

На правах рукописи



НОГАЕВА

Ульяна Валерьевна

**РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОЙ
МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ДЛЯ ТЕРАПИИ
ОСТЕОАРТРИТА**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Санкт-Петербург

2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Флисюк Елена Владимировна

доктор фармацевтических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Молохова Елена Игоревна

доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры промышленной технологии лекарств с курсом биотехнологии

Джавахан Марина Аркадьевна

доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора по внедрению и разработке научно-образовательного института фармации

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «06» июня 2023 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.063.01, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д.14, лит. А).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197227, г. Санкт-Петербург, пр. Испытателей, д.14) и на сайте организации (<https://sites.google.com/a/pharminnotech.com/dissovet>).

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.063.01,
кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Согласно современному определению, остеоартрит (ОА) – это гетерогенная группа заболеваний различной этиологии со сходными биологическими, морфологическими и клиническими проявлениями и исходом, в основе которых лежит поражение всех компонентов сустава, в первую очередь хряща, а также субхондрального участка кости, синовиальной оболочки, связок, капсулы, периартикулярных мышц.

ОА традиционно считался дегенеративным заболеванием суставов, но в связи с появлением новых данных экспериментальной и доказательной клинической медицины о том, что в его молекулярном патогенезе важную роль играет воспаление.

В мире около 300 млн человек страдают ОА, в РФ распространённость этого заболевания составляет 13%. Отчёт немецкой компании Statista свидетельствует о том, что количество зарегистрированных случаев ОА в период с 1990 до 2019 годов возросло от 96,98 млн до 210,37 млн случаев у мужчин и от 150,53 млн до 317,44 млн случаев у женщин.

Симптомы болезни, как правило, можно контролировать, однако повреждение суставов нельзя обратить вспять. Задачей современной фармацевтической технологии является создание эффективных и безопасных лекарственных препаратов, которые, влияя на несколько звеньев патогенеза, могут способствовать улучшению качества жизни пациентов.

Вышеизложенное позволяет рассматривать комбинацию трёх активных фармацевтических субстанций (АФС) в качестве перспективного направления исследования в области противовоспалительной терапии.

При этом использование пролонгированной мягкой лекарственной формы (МЛФ), во-первых, может способствовать удобному и самостоятельному нанесению состава, повышению комплаентности пациентов, а во-вторых, минимизировать вероятность возникновения побочных эффектов за счёт постепенного проникновения действующих веществ к очагу воспаления.

Степень разработанности темы исследования

Поиск и разработка лекарственных препаратов (ЛП) для терапии ОА идёт достаточно давно: Бадочкин В.В. 2009, 2018, 2020, Гончаров Н.А. 2011, Драпкина О.М. и др. 2018, Лиля А.М. 2019, Dantas L.O. et al. 2021, Goldring M.B. et Berenbaum F. 2015, Iturriaga L. et al. 2018, Richardson C. et al. 2019, Vargas Negrin F. et al. 2014, Wu Q. et al. 2022. Сегодня исследователи всего мира активно развивают новые подходы, в частности, рассматривают перспективность терапии на молекулярно-генетическом и клеточном уровнях [Evans C.H. et al. 2023, Huang H. et al. 2023, Mizuno M. et al. 2022, Ramirez-Perez S. et al. 2022], занимаются созданием различных систем доставки: наночастиц [Gai Y. et al., 2023, Kang L.J. et al. 2021, Subbiah L. et al. 2021], микроигл [Khuangsirikul S. et al. 2022, Nogaeva U.V. et al., Priya S. et Singhvi G. 2022, Wang J. et al. 2022, Zhou P. et al. 2021], комбинированных препаратов с модифицированным высвобождением [Huang H. et al. 2022, Jin J. et al. 2022, Zhou T. et al. 2022].

Однако до настоящего времени на фармацевтическом рынке не зарегистрирован ЛП, содержащий в своём составе мелоксикам, аденозин и иммуномодулятор М, при патентном поиске также не встречалось упоминание подобной композиции. Учитывая перспективность сочетания АФС, влияющих на разные звенья ОА, была выявлена необходимость разработки лекарственной формы (ЛФ) на основе этих компонентов и изучение её эффективности.

Цель и задачи исследования

Цель диссертационного исследования – фармацевтическая разработка комбинированного противовоспалительного средства для терапии остеоартрита с доклинической оценкой его эффективности.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить физико-химические свойства мелоксикама, аденозина, иммуномодулятора М для последующего включения в состав геля.
2. Обосновать выбор компонентов основы для мягкой лекарственной формы.

3. Разработать состав и технологию получения комбинированного геля, обладающего пролонгированным противовоспалительным эффектом.

4. Провести сравнительную оценку аппаратного оформления в технологии геля: с использованием мешалки с верхним приводом и виброкавитационного гомогенизатора.

5. Разработать методики определения показателей качества полученного состава и изучить его стабильность.

6. Провести оценку эффективности комбинированного геля на модели экспериментального остеоартрита и проанализировать его профиль безопасности.

Научная новизна исследования

Впервые предложена оригинальная комбинация АФС, включающая мелоксикам, аденозин и иммуномодулятор М в составе МЛФ. С точки зрения безопасности терапии и минимизации системных побочных эффектов, совместное применение нескольких лекарственных средств позволило снизить дозировку нестероидного противовоспалительного препарата (НПВП) – мелоксикама до 0,5%, в то время как в выпускаемых гелях она составляет не менее 1 %.

Использован режим обработки МЛФ с включением стадии виброкавитационного воздействия, этот подход позволил повысить микробиологическую стабильность испытуемых составов по сравнению с образцами, полученными с применением классического перемешивающего устройства – мешалки с верхним приводом.

Проведён сравнительный анализ режимов обработки геля на основе анализа функции распределения частиц по размерам в ходе технологического процесса.

Впервые разработаны методики анализа трёхкомпонентной МЛФ методом ВЭЖХ, а также проект спецификации качества геля противовоспалительного.

Проведена комплексная доклиническая оценка эффективности и безопасности МЛФ, позволяющая определить возможность применения разработанного состава в терапии ОА.

