

УДК 619: 615.2:637 Коллагеновые пленки «Стевиакол»: получение и возможности использования

А.И. Сапожникова¹, С.В. Васенко² (кафедра товароведения и технологии сырья животного происхождения им. С.А. Каспарьянца)

¹ Заведующий кафедрой, доктор ветеринарных наук, профессор.

² Кандидат ветеринарных наук, доцент.

Сокращения: ДВ — действующее вещество, КОЕ — колониеобразующие единицы, КРС — крупный рогатый скот, МПА — мясоептонный агар, ПФ — полуфабрикат

Введение

Проблема использования недубленых белоксодержащих отходов сырья животного происхождения, основным компонентом которых является природный биополимер коллаген, заслуживает особого внимания.

Благодаря своим уникальным свойствам (отсутствие токсичности и антигенности, хорошее регенерирующее и гидратантное действие, способность к образованию комплексов с биологически активными и лекарственными веществами) коллаген чрезвычайно удобен для изготовления различных биоматериалов. Используя этот белок в качестве биологически активной матрицы и совмещая его с известными лекарственными средствами направленного действия, можно создавать более эффективные и стабильные формы препаратов и биоматериалов ветеринарного и иного назначения [6].

К настоящему времени разработаны способы получения коллагена, благодаря которым удается сохранить его молекулярную структуру и биологическую активность. Следует отметить, что иммобилизация известных лекарственных и биологически активных средств на коллагене обеспечивает пролонгацию их действия, снижает токсичность, уменьшает местную раздражающую реакцию, повышает терапевтическую эффективность [4].

Целесообразность применения коллагена и препаратов на его основе в ветеринарной медицине экспериментально подтверждена еще несколько десятилетий назад [6]. За это время создано, прошло экспериментальную апробацию и внедрено большое количество коллагеновых биоматериалов, в т.ч. препарат для профилактики транспортного стресса и адаптации животных к новым условиям кормления и содержания «Аминакол»; комплекс водорастворимых витаминов пролонгированного действия «Витакол»; растворы для инъекций, содержащие цитостатики различной химической природы, иммобилизованные на коллагене; коллагеновое покрытие для ран [3, 8, 9].

Пленки с действующим началом, иммобилизованным на коллаген, находят все более широкое применение в ветеринарии и медицине. Наличие на поверхности коллагена большого количества функционально активных групп позволяет использовать его в качестве матрицы для иммобилизации самых различных препаратов. Выбор препарата определяется только целесообразностью улучшения его свойств и совместимостью с коллагеном. Получаемые при этом композитные материалы обычно более эффективны за счет пролонгированного терапевтического действия, регулируемой структурной стабильности и скорости резорбции [4, 7].

Цель исследования

Цель работы — создать новый лекарственный препарат из коллагеновой пленки, полученной из недубленых белоксодержащих отходов кожевенного производства, и экстракта стевии (*Stevia rabuadiana* Bertoni), проявляющий ранозаживляющее и общетерапевтическое действия.

Материалы и методы

Материалы включали в себя гольевую спилковую обрезь шкур КРС после зольения и двоения; продукты растворения коллагена (кислый и нейтральный), полученные по методике, запатентованной на кафедре товароведения и технологии сырья животного происхождения МГАВМиБ им. К.И. Скря-

бина [8]; пленки, отлитые из чистого коллагена и композиционных смесей, содержащих коллаген и стевии.

Химический состав сырья, а также полученные из него дисперсии коллагена и коллагеновых пленок анализировали с помощью традиционных методов химического анализа: содержание влаги в образцах определяли гравиметрическим методом, жировых веществ — методом Сокслета, минеральных веществ — анализом золы после сжигания навески [2].

Количество коллагена рассчитывали по содержанию оксипролина, который определяли колориметрически по цветной реакции продуктов его окисления с парадиметиламинобензальдегидом [2].

Уровень контаминации бактериями оценивали посредством подсчета числа выросших колоний в посевах на МПА разведение (1 : 100) тестируемых образцов [1].

Пленки получали методом свободного испарения из смеси, содержащей коллагеновую массу, препарат стевии, пластификатор, некоторые другие компоненты.

Качество пленок проверяли по таким показателям, как толщина, плотность, температура сваривания, пластичность, прилипаемость и др.

