

УДК 541.64

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДЕСТРУКЦИИ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И АНТИБИОТИКА ЦЕФАЗОЛИНА

© Е. И. Кулиш*, И. Ф. Туктарова, В. В. Чернова

*Башкирский государственный университет
Россия, Республика Башкортостан, 450074 г. Уфа, ул. Заки Валиди, 32.
E-mail: alenakulich@rambler.ru*

Методом вискозиметрии исследованы особенности биодеструкции полимерных пленок на основе хитозана с включенным антибиотиком цефазолином под действием ферментного препарата «Лириза»

Ключевые слова: хитозан, пленочные покрытия, ферментативная деструкция, антибиотика.

Введение

Разработка систем контролируемой доставки лекарственных средств является наиболее перспективным и быстро развивающимся направлением в современной фармакологии [1]. Главное достоинство этих систем заключается в возможности длительного и стационарного поддержания требуемого уровня лекарственного препарата в крови или тканях пациента на необходимый период времени. Это позволяет избежать высоких стартовых концентраций препарата и уменьшить число процедур. Успех конструирования систем с контролируемой доставкой лекарственных средств во многом определяется наличием адекватного материала, используемого в качестве матрикса для депонирования лекарства. Такие материалы должны быть абсолютно безвредными для организма, атравматичными, иметь определенные физико-механические свойства, например, высокую сорбционную способность и оптимальную газопроницаемость, обладать биоразрушаемостью без образования токсичных продуктов и не инактивировать лекарственные препараты. Перспективным материалом для получения систем с контролируемой доставкой лекарственных средств, является полисахарид хитозан (ХТЗ). Уникальные свойства ХТЗ – биосовместимость с тканями организма, бактериостатичность, способность усиливать регенеративные процессы при заживлении ран, а также способность к пленкообразованию, определяют возможность использования ХТЗ в качестве пленочных покрытий пролонгированного действия для защиты и лечения хирургических ран и ожогов [2]. Включение в такой защитный перевязочный материал лекарственных средств способствует подавлению развития инфекции и позволяет снизить вероятность нагноения. Одним из немаловажных преимуществ покрытий на основе ХТЗ является их способность к ферментативному разложению под действием ферментов, выделяемых раневой поверхностью. Биodeградируемые носители лекарственных препаратов постепенно разрушаются в организме, при этом на скорость биodeградации полимерного матрикса и, соответственно, выход лекарственного вещества влияют многие факторы: химическая структура и состав; наличие дефектов в полимерной цепи, пространственная структура, молекулярный вес и распределение молекулярного веса и др. Кроме того, необходимо учесть, что и собственно сам лекарственный препарат способен определенным образом повли-

ять на скорость биодеструкции полимерной матрицы. В настоящей работе рассмотрены особенности биодеструкции пленочных полимерных покрытий на основе хитозана и антибиотика цефалоспоринового ряда – цефазолина, широко применяемого при лечении ожоговой травмы.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использован образец ХТЗ производства ЗАО «Биопрогресс» (Россия), полученный щелочным дезацелированием крабового хитина и антибиотик цефалоспоринового ряда – цефазолина натриевая соль (ЦФЗ). Пленки ХТЗ получали методом полива раствора полимера в уксусной кислоте на поверхность стекла с получением ацетата хитозана (ХТЗА). Массовая концентрация полимера в исходном растворе составляла 2 г/дл. Концентрация уксусной кислоты в растворе составляла 1 г/дл. Водный раствор антибиотика добавляли к раствору ХТЗ непосредственно перед формированием пленок. Содержание лекарственного препарата в пленке варьировалось от 0.002 до 0.05 моль/моль ХТЗ. Толщина пленок поддерживалась постоянной и равной 0.1 мм. Для моделирования процесса ферментативного гидролиза пленочного образца ХТЗ на раневой поверхности, пленку помещали на подложку, смоченную раствором ферментного препарата «Лириза», и выдерживали при температуре 36 °С в течение определенного времени. Количество ферментного препарата составляло 5% масс. от массы ХТЗ. Далее пленочный образец растворялся в буферном растворе, состоящим из 0.3 М уксусной кислоты и 0.2 М ацетата натрия. Степень биодеструкции оценивали по падению характеристической вязкости, определенной на вискозиметре Уббелюде. Общую гликозидазную активность ферментного препарата «Лириза» оценивали по методу Вандельс–Вебера [3].

Результаты и их обсуждение

Ферментный препарат, выпускаемый под торговой маркой «Лириза», представляет собой группу ферментов под общим названием гиалуронидаза, катализирующих реакции гидролитического расщепления бета-гликозидной связи основного компонента соединительной ткани – гиалуроновой кислоты. Гиалуроновые кислоты представляет собой высокомолекулярные линейные биополимеры, молекулы которых построены из чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-гликозамина, соединенных β -(1→4)- и β -(1→3)-связями. Поскольку хитозан является полимером

* автор, ответственный за переписку

гликозамина, соединенным между собой также β -гликозидными связями, в нем также под действием гиалуронидаз («Лиразы»), будет протекать процесс ферментативной деструкции. О протекающем процессе биодеструкции свидетельствует уменьшение характеристической вязкости ХТЗ, выделенного из пленочных образцов (рис.). Как видно из рисунка, наиболее сильно характеристическая вязкость падает в первые 10–20 мин, затем скорость биодеструкции несколько уменьшается.

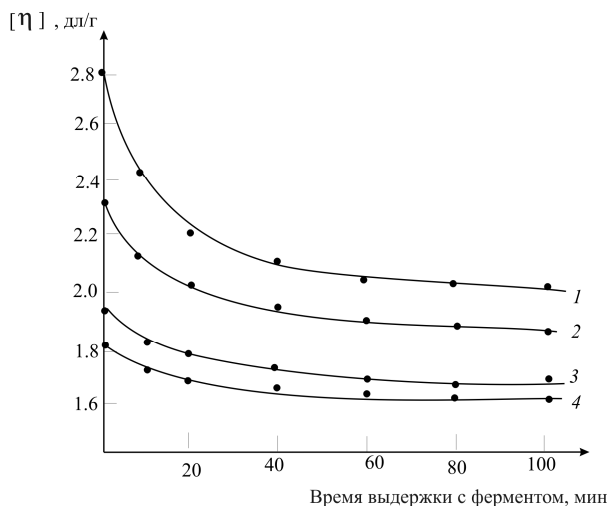


Рис. Зависимость характеристической вязкости хитозана, выделенного из пленочных образцов в отсутствие лекарственного препарата (1) и для системы ХТЗ – натриевая соль цефазолина с содержанием лекарственного препарата 0.002 (2), 0.01 (3), 0.05 (4) моль/моль ХТЗ.

Сравнение вискозиметрических данных, полученных для пленочных образцов ХТЗ, определенных в отсутствие и в присутствии лекарственного препарата, свидетельствует о том, что характеристическая вязкость пленочного образца ХТЗ, определенная в отсутствие лекарственного препарата ($[\eta]=2.8$ г/дл), существенно выше, чем в том случае, когда в пленке присутствует лекарственное вещество. Наиболее вероятная причина уменьшения значения характеристической вязкости ХТЗ, который не контактировал с ферментным препаратом, это уменьшением размеров макромолекулярного клубка под действием лекарственного вещества. Поскольку при растворении в кислых средах аминогруппы ХТЗ протонируются, он становится поликатионом. Размер макромолекулярного клубка поликатиона при прочих равных условиях всегда больше размера незаряженного макромолекулярного клубка вследствие отталкивания одноименно заряженных звеньев. Добавление лекарственного препарата – натриевой соли цефазолина сопровождается повышением ионной силы раствора и электростатическим взаимодействием протонированных аминогрупп с противоионами. Данный факт, в свою

очередь, неизбежно должен отразиться на размере макромолекулярного клубка, а именно, его уменьшении.

Степень и скорость падения вязкости для пленки ацетата ХТЗ без лекарственных препаратов также выше, чем для лекарственных пленок. Так, за время выдержки 60 мин, пленка индивидуального ХТЗ уменьшает свою характеристическую вязкость с 2.8 до 2.1 г/дл (глубина падения составляет 0.7 единиц). В то же время ХТЗ во всех лекарственных пленках уменьшает свою характеристическую вязкость только на 0.2 единицы. Определение общей гликозидазной активности «Лиразы» в присутствии и отсутствии лекарственного вещества показало, что добавление антибиотика цефазолина не сказывается на активности фермента. Причину уменьшения скорости и степени падения вязкости ХТЗ в присутствии лекарственных препаратов можно объяснить следующим образом. Если введение лекарственных препаратов уменьшает размер клубка, доступность ХТЗ для взаимодействия с ферментным препаратом уменьшается вследствие увеличения плотности упаковки макромолекул ХТЗ в пленке. Следствием этого является уменьшение доступности хитозановых звеньев для взаимодействия с ферментным препаратом, а, следовательно и уменьшение степени ферментативного разложения ХТЗ в пленке. Необходимо учесть также и тот факт, что частичная замена аниона (ацетата на хлорид и сульфат) также может сказаться на изменении структуры полимерной матрицы, например плотности, упаковки цепей. То, что причина уменьшения скорости биодеструкции ХТЗ связана с изменением структуры полимерной матрицы, а не с возможной дезактивацией ферментного препарата в присутствии антибиотика, свидетельствует постоянство общей гликозидазной активности «Лиразы», определенной в присутствии и в отсутствие цефазолина.

Таким образом, анализируя закономерности ферментативного гидролиза лекарственных хитозановых пленок с включенным внутрь полимерной матрицы антибиотиком цефазолином можно сделать вывод о том, что они характеризуются большей ферментативной устойчивостью, нежели исходные хитозановые пленки. А это означает, что на раневой поверхности они прослужат дольше.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ и Республики Башкортостан (грант r_поволжье_a № 11-03-97016).

ЛИТЕРАТУРА

1. Скрябин К. Г., Вихорева Г. А., Варламов В. П. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. М.: Наука. 2002. 365 с.
2. Штильман М. И. Полимеры медико-биологического назначения. Москва: ИКЦ «Академкнига», 2006. С. 214.
3. Клесов А. А., Рабинович М. Л., Синицин А. П., Чурилова И. В., Григораш С. Ю. // Биорганическая химия. 1980. Т. 6, №8. С. 1225.

Поступила в редакцию 13.11.2012 г.
После доработки – 01.03.2013 г.