Теоретическая и практическая значимость работы, внедрение результатов исследования

Теоретическая значимость работы заключается в комплексном обосновании оригинального состава и технологической схемы получения, комбинированной МЛФ противовоспалительного действия.

Установлено, что включение в состав геля поверхностно-активных веществ (твин 80, кремофора RH40) и пропиленгликоля увеличивает мембранную проницаемость для вещества нерастворимого в основе и способствует получению структурированной системы, обладающей тиксотропностью.

Показана возможность использования виброкавитационной обработки в режиме 5000 об/мин – 2 минуты в технологии мягких лекарственных форм, при этом установлено повышение микробиологической чистоты готовой продукции.

Практическая значимость диссертационного исследования состоит в разработке оригинального компонентного состава, а также технологии мягкой лекарственной формы для терапии остеоартрита, которая была успешно апробирована на производственной площадке ЗАО «ФАРМА ВАМ» (акт о внедрении 30.01.23). Методология оценки структурно-механических свойств мягких лекарственных форм была использована в научно-исследовательской деятельности кафедры технологии лекарственных форм и GMP тренинг-центра ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России (акт о внедрении от 26.01.23). Алгоритм сравнительного изучения свойств мягких лекарственных форм в зависимости от типа используемого оборудования был применён в деятельности службы науки и клинических исследований, а также в лаборатории мягких лекарственных форм АО «Вертекс» (акт о внедрении от 03.03.23).

Отдельные результаты работы нашли применение в учебном процессе образовательных учреждений высшего образования: ФГБОУ ВО СПХФУ

Минздрава России (акт о внедрении от 15.02.23) и Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (акт о внедрении от 10.02.23) при преподавании основной образовательной программы для студентов, обучающихся по специальности 33.05.01 «Фармация».

Методология и методы исследования

В диссертационной работе использованы технологические, биофармацевтические, физико-химические, фармакологические, микробиологические, статистические методы. Обработку результатов исследования проводили с использованием элементарной статистики, а также с применением программного обеспечения GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Software Inc., Ла-Хойя, Калифорния, США).

Экспериментальные работы были проведены на современном технологическом и аналитическом оборудовании, прошедшем аттестацию. Средства измерения, примененные в работе, имеют свидетельства о поверке.

Степень достоверности и апробация полученных результатов

Достоверность полученных результатов определяется их воспроизводимостью, использованием современных методов исследований, а также применением методов статистической обработки данных.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на научном коворкинге «Биомедицина» в рамках форума медицинских и фармацевтических вузов Министерства здравоохранения Российской Федерации «Наукабиомед» (Москва, 2022), на XI и XII Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего» (Санкт-Петербург 2021 и 2022), на VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «VolgaMedScience» (Нижний Новгород, 2022).

Два исследовательских проекта, включающие фрагменты диссертационного исследования, а именно: «Разработка состава и технологии комбинированного противовоспалительного средства для терапии остеоартроза»

(2021) и «Совершенствование технологии мягких лекарственных форм путём виброкавитационной обработки» (2022), были признаны победителями конкурса грантов Комитета по науке и высшей школы для студентов вузов, расположенных на территории Санкт-Петербурга, аспирантов вузов, отраслевых и академических институтов, расположенных на территории Санкт-Петербурга.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Разработка состава и технологии комбинированной мягкой лекарственной формы для терапии остеоартрита.

2. Сравнительная оценка аппаратного оформления в технологии геля: с использованием мешалки с верхним приводом и виброкавитационного гомогенизатора.

3. Показатели качества геля противовоспалительного и методы их оценки.

4. Результаты фармакологической оценки эффективности и безопасности трёхкомпонентной мягкой лекарственной формы *in vivo*.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов

Автор лично участвовал в формулировке цели исследования и постановке задач, сборе и анализе отечественных и зарубежных литературных данных, планировании экспериментальной работы, постановке экспериментов на базе GMP тренинг-центра, кафедры технологии лекарственных форм и Центра экспериментальной фармакологии ФГБОУ ВО СПбХФУ Минздрава России. Автором обрабатывались и интерпретировались полученные результаты, а также лично осуществлялось оформление тезисов и статей по тематике исследования.

Личный вклад автора составил не менее 90%. Диссертация представляет собой самостоятельный научный труд и включает исследования автора за период с 2020 по 2022 годы.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Положения диссертационной работы соответствуют паспорту специальности 3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств, а именно пунктам:

1. Решение задач в области обращения лекарственных средств, обеспечивающих соблюдение надлежащих практик. Разработка инструментов, методов и подходов к оценке безопасности, эффективности и качества лекарственных средств.

2. Проектирование и разработка технологий получения фармацевтических субстанций и лекарственных форм, утилизация производственных отходов с учетом экологической направленности. Стандартизация и валидация процессов и методик, продуктов и материалов. Оптимизация организационных и технологических процессов при разработке и получении лекарственных средств.

3. Исследование биофармацевтических аспектов в технологии получения лекарственных средств, их дизайн и изучение фармацевтических факторов, влияющих на биодоступность. Разработка и валидация бионалитических методик. Исследование стабильности лекарственных средств.

Публикации материалов исследования

По теме диссертации опубликовано 8 научных работ, включая 3 статьи в журналах, включенных в международную базу Scopus, среди которых 2 статьи в журналах перечня рецензируемых научных изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций, рекомендованных ВАК Минобрнауки России.

Объем и структура диссертации

Работа изложена на 117 страницах компьютерного набора, иллюстрирована 42 рисунками и 16 таблицами, состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (4 главы) и заключения, списка

литературы, включающего 91 наименование (46 источников зарубежной литературы) и приложения.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении изложены актуальность работы, цели и задачи исследования, научная новизна, практическая значимость, степень достоверности и апробации основных результатов исследования, положения, выносимые на защиту, связь задач с исследовательской работы с проблемным планом фармацевтических наук, соответствие работы паспорту научной специальности, обозначен личный вклад автора в проведённую исследовательскую работу и получение научных результатов.

