

Рекомендована д. фармац. наук, проф. В. В. Гладішевим
УДК 616.31-002.3-001.4-085.03.1

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ТА БІОФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ 2 % ГЕЛЮ КОМПОЗИЦІЙНОЇ СУМІШІ ПОХІДНИХ γ -КРОТОНОЛАКТОНУ ТА Zn-КАРНОЗИНУ

©Р. З. Огоновський

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Резюме: у статті представлено дані дослідження фізико-хімічних та біофармакологічних властивостей гелю нового препарату, виготовленого на основі композиційної суміші γ -кротонолактону та Zn-карнозину, який має антимікробну та ранозагоювальну дію при локальному лікуванні асептичних та інфікованих ранових процесів. Отримані результати свідчать, що досліджуваний 2 % гель композиційної суміші в основному відповідає вимогам, які висувають до аналогічних препаратів, занесених до переліку Державної фармакопеї України та її рекомендацій. Одержані дані дозволяють продовжувати подальші експериментальні дослідження за умов *in vivo*.

Ключові слова: γ -кротонолактон, Zn-карнозин.

Вступ. Рановий процес – це складний комплекс місцевих та загальних реакцій організму, які розвиваються у відповідь на пошкодження тканин і ураження інфекцією. Він характеризується стадійним перебігом, стереотип якого притаманний як хірургічним, так і випадковим ранам, незалежно від того асептичні вони чи інфіковані, загоюються за типом первинного натягу або через нагноєння [7, 10, 13].

Величезний клінічний досвід, здобутий при теоретичному та практичному вивченні цієї ланки хірургії, вказує, що навіть найефективніші лікарські засоби в процесі їх застосування втрачають свою ефективність. А формування стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів та зумовлена цим втрата їх фармакологічної ефективності зумовлює пошук нових речовин і препаратів, здатних активно впливати на їх ріст та розвиток [3, 6, 14]. Дослідження та встановлення нових аспектів цієї проблеми стимулює пошук засобів спрямованого впливу на рановий процес [6, 12].

Останнім часом в комплексному лікуванні ранового процесу в місцевій його терапії використовують препарати з багатогранним механізмом дії. Саме зовнішній спосіб застосування ліків дозволяє максимально забезпечити концентрацію лікарських речовин у вогнищі запалення і є найбільш безпечним, оскільки дає можливість легко змінити дозу при необхідності [4, 8, 9, 11, 15].

Сучасні вимоги до місцевих ранозагоювальних лікарських засобів передбачають: можливість використання препарату в різні фази ранового процесу, відсутність токсичної, алергізувальної та місцевоподразнювальної дії, широкий спектр антибактеріальної дії, високу антимікробну і протизапальну активність [2, 8, 10, 14].

Враховуючи сказане, цікавим для експериментального та клінічного дослідження буде комплексний препарат, який становить композиційну суміш ефективного антибактеріального препарату та речовини, яка володіла б вираженими антиоксидантними і антигіпоксидними властивостями. Групою авторів було запропоновано нову композиційну суміш похідних γ -кротонолактону, хелатних комплексів Zn-карнозину і суміш карбонових кислот (надалі – КС), яка є принципово новою біологічно активною хімічною композицією, в основі якої лежать речовини природного походження, що мають низьку токсичність, високий рівень біотрансформації, не акумулюються в організмі, при цьому мають широкий спектр фармакологічної активності. У своїх дослідженнях було застосовували 2 % гелеву форму вказаної композиційної суміші, де як основу із гідрофільними властивостями було обрано метилцелюлозу, пропіленгліколь, олію м'яти перцевої, воду очищену [5].

Для забезпечення оптимальної лікарської дії препарати для місцевого застосування при ранах м'яких тканин, поряд з наявністю високоефективних діючих речовин у відповідних концентраціях, повинні також мати збалансовані фізико-хімічні властивості, що досягається, як правило, застосуванням сучасних основ відповідно до завдань, які висувають на кожній окремій фазі лікування [1, 14].

Мета роботи – вивчення фізико-хімічних і біофармакологічних властивостей розробленого 2 % гелю композиційної суміші похідних γ -кротонолактону та Zn-карнозину та можливостей його застосування у медичній практиці як засобу лікування інфікованого ранового процесу.

