

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВЫБОРУ ОСНОВЫ ДЛЯ НАРУЖНОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ КОЛЛАГЕНАЗЫ

Иванкова Ю.О., Верниковский В.В., Степанова Э.Ф.

*«Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России», Пятигорск, Россия (Ставропольский край, Пятигорск, ул. Кирова, 33), e-mail: e.f.stepanova@mail.ru)*

С целью расширения использования протеолитического фермента коллагеназы в медицинской практике проводились исследования по разработке мягкой лекарственной формы коллагеназы на липофильной основе, позволяющей обеспечить стабильность фермента. Проведены технологические исследования по выбору оптимальной основы для мази. Установлено, что оптимальными показателями осмотической активности и намазываемости обладает олеогель на основе аэросила. С помощью модифицированной методики высвобождения определяли с помощью диффузии в желатиновый гель, где желатин выполняет роль субстрата для коллагеназы, установлена выраженная активность мази на основе олеогеля. Предложено использование олеогеля, сконструированного с использованием гелеобразователя аэросила и оливкового масла.

Ключевые слова: протеолитические ферменты, коллагеназа, мази, липофильные основы.

## STUDY SELECTION FRAMEWORK FOR EXTERNAL MEDICINAL FORMS COLLAGENASE

Ivankova J.O., Vernikovskiy V.V., Stepanova E.F.

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – a branch Medical University VolgGMURussian Ministry of Health", Pyatigorsk, Russia (Stavropol, Pyatigorsk, Kirov str., 33), e-mail: efstepanova@mail.ru)*

In order to expand the use of the proteolytic enzyme collagenase in medical practice conducted research on the development of soft dosage form of collagenase on the basis of a lipophilic, allowing to ensure the stability of the enzyme. Technological research carried out at the choice of the optimal basis for ointment. The optimal parameters of osmotic activity and spread ability has oleogel based on aerosil. Using a modified procedure of release was determined by the diffusion in gelatin gel, where gelatin serves as a substrate for the collagenase activity An expression based ointment oleo gel. Proposed Use oleo gel constructed using a gelling agent aerosil and olive oil.

Keywords: proteolytic enzymes, collagenase, ointments, lipophilic bases.

Протеолитические ферменты используются в медицине и ветеринарии для лечения ран с большим содержанием некротических тканей, которые плохо удаляются в процессе традиционной обработки. Показаниями для применения лекарственных препаратов ферментов являются: обморожения, ожоги, трофические язвы, раны с массивным гнойно-некротическим отделяемым, рубцы и т.п. Наряду с другими протеолитическими ферментами в медицинской практике используется коллагеназа [6].

Непосредственное введение нативных протеолитических ферментов в виде порошков-присыпок или пропитанных растворами фермента салфеток в рану приводит к их быстрой инактивации, делая энзимотерапию малоэффективной, в то время как желательное длительное воздействие в очаге поражения. Наиболее перспективными и более эффективными являются мягкие наружные лекарственные формы протеолитических ферментов: мази, гели, кремы [1].

Липофильные основы наружных лекарственных форм протеолитических ферментов, имеют преимущество перед гидрофильными, т.к. не содержат водной фазы, являющейся

благоприятной средой для аутолиза ферментов, вследствие чего сохраняют ферментативные свойства препарата длительное время и оказывают смягчающее действие [3].

Но отмечаются и недостатки у мазей на жировой основе: плохое высвобождение лекарственной субстанции, нарушение оттока раневого содержимого и герметизация раны, плохие потребительские свойства (основы плохо распределяются по поверхности, плохо смываются водой и могут пачкать белье и одежду пациента) [8].

**Целью** настоящего исследования являлась разработка наружной лекарственной формы коллагеназы с использованием мазевой основы липофильного характера с улучшенной биодоступностью и приемлемыми потребительскими свойствами.

**Материалы и методы исследования.** В качестве основных объектов исследования были использованы мазевые основы: вазелин, сплав воска и оливкового масла, олеогель на основе аэросила. В работе использована коллагеназа производства ЗАО «Биопрогресс» (г. Щелково).