Глава 1. Обзор литературы

В обзоре литературы уделено внимание распространённости, этиологии и патогенезу ОА, рассмотрены подходы к терапии, представлены преимущества комбинированного лечение с применением МЛФ. На основе литературных данных и результатов доклинических исследований (ДИ) выбрана перспективная комбинация трёх АФС (Рисунок 1).

Описаны современные гидрофильные основы и группы вспомогательных веществ (ВВ), изучены стадии получения МЛФ и их аппаратурное оформление, в частности смесители и гомогенизаторы различного типа действия. Показана возможная перспективность виброкавитационной обработки МЛФ.



Рисунок 1 – Направления действия компонентов разрабатываемой МЛФ

Глава 2. Материалы и методы исследования

1. На этапе фармако-технологических исследований

Объектами исследования стали АФС: мелоксикам, аденозин и иммуномодулятор М. В качестве ВВ рассматривали альгинат натрия, гидроксипропилцеллюлозу, ксантановую камедь, кремофор RH40, пропиленгликоль, твин 80, глицерин, диметилсульфоксид (ДМСО).

Методы исследования и оборудование.

Подлинность АФС подтверждали путём снятия ИК-спектров на ИК-спектрометре Spectrum 3 (Perkin Elmer, США), форму и размеры кристаллов АФС изучали с использованием цифрового микроскопа 40x-1600x Bresser[®] LCD MICRO 5MP (Германия).

При получении образцов МЛФ использовали весы OHAUS PA-214 (США), мешалку с верхним приводом Heidolph RZR 2000 (Германия).

На этапе анализа растворов гелеобразователей, гелевых основ и готовых МЛФ использовали рН-метр Аквилон 410 (Россия).

Оценку структурно-механических свойств составов проводили с использованием вискозиметра Anton Paar DV-2P (Anton Paar GmbH, Австрия) и программируемого реометра Brookfield DV-III Ultra Base Unit Rev.B, США с ПО Brookfield Reocalc[®], США. Так же МЛФ анализировалась с помощью макета прибора для измерения сопротивления, сконструированного в ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России под руководством профессора В.А. Вайнштейна.

Мембранная проницаемость МЛФ оценивалась с использованием диффузионной ячейки Франца PermeGear, США и силиконовой мембраны на базе ИХР РАН (г. Иваново).

Для оценки распределения частиц по размерам в составе суспензий и МЛФ использовали лазерный анализатор частиц «Микросайзер» модель 201С ООО «ВА Инсталт» (Россия).

Виброкавитатор – лабораторный образец аппарата, сконструированный в СПбГТИ(ТУ), рассматривался как устройство для гомогенизации МЛФ. Также на этапе разработки и контроля качества МЛФ использовали камеру

термостатируемую Memmert HPP110 (Германия) и центрифугу MPW-352R (Польша).

ВЭЖХ анализ МЛФ проводился на жидкостном хроматографе Prominence LC-20, оснащённом диодно-матричным детектором SPD-M20A.

2. На этапе доклинических исследований

Фармакологические исследования эффективности и безопасности были проведены на модели адьювант-индуцированного ОА у крыс самцов линии Brown Norway Catholic Rats (протоколы биоэтической комиссии Rats-01/CA-21 от 18.02.2021 и RATS-OA-01-2022 от 07.02.2022).

В качестве критериев эффективности рассматривали изменение размера повреждённого сустава, толерантность к физической нагрузке, гистологическую картину воспаления, уровень провоспалительных цитокинов, путём проведения иммуноферментного анализа (ИФА).

Глава 3. Разработка состава, фармако-технологические исследования комбинированной противовоспалительной МЛФ

При изучении свойств АФС установлено, что аденозин и иммуномодулятор М являются водорастворимыми, а мелоксикам практически нерастворим в воде, на основе чего было принято решение о разработке комбинированной МЛФ в соответствии с алгоритмом, отражённом на рисунке 2.

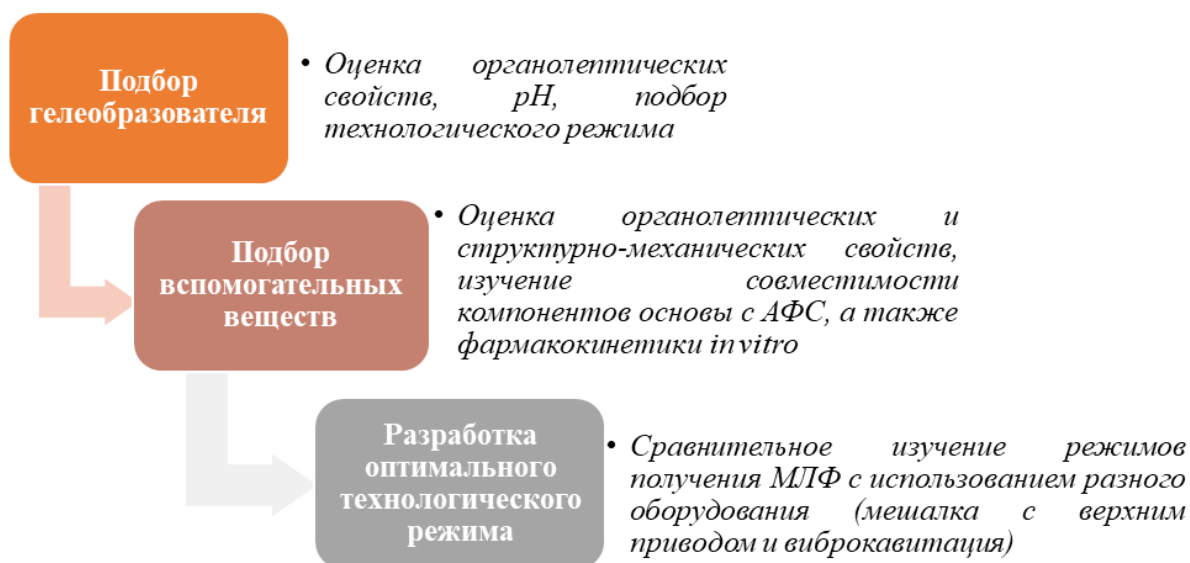


Рисунок 2 – Схема фармацевтической разработки состава и технологии трёхкомпонентной противовоспалительной МЛФ

В исследование было включено несколько гелеобразователей: альгинат натрия, гидроксиэтилцеллюлоза и ксантановая камедь в концентрациях от 0,5 до 2,0%. В ходе комплексного изучения полученных составов для дальнейшей разработки было решено оставить альгинат натрия, на основе которого было получено 9 образцов гелевых основ (Таблица 1).

