

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЗРАБОТКИ МАЗИ С МАСЛОМ АМАРАНТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОЖОГОВЫХ И ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН

В. Ф. Дзюба, Е. Ф. Сафонова, И. М. Коренская, И. А. Свешникова

Воронежский государственный университет

Ежегодно в России регистрируется более 12 млн. больных с различными ранами травматического происхождения, что очень часто приводит к развитию гнойных процессов. В Воронежском госуниверситете изучена возможность создания новой лекарственной формы — мази с маслом амаранта для лечения раневого процесса в т.ч. ожогов, трофических язв; масло при лечении как инфицированных, так и неинфицированных ожогов на ранних сроках (II сутки) снижает обсемененность ожоговых ран в 10—20 раз и оказывает стимулирующий эффект на процессы очищения и регенерации ткани.

ВВЕДЕНИЕ

Перспективным направлением в развитии отечественного рынка фитопрепаратов является разработка технологии получения и изучение биологической активности масляных фитопрепаратов и лекарственных форм на их основе. Клинические испытания амарантового масла, проведенные в Воронежском областном ожоговом центре показали, что при лечении ожогов II—III степени эпителизация ткани у больных наступала на 3—5 дней раньше, чем при традиционных способах лечения. Амарантовое масло обладает бактерицидной активностью «*in vitro*» к музейным штаммам синегнойной и кишечной палочек; масло при лечении как инфицированных, так и неинфицированных ожогов на ранних сроках (II сутки) снижает обсемененность ожоговых ран в 10—20 раз и оказывает стимулирующий эффект на процессы очищения и регенерации ткани.

Учитывая высокую насыщенность амарантового масла многими биологически активными соединениями и особенно скваленом (до 8 %) и полиненасыщенными жирными кислотами можно заключить, что амарантовое масло является уникальным природным лечебным средством и может применяться при лечении самых разнообразных как наружных, так и внутренних заболеваний.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все исследования по разработке состава, технологии изготовления выполнены на фармацевтическом факультете ВГУ. Сотрудниками ВГУ [2]

разработана и запатентована уникальная технология получения масла из семян амаранта гибридного (*Amaranthus hybridicus*), включающая прямую экстракцию гексаном в среде углекислого газа. Анаэробное и ингибирующее действие углекислого газа позитивно влияет на стабилизацию сквалена, токоферола и способствует увеличению их выхода. Экстракция осуществлялась органическим растворителем в экстракторе погруженного типа при $t = 25\text{—}40\text{ }^{\circ}\text{C}$ в среде углекислого газа.

Разработка оптимального состава мази включала проведение биофармацевтических исследований по выбору мазевой основы, концентрации и способа введения масла амаранта. Были изучены гидрофильные основы: вазелин, 4 % раствор хитозана с глицерином (10 %) и водой; адсорбционная основа — сплав вазелина и ланолина (1:1); эмульсионная основа-сплав эмульгатора Т₂, вазелина и воды (1:3:6).

Критериями оценки мазевых основ являлись: внешний вид, структурно-механические параметры, биофармацевтическая доступность.

Моделирование технологических свойств, экструзионной способности и удобства нанесения мазей проводилось с помощью реологических характеристик. Реологические свойства модельных систем исследовались на ротационном вискозиметре “Rheotest-2” (Германия), используя метод последовательного разрушения структуры при переходе от малых градиентов скорости сдвига к большим и обратно [1].

При выборе концентрации масла амаранта в мази ориентировались на данные литературы [3], определив наиболее часто применяемые концентрации масляных экстрактов в мазях: 5 и 10 %. Однако, 10 % мазь с маслом амаранта в процессе

© Дзюба В. Ф., Сафонова Е. Ф., Коренская И. М., Свешникова И. А., 2007

хранения оказалась нестабильной, и в дальнейшем не исследовалось.

Оценку качества приготовленных мазей проводили по показателям общей статьи «Мази» ГФ XI и с помощью дополнительных исследований — термостабильности, перекисного числа — по ГОСТу 28303-89 и ГОСТу 28767-90 для косметических мазей на эмульсионной основе.