Биофармацевтическую оценку активности мазей коллагеназы на различных основах проводили модифицированным методом диффузии в желатиновый гель [7]. Для определения осмотической активности указанных основ использовался модифицированный метод Гунько В.Г. и соавт., основанный на диализе через полупроницаемую мембрану [2].

Определение намазываемости основ проводили в соответствии со следующей методикой. Образцы по 1,0 г помещали на стеклянную пластинку (10x10 см), накрывали сверху второй стеклянной пластинкой. После этого на все стеклянные пластинки с основой помещали одинаковый груз (100,0). Мазь под действием тяжести стекла и груза растекается (усилия, прилагаемые для распределения по коже), образуя пятно определенного диаметра. Диаметры образовавшихся пятен измеряли, внося поправку на неравность диаметров [4].

**Результаты и обсуждение.** В качестве основы для создания наружной лекарственной формы коллагеназы с улучшенными свойствами нами был выбран олеогель. Олеогели как основы характеризуют легким нанесением и распределением, быстрым высвобождением действующих веществ, технологичностью, выраженной тиксотропией. Олеогели – это гели на основах, состоящих из гидрофобного растворителя (вазелиновое или растительное масло) и гидрофобного гелеобразователя (полиэтилен, коллоидная двуокись кремния, бентонит и т.д.) [5, 7].

В качестве структурообразующего компонента олеогеля (гелеобразователя) нами был использован высокодисперсный диоксид кремния (торговая марка Aerosil®). В качестве масляной фазы приготовления олеогеля нами было выбрано оливковое масло, обладающее помимо смягчающего действия, определенным спектром терапевтических свойств: антиоксидантной, противовоспалительной и антимикробной активностью [9].

Для проведения сравнительных исследований нами была также взята липофильная основа – сплав 1 части желтого воска и 3 частей масла (прототип восковая мазь). В качестве второй основы сравнения был выбран вазелин, который в настоящее время используется как самостоятельная мазевая основа (например, мазь «Ируксол») и в смеси с другими веществами. Особенностью вазелина-основы является медленное высвобождение действующих веществ [8].

Таким образом, были приготовлены модельные образцы мазей с протеолитическим ферментом коллагеназы на вазелиновой основе, сплаве желтого воска и масла подсолнечного (1:3) и олеогеле на основе масла оливкового, таблица 1.

Таблица 1

Составы липофильных основ для мази коллагеназы

№ образца	Содержание компонентов основы, г			
	Вазелин	Воск пчелиный	Аэросил	Масло оливковое
Основа 1	100,0			
Основа 2		25,0		75,0
Основа 3			5,0	95,0

Полученные мази были подвергнуты сравнительным технологическим исследованиям: исследование осмотической активности, исследование биодоступности, исследование намазываемости.

Основным требованием, предъявляемым к основам для раноочищающих мазей, является наличие у них высокой осмотической активности, обуславливающей быструю очистку раны от некротизированных тканей и раневого отделяемого. Поэтому проводили сравнительную оценку осмотической активности исследуемых основ. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Осмотическая активность липофильных основ для мази коллагеназы

Основа	1 ч	2 ч	3 ч	4 ч	5ч	6 ч	12 ч
Олеогель	40%	43%	50%	53%	60%	63%	130%
Вазелин	50%	66%	78%	73%	82%	85%	99%
Масло+воск	41%	44%	46%	50%	56%	60%	60%

Как следует из данных таблицы, наиболее выраженную осмотическую активность в динамике проявлял олеогель, наименьшую – основа сплав масла и воска пчелиного.

Результаты определения намазываемости, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что олеогель характеризуется улучшенными свойствами в сравнении с двумя другими основами.

Таблица 3

Намазываемость исследуемых основ для мази коллагеназы

Основа	Намазываемость, мм
Олеогель	42 мм
Вазелин	31 мм
Масло+воск	23 мм

Как правило, традиционные биофармацевтические подходы к оценке эффективности мазевой композиции *in vitro* к мазям на основе ферментов не совсем применимы, т.к. они позволяют лишь качественно или количественно определить степень высвободившихся веществ, обуславливающих фармакологическое действие лекарственной формы в целом. В то же время основной характеристикой наружных лекарственных форм ферментов может служить косвенная оценка проявления их протеолитической активности.