Методи дослідження. Загальний опис гелевої форми КС здійснювали за характерис-

тикою таких органолептичних властивостей, як колір, запах, консистенція, звертали увагу на ознаки фізичної нестабільності (агрегація частинок, коалесценція, коагуляція, розшарування).

Визначення однорідності проводили за відповідною методикою: брали чотири проби гелевого зразка по 2–30 мг кожна, що розміщували по дві проби на предметному скельці, які накривали другим скельцем і міцно стискували до утворення плям діаметром близько 2 см. Проводили огляд неозброєним оком на відстані близько 30 см, звертаючи увагу на присутність видимих часток, сторонніх включень і ознак фізичної нестабільності (агрегація і коалесценція часток, коагуляція).

Вміст нелетких речовин визначали так: наважку гелю $\approx 0,07$ г висушували у чашці з алюмінієвої фольги при $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ до постійної маси і повторно зважували. Проводили 5 паралельних проб, вміст нелетких речовин розраховували за формулою $\% = (m_{\text{сух}}/m_{\text{гелю}}) \times 100$, розраховували середнє арифметичне значення та абсолютні відхилення Δ_i . Стандартне відхилення: $(\sum \Delta_i / (n-1))^{0,5}$, де $n = 5$ – кількість замірів.

Для визначення колоїдної стабільності використовували лабораторну центрифугу з набором пробірок, ртутний термометр з інтервалом вимірювання температури від 0 до $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ і ціною поділки $1\text{ }^{\circ}\text{C}$, а також секундомір і водяну баню. Пробірку наповнювали на $2/3$ об'єму досліджуваного зразку і зважували з точністю до $0,01$ г. Потім пробірки поміщали у водяній бані за температури $(42,5 \pm 2,5)\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 20 хв, після чого насухо витирали з зовнішнього боку і розміщували в гніздах центрифуги. Центрифугували впродовж 5 хв. Зі швидкістю 6000 об./хв. Після центрифугування звертали увагу на наявність ознак розшарування.

У визначенні термостабільності використовували 5 – 6 скляних пробірок з діаметром 15 мм і заввишки 150 мм. Пробірки наповнювали 8 – 10 мл досліджуваної гелевої форми і поміщали їх в термостат з температурою $(42,5 \pm 2,5)\text{ }^{\circ}\text{C}$ на 7 діб. Після цього зразки переносили на 7 діб у холодильник з температурою $(6 \pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ і потім впродовж 3 діб витримували при кімнатній температурі. Стабільність визначали за візуальними показниками, звертаючи увагу на ознаки фізичного розшарування.

Визначення рН проводили на приладі рН-150МИ із комбінованим електродом ЭСК-10603/780.7. Електрод занурювали у гель і витримували не менше 10 хв до встановлення стабільних показів приладу.

Дослідження осмотичних властивостей вивчали за допомогою діалізу крізь напівпроник-

ну мембрану (целофанова плівка марки В-8079, ГОСТ 7730-79). До нижнього отвору внутрішнього циліндра діалізаційної камери прикріплювали напівпроникну мембрану, наважку гелю (близько $1,0$ г) рівномірним шаром наносили на поверхню мембрани, площа якої при діаметрі циліндра 14 мм складала 154 мм². Циліндр із зразком поміщали у діалізну камеру, у яку заздалегідь наливали певну кількість води очищеної. Вимірювання маси циліндрів проводили через кожні 60 хв впродовж 6 годин. За різницею маси між двома послідовними зважуваннями визначали кількість поглинутої води. Дослід проводили при температурі $(34 \pm 0,2)\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Кількісно осмотичну активність визначали за тангенсом кута нахилу лінійної ділянки залежності «приріст маси–час», як швидкість осмосу в % за 1 годину. Враховуючи, що швидкість осмосу також залежить від площі мембрани, на яку нанесено наважку гелю, додатково розраховували швидкість осмосу через одиницю площі мембрани у $\%/\text{год} \times \text{см}^2$, що дає можливість порівнювати осмотичну активність досліджених гелів із літературними даними.

Визначення реологічних властивостей (напругу зсуву (τ) та динамічну вязкість (η)) визначали на ротаційному віскозиметрі Rheotest 2.1 із конусно-пластинковою вимірювальною системою за відношенням напруги зсуву до швидкості зсуву.