Идентификацию масла амаранта в мазях проводили по α -токоферолу УФ-спектрофотометрическим методом путем сравнения максимумов поглощения в УФ-области стандартного раствора α -токоферола (ISN-Biomedical) и исследуемого в диапазоне от 200 до 360 нм. Спектр поглощения стандартного и исследуемого растворов имеет один максимум при 284 ± 2 нм и минимум при 254 ± 2 нм.

Для количественной оценки содержания масла амаранта в мягких лекарственных формах разработана спектрофотометрическая методика. Определение проводили по α -токоферолу методом абсолютной градуировки, измеряя оптическую плотность спиртового извлечения из мазей при 284 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Содержание α -токоферола в г/25 мл находили по градуировочному графику. Содержание α -токоферола в 1,0 мази в граммах вычисляли по формуле

$$X = (C \times V) / a \times 5 \times 1000,$$

где C — содержание α -токоферола в 25 мл, найденное по градуировочному графику, г; V — объем колбы, мл; a — навеска мази, г; 5 — аликвота, мл; 1000 — коэффициент пересчета в граммы.

Биофармацевтические исследования биодоступности лекарственного вещества проводили методом равновесного диализа по Кривчинскому. В качестве диализной среды использовали фосфатный буфер с pH = 6,8. Испытания проводили в изометрическом режиме, при температуре $t = 37 \pm 10$ °С. Забор проб диализа (по 2 мл) осуществляли через каждые 15 мин. в течение 180 мин. с восполнением диализной среды. Параллельно проводили контрольный опыт с мазью-плацебо. Содержание масла в пробах определяли спектрофотометрически.

О противоожоговом действии мазей на основе амарантового масла судили по динамике уменьшения площади ожоговой раны. Исследования проводили в сравнении с контрольной группой без использования лекарственных средств. Термический ожог (две симметричные ожоговые раны) наносили 20 белым беспородным крысам, массой 210—230 г, под эфирным наркозом специальным устройством. Устройство представляет собой тер-

моизлучатель, имеющий стабильные физические характеристики: температуру нагревательного элемента — 100 °С, контактную площадь металлической пластины ~ 300 мм². Термоизлучатель разработан на кафедре физиологии человека и животного ВГУ.

Металлическую пластину накладывали на предварительно деэпилированную кожу поясничной области крыс в течение 10 секунд. В результате нанесения ожога животные получали дозированную ожоговую травму. Общая площадь ожогового повреждения составляла около 5 % поверхности тела. Используемые в эксперименте животные были разделены на пять групп по 4 крысы в каждой.

Первая группа служила контролем. Крысам второй группы сразу после нанесения ожога начинали лечение амарантовым маслом, крысам третьей, четвертой и пятой группы наносили соответственно мазь 5 % с амарантовым маслом, мазь 5 % с амарантовым маслом и хитозаном, мазь 5 % с амарантовым маслом, диоксидином и маслом фенхеля. Мази наносили на каждую ожоговую рану ровным слоем по 0,05 мл 2 раза в сутки. Лечение проводилось в течение 28 суток.

Измерение площади ожоговой поверхности проводили на 1 — 3 — 7 — 14 — 21 — 28 сутки после нанесения ожога планиметрическим методом.

Все животные содержались в условиях вивария со свободным доступом к воде и сбалансированному брикетированному комбикорму.

Полученные данные обработаны статистически с помощью программы «Stadia».

РЕЗУЛЬТАТЫ ОБСУЖДЕНИЯ

При выборе мазевых основ руководствовались результатами реологического исследования, полученными на ротационном вискозиметре. Для исследования взяты два состава мазей с маслом амаранта (табл. 1).

