

на правах рукописи



ШЕФЕРОВ ИЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВИЧ

**РАЗРАБОТКА СОСТАВОВ И ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ
КОМБИНИРОВАННЫХ ДЕРМАТОЛОГИЧЕСКИХ МЯГКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ФОРМ РАСТВОРИМЫХ ОКСОПИРИМИДИНОВ И НАНОЧАСТИЦ ОКСИДОВ
ЦЕРИЯ И ЦИНКА С УЛУЧШЕННЫМИ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИМИ
ПОКАЗАТЕЛЯМИ**

3.4.1. Промышленная фармация и технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Нижний Новгород – 2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Научный руководитель:

Мельникова Нина Борисовна

доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты:

Петров Александр Юрьевич

доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры фармации

Джавахан Марина Аркадьевна

доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заместитель директора по разработке и внедрению научно-образовательного института фармации имени К. М. Лакина

Ведущая организация:

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

Защита состоится «30» сентября 2025 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 диссертационного совета (<http://dissovet.spcru.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 работы

Водорастворимые оксопиримидины, близкие по химической структуре к негликозидным пиримидиновым основаниям – компонентам нуклеиновых кислот, являются важными активными фармацевтическими субстанциями (АФС) с различным фармакологическим действием. К ним относятся репарат-регенерант 1-(β -оксиэтил)-4,6-диметил-1,2-дигидро-2-оксопиримидин (ксимедон) и цитостатик 5-фторпиримидин-2,4(1H,3H)-дион (5-фторурацил, 5-ФУ). Ксимедон проявляет антиоксидантное, регенерирующее, ранозаживляющее, улучшающее местное кровообращение свойства (Измайлов С. Г. и др., 2001). Однако, ввиду нестабильности ксимедона в мазевых основах, он используется только в твердой лекарственной форме. Цитостатик 5-ФУ, относящийся к антиметаболитам, при системном применении для лечения различных онкологических заболеваний имеет множество нежелательных побочных эффектов – воспалительные, аллергические реакции, стоматит и эзофагофарингит, диарея, анорексия и рвота, и др. (Papanastopoulos, P., et al, 2014). Местное применение таких цитостатиков зачастую лишено этих недостатков и рекомендовано для лечения актинического кератоза, множественных и поверхностных базальноклеточных карцином, болезни Боуэна, а также бородавок, псориаза, витилиго и меланомы (Papanastopoulos, P., et al, 2014; Oliveira, V., et al, 2020). Несмотря на востребованность этих АФС, ранозаживляющие и дерматологические мягкие лекарственные формы (МЛФ) как для ксимедона, так и для 5-ФУ практически отсутствуют на фармацевтическом рынке.

Одной из важнейших задач технологии получения МЛФ водорастворимых активных фармацевтических субстанций (АФС) и их дизайна является обеспечение их эффективности и биодоступности. Полярные водорастворимые АФС испытывают сложности при их проникании через роговой слой кожи, поскольку диффузия и скорость проникания этих веществ, в отличие от гидрофобных, затруднена.

Наночастицы оксидов металлов, проявляющие свое фармакологическое действие в синергизме с водорастворимым пиримидиновым АФС, могут выполнять также и функцию их векторной доставки (Negresku, A., et al, 2022). Наночастицы оксидов церия (CeO_2 нч) и цинка (ZnO нч) за счёт липофильности, малого размера, большой удельной поверхности, антиоксидантных, антибактериальных свойств могут быть использованы как в качестве действующих, так и вспомогательных веществ в комбинированных дерматологических и ранозаживляющих средствах (Najra, K., et al, 2024).

Учитывая преимущества возможных комбинаций водорастворимых оксопиримидинов и наночастиц оксидов металлов, а также отсутствие на российском фармацевтическом рынке дерматологических и ранозаживляющих МЛФ, разработка технологии комбинированных МЛФ ксимедона и 5-ФУ с наночастицами оксидов металлов является актуальной.

Степень разработанности темы исследования.

Возможность использования наночастиц оксидов металлов как носителей АФС была изучена рядом авторов (Kotrange, H., et al, 2021; Shcherbakov, A. V., et al, 2020; Yusefi, M., et al, 2021). В работах (Yusefi, M., et al, 2021; Мельникова О. А., и др., 2021) показана эффективность наночастиц оксида железа как носителя 5-ФУ. Авторами (Satpathy, S., et al, 2024) предложено использовать наночастицы оксида церия в комбинации с 5-ФУ для местного лечения рака. В этих работах продемонстрирован синергетический эффект и роль наночастиц как вектора доставки. Наночастицы оксида церия хорошо зарекомендовали себя как компоненты раневых покрытий, как миметики ферментов (СОД, каталаза и др.) (Nosrati, H., et al, 2023).

Авторами (Jiang, J., et al, 2018) показана перспективность использования наночастиц оксида цинка не только как вектор доставки, но и как антибактериального агента с антиоксидантными свойствами в наружных МЛФ (Ahmed, B., et al, 2018). В литературе

показаны успешность комбинирования антибактериальных препаратов и наночастиц оксида цинка (Ghasemi, F., et al, 2016), а также их комбинация с природными БАВ (Amiri, E., et al, 2024).

Несмотря на многочисленные литературные данные по созданию комбинированных препаратов АФС с наночастицами оксидов цинка и церия и промышленное производство данных наночастиц в России практически отсутствует. Проблема создания комбинированных МЛФ 5-ФУ и ксимедона осложняется тем, что отсутствуют МЛФ данных субстанций.

Цель исследования

Целью данного исследования является фармацевтическая разработка дерматологической мягкой лекарственной формы растворимых оксопиримидинов – ксимедона и 5-фторурацила, с наночастицами оксидов металлов – цинка и церия.