В связи с этим мы рассмотрели возможность использования методики диффузии с желатином, где желатин выполняет роль субстрата для коллагеназы. По известной методике был приготовлен желатин и разлит в чашки Петри. Были сформированы лунки диаметром 6 мм и в них помещены образцы исследуемых мазей. Наблюдения проводили через определенные временные интервалы. Однако, оценка диаметра зоны, подвергшейся деструкции, оказалась затруднительна, т.к. получившиеся зоны были расплывчатой формы.

Поэтому мы использовали другую модификацию этого метода, позволяющую более четко производить замер области деструкции. Желатин заливали в градуированные пробирки, на поверхность помещали навеску мазей и проводили наблюдения, выражая интенсивность протеолиза в см. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4

Результаты сравнительных биофармацевтических исследований на модели гидролиза желатина мази с коллагеназой

Время, ч	Размер зоны гидролиза желатина, см		
	Основа 1	Основа 2	Основа 3
2	0,4	0,2	0,1
4	0,5	0,3	0,1
6	0,6	0,3	0,1

8	0,7	0,5	0,1
10	0,8	0,7	0,1
12	0,8	0,7	0,2
24	1,0	0,7	0,4

Как следует из данных, представленных в таблице, наибольшую протеолитическую активность в отношении субстрата желатина проявляла мазь на основе олеогеля. Таким образом, олеогели по исследованным показателям превосходили мази на других липофильных основах.

**Выводы.** Результаты проведенных сравнительных биофармацевтических и технологических исследований свидетельствуют о перспективности использования олеогеля на базе аэросила и оливкового масла в качестве основы с повышенной биодоступностью и улучшенными потребительскими свойствами для получения мази коллагеназы.

#### Список литературы

1. Верниковский В.В. Биотехнологическая разработка некролитической мази и ее исследования: дис. ... канд. биол. наук. – Пятигорск, 2007. – 143 с.
2. Гунько В.А. Изучение осмотической активности некоторых мазевых основ / В.А. Гунько, А.А. Гунько, Н.М. Мушенко // Хим.-фармац. журн. – 1982. – Т.16, № 3. – С. 89-91.
3. Иванкова Ю.О. Перспективы технологических исследований мягких лекарственных форм и косметических средств с протеолитическими ферментами / Ю.О.Иванкова, С.Б. Евсеева // Mat. of the XII International scientific and practical conference «Areas of scientific thought» December 30, 2014. – January 7, 2015 – Sheffield: Science and education LTD, 2014/2015. – Vol. 20. – 104 с.
4. Кузнецова, Л.С. Разработка состава, технологии и анализ карандашей медицинских с камфорой / Л.С. Кузнецова, Т.Т. Лихота // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 11. – С. 522–525.
5. Кутц Г. Косметические кремы и эмульсии: состав, получение, методы испытаний. – М.: Косметика и медицина, 2004. – 272 с.
6. Климова, О.А. Препараты коллагенолитических протеаз беспозвоночных: биохимические аспекты медицинского и косметологического применения / О.А. Климова, В.Ю. Чеботарев // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 2000. – Т.130, № 7. – С. 70-75.
7. Промышленная технология лекарств / В.И. Чуешов, М.Ю. Чернов, Л.М. Хохлова и др. – Х.: НФАУ, 2002. – Т.2. – 716 с.

8. Технология лекарственных форм: учебник: в 2 т. / под ред. Т.С. Кондратьевой. – М., 1991. – Т.1. – 496 с.
9. Visioli F. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil / A. Poli, C. Gall // Med. Res. Rev. – 2002. – Vd. 22(1). – P. 65–75.

**Рецензенты:**

Первушкин С.В., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармацевтической технологии ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, г. Самара;

Сампиев А.М., д.фарм.н., профессор, заведующий кафедрой фармации ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар.