

EKSPERIMENTINIAI TYRIMAI

Prodioksino tepalo sukūrimas

Genė Puodžiūnienė, Vytautas Vaičiuvėnas¹, Valdimaras Janulis, Juozas Steponavičius²

Kauno medicinos universiteto Farmacinės chemijos ir farmakognozijos katedra,

¹Mikrobiologijos katedra, ²UAB „BIOK“

Raktažodžiai: prodioksino tepalas, procelanas, dioksidinas, proteolitinis aktyvumas, antimikrobinis veikimas.

Santrauka. Pūlingoms žaizdoms gydyti reikėjo sukurti sudėtinį tepalą, pasižymintį ne tik enziminiu, bet ir antimikrobinu veikimu, į kurio sudėtį įeitų proteolitinis fermentas procelanas ir plataus veikimo spektro antimikrobinis preparatas dioksidinas. Kuriant prodioksidino tepalą, biologiniais bandymais buvo nustatyta optimali dioksidino koncentracija, kuri sudarė 1 proc. dioksidino. Dializės per pusiau pralaidžią membraną metodu buvo nustatomas optimalus dioksidino dalelių smulkumo laipsnis. Geriausiai iš prodioksino tepalo dioksidinas atsipalaiduoja, kuomet būna susmulkintas iki 5–10 μm dalelių dydžio. Dioksidinui nustatyti tepale buvo modifikuota dioksidino kiekybinio nustatymo tepale metodika. Nustatant prodioksino tepalo fizikines-mechanines savybes, buvo tiriama: tepalo takumas, koloidinis stabilumas, termostabilumas ir reologinės savybės. Nustatyta, kad sukurtas tepalas stangrios ir plastiškos konsistencijos, priskiriama neniutoniniams kūnams ir rekomenduotina vartoti dermatologinėms ligoms gydyti. Prodioksino tepalo gydymasis enziminis ir antimikrobinis poveikis buvo lyginamas su Iruksol[®] tepalo gydymu poveikiu. Gydymasis prodioksino tepalo poveikis viena diena viršijo Iruksol[®] tepalo gydymąjį poveikį. Pagal fizikinės ir cheminės analizės duomenis sukurtas prodioksino tepalas išlieka stabilus dvejus metus laikant jį kambario temperatūroje.

Įvadas

Mūsų sukurta nauja vaistų forma – procelano tepalas aprašytas anksčiau (1), pasižymi tik enziminiu poveikiu, t. y. suskaido pūlingoje žaizdoje esančius didelės molekulinės masės baltymų skilimo produktus, bet neveikia pūlinio-uždegiminio proceso sukėlėjų – tai ir buvo paskata sukurti sudėtinį tepalą, į kurio sudėtį įeitų dvi veikliosios medžiagos – procelanas, t. y. imobilizuota proteazė, ir antimikrobinis preparatas (2, 3).

Dauguma mikroorganizmų, sukeliančių pūlines infekcijas, gali būti atsparūs daugeliui antibiotikų, todėl pasirinkome plataus antimikrobinio veikimo spektro chinoksalino darinį – dioksidiną. Jis veiksmingas gydant infekcijas, sukeltas *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.* genčių mikroorganizmų, *Pseudomonas aeruginosa* (žaliamėlės pseudomonos), patogeninių anaerobų (taip pat ir dujinės gangrenos sukėlėjų). Dioksidinas veikia bakterijų štamus, atsparius kitiems chemoterapiniams preparatams ir antibiotikams (4).

Darbo tikslas – sukurti veiksmingą sudėtinį tepalą, į kurio sudėtį įeitų proteolitinis fermentas procelanas

ir plataus antimikrobinio veikimo spektro preparatas dioksidinas sąlyginu pavadinimu – prodioksinas.

Tyrimo metodai

Kuriant prodioksino tepalą, pirmiausia reikėjo parinkti optimalią dioksidino gydymąją koncentraciją. Tyrimus atlikome su pagamintomis vaistų formomis, kur procelano koncentracija išliko nepakitusi, o dioksidino koncentracija kito nuo 0,5 iki 4,0 proc. Pagaminti keturių sudėčių (kurios pateikiamos 1 lentelėje) tepalai dioksidino optimaliai koncentracijai nustatyti buvo tiriami biologiniu metodu, aprašytu anksčiau (1).

Gydymasis poveikis. Biologiniai bandymai buvo atliekami su 25 santykinai sveikais nerūšniais abiejų lyčių triušiais nuo 1,8 iki 2,5 kg masės. Po užkrėtimo tam tikrais pasirinktais patogeniniais mikroorganizmais susiformavus ryškiems pūliniams uždegiminiams židiniams, triušiai buvo padalyti į penkias grupes. Pūliniai buvo atveriami ir žaizdos gydytos tiriamaisiais preparatais. Pirmų keturių grupių gyvūnams buvo dedamos keturių sudėčių, besiskiriančių dioksidino kiekiu, prodioksino tepalo aplikacijos, o penktos grupės gyvūnams – procelano tepalo aplikacijos. Žaizdai buvo

1 lentelė. Tepalų pavyzdžių receptūros

Pagrindų komponentai	Tepalų receptūros			
	I	II	III	IV
Procelano liofilizuoto milteliai	10,0 g	10,0 g	10,0 g	10,0 g
Dioksidinas	0,5 g	1,0 g	2,0 g	4,0 g
Makragolis 400	80,0 g	80,0 g	80,0 g	80,0 g
Makragolis 1500	9,5 g	9,0 g	8,0 g	6,0 g

suvartojama 3,0 g tepalo.