Задачи исследования:

1. Обосновать варианты комбинаций оксопиримидинов (ксимедона и 5-фторурацила) с наночастицами оксидов металлов (цинка и церия) как элемент повышения биодоступности оксопиримидинов и фармакологического действия.
2. Оценить цитотоксичность комбинации 5-фторурацила с наночастицами оксида церия.
3. Выбор гелеобразователя и методов приготовления комбинированных гелей 5-фторурацила с наночастицами оксида церия и ксимедона с наночастицами оксида цинка.
4. Разработать состав и технологию получения стабильного комбинированного геля 5-фторурацила с наночастицами оксида церия и провести оценку качества лекарственной формы.
5. Разработать состав и технологию получения стабильного геля ксимедона с наночастицами оксида цинка, провести оценку качества лекарственной формы и исследовать ранозаживляющие свойства на модели ожоговой раны.
6. Разработать протокол валидации методики оценки высвобождения ксимедона и 5-фторурацила с использованием ячейки Франца.
7. Оценить кинетику высвобождения ксимедона и 5-фторурацила из комбинированной мягкой лекарственной формы
8. Изучить биологическую активность геля ксимедона с наночастицами оксида цинка на модели ожоговой раны.

Научная новизна

Разработанные мягкие лекарственные формы гидрофильных субстанций имеют оригинальный состав по наночастицам оксидов металлов и вспомогательным веществам, не представлены на фармацевтическом рынке и не описаны в литературе.

При разработке состава мягкой лекарственной формы:

1. Впервые предложена методика получения CeO_2 нч в матрице ГЭЦ, доказан их стехиометрический состав и разработан состав комбинированной МЛФ 5-ФУ с CeO_2 нч;
2. Впервые продемонстрировано синергетическое действие 5-ФУ и CeO_2 нч по исследованию цитотоксичности на клеточных линиях меланомы и колоректального рака.
3. Впервые разработана ранозаживляющая МЛФ ксимедона и ZnO нч, продемонстрировавшая высокую эффективность на модели ожоговой раны на крысах.
4. Разработан валидационный протокол оценки высвобождения оксопиримидинов из МЛФ с использованием вертикальной диффузионной ячейки Франца: ксимедона с ZnO нч и 5-ФУ с CeO_2 нч.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в комплексном обосновании оригинального состава и технологической схемы получения комбинированных дерматологических мягких лекарственных форм. Включение наночастиц оксидов металлов в состав мягких лекарственных форм 5-фторурацила и ксимедона позволяет выполнять роль

векторов доставки, а также обеспечить синергетическое действие с оксопиримидинами. Синтез наночастиц оксида церия в матрице гидроксипропилцеллюлозы позволяет обеспечить стабильность наночастиц, их устойчивость к агрегации.

Практическая значимость диссертационного исследования состоит в разработке оригинального компонентного состава, а также технологии мягкой лекарственной формы ксимедона с ZnO нч и 5-фторурацила с CeO₂ нч, которые могут быть внедрены в фармацевтическом производстве. Разработанный протокол валидации количественной оценки высвобождения 5-фторурацила и ксимедона из комбинированной мягкой лекарственной формы с использованием вертикальной диффузионной ячейки Франца был использован в научно-исследовательской деятельности государственного автономного учреждения здравоохранения «Нижегородский областной центр по контролю качества и сертификации лекарственных средств» Министерства здравоохранения Нижегородской области (акт апробации от 21.01.2025 г.) и научно-исследовательской и учебной работе фармацевтического отделения государственного бюджетного профессионального образовательного учреждения Нижегородской области «Нижегородский медицинский колледж» (акт внедрения от 20.01.2025 г.).

Методология и методы исследования

В диссертационной работе использованы технологические, биофармацевтические, физико-химические, фармакологические, биологические, статистические методы. Обработку результатов исследования проводили с использованием элементарной статистики. Экспериментальные работы были проведены на современном технологическом и аналитическом оборудовании, прошедшем аттестацию. Средства измерения, примененные в работе, имеют свидетельства о поверке.

Положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследования цитотоксичности наночастиц оксида церия и их комбинаций с 5-фторурацилом на клеточных линиях меланомы и колоректального рака
2. Результаты по разработке технологии синтеза наночастиц оксида церия в матрице полисахаридов
3. Результаты по разработке состава и технологии комбинированного геля 5-фторурацила с наночастицами оксида церия и технологическая схема его производства
4. Результаты по разработке спецификации показателей качества комбинированного геля 5-фторурацила с наночастицами оксида церия и по оценке высвобождения 5-фторурацила
5. Результаты по разработке состава и технологии комбинированного геля ксимедона с наночастицами оксида цинка и технологическая схема его производства
6. Результаты по разработке спецификации показателей качества комбинированного геля ксимедона с наночастицами оксида цинка и по оценке высвобождения ксимедона
7. Результаты исследования ранозаживляющего действия на модели ожоговой раны комбинированной мягкой лекарственной формы ксимедона с наночастицами оксида цинка

Апробация результатов

Основные положения работы доложены на: XXV Всероссийской конференции молодых учёных-химиков (Нижний Новгород, 2022); 76-ой Всероссийской с международным участием школе-конференции молодых ученых “Биосистемы: организация, поведение, управление” (Нижний Новгород, 2023); Всероссийской научно – практической конференции, посвященной 15-летию создания фармацевтического отделения на факультете фундаментальной медицины МГУ “Образование и наука – стратегическая платформа для будущего фармации” (Москва, 2023); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых “Ломоносов – 2024” (Москва, 2024); XXVII Всероссийской конференции молодых ученых-химиков (с международным участием), (Нижний Новгород, 2024); 6-й Российской конференции по медицинской химии, приуроченной к празднованию 300-летия Российской академии наук (Нижний Новгород, 2024).

Соответствие паспорту специальности

Диссертация соответствует паспорту научной 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 биоаналитических методик. Исследование стабильности лекарственных средств.

Публикации

Результаты основных этапов проведенного исследования опубликованы в ведущих научных фармацевтических изданиях, несут в себе теоретическую и практическую ценность для фармацевтической науки и практики.

По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки России, среди которых 3 статьи в изданиях, включенных в международные базы Scopus и Web of Science.

Личное участие автора

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 кафедры аналитической и медицинской химии, ДПИ НГТУ им. Р.Е. Алексеева, кафедры химических и пищевых технологий и ГАУЗ НО НОЦККСЛС. Автор проводил разработку состава и технологии новой комбинированной лекарственной формы ксимедона и 5-фторурацила в виде гелей с наночастицами оксидов металлов.

Объём и структура диссертации

Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста, состоит из введения, литературного обзора (глава 1), экспериментальной части, в которой описаны материалы и методы исследования (глава 2), две главы результатов собственных исследований и их обсуждения по разработке геля 5-ФУ с CeO_2 нч (глава 3) и по разработке геля ксимедона с ZnO нч (глава 4), заключения, списка работ, опубликованных по теме диссертации, списка литературы, включающего 30 отечественных и 120 иностранных источников, 6 приложений. Диссертация содержит 29 таблиц и 41 рисунков.

Основное содержание работы

Глава 1. Литературный обзор

В литературном обзоре рассмотрены основные проблемы, возникающие при проницаемости полярных водорастворимых АФС через роговой слой кожи из МЛФ, показано влияние вспомогательных веществ, таких, как полимеры на улучшение проникания полярных АФС. Показана возможность улучшения высвобождения полярных АФС – 5-ФУ и ксимедона за счёт наночастиц оксидов металлов. Важным разделом в литературном обзоре являются сведения по оценке высвобождения АФС из гидрофильных МЛФ. Описаны методологические подходы к прогнозированию высвобождения с использованием вертикальной диффузионной ячейки Франца.

Глава 2. Экспериментальная часть. Материалы и методы

Объектами исследования являлись АФС - 5-фторурацил (Xi'an Disheng Health Biotechnology Co., Ltd., Китай) и ксимедон (ООО "Татхимфармпрепараты", Россия). В

качестве вспомогательных веществ использовали гидроксиэтилцеллюлозу (ГЭЦ) (Natrosol®) и редко-сшитую полиакриловую кислоту (Carbopol 974P NF), меглюмин (Acros Organics), церия(III) нитрат гексагидрат (Лантан®, Калининград), воду очищенную (не более 0,5 мкСм/см).

Образцы наночастиц оксида цинка получены от АО "Усолье-Сибирский химфармзавод" размером 20-100 нм.

Методы исследования и приборы: Дифрактометр «XRD-6000» (Shimadzu, Japan); ИК-спектрофотометр с преобразователем Фурье «IR Prestige-21» (Shimadzu, Japan); Спектрофотометр «UV-1800» (Shimadzu, Japan); Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (XPS); ВЭЖ-хроматограф «Хромос» (Россия), колонка Luna® C18 (25 см x 4,6 мм, 5 мкм). Подвижная фаза: KH_2PO_4 с pH 5.7, скорость потока – 1,0 мл/мин. Объем вводимой пробы – 20 мкл; прибор NanoBrook Omni (Brookhaven Instruments, USA); электронный сканирующий микроскоп (СЭМ) JSM-IT300LV (JEOL, Japan); вискозиметр Brookfield DV2T со шпинделем 64 (АМТЕК Brookfield, USA), оборудованный термостатом (жидкостный низкотемпературный термостат КРИО-ВТ-01; ООО «Термекс», Россия, Томск); атомно-абсорбционный спектрометр AA-7000 (Shimadzu, Japan).

Высвобождение АФС оценивали с помощью вертикальной диффузионной ячейки Франца (рисунок 1)

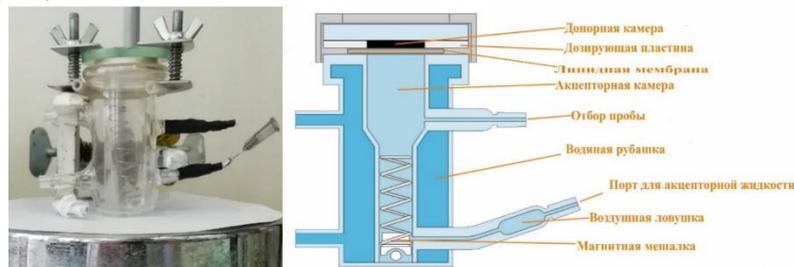


Рисунок 1 – Фото и схема ячейки Франца

Исследование активности супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, глутатионредуктазы (ГР), глюкозы-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-Ф-ДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) проводили спектрофотометрическим методом с использованием крови, стабилизированной цитратом натрия (1:9).

Исследование цитотоксичности

Использовались клетки постоянной клеточной линии NCTC клон 929 (мышь С3Н/Ап, подкожная соединительная ткань, клон линии L.), линиях меланомы (В16) и колоректального рака (НСТ116 и НТ29). Линии клеток НСТ116, НТ29 и В16 были получены из коллекции клеточных культур отделения вирусологии им. Д.И. Ивановского Национального исследовательского центра эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России (Москва, Россия). Оценку цитотоксичности проводили с использованием МТТ-теста с использованием тетразолиевого красителя 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолиум бромида.

Медико-биологические исследования противоожогового действия проводили на самцах крыс линии Wistar на модели ожоговой раны степени IIa.

Статистическую обработку проводили в программе Statistica 7,0.

Глава 3. Фармацевтическая разработка комбинированной мягкой лекарственной формы 5-фторурацила с наночастицами оксида церия

3.1. Цитотоксичность наночастиц оксида церия и его комбинации с 5-фторурацилом

Количественная оценка жизнеспособности показала, что инкубация культур клеток NCTC клон 929 с ГЭЦ в концентрациях 0,1 мкМ - 10 мкМ не оказывает цитотоксического эффекта на метаболическую активность клеток.

Исследование цитотоксичности образцов CeO_2 нч и наночастиц, покрытых ГЭЦ, показали, что действие CeO_2 нч на нормальные фибробласты незначительное (лёгкая цитотоксичность) при концентрации от 10 до 100 мкг/мл. При защитном действии ГЭЦ цитотоксическое действие CeO_2 нч ослабляется до 95-85%.

На рисунке 2(а) показано изменение выживаемости клеток колоректального рака (НСТ116) и меланомы (В16) в эксперименте под действием CeO_2 нч в присутствии ГЭЦ. Цитотоксические эффекты CeO_2 нч усиливались на клетках колоректального рака человека линии НСТ116 и клеток мышинной меланомы В16: значения ингибирующей концентрации (IC_{50}) равны $219,0 \pm 45,6$ мкг/мл (для линии НСТ116) и $189,5 \pm 25,7$ мкг/мл (для линии В16), соответственно. Эффект CeO_2 нч в комбинации с 5-ФУ на линии НСТ116 усиливался по сравнению с действием только CeO_2 нч: значения IC_{50} CeO_2 нч в комбинации с 5-ФУ составило $89,2 \pm 14,0$ мкг/мл. В этом эксперименте концентрация 5-ФУ в комбинации с CeO_2 нч составила 6,0 мкмоль, в то время как в отсутствие CeO_2 нч эта величина соответствовала 10,1 мкмоль.

