

На правах рукописи



Рытченков Сергей Витальевич

**ФАРМАКО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАТФОРМА И НОРМЫ КАЧЕСТВА
БИОДЕГРАДИРУЕМОЙ АППЛИКАЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ
ФОРМЫ НА БАЗЕ ХИТОЗАНА И ПУТИ ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

Диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Волгоград – 2024

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Степанова Элеонора Федоровна доктор фармацевтических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Егорова Светлана Николаевна доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора Института фармации по образовательной деятельности

Шпрах Зоя Сергеевна

доктор фармацевтических наук, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, ведущий научный сотрудник лаборатории химико-фармацевтического анализа

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «19» декабря 2024 года в 16.00 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, вн.тер.г. муниципальный округ Аптекарский остров, 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 (<http://dissovet.spcpu.ru>).

Автореферат разослан «___» _____ 20__ г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.063.01,
кандидат фармацевтических наук, доцент



Орлов А.С.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Современный период в фармации характеризуется особой значимостью лекарственных форм (ЛФ), их выраженной принадлежностью к эффективности и безопасности лекарственных средств (ЛС), а также способностью к расширению диапазона их использования. К таким ЛФ относятся аппликационные лекарственные формы (АЛФ). В настоящее время эта объемная группа объединяет ЛФ для перорального, букального, назального, ректального, вагинального путей введения. АЛФ обеспечивают как системное, так и местное воздействие на организм лекарственных веществ (ЛВ), способны придавать им контролируемость высвобождения и пролонгировать действие ЛС.

Если рассматривать АЛФ с позиции широты их использования, то в этом отношении выделяются пленки и гели, которые наиболее распространены в медицине и фармации. Данные ЛФ обладают достоинствами, которые сделали их привлекательными для использования в различных направлениях медицинской практики.

Так, помимо традиционных путей использования в стоматологии, дерматологии, косметологии, офтальмологии, гинекологии АЛФ начали успешно применяться в хирургической практике, как вспомогательные средства при операционных вмешательствах, в том числе в качестве барьерных средств для изолирования оперируемой области и стимулирования процессов ранозаживления.

Однако при использовании АЛФ в хирургии на сегодняшний день есть ряд нерешенных вопросов: состав используемых АЛФ – полимеры, образующие их основу, должны обладать биосовместимостью, биоразлагаемостью, мукоадгезивными свойствами, низкой иммуногенностью, и быть технологически доступными.

Не рассматривается вопрос комбинации АЛФ в случае их использования при операциях на кишечнике. Таким образом, дальнейшее рассмотрение и подробный анализ возможностей создания оптимальных лекарственных

композиций на базе АЛФ с целью эффективного их применения в хирургии, конкретно при операциях на кишечнике, целесообразно и своевременно.

Степень разработанности темы исследования

В настоящее время в медицине и фармации активно ведутся разработки в области АЛФ на основе агара, желатина, хитозана, гиалоурановой кислоты, пектина, натрия альгината, производных целлюлозы, поли(мет)акриловой кислоты и коллагена.

Данные полимерные композиции возможно использовать при получении АЛФ для использования в хирургической практике.

Известен «Способ получения хирургического барьерного материала на основе полисахаридов». Хирургический барьерный материал в форме криогеля обладает биосовместимыми свойствами и позволяет предупреждать образование спаек в эксперименте *in vivo*. Так же известен «Способ получения противоспаечного пленочного материала на основе производных целлюлозы». В настоящее время в России зарегистрировано единственное средство отечественного производства в виде геля карбоксиметилцеллюлозы «Мезогель» (ООО «Линтекс», Россия), которое возможно для применения при операциях на органах брюшной полости и органов малого таза. АЛФ зарубежного производства на основе как природных, так и синтетических биосовместимых полимеров были одобрены для клинического применения и активно используются в хирургии за рубежом, такие как Seprafilm, Interceed, Adept и КолГАРА. Однако нельзя игнорировать тот факт, что эти материалы не обладают абсолютной эффективностью, а также они создают определенные риски безопасности или имеют побочные эффекты. Более безопасные и эффективные АЛФ для использования при операциях на кишечнике нуждаются в дальнейшем изучении.

Цель исследования

Разработка технологии получения и норм качества комбинированной аппликационной лекарственной формы – геля и пленки на основе хитозана и подтверждение ее эффективности.

Задачи исследования

1. Подобрать оптимальный состав компонентов пленки для создания оригинальной аппликационной лекарственной формы.
2. Разработать технологию и провести анализ качества пленки на основе биodeградируемых полимеров.
3. Получить мукоадгезивный гель и провести анализ его качества.
4. Провести биофармацевтические исследования аппликационной лекарственной формы.
5. Оценить эффективность аппликационной лекарственной формы в эксперименте *in vivo*.
6. Разработать и апробировать подтверждающие целесообразность создания комбинированной лекарственной формы нормативные документы.

