

УДК 577.151.042:6786

ИММОБИЛИЗАЦИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

И.И.Романовская, **Т.И.Давиденко**, С.С.Декина, И.И.Пашкин*, С.А.Андронати

Физико-химический институт им. А.В.Богатского НАН Украины, 65080, г. Одесса, Люстдорфская дорога, 86. E-mail: romairina@gmail.com

* Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В.Ломоносова

Ключевые слова: иммобилизация; протеазы; липазы; лизоцим; аллергены; полимеры

В обзоре обобщены и систематизированы результаты собственных исследований в области иммобилизации биологически активных веществ на полимерных носителях медицинского назначения.

IMMOBILIZATION OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES WITH THE AIM OF CREATING POTENTIAL DIAGNOSTIC AND MEDICINAL AGENTS

I.I.Romanovskaya, **T.I.Davidenko**, S.S.Dekina, I.I.Pashkin, S.A.Andronati

The results of our own investigations in the field of biologically active substances immobilization on polymeric carriers of medical purpose have been summarized and systematized in the review.

ИММОБІЛІЗАЦІЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН З МЕТОЮ СТВОРЕННЯ ПОТЕНЦІЙНИХ ДІАГНОСТИЧНИХ І ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

I.I.Романовська, **Т.І.Давиденко**, С.С.Декіна, І.І.Пашкін, С.А.Андронаті

В огляді узагальнені і систематизовані результати власних досліджень в області іммобілізації біологічно активних речовин на полімерних носіях медичного призначення.

Иммобилизация биологически активных веществ (БАВ) на полимерных носителях является актуальной задачей биоорганической химии и медицинской биотехнологии, поскольку позволяет создавать стабильные, активные препараты пролонгированного действия с контролируемым высвобождением, направленным местом всасывания, разрабатывать новые пути их введения для использования в различных областях медицины: терапии ран и ожогов, в качестве антибактериальных препаратов, средств для заместительной терапии недостаточности пищеварения, для диагностики и лечения аллергических заболеваний.

Стратегия создания потенциальных диагностических и лекарственных средств на основе закрепленных на носителе БАВ включала: выбор матрицы, перспективной для использования в медицине, разработку метода иммобилизации, соответствующего применению препарата и пути его введения в организм, подробному исследованию условий иммобилизации (рН, температуры, соотношения реагентов, пористости носителя, содержания реакционноспособных групп и др.), детальному изучению физико-химических особенностей полученных препаратов с использованием современных методов (спектроскопических, вискозиметрии, электрофореза и др.), проведению medico-биологических исследований.

Объектами иммобилизации были гидролитические ферменты различного происхождения (про-

теолитические, липолитические, литические), аллергены, ЛС. В качестве носителей использовали гидрофильные полимеры: полиэтиленгликоли, поливиниллактаты, поливиниловый спирт, полисахариды, пищевые волокна, перевязочные средства, аэросилы и др.; использовали физические методы иммобилизации: импрегнацию, включение в растворы и гели полимеров, комплексообразование, адсорбцию.

Для пролонгирования действия БАВ широко использовали сшивку поливинилового спирта бурой (схема 1).

Этот метод показал отличные результаты при создании ферментных препаратов для раневой и ожоговой терапии, заместительной терапии недостаточности пищеварения. Стабилизация и пролонгирование используемых протеолитических и литических ферментов с широкой субстратной специфичностью (эластофераза, щелочная протеаза *Bac. subtilis*, литические ферментные комплексы из *Str.recifensis var. lyticus* 2435, липаза из *P. solitum*) для закрепления их на различных под-

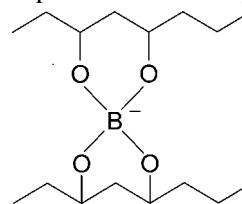


Схема 1

Таблица 1

Иммобилизованная на АУВМ щелочная протеаза в терапии гнойных ран у крыс

Экспериментальные животные	Сроки заживления ран, сут	
	очищение	полное заживление
Контроль	11,1±0,6	27,2±2,0
Раствор фермента	8,9±0,4	23,3±1,5
Иммобилизованный фермент	3,0±0,4	14,0±0,3

ложках (марля, нетканое полотно, активированный углеродно-волоконистый материал, пищевые волокна) либо в виде пленочных форм (ГЛП с протеолитическим ферментом и биогенным стимулятором торфотом, ГЛП с лизоцимом) достигается за счет невалентных взаимодействий с полимером и дополнительного включения в структуру сшитого полимера [1].

С использованием эластотеразы — щелочной сериновой протеиназы *Bac. subtilis* 316 М в Физико-химическом институте им. А.В.Богатского НАН Украины (проф. Т.И.Давиденко с сотр.) совместно с Институтом микробиологии и вирусологии им. Д.К.Заболотного НАН Украины, Институтом фармакологии и токсикологии АМН Украины, разработан пролонгированный ранозаживляющий препарат “Иммобилизованная эластотераза”, разрешенный к производству и клиническому применению в Украине и России [2-6]. Препарат представляет собой традиционно используемые в перевязочных средствах тканевые салфетки с протеолитической активностью 160-240 ПЕ/г, упакованные в герметичные полиэтиленовые пакеты. Иммобилизованная эластотераза сохраняет высокую активность (до 80% от исходной), стабильна после γ -облучения (стерилизация дозой 20 кГр) при хранении (2 года). Показания к применению: раневые и ожоговые поражения, абсцессы, трофические язвы, пролежни.

На стадии клинической апробации находится разработанный высокоэффективный ранозаживляющий препарат “Иммобилизованная на АУВМ щелочная протеаза”, отличающийся высокими некротическими и адсорбционными свойствами, дренирующим эффектом, стабильный в условиях хранения и γ -стерилизации с пролонгированным действием [7-9]. Эксперименты *in vitro* и *in vivo* (крысы, кролики) показали его большую активность по сравнению с профезимом, имозимазой, ируксоллом; количество переведенных в раствор аминокислот и белка в 2 раза превышало таковое

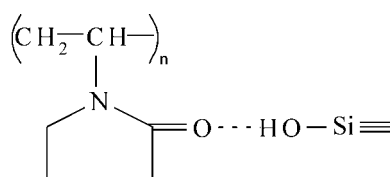


Схема 2

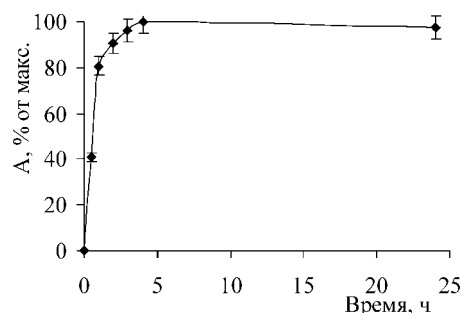


Рис. 1. Зависимость протеолитической активности иммобилизованной щелочной протеазы от времени.