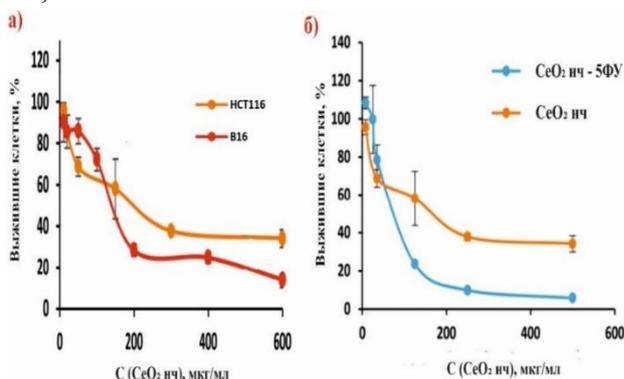


Рисунок 2. Зависимость выживаемости (%) от концентрации CeO_2 нч: а – клеточные линии – В16 (меланома, красная линия); НСТ116 – (колоректальный рак, жёлтая линия); б – клеточная линия НСТ116 (синяя линия – комбинация с 5-ФУ)

Таким образом, комбинация 5-ФУ с CeO_2 нч, защищенными ГЭЦ, проявляла синергетический эффект по отношению к опухолевым клеткам. Поскольку комбинированные ЛС 5-ФУ с CeO_2 нч отсутствуют, то важной задачей является разработка МЛФ, их состава и технологии, для наружного применения при лечении различных заболеваний кожи.

3.2 Разработка технологии получения гидрофильных гелей 5-фторурацила с наночастицами оксида церия

Выбор гелеобразователя был проведен исследованием 1,0 – 2,0% гидрофильных гелей на основе карбомера (PNF 974), гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ 60HD50), карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ), метилцеллюлозы (МЦ), этилцеллюлозы (ЭЦ), гидроксипропилцеллюлоза (ГЭЦ), желатиновая камедь, цитрусовый пектин, растворением навески гелеобразователя в 100 мл воды очищенной при перемешивании. Выявлено, что гелеобразователь (ГЭЦ) в концентрации выше 1,5% обеспечивал образование вязких гелей, структурная вязкость которых изменялась от 6000 до 3000 мПа \cdot с при изменении скорости

шпинделя от 1 до 20 об./мин. В интервале концентраций от 0,5 до 2,0% гель оставался прозрачным и однородным, хорошо гомогенизировался, и не вызывал частичную агрегацию CeO_2 нч.

Водные дисперсии ГЭЦ обрабатывали водными растворами нитрата церия (III) с последующим окислительным осаждением CeO_2 нч меглюмином (МГ). Введение Ce^{3+} в раствор ГЭЦ способствует образованию комплексов с гидроксильными группами целлюлозы, что доказано в работах Каракоти (2007) и Иванова (2020), (Рисунок 3). ИК-спектры реакционной смеси МГ, ГЭЦ и церия (III) нитрата показали изменение формы и положения полос поглощения NO_3^- в нитрате церия (III) с 1300 и 1490 cm^{-1} до 1380 и 1501 cm^{-1} , практически исчезла третья полоса NO_3^- .

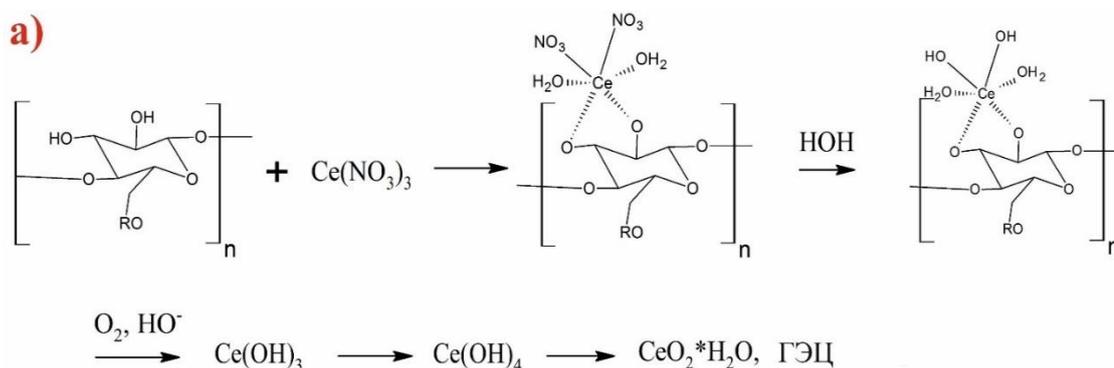


Рисунок 3. Схематическая иллюстрация получения CeO_2 нч в матрице ГЭЦ

На следующей стадии вводили водный раствор меглюмина при 60 °С в течение 30 - 40 минут (Рисунок 4).