Научная новизна исследования

Данная разработка впервые выполнена из биодергадируемых полимерных материалов, в результате чего получена комбинированная АЛФ, которая имеет только одну клеящую сторону и может применяться при операциях на внутренних органах. Компоненты безопасны, имеют удобную лекарственную форму, естественным путем разлагаются в организме. Необходимость разработки данной ЛФ обоснована отсутствием комбинированных АЛФ, возможных для использования в абдоминальной хирургии отечественного производства. Впервые предложена комбинация из двух ЛФ, для которых разработаны соответствующие технологические схемы и нормы качества.

В ходе работы был впервые подобран оптимальный состав пленок для АЛФ. В качестве пленкообразующих биodeградируемых полимеров были выбраны хитозан и желатин в соотношении пленкообразующих растворов 0,75:1,25. Использование хитозана и желатина обеспечивает экономичность производства АЛФ, так как эти компоненты доступны в Российской Федерации и имеют низкую стоимость по сравнению с другими полимерами. Проведены сравнительные исследования, подтвердившие необходимость введения в состав АЛФ хитозана, улучшающего технологические пленок. В качестве мукоадгезивного геля был выбран раствор Na-КМЦ 1,5%, который

продемонстрировал мукоадгезивные и осмотические свойства в эксперименте *in vitro*. Предложена технологическая схема получения комбинированной АЛФ.

Впервые предложены критерии стандартизации комбинированной АЛФ, включающие такие показатели как: описание, размер пленки, рН раствора, распадаемость, потеря в массе при высушивании, однородность массы, стерильность, структурно-механические свойства и индекс набухания пленок, герметичность упаковки, рН, масса содержимого упаковки, стерильность мукоадгезия и осмотические свойства гелей.

Были проведены биофармацевтические исследования: время биodeградации в эксперименте *in vitro* и *in vivo*, конъюнктивальная проба, накожный и внутрикожный тесты АЛФ, которые свидетельствуют о безопасности разработанной АЛФ. Также была определена безопасность АЛФ, которая свидетельствует о том, что разработанная ЛФ относится к классу 4 - малоопасные вещества.

Впервые было изучено влияние АЛФ на послеоперационный спаечный процесс в эксперименте *in vivo*. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что применение АЛФ для изолирования кишечного анастомоза предотвращает образование послеоперационных спаек.

Разработаны и подготовлены к апробации нормативные документы, определяющие практическую значимость предложенной композиции, а также конкретную её перспективность в отношении внедрения.

Новизна и приоритеты проведенных исследований подтверждены патентом Российской Федерации на изобретение RU 2796007 C1 от 16.05.2023 «Композиция для изолирования кишечного анастомоза и предотвращения послеоперационного спаечного процесса».

Теоретическая и практическая значимость работы, внедрение результатов исследования

Теоретически обосновано совместное использование биodeградируемой пленки и мукоадгезивного геля. Вязкий гель на основе раствора Na-КМЦ 1,5% имеет высокую адгезивную способность к влажным тканям, а также препятствует

выходу экссудата за счет разветвленной полимерной структуры. Гель проникает в проколы от хирургической иглы и в разрез ткани, обеспечивая их герметизацию. Пленка изолирует нанесенный гель, препятствует его миграции с места нанесения, физически отделяет кишечный анастомоз и предупреждает образование спаек, способствует пролиферации и заживлению раны в изолированных условиях.

Разработан и утвержден лабораторный регламент на производство АЛФ. Приведенная технологическая схема позволяет получить АЛФ, которую возможно использовать в хирургической практике при операциях на кишечнике. Получен Акт апробации лабораторного регламента на производство комбинированной АЛФ на оборудовании ООО «Миравита» (акт от 19.04.2024). Сделано заключение о возможности внедрения технологии разработанной АЛФ в производственный процесс предприятия.

Представленные методики стандартизации пленок на основе хитозана и мукоадгезивного геля позволят осуществлять контроль качества изготовленной АЛФ.

Технология получения АЛФ, методики стандартизации и результаты исследования эффективности применения используются в учебной и научно-исследовательской работе кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии ПМФИ – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (акт от 15.04.2024), а также кафедры фармацевтической технологии и биотехнологии ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России (акт от 15.04.2024). Получен патент на изобретение «Комплекс для изолирования кишечного анастомоза и предотвращения послеоперационного спаечного процесса» (RU 2796007 C1 от 16.05.2023).

Методология и методы исследования

Методология разработки комбинированной АЛФ, состоящей из биodeградируемой пленки на основе хитозана и желатина и адгезивного геля на основе 1,5% раствора Na-КМЦ обоснована научной концепцией, включающей теоретический, технологический, биофармацевтический, аналитический и

фармакологический блоки, логическую их последовательность и взаимосвязь, что в полной мере отражено в диссертационном исследовании. Для решения поставленных задач применены методы, фармацевтической технологии и анализа, биофармацевтические методы в эксперименте *in vitro*. Для определения эффективности разработанной АЛФ проведены фармакологические испытания *in vivo* на модели кишечного анастомоза.