Pusiausvyrinė dializė per pusiau pralaidžią membraną. Kitas uždavinys, kuriant prodioksino tepalą, buvo dioksidino dalelių dydžio, kuris lemia vaistų veiksmingumą, eksperimentinis nustatymas. Kadangi dioksidinas yra netirpus tepalo pagrindu, tai buvo ruošiamas jo koncentratas ir sumaišomas su tepalo pagrindu. Dioksidino dalelių dydžio įtaka jo atsipalaidavimo iš tepalo kinetikai buvo nustatoma pusiausvyrinės dializės per pusiau pralaidžią membraną metodu. Eksperimentams buvo naudojami trys skirtingo smulkumo dioksidino 1 proc. koncentracijos prodioksino tepalo pavyzdžiai:

- nesmulkintas dioksidinas, kurio dalelių dydis buvo nuo 10 iki 100 μm ;
- valcais susmulkintas dioksidino koncentratas, kurio dalelių dydis buvo nuo 50 iki 60 μm ;
- homogenizatoriumi PF-4 susmulkintas dioksidinas, kurio dalelių dydis buvo nuo 5 iki 10 μm .

Dioksidino kiekybės nustatymas. Dioksidino kiekį dializate nustatėme spektrofotometriniu metodu. Dioksidinui nustatyti prodioksino tepale modifikavome dioksidino kiekybės nustatymo metodiką, aprašytą dioksidino 5 proc. tepalui (5). Metodas pagrįstas vandeninių dioksidino tirpalų gebėjimu, ultravioletinio (UV) spektro dalyje esant 375 nm bangos ilgiui, maksimaliai absorbuoti šviesos energiją. Dioksidino savitasis absorbcijos dydis, esant absorbcijos maksimumui 375 nm bangos ilgiui, yra 598,75. Santykinė atskiro bandinio rodmenų paklaida (ϵ) dioksidino kiekybės nustatymo metodikoje, kai patikimumo lygmuo (P) 95 proc., sudaro 4,5 proc.

Metodika. Apie 5,0 g (tikslus svėrinys) prodioksino tepalo patalpinama į 100 ml stiklainaitę, įpilama 50 ml karšto vandens ir 2 min. maišoma magnetine maišykle. Paruošta suspensija kiekybiškai filtruojama per stiklinį POR 40 filtrą vakuomo būdu. Nuosėdos ant filtro plaunamos 100 ml distiliuoto vandens. Filtratas kiekybiškai perpilamas į 250 ml matavimo kolbą, atvėsinama iki kambario temperatūros ir praskiedžiama distiliuotu vandeniu iki žymės. Paruošto tirpalo absorbcijos dydis nustatomas spektrofotometru 375 nm

bangoje 1 cm storio kiuvetėje. Lygiagrečiai matuojamas analogiškai paruošto dioksidino etaloninio tirpalo absorbcijos dydis. Lyginamasis skystis – distiliuotas vanduo. Dioksidino kiekis (x) 1 g tepalo apskaičiuojamas pagal formulę:

$$x = \frac{D_1 \times 0,05}{D_0 \times a},$$

kur: D_1 – tiriamojo tirpalo optinis tankis.

D_0 – etaloninio dioksidino tirpalo optinis tankis.

a – tepalo masė gramais.

Fizikinis mechaninis kuriamo prodioksino tepalo stabilumas buvo nustatomas tiriant takumą, koloidinį stabilumą, termostabilumą ir reologines savybes (6–9).

Takumas. Tepalo takumas apibūdinamas pasklidimo plokštumos plotu veikiant slėgiui. Tai viena iš konsistencinių tepalų savybių, nustatoma ekstenziometru matuojant 1 g tepalo pasklidimo plotą, naudojant įvairius svarmenis ir esant 20°C temperatūrai. Jis apskaičiuojamas pagal formulę:

$$T = F \times a = p \times r^2,$$

kur: T – tepalo pasklidimas veikiant svorio jėgai.

Metodika. Ant stiklinės plokštelės pažymėto apskritimo centro pasveriamas 1 g tepalo. Tepalas uždengiamas antra plokštele ir ant jos centro 1 min. intervalu dedami svarmenys (10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500 g), pažymimas vidutinis pasklidimo spindulys ir pagal jį apskaičiuojamas tepalo pasklidimo plokštumos plotas.

Koloidinis stabilumas. Nustatytas centrifugavimo būdu. Stabili laikoma tokia sistema, kuri, centrifuguojama 5 min. 600 aps/min. greičiu, nesuyra į atskiras fazes.

Termostabilumas. Buvo nustatomas greitai keičiant temperatūras. Tepalų pavyzdžiai keturias paras buvo laikomi 40–45°C temperatūroje, penkias paras – 14±2°C temperatūroje ir tris paras kambario temperatūroje (25±2°C). Po to vizualiai buvo nustatomas pavyzdžių termostabilumas. Nustatant atsparumą šalčiui, pavyzdžiai 30 parų buvo laikomi –20±2°C tem-

peratūroje, po to atitirpinami kambario temperatūroje ir vizualiai buvo nustatomas išsiskyrusio skysčio kiekis.