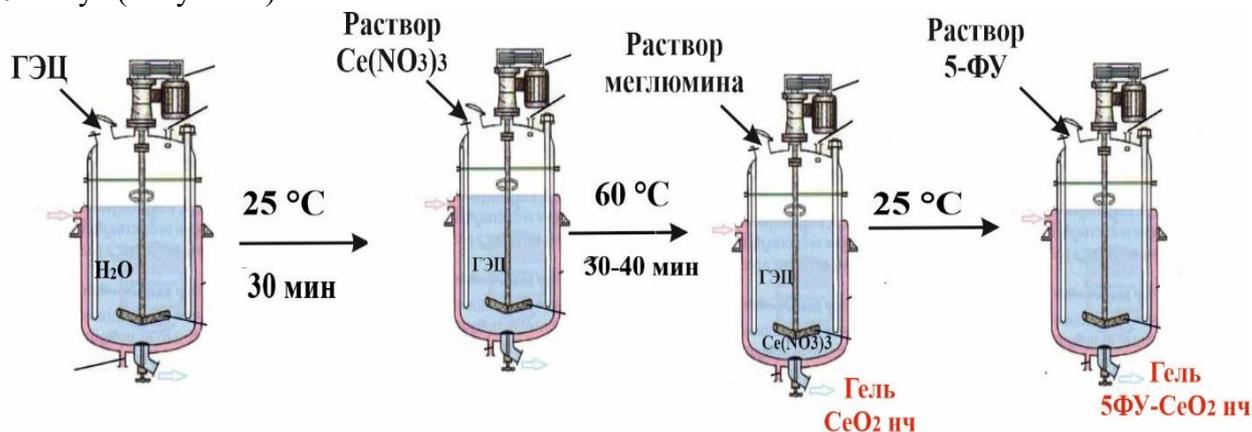


Рисунок 4. Схематическая иллюстрация последовательности операций при получении комбинированного геля 5ФУ- CeO_2 нч

Водный раствор 5-ФУ вводили в гель CeO_2 нч на основе ГЭЦ при комнатной температуре и перемешивании для получения однородной массы жёлтого оттенка.

Контроль формирования CeO_2 нч в геле проводили по достижению максимальной интенсивности полосы поглощения экситона при $\lambda_{\text{max}} = 270 - 300$ нм, характерной для CeO_2 нч (Рисунок 5), а также по измерению рН (рН 7,0 - 7,4).

Лабораторный вариант оборудования для приготовления комбинированных МЛФ представлен на рисунке 5.

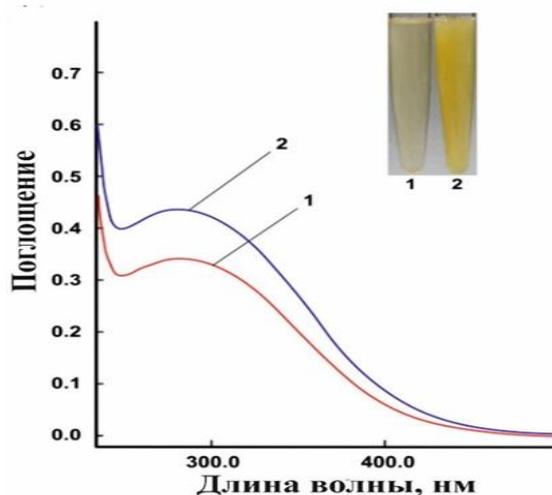


Рисунок 5. Лабораторное

оборудование для приготовления комбинированных МЛФ (а) и контроля формирования CeO_2 нч в геле по УФ-спектрам (б). Кривая 1 – состав: ГЭЦ – 1,2 г; МГ – 1,74 г; нитрат церия – 0,1 г; кривая 2 – состав: ГЭЦ – 1,6 г; МГ – 1,74 г; нитрат церия – 0,2 г. Гель предварительно разбавляли в 5 раз.

Размер частиц CeO_2 нч (после введения МГ) определяли методом динамического рассеяния света (ДРС). Эффективный диаметр гидратированной наночастицы CeO_2 – 122 ± 1 нм.

Идентификацию CeO_2 нч проводили методами энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (ЭДС), методом индукционно-связанной плазмы (ИСП), рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии (РФЭС), порошковой рентгенофазовой дифрактометрией. Элементный анализ (ИСП) образцов показал, что содержание церия (масс. %) колебалось от 73 до 78, а содержание кислорода от 27 до 22. Эти данные соответствовали элементному составу CeO_2 нч – 81% (Ce) и 19% (O). Методом РФЭС на основании изучения Ce 3d-спектров образцов НЧ CeO_2 показано наличие нескольких степеней окисления для церия в областях спин-орбитальных дублетов **Ce** 3d_{5/2} (878-893 эВ) и **Ce** 3d_{3/2} (896-912 эВ), что характерно для CeO_2 нч. Процентное содержание оксидного состояния Ce^{3+} для образцов, рассчитанное по суммарным интенсивностям (математическая обработка в программах SDP v.4.3 и CasaXPS), составило 33-40%. Рефлексы, характерные для CeO_2 нч на рентгенограммах ($\theta = 28^\circ; 34^\circ; 48^\circ; 54^\circ$) имеют вид широких размытых полос, что, вероятно, обусловлено экранированием ГЭЦ и характерны для очень малых размеров наночастиц.

Таким образом, обработка водных гелей ГЭЦ последовательно нитратом церия (III) и МГ позволяет получить CeO_2 нч в матрице ГЭЦ.

Состав гелей (соотношение между компонентами) был оптимизирован с помощью пакета программ “Minitab”, используя в качестве основного параметра вязкость геля (рисунок б)

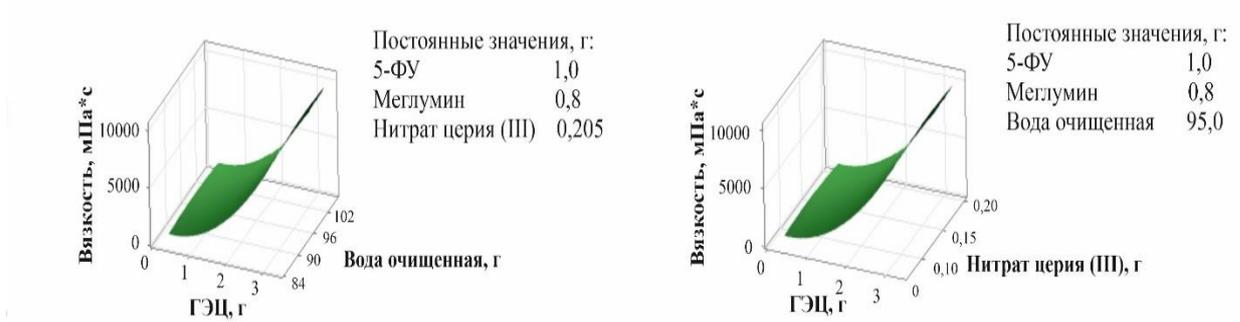


Рисунок 6. Оптимизация составов гелей, содержащих 5-ФУ и наночастицы оксида церия

В таблице 1 приведены изучаемые составы гелей. Показано, что оптимальным составом, сохраняющий стабильность в течение 2-х лет, является состав №3, содержащий 1,0 % 5ФУ и 0,08% CeO_2 нч.