С целью выбора оптимального состава полимерной пленки проводили эксперимент, состоящий из двух этапов. На первом этапе критериями отбора экспериментальных образцов являлись результаты оценки внешних характеристик полученных пленок: однородность, отсутствие микротрещин и разрывов, полное отклеивание от пластиковой подложки без разрыва и повреждения пленки. На втором этапе отбора оптимального состава полимерной пленки была проведена оценка следующих технологических параметров: толщина, прочность на разрыв, удлинение при разрыве, индекс набухания. Эти критерии были определены опытным путем, они являются важными для биофармацевтической оценки АЛФ в виде пленки. Анализ технологических параметров пленок проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопей Российской Федерации XV издания (ГФ РФ XV). С целью определения безопасности, разработанной АЛФ были проведены биофармацевтические исследования. Для всех данных применяли описательную статистику, рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение среднего. Для сравнения двух выборок проводили расчет с использованием критерия Манна-Уитни. Для выявления достоверности различий при множественном сравнении был использован однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA с поправкой Тьюки) для группового сравнения. Полученные результаты считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Статистическая обработка результатов была проведена с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, GraphPad Prism 8.

Положения, выносимые на защиту

1. Результаты анализа сведений из источников литературы, касающихся АЛФ, их значимости, технологии и возможностей использования.
2. Результаты исследований по разработке технологии и биофармацевтического изучения пленки и геля.
3. Результаты исследований по стандартизации предложенных АЛФ.
4. Результаты исследований в отношении эффективности и безопасности предложенных АЛФ.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Научные результаты и выводы, приведенные в диссертации, основываются на экспериментальных данных, выполненных и представленных в работе. Их достоверность подтверждается объемом информационной базы, широтой проведенных исследований, использованием современных методов анализа, математическими методами исследований и статистической обработки данных в соответствии с ГФ РФ XV.

Основные положения диссертации представлены и доложены на следующих конференциях: 78-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (г. Волгоград, 2020), Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук» (г. Иркутск, 2020), 75-й Международной научно-практической конференции студентов-медиков и молодых ученых «Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования» (г. Самарканд, Узбекистан, 2021), 79-й Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (г. Волгоград, 2021), «XXV Региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области» (г. Волгоград, 2021), «XXVI региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области» (г. Волгоград, 2021), «XXVIII региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области» (г. Волгоград, 2022), «XXVIII региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области» (г. Волгоград, 2022), «XXVIII региональной конференции молодых ученых и исследователей Волгоградской области» (г. Волгоград, 2022).

области» (г. Волгоград, 2023), XI Международной научно-практической конференции «Беликовские чтения» (г. Пятигорск, 2023).

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук

Диссертационная работа выполнена в соответствии с НИОКТР Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации №121082500130-5: Разработка новых и совершенствование существующих лекарственных препаратов природного и синтетического происхождения.

Личный вклад автора в проведенное исследование и получение научных результатов

Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления и объектов исследования, постановке цели и задач, проведении эксперимента, обобщению полученных данных и их статистической обработке. Доля участия в объеме проведенной работы составляет не менее 90%.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертации соответствуют паспорту специальности 3.4.1 – Промышленная фармация и технология получения лекарств. Результаты проведенных исследований соответствуют пунктам 2 и 3 паспорта научной специальности 3.4.1 – Промышленная фармация и технология получения лекарств, а именно пунктам:

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 диссертационной работы опубликовано 12 научных работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций. Получен патент РФ на изобретение

Объем и структура диссертации

Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и 7 приложений. Работа изложена на 144 страницах, включает 22 рисунка и 28 таблиц. Список литературы содержит 150 источников, в том числе 39 на иностранном языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

Обзор литературы посвящен современному состоянию исследований аппликационных лекарственных форм (АЛФ). За последнее десятилетие отмечается особый «всплеск» исследований в отношении этой группы. Общий ассортимент АЛФ увеличился: появились разнообразные исследования в области пленок и гелей. В литературе показаны достаточно широкие возможности их использования в самых различных научных направлениях. Рассмотрены различные варианты их конструирования на базе высокомолекулярных соединений. При этом преимущества отмечались для хитозана и желатина, как биodeградируемых барьерных полимеров. Однако, несмотря на достаточно объемные и разноплановые исследования в отношении современных аппликационных лекарственных форм, их исследование в некоторых научно-практических направлениях рассматриваются недостаточно: это, прежде всего, хирургическое направление, в частности предупреждение послеоперационного спайкообразования и изоляция зоны дигестивного анастомоза. Поэтому выбранная нами тема диссертационной работы вполне обоснована и целесообразна.

Глава 2. Материалы и методы

На основании математического анализа данных, компьютерного моделирования, систематизации источников литературы, печатных работ и патентных документов для проведения эксперимента в качестве биodeградируемых пленкообразователей были выбраны хитозан и желатин, в качестве основы мукоадгезивного геля – Na-КМЦ. Также известно, что данные полимеры могут быть использованы в технологии получения АЛФ, поскольку они имеют важные технологические свойства, такие как: геле- и пленкообразование, мукоадгезия, а также они могут быть использованы при операциях на органах брюшной полости, поскольку являются биосовместимыми, обладают низкой иммуногенностью, не вызывают новой или дополнительной воспалительной реакции, биodeградируемы в течение 3-5 суток.