в сравнении с “Эластотеразой иммобилизованной”, а сроки очищения экспериментальных гнойных ран сокращались с 11 до 3 суток при резком снижении содержания патогенной микрофлоры (табл. 1).

Особый интерес представляет разработка современных полимерных гидрогелевых раневых покрытий пленочного типа [10]. Такие покрытия обладают рядом достоинств: пластичностью, обеспечивающей хорошее моделирование на ране, возможностью визуального контроля за ее состоянием, охлаждающим действием, предотвращающим развитие инфекции, созданием на ране влажной среды, оптимальной для нормализации процессов регенерации. Они размягчают и лизируют некротические образования, способствуют элиминации экссудата, подавлению микрофлоры.

В настоящее время нами получено гидрогелевое раневое покрытие на основе модифицированного поли-N-винилпирролидона с иммобилизованной щелочной протеазой *Bacillus subtilis* [11-13].

Полимерный гидрогелевый материал представляет собой органо-неорганический гибрид — продукт объединения кремнийсодержащего соединения и ПВП в целостную структуру с образованием множественных водородных связей между карбонильной группой лактамного кольца ПВП и водородом силанольной группы золя поликремниевой кислоты (схема 2).

Иммобилизованный гидрогелевый препарат (45% воды) нерастворим в физиологических условиях, отличается количественным сохранением протеолитической активности после иммобилизации и высокой (62%) после γ -стерилизации (15 кГр) стабильностью при хранении (1 год).

Препарат отличается повышенной устойчивостью в среде, моделирующей рН раневого содержимого, высокой термостабильностью (k термоинактивации для свободного и иммобилизованного препарата составили $2,76 \cdot 10^{-2}$ и $8,42 \cdot 10^{-4} \text{ мин}^{-1}$, соответственно), пролонгированным действием (рис. 1).

Взаимодействие фермента с носителем подтверждено исследованием реологических характеристик растворов полимера.

Для разработки препарата заместительной терапии недостаточности пищеварения была изучена иммобилизация липазы *Penicillium solitum* (ЛП

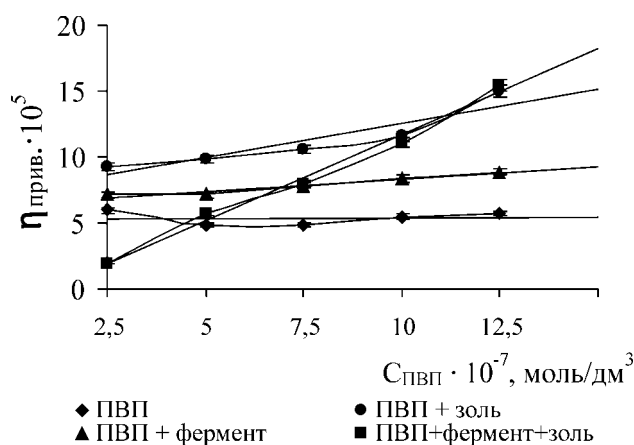


Рис. 2. Зависимость приведенной вязкости растворов ПВП от его концентрации.

“Солизим”) и других липолитических ферментов на АУВМ “ДНЕПР-МН” [14-17]. В результате получены иммобилизованные препараты с высокой липолитической активностью (20-40 ЛЕ/мг препарата) и стабильностью в кислой среде при длительном хранении, пролонгированного действия с высокими адсорбционными характеристиками. Препарат получил название “Энсоферм” и находится в стадии клинических испытаний. Медико-биологические исследования (НИИ педиатрии, акушерства и гинекологии МЗ Украины, г. Киев) “Энсоферма” подтвердили высокие адсорбционные свойства препарата, наличие выраженного дозозависимого эффекта; нормализацию функций печени при лечении экспериментального токсического поражения печени и хронического гепатохолецистита; безвредность препарата (4-й класс опасности) и отсутствие побочного действия на интегральные показатели организма при его хроническом введении.

Разработанное в последнее время пленочное покрытие на основе ацетилфталилцеллюлозы для

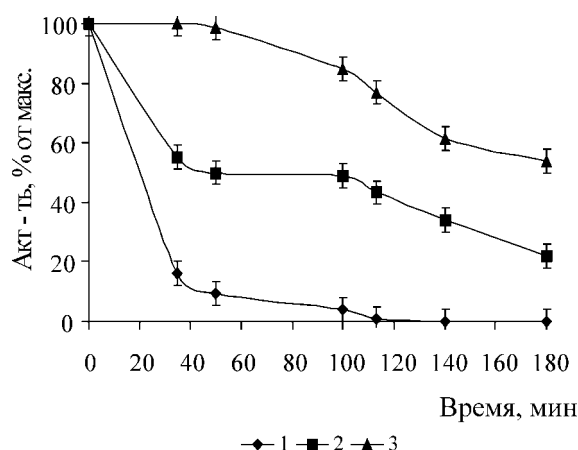


Рис. 3. pH-Стабильность свободной (1), иммобилизованной (2), иммобилизованной, покрытой пленкой АФЦ, липазы *P. solitum* в среде, моделирующей желудочный сок (3) (pH 3,0; 37°C).

иммобилизованного солизи́ма позволяет стабилизировать фермент и вдвое увеличить его активность в кислой среде желудочного сока (рис. 3).

При совместной иммобилизации ферментов на пищевых волокнах получен комплексный препарат для заместительной терапии недостаточности пищеварения с протеолитической, амилалитической, β-галактозидазной, липолитической активностью (табл. 2) [1].

На основе биосовместимых сополимеров акриламида, винилпирролидона и этилакрилата, а также ПВС, сшитого бурой, с иммобилизованными протеолитическими ферментами и биогенным стимулятором торфотом разработаны ГЛП для комплексной терапии ожогов глаз [18]. Исследования, проведенные в НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова на моделированных ожогах глаз кроликов показали двукратное ускорение времени ликвидации признаков ожоговой болезни — воспаления и эпителизации

Таблица 2

Активность ферментов в комплексном препарате для заместительной терапии недостаточности пищеварения

Фермент	Сохранение активности, %, *, **			
	Протеолитическая	Амилалитическая	β-галактозидазная	Липолитическая
Иммобилизация на пищевых волокнах				
Щелочная протеаза	89,0 (84,6*)			
Ораза		88,0 (2606**)		
β-галактозидаза			52,0 (123**)	
Солизим				22,0 (8078**)
Иммобилизация на пищевых волокнах в ПВС				
Щелочная протеаза	86,6 (83,4*)			
Ораза		91,3 (2984**)		
β-галактозидаза			47,4 (83,7**)	
Солизим				31,0 (9116**)

* - ПЕ/г, ** - ед/г.