Таблица 1 – Состав гелей

№	Содержание, г						
	1	2	3	4	5	6	7
5-Фторурацил	0,2	0,4	1,0	2,4	2,8	3,0	-
CeO_2 нч ($\text{Ce}(\text{NO}_3)_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$)	-	0,04 (0,1)	0,08 (0,2)	0,10 (0,25)	0,12 (0,3)	0,14 (0,35)	0,16 (0,4)
Меглумин	1,74	1,74	0,87	1,74	1,74	1,74	1,74
Гидроксиэтилцеллюлоза	0,8	1,2	1,6	1,8	2,0	2,4	3,0

Воды очищенной до 100,0 г

Величина pH водного извлечения из геля была в интервале 9-10 после коррекции pH геля раствором лимонной кислоты. Структурная вязкость геля (Рисунок 7), имела значение от 6000 до 3000 мПа*с. Практическое отсутствие петли гистерезиса на зависимость “вязкость – скорость вращения шпинделя” характеризует предлагаемый гель как тиксотропный: площадь под кривой при сжатии и растяжении были равны 9254 и 9311, соответственно.

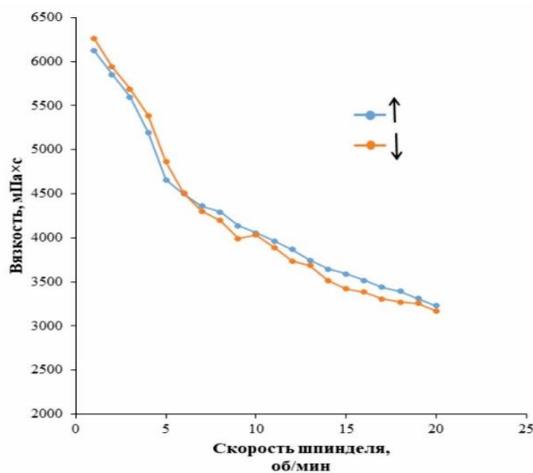


Рисунок 7. Структурная вязкость как функция скорости шпинделя геля “ CeO_2 нч-5ФУ”

В целом, следует отметить, что введение водного раствора 5-ФУ в гидрофильный гель с CeO_2 нч позволяет получить комбинированную МЛФ с удовлетворительными тиксотропными свойствами и необходимым pH.

3.3. Разработка подходов к стандартизации геля 5-фторурацила с наночастицами оксида церия и оценка высвобождения 5-фторурацила

Идентификацию 5-ФУ в ЛФ проводили, сравнивая ИК-спектры стандартного и анализируемого образцов (после лиофильной сушки) и с использованием данных ВЭЖХ – анализа по совпадению времени выхода стандарта 5-ФУ и 5-ФУ из геля. Анализ ИК-спектров показал, что во всех образцах присутствовали полосы поглощения валентных колебаний карбонильной группы и C-F в лактамном цикле 5ФУ (Таблица 2). Для идентификации 5-ФУ в ЛФ методом ВЭЖХ использовали стандартный образец, хроматограммы которого были сняты в условиях рекомендованных ФС.2.1.0348 и в условиях, рН которого равна водному извлечению разрабатываемого геля 5ФУ с CeO₂ нч геля (рН 7,4±0,1).

Таблица 2. Данные ИК-спектров анализируемых образцов, ν , см⁻¹ (функциональные группы)

Образец	3600-3200 (-ОН, -NH)	3100-2700 (-CH, -CH ₂ , - CH ₃)	1753-1650 (C=O) и 1248-1249 (C- F) в 5ФУ	1600-1300 (C-O, NO ₃ -)	570-425 (Ce-O)
CeO ₂ нч	-	3161	-	1535, 1071, 1020	435
ГЭЦ	3526	2906	-	1062	-
ГЭЦ- CeO ₂ нч (порошок из геля)	3462	2882	-	1060	410
5ФУ	3141	2932	1729, 1638, 1248	-	-
ГЭЦ- CeO ₂ нч- 5ФУ (порошок из геля)	3413	-	1659, 1543, 1247	1093	419

Вид хроматограммы не изменялся в присутствии плацебо, что характеризует ВЭЖХ-методику установление подлинности, удовлетворяющей критерию **специфичности**. Асимметричность пиков оставалась постоянной и не превышала 1,5. **Пригодность** хроматографической системы оценивалась в соответствии с ОФС.1.2.1.2.0001.15 и удовлетворяла условиям анализов в данной ОФС. Следовательно, учитывая специфичность методики, и её пригодность, можно предложить методику ВЭЖХ для метода количественного определения 5-ФУ.

Градуировочная зависимость интенсивности сигнала (площади) от концентрации 5ФУ удовлетворяет критерию **линейности**. Уравнение линейной регрессии имело вид $Y = aX + b$, где $a = 0,695$, $b = 0,0082$ и коэффициент корреляции равен 0,999. Область линейности 0,1-6,5 мкг/мл, предел обнаружения (ПО) – 0,101 мкг/мл; предел количественного определения (ПКО) – 0,303 мкг/мл.

Правильность оценивали по относительному отклонению RSD, % на основании сравнения фактического и заданного количества стандарта. Метод удовлетворяет критериям правильности, если относительное отклонение измеренного фактического значения 5-ФУ от истинного значения стандарта 5-фторурацила не превышает ±2,0%.

Для определения **прецизионности** (повторяемости и воспроизводимости) проводились многократно испытания при соблюдении следующих условий. **При**

определении повторяемости проводили измерения количества 5-ФУ в пределах короткого промежутка времени в одной и той же лаборатории с использованием одного и того же прибора (Хромос 308) в лаборатории ГАУЗ НО НОЦККСЛС. Прецизионность методики подтверждалась, поскольку коэффициент вариации составлял не более 2,0%. **Робастность** методики количественного определения оценивалась по чувствительности времени выхода от состояния аналитических растворов и растворов образцов, рН подвижной фазы (5,7 и 7,4). Отмечено влияние рН буферного раствора на время выхода 5-ФУ.