Критериями выбора оптимального состава пленок являлись удовлетворительные структурно-механические свойства, соответствующие зарубежным аналогам. Толщину пленок измеряли микрометром не менее чем в пяти различных участках пленки и выражали в мкм, за окончательный результат принимали среднее значение. Структурно-механические свойства – предел прочности при растяжении и удлинение при разрыве определяли на универсальной разрывной машине. Определение индекса набухания пленок проводили, помещая образцы в чашки Петри, содержащие 25 мл воды очищенной, и анализировали количество влаги, которое поглотили пленки.

С целью выбора состава мукоадгезивного геля проводили исследования мукоадгезии и осмотической емкости композиций. Осмотические свойства гелей изучали по количеству влаги, которое способны поглотить образцы, помещенные на целлофан марки «Купрофан», фиксированный на диализной трубке.

Разработанную АЛФ подвергали контролю качества по общепринятым показателям для пленок ОФС. 1.4.1.0035 «Пленки». Испытания гелей проводили в соответствии с ОФС.1.4.1.0008 «Мягкие лекарственные формы». Проводились дополнительные испытания мукоадгезии и осмотических свойств гелей.

Проводили изучение биодegradации АЛФ в эксперименте *in vitro*. Были оценены показатели безопасности АЛФ с помощью биофармацевтических испытаний. Проводилась оценка местнораздражающего действия АЛФ. С целью изучения изолирующего действия АЛФ *in vivo* была реализована экспериментальная модель, включающая проведение стандартной хирургической операции по наложению тонкокишечного анастомоза на 24 самцах беспородных кроликов массой $2,5 \pm 0,2$ кг.

Для всех данных применяли описательную статистику, рассчитывали среднее значение и стандартное отклонение среднего ($M \pm m$). Для сравнения двух выборок проводили расчет критерия Манна-Уитни. Для выявления достоверности различий при множественном сравнении был использован однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA с поправкой Тьюки) для группового сравнения. Полученные результаты считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Глава 3. Разработка технологии получения пленки и геля

С целью подбора состава основы для разрабатываемых пленок и гелей был использован метод компьютерного моделирования. Анализ массива молекулярных дескрипторов методом кластерного анализа (метод k-средних) позволил с высокой степенью достоверности подобрать полимеры, которые могли бы обеспечивать мукоадгезию АЛФ (таблица 1).

Таблица 1 – Физико-химические дескрипторы компонентов АЛФ

№	Название	Ip	НОМО	LUMO	$E_{LUMO} - E_{НОМО} (\eta)$	$(E_{НОМО} + E_{LUMO})/2 (\mu)$	$\omega_g = \mu^2/2\eta$
1	Альгиновая кислота	9.965	-9.965	0.003	9.968	4.984	1.246
2	Желатин	9.853	-9.854	0.889	10.743	5.371	1.343
3	Карбоксиметилцеллюлоза	8.932	-8.933	0.275	9.208	4.604	1.151
4	Метилцеллюлоза	8.909	-8.909	1.533	10.442	5.221	1.305
5	Поливиниловый спирт	10.123	-10.123	2.222	12.345	6.172	1.543
6	Хитозан	9.398	-9.399	0.536	9.935	4.967	1.242

На основании компьютерного моделирования был выбран 21 состав экспериментальных образцов, представляющий собой различные сочетания высокомолекулярных веществ и дальнейшее их поэтапное исследование. В качестве основы для изготовления биодegradируемых пленок были выбраны

высокомолекулярные вещества: желатин, хитозан, производные целлюлозы и поливиниловый спирт. С целью придания пленкам пластичности использовали глицерин. Для получения каждого экспериментального образца готовили раствор высокомолекулярных веществ в соответствии со свойствами входящих компонентов. Полученные однородные прозрачные смеси разливали в пластиковые формы площадью 80 см² в количестве достаточном для образования высоты раствора в форме 0,5 см и высушивали в камере постоянных условий при температуре 25 °С и 45% влажности до остаточной влаги пленки 4,7%.

На первом этапе были проведены оценка внешних характеристик образцов пленок. Результатом этой оценки стало выбор пяти составов, информация о которых представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Составы образцов, отобранные на первом этапе

№ образца	Состав экспериментального образца, %
6	Желатин 10 Глицерин 1 Вода очищенная 89
10	Na-КМЦ 1 Глицерин 0,5 Вода очищенная 98,5
13	МЦ 1 Глицерин 0,5 Вода очищенная 98,5
20	Желатин 6,25 Хитозан 0,375 Уксусная кислота 1% 37,5 Вода очищенная 62,5
21	Желатин 5,0 Хитозан 0,5 Уксусная кислота 1% 50 Вода очищенная 50

На втором этапе отбора оптимального состава полимерной пленки была проведена оценка следующих технологических параметров: толщина, прочность на разрыв, удлинение при разрыве, индекс набухания. По результатам проведенных испытаний был выбран образец №20. Результаты определения структурно-механических свойств данного образца в сравнении с клинически используемыми Seprafilm и Interseed представлены в таблице 3. Полученные данные свидетельствуют о достаточной механической прочности, эластичности, влагопоглощении пленки по сравнению с клинически используемыми пленками.

