

## "ЛИКОНТИН-Ф" – ПЕРВЫЙ РОССИЙСКИЙ ЖИДКИЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ФЕРМЕНТНОЙ ОЧИСТКИ МЯГКИХ КОНТАКТНЫХ ЛИНЗ

А.А. Озеров, В.П. Гнатюк, А.К. Брель, А.И. Деревянченко, Ф.Б. Лебедев

НИИ фармакологии ВолГМУ, ООО Научно-производственная фирма "Медстар", г. Волгоград

За 30 лет своего существования средства ухода за контактными линзами претерпели значительную эволюцию и превратились из простых водно-солевых систем в сложные многофункциональные растворы, обеспечивающие очистку и дезинфекцию линз, а также повышающие зрительный комфорт при их использовании [1].

В процессе ношения мягкие контактные линзы находятся в постоянном контакте со слезной жидкостью, роговицей и веком глаза, а также испытывают неблагоприятные воздействия со стороны внешней среды (дым, загрязнения воздуха, косметика, цветочная пыльца и др.). Образующиеся при этом отложения на поверхности контактных линз, как правило, включают следующие классы веществ: белки, липиды, муцины, неорганические вещества, факторы внешней среды, косметику. Белки являются естественными компонентами слезной пленки и ответственны за образование значительной части отложений. Содержание общего белка в слезной жидкости достаточно велико и составляет в норме около 20 г/л. Микротравма глаза и раздражение поверхности роговицы, в том числе и самой линзой, повышают как общую секрецию слезной жидкости, так и концентрацию белка в ней, основными компонентами которого в числе 60 выделенных белковых фракций являются лизоцим, альбумины, глобулины и разнообразные гликопротеины [3]. Указанные белки, прежде всего лизоцим, являются при величинах рН 6,5–7,8, что соответствует нормальной кислотности слезной жидкости у большинства пациентов, сильно заряженными макромолекулами, способными легко адсорбироваться на полимерной поверхности мягких контактных линз и создавать непрозрачные или частично прозрачные белковые отложения. Эти отложения существенно ухудшают как оптические свойства мягких контактных линз, так и комфортность их ношения, и сокращают в целом длительность их эксплуатации. В отличие от неорганических отложений, прежде всего малорастворимых кальциевых солей, легко удаляемых детергентами и комплексонами типа Трилона Б или солями лимонной кислоты, белковые отложения устойчивы к действию этих очищающих агентов, и борьба с ними составляет серьезную проблему клинического применения мягких контактных линз. Эффективность использования многофункциональных растворов для удаления белковых отложений, несмотря на заявления фирм-производителей, является как минимум

спорной, и в настоящее время разнообразные ферментные препараты, способные расщеплять белковые макромолекулы, остаются единственным радикальным средством очистки.

Наиболее распространенными индивидуальными средствами для ферментной очистки мягких контактных линз стали ферментные таблетки, содержащие чаще всего папаин, панкреатин или субтилизин наряду с компонентами буферного раствора и необходимыми активаторами. Эти таблетки растворяют в дистиллированной воде, изотоническом растворе натрия хлорида или в специальном растворе для хранения, взятых в объеме 5–15 мл, что соответствует среднему объему контейнера для хранения и обработки мягких контактных линз. Таблетированные формы протеолитических ферментов имеют достаточно длительный срок хранения (1 год и более), однако имеют значительную стоимость, сложны в изготовлении, а их применение связано с затратами времени и дополнительными манипуляциями по растворению таблеток в используемых растворах.

Альтернативными и значительно более удобными для практического применения препаративными формами ферментных средств для очистки мягких контактных линз являются концентрированные растворы, несколько капель которых содержит эквивалентное таблеткам количество соответствующего фермента. Однако протеолитические ферменты в водных растворах обладают низкой стабильностью, и в результате автокаталитического расщепления утрачивают свою активность в течение нескольких часов или суток. Применение разнообразных стабилизаторов или перевод ферментов в инактивированную форму требует использования цикла "деактивация – активация", что делает этот метод сложным, дорогостоящим и практически непригодным для массового индивидуального применения.