Таблица 1 – Составы гелевых основ, содержащих альгинат натрия

Состав, %	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Натрия альгинат	1,5	1,5	1,5	2,0	2,0	2,0	3,0	3,0	3,0
Пропиленгликоль	5,0	10,0	10,0	5,0	10,0	10,0	5,0	10,0	10,0
Твин 80	2,0	2,0	-	2,0	2,0	-	2,0	2,0	-
Кремофор RH40	-	2,0	-	-	2,0	-	-	2,0	-
Вода очищенная	<i>до 100,0</i>								

Образец 5 обладал оптимальными органолептическими и структурно-механическими свойствами, наличие петли гистерезиса подтверждает тиксотропность состава (Рисунок 3).

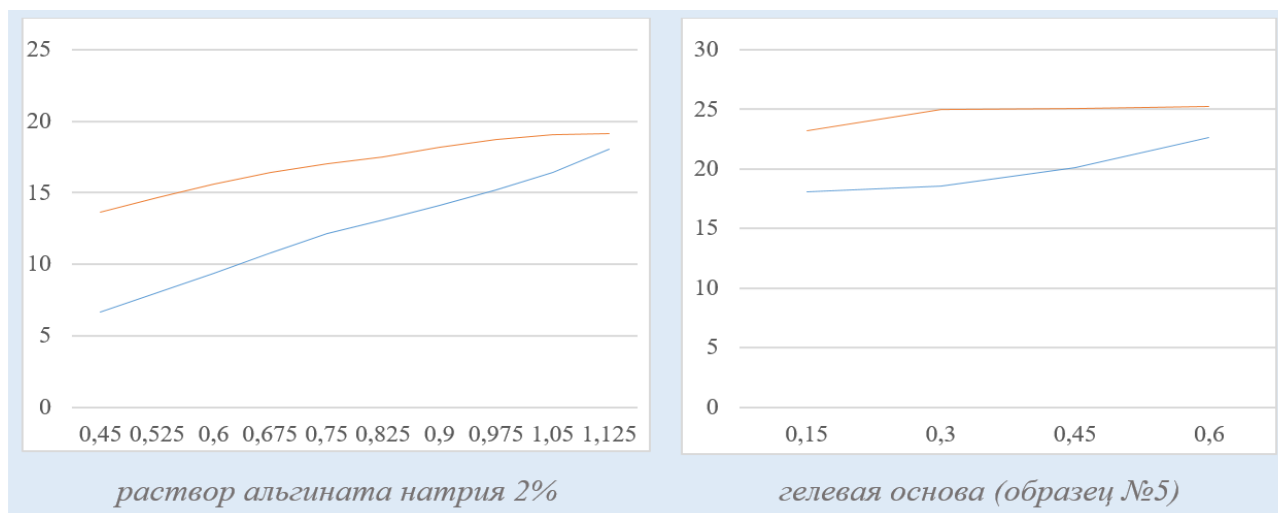


Рисунок 3 – Зависимость напряжения сдвига (Shear stress) по оси Y от скорости сдвига (Shear rate) по оси X для раствора альгината натрия и гелевой основы (образец №5)

Включение пропиленгликоля позволило ввести мелоксикам в виде суспензии с размером частиц до 100 мкм, что было подтверждено в ходе анализа распределения частиц (Рисунок 4 – 5).

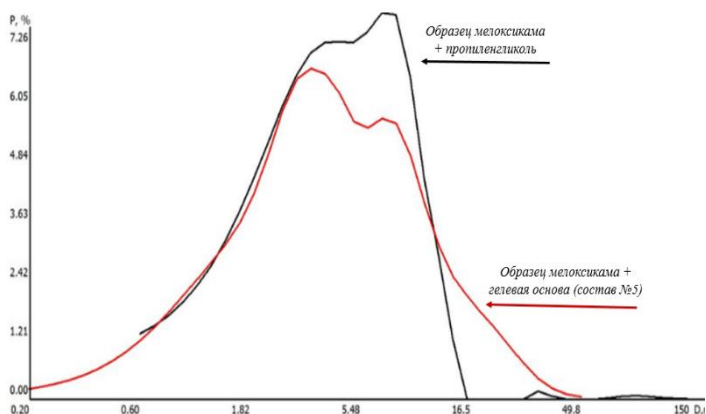


Рисунок 4 – Распределение размера частиц мелоксикама в пропиленгликоле и в гелевой основе (состав №5)

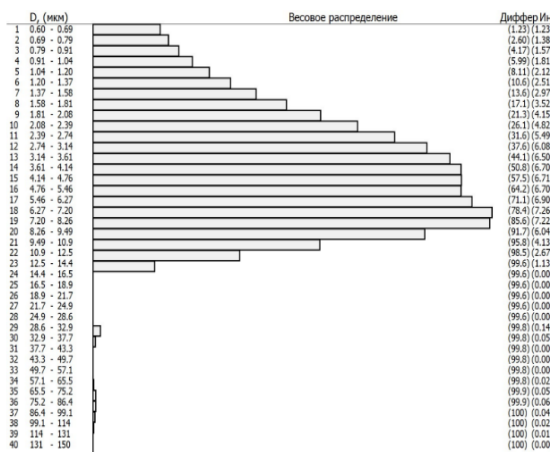


Рисунок 5 – График распределения размера частиц мелоксикама в пропиленгликоле

При этом добавление комбинации пропиленгликоля, кремофора RH40 и твин 80 способствовало повышению мембранной проницаемости МЛФ (Рисунок 6 – 7). Акцепторная камера ячейки Франца была наполнена фосфатным буферным раствором (pH = 7,4), исследования проводили при температуре – 32°C с использованием силиконовой мембраны.