Reologinės savybės. Efektinę klampą ir jos pokyčius laikymo laikotarpiu nustatėme rotaciniu viskozimetru „Reotest-2“ (8, 9). Tepalų reologinius parametrus nustatėme 25±2°C temperatūroje. Poslinkio jėgos įtempimas (τ , N/m²) tarp besisukančio ir stabilaus cilindro apskaičiuojamas pagal formulę:

$$\tau = z \times \alpha,$$

kur: z – cilindro konstanta, lygi 27,6 din/cm²×s ir 252,7 din/cm²×s.

α – indikatorinio prietaiso rodmenys (skalės padalomis).

Efektinė klampa (η_{ef} , Pa×s), esant kintamam poslinkio greičiui, nustatoma pagal formulę:

$$\eta_{ef} = \frac{\tau}{D},$$

kur: D – poslinkio greitis, s⁻¹.

Atliekant šį tyrimą, poslinkio greitis buvo nuo 0,33 s⁻¹ iki 145,8 s⁻¹.

Grafiškai pavaizdavę τ priklausomybę nuo D , gavome tiriamosios sistemos histerezės kreives. Apskaičiavę efektinę klampą, logaritminėje koordinačių sistemoje pavaizdavome efektingos klamos priklausomybę nuo poslinkio greičio.

pH reikšmė. pH ribas (nuo 6,0 iki 7,5), kurioms esant fermento aktyvumas išlieka pastovus, prodioksino tepalo 5 proc. suspensijoje distiliuotame vandenyje be anglies dioksido nustatėme Ph. Eur. 1997, 2.2.3 aprašytu metodu (10).

Mikrobinis užterštumas. Nustatomas Ph. Eur. 1997, 2.6.12 ir 2.6.13 aprašytais metodais (10).

Gydymasis poveikis. Prodioksino tepalo gydomąjį poveikį lyginami su Iruksol[®] tepalo (Pliva) (11–13),

turinčio 1 g 0,6 VV klostridiopeptidazės ir 10 mg chloramfenikolio gydomuoju poveikiu, tyrėme aukščiau aprašyta metodika. Eksperimentinius gyvūnus padalijome į tris grupes po 20 triušių kiekvienoje. Pirmos grupės gyvūnams kiekvieną dieną dėdavome prodioksino tepalo aplikacijas; antros grupės – Iruksol[®] tepalo aplikacijas, o trečios grupės – kiekvieną dieną žaizdos paviršių valydavome tamponu, sudrėkintu steriliu izotoniniu natrio chlorido tirpalu (kontrolinė gyvūnų grupė). Norėdami gauti patikimus tiriamųjų preparatų gydomojo poveikio rezultatus, naudojome tepalų aplikacijas su identiškais veikliųjų medžiagų kiekiais. Prailginto veikimo enzimoterapija buvo atliekama skaičiuojant 1 g procelano arba klostridiopeptidazės A ir 0,1 g dioksidino arba chloramfenikolio prodioksino ir Iruksol[®] tepalų pavidale 10 cm² žaizdos paviršiaus. Dienos metu pirmos gyvūnų grupės išdžiūvę tvarsčiai buvo suvilgomi steriliu izotoniniu natrio chlorido tirpalu. Eksperimentas truko 15 parų.

Statistinė analizė. Gautiems analizės duomenims patikinti ir statistškai įvertinti naudota cheminio eksperimento ir biologinių bandymų duomenų statistinio apdorojimo metodika (14).

Rezultatai ir jų aptarimas

Prodioksino tepalų pavyzdžių gydomojo poveikio tyrimai, parenkant optimalią dioksidino koncentraciją tepale, su bandomaisiais triušiais pateikiami antroje lentelėje. Prodioksino tepalas, kuriame dioksidino koncentracija yra 0,5, 1,0, 2,0 ir 4,0 proc., sutrumpina pūlingų žaizdų gijimą, lyginant su procelano tepalu, viena pusantros paros. Dioksidino koncentracijos padidėjimas nuo 1,0 iki 4,0 proc. nesukelia ryškaus gydomojo prodioksino tepalo veiksmingumo padidėjimo. 0,5 proc. dioksidino koncentracijos prodioksino tepalo gydomasis veikimas mažai kuo skiriasi nuo

2 lentelė. Prodioksino tepalų pavyzdžių gydomojo poveikio priklausomybė nuo dioksidino koncentracijos

Dioksidino kiekis, proc.	Procelano proteolitinis aktyvumas, VV/g tepalo	Žaizdų užgijimo etapai (paromis)*			
		šaso susiformavimas	granuliuojamasis	epitelizavimosi pradžia	pilnas epitelizavimasis
0,5	0,7	2,5	4,0	6,7	10,4
1,0	0,7	2,5	3,9	6,3	9,2
2,0	0,7	2,3	3,85	6,0	9,0
4,0	0,7	2,5	4,0	6,5	9,5
–	0,7	2,5	4,3	6,8	10,5

* Aritmetiniai eksperimentų, atliktų su 5 triušiais, duomenų vidurkiai.

procelano tepalo. Atsižvelgdami į ekonominius prodioksino tepalo gamybos aspektus, optimalia dioksido koncentracija pasirinkome 1,0 proc. Dioksido atsipalaidavimo iš prodioksino tepalo duomenys pateikiami pirmame paveiksle. Veikliosios medžiagos atsipalaidavimas iš tepalų pagrindų tiesiogiai priklauso nuo jos dispersiškumo laipsnio. Susmulkintas dioksidas iš tepalo atsipalaiduoja greičiau negu nesmulkintas. Po 6 val. dializės dioksido koncentracija dializate buvo tokia:

- nesmulkinto dioksido – 18,0 proc. (0,36 $\mu\text{g/ml}$);
- susmulkinto valcais – 40,0 proc. (0,80 $\mu\text{g/ml}$);
- susmulkinto homogenizatoriumi PF-4 – 65,0 proc. (1,3 $\mu\text{g/ml}$).

