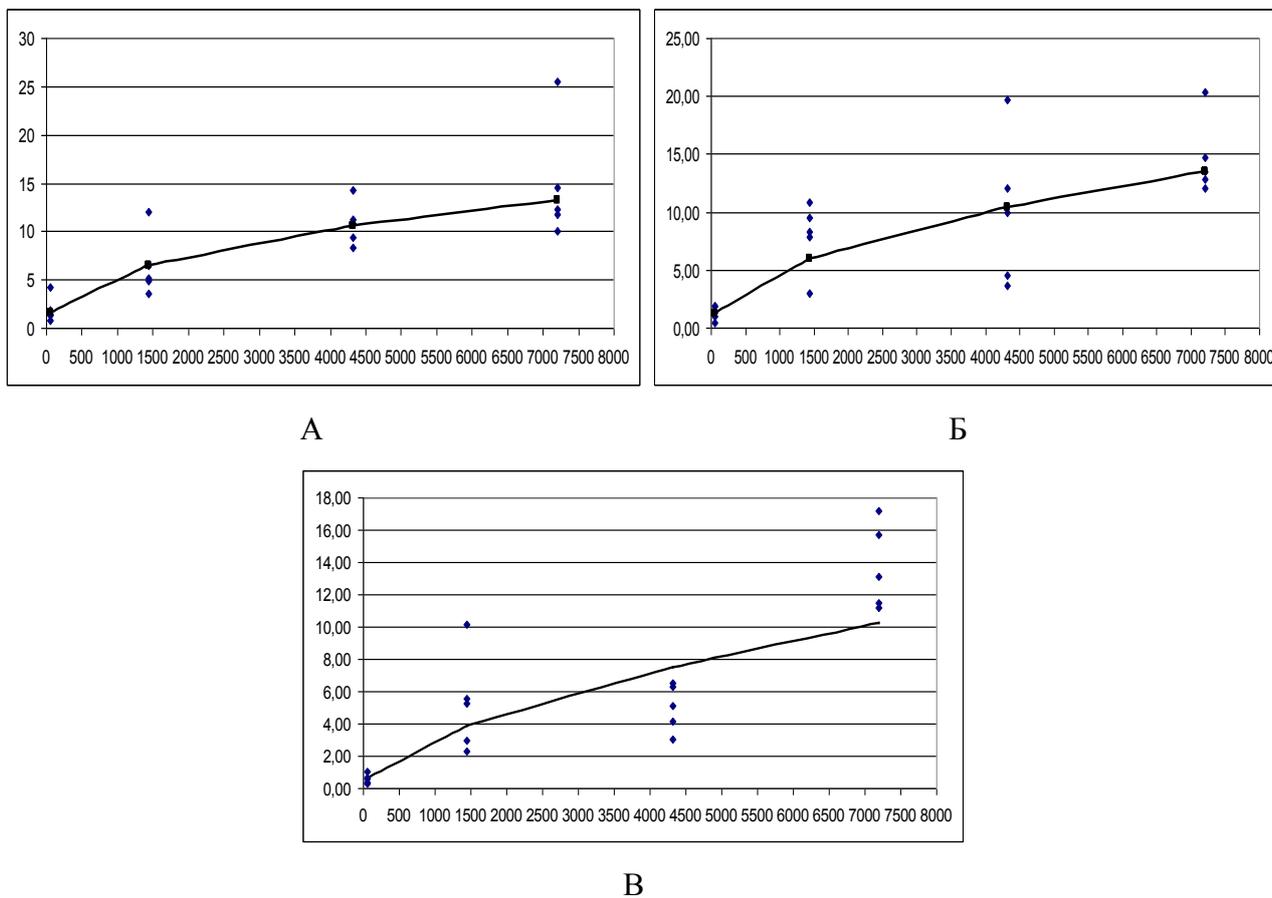
Параметры фармакокинетической модели для тренда (5) имеют следующий вид (8):

$$C = 17,716 \times (\exp(-0,00029t) - \exp(-0,00065t)). \quad (8)$$

На основании приведенных данных (табл. 2) можно заключить, что при внутривенном введении ксерогеля в интервале доз от 500 до 2000 мкг наблюдаются сопоставимые фармакокинетические параметры. Анализ фармакокинетических параметров показывает, что на фоне внутривенного введения диоксида титана в печени крыс происходит накопление ксерогеля, так как параметры  $K_a > K_{el}$  и значения клиренса минимальны [5]. Это подтверждает

трендовые зависимости величины (С) от времени (t), представленные на (рис. 2 А-В). При увеличении дозы диоксида титана эффект его накопления в печени становится более выраженным.