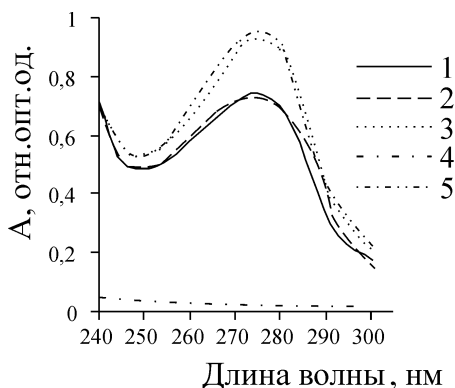


Рис. 4. Спектры поглощения растворов папаина.

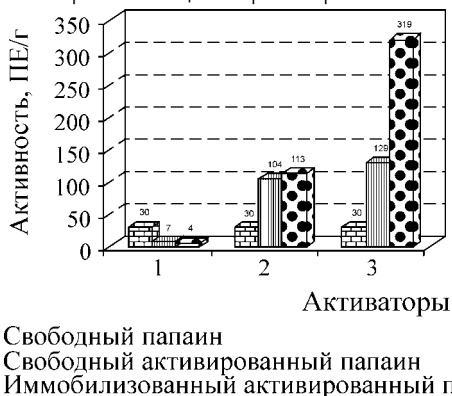


Рис. 5. Влияние активаторов на активность свободного и иммобилизованного папаина.

роговицы при использовании ГЛП по сравнению с контрольной группой. Иммобилизованный препарат (матрица ПВС) проходит стадию клинической апробации.

Учитывая, что папаин является ферментом выбора в офтальмологии, в настоящее время получены его стабильные, иммобилизованные совместно с мочевиной ГЛП (матрица ПВС) [19, 20]. Взаимодействие фермента и матрицы подтверждено методами УФ-спектроскопии (рис. 4) и вискозиметрии (табл. 3), что свидетельствует о конформационных изменениях и компактизации белковой глобулы фермента в результате иммобилизации. Показано, что добавление мочевины приводит к увеличению ферментативной активности в 1,7 раза. Добавление активаторов (смесь L-цистеина и динатриевой соли ЭДТА) увеличивает

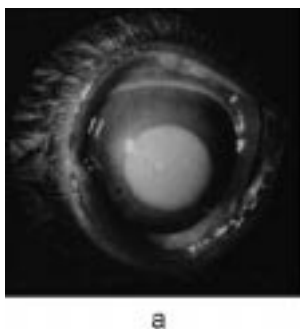


Рис. 6а. Моделированный щелочной ожог роговицы глаз кроликов. Интенсивное бельмо роговицы с зоной перифокального отека.

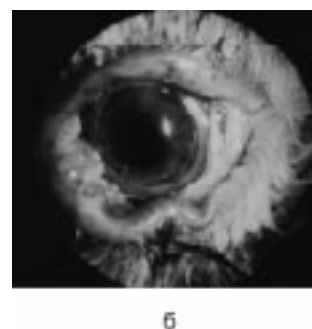


Рис. 6б. 50 минут после аппликации полимерной пленки с иммобилизованными папаином и мочевиной. Мутные слои роговицы отторглись.

Таблица 3

Исследование кинематической вязкости растворов ПВС

Объект исследования	Вязкость, мстокс, М±m
ПВС	2,34± 0,07
ПВС + папаин	2,17± 0,07
ПВС + папаин + мочевины	2,20± 0,07
ПВС + мочевины	2,33± 0,05

P>0,001 при n=9

активность свободного и иммобилизованного папаина в 4,3 и 10,6 раз, соответственно, тем самым способствуя уменьшению концентрации фермента в ГЛП, что экономически выгодно (рис. 5).

Исследования на моделях тяжелых щелочных ожогов роговицы глаз кроликов показали оптимальный некролитический эффект локального характера без повреждения здоровой ткани после 45 мин их действия, что позволяет проводить неотложную кератопластику.

Разработан иммобилизованный препарат ЧСА на основе ПВС в виде ГЛП, обладающий высокой поглощающей способностью по отношению к кислотам и щелочам (рис. 7), что перспективно для сорбционной терапии ожогов глаз [21, 22].

Исследования ГЛП (щелочные ожоги глаз 15 кроликов) показали, что равноценный лечебный эффект (ликвидация признаков воспаления) достигается при использовании раствора ЧСА с концентрацией, в 100 раз превышающей таковую в пленке.

В связи с возрастающей резистентностью микроорганизмов к антибиотикам актуальной проблемой является создание стабильных антимикробных противораковых и противоожоговых препаратов. В результате иммобилизации лизоцима, литических ферментных комплексов (ЛФК) *Streptomyces recifensis var. lyticus*: стерилазы и лизорицефина — препаратов широкого спектра действия в отношении клеточных стенок многих грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей были получены активные препараты бактериолитического действия, (с сохранением исходной литической активности после иммобилиза-

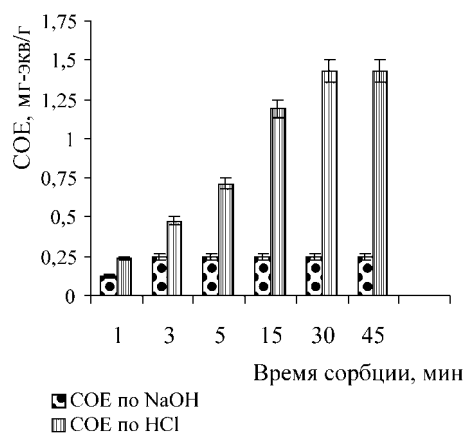


Рис. 7а. Поглощение пленкой на основе ПВХ с иммобилизованным САЧ 0,01 М растворов HCl и NaOH (температура $37\pm 0,5^\circ\text{C}$, pH конца титрования $6,0\pm 0,2$, массовое соотношение твердой и жидкой фаз 1:5).