Susmulkinto dioksido dializė vyko nuo 2 iki 3,6 karto intensyviau lyginant su nesmulkintu. Didėjant dalelių dispersiškumui, didėja ir difuzijos greitis, kuris nulemia tepalo gydomąjį veiksmingumą. Remdamiesi eksperimentinių tyrimų duomenimis, prodioksino tepalo gamybai dioksidą smulkinome homogenizatoriumi PF-4 iki 5–10 mm dydžio dalelių.

Biofarmacinių tyrimų dėka sukurtas šios sudėties prodioksino tepalas:

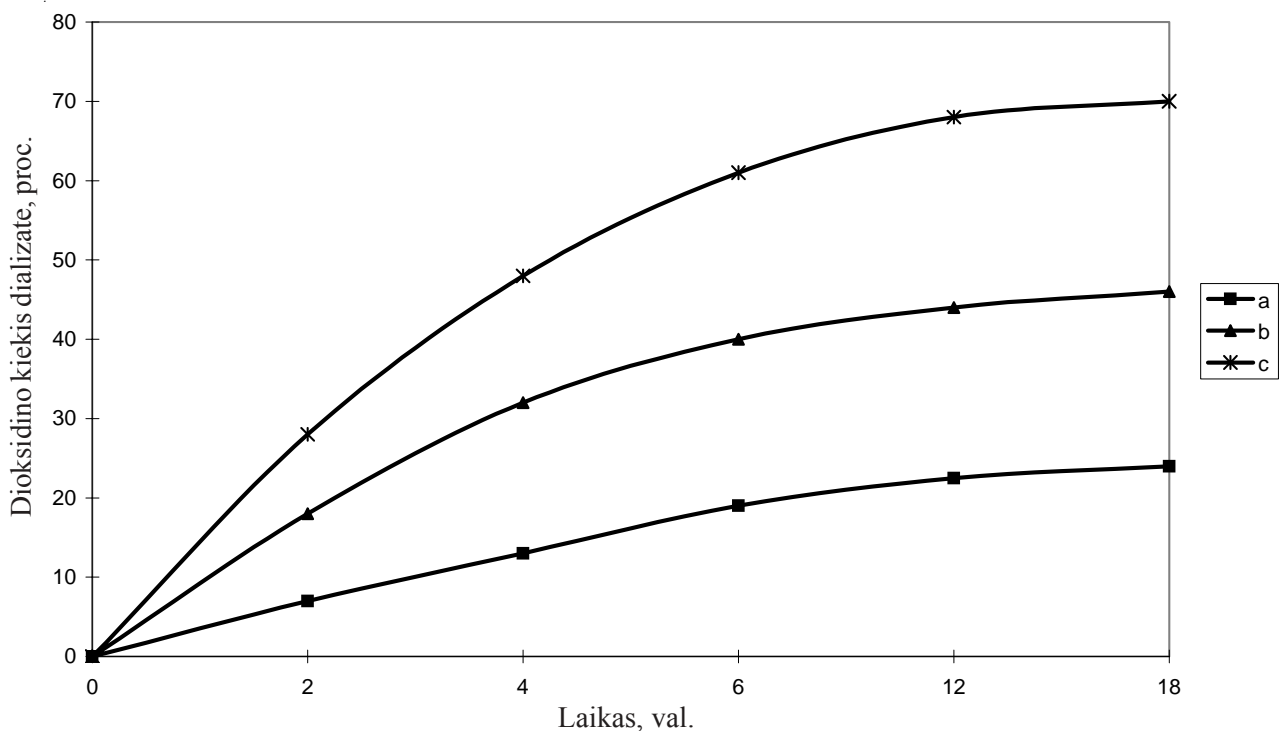
- Procelano liofilizuoto 10,0 g,
- Dioksido 1,0 g,
- Makrogolio 400 79,0 g,
- Makrogolio 1500 10,0 g.

Buvo tiriamas sukurto prodioksino tepalo fizikinis-mechaninis stabilumas. Tiriant koloidinį stabilumą, nustatyta, kad tepalų pavyzdžiai neišsisluoksniavo centrifuguojant 5 min. 6000 aps/min. greičiu. Tiriant tepalo pastovumą didelių ir mažų temperatūrų poveikiui, nustatyta, kad temperatūros pokyčiai neturi įtakos tepalo stabilumui.

Tepalo takumas – taip pat vienas iš konsistencijos rodmenų. Gauta tiriamojo tepalo ekstenziograma pateikiama antrame paveiksle, kurio duomenimis, tepalo pasklidimo plokštumos plotas didėja, kuomet didėja jį veikianti svorio jėga.