Нами успешно решена задача по созданию концентрированного стабильного раствора протеолитического фермента, сохраняющего протеазную активность в течение длительного времени при хранении при комнатной температуре [2]. Основу препарата составляет водно-органический раствор панкреатина следующего состава (масс. %):

Панкреатин	– 0,1–1,0
Натрий хлористый	– 0–5,0
Натрий тетраборнокислый	– 1,0–4,0
Кислота борная	– 0,5–2,0
Трилон Б	– 0,1–0,5

(15)

Кальций хлористый	– 0–0,1
Антисептик	– 0,01–0,1
Полиэтиленгликоль	– 0–25,0
Глицерин	– 25,0–50,0
Вода	– до 100,0

Панкреатин, получаемый из препаратов поджелудочной железы крупного рогатого скота, является одним из наиболее удобных и безопасных протеолитических ферментных препаратов, обладающих высокой активностью. Панкреатин содержит важнейшие протеолитические ферменты панкреатического сока – трипсин и химотрипсин, которые расщепляют не только пептидные, но и амидные, эфирные, гидразидные и фосфамидные связи, при этом оптимум действия этих ферментов находится в диапазоне pH 8–9. Кроме протеолитических ферментов, панкреатин содержит значительное количество амилазы, способной легко гидролизовать  $\alpha$ -1-4-гликозидные связи полисахаридов [4], что может иметь важное значение для повышения эффективности очистки поверхности контактных линз от гликопротеинов. Панкреатин и его компоненты малотоксичны, обладают по сравнению с папаином значительно менее выраженным раздражающим действием на слизистые оболочки и широко используется в качестве лекарственных средств, в том числе и в виде глазных капель. В этой связи панкреатин обладает существенными преимуществами по сравнению с другими доступными протеолитическими ферментами для разработки на его основе средств для ферментной очистки мягких контактных линз.

Важнейшим компонентом предлагаемого препарата является Трилон Б. Известно, что каталитическая активность трипсина и химотрипсина очень сильно зависит от присутствия ионов кальция. С другой стороны, амилаза – один из компонентов панкреатина, содержит как минимум моль ионов кальция на 1 моль фермента [4], и по этой причине кальций всегда присутствует в препаратах панкреатина. Содержание Трилона Б в количестве 0,1–0,25 мае. % обеспечивает полное связывание кальция: подавляет таким образом автокатализ ферментов и способствуют длительному сохранению их нативной структуры в растворе. Разбавлен! исходного концентрированного раствора в 25–50 раз путем добавления 10 его капель (0,2–0,4 мл) к 10 мл раствора для хранения мягких контактных линз обеспечивает концентрацию ионов кальция, необходимую для достижения достаточной протеолитической активности. Дополнительное введение в рецептуру исходного раствора хлористого кальция  $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  в количестве до 0,2 мае. % позволяет практически в 2 раза повысить активность ферментов, однако требует увеличения содержания Трилона Б до 0,5 мае. % для достижения их необходимой стабильности в исходном концентрированном

растворе при длительном хранении. При отсутствии Трилона Б и наличии хлорида кальция препарат сохраняет свою протеолитическую активность через месяц только на 10 %.

В целях достижения изотоничности конечного раствора ферментного препарата при использовании для его разбавления дистиллированной воды он может дополнительно содержать в своем составе до 5,0 мае. % натрия хлорида.

В качестве антисептиков, подавляющих развитие микроорганизмов в препарате при его хранении, был использован хлоргексидина биглюконат (20 %-й водный раствор) в количестве до 0,1 мае. % или полигексанид (полигексаметиленбигуангида гидрохлорид, 20 %-й водный раствор, *Cosmocil CQ*) производства фирмы ZENECA Ltd. (США), широко используемый в настоящее время в различных растворах ухода за контактными линзами, в количестве до 0,01 мае. %.

Предельные соотношения воды, глицерина и полиэтиленгликоля марки ПЭГ-300 или ПЭГ-400 обеспечивают необходимую растворимость панкреатина и неорганических компонентов препарата в водно-органическом растворе, а также его реологические свойства и морозоустойчивость.

Сохранению высокой стабильности ферментов панкреатина в предлагаемом водно-органическом растворе способствуют компоненты боратного буфера – натрий тетраборнокислый  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  и кислота борная  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , которые обладают способностью вступать во взаимодействие с глицерином с образованием кислых эфиров борной кислоты, что обеспечивает смещение величины pH из рабочего диапазона ферментов в область повышенной кислотности – до значений pH 5,5–6,0, что также подавляет автокатализ протеолитических ферментов панкреатина в растворе. При разбавлении исходных концентрированных растворов ферментов в 25–50 раз при обработке мягких контактных линз специальным раствором для хранения "Ликосол" [ТУ 9318-001-34704936-96] или дистиллированной водой указанные эфиры борной кислоты подвергаются гидролизу, что приводит к увеличению значения pH соответственно до величины 7,15–8,25, то есть практически до рабочего диапазона pH протеолитических ферментов панкреатина.