Результаты

Первый этап изготовления фитоколлагеновых пленок «Стевиакол» заключался в наработке коллагена из недубленых белоксодержащих отходов кожевенного производства. Используемая в работе методика получения нативного коллагена позволяет максимально удалять из соединительной ткани биополимеры неколлагеновой природы. Последующая очистка, направленная на удаление низкомолекулярных компонентов, присутствующих в основном продукте, в сочетании с механическими операциями дала возможность получить дисперсию коллагена, которая служила основой для получения пленок. Результаты опытов, характеризующих процесс получения коллагеновой пленки из гольевой спилковой обрезки, представлены в таблице.

Как видно из таблицы, гольевая спилковая обрезь в процессе технологической обработки претерпевает ряд изменений. Увеличение содержания коллагена на стадии получения первого и второго ПФ свидетельствует о его существенной очистке от неколлагеновых примесей в процессе обработки.

Наряду с показателями химической чистоты при оценке возможностей практического использования коллагеновых пленок важное значение имеют показатели микробиологической безопасности (рис. 1).

Установили большую степень бактериальной обсемененности коллагеновых пленок по сравнению с другими тестируемыми образцами.

Для приведения степени микробиологической обсемененности пленок в соответствие с нормативами, указанными в СанПиН 1.2. 681—97, их подвергали ультрафиолетовому облучению. Изменение степени микробного загрязнения контролировали с интервалом в 1 ч (рис. 2).

Таким образом был отработан режим получения стерильного продукта, пригодного для экспериментальной апробации. Данные, характеризующие физико-химические параметры полученных пленок, приведены ниже.

Сравнительная характеристика химического состава объектов исследования на разных этапах технологического процесса

Исследуемый образец	Сухое вещество, %	Содержание, % от абсолютно сухого вещества		
		Коллаген по оксипролину	Жировые вещества	Минеральные вещества
Гольевая спилковая обрезь	31,24 ± 1,38	86,69 ± 1,27	2,92 ± 0,17	3,83 ± 0,07
Коллагеновая масса в 1 М уксусной кислоте (ПФ I)	5,90	92,06 ± 1,42	0,64 ± 0,09	0,23 ± 0,03
Нейтральный коллагеновый гель (ПФ II)	1,10	98,17 ± 0,22	0,64 ± 0,09	0,23 ± 0,03
Готовая пленка	0,90	98,47 ± 0,52	0,64 ± 0,09	0,23 ± 0,03

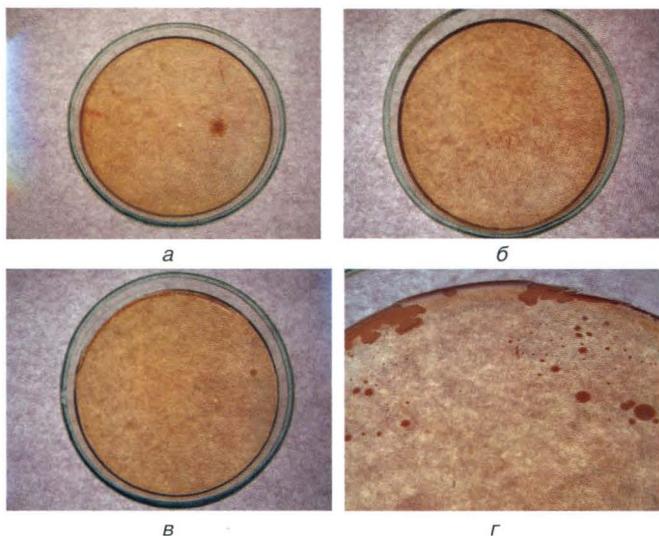


Рис. 1. Оценка контаминации бактериями образцов: а — гольевой спилка; б — коллагенового геля (рН 3,5); в — коллагенового геля (рН 6,0); г — коллагеновой пленки. Разведение вытяжек из исследуемых образцов 1:100, питательная среда МПА

Физико-химические параметры коллагеновых пленок «Стевиакол»

Анализируемые показатели	Значение показателя
Температура сваривания, °С	32,0 ± 0,5
Толщина пленки, мкм	0,15 ± 0,01
Масса пленки, мг	0,22 ± 0,01
Содержание влаги, %	23,90 ± 2,35
Пластичность, баллы	4
Прилипаемость, баллы	5
Плотность, г/см ³	0,49 ± 0,20

На завершающем этапе провели экспериментальную апробацию коллагеновых пленок «Стевиакол» на собаках с поверхностной пиодермией. У контрольных животных пораженные участки кожи обрабатывали спиртовым раствором бриллиантового зеленого, йодированным спиртом, водными растворами хлоргексидина биглюконата, у опытных пораженный участок дополнительно покрывали фитоколлагеновой пленкой, которая быстро прилипла и рассасывалась в течение 1 ч. Пленки меняли каждые 12 ч.