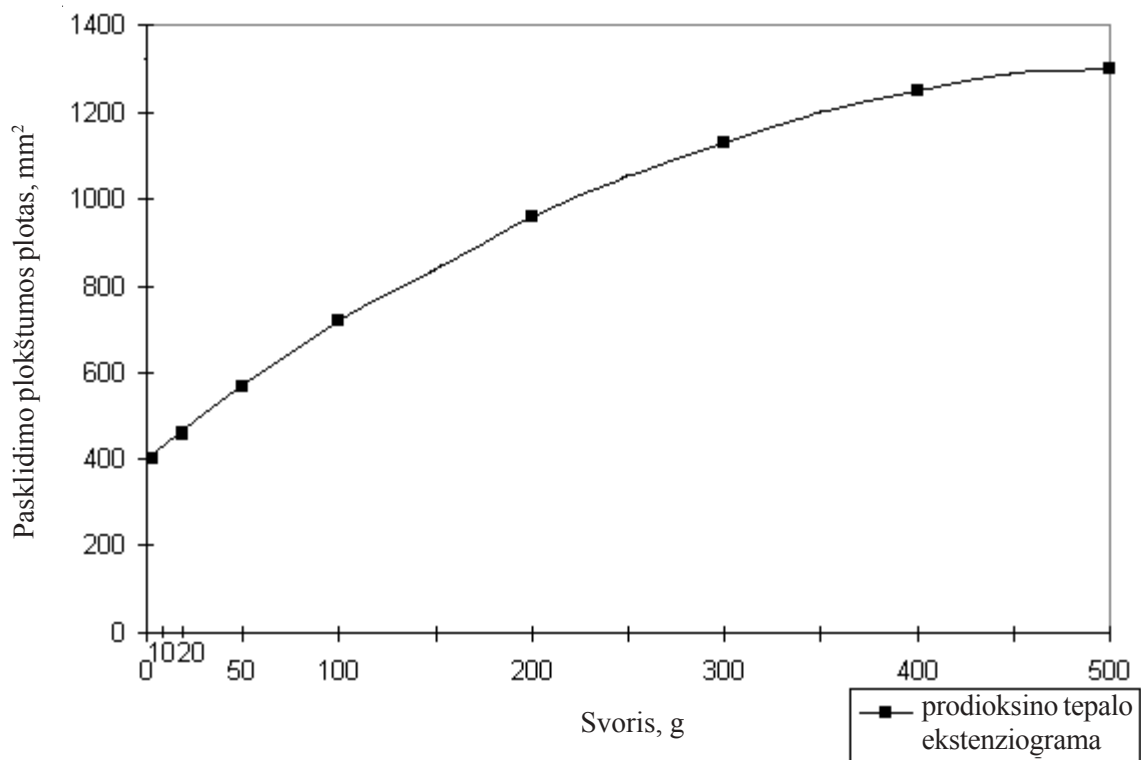
Viena svarbiausių tepalo savybių yra jo konsistencija – tai kompleksas reologinių parametru, tokių kaip elastingumas, plastiškumas, struktūrinė klampa, tiksotropiškumas ir kt.

Tepalo struktūrinės-mechaninės savybės buvo tiriamos rotaciniu viskozimetru „Reotest-2“. Efektinės klamos tyrimo duomenys pateikiami trečiame paveiksle. Iš tėkmės reogramos, t. y. poslinkio greičio (D, s^{-1}) priklausomybės nuo poslinkio jėgos įtempimo ($\tau, \text{N/m}^2$) grafiko, aišku, kad tiriamasis tepalas yra plastiškas ir pasižymi ryškiais tiksotropinėmis savybėmis. Didėjant poslinkio jėgos įtempimui, tiriamoji sistema suardoma, o pašalinus mechaninį poveikį, palaipsniui normalizuojasi. Toks tekėjimas, kuomet, didėjant poslinkio įtampai, išryškėja tiesioginė sistemos

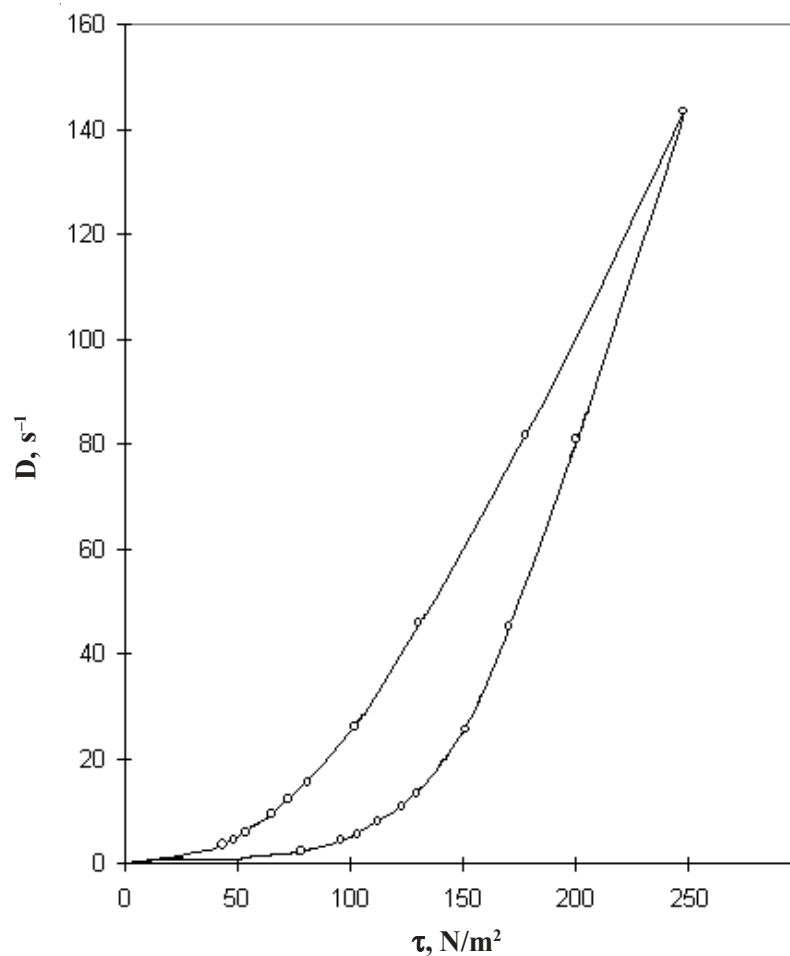


1 pav. Dioksido, susmulkinto įvairiais būdais, atsipalaidavimo iš tepalų pavyzdžių kinetika

a) nesmulkinto; b) susmulkinto valcais; c) susmulkinto homogenizatoriumi PF-4.



