

## РАЗРАБОТКА ПОЛИМЕРНЫХ ПЛЕНОК, СОДЕРЖАЩИХ ИММОБИЛИЗОВАННУЮ ПРОТЕАЗУ И ДИОКСИДИН

<sup>1</sup> Каунасский Медицинский университет;

<sup>2</sup> ЗАО "ВЮК", Вильнюс, Литва

Целью настоящей работы было создание водорастворимых полимерных пленок, содержащих протеолитический фермент процеллан и антимикробный препарат широкого спектра действия диоксидин ("Продиоксилонг"), которые обеспечивали бы полную биодоступность, точную дозировку, сохраняли бы свою эффективность в течение длительного срока и были бы удобными для применения при лечении глубоких гнойно-некротических ран и гнойных очагов, в частности, в стоматологии. После оценки биологическими методами пролонгирующего действия и физико-химических свойств создаваемых полимерных пленок были выбраны основа, форма и размеры пленок, разработана их рецептура, технология, определены показатели качества. Определяли: внешний вид, размеры, pH суспензии, величину частиц процеллана и диоксицина, содержание влаги, протеолитическую активность, количественное содержание диоксицина, среднюю массу и микробиологическую чистоту пленок. Полимерные пленки при хранении в естественных условиях были стабильны в течение года.

В Литовской республике в НИИ Прикладной энзимологии НПО "Фермент" была разработана технология производства иммобилизованной протеазы (протосубтилина) — "Процелана", предназначенного для энзиматического очищения гнойных ран [1, 2]. Для ветеринарных целей "Процелан" выпускался в виде 20 % суспензии в изотоническом растворе натрия хлорида и был рекомендован для проведения клинических испытаний [3]. Процелан является нетоксическим соединением, что позволяет его использовать не только в виде существующей лекарственной формы, но и как действующее вещество для создания новых лекарственных форм [4]. Ранее мы сообщили о разработке более стабильных и более удобных для применения лекарственных форм: процеллана лиофилизированного [5] и мази процеллана [6], а также комбинированной мази "Продиоксин" [7], которая кроме процеллана содержала диоксидин — антибактериальный препарат широкого спектра действия [8].

Целью настоящей работы явилось создание водорастворимых полимерных пленок, содержащих процеллан и диоксидин ("Продиоксилонг"), которые обеспе-

чивали бы полную биодоступность, точную дозировку и сохраняла бы свою эффективность в течение длительного срока. Именно такая лекарственная форма была бы удобна для применения при лечении глубоких гнойно-некротических ран и гнойных очагов, в частности, в стоматологии.

С целью оценки пролонгирующего действия и физико-химических свойств создаваемых полимерных пленок мы биологическими методами исследовали три вида основ, приготовленных из разрешенных к использованию в медицинской практике компонентов: основу I, приготовленную на основе полимера биорастворимого, представляющего собой сополимер акрил-амида, N-винилпирролидона и этилакрилата [9], которая была апробирована при создании лекарственных полимерных пленок ангиального и офтальмологического назначения [10]; основу II на основе оксипропилметилцеллюлозы [11] и основу III на основе натрий карбоксиметилцеллюлозы, предложенную нами (табл. 1).

После криогенной обработки струей хлорэтила в зубо-десневый карман у кроликов вводили вирулентную культуру *Staphylococcus aureus* (клинический штамм). После нанесения ран кроликов разделяли на 3 группы по 5 особей в каждой, которым вводили пустые полимерные пленки, приготовленные, соответственно, на основах I, II и III. Раны закрывали стерильными тампонами и через каждые полчаса проводили наблюдение за растворимостью пленок до полного их растворения. Полимерные пленки, приготовленные на основе I, растворились в течение 6 ч, приготовленные на основе II — в течение 3,5 ч, и приготовленные на основе III — в течение 1,5 ч. Таким образом, наиболее длительной растворимостью и, тем самым, наиболее возможным пролонгированием выделения действующих веществ в биосреду обладали пленки, приготовленные на основе I.

Таблица 1

### Процентный состав основ полимерных пленок

Компоненты основ	Основы		
	I	II	III
Полимер биорастворимый	10,25	—	—
Масло какао	1,26	—	—
Оксипропилметилцеллюлоза	—	5,00	—
Макрогол-400	—	0,90	—
Шеллак	—	0,16	—
Натрий карбоксиметилцеллюлоза	—	—	5,00
Глицерин	—	—	10,00
Этанол	58,49	87,00	—
Вода дистиллированная	30,00	6,94	85,00

Важной характеристикой данной лекарственной формы являются форма и размеры пленок, обуславливаемые областью применения и оказывающие влияние на среднюю массу и, следовательно, на дозировку лекарственных веществ, входящих в их состав. На основании предварительных исследований пленок разных форм и размеров и методом экспертных оценок (врачи-стоматологи) было принято, что оптимальной является овальная форма (не имеет острых углов) длиной 6–9 мм, шириной 3–5 мм, толщиной 0,2–0,6 мм и массой от 10 до 30 мг.