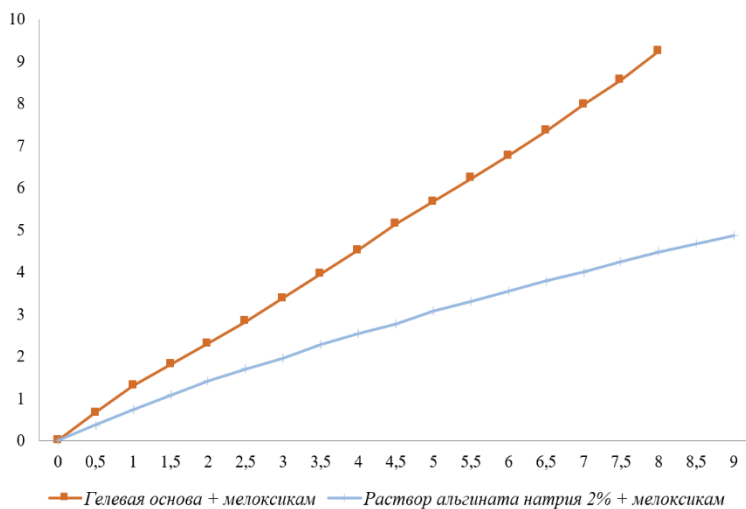


Рисунок 6 – Зависимость массовой доли мелоксикама (%), прошедшего через мембрану, от времени (ч.)

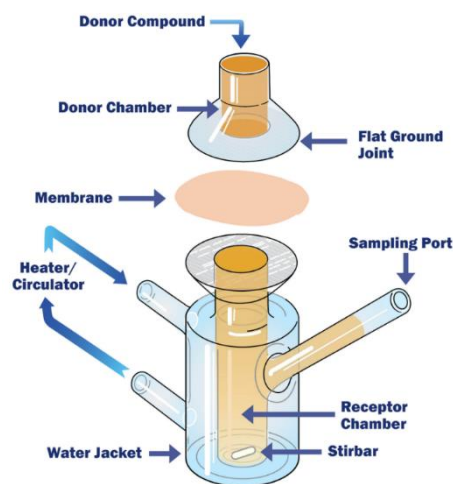


Рисунок 7 – Схема ячейки Франца, используемой для исследования

Согласно результатам испытания, компонентный состав гелевой основы (образец №5) способствует пролонгированному высвобождению мелоксикама из МЛФ: за 9 часов высвобождается около 10% действующего вещества.

Для получения комбинированной МЛФ рассматривали 3 технологических режима. Итоговый состав геля противовоспалительного и рекомендованная технология отражены на рисунке 8.

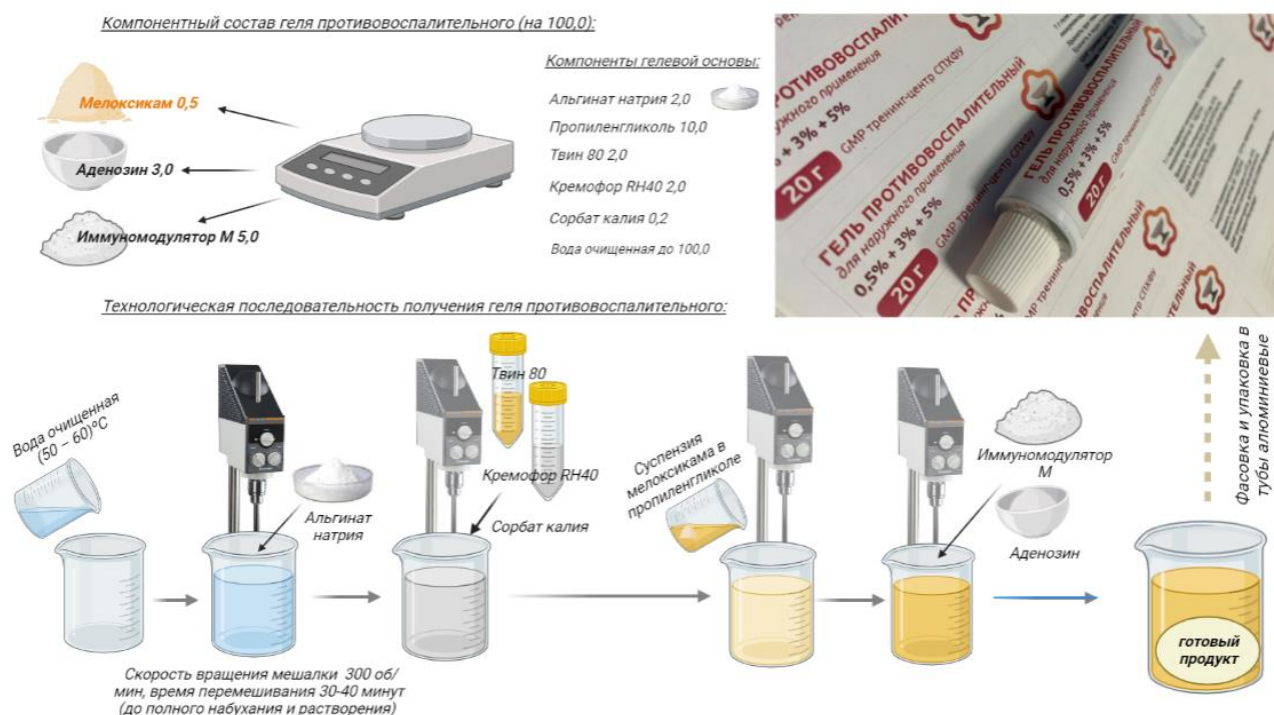


Рисунок 8 – Компонентный состав и технологическая последовательность получения геля для терапии ОА

Для готового продукта было проведено изучение структурно-механических свойств, а именно – измерена зависимость динамической вязкости от скорости вращения шпинделя при температуре 20° и 32°С (Рисунок 9), а также определена динамика изменения напряжения сдвига во времени по сравнению с референс-препаратом (Рисунок 10).