В таблице 3 приведены метрологические характеристики количественного определения 5-фторурацила из гелей методом ВЭЖХ.

Таблица 3. Результаты валидационных испытаний методики количественного определения 5-фторурацила из гелей

Параметр	Результат
Линейность	$R^2 = 0,9999$ Уравнение линейной зависимости $y = 0,695x + 0,0082$
Воспроизводимость	RSD = 0,8%
Правильность	RSD = 1,9% Открываемость 98,5-102,5% (99,5%) Доверительный интервал включает значение 99,5% (99,5±0,5)
Специфичность	На хроматограмме раствора “плацебо” отсутствует пик со временем удерживания 5-фторурацила (8,21 мин) в конкретных условиях проведения анализа
Аналитическая область	80-120%
Предел обнаружения	0,101 мкг/мл
Предел количественного определения	0,303 мкг/мл

Таким образом, используемая нами ВЭЖХ-методика количественного определения 5-ФУ из гелей удовлетворяет следующим показателям валидации: специфичность, линейность, прецизионность, правильность, воспроизводимость.

3.3.2. Оценка высвобождения 5-фторурацила из геля с использованием теста “Растворение”

Валидация оценки высвобождения 5-ФУ из МЛФ с использованием ячейки Франца является неотъемлемой частью для подтверждения пригодности разрабатываемой методики. Поскольку ВЭЖХ и УФ-методики количественного определения 5ФУ удовлетворяют валидационным показателям: специфичность, линейность, правильность, прецизионность и область линейности, то для характеристики устойчивости испытания нами разработан протокол валидации. Протокол, кроме количественного определения, дополнительно включал оценку влияния природы мембраны и объема ячейки.

На рисунке 8 и таблице 4 представлены результаты оценки высвобождения 5ФУ из геля от времени через гидрофильную (ацетилцеллюлозную) и липидную мембраны, полученные УФ-спектральным и ВЭЖХ-методами.

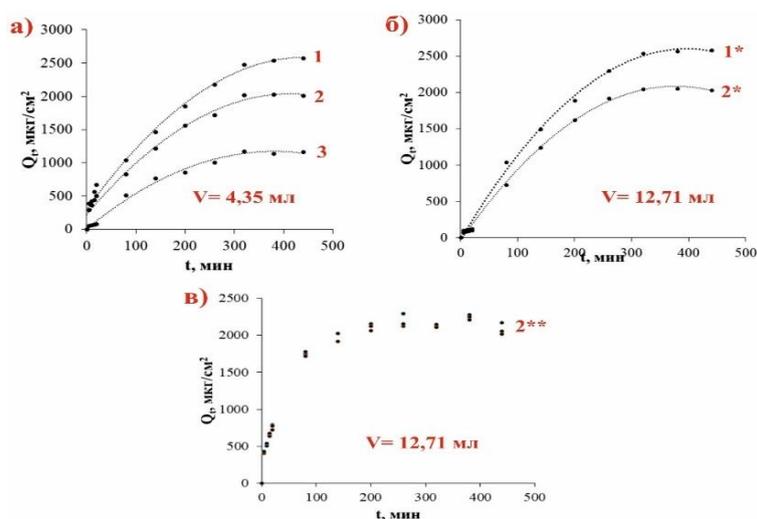


Рисунок 8. Зависимость количества высвободившегося 5-ФУ (Q_t) от времени через ацетилцеллюлозную мембрану (1,1*) и через липидную мембрану (2,2*,3) из геля 5ФУ (кривая 3) и геля “ CeO_2 нч-5ФУ” (кривые 1,1*,2,2*,2**); а) объём ячейки 4,35 мл; б) объём ячейки 12,71 мл, $n = 3$; в) ВЭЖХ-метод, объём ячейки 12,71 мл, $n = 3$. Цифры 1 и 2 относятся к гидрофильной и липидной мембранам, соответственно

Число опытов для статистической обработки ($n=7$, таблица 4)

Из данных рисунков следует, что в отсутствие CeO_2 нч количество высвободившегося 5-ФУ (50%) в полтора раза меньше, чем в комбинированной МЛФ (80%). Следовательно, CeO_2 нч, в разработанной нами композиции усиливают высвобождение, а следовательно, и проницаемость через липофильную мембрану, имитирующую роговой слой кожи.

Полученные данные, обобщенные на рисунке 8 и таблицах 4-5, характеризуют методику оценки высвобождения 5-ФУ из геля с использованием ячейки Франца как УФ-спектральным методом, так и методом ВЭЖХ достоверной ($RSD \leq 2,0\%$).

Таблица 4. Данные по количеству высвободившегося 5-фторурацила из гелей с CeO_2 нч через липидную мембрану, полученные методом УФ-спектрофотометрии

t, мин	X_{cp} , мкг	S^2	S	$t(P, f)$	ΔX	RSD, %
80	734	444	21	2,45	$\pm 21,3$	2,0
140	1217	1082	33	2,45	$\pm 38,8$	2,0
200	1560	1138	34	2,45	$\pm 41,6$	2,0
320	2017	1704	41	2,45	$\pm 48,1$	2,0
440	2015	1698	41	2,45	$\pm 40,6$	1,9

Таблица 5. Данные по количеству высвободившегося 5-фторурацила из гелей с CeO_2 нч через липидную мембрану, полученные методом ВЭЖХ

t, мин	X_{cp} , мкг	S^2	S	$t(P, f)$	ΔX	RSD, %
80	869	556	24	2,45	$\pm 31,4$	1,8
140	1252	1046	32	2,45	$\pm 37,9$	1,9
200	1555	1026	33	2,45	$\pm 41,6$	2,0
320	2003	1516	39	2,45	$\pm 48,1$	2,0
440	2048	1589	40	2,45	$\pm 40,7$	2,0

Математическое моделирование кинетики высвобождения 5-ФУ из геля через липидную и гидрофильную мембраны было проведено методом подбора основных уравнений, описывающих кинетику высвобождения: в средней части кинетической кривой,

за исключением начального периода, высвобождение соответствует уравнению Корсмейера-Пеппаса, контролируемой диффузии по Фику.

