

**Е. И. Кулиш, И. Ф. Туктарова, В. В. Чернова,
Х. С. Абзальдинов, Г. Е. Заиков**

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ХИТОЗАНОВЫХ ПЛЕНОК С ВКЛЮЧЕННЫМ АНТИБИОТИКОМ ЦЕФАЗОЛИНОМ

Ключевые слова: хитозан, пленочные покрытия, ферментативный гидролиз, антибиотики.

С помощью метода вискозиметрии исследованы особенности ферментативного гидролиза полимерных пленок на основе хитозана с включенным антибиотиком цефазолином под действием ферментного препарата «Лираза»

Keywords: chitosan, film coatings, the enzymatic hydrolysis, antibiotics.

By the viscometric method the features of the enzymatic hydrolysis of the polymer films based on chitosan with the included cefazolin antibiotic under the action of an enzyme preparation "Liraza" were investigated.

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 избегать высоких начальных концентраций препарата и снизить количество 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 инaktivировать лекарственные препараты. Перспективным материалом для получения систем с контролируемой доставкой лекарственных средств, является полисахарид хитозан (ХТЗ) [2]. Уникальные свойства ХТЗ - биосовместимость с тканями организма, бактериостатичность, способность усиливать регенеративные процессы при заживлении ран, а также способность к пленкообразованию, предопределяют возможность использования ХТЗ в качестве пленочных покрытий пролонгированного действия для защиты и лечения хирургических ран и ожогов [3]. 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 гидролизу под действием ферментов, выделяемых раневой поверхностью [4]. Биодegradируемые носители лекарственных препаратов постепенно разрушаются в организме, при этом на скорость биодegradации 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 повлиять на скорость биодеструкции полимерной матрицы. В настоящей работе рассмотрены особенности ферментативного гидролиза пленочных полимерных покрытий на основе хитозана и антибиотика цефалоспоринового ряда – цефазолина, широко применяемого при лечении ожоговых травм.

Экспериментальная часть

В качестве объектов исследования использован образец ХТЗ производства ЗАО «Биопрогресс» (Россия), полученный щелочным дезацетилизацией 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 «Лираза», и выдерживали при температуре 36°C в течении 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 ферментативного гидролиза оценивали по падению характеристической вязкости, определенной на вискозиметре Уббелодее.

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 [5]. Гиалуроновые кислоты представляет собой высокомолекулярные линейные биополимеры, молекулы которых построены из чередующихся остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, соединённых бета-(1-4)- и бета-(1-3)-связями. Поскольку хитозан является полимером глюкозамина, соединённым между собой также бета-гликозидными связями, в нем также под действием гиалуронидаз («Лиризы»), будет протекать процесс ферментативного гидролиза. О протекающем процессе ферментативного гидролиза свидетельствует уменьшение характеристической вязкости ХТЗ, выделенного из пленочных образцов (рис.1). Как видно из рисунка, наиболее сильно характеристическая вязкость падает в первые 10-20 минут, затем скорость ферментативного гидролиза несколько уменьшается.

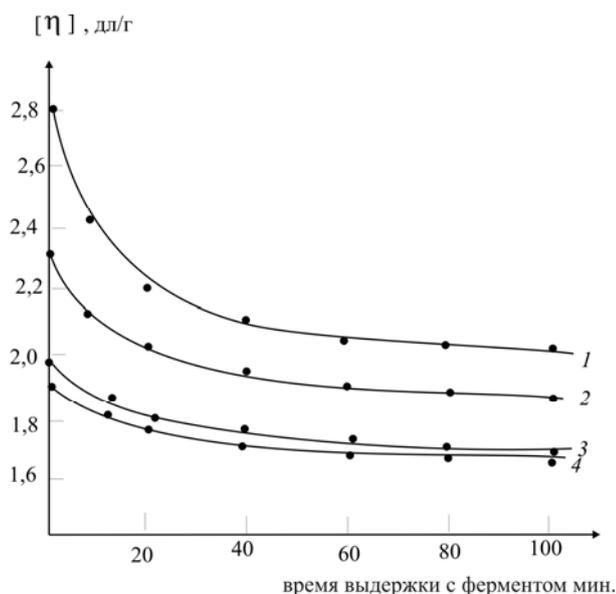


Рис. 1 - Зависимость характеристической вязкости хитозана, выделенного из пленочных образцов в отсутствие лекарственного препарата (1) и для системы ХТЗ - натриевая соль цефазолина (2-4) с содержанием лекарственного препарата 0,002 (2), 0,01 (3), 0,05 (4) моль на моль ХТЗ

Сравнение кривых падения вязкости пленочных образцов ХТЗ, определенные в отсутствие и в присутствии лекарственного препарата позволяют сделать некоторые замечание. Значение характеристической вязкости пленочного образца ХТЗ, определенное 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 препарата. 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, который уменьшится при уменьшении активности аминогрупп ХТЗ.

Степень падения вязкости и скорость падения вязкости для пленки ацетата ХТЗ без лекарственных препаратов также выше, чем для лекарственных пленок. Так, за время выдержки равной 1 часу, 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 уменьшают свою характеристическую вязкость только на 0,2 единицы. 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.

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.

Литература

1. Скрябин К.Г., Вихорева Г.А., Варламов В.П. Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. М.: Наука. 2002. 365с.
2. Куликов С.Н., Хайруллин Р.З. Активация лизостафина как инструмент оценки антибактериального потенциала хитозана / Вестник Казанского технологического

университета. 2013. № 7. С. 155-158.

3. Шпильман М. И. Полимеры медико-биологического назначения. Москва: ИКЦ «Академкнига», 2006. С.214.

4. Чернова В.В., Кулиш Е.И., Володина В.П., Колесов С.В. Влияние неспецифических ферментов на хитозан // Материалы IX Международной конференции

«Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана»: Росхит. 2008. С.234-236.

5. Чернова В.В., Володина В.П., Кулиш Е.И., Колесов С.В. Деструкция хитозана в растворе под действием фермента гиалуронидазы // Вестник башкирского университета. 2009. Т.14. №1. С.44-47.

© **Е. И. Кулиш** - д.х.н., проф. Башкирского госуд. ун-та; **И. Ф. Туктарова** - сотр. Башкирского госуд. ун-та; **В. В. Чернова** - сотр. Башкирского госуд. ун-та; **Х. С. Абзальдинов** – к.т.н., доц. каф. технологии пластических масс КНИТУ, ov_stoyanov@mail.ru; **Г. Е. Заиков** - д.х.н., проф. той же кафедры.