При получении пленочных материалов из растворов жидкая пленка на стадии формирования образуется при выдавливании раствора на движущуюся ленту отливочной машины. При введении в состав раствора этанола испарение растворителя усиливается, время сушки исходной массы сокращается. Образование равномерной по толщине жидкой пленки обусловлено выходными факторами при течении растворов через фильтры, которые в свою очередь определяются значениями пластической вязкости растворов. Экспериментальными исследованиями было установлено, что наиболее удобные для переработки и формирования полимерной ленты растворы полимера биорастворимого в 40 % этаноле должны обладать вязкостью от 100 до 300 Пз, что соответствует концентрации полимера в растворе от 7 до 13 % [11].

С целью выбора оптимальных концентраций действующих веществ изготовили полимерные пленки массой 0,025 г трех рецептур: 1) содержащие 0,006 г процелана лиофилизированного и 0,002 г диоксида, 2) содержащие 0,003 г процелана лиофилизированного и 0,001 г диоксида, и 3) пустые. Биологические испытания на кроликах проводили, создавая гнойный очаг во рту животного вышеописанным способом. Кроликов разделили на 3 группы по 5 животных в каждой. Ежедневно кроликам I группы в гнойный очаг вводили полимерную пленку, приготовленную по первой рецептуре, кроликам II группы — полимерную пленку, приготовленную по второй рецептуре, и кроликам III группы — пустые. Раны закрывали стерильными марлевыми тампонами. При оценке эффективности лечения кроме общих критериев особое внимание обращали на показатели раневого процесса: изменение площади раны, количество гнойного отделяемого, интенсивность и характер воспалительной реакции в

ране и окружающих тканях, время появления грануляций и эпителизации, сроки полного ее заживления.

По результатам исследований, приведенным в табл. 2, видно, что применение для лечения данных рецептур полимерных пленок существенно сокращает сроки заживления экспериментальных гнойных ран. Период очищения гнойных ран сокращается в среднем на 2 дня, что способствует быстрому стиханию воспаления и приводит к заживлению ран примерно на 5 суток раньше, чем при спонтанном заживлении. Лечебная эффективность полимерных пленок обеих рецептур отличается между собой незначительно. Поэтому, исходя из экономических соображений и терапевтической эффективности полимерных пленок, оптимальной считали II рецептуру. Таким образом, разработана рецептура полимерных пленок “Продиоксилонг”, состоящая из следующих компонентов (состав на одну пленку):

Процелан лиофилизированный	0,003 г
Диоксидин	0,001 г
Масло какао	0,003 г

Полимер биорастворимый в количестве, достаточном для получения пленки массой 0,025 г.

С целью достижения более выраженного пролонгированного действия создаваемой лекарственной формы применили технологию четырехслойного приготовления полимерных пленок. Количественный состав пленок приведен в табл. 3.

Для приготовления массы № 1 в сосуд с мешалкой (86 об/мин) загружали нужное количество полимера биорастворимого, заливали этанолом 96 % и оставляли на 2 ч для набухания. Потом при перемешивании порциями прибавляли нужное количество на молотковой мельнице измельченного до величины частиц от 25 до 150 мкм процелана лиофилизированного и концентрат диоксида, приготовленного с нужным количеством воды дистиллированной, измельченный в гомогенизаторе до величины частиц от 5 до 10 мкм. Перемешивание проводили при комнатной температуре до образования однородной массы. Полученную массу фильтровали через сито с размером ячеек от 0,2 до 0,5 мм под давлением сжатого воздуха 100 кПа и отстаивали в течение 15 ч до полного удаления воздушных пузырьков.

Массу № 2 приготавливали в сосуде с мешалкой и рубашкой также, как и массу № 1, только дополните-

Таблица 2  
Сравнительные показатели лечебной эффективности предлагаемых рецептур полимерных пленок

Полимерные пленки	Количество		Этапы заживления ран, в сутках		
	процелана в одной пленке, г	диоксида в одной пленке, г	образование гранулята	начало эпителизации	полная эпителизация
I рецептуры	0,006	0,002	1,0	2,3	3,4
II рецептуры	0,003	0,001	1,2	2,7	3,8

Таблица 3  
Количественный состав на 100,0 г массы полимерных пленок (в граммах)

Наименование компонента	Масса № 1	Масса № 2
Процелан лиофилизированный	0,96	1,04
Диоксидин	0,32	0,34
Полимер биорастворимый	6,29	5,47
Этанол 96 %	26,0	29,8
Масло какао	—	1,82
Вода дистиллированная	14,5	13,44

льно прибавляли спиртовой раствор масла какао и перемешивание проводили при температуре  $(35 \pm 5)^\circ\text{C}$ .