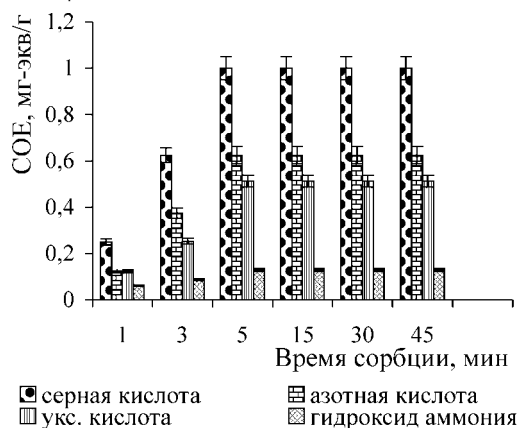


Рис. 7б. Результаты определения COE пленкой ПВХ с иммобилизованным САЧ по отношению к 0,01 М кислотам и щелочам (температура $37\pm 0,5^\circ\text{C}$, pH конца титрования $6,0\pm 0,2$, массовое соотношение твердой и жидкой фаз 1:5).

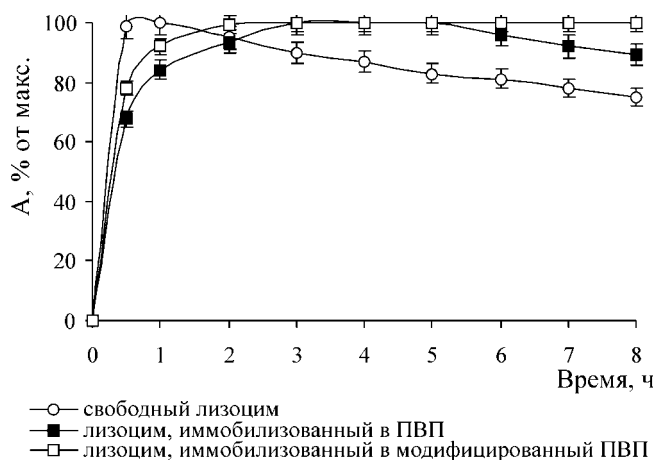


Рис. 8. Зависимость литической активности свободного и иммобилизованного лизоцима от времени инкубации при pH 5,5.

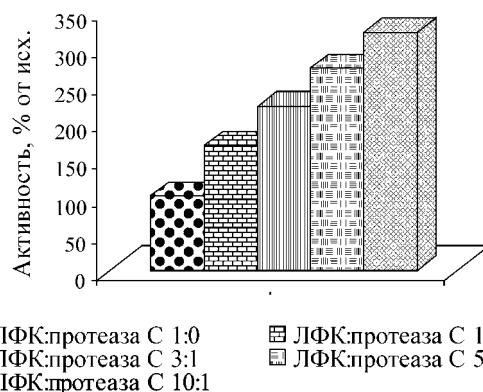


Рис. 9. Влияние массового соотношения ЛФК:протеаза С на литическую активность препарата при их совместной иммобилизации в ПВХ.

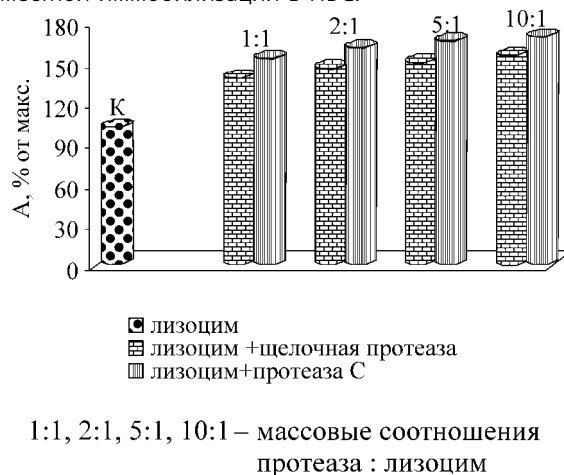


Рис. 10. Активность лизоцима при совместной иммобилизации с протеазами в ПВП, модифицированный золем поликремниевой кислоты.

ции до 90%, стабильные при хранении к γ -облучению в дозах 15-20 кГр), закрепленные на перевязочных средствах с помощью ПВХ и ПЭО, сшитых бурой в виде полимерных ГЛП, растворимых и нерастворимых гидрогелевых пленочных покрытий на основе ПВП и ПВП, модифицированного золем поликремниевой кислоты пролонгированного действия в условиях, моделирующих pH раны (рис. 8) [23-27].

Следует отметить, что совместная иммобилизация ЛФК и лизоцима с протеазами позволяет увеличить бактериолитическую активность препаратов в 1,5-3 раза (рис. 9, 10), что, по всей видимости, обусловлено специфичностью исследуемых протеиназ по отношению к пептидогликану клеточной стенки бактерий.

Результаты проведенных исследований позволяют получать комплексные препараты антибактериальной, некролитической активности с возможным их использованием при различных стадиях раневого процесса.

Исследования полученных иммобилизованных препаратов, проведенные совместно с Одесским государственным медицинским университетом (проф. С.М.Пухлик), показали перспективность их применения как при лечении заболева-

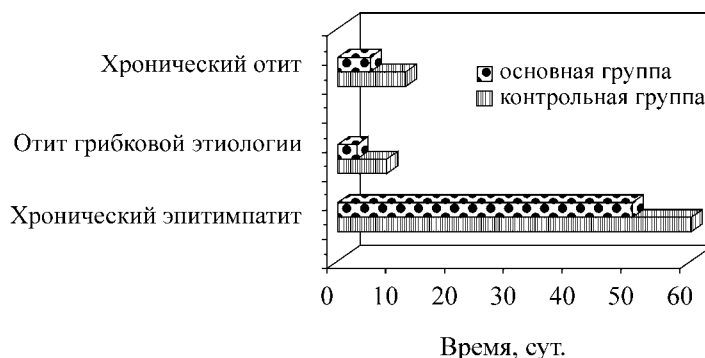


Рис. 11. Имобилизованная на перевязочных средствах ЛФК стерилиза при лечении отори ноларингологических заболеваний.

Таблица 4

Динамика основных признаков ожоговой болезни глаз кроликов с использованием ГЛП со стерилизой

Признаки ожоговой болезни	Время, сут.		P
	контрольная группа	основная группа	
Воспаление	6,5±0,3	4,0±0,2	<0,05
Гнойные выделения	6,5±0,3	3,2±0,1	<0,05

ний ЛОР-органов (мезотимпанитах, эптитимпанитах), отитах грибковой этиологии (рис. 11), так и в терапии ожогов в офтальмологии (табл. 4) (Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова, к.м.н., с.н.с. Р.И.Чаланова).

Перспективным носителем для иммобилизации БАВ является поли-N-винилкапролактан (ПВК), образующий комплексы включения с фенолом (схема 4), его производными, антимикробными средствами: бронополом (2-бром-2-нитропропандиол-1,3) и триклозаном (2,4,4'-трихлор-2'-оксифениловый эфир), солями различных металлов [28-31].