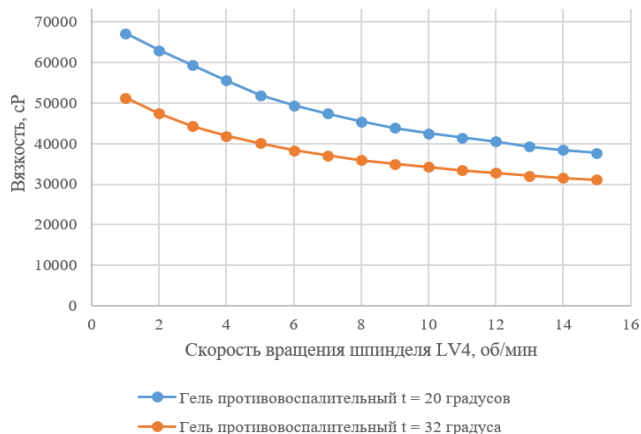


Рисунок 9 – Зависимость вязкости (сРа) МЛФ от скорости вращения шпинделя LV4

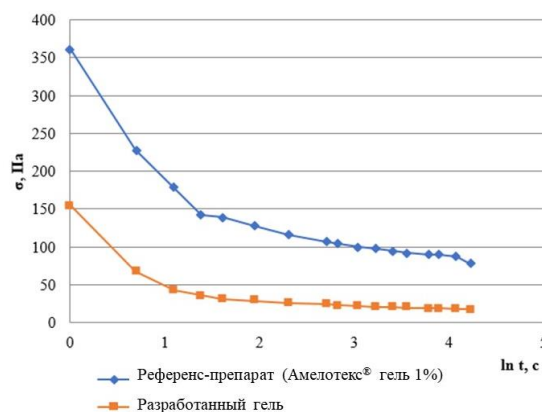


Рисунок 10 – Зависимость напряжения опытных образцов гелей от ln t, с.

Результаты свидетельствовали о том, что МЛФ будет легко извлекаться из тубы и равномерно распределяться на поверхности кожи. Период полурелаксации образца геля составил 11 секунд.

Изучение области применения виброкавитационного гомогенизатора в технологии МЛФ проходило по нескольким направлениям (Рисунок 11).



Рисунок 11 – Предполагаемые эффекты, наблюдаемые после виброкавитационной обработки МЛФ

В результате было установлено следующее:

1. Длительное воздействие кавитации в режиме 5000 об/мин 10 минут приводит к повышению вязкости составов, что может быть связано с потерей воды, ввиду нагревания смеси. Для получения более структурированных и гомогенных составов может быть рекомендован режим обработки 2500 об/мин – 10 минут (образец №3) или 5000 об/мин – 2 минуты (образец №4) (Рисунок 12).

2. При изучении распределения частиц в составах МЛФ, полученных с использованием разных скоростей и времени обработки, значимых отличий в выявлено не было. По сравнению с мешалкой виброкавитационный гомогенизатор (Рисунок 13) способствует сужению диапазона распределения частиц, одновременно наблюдается увеличение доли частиц, соответствующих размерам от 0,2 до 1,5 мкм (Рисунок 14).

3. При изучении мембранной проницаемости было установлено, что использование мешалки с верхним приводом и виброкавитатора дают сопоставимые результаты.

4. После виброкавитации наблюдалась тенденция к повышению микробиологической чистоты и антимикробной активности МЛФ, что можно связать с возникающим в процессе обработки ультразвуковым воздействием.

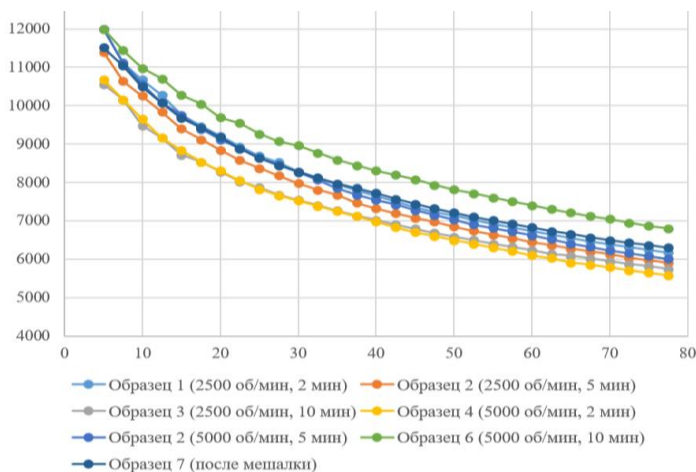


Рисунок 12 – Зависимость динамической вязкость МЛФ от скорости вращения шпинделя LV4

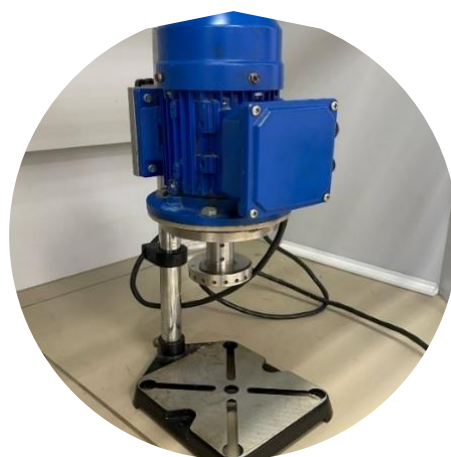


Рисунок 13 – Виброкавитационный гомогенизатор

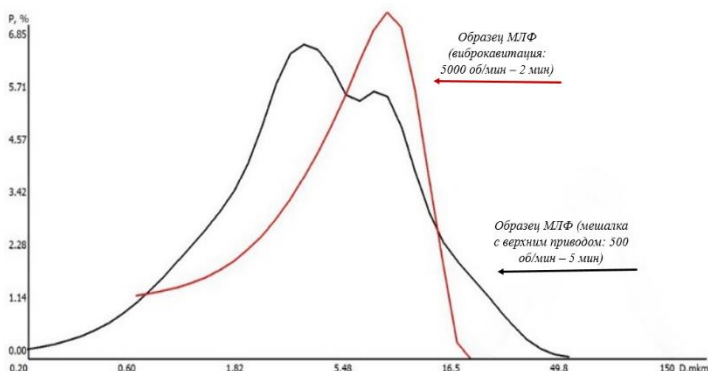


Рисунок 14 – Диаграмма распределения частиц мелоксикама в составах МЛФ

Глава 4. Разработка методик качественного и количественного анализа геля противовоспалительного