SUMMARY

A.I. Sapozhnikova, S.V. Vasenko. Production and potentialities of Collagen films «Steviakol». The results of the trials carried on to develop a new medicine made of a collagen film manufactured from non-tanned protein-containing wastes of leather industry and stevia-extract (*Stevia rabuadiana* Bertoni) are given in the article. It exerts both general therapeutic and wound healing effects. Some changes in the indices of the chemical composition and the extent of microbiological contamination of the films by the stages of their manufacturing were analysed. The results of the trials on the collagen films «Steviakol» on the dogs with superficial pyoderma are shown in the article.

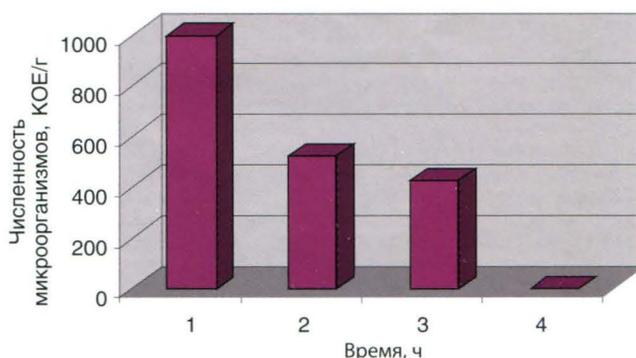


Рис. 2. Динамика снижения численности микроорганизмов в пленках в зависимости от времени ультрафиолетового облучения

Поврежденный участок кожи до начала лечения был сильно гиперемизирован, имел множественные точечные кровоизлияния с выделением серозного экссудата. Через 3 дня после типового лечения выделение экссудата уменьшалось, хотя сохранялась достаточно сильная гиперемия. При использовании фитоколлагеновых пленок в те же сроки на поврежденном участке образовывался струп. Использование коллагеновых пленок сократило срок заживления очагов пиодермии на 5...6 дней.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Государственная фармакопея СССР. Общие методы анализа. Лекарственное растительное сырье. — М.: Медицина, 1990.
2. Головтеева А.А., Кузиди А.С., Санкин Л.Б. Лабораторный практикум по химии и технологии кожи и меха. — М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982.
3. Каспарьянц С.А., Ипполитова Т.В., Месропова Н.В. и др. Лекарственный состав «Аминакол». А.С. 1254599 СССР. МКИ* А 63К 31/00, N° 3328569/13. Заявл. 26.05.81. Зарегистр. 01.05.86.
4. Каспарьянц С.А., Сапожникова А.И., Месропова Н.В., Гордиенко И.М. Препараты и биоматериалы ветеринарного назначения на основе коллагеновых матриц // Материалы конф. «Актуальные проблемы ветеринарной и зоотехнической науки в интенсификации животноводства»./МВА, 1990.
5. Каспарьянц С.А., Сапожникова А.И., Месропова Н.В. и др. Способ получения коллагенового золя. Пат. 2031597 Россия. МКИ6 А 23J 1/10, С 09Н 1/00, С 14С 1/08, N° 5022810/13. Заявл.12.02.92. Опубл. 27.03.95. Бюл. N° 9.
6. Лукьяновский В.А., Каспарьянц С.А., Филиппов Ю.И. и др. Строение, свойства, методы обработки, улучшение качества и рациональное использование сырья животного происхождения и продуктов животноводства // Сб. науч. тр. МВА, 1981; 118.
7. Месропова Н.В., Сапожникова А.И. Взаимодействие коллагена с биологически активными веществами // Сб. науч. трудов МВА, 1981; 118: 50—52.
8. Сапожникова А.И. Получение и экспериментальное изучение комплексов коллагена с цитостатиками различной химической природы // III Российский национальный конгресс «Человек и лекарство», 16—20 апреля 1996 г. Тезисы докладов. —М.: РЦ «Фармедино», 1996.
9. Финник В.П., Каспарьянц С.А., Веселова Т.П., Сапожникова А.И. и др. Лекарственное средство для лечения гепатоза животных «Витакол» и способ его получения. А.С. 1508371 СССР. МКИ4 А 61К 31/00, N° 4238715/30-15. Заявл.29.04.87. Зарегистр. 15.05.89.