2 pav. Prodioksino tepalo ekstenziograma



3 pav. Prodioksino tepalo tēkmēs reograma

deformacijos greičio priklausomybė nuo poslinkio įtempimo, būdinga neniutoniniams kūnams, kuriems gali būti priskiriamas ir prodioksino tepalas.

Svarbią praktinę reikšmę turi efektinės klampos priklausomybė nuo poslinkio greičio. Efektinės klampos dydžiai ryškiai kinta didėjant poslinkio greičiui. Ši priklausomybė $\ln \eta = f(\ln D)$ pateikiama ketvirtame paveiksle, kurio duomenimis, efektinė klampa yra tiesiogiai proporcinga poslinkio greičiui. Tepalų efektinė klampa yra pastovus dydis, nežymiai kintantis dėl mechaninio poveikio ir laikymo sąlygų. Prodioksino tepalo efektinė klampa per dvejus laikymo metus kambario temperatūroje ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) pakito labai nežymiai.

Remiantis atliktais fizikiniais-mechaniniais tyrimais, galima daryti išvadą, kad kuriamas tepalas yra stangrios ir plastiškos konsistencijos, rekomenduotina vartoti dermatologinėms ligoms gydyti.

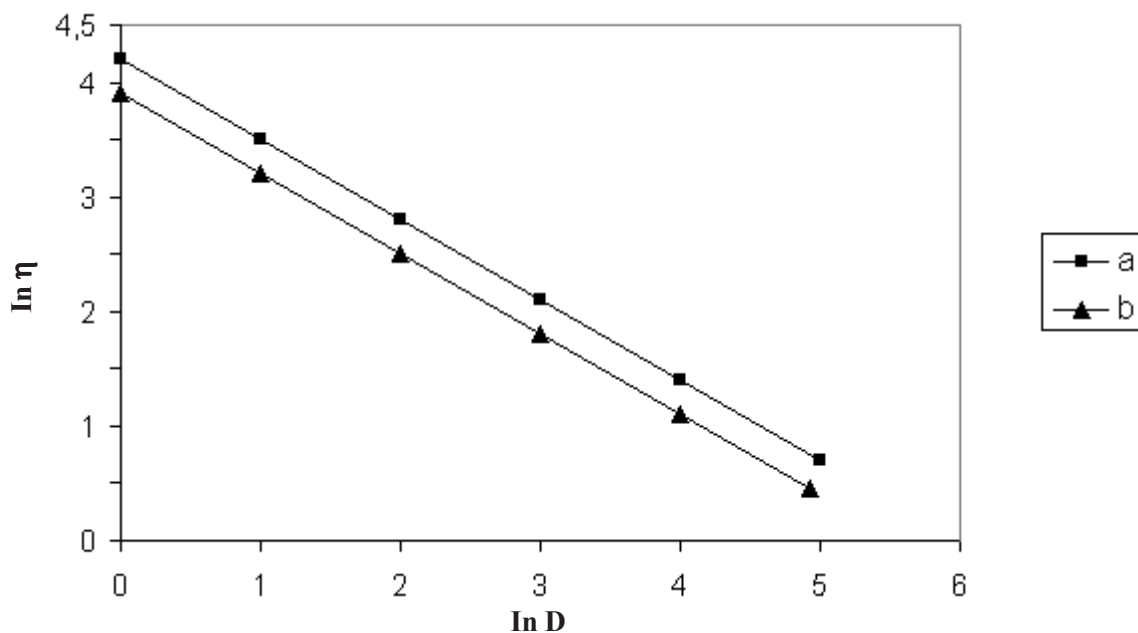
Pagamintas prodioksino tepalas yra gelsvos spalvos, vienalytė bekvapė masė. Stabilumo tyrimui tepalą fasavome į aliuminines tūbeles ir į neutralaus tamsaus stiklo indelius. Tyrimai buvo atliekami dvejus metus laikant tepalą šaltoje vietoje (nuo 4 iki 8°C temperatūroje), vėsioje vietoje (nuo 8 iki 16°C temperatūroje) ir kambario temperatūroje ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Buvo atlikta preparato fizikinė-cheminė analizė, kurios duomenys, laikant preparatą kambario temperatūroje, pateikiami trečioje lentelėje. Prodioksino tepalo fizikinių-cheminių tyrimų duomenys išliko pastovūs: pH

reikšmė – nuo 6,29 iki 7,09, proteolitinis aktyvumas – nuo 0,806 VV/g tepalo iki 0,996 VV/g tepalo, o dioksidino kiekis – nuo 9,21 mg/g tepalo iki 9,87 mg/g tepalo. Mikrobinis užterštumas laikymo laikotarpiu išliko pastovus ir atitiko leidžiamas normas. 1 g tepalo buvo rasta nuo 10 iki 20 aerobinių bakterijų ir grybų, visiškai nerasta enterobakterijų, *Pseudomonas aeruginosa* ir *Staphylococcus aureus*. Taigi galima daryti išvadą, kad sukurtas prodioksino tepalas stabilus laikant kambario temperatūroje dvejus metus.