При встановленні коефіцієнта рефракції вимірювання проводили на оптичному рефрактометрі RL-3 із робочою довжиною хвилі 584 нм, при температурі $15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Визначення швидкості вивільнення діючих речовин із гелевої субстанції проводили методом діалізу, шляхом вимірювання концентрації досліджуваних речовин в діалізаті. Досліди проводили на приладі Мюллемана. Дослід тривав 12 годин. Через кожну годину проводили взяття проб діалізату. Визначення кількісного вмісту здійснювали методом рідинної хроматографії.

Результати й обговорення.

Зовні досліджуваний препарат КС гелеподібна речовина світло-коричневого кольору, однорідної консистенції з приємним м'ятним запахом. Досліджуваний зрієць виготовлено на водній основі, розбавляється водою з утворенням прозорого розчину.

При визначенні однорідності при притисканні між предметними скельцями у всіх дослідних пробах не було виявлено видимих часток, сторонніх включень і ознак фізичної нестабільності (агрегації, коалесценції часток, коагуляції).

При довготривалому зберіганні ознак фізичної нестабільності (розшарування, агрегації частинок) не спостерігається.

Проведені дослідження вказали, що вміст нелетких речовин становив $(5,04 \pm 0,35)$ %, що вказує на вдале використання ефективних гелеутворювачів (~95 % продукту – вода), здатного структурувати розчин при низькій концентрації (>5 %).

При визначенні колоїдної стабільності після центрифугування не спостерігали в пробірках розшарування зразка чи виділення осаду. Дослідження термостабільності також не вказали на візуальні зміни досліджуваного зразку. Проведені дослідження дозволяють константувати, що дана форма КС є стабільним препаратом.

При визначенні рН виявлено, що цей показник досліджуваного взірця має величину, близь-

ку до нейтральних величин, характерних для людського організму, і становить 6,0.

Важливим фактором для комбінованих факторів, які використовують при лікуванні інфікованих ран, є їх осмотична активність. Її наявність прискорює очищення рани від гнійного та запального ексудату, сприяє появі грануляційної тканини та швидшому загоєнню пошкоджених тканин.

Проведено вивчення та порівняння осмотичної активності гелевого взірця КС та основи, використаної для її виготовлення, застосовуючи метод діалізу через напівпроникну мембрану. Максимальна кількість абсорбованої води характеризує ємність гелю (табл. 1).

Таблиця 1. Осмотична активність гелю

Зразок	Швидкість осмосу, %/год	Швидкість осмосу, %/год \times cm^2	Максимальна кількість абсорбованої води, %
Гелева форма КС	$4,04 \pm 0,33$	$2,62 \pm 0,21$	76
Основа гелю	$3,67 \pm 0,26$	$2,38 \pm 0,17$	71

Як бачимо, досліджувані взірці мають осмотичну активність. Необхідно також зауважити, що осмотичні властивості гелевої форми КС є більш виразними – введення КС незначно підвищує вказані показники.

Важливим фізико-хімічним показником, що визначає зручність використання м'яких лікарсь-

ких форм є їх реологічні властивості. За рекомендаціями Державної фармакопеї України, такі форми повинні завжди мати постійні реологічні характеристики. Проведено дослідження із встановлення динамічної в'язкості досліджуваного гелевого взірця КС. Отримані дані представлені на таблиці 2 та на рисунку 1.

Таблиця 2. Реологічна характеристика гелевої форми КС

В'язкість гелю при мінімальному зусиллі зсуву $\eta_1, \text{Pa}\cdot\text{s}$	В'язкість гелю в точці переходу із в'язкоплинного стану у стан вільної течії $\eta_2, \text{Pa}\cdot\text{s}$	Зусилля зсуву, необхідне для переходу гелю у стан вільної течії τ, Pa	В'язкість гелю при максимальному зусиллі зсуву $\eta_3, \text{Pa}\cdot\text{s}$
20,5	4,20	17740	1,55