Методами ЯМР ¹³C- и ИК-спектроскопии установлено, что комплексообразование осуществляется за счет образования водородной связи

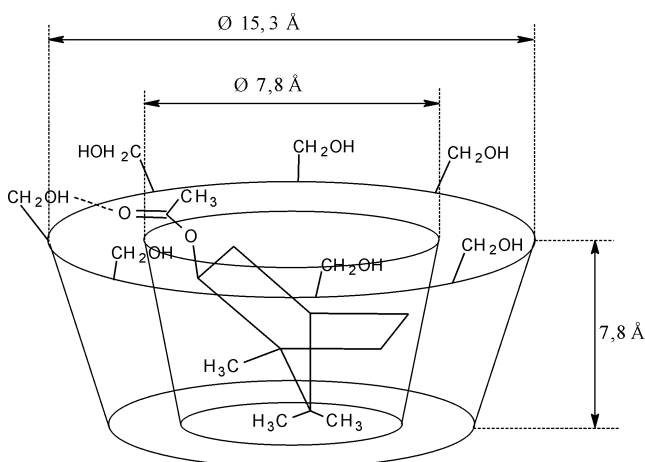


Схема 3

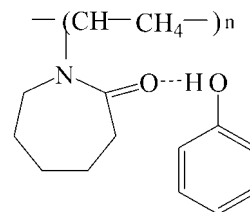


Схема 4

между карбонильной группой капролактанных звеньев и гидроксильными группами стабилизаторов (фенольных соединений, бронопола, белков (овальбумин), а также в результате вытеснения воды из структуры полимера и происходящего за счет этого уплотнения структуры. Макромолекулы белка конкурируют со стабилизатором за связывание с ПВК, однако молекулы стабилизатора остаются включенными в полимерную матрицу. Табл. 5 демонстрирует медицинскую и экологическую области применения разработанных препаратов [32-35].

С использованием перспективной матрицы для иммобилизации — β-циклодекстрина, образующего клатраты с различными органическими соединениями, способствующего повышению биодоступности и растворимости лекарственных препаратов, осуществлена иммобилизация пихтового масла [36-38].

Образование комплекса было подтверждено методами термогравиметрии, ИК- и ЯМР ¹³C-спектроскопии. На основании изменения времени спинрешеточной релаксации T₁ ядер ¹³C определена структура клатрата β-циклодекстрина с основным компонентом пихтового масла — борнилацетатом (схема 3): молекула борнилацетата почти целиком погружена во внутреннюю гидрофобную полость β-циклодекстринового конического браслета; борнольный фрагмент полностью размещен внутри полости матрицы, ацетильный — выходит из нее и образует водородную связь с одной из семи групп CH₂OH.

С использованием β-циклодекстрина для усиления противовоспалительного эффекта осуществлена совместная иммобилизация щелочной протеазы и пихтового масла.

Постоянно возрастающая частота аллергических заболеваний, в том числе аллергических ри-

Перспективы применения БАВ, иммобилизованных в поли-N-винилкапролактамах

Объекты	Характеристика возможных областей применения иммобилизованных препаратов
Фенол, резорцин, бронопол, триклозан	Матрицы с антимикробной активностью для иммобилизации БАВ
Фенолы	Препараты с высокой степенью включения фенольных соединений при их извлечении из растворов
Уреаза + рН-индикаторы	Индикаторы для определения концентрации мочевины в растворах
β -галактозидаза + щелочная протеаза	Комплексный препарат терапии недостаточности пищеварения
Щелочная протеаза + бронопол	Комплексный препарат с протеолитической и антимикробной активностью для терапии ран и ожогов
Пероксидаза из корней хрена	Биокатализатор для конверсии фенолов при очистке сточных вод
Аллергены: пищевые, пыльцы растений (белка куриного яйца, пыльцы ржи и др.)	Препараты для диагностики и лечения аллергических заболеваний

нитов (АР), основные принципы диагностики и терапии, включая специфическую иммунотерапию (СИТ), нестабильность аллергенов и недостатки парентерального метода их введения (введение аллергена не в “шоковый орган”, быстрое всасывание, сложность создания точной субдозировки, возможность возникновения анафилактических реакций, внесения инфекций, болезненность процедур для пациента, неэкономичность) вызвали необходимость разработки их иммобилизованных форм и новых путей введения: перорального и интраназального.

Исследования осуществляются в сотрудничестве с предприятием “Иммунолог”, Одесским и Винницким государственными медицинскими университетами. В работе использовали коммерческие препараты пищевых (аллерген белка куриного яйца, АБКЯ), бытовых (аллерген домашней пыли — АДП), пыльцевых аллергенов (аллергены пыльцы березы (АПБ) и ржи (АПР), стандартизованные в ед. РНУ (белковый азот), стабилизированные 0,4% фенолом; новокаин, ацелизин-КМП, метиленовый синий (МС).

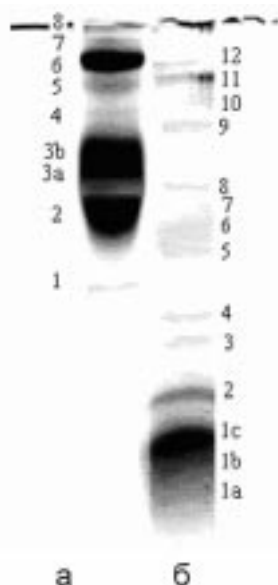


Рис. 12. Электрофореграммы АБКЯ (а) и АДП (б).

Нами показана предпочтительность использования метода Брайфорда для определения содержания белка в аллергенах [39]; методом электрофореза в ПААГ определен состав белковых фракций коммерческих препаратов аллергенов: белка куриного яйца (АБКЯ) и домашней пыли (АДП) (ООО “Иммунолог”, г. Винница) (рис. 12). Основными белковыми фракциями АБКЯ являются: лизоцим (2,5%), α -ливетин (4,3%), овомукоид (16,9%), кональбумин (15,7%), овалбумин (55,9%); полученные количественные соотношения между отдельными фракциями АБКЯ согласуются с представленными в литературе [40–43]. Препарат АДП характеризуется большей гетерогенностью и широким диапазоном молекулярных масс (4 зоны подвижности) с преобладанием белков (60%) с низкой молекулярной массой (до 11,2 кДа), 9,3% составляет фракция со средней М.м. белков (14,3 кДа), остальные белковые формы образуют минорные фракции. Наименее подвижные формы соответствуют белкам с М.м. 70–80 кДа. Фракции АДП №3 и 5 идентифицированы как соответствующие антигены Der p2 и Der p1 микрочлещей домашней пыли *Dermatophagoides pteronissimus* [44].