Количественные данные по концентрации ксерогеля в селезенке крыс были получены для всех использованных доз ксерогеля, которые составили 2000, 1000 и 500 мкг на крысу. В течение эксперимента наблюдалось увеличение концентрации ксерогеля в селезенке животных, данные в виде тренда приведены на (рис. 2 А-В).



*Рис. 2. Изменение концентрации диоксида титана в селезенке крыс после внутривенного введения ксерогеля: А) доза ксерогеля 2000 мкг, Б) доза ксерогеля 1000 мкг, В) доза ксерогеля 500 мкг*

Примечания. Ось абсцисс - время после введения ксерогеля, минут. Ось ординат - концентрация ксерогеля, С, мкг/гр. Сплошная линия – трендовые значения концентрации ксерогеля. Точки – экспериментальные значения концентрации ксерогеля.

Трендовая (не камерная) зависимость изменения параметра (С) от (t) для внутривенного введения ксерогеля в дозе 2000 мкг представлена в виде выражения (9):

$$C=0,2535 \times t^{0,4453} \quad (9)$$

для внутривенного введения в дозе 1000 мкг – в виде выражения (10):

$$C=0,1478 \times t^{0,508} \quad (10)$$

для внутривенного введения в дозе 500 мкг – в виде выражения (11):

$$C=0,0479 \times t^{0,6038} \quad (11)$$

Коэффициенты корреляции для выражения (9), (10) и (11) составили:  $r = 0,903$ ;  $r = 0,881$  и  $r = 0,925$  соответственно. Критерий Фишера (F) для выражения (9), (10) и (11) составил: 79,48; 62,64 и 106,97 соответственно, при  $p < 0,001$ .

Полученные статистические параметры для выражений (9), (10) и (11) показывают достаточную информативность и значимость трендов на (рис. 3 А-В). Направленность изменений концентраций диоксида титана демонстрирует наличие эффекта накопления ксерогеля в селезенке в интервале доз от 500 до 2000 мкг.

Параметры фармакокинетической модели для тренда (9) составили (12):

$$C = 59,534 \times (\exp(-0,00002t) - \exp(-0,00007t)). \quad (12)$$

Параметры фармакокинетической модели для тренда (10) составили (13):

$$C = 29,610 \times (\exp(-0,00013t) - \exp(-0,00041t)). \quad (13)$$

Параметры фармакокинетической модели для тренда (11) составили: (14):

$$C = 15,291 \times (\exp(-0,00039t) - \exp(-0,00108t)). \quad (14)$$

На основании приведенных данных можно заключить, что при внутривенном введении ксерогеля в интервале доз от 500 до 2000 мкг наблюдаются сопоставимые фармакокинетические параметры. В селезенке крыс отмечается накопление ксерогеля, так как параметры  $K_a > K_{el}$  и значения клиренса минимальны. Это подтверждает трендовые зависимости величины (C) от времени (t), представленные на (рис. 3 А-В). При увеличении дозы диоксида титана эффект его накопления в селезенке становится более выраженным.

Количественные данные по концентрации диоксида титана в коже крыс были получены для всех изученных доз ксерогеля, которые составили 2000, 1000 и 500 мкг на крысу. Спустя 60 минут после введения ксерогеля средняя концентрация диоксида титана в коже для 3 вышеуказанных доз составила 17,21; 7,49 и 3,91 мкг/грамм соответственно. Спустя 24 часа и далее в процессе эксперимента ксерогель в коже не определялся, что может быть связано со спецификой проницаемости кожных покровов для мезопористых гелей [6].

Оценка концентрации диоксида титана в почках крыс была проведена для всех изученных доз ксерогеля, которые составили 2000, 1000 и 500 мкг на крысу. Ни на одном из изученных сроков забора органа диоксид титана в почках крыс не определялся. На основании этих данных можно заключить, что при внутривенном введении ксерогель в почках крыс не накапливается и в его выведении из организма почки участия не принимают.

Исследования токсичности различных форм диоксида титана многочисленны, особое внимание исследователей обращают на себя наноматериалы на основе диоксида титана [7; 8],

однако, несмотря на их обилие, данных о трансдермальном пути поступления недостаточно. Вместе с тем в органах-мишенях возможен рост генерации реактивных форм кислорода, перекисного окисления липидов, также возможно внутриклеточное депонирование вследствие прикрепления наночастиц к внутриклеточным органеллам и биологическим макромолекулам после повреждения клеточных мембран [9]. В наших исследованиях на модели термического ожога ШБ степени, при ежедневном нанесении ксерогеля на раневой дефект, продемонстрировано более полноценное ремоделирование кровеносного русла раневого дефекта, с большей активацией популяций базальных кератиноцитов области раневого дефекта, по отношению к морфологической картине в группе препарата сравнения – аргосульфана [10]. В основе такого рода эффектов могут лежать эпидермально-мезенхимальные эффекты [11], аналогично эффектам силиконовых гелей [12].