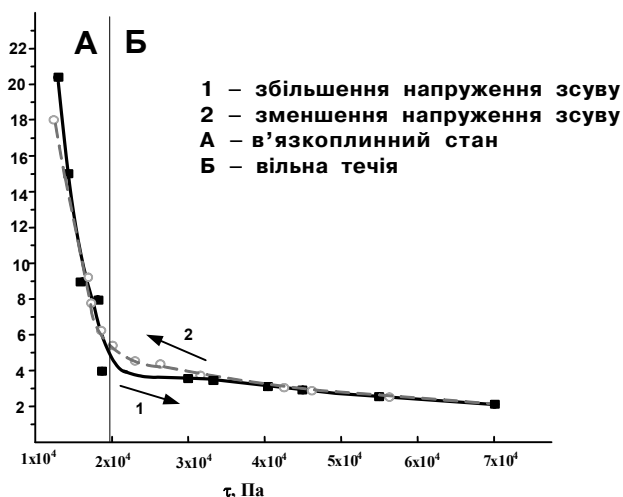


Рис. 1. Залежність динамічної в'язкості з гелю від напруження зсуву τ .

Аналіз даних вказує, що збільшенні напруження зсуву (крива 1) та відновлення структу-

ри при зменшенні напруження зсуву (крива 2) відбувається при однакових значеннях τ (криві 1 і 2 збігаються).

При відсутності зсувальних зусиль продукт структурований (не тече), що дозволяє, наприклад, набирати на шпатель без стікання. Незначні зсуваючі зусилля переводять гель у стан вільної течії, що дозволяє його наносити (розтирати). Збіг кривих 1 і 2 вказує, що після припинення дії зсувальних зусиль структура гелю відразу відновлюється – під час видавлювання із тюрника здатний текти, але після видавлювання відразу структуровується і не стікає.

При визначенні коефіцієнта рефракції, який залежить від концентрації компонентів гелю і може бути використаним для стандартизації вмісту допоміжних речовин, було отримано показник $n=1,422$.

Одним із вирішальних показників у дії антимікробних речовин є досягнення відповідної ефективної концентрації в рідинах організму. Така

біодоступність визначається швидкістю та повнотою вивільнення діючих речовин із лікарської форми. Розчинність, швидкість вивільнення потрібно враховувати при виборі форми антисеп-

тика і способу його застосування. Вивільнення діючих речовин з 2 % гелевої форми КС визначали за допомогою методу діалізу. Отримані кількісні величини подано в таблиці 3.

Таблиця 3. Результати вивільнення окремих компонентів 2 % гелю КС

Термін спостереження, год	Досліджувані речовини, г x 10 ⁻⁴	
	γ-кротонолактон	Zn-карнозин
1	16,3	4,3
2	28,1	9,6
3	57,4	11,8
4	80,7	16,4
5	94,6	21,8
6	131,2	25,8
7	147,4	30,2
8	161,2	32,1
9	172,5	33,4
10	178,1	33,6
11	181,7	33,6
12	183,2	33,6

Отримані дані дозволили визначити та порівняти швидкість вивільнення основних діючих речовин із 2 % гелю КС у ізотонічний розчин натрію хлорид.

Аналіз отриманих результатів вказує, що основні діючі речовини досить легко переходять із гелю у розчин. Не спостерігається різких стрибків вивільнення, а концентрація поступо-