При разработке иммобилизованных аллергенов для перорального введения впервые изучили: иммобилизацию аллергенов на пищевых волокнах, крахмале, адсорбцию аллергенов углем СКН и аэросилом А-380, включение аллергенов в поли-N-винилкапролактамы [34, 45, 46]. Основные положительные результаты: высокая степень связывания аллергенов, устойчивость при хранении, возможность получения гранул ПВК с аллергенами, стабилизированными менее токсичными, чем фенол аспирином и резорцином, селективное связывание белка аэросилом (рис. 13), пролонгированность действия при моделировании рН желудка и кишечника.

Разработка иммобилизованных аллергенов для интраназального пути введения проводилась с целью лечения и диагностики аллергических ринитов, диагностики лекарственной непереносимости новокаина и аспирина, диагностики состояния слизистой оболочки носовой полости с по-

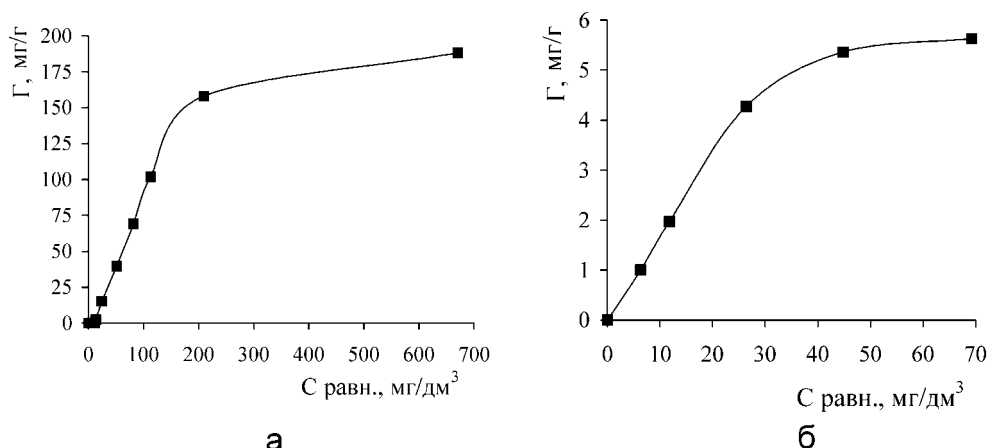


Рис. 13. Изотермы адсорбции АБКЯ (а) и АПР (б) аэросилом А-380.

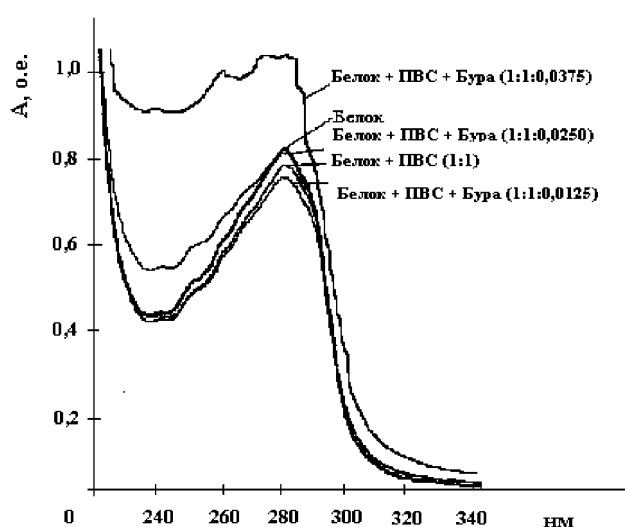


Рис. 14. Образование комплекса ПВС-белок-бура.

мощью метиленового синего и индикатора для измерения рН носовой слизи [47-49]. Учитывая преимущества полимерных пленок (ПП): точность дозирования, пролонгирующее действие, удобство применения, были получены стабильные пленочные формы (матрица — ПВС) АДП, АБКЯ, АПБ

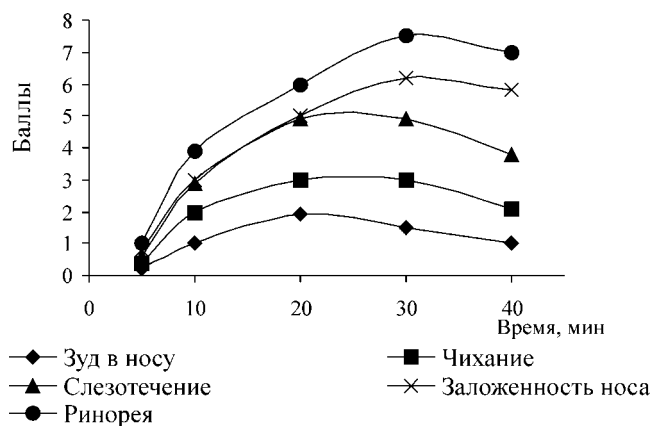


Рис. 15. Динамика развития клинических симптомов аллергического ринита при провокационной пробе.

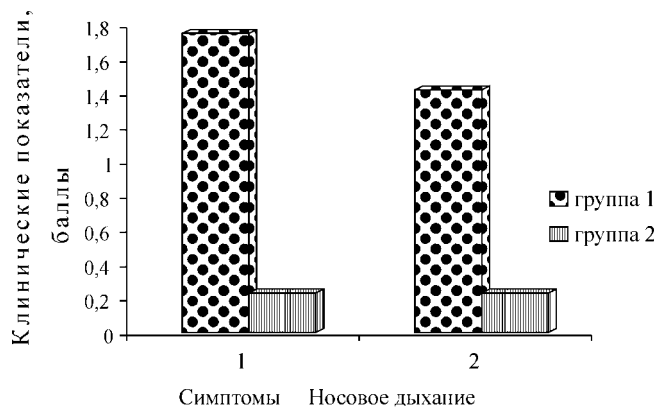


Рис. 16. Сравнительная оценка клинических показателей между группами пациентов при проведении назального провокационного теста с помощью полимерных пленок с ацелизином. Группа 1 - пациенты с чувствительностью к аспирину, группа 2 - пациенты, нечувствительные к аспирину.

в возрастающих дозах. Для диагностики АР работали ПП с аллергенами в дозе 200 PNU, временем выхода из пленки — 20-25 мин. Для усиления пролонгирования применили обработку носителя бурой, при этом время выхода аллергена из пленки зависит от концентрации сшивающего агента. Образование комплекса белка с носителем и бурой доказано исследованием кинематической вязкости растворов ПВС до и после иммобилизации и подтверждено методом УФ-спектроскопии на модельных аллергенах овальбумине (рис. 14) и лизоциме.