Пример получения препарата "Ликонтин-Ф". В 47,7 г воды последовательно растворяют при комнатной температуре 1,0 г натрия тетраборнокислого, 0,5 г кислоты борной и 0,25 г Трилона Б, добавляют 0,5 г панкреатина 4X (Мерск) и 0,1 г 20 %-го раствора хлоргексидина биглюконата, перемешивают при комнатной температуре в течение 1 ч и фильтруют. К фильтрату последовательно добавляют при перемешивании 35,0 г глицерина и 15,0 г полиэтиленгликоля ПЭГ-400, следя за тем, чтобы температура раствора при

смешении не превышала 40 °С, и получают 100,0 г жидкого ферментного препарата.

Таблица

Протеолитическая активность ферментных препаратов

№	Анализируемый препарат	Способ приготовления раствора, (содержание чистого фермента)	Активность, ЕД
1	Исходный панкреатин 4Х (Merck)	100 мг панкреатина в 500 мл воды (0,2 мг/мл)	100
2	Ферментные таблетки фирмы Vaush & Lomb	1 таблетка в 10 мл воды (объем контейнера)	100
3	Ферментные таблетки фирмы Alcon	то же	50
4	"Ликонтин-Ф"	4,0 г препарата в 100 мл воды или 10 капель препарата (0,4 мл) в 10 мл воды (0,2 мг/мл)	100
5	"Ликонтин-Ф" через 3 месяца хранения	то же	100
6	"Ликонтин-Ф" через 6 месяцев хранения	то же	100
7	"Ликонтин-Ф" через 9 месяцев хранения	то же	100
8	"Ликонтин-Ф" через 12 месяцев хранения	то же	100

Протеолитическую активность образцов препарата в единицах действия (ЕД), в сравнении

Ozerov A.A., Gnatiuk V.P., Brel A.K., Derevianchenko A.I., Lebedev F.B. "Likontin-F" – the first Russian liquid formulation for the enzymatic cleaning of the soft contact lenses // Vestnik of Volgograd State Medical University. – 2005. – № 3(15). – P. 32–34.

The first Russian highly stable enzymatic solution for the deleting of peptide deposits from the soft lenses surface was prepared. The formulation contains pancreatinum and borate buffer in polyethylene glycol – glycerol – aqua solution.

УДК 541.8; 537.226

## СВЧ-ДИЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ВОДНЫХ РАСТВОРОВ НИТРАТА БАРИЯ

З.А. Филимонова, Е.С. Верстаков, А.К. Лященко\*

Кафедра физики с высшей математикой, информатикой, медицинской аппаратурой ВолГМУ, Институт общей и неорганической химии им. Курнакова РАН, г. Москва\*

Водные растворы нитрата бария занимают промежуточное положение между растворами нитратов других щелочноземельных металлов и нитратов щелочных металлов. Из-за большого ионного радиуса (радиус иона бария  $\approx 139$  пм) и невысокой поверхностной плотности заряда ион бария может быть отнесен к слабо гидратирующим катионам. Нитрат-анион является ионом, для которого характерна отрицательная гидратация. В растворах нитрата бария во всей области концентраций (вплоть до насыщения) присутствует исходная тетраэдрическая структура воды [3]. Параметры диэлектрической релаксации таких растворов отражают суммарные изменения степени свя-

с чистым исходным панкреатином 4Х производства фирмы Merck и известными таблетированными ферментными препаратами определяли по методике, описанной в Государственной фармакопее СССР X издания (Ст. 362. Панкреатин). Разработанный препарат, соответствующий приведенному примеру, был также подвергнут анализу после 3, 6, 9 и 12 месяцев естественного хранения в прозрачной полиэтиленовой таре на рассеянном свете при комнатной температуре (таблица).

Результаты исследований свидетельствуют о том, что разработанный препарат по уровню своей протеолитической активности не уступает таблетированным ферментным препаратам фирм Vaush & Lomb и Alcon и полностью сохраняет эту активность в течение 1 года хранения. Клиническое использование препарата "Ликонтин-Ф" в Российской Федерации в течение 5 последних лет подтвердило его высокую эффективность и безопасность для пациентов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Гриффите Х. // Вестн. оптометрии. – 2005. – № 1. – С. 36–41.
2. Патент РФ № 2174878 (2001) / Бюл. изобр. – 2001. – № 29. – С. 18–20.
3. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. // Вопросы мед. химии. – 1990. – Т. 36, № 3 – С. 13–18.
4. Щеклик Э. Клиническая ферментология. – Варшава, 1966. – 320 с.

занности и структурированности исходной сетки водородных связей под действием катионов и анионов.

Метод диэлектрической СВЧ-спектроскопии в последнее время находит применение в медицинских исследованиях и признается вполне перспективным [4]. Данный метод имеет ряд преимуществ, отличающих его от других методов исследования (малый объем исследуемого материала (до 0,05 см<sup>3</sup>), быстрота измерения, возможность исследования лабораторного объекта без какой-либо предварительной фиксации, дешевизна, простота).

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявить особенности изменения диэлектри-