Контроль качества геля противовоспалительного был проведён на основании методик, предложенных ГФ РФ XIV издания. Ввиду различных свойств компонентов МЛФ, в частности полярности, для качественного и количественного определения компонентов были подобраны условия ВЭЖХ анализа:

Для определения мелоксикама – колонка Supelcosil C18 (250 x 4,6, 5 мкм), подвижная фаза А – 0,1% об. ТФУ в сверхчистой H₂O; подвижная фаза В – 0,1% об. ТФА в ацетонитриле класса «для ВЭЖХ», режим градиентный (Таблица 2);

Для совместной оценки аденозина и иммуномодулятора М – колонка Supelcosil LC-NH₂ (250 x 4,6, 5 мкм), подвижная фаза – 0,1% об. ТФУ в сверхчистой H₂O, режим элюирования изократический, время записи 25 минут.

Таблица 2 – Условия градиентного режима элюирования

Состав подвижной фазы, %В	Время, мин.
5	0
5	5
100	45.75
100	50
5	60
5	65

На основе результатов оценки стабильности геля в течение 1 года был предложен проект спецификации качества (Приложение А).

Глава 5. Фармакологическая оценка геля противовоспалительного

На модели экспериментального ОА было проведено два блока доклинических исследований (Рисунок 15), результаты которых позволили определить оптимальные дозировки для каждого действующего вещества, включённого в комбинацию, а также установить, что разработанный состав МЛФ по влиянию на несколько критериев обладает большей эффективностью, чем референтный препарат Амелотекс® гель 1%.

Данные о безопасности разработанного состава МЛФ были основаны на отсутствии местно-раздражающего действия при длительном нанесении.

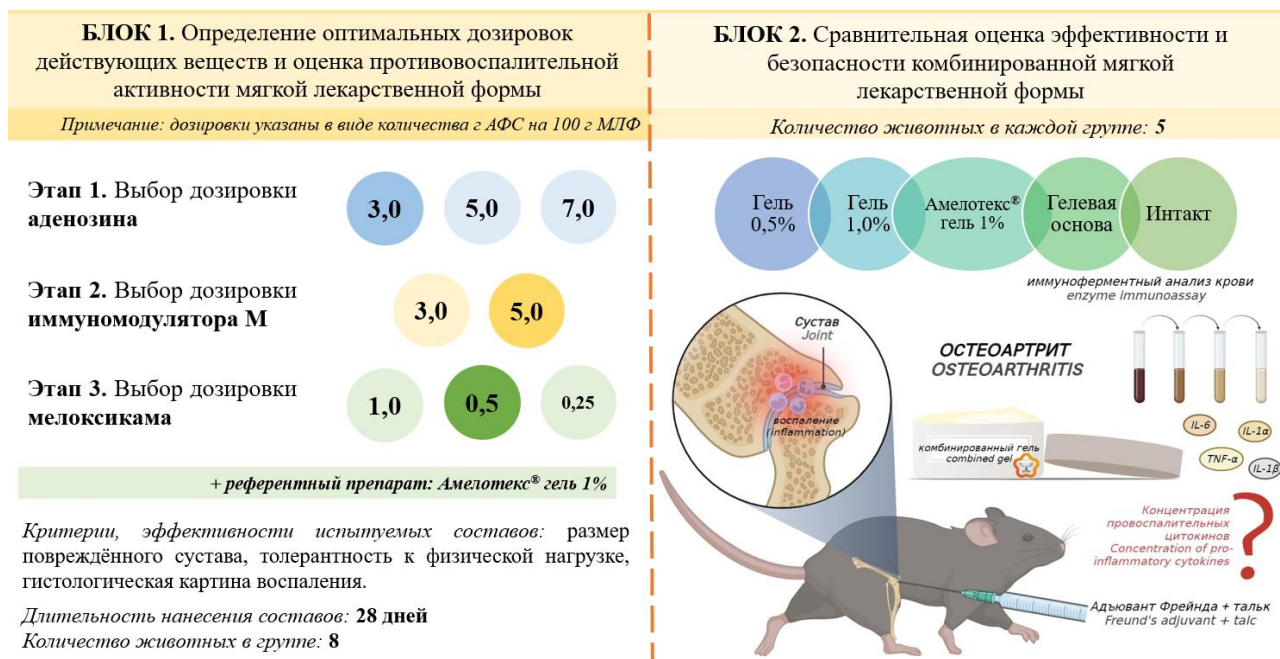


Рисунок 15 – Схема проведённых доклинических исследований

Заключение

1. В ходе работы проведено комплексное изучение физико-химических свойств АФС: мелоксикама, аденозина и иммуномодулятора М. Установлено, что вещества обладают разной растворимостью, что явилось предпосылкой к разработке комбинированной МЛФ, включающей раствор аденозина и иммуномодулятора М, а также суспензию мелоксикама.

2. Компонентный состав гелевой основы подбирался в два этапа, включающих выбор гелеобразователя, основанный на оценке органолептических свойств, рН, особенностей технологического режима, а также подбора компонентов основы, позволяющих получить структурированную систему с требуемым профилем высвобождения. В результате в качестве гелеобразователя было решено использовать природный полисахарид – альгинат натрия; пропиленгликоль был добавлен в состав в качестве компонента, отвечающего за мелкодисперсное введение мелоксикама, а также удерживания влаги, твин 80 и кремофор RH40 были необходимы для поддержания устойчивости суспензионного состава, обеспечения органолептических, структурно-механических и биофармацевтических свойств.

3. В результате исследования была разработана технология получения комбинированного геля, обеспечивающая введение каждой АФС, в соответствии с её свойствами. Нарботка образцов проводилась на базе GMP тренинг-центра СПХФУ с использованием верхнеприводной мешалки.