Для диагностики непереносимости новокаина и аспирина, функционального состояния слизистой носа разработаны ПП на основе ПВС, желатины, желатины в комбинации с ПВП для интраназального введения с количественным содержанием ЛС, изучены их свойства, проведена биофармацевтическая оценка [50-52].

С использованием ПП с аллергенами (матрица ПВС) впервые был предложен метод интраназальной диагностики и СИТ аллергических ринитов (АР), апробированный на 35 больных-добровольцах круглогодичным АР (КАР), вызванном АДП:

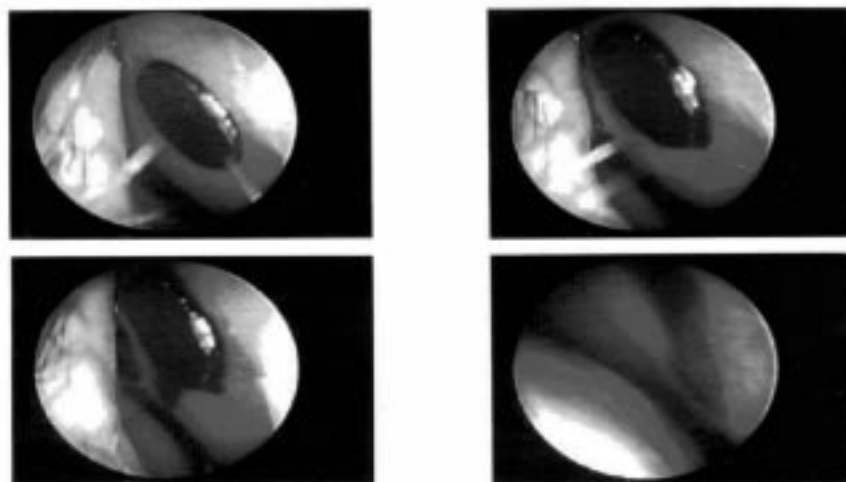


Рис. 17. Исследование функции мерцательного эпителия слизистой оболочки носовой полости с помощью диагностической пленки с метиленовым синим.

положительные результаты суммарно составили 88,5%, отличные и хорошие — 71,4% (Одесский и Винницкий государственные медицинские университеты) [53-56]. Интраназальная СИТ ПП с пылевыми аллергенами проводилась на 40 больных КАР и показала отличные результаты в 72,5% случаев, положительные — у 20% пациентов (НИИ оториноларингологии им. А.С.Коломейченко АМН Украины).

Интраназальная провокационная проба ПП с АДП (28 пациентов-добровольцев) показала нарастание симптоматики АР в соответствии с выходом аллергена из пленки у 89,3% больных КАР, отмечена достоверность и относительная безвредность используемого метода (рис. 15). С помощью желатиновых ПП с новокаином (50 мкг/ПП) и ацелизином (АЦЛ) (матрица ПВС, 3 мг аспирина /ПП) были достигнуты высокие результаты в диагностике непереносимости этих ЛС у больных с выявленной сенсibilизацией к новокаину, аспиринной бронхиальной астмой и нечувствительных к этим ЛС (фиксировали развитие местной симптоматики, ухудшение носового дыхания.). На рис. 16 представлены достоверные отличия кли-

нических показателей: местных симптомов и состояния носового дыхания у больных 1-й и 2-й групп: с аспириновой бронхиальной астмой и нечувствительных к аспирину [57-59].

Рис. 17 иллюстрирует выход из пленки ПВС и продвижение МС в носовой полости; время продвижения по слизистой оболочке носовой полости позволяет достоверно оценить ее транспортную функцию в норме и при патологии.

На основе универсального индикатора Бурга разработаны рН-индикаторы (шаг рН 0,5) в полимерной пленочной форме, позволяющие с высокой точностью определять кислотность носовой слизи в норме и при различных заболеваниях [60].

Выводы

В результате проведенных нами исследований в области иммобилизации биологически активных веществ на полимерных носителях медицинского назначения получены препараты, перспективные для лечения ран и ожогов как антибактериальные средства, препараты для заместительной терапии недостаточности пищеварения, диагностики и лечения аллергических заболеваний.

Литература

1. Давиденко Т.И. // *Вісник ОНУ. Сер. хім.* — 2003. — Т. 8, №4. — С. 135-147.
2. Давиденко Т.И., Севастьянова О.В., Чуенко А.В. та ін. // *Ліки.* — 1994. — №4. — С. 51-54.
3. Лобенко А.А., Давиденко Т.И., Буров А.А. и др. // *Клинич. хирург.* — 1991. — №11. — С. 19-21.
4. Буров А.О., Давиденко Т.И., Лобенко А.А. // *Журн. АМН України.* — 1996. — Т. 2, №3. — С. 517-524.
5. Давиденко Т.И., Севастьянова Е.В., Чуенко А.В. и др. // *Фармаком.* — 1993. — №12. — С. 12-18.
6. Давиденко Т.И., Чуенко А.В., Захарова И.Я. и др. // *Хим.-фарм. журн.* — 1997. — Т. 31, №8. — С. 7-9.
7. Севастьянова Е.В., Давиденко Т.И. // *Прикл. биохим. и микробиол.* — 1993. — Т. 29, №3. — С. 375-380.
8. Давиденко Т.И., Севастьянова Е.В., Сергеев В.П. и др. // *Хим.-фарм. журн.* — 1992. — Т. 26, №6. — С. 40-42.
9. Коваленко В.М., Козлов М.И., Давиденко Т.И., Литвинов В.Ф. // *Ліки.* — 1998. — №2. — С. 59-61.
10. Юданова Т.Н., Решетов И.В. // *Хим.-фарм. журн.* — 2006. — Т. 40, №2. — С. 24-31.
11. Декіна С.С., Романовська І.І., Пашкин И.И. Тез. докл. междунар. конф., 1-2 июля 2006 г. — Мн, 2006. — С. 365-366.
12. Романовська І.І., Декіна С.С. // *Досягнення біології та медицини.* — 2007. — №1. — С. 88-91.
13. Пат. 22088 (2006) Україна // Б.В. — 2006. — №4.