Таким образом, разработанные нами подходы к стандартизации геля 5-ФУ с CeO_2 нч и валидация испытания на высвобождение с ячейкой Франца 5-ФУ из геля, показали, в что все методики контроля качества геля (подлинность, количественное определение) удовлетворяют валидационным показателям. Введение CeO_2 нч в состав геля улучшает высвобождение 5-ФУ. Полученные результаты создают возможность использования этого геля в фармацевтической промышленности.

3.4. Технология изготовления комбинированного геля 5-фторурацила с наночастицами оксида церия

Для полученных образцов геля состава № 3 разработана спецификация показателей качества мягкой лекарственной формы “ CeO_2 нч-5ФУ” (Таблица 6)

Таблица 6. Спецификации показателя качества геля “ CeO_2 нч-5ФУ”

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Визуальный	однородная, слегка опалесцирующую дисперсия легкого желтого оттенка.
Подлинность	УФ, ВЭЖХ	1) Время удерживания пика 5-фторурацила в испытуемом образце должно соответствовать времени удерживания основного пика на хроматограмме стандартного образца 2) появление полосы поглощения экситона CeO_2 нч при $\lambda_{\text{max}} = 270\text{-}300$ нм
Вязкость	ОФС.1.2.1.0015.15 Вязкость	3000-6000 мПа×с
рН раствора	ОФС.1.2.1.0004.15 Ионметрия	7,0-7,4
Количественное определение	ФС.2.1.0348	Не менее 98,5% и не более 101,0% 5-фторурацила
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15	Категория 2
Упаковка	В соответствии с НД	
Маркировка	В соответствии с НД	
Хранение	В оригинальной упаковке в защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С	
Срок годности	2 года	

Технологическая схема процесса состоит из двух этапов (Рисунок 9). На первом этапе необходима подготовка сырья, помещений, оборудования и персонала (процесс ВР-1). На втором этапе подготовки сырья (ВР-2) производят посредством формирования навесок действующих и вспомогательных веществ в количестве, необходимых для приготовления геля. Процесс подготовки геля (ТП 1 - ТП 4) состоит из приготовления основы гелей, приготовления растворов и приготовления комбинированного геля.

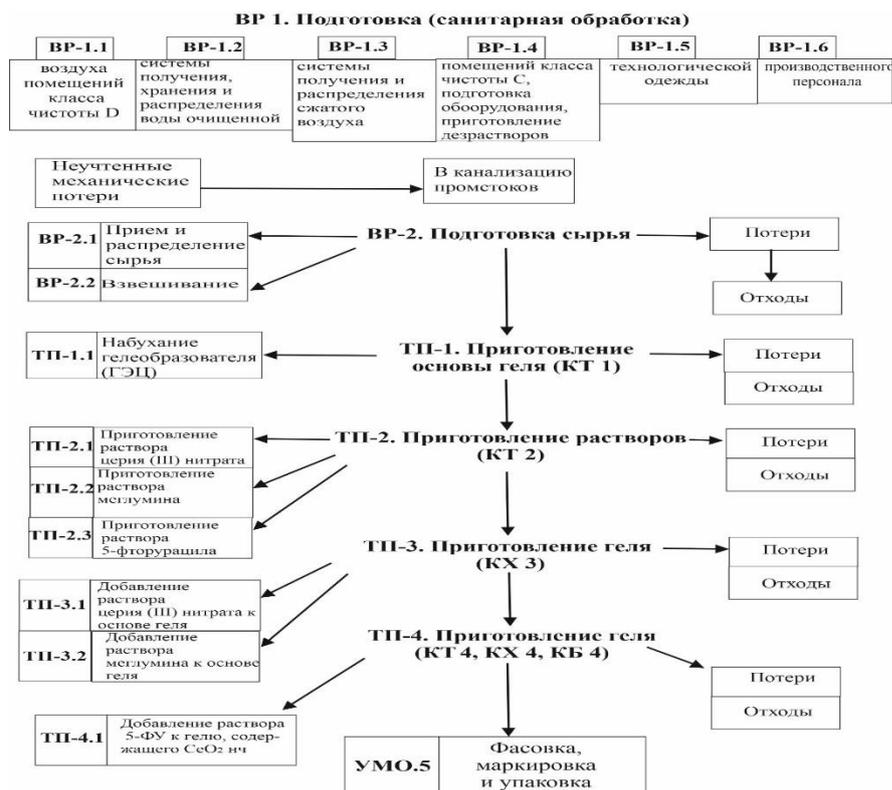


Рисунок 9. Технологическая схема производства геля 5-фторурацила с наночастицами оксида церия

Критические стадии технологического процесса и обоснование точек контроля приведены в таблице 7. При соответствии показателей, промежуточную продукцию передают на стадию УМО-4.

Таблица 7. Контроль критических стадий

Наименование стадии	Критический параметр	Контрольная точка	Обоснование
ТП-1 Приготовление основы геля	Однородность основы	КТ 1	Подтверждение отсутствия нерастворимых компонентов гелеобразователя
ТП-2 Приготовление растворов	Прозрачность растворов	КТ 2	Подтверждение отсутствия нерастворимых компонентов

ТП-3 Приготовление геля с CeO_2 нч	Идентификация	КХ 3	Наличие экситона CeO_2 нч (УФ спектрофотометрия) $\lambda_{\text{max}} = 270-300$ нм, Нитрат церия (III) 0,002-0,005%
ТП-4 – МЛФ с 5-ФУ	Однородность основы	КТ 4	Подтверждение отсутствия нерастворимых компонентов геля
	Вязкость	КХ 4	3000-6000 мПа×с
	Микробиологическая чистота	КБ 4	Категория 2. Не более 10^2 КОЕ на 1,0 г геля.
	pH водного извлечения	КХ 4	7,0-7,4

Таким образом, на основании исследования цитотоксичности CeO_2 нч в их комбинации с 5-ФУ разработаны состав и технология гидрофильного комбинированного геля 5-ФУ и CeO_2 нч. Разработана спецификация показателей качества полученного геля, проведена валидация методики количественного определения 5-ФУ и высвобождения 5-ФУ из геля по показателям специфичность, правильность, прецизионность и линейность, результаты определения которой легли в основу технологической схемы