С целью повышения антимикробной и противовоспалительной активности в мазь на консистентной основе ввели диоксидин и масло фенхеля — в качестве антисептика. Мази готовили в асептических условиях с использованием стерильных лекарственных веществ, компонентов основы, вспомогательных материалов, посуды. Визуально мази представляли однородную вязко-пластично-упругую массу, не содержащую крупинок и посторонних примесей, белого или слегка желтоватого цвета со слабым характерным запахом. Готовые

Таблица 1

Составы мазей

№ композиции	Состав
1	Масло амаранта 5,0 Диоксидин 1 % — 10,0 Масло фенхеля 0,2 Консистентная эмульсия вазелина до 100,0
2	Масло амаранта 5,0 Вазелин 66,5 Глицерин 9,5 Ланолин б/в 7,6 Хитозан 20 % водный раствор 11,4

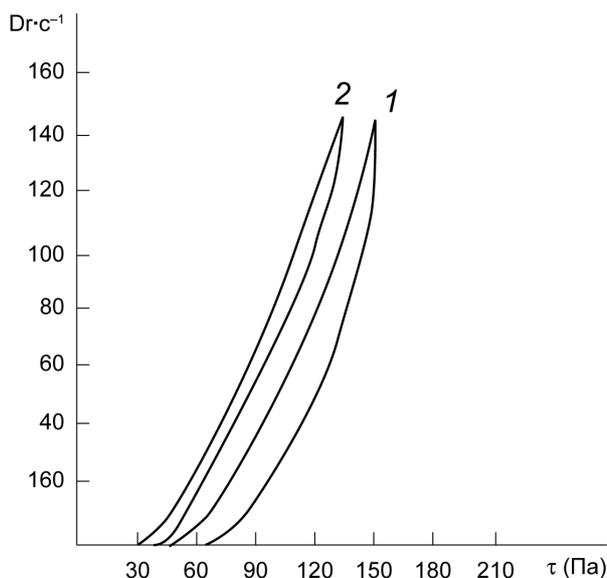


Рис. 1. Реограммы течения мазей на основе №1 (1) и на основе №2 (2)

мази фасовали по 50,0 г в банки из темного стекла, хранили в сухом помещении с относительной влажностью не более 70 % при t не ниже + 5 °С. Одним из факторов, влияющих на терапевтические и потребительские качества мазей являются реологические свойства. Для характеристики структурно-механических свойств разработанных мазей изучены такие реологические свойства, как динамическая вязкость, касательное напряжение сдвига, тиксотропность (рис. 1).

На рис. 1 представлена кинетика деформации при градиенте скорости сдвига от 0,8 до 145,8 с⁻¹.

Наличие восходящей и нисходящей кривых петли гистерезиса и ее небольшая ширина свидетельствует о наличии тиксотропных свойств, что указывает на высокую стабильность системы и соответствует хорошей намазываемости. Показатели качества разработанных и изготовленных мазей представлены в табл. 2.

Показатель КЧ, контролирующий процесс прогоркания масла при неправильном хранении, прак-

Таблица 2

Оценка качества изготовленных мазей

Показатель качества	Срок хранения 0 месяцев		Срок хранения 3 месяца		Срок хранения 6 месяцев		Срок хранения 9 месяцев	
	Состав 1	Состав 2	Состав 1	Состав 2	Состав 1	Состав 2	Состав 1	Состав 2
Внешний вид	однородная вязко-пластично-упругая масса, не содержащая крупинок и посторонних примесей, белого или слегка желтоватого цвета со слабым характерным запахом							
рН	5,10	6,50	5,10	6,50	5,10	6,50	5,10	6,50
Кислотное число	4,59	3,78	4,59	3,78	4,59	3,78	4,59	3,78
Перекисное число	7,55	7,05	7,55	7,05	7,55	7,05	7,55	7,05
Йодное число	26,8	30,2	26,8	30,2	26,8	30,2	26,8	30,2
Плотность, г/мл	0,9003	0,8918	0,9003	0,8918	0,9003	0,8918	0,9003	0,8918
$T_{пл}$, °С	64,5	48,5	64,5	48,5	64,5	48,5	64,5	48,5
Термостабильность	Стабильна							
Подлинность (УФ-СФ)	max при 284±2 нм и min при 254±2 нм							