4. Разносторонняя сравнительная оценка аппаратурного оформления технологии геля показала, что включение стадии виброкавитации позволяет модифицировать распределение размера частиц в суспензионных составах, а также характеризуется тенденцией к повышению микробиологической чистоты. При этом влияние виброкавитации на реологические и биофармацевтические характеристики геля сопоставимы между собой, что позволяет в дальнейшем использовать оба подхода. В качестве оптимального режима виброкавитации была рекомендована двухминутная обработка составов со скоростью вращения ротора 5000 об/мин.

5. Ввиду невозможности совместного определения трёх действующих веществ, было разработано 2 методики ВЭЖХ анализа, одна из которых позволяет осуществлять качественный и количественный анализ мелоксикама, а вторая – одновременно определять аденозин и иммуномодулятор М. Результаты оценки стабильности показали, что в течении 1 года (время наблюдения) гель соответствовал всем определяемым параметрам. В результате был предложен проект спецификации качества.

6. На экспериментальной модели ОА проведена оценка эффективности разработанной комбинированной МЛФ по сравнению референтным препаратом. В результате было установлено, что по ряду показателей: толерантность к физической нагрузке, гистологическая картина воспаления и влияние на уровень провоспалительных цитокинов, испытуемый гель показал большую эффективность, что подчёркивает его перспективность для дальнейшего исследования и использования в клинической практике. Профиль безопасности геля был оценён на основе отсутствия местно-раздражающего действия при длительном применении (28 дней).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Ногаева У.В.** Оценка эффективности мягкой лекарственной формы для терапии остеоартрита: влияние на уровень провоспалительных цитокинов / У.В. Ногаева, В.Е. Ковансков, Д.Ю. Ивкин, Е.В. Флисюк, К.Д. Якимов, Е.И. Елецкая, Е.Д. Семивеличенко, В.Г. Антонов // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2023. – Т. 12, № 1. – С.195-202.

2. **Ногаева У.В.** Сравнительное изучение реологических свойств гелей и кремов на различных основах-носителях / У.В. Ногаева, А.А. Наумова, А.Г. Новиньков, Е.В. Флисюк, М.А. Буракова, А.Н. Шиков, О.Н. Абросимова // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2022. – Т. 11, № 3. – С. 121-129.

3. **Ногаева У.В.** Разработка состава и технологии комбинированного геля для терапии остеоартроза с фармакологическим обоснованием содержания компонентов / У.В. Ногаева, Ю.М. Коцур, Е.В. Флисюк, Д.Ю. Ивкин, Е.Д.

Семивеличенко, И.А. Титович, В.Г. Антонов // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2021. – Т. 10, № S4. – С. 69-78.

4. **Ногаева У.В.** Влияние виброкавитационной обработки на свойства мягкой лекарственной формы / Ногаева У.В., Якимов К.Д., Флисюк Е.В. // Сборник тезисов VIII Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и студентов с международным участием «VolgaMedScience», Нижний Новгород, 17–18 марта 2022 г. С. 666-668.

5. **Ногаева У.В.** Разработка состава и технологии мягкой лекарственной формы, обладающей противовоспалительной активностью / Ногаева У.В. Якимов К.Д. // Сборник материалов XII всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», 14 марта – 18 апреля 2022 г. – СПб: Изд-во СПХФУ, 2022. – С. 792 – 797.

6. **Ногаева У.В.** Гели на основе мелоксикама: органолептические свойства, кислотность и биодоступность *in vitro* / Ногаева У.В., Коцур Ю.М., Флисюк Е.В., Ивкин Д.Ю. // Сборник материалов Международной научно-практической конференции «Современная фармация: новые подходы в образовании и актуальные исследования», приуроченной к 30-летию Независимости Республики Казахстан, 10 февраля 2021, С. 116 – 117.

7. **Ногаева У.В.** Изучение структурно-механических свойств противовоспалительного препарата для терапии остеоартроза / Ногаева У.В., Коцур Ю.М., Флисюк Е.В. // Сборник материалов международной научно-практической конференции «Разработка лекарственных средств – традиции и перспективы», Томск, 13-16 сентября 2021 г. – Изд-во СибГМУ, 2021. – С. 31.

8. **Ногаева У.В.** Исследование физико-химических и технологических свойств мелоксикама / Ногаева У.В., Попов О.Р., Ковансков В.Е. // Сборник материалов XI всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего», Санкт-Петербург, 15 марта – 23 апреля 2021 г. – СПб: Изд-во СПХФУ, 2021 . – Т. 1., С. 202 – 206.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица – Проект спецификации качества геля противовоспалительного

№	Показатели	Методы	Нормы
1	Описание	Визуальный	Однородный, непрозрачный гель светло-жёлтого цвета с зеленоватым оттенком и слабым запахом эфирных масел
2	Подлинность	ВЭЖХ	Время удерживания пиков геля противовоспалительного должно соответствовать временам удерживания стандартных образцов мелоксикама ($29,36 \pm 0,02$), аденозина ($2,5 \pm 0,1$) и иммуномодулятора М ($3,5 \pm 0,1$)
3	Масса содержимого упаковки	ГФ РФ	В соответствии с требованиями ОФС.1.4.2.0007.15
4	Водородный показатель (рН)	ГФ РФ	От 5,5 до 7,0
5	Размер частиц суспензионной фазы	Метод лазерной дифракции или микроскопически	Не более 100 мкм
6	Микробиологическая чистота	ГФ РФ	Вторая категория чистоты, соответствующая препаратам местного применения.
7	Количественное определение	ВЭЖХ	Содержание мелоксикама должно быть от 0,4975 до 0,5025 в 100,0 геля Содержание аденозина должно быть от 2,997 до 3,003 в 100,0 геля Содержание иммуномодулятора М должно быть от 4,995 до 5,005 в 100,0 геля
8	Упаковка	По 20, 30 и 50 г. геля в тубы алюминиевые. Каждую тубу вместе с инструкцией по применению помещают в пачку из картона.	
9	Маркировка	В соответствии с НД	
10	Срок годности	1 год	