Таблица 3 – Результаты определения структурно-механических свойств пленок

Определяемый показатель	Seprafilm	Interceed	Состав №20
Толщина пленок, мкм	50,01±0,2	68,2±0,2	113,7±0,2
Предел прочности при растяжении, Н/мм ²	32,02±0,3	73,65±0,3	36,03±0,3
Удлинение при разрыве, %	1,8±0,2	4,07±0,2	25,2±0,2
Индекс набухания, %	3,1±0,03	3,4±0,03	3,45±0,03

Для выбора геля, обладающего максимальными влагопоглощающими свойствами и мукоадгезией, получали композиции Na-КМЦ, Na-альгината, в концентрациях 0,5%, 1%, 1,5% и хитозана 3%, 4% и 5%. В ходе проведенных исследований емкости гелей было установлено, что наиболее высокой емкостью обладает 1,5% гель на основе Na-КМЦ, способный поглотить до 12,56±0,06% влаги от собственной массы. Было проведено сравнение осмотической емкости клинически используемых средств, накладываемых на КА с целью поглощения экссудата и полученных гелей. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Сравнение осмотической емкости средств

№ п/п	Наименование средства	Осмотическая емкость
1	Фибрин-коллагеновая губка (1 см ²)	10,0±0,03 %
2	Латексный тканевой клей	12,0±0,04 %
3	Гель Na-КМЦ (1,5 %)	12,56±0,06 %
4	Гель Na-альгинат (1,5 %)	10,20±0,06 %
5	Гель Хитозан (5,0 %)	9,40±0,06 %

С целью определения времени удержания на месте наложения АЛФ навески гелей массой 1,0 г наносили на пленки однородным слоем. АЛФ накладывали на КА экспериментальной модели. Таким образом, АЛФ на основе геля хитозана (5,0%) мигрировала с места наложения через 30±0,25 ч., гели Na-КМЦ (1,5%) и Na-альгината (1,5%) теряли адгезивные свойства течение 32±0,57 и 24±0,73 часов соответственно, в результате чего АЛФ мигрировала с отмеченного места наложения. В ходе проведенных исследований было установлено, что гель Na-КМЦ (1,5%) обладает наиболее высокими значениями емкости, обуславливающими возможность поглощения до 12,56±0,06% влаги, а также удовлетворительными адгезивными свойствами и может быть в дальнейшем использован для изолирования КА.

С целью получения пленок использовали метод выливания, поскольку после испарения растворителей формируются полимерные пленки. Технология данного

метода включает в себя: приготовление растворов полимеров с использованием необходимых растворителей, выливание пленкообразующего раствора в пластиковую подложку, высушивание с целью удаления растворителей, в результате чего образуются эластичные пленки. АЛФ должна быть изготовлена в асептических условиях, в зоне типа А в соответствии с ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств». После получения раствора пленкообразователя его стерилизовали с применением мембранных фильтров с размером пор 0,22 мкм, а также УФ-облучением в течение 30 мин. Технологическая схема получения пленки представлена на рисунке 1.

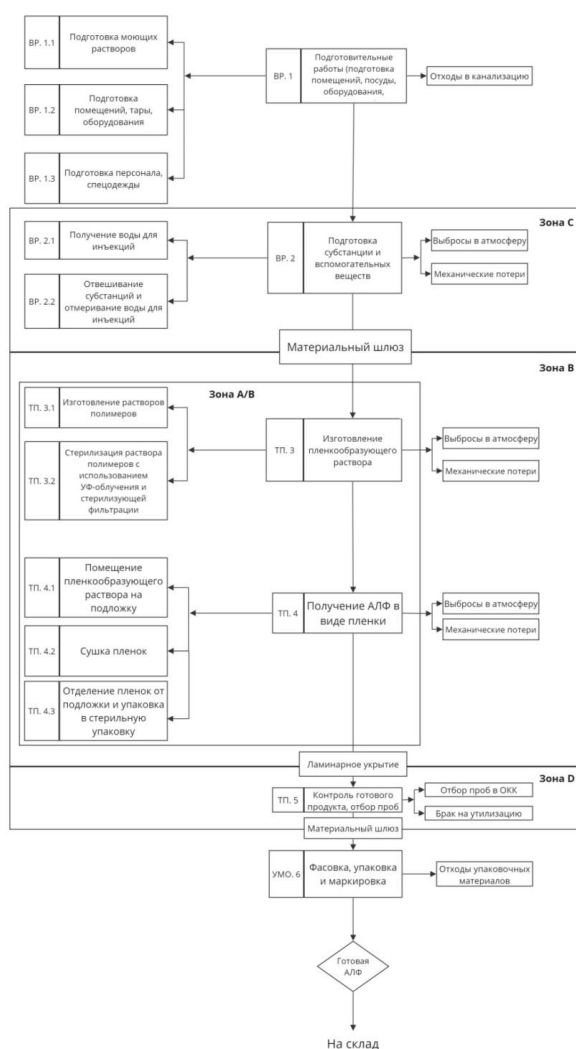


Рисунок 1 – Технологическая схема получения пленки на основе хитозана и желатина

В качестве основы для получения мукоадгезивного геля использовали Na-КМЦ в концентрации 1,5%. Гель получали в асептических условиях, в зоне типа

