

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ПОЛИВИНИЛСПИРТОВЫХ ПЛЕНОК С КОМБИНИРОВАННЫМ БИОЛОГИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ

¹ Московский государственный текстильный университет, Москва;

² ФГУП "Государственный научный центр по антибиотикам", Москва

Существующий в настоящее время ассортимент раневых покрытий значительно расширился в основном за счет создания принципиально новых средств на основе синтетических и природных полимеров. В отличие от обычной медицинской марли, раневые покрытия нового поколения выполняют несколько функций, наиболее важной из которых является лечебная, поэтому в их состав могут быть дополнительно введены одно или несколько лекарственных веществ различного назначения: антисептики и обезболивающие, антисептики и ферменты и т.д. [1]. Необходимость разработки новых перевязочных средств продолжает оставаться актуальной. Это объясняется дифференцированным подходом в лечении ран в зависимости от типа раны, фазы и особенностей индивидуального течения раневого процесса (резистентности к антибиотикам, аллергической реакции, непереносимости лекарственных веществ и т.п.).

Физическая форма современных перевязочных средств существенно отличается от традиционных: это губки, гели, гранулы [1]. Разработан ряд пленочных покрытий на основе поливинилового спирта, в том числе обладающих антимикробным [2], протеолитическим и комбинированным действием [3].

С целью создания новых покрытий пленочного типа для лечения гнойных и ожоговых ран, обладающих протеолитическим и антимикробным действием, в настоящей работе проведено сравнительное исследование свойств пленок на основе поливинилового спирта, содержащих протеазу "С" и антисептик — соль полигексаметиленгуанидина в виде гидрохлорида (ПГМГ-Х) или фосфата (ПГМГ-Ф). Кроме того, в состав пленок были введены модифицирующие вещества: альгинат натрия и тетраборат натрия. Известно, что тетраборат натрия является сшивающим реагентом и для поливинилового спирта [4], и для альгината натрия [5]. Образование в результате взаимодействия между этими соединениями внутри- и межмолекулярных связей приводит к формированию различных структур пленки, что позволит регулировать ее фармакокинетические свойства.

Протеаза "С" — комплексный ферментный препарат, состоящий из нескольких протеиназ, что обеспечивает высокую активность фермента в широком интервале pH [6]. ПГМГ-Х и ПГМГ-Ф — полимерные антимикробные вещества катионного типа с высокой бактериостатической активностью [7].

Ранее нами было показано [8, 9], что в водном растворе протеаза "С" участвует в реакции комплексообразования с солями ПГМГ, при этом свойства фермента существенно зависят от состава полимерной компо-

зиции. Как правило, иммобилизация комплекса на полимере-носителе дополнительно влияет на свойства фермента и на кинетику десорбции антимикробного вещества.

Экспериментальная часть

Поливинилспиртовые пленки, содержащие биологически активные вещества, получали по способу, описанному в [9].

Протеолитическую активность фермента определяли по методу [10], относительную активность (ОА) — как отношение активностей иммобилизованной и нативной протеазы, выраженное в процентах. Стабильность фермента оценивали путем определения остаточной активности после инкубации пленки в физрастворе при 37 °С в течение различного времени.

Кинетику выделения из пленок антимикробного вещества изучали экспресс-методом. Для этого тестируемый образец помещали в физраствор при 37 °С, через 30 мин брали пробу раствора на анализ, заменяя ее аликвотой физраствора. Процедуру повторяли многократно до прекращения выделения антимикробного вещества. Концентрацию антимикробного вещества в растворе анализировали по методу [11].

Адсорбционную способность определяли путем выдерживания пленок в физрастворе при комнатной температуре до равновесного набухания и последующего расчета количества воды, поглощенной 1 г пленки, выраженного в процентах.

Пленочные материалы стерилизовали радиационным облучением, доза 15 кГр (ГНЦ-Институт биофизики).

Антимикробную активность пленки в отношении *Staphylococcus aureus* анализировали в соответствии с [12] методом диффузии в агар (лаборатория микробиологии Государственного центра перевязочных, шовных и полимерных материалов в хирургии ИХ им. А. В. Вишневского) и характеризовали зоной задержки роста микроорганизмов от края образца размером 1 см², выраженной в мм. Нагрузка микробной флоры составляла 10⁵ КОЕ/мл.