Полимерные пластины получали на поливочной машине (изготовитель ОА “Санитас”, максимальная допустимая температура в сушильной камере  $30^\circ\text{C}$ ). Перед началом работы поливочную машину прогревали теплым воздухом от вентилятора, при помощи пластин устанавливали зазор между рабочей кромкой фильеры и движущейся лентой, с помощью которого устанавливается необходимая толщина выливаемой пленки. Непрерывно наносили четыре слоя выливаемой пленки: первый слой — массы № 1, второй и третий слой — массы № 2 и четвертый слой — массы № 1. Сушку полимерной пленки осуществляли теплым воздухом, подаваемым через колорифер, при температуре  $30^\circ\text{C}$ . Удаление водно-спиртовых паров в процессе сушки полимерной пластины осуществляли при вытяжной вентиляции, подведенной к поливной машине. Готовую пленку снимали с подложки, разрезали на пластины, пластины — на полоски, из которых вырубали пленки. Пленки упаковывали в блистеры по 10 штук или в стеклянные пробирки по 50 штук, укуренные полиэтиленовыми пробками.

По внешнему виду полимерные пленки представляют собой однородные по составу светло-желтого цвета тонкие пластинки овальной формы с притупленными краями длиной  $(9,0 \pm 0,5)$  мм, шириной  $(4,5 \pm 0,3)$  мм, толщиной  $(0,6 \pm 0,1)$  мм, без запаха и механических включений. Размеры пленок измеряли микрометром в средней пробе, отобранной в соответствии с правилами отбора проб. рН 5 %-ной водной суспензии определяли потенциометрически [12], величину частиц процелана и диоксида — микроскопически [12]. Определяли содержание влаги (40 пленок), протеолитическую активность [5], количественное содержание диоксида [7], среднюю массу [12] и микробиологическую чистоту [12] пленок.

Полимерные пленки “Продиоксилонг” были заложены на хранение в естественных условиях [температура  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ , относительная влажность  $(60 \pm 5)\%$ ].

Наблюдение проводилось через 3, 6, 9, 12 месяцев и продолжается в настоящее время. По полученным данным изучения стабильности пришли к выводу, что полимерные пленки стабильны в течение года (изучения продолжаются), так как протеолитическая активность процелана оставалась постоянной и находилась в пределах от 0,016 до 0,026 ЕД в одной пленке, а количественное содержание диоксида так же оставалось постоянным, то есть около 1 мг в одной пленке. В процессе хранения внешний вид пленок не изменился.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о возможности применения пленок, содержащих процелан лиофилизированный и диоксидин, в медицинской практике для лечения гнойных ран и о целесообразности дальнейшего его медико-биологического и фармакологического изучения.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Патент СССР 1161552 (1984); *Chem. Abstr.*, **103**, 101510s (1985).
2. R. Babichenko, V. Vaiciuvenas, R. Kubilius, *1 st Congress of Baltic maxillo-facial and plastic surgeons: collection of papers*, Latvia, Riga (1993), p. 38.
3. V. Vaiciuvenas, R. Babichenko, E. Sakiniene, *The 4 th International congress (of) International wound association (abstracts)*, Tel-Aviv, Israel (1996), p. 71.
4. E. Aniulis, J. Steponavichius, V. Vaiciuvenas, *Mokslas ir technika (Наука и техника)*, **5**, 32 – 34 (1991).
5. G. Puodziuniene, J. Steponavichius, V. Vaiciuvenas, V. Janulis, *Medicinos teorija ir praktika (Теоретическая и практическая медицина, Вильнюс)*, **2(30)**, 90 – 93 (2002).
6. Г. Пуоджюнене, В. Вайчювенас, В. Янулис, Ю. Степонавичюс, *Хим.-фарм. журн.*, **37(10)**, 23 – 26 (2003).
7. G. Puodziuniene, V. Vaiciuvenas, V. Janulis, J. Steponavichius, *Medicina (Медицина, Каунас)*, **2(39)**, 177 – 185 (2002).
8. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, т. 2, Медицина, Москва (2000), сс. 298 – 299.
9. Патент 806037 RU, *Бюл. изобрет.*, № ()
10. Г. А. Герасимова, *Дисс. канд. фармацев. наук*, Москва (1984).
11. Патент 61 – 30517 Японии.
12. European Pharmacopoeia. 4th. ed. Strasbourg: Council of Europe (2002).

Поступила 16.08.04

## THE DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY OF THE PELLICLE, CONTAINED IMMOBILIZED PROTEASE AND DIOXIDIN

G. Puodziunene<sup>1</sup>, V. Vaiciuvenas<sup>1</sup>, V. Janulis<sup>1</sup>, J. Steponavichius<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kaunas University of Medicine

<sup>2</sup> BJSC „BIOK“, Vilnius (Lithuania)

A purpose of this work was to create a water-soluble polymeric pellicle which would contain the proteolytic enzyme procelan and the antimicrobial drug with wide spectrum of action dioxidin and would ensure the full bioavailability, exact dosage, would keep its activity at prolonged time and would be convenient to use in treatment of deep suppurative necrotized wounds and purulent inoculations, involving stomatology.

After evaluation of the duration of action and physicochemical characteristics of the polymeric pellicle, form and dimensions of the pellicle were selected, the formulation, technology and specification were developed. The appearance, dimensions, pH of suspension of the pellicle, the size of particles of procelan and dioxidin, loss on drying, the average mass, proteolytic activity, assay of dioxidin and microbiological contamination were examined. The polymeric pellicle when stored at normal conditions is stable for twelve months.