А в соответствии с ГОСТ Р 52249-2009 «Правила производства и контроля качества лекарственных средств» по следующей методике: к навеске Na-КМЦ 1,5 г прибавляли 50 мл воды для инъекций и оставляли для набухания в течение 60 мин., затем добавляли оставшиеся 50 мл воды для инъекций, перемешивали на планетарной мешалке со скоростью 300 об/мин. при нагревании до 50°C и УФ-облучении в течение 60 мин. до получения однородного геля. Технологическая схема получения геля представлена на рисунке 2.

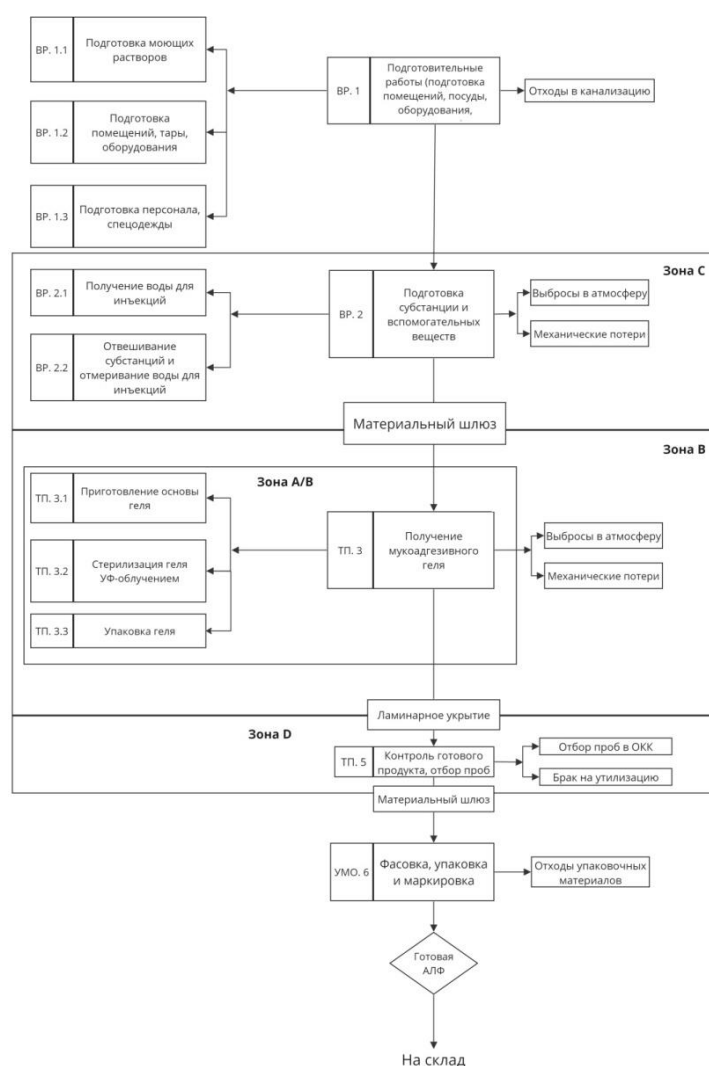


Рисунок 2 – Технологическая схема получения мукоадгезивного геля

Были установлены критические показатели качества, выведенные из целевого профиля качества ЛФ, при обязательном соблюдении в процессе производства, которых будет получена ЛФ надлежащего качества. Критическими технологическими стадиями производства пленок являются: ТП 3.1 Изготовление пленкообразующего раствора, ТП 4.2 Получение АЛФ в виде пленки.

Критической технологической стадией производства геля является: ТП 3.1 Изготовление основы геля.

Глава 4. Стандартизация комбинированной аппликационной лекарственной формы

Комбинированная АЛФ представляет собой пленку на основе полимерных материалов и гель, поэтому основными критериями их качества может служить пункты ОФС. 1.4.1.0035 «Пленки» ГФ РФ XV, ОФС.1.4.1.0008 «Мягкие лекарственные формы». Также для пленок важными показателями качества являются, структурно-механические свойства и индекс набухания, а для гелей мукоадгезивные и осмотические свойства. В результате проведенных исследований были сформированы требования по критериям качества для разработанной АЛФ, а также составлен проект спецификации АЛФ (таблица 5).