### **Заключение**

Изучение фармакокинетики ксерогеля при его однократном внутривенном введении крысам показало, что динамика выведения ксерогеля диоксида титана из крови была достаточно медленной. В коже накопления ксерогеля не наблюдалось, спустя 24 часа после внутривенного введения его концентрация в этом органе была нулевой, в почках концентрация диоксида титана была нулевой в течение всего периода эксперимента. Полученные результаты характеризуют безопасность использования полученного ксерогеля оксида титана в качестве потенциального противоожогового средства.

### **Список литературы**

1. Pramanik R., Ganivada B., Ram F., Shanmuganathan K., Arockiarajan A. Influence of nanocellulose on mechanics and morphology of polyvinyl alcohol xerogels. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2018. Vol. 90. P. 275-283. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2018.10.024.
2. Costache M.C., Vaughan A.D., Qu H., Ducheyne P., Devore D.I. Tyrosine-derived polycarbonate-silica xerogel nanocomposites for controlled drug delivery. *Acta Biomaterialia*. 2013. Vol. 9 (5). P. 6544-6552. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.01.034.
3. Duffull S. Basic Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, an Integrated Textbook and Computer Simulations. *Br. J. Clin Pharmacol*. 2012. Vol. 73 (2). P. 312- 313. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2011.04077.x.
4. Криштоп В.В., Пахрова О.А. Применение кластерного и корреляционного анализа для оценки гемореологических показателей у больных эссенциальной артериальной гипертензией // *Успехи современного естествознания*. 2014. № 9-2. С. 11-16.

5. Ahmed T.A. Pharmacokinetics of Drugs Following IV Bolus, IV Infusion, and Oral Administration. In Basic Pharmacokinetic Concepts and Some Clinical Applications. InTech. 2015. P. 151. DOI: 10.5772/61573.
6. Iglın V.A., Sokolovskaya O.A., Morozova S.M., Kuchur O.A., Nikonorova V.G., Sharsheeva A., Chrishtop V.V., Vinogradov A.V. Effect of Sol-Gel Alumina Biocomposite on the Viability and Morphology of Dermal Human Fibroblast Cells. ACS Biomater Sci Eng. 2020. Vol. 6 (8). P. 4397-4400. DOI: 10.1021/acsbiomaterials.0c00721.
7. Shakeel M., Jabeen F., Shabbir S., Asghar M.S., Khan M.S., Chaudhry A.S. Toxicity of Nano-Titanium Dioxide (TiO<sub>2</sub>-NP) Through Various Routes of Exposure: A Review. Biol. Trace Elem Res. 2016. Vol. 172 (1). P. 1- 36. DOI: 10.1007/s12011-015-0550-x.
8. Winkler H.C., Notter T., Meyer U., Naegeli H. Critical review of the safety assessment of titanium dioxide additives in food. J. Nanobiotechnology. 2018. Vol. 16 (1). P. 51. DOI: 10.1186/s12951-018-0376-8.
9. Hou J., Wang L., Wang C., et al. Toxicity and mechanisms of action of titanium dioxide nanoparticles in living organisms. J. Environ Sci (China). 2019. Vol. 75. P. 40- 53. DOI: 10.1016/j.jes.2018.06.010.
10. Дуданов И.П., Виноградов В.В., Криштоп В.В., Никонорова В.Г. Сравнительная характеристика ранозаживляющего эффекта ксерогеля на основе нейтрального гидрозоля диоксида титана для терапии ожоговых ран // Исследования и практика в медицине. 2021. № 8 (1). P. 30-39. DOI: 10.17709/2409-2231-2021-8-1-3.
11. Werner S., Krieg T., Smola H. Keratinocyte-fibroblast interactions in wound healing. J. Invest Dermatol. 2007. Vol. 127 (5). P. 998-1008. DOI: 10.1038/sj.jid.5700786.
12. de Oliveira G.V., Gold M.H. Silicone sheets and new gels to treat hypertrophic scars and keloids: A short review. Dermatol. Ther. 2020. Vol. 33 (4). P. e13705. DOI: 10.1111/dth.13705.