Prodioksino tepalo gydomojo enzimatinio ir antimikrobinio poveikio tyrimo duomenys, lyginant su Iruksol® tepalu, pateikiami ketvirtoje lentelėje. Gydant pūlingas uždegimines žaizdas prodioksino ir Iruksol® tepalais, lyginant su kontrole, pūlingos žaizdos užgyja vidutiniškai 6–7 dienomis anksčiau. Pūlingos žaizdos, gydant prodioksino tepalu, užgyja vidutiniškai per 9 dienas, o Iruksol® tepalu – per 10 dienų. Gydomasis prodioksino tepalas veikia viena diena ilgiau negu Iruksol®.

Išvados

1. Atliekant biofarmacinius ir fizikinius-cheminius tyrimus, eksperimentiškai buvo nustatyta optimali dioksidino koncentracija tepale ir optimalus dioksidino dalelių smulkumo laipsnis.
2. Modifikuota dioksidino kiekybinio nustatymo tepale metodika.
3. Ištirtos prodioksino tepalo fizikinės-mechaninės



4 pav. Prodioksino tepalo efektinės klampos logaritmo ($\ln \eta$) priklausomybė nuo poslinkio greičio logaritmo ($\ln D$)

a) šviežiai paruoštas tepalas; b) dvejus metus laikytas tepalas.

3 lentelė. Prodioksino tepalo stabilumo tyrimo duomenys

Serijos žymuo	Laikymo trukmė, mėn.	pH	Dioksido kiekis, mg/g tepalo	Metrologinės charakteristikos	Procelano proteolitinis aktyvumas, VV/g tepalo	Metrologinės charakteristikos
019905	Pradinis	6,49	9,75	P= 95%	0,982	P= 90%
	3	6,36	9,86	$\bar{x}=9,68$	0,919	$\bar{x}=0,969$
	6	6,51	9,52	$S_{\bar{x}}=0,027$	0,958	$S_{\bar{x}}=0,017$
	9	6,78	9,31	$\Delta x=0,17$	0,957	$\Delta x=0,056$
	12	6,37	9,71	$\epsilon=1,70\%$	0,996	$\epsilon=5,70\%$
	18 24	6,29 6,39	9,76 9,84		0,982 0,992	
029905	Pradinis	6,43	9,33	P= 95%	0,981	P= 90%
	3	6,35	9,85	$\bar{x}=9,63$	0,960	$\bar{x}=0,947$
	6	6,71	9,67	$S_{\bar{x}}=0,043$	0,921	$S_{\bar{x}}=0,016$
	9	6,48	9,85	$\Delta x=0,22$	0,922	$\Delta x=0,051$
	12	6,65	9,62	$\epsilon=2,22\%$	0,967	$\epsilon=5,72\%$
	18 24	6,33 6,87	9,75 9,35		0,953 0,925	
039905	Pradinis	6,92	9,45	P= 95%	0,896	P= 90%
	3	6,88	9,58	$\bar{x}=9,52$	0,892	$\bar{x}=0,891$
	6	6,75	9,26	$S_{\bar{x}}=0,026$	0,894	$S_{\bar{x}}=0,011$
	9	6,85	9,85	$\Delta x=0,16$	0,896	$\Delta x=0,051$
	12	6,79	9,37	$\epsilon=1,65\%$	0,898	$\epsilon=5,74\%$
	18 24	6,69 6,76	9,57 9,58		0,882 0,881	
049905	Pradinis	6,83	9,74	P= 95%	0,871	P= 90%
	3	6,39	9,87	$\bar{x}=9,52$	0,896	$\bar{x}=0,855$
	6	6,81	9,57	$S_{\bar{x}}=0,039$	0,851	$S_{\bar{x}}=0,010$
	9	6,82	9,87	$x=0,23$	0,852	$\Delta x=0,049$
	12	6,78	9,45	$\epsilon=2,27\%$	0,837	$\epsilon=4,92\%$
	18 24	6,85 6,58	9,39 9,45		0,853 0,827	
059905	Pradinis	6,98	9,24	P= 95%	0,806	P= 90%
	3	7,04	9,25	$\bar{x}=9,36$	0,812	$\bar{x}=0,817$
	6	6,95	9,21	$S_{\bar{x}}=0,036$	0,834	$S_{\bar{x}}=0,011$
	9	6,88	9,45	$\Delta x=0,22$	0,806	$\Delta x=0,051$
	12	6,89	9,32	$\epsilon=2,25\%$	0,828	$\epsilon=3,24\%$
	18 24	7,09 7,06	9,52 9,52		0,812 0,821	

savybės: takumas, koloidinis stabilumas, termostabilumas ir reologinės savybės. Nustatyta, kad tepalas yra stangrios ir plastiškos konsistencijos, priiskiriamas neniutoniniams kūnams ir rekomenduotinas vartoti dermatologinėms ligoms gydyti.

4. Biologinių tyrimų išdava, kad prodioksino tepalo gydomas ir antimikrobinis poveikis viena diena ilgesnis negu Iruksol®.