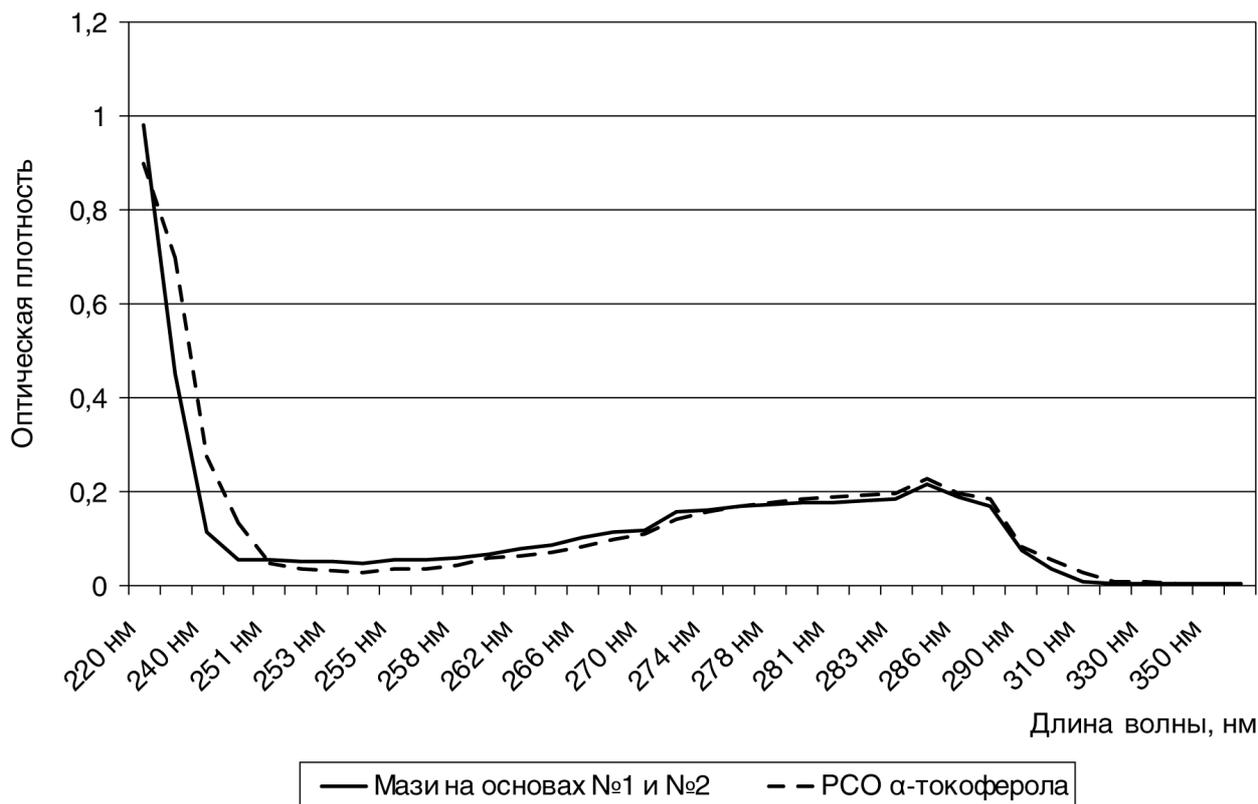


Рис. 2. УФ-спектры PCSO α-токоферола и этанольных извлечений из мазей

тически не менялся в течение всего срока хранения и соответствует требованиям НД (1—10 мг КОН/г). Показатель ИЧ, характеризующий количество полиненасыщенных жирных кислот не изменялся в течение 12 месяцев хранения, что свидетельствует о сохранении фармакологической активности мази. Как следует из таблицы показатель «перекисное число» за все время хранения увеличивается незначительно и соответствует требованиям НД (< 10 моль/кг O_2), что также свидетельствует о сохранении фармакологической активности мази.