14. Пимоненко Н.Ю., Сергеев В.П., Соколова Ю.А. и др. Тез. докл. IV Республ. конф., 12-14 сент. 1988 г. — Донецк, 1988. — 23-24 с.
15. Пат. 7861(2005). Україна // Б.В. — 2005. — №7.
16. Пат. 17099 (2006). Україна // Б.В. — 2006. — №9.
17. Романовська І.І., Давиденко Т.І. // Вісник ОНУ. Сер. хім. — 2005. — Т. 10, №1. — С. 72-79.
18. Давиденко Т.І., Бондаренко Г.І., Сотникова Е.П., Абрамова А.Б. // Хім.-фарм. журн. — 1998. — Т. 32, №3. — С. 54-56.
19. Пат. 13238(2006) Україна // Б.В. — 2006. — №3.
20. Романовська І.І., Декіна С.С. // Мед. хімія. — 2007. — №1. — С. 35-40.
21. Романовська І.І., Декіна С.С., Чаланова Р.І., Глушак Г.В. // Мед. хімія. — 2008. — Т. 10, №1. — С. 15-19.
22. Пат. 26190 (2007) Україна // Б.В. — 2007. — №14.
23. Романовська І.І., Давиденко Т.І., Кілочек Т.П. // Доп. НАН України. — 1997. — №10. — С. 156-160.
24. Романовская И.И., Давиденко Т.И. // Прикл. биохим. и микробиол. — 1999. — Т. 35, №1. — С. 68-71.
25. Давиденко Т.И., Романовская И.И., Чуманова М.А. и др. // Хім.-фарм. журн. — 2001. — Т. 35, №10. — С. 14-17.
26. Романовська І.І., Тагунова І.К., Пухлік С.М., Чаланова Р.І. // Одеський мед. журн. — 2007. — Т. 99, №1. — С. 19-23.
27. Романовська І.І. // Мед. хімія. — 2007. — Т. 9, №2. — С. 55-60.
28. Давиденко Т.И., Шапиро Ю.Е., Кравченко И.А. и др. // Изв. РАН. Сер. хим. — 1996. — Т. 45, №9. — С. 2251-2255.
29. Шапиро Ю.Е., Давиденко Т.И., Кравченко И.А. та ін. // Доп. НАН України. — 1996. — №6. — С. 125-129.
30. Давиденко Т.И., Пашкін І.І., Шапиро Ю.Е. та ін. // Доп. НАН України. — 2002. — №12. — С. 108-113.
31. Давиденко Т.И., Бондаренко Г.И., Пашкин И.И. // Хім.-фарм. журн. — 2002. — Т. 36, №8. — С. 53-56.
32. Давиденко Т.И., Кравченко И.И. // Доп. НАН України. — 1996. — №3. — С. 120-124.
33. Кравченко И.А., Давиденко Т.И. // Доп. НАН України. — 1997. — №9. — С. 135-139.
34. Романовская И.И., Давиденко Т.И., Арбид А. и др. // Фізіологічно активні речовини. — 2002. — Т. 34, №2. — С. 87-90.
35. Давиденко Т.И., Романовская И.И., Осейчук О.В., Декіна С.С. // Доп. НАН України. — 2005. — №9. — С. 145-150.
36. Беликов В.Г., Компанцева Е.Ц., Батезат-Белый Ю.К. // Хім.-фарм. журн. — 1986. — Т. 20, №5. — С. 525-532.
37. Головенко Н.Я. Физико-химическая фармакология. — Одесса: Астропринт, 2004. — 720 с.
38. Севастьянова Е.В., Давиденко Т.И., Шапиро Ю.Е. и др. // Хім.-фарм. журн. — 1994. — Т. 28, №3. — С. 59-63.
39. Романовская И.И., Давиденко Т.И. // Вісник ОНУ. Сер. хім. — 2002. — Т. 6, №1. — С. 146-151.
40. Фрадкин В.А. Диагностические и лечебные аллергены. — М.: Медицина, 1990. — 256 с.
41. Roy I., Rao M.V., Gupta M.N. // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2003. — Vol. 111, №1. — P. 55-63.
42. Ebbenhøj K., Dahl A.M., Frokiaer H. et al. // Allergy. — 1995. — Vol. 50, №2. — P. 133-141.
43. Qirce S., Maranon F., Umpierrez A. et al. // Allergy. — 2001. — Vol. 56, №8. — P. 754-762.
44. Романовська І.І., Топтиков В.А. Електрофорез алергенів білка курячого яйця і хатнього пилу // Мед. хімія. — 2007. — Т. 9, №4. — С. 103-106.
45. Романовская И.И., Давиденко Т.И. // Доп. НАН України. — 2000. — №1. — С. 160-184.
46. Романовская И.И., Давиденко Т.И., Эльсаббаг А. и др. // Хім.-фарм. журн. — 2004. — №10. — С. 15-17.
47. Романовська І.І., Пухлік С.М., Пухлік Б.М. // Одеський мед. журн. — 2006. — Т. 94, №2. — С. 25-29.
48. Пухлик С.М., Романовская И.И., Давиденко Т.И. // Ринол. — 2002. — №1. — С. 42-44.
49. Романовская И.И., Давиденко Т.И. Диагностические полимерные пленки с новокаином и метиленовым синим // Вісник ОНУ. Сер. хім. — 2004. — Т. 9, №3. — С. 108-113.
50. Романовская И.И., Давиденко Т.И., Пухлик С.М. // Астма та алергія. — 2003. — №2-3. — С. 27-29.
51. Романовская И.И., Пухлик С.М., Пухлик Б.М. // Журн. вушних, носових та горлових хвороб. — 2005. — №5. — С. 133-134.
52. Пат. 9349 (2005). Україна // Б.В. — 2005. — №9.
53. Пат. 42168 (2001). Україна // Б.В. — 2001. — №9.
54. Пухлик С.М., Давиденко Т.И., Романовская И.И., Колесниченко Г.В. // Матер. наук. праць 1-го з'їзду алергологів України, 3-5 квіт. 2002 р. — К., 2002. — 144-145 с.
55. Пухлик С.М., Дедикова И.В., Романовская И.И. // Журн. вушних, носових та горлових хвороб. — 2003. — №3. — С. 24-25.
56. Пухлик Б.М., Пухлик С.М., Корицкая И.В. и др. // Укр. пульмонол. журн. — 2004. — Т. 44, №2. — С. 18-21.
57. Пухлик С.М., Романовская И.И. Назальный провокационный тест в диагностике аспириновой непереносимости // Журн. вушних, носових та горлових хвороб. — 2005. — №5. — С. 132-133.
58. Пат. 17899 (2006). Україна // Б.В. — 2006. — №10.
59. Пухлик С.М., Романовская И.И., Щелкунов А.И. // Ринол. — 2006. — №4. — С. 44-47.
60. Романовская И.И., Пухлик С.М., Пухлик Б.М. // Астма та алергія. — 2006. — №1-2. — С. 128-130.

Надійшла до редакції 05.06.2009 р.