Таблица 5 – Проект спецификации норм качества АЛФ

Наименование показателя	Методика определения	Требование	Характеристика АЛФ
Описание	Визуальный, органолептический, ГФ РФ XV ОФС.1.4.1.0035, ОФС.1.4.1.0008	Пленка – гибкая пластинка бледно-желтого цвета с ровной, гладкой, глянцевой поверхностью, полупрозрачная в проходящем свете Гель – прозрачная, вязкая масса, без запаха и признаков физической нестабильности	Соответствует
Размеры пленки	Площадь (S), см ² измеряют штангенциркулем, толщину микрометром (h), мкм	Соответствует размеру формы, используемой в процессе получения пленки	При использовании формы 80 см ² : S=80±0,1 H=113,7±0,2
Распадаемость пленок, ч.	В среде лизоцима 10 мк/мл ГФ РФ XV ОФС.1.4.2.0013, метод 2	Не менее 72 ч	72 ± 0,3 ч
Потеря в массе при высушивании, %	ГФ РФ XV ОФС.1.2.1.0010	Не более 4,7 %	4,65 ± 0,01%
Однородность массы пленок, г	ГФ РФ XV ОФС.1.4.2.0009	Отклонение не более ±10 % от средней массы	0,9 ± 0,01
Прочность на разрыв, Н/мм ²	На универсальной разрывной машине определяют силу необходимую для разрыва	Не менее 36	36,3±0,3

Наименование показателя	Методика определения	Требование	Характеристика АЛФ
	фрагмента пленки		
Удлинение при разрыве пленки, %	На универсальной разрывной машине определяют растяжение при разрыве пленки	Не менее 25	$25,5 \pm 0,2$
Индекс набухания пленки, %	Определение отношения массы фрагмента пленки 1 см^2 до и после смачивания водой	Не менее 3,45	$3,5 \pm 0,03$
Герметичность упаковки гелей	ГФ РФ XV ОФС.1.4.2.0025	Ни на одном из 10 образцов не должно быть подтеков содержимого упаковки	Соответствует
pH гелей	ГФ РФ XV ОФС.1.2.1.0004	6,5–7,0	$6,6 \pm 0,1$
Масса содержимого упаковки гелей, г	ГФ РФ XV ОФС.1.4.2.0007	Не менее 1,0	$1,1 \pm 0,02$
Время адгезии, ч	Измеряют время удержания фрагмента пленки $90 \times 10 \text{ мм}$ с нанесенным 0,1 г геля в среде БРФNa на модели анастомоза свиного кишечника	Не менее 32 ч	$32 \pm 0,57$
Сила адгезии, Н	Измеряют силу отрыва АЛФ от свиного кишечника	Не менее 0,73	$0,74 \pm 0,05$
Стерильность	ГФ РФ XIV ОФС.1.2.4.0003.15	Стерильная ЛФ	Соответствует
Упаковка	Пленки – в стерильную многослойную полипропиленовую пленку. Гель – в стерильные шприц-апликаторы и в стерильную пленку		Соответствует
Маркировка	В соответствии с НД		
Хранение	В сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре		
Срок годности	1 год		

Проводился анализ технологических и микробиологических показателей разработанной АЛФ 5 серий по 6 образцов в каждой. Было установлено, что АЛФ соответствует указанным показателям в течение 1 года.

Глава 5. Определение безопасности и эффективности разработанной аппликационной лекарственной формы

В ходе проведенных исследований было установлено, что разработанная АЛФ, помещенная в плазму крови свиньи, полностью теряет целостность в течение $136 \pm 0,42$ ч. эксперимента. Согласно классификации токсичности химических веществ, АЛФ относится к 4 классу – малоопасные вещества, также разработанная АЛФ не обладает раздражающим действием. Результаты

исследования противоспаечной активности разработанной АЛФ по шкале интенсивности (E. Shahram, 2013) в баллах представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Результаты морфологической оценки спаечного процесса

№ животного	Группы / интенсивность спайкообразования (баллы)			
	Контроль	АЛФ	Seprafilm	КолГАРА
1	3	0	2	1
2	3	0	1	1
3	3	0	1	1
4	3	0	0	0
5	4	1	0	0
6	4	1	0	0
Средняя оценка	3,33±0,21*	0,33±0,21*#	0,66±0,33*#	0,5±0,22*#

Примечание: * – различия между группами статистически значимы при $p < 0,05$, # – различия между группами статистически не значимы при $p < 0,05$

В результате проведенных исследований было установлено, что различия между группами животных в отношении интенсивности развития спаечного процесса статистически значимы. Эффективность разработанной АЛФ соответствует клинически используемым средствам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В ходе работы был подобран оптимальный состав пленок для АЛФ. В качестве пленкообразующих, биodeградируемых растворов полимеров были выбраны хитозан и желатин в соотношении 0,75:1,25. Проведены сравнительные исследования, подтвердившие преимущества и необходимость введения в состав АЛФ хитозана. В качестве мукоадгезивного геля был выбран раствор Na-КМЦ 1,5 %, который продемонстрировал наибольшие мукоадгезивные и осмотические свойства в эксперименте *in vitro*. Полученные результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о перспективности разработки комбинированной АЛФ и ее совершенствовании в отношении таргетного пролонгированного высвобождения и, соответственно, введения в состав антибактериальных компонентов.

2. Разработан состав гелей и пленок на базе хитозана и предложены соответствующие технологические схемы.