Результаты и их обсуждение

Для сравнительного анализа исследовали пленки, полученные из формовочных композиций разного состава (табл. 1). Как видно из данных, представленных в табл. 1 и на рис. 1, 2, фармакокинетические свойства материалов существенно зависят от типа антимикробного вещества, а также от количества и типа модифи-

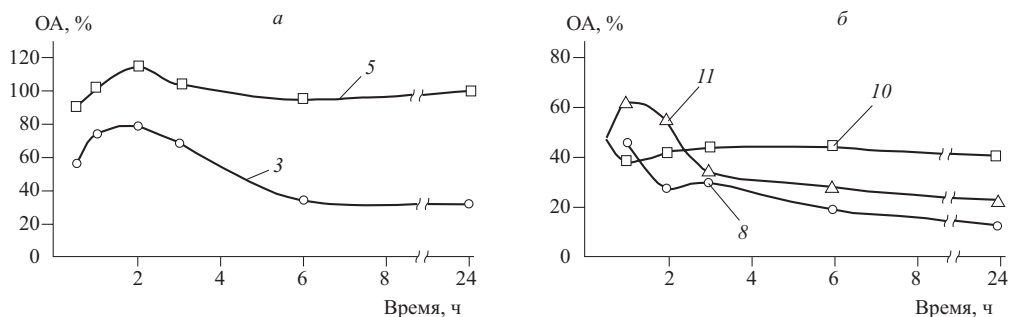


Рис. 1. Кинетика инактивации биологически активных пленок разного состава. Антимикробное вещество: а — ПГМГ-Ф; б — ПГМГ-Х. Номера кривых соответствуют № п.п. табл. 1. По оси абсцисс — время, ч. По оси ординат — ОА, %.

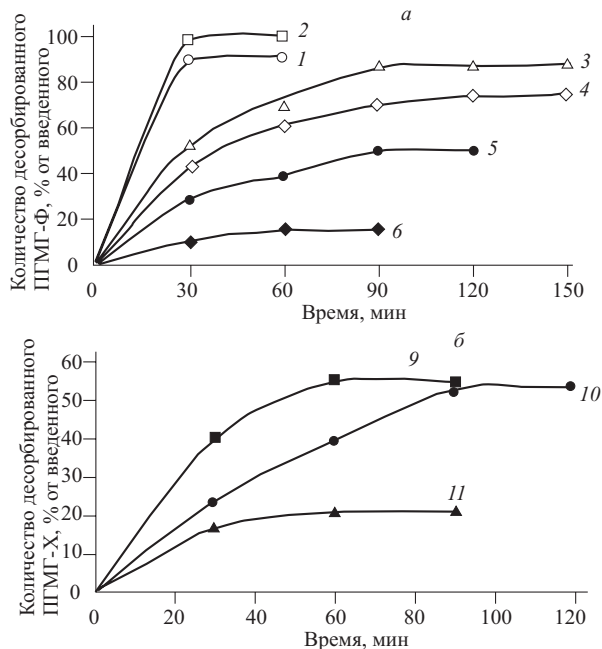


Рис. 2. Кинетика десорбции антимикробного вещества из пленок разного состава. Номера кривых соответствуют № п.п. табл. 1. По оси абсцисс — время, ч. По оси ординат — ОА, %.

цирующих добавок. Использование в композиции ПГМГ-Х позволяет сохранить более высокий уровень активности фермента после иммобилизации и стерили-

зации, однако он менее устойчив к длительному температурному воздействию. Включение в состав пленок альгината натрия повышает ОА фермента в обоих случаях, но снижает его стабильность в присутствии ПГМГ-Х.

Различный характер кривых инактивации фермент-содержащих пленок и увеличение остаточной активности объясняется структурными различиями пленок, которые в значительной степени определяются конформационными особенностями макромолекул антимикробного вещества, связанными с различной степенью нейтрализации положительно заряженных ионных групп. В работе [9] было показано, что введение в раствор поливинилового спирта полигексаметиленгуанидина разрушает его структуру, о чем свидетельствует изменение реологических характеристик раствора, причем добавление ПГМГ-Х снижает вязкость исходного раствора в меньшей степени, чем ПГМГ-Ф. Это свидетельствует об образовании новой системы водородных связей с участием развернутых макромолекул ПГМГ-Х. Структура пленки, сформированной из такого раствора должна, очевидно, быть более дефектной, что облегчает диффузионные процессы и приводит к увеличению адсорбционной способности пленки, содержащей ПГМГ-Х, по сравнению с пленкой, в составе которой ПГМГ-Ф, а также проявление более высокой относительной активности. Свернутые макромолекулы ПГМГ-Ф можно рассматривать

Состав формовочных композиций* и свойства пленок, содержащих протеазу “С” и антимикробное вещество Таблица 1

№ п.п.	Антимикробное вещество	Содержание в композиции, %		ОА, %	Остаточная активность через 24 ч, % от нативной	ОА через 1 год после стерилизации, %	Адсорбирующая способность по воде, %
		альгината	тетрабората натрия				
1	ПГМГ-Ф	—	—	36	25	57	380
2		—	$1,3 \cdot 10^{-3}$	33	19	—	—
3		1	—	74	31	55	500
4		2	—	47	18	47	—
5		1	$0,7 \cdot 10^{-3}$	51	99	—	500
6		1	$1,3 \cdot 10^{-3}$	41	89	—	—
7	ПГМГ-Х	—	—	91	19	74	580
8		—	$0,7 \cdot 10^{-3}$	94	13	68	540
9		1	—	108	37	75	600
10		2	—	92	44	70	—
11		2	$0,7 \cdot 10^{-3}$	120	22	93	713

* Содержание в формовочной композиции протеазы с (ПР) 0,1 %, соль ПГМГ 0,1 %.