5. Sukurtas prodioksino tepalas yra stabilus dvejus metus laikant jį kambario temperatūroje.

4 lentelė. Prodioksino tepalo gydomojo poveikio tyrimo duomenys lyginant su Iruksol[®] tepalu

Paros nuo gydymo pradžios	Atvejų skaičius									
	granuliatų susidarymas			epitelizavimosi pradžia			epitelizavimosi pabaiga			
	Pd	Ir	K	Pd	Ir	K	Pd	Ir	K	
1										
2	1	1								
3	6	3								
4	9	9		2	2					
5	3	6	1	4	3					
6	1	1	3	8	6					
7			8	3	5		1	1		
8			6	2	2	1	4	2		
9			2	1	2	1	10	7		
10						3	3	5		
11						8	1	4		
12						4	1	1		
13						3	2	2		
14								1		
15										20
Vidurkis	3,80	4,15	7,50	6,0	6,80	11,10	9,0	10,0		15

Pastaba: Pd – prodioksino tepalas, Ir – Iruksol[®] tepalas, K – izotoninis natrio chlorido tirpalas.

Development of prodioxin ointment

Genė Puodžiūnienė, Vytautas Vaičiuvėnas¹, Valdimaras Janulis Juozas Steponavičius²

Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy,

¹Department of Microbiology, Kaunas University of Medicine, ²BJSC „BIOK“, Lithuania

Key words: prodioxin ointment, procelan, dioxidin, proteolytic activity, antimicrobial effect.

Summary. There was a purpose to create a composite ointment of proteolytic and antimicrobial activity, the formulation of which would contain the proteolytic enzyme procelan and the antimicrobial preparation with wide spectrum of action dioxidin. During the development of prodioxin ointment by means of biological experiments the optimal concentration of dioxidin was evaluated; it was 1 percent. The optimal dispersity value of dioxidin particles was estimated by dialysis through a semipermeable membrane. The best release of dioxidine from prodioxin ointment occurred, when it was pulverized to particles with diameter 5–10 μm. The method of assay of dioxidin was modified for the ointment. The physicochemical properties of the prodioxin ointment: flowability, colloidal stability, thermostability and rheological properties were examined. The investigated ointment is non-newtonian in character, e.g. an elastic and plastic system and may be intended for use in dermatological practice. Medicinal enzymic and antimicrobial effects of the prodioxin ointment were compared with the healing effect of Iruksol[®] ointment. The medicinal effect of the prodioxin ointment exceeded that of Iruksol[®] ointment by one day. Judging by the results of the physicochemical analysis a conclusion can be made that the prodioxin ointment is stable for two years at room temperature.

Correspondence to G. Puodžiūnienė, Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy, Kaunas University of Medicine, Mickevičiaus 9, 3000 Kaunas, Lithuania

Literatūra

1. Puodžiūnienė G, Vaičiuvėnas V, Janulis V, Steponavičius J. Fermentinio preparato procelano tepalo gamybos technologijos sukūrimas. (Development of technology of the enzymic preparation – procelan ointment.) *Medicina (Kaunas)* 2002; 38(11):1111-8.
2. Schwarz N. Wound cleansing with the enzyme combination fibrinolysin/deoxyribonuclease. *Fortschr Med* 1981;99(25): 978-80.
3. Dolgova GV, Berezinskaia VV, Egorenko GG, Svinogeeva TP. Experimental study of a novel formulation for local application based on gentamicin, erythromycin and protease C. *Antibiot Khimoter* 1990;35(9):28-9.
4. Mashkovskij MD. Lekarstvennye sredstva. (Drugs.) *Medicina (Moskva)* 2000;2:298-9.
5. SSSR FS 42-1280-91. Maz' dioksidina 5%. (USSR PhM 42-1280-91 Dioksidine ointment.).
6. Elnatanova MI, Nikolajenko NS, Glumova NM, Barsel VA. Technologicheskiye isledovaniya osnovy dlja linimentov s dibunolom. (Technological investigation of the basis for the liniment with dibunol.) *Chim Farm* 1991;8:993-6.
7. Grecki VM. O razruzhenii emulsionykh mazevykh osnov zamorazhivaniem. (About the destruction of emulsic ointment basis by freezing.) *Aptechnoje delo* 1985;1:10-4.
8. Eros I, Kedvesy G. Angevandte rheologische Forschung auf dem Gebiet der Salben-grundlagen. (Rheological examinations applied for ointment basis.) *Pharm Ind* 1985;47(7):777-81.
9. Eros I, Ugri-Hunyadvári E. Theoretische und praktische Fragen der strukturrheologischen Forschung an Salben. (Theoretical and practical questions of the structural and rheological examinations of ointments.) *Pharmazie* 1983;12: 784-90.
10. *European Pharmacopoeia*, 3rd ed. 1997.
11. Montorio L, Vicari GB, Ferraro M. Our experience with Iruzol ointment in the treatment of skin ulceration of various etiologies. *G Ital Dermatol Venerol* 1985;120(4):29-34.
12. Iaremchuk AI, Mendel AK, Karaban NI. Clinicomorphological characteristics of suppurative wounds treated with Iruzol. *Klin Med* 1982;60(6):100-3.
13. Matiashin IM, Mendel AK, Iaremchuk AI, Karaban NI. Iruzol treatment trials in suppurative wounds. *Sov Med* 1981; 3:978-80.
14. Gosudarstvenaja farmakopeja SSSR. (State Pharmacopoeia of the USSR.) *Medicina (Moskva)* 1987;1:199-251.

Straipsnis gautas 2002 02 22, priimtas 2002 12 13

Received 22 February 2002, accepted 13 December 2002