3. Предложены нормы качества комбинированной АЛФ, включающие показатели для пленок: описание, размер пленки, рН раствора, распадаемость, потеря в массе при высушивании, однородность массы, стерильность, а также

проводили дополнительные испытания структурно-механических свойств и индекса набухания пленок. Испытания гелей проводили в соответствии по показателям: описание, герметичность упаковки, рН, масса содержимого упаковки, стерильность, а также проводились дополнительные испытания мукоадгезии и осмотических свойств гелей.

4. Были проведены биофармацевтические исследования: время биодegradации в эксперименте *in vitro* и *in vivo*, конъюнктивальная проба, накожный и внутрикожный тесты АЛФ, которые свидетельствуют о безопасности разработанной ЛФ. Также была определена безопасность АЛФ, которая свидетельствует о том, что разработанная ЛФ относится к классу 4 - малоопасные вещества

5. В ходе исследования эффективности аппликационной лекарственной формы в эксперименте *in vivo* было установлено, что разработанная АЛФ может применяться при хирургических операциях на кишечнике. Результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что применение АЛФ для изолирования кишечного анастомоза предупреждает образование послеоперационных спаек.

6. Разработаны и апробированы нормативные документы – акты апробации на производстве и лабораторный регламент.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК РФ

Минобрнауки

1. Рытченков, С.В. Фармацевтическая разработка адгезивного геля на базе биодegradируемого природного комплекса / С.В. Рытченков, С.В. Поройский, Э.Ф. Степанова, Т.Ю. Татаренко-Козьмина, А.П. Плетень // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2024. – Т. 27, № 5. – С. 23-30.

2. Струсовская, О.Г. Разработка технологии биодegradируемой мембраны для предотвращения развития перитонеальных спаек / О.Г. Струсовская, С.В. Рытченков // Фармация. – 2023. – Т. 72, № 4. – С. 45-49.

3. Рытченков, С.В. Подбор оптимального состава адгезивной пленки на основе полимерных материалов для использования в абдоминальной хирургии / С.В. Рытченков, С.В. Поройский, О.Г. Струсовская // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2020. – № 3. – С. 54-56.

Статьи в иных журналах и сборниках материалов конференции

4. Современное состояние исследований получения аппликационных лекарственных форм / С.В. Рытченков, Э.Ф. Степанова, С.В. Поройский, В.Ю. Рытченкова // Научный аспект. – 2024. – Т. 22, № 3. – С. 2738-2752.

5. Рытченков, С.В. Разработка методики изучения адгезивных свойств биodeградируемых мембран на модели кишечного анастомоза *in vitro* / С. В. Рытченков // XXVIII региональная конференция молодых учёных и исследователей Волгоградской области. Сборник статей. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2024. – С. 469-473.

6. Рытченков, С.В. Определение механических свойств биodeградируемых мембран на основе хитозана / С.В. Рытченков // XXVI региональная конференция молодых ученых и исследователей Волгоградской области. Сборник статей. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2023. – С. 421-425.

7. Рытченков, С.В. Определение времени жизни биodeградируемых мембран на основе желатина и хитозана в эксперименте *in vitro* на модели поллой силиконовой трубки / С.В. Рытченков, Р.Д. Данилов, Ю.А. Шульгина // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук. Сборник статей Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием – Иркутск: Иркутский государственный медицинский университет, 2021. – С. 103-104.

8. Рытченков, С.В. Изучение влияния остаточной влаги на качество желатиновых мембран / С.В. Рытченков // XXV Региональная конференция молодых учёных и исследователей Волгоградской области. Материалы конференции. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2021. – С. 159-160.

9. Рытченков, С.В. Определение оптимальной влажности биodeградируемой мембраны на основе полимерных компонентов / С.В. Рытченков // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. Сборник 79-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2021. – С. 130.

10. Определение оптимальных условий высушивания биodeградируемых мембран на основе желатина и хитозана / С.В. Рытченков, Е.А. Аваньесова, Т.А. Гиляева, Е.А. Артемова // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук. Сборник статей Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием. – Иркутск: Иркутский государственный медицинский университет, 2021. – С. 66-68.

11. Рытченков, С.В. Получение пленки для возможного применения в хирургической практике / С.В. Рытченков, С.О. Лебединский, В.В. Срахов // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. Материалы 78-й международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов. – Волгоград: Волгоградский государственный медицинский университет, 2020. – С. 266.

12. Рытченков, С.В. Получение полимерных адгезивных композиций на основе биodeградируемых материалов / С.В. Рытченков // Актуальные вопросы фармацевтических и естественных наук. Сборник статей Всероссийской студенческой научно-практической конференции с международным участием. – Иркутск: Иркутский государственный медицинский университет, 2020. – С. 32-33.

Патенты РФ

13. Патент RU 2796007 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/545, А61К 31/717, А61К 31/722. Композиция для изолирования кишечного анастомоза и предотвращения послеоперационного спаечного процесса: № 2022108011: заявл. 05.04.2022: опубл. 16.05.2023 / Поройский С. В., Струсовская О. Г., Рытченков С.В., Покровская Ю. С. – 18 с.