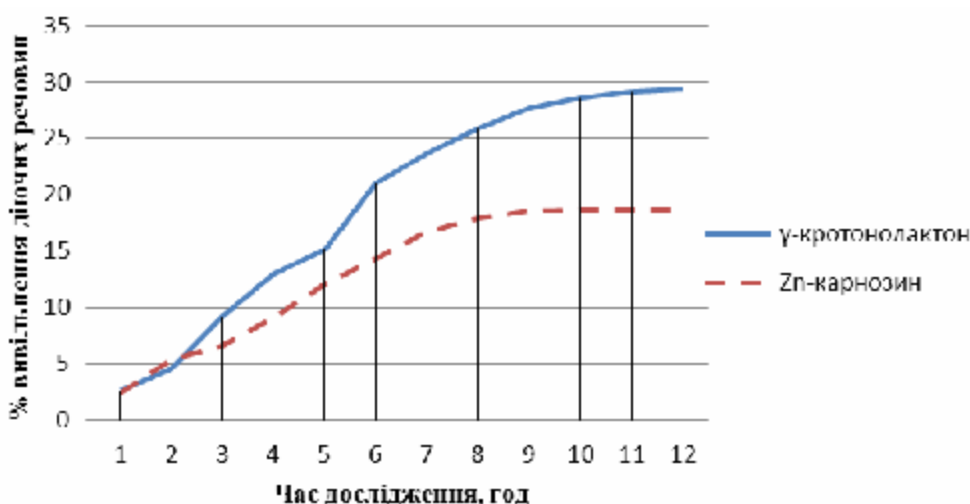


Рис. 2. Швидкість вивільнення γ-кротонолактону та Zn-карнозину із 2 % гелевої форми досліджуваної КС.

во стабільно зростає впродовж усього перебігу експерименту.

У початкові терміни (1–2 год) процентні показники вивільнення практично однакові і становлять, відповідно, 2,61 та 4,50 % у γ-кротонолактону та 2,38 та 5,33 % в Zn-карнозину.

На 3-тю годину відмічається певна відмінність в отриманих даних. Кількість вивільненого γ-кротонолактону, для якого характерна антисептична активність, становить 9,19 %. Цей показник у Zn-карнозину, з яким пов'язана протизапальна активність препарату, дорівнює 6,55 % від загальної його маси.

Вказана тенденція залишалася і надалі впродовж дослідження. Інтенсивність виділення Zn-карнозину із гелевої субстанції повільно наростала до 7 години і складала 16,77 %. Після цього практично наступала стадія врівноваження і максимальна величина виділення для цієї діючої речовини становила 18,66 %.

Схожа динаміка була відмічена і у випадку γ-кротонолактону. Проте постійне збільшення його концентрації у розчині хлориду натрію виявлено до 9 години експерименту, коли показник вивільнення був на рівні 27,64 %. Після цього спостерігалася фаза врівноваження, із не-

значним збільшення концентрації до 29,35 % від його загальної маси в досліджуваному препараті.

Аналізуючи отримані дані, можна вважати, що основні діючі компоненти досліджуваної 2 % гелевої форми КС мають здатність виділятися із поліетиленоксидної основи і проникати через мембрану в ізотонічний розчин натрію хлориду. Необхідно зазначити, що впродовж 12 год виділяється достатня кількість γ -кروتанолактону, яка створює необхідну концентрацію для мікробіцидної активності препарату. І хоча в розчин переходить в 1,57 раза менше Zn-карнозину, для лікування ран, де потрібна не резорбтивна, а місцева дія на ураженій поверхні, дана кількість речовини є достатньою для протиза-

пального засобу. Підтвердження цього висновку було виявлено у подальших експериментальних дослідженнях.

Висновок. Отримані результати досліджень різнобічних фізико-хімічних властивостей 2 % гелю КС похідних γ -кروتанолактону Zn-карнозину як фармакологічного засобу комплексної місцевої дії з антисептичними та протизапальними властивостями свідчать, що вони в основному відповідають вимогам, які висувають до аналогічних препаратів, занесених до переліку Державної фармакопеї України та її рекомендацій. Одержані дані дозволяють продовжувати подальші експериментальні дослідження за умов *in vivo*.

Література

1. Антиоксидантна дія лікарських засобів у модельних системах різної складності / О. І. Хижан, О. П. Книга, О. І. Хижан, Ю. С. Єфремова // Вісник донецького національного університету. – Сер. А : Природничі науки. – 2010. – № 1. – С. 208–212.
 2. Березняков А.В. Експериментальне дослідження репаративної активності мазі «Глітацид» на асептичні та інфіковані рани шкіри / А. В. Березняков, С. Б. Попов, О. А. Рубан // Український біофармацевтичний журнал. – 2010. – № 6 (11). – С. 42–44.
 3. Галимзянов Ф. В. Лечение инфицированных ран и раневой инфекции : учебное пособие / Ф. В. Галимзянов // Екатеринбург: УГМА, 2012. – 88 с.
 4. Коньков Д. Г. Фармакотерапевтична ефективність мазей, що містять відборон, при експериментальних ранах: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец.14.03.05 «Фармакологія» / Д. Г. Коньков. – Одеса, 2009. – 20 с.
 5. Огоновський Р. З. Пофазна швидкість загоєння експериментальної інфікованої рани на тлі адреналінового пошкодження міокарда та її корекції / Р. З. Огоновський, М.С. Регада, Ю. Б. Пастернак // Досягнення біології та медицини. – 2012. – № 3. – С. 16–19.
 6. Цыганенко А. Я. Этиология гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей и чувствительность к антибиотикам основных возбудителей / А. Я. Цыганенко, Е. В. Гирич, О. А. Головина // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2008. – № 1. – С. 66–68.
 7. Шалімов О. О. Сучасне медикаментозне лікування ран : відомча інструкція / О. О. Шалімов. – К., 2002. – 35 с.
 8. Development of a Bayesian model to estimate health care outcomes in the severely wounded / A. Stojadinovic, J. Eberhardt, T. S. Brown [et al.] // J. Multidiscip. Healthc. – 2010. – Vol. 6, № 3. – P. 125–135.
 9. Hindhede A. A clinical case-series evaluation of a superabsorbent dressing on exuding wounds / A. Hindhede, F. Meuleneire // Journal of Wound Care. – 2012. – № 11. – P. 576–580.
 10. Kieser D. C. Leading wound care technology : The ARANZ medical silhouette / D. C. Kieser, C. Hammond // Adv. Skin Wound Care. – 2011. – № 2. – P. 68–70.
 11. Lees P. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and therapeutics of pradofloxacin in the dog and cat / P. Lees // Journal of Veterinary Pharmacological Therapy. – 2012. – № 12. – P. 111–116.
 12. Nanoengineering a biocompatible inorganic scaffold for skin wound healing / G. E. Poinern, D. Fawcett, R. K. Brundavanam [et al.] // J. Biomed. Nanotechnol. – 2010. – Vol. 6, № 5. – P. 497–510.
 13. Micro-RNAs: New Regulators of Wound Healing / I. Pastar, H. Ramirez, O. Stojadinovic [et al.] // Surgical Technology International. – 2011. – №12. – P. 51–60.
 14. Thomson Ch. Yakult: a role in combating multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*? / Ch. Thomson, I. Hassan, K. Dunn // Journal of Wound Care. – 2012. – №11. – P. 568–569.
- White R. Wound colonization and infection: the role of topical antimicrobials/ R. White, R. Cooper, A. Kingsley // British Journal Nursery. – 2011. – Vol. 10, № 9. – P. 563–578.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 2 % ГЕЛЯ КОМПОЗИЦИОННОЙ СМЕСИ ПРОИЗВОДНЫХ γ -КРОТОНОЛАКТОНА И ZN -КАРНОЗИНА

Р. З. Огоновский

Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого

Резюме: в статье представлено данные исследования физико-химических и биофармакологических свойств геля нового препарата, изготовленного на основе композиционной смеси γ -кроднолактона и Zn-карнозина, который владеет антимикробным и ранозаживляющим действием при локальном лечении асептических и инфицированных раневых процессов.

Полученные результаты свидетельствуют, что исследуемый 2 % гелм композиционной смеси в основном отвечает требованиям, которые относятся к аналогичным препаратам, занесенным к перечню Государственной фармакопеи Украины и ее рекомендаций. Полученные данные разрешают продолжить дальнейшие экспериментальные исследования при условиях in vivo.

Ключевые слова: γ -кроднолактон, Zn-карнозин.

PHYSICO-CHEMICAL AND BIOPHARMACOLOGICAL PROPERTIES OF COMPOSITION MIXTURE γ - CROTONLAKTONE AND ZN-CARNOZINE DERIVATIVES GEL

R. Z. Ohonovskyi

Lviv National Medical University by Danylo Halytskyi

Summary: these researches of physico-chemical and biopharmacological properties of new preparation gel, made on the basis of composition mixture γ -crotonlactone and Zn-carnozine derivatives are presented in the article, which owns an antimicrobial and wound healing action at local treatment of aseptic and infected wound processes.

The obtained results testify that investigated 2 % gel of composition mixture mainly meet to the requirements, which behave to analogical preparations, brought to the list of State Pharmacopoeia of Ukraine and its recommendations. The obtained data let to continue further experimental researches on conditions of in vivo.

Key words: γ -crotonlactone, Zn-carnozine.