Таблица 2
Антимикробная активность пленок*, содержащих биологически активные вещества

Биологически активные вещества, входящие в состав пленки	Зона задержки роста микроорганизмов, мм
Протеаза "С", ПГМГ-Х	2
Протеаза "С", ПГМГ-Х, тетраборат натрия	2
Протеаза "С", ПГМГ-Х, тетраборат натрия, альгинат	1
Протеаза "С", ПГМГ-Ф	4
Протеаза "С", ПГМГ-Ф, тетраборат натрия	4
Протеаза "С", ПГМГ-Ф, тетраборат натрия, альгинат	2

* Образцы после стерилизации.

как вкрапления в структуре пленки, в меньшей степени разрушающие систему ее связей. Невысокая относительная активность пленки с ПГМГ-Ф, имеющей жесткую структуру, является кажущейся. Через 1 – 3 ч инкубации в физрастворе при 37 °С пленка пластифицируется и активность проявляется более полно.

Результаты исследования кинетики десорбции антимикробного вещества показали, что ПГМГ-Ф десорбируется в модельных условиях в большем количестве и быстрее, чем ПГМГ-Х. Вероятно, это объясняется разницей в конформации макромолекул рассматриваемых веществ: макромолекулы ПГМГ-Ф имеют компактную конформацию, вследствие чего испытывают незначительные пространственные затруднения в условиях десорбции. Введение тетрабората натрия в отсутствие альгината даже способствует выделению ПГМГ-Ф: уменьшение свободного объема в результате возникающих в структуре полимера сшивок приводит к "выталкиванию" молекул ПГМГ-Ф из пленки. Скорость десорбции и количество выделенного из пленки антимикробного вещества существенно снижается, если в составе пленки находятся и тетраборат, и альгинат. По-видимому, в этом случае макромолекулы антимикробного вещества оказываются заключенными в полимерную сетку, в образовании которой участвуют и молекулы альгината.

Данные по десорбции из пленок антимикробных веществ хорошо коррелируют с результатами по определению антимикробной активности (табл. 2).

Таким образом установлена зависимость фармакокинетических свойств пленок от состава композиций, используемых для их получения, и показано, что пленка, содержащая совместно иммобилизованные протеазу "С" и полигексаметиленгуанидин фосфат, проявляет более высокую ферментативную стабильность и антимикробную активность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биологически активные перевязочные средства в комплексном лечении гнойно-некротических ран, В. Д. Федоров, И. М. Чиж (ред.), МЗ РФ, Москва (2000).
2. С. Д. Андреев, В. И. Маслов, А. Ю. Яшин, В. Я. Богомоловный, *Материалы I между. конф. Современные подходы к разработке эффективных перевязочных средств, шовных материалов и полимерных имплантатов*, Москва (1989), сс. 116 – 117.
3. А. Д. Вирник, И. Ф. Скокова, Т. Н. Юданова и др., *Прикл. биохимия и микробиология*, **33**(4), 428 – 432 (1997).
4. Н. П. Елинов, *Химия микробных полисахаридов*, Москва (1984).
5. *Полимеры в фармации*, А. И. Тенцова, М. Т. Алюшина (ред.), Москва (1985).
6. И. Н. Крестьянова, А. В. Луканин, В. В. Писарев, *Материалы I между. конгресса "Биотехнология — состояние и перспективы развития"*, Москва (2002), с. 69.
7. Н. П. Баркова, Г. П. Богачук, *Тез. докл. II Росс. нац. конгресс "Человек и лекарство"*, Москва (1995), с. 178.
8. Е. Ю. Алешина, Т. Н. Юданова, И. Ф. Скокова, *Хим. волокна*, **6**, 4 – 6 (2001).
9. Т. Н. Юданова, И. Ф. Скокова, Е. Ю. Алешина, Л. С. Гальбрайт, *Хим. волокна*, **5**, 39 – 43 (2000).
10. Е. Д. Каверзнева, *Приклад. биохимия и микробиол.*, **7**(2), 225 – 227 (1971).
11. Ю. А. Клячко, М. А. Шнайдер, М. А. Коршунова и др., *ЖВХО им. Д. И. Менделеева*, **29**(1), 105 – 107 (1984).
12. *Государственная фармакопея СССР*, XI изд., вып. 2, Москва (1990), сс. 210 – 225.

Поступила 26.12.02.