Для идентификации масла амаранта в мази использовали УФ-спектрофотометрию. УФ-спектр 0,06 % раствора α-токоферола из вытяжки мази — плацебо имел максимум 284 нм и минимум 254 нм, что соответствовало УФ-спектру PCSO α-токоферола (рис. 2).

Количественный анализ α-токоферола спектрофотометрическим методом показал, что его содержание в мазях находится в пределах 0,016—0,017 г. (6,8 %, 6,4 %). Стабильность мазей с маслом амаранта изучали в режиме реального времени.

Данные таблицы (2) свидетельствуют о физико-химической стабильности 5 % мази амаранта в течение 12 месяцев хранения в банках стеклянных и п/э. Концентрация α-токоферола, йодное, кислот-

ное, перекисное число, pH, плотность изменяются в допустимых пределах, предусмотренных нормативной документацией.

Биофармацевтические исследования, связанные с изучением процесса высвобождения масла амаранта из мазей по Кривчинскому представлены на рис. 3. Как видно из представленного графика более полное высвобождение α-токоферола наблюдается в мази на консистентной эмульсии вазелина и через 180 мин. составило 58 % против 35 % из мази на основе № 2.

Результаты изучения динамики заживления ожоговой раны в контрольной и опытной группах представлены на (рис. 4). Мазь на консистентной эмульсии вазелина с 5 % содержанием масла амаранта и добавлением диоксида (1 %) и масла фенхеля показала статистически достоверное уменьшение площади поражения по сравнению с контрольной группой начиная с 14 дня — на 43 %, на 21 день — на 81 %, на 28 день на 96,86 %.

Таким образом, в результате комплексных биофармацевтических, физико-химических и доклинических исследований разработан состав и технология получения 5% мази масла амаранта, что позволяет расширить ассортимент противоожоговых и противовоспалительных средств.

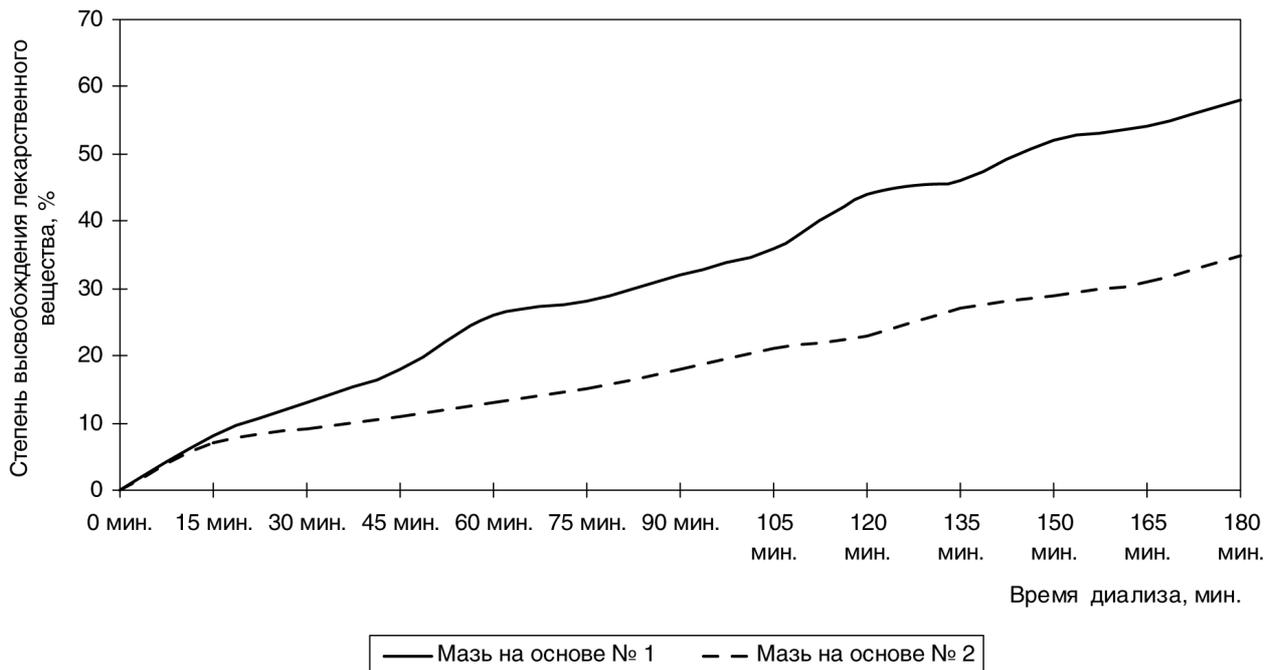


Рис. 3. Степень высвобождения α -токоферола из эмульсионных основ

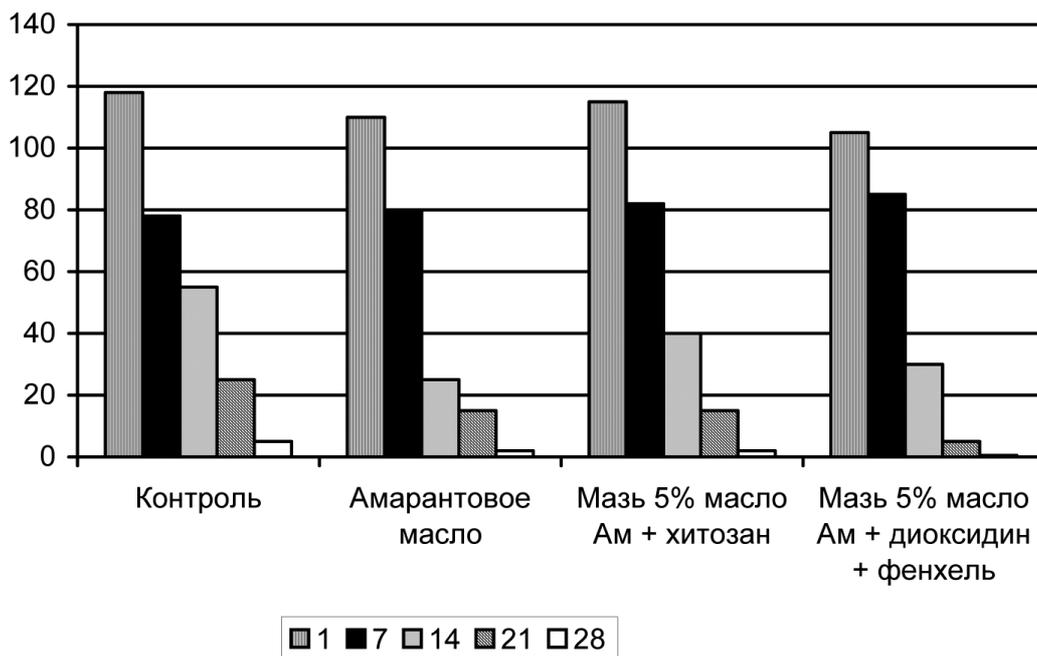


Рис. 4. Изменение площади ожоговой травмы при лечении амарантовым маслом и мазями на его основе

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аркуша А.А. Оценка и контроль консистенции мазей с использованием реограмм. Информационное письмо / Аркуша А.А., Перцев И.М. — К.: РЦНМИ МЗ УССР. — вып. 10 по проблеме «Фармация», 1983. — 2 с.
2. Макеев А.М., Коренская И.М., Кунин А.А., и др. Амарантовое масло — уникальное природное лекарственное средство. Материалы IV междунар. симп. «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их исполь-

зования» / А.М. Макеев, И.М. Коренская, А.А. Кунин [и др.] М.: Пушино, 20—24 июня 2001. — С. 255—265.

3. Тенцова А.И. Современные аспекты исследования и производства мазей / А.И. Тенцова, В.М. Грецкий — М.: Медицина, 1980. — 192 с.

4. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств: в 2-х т. Т.2. / под ред. проф. И.М. Перцева, и проф. А. Зупанца. — Харьков: Изд-во НФАУ, 1999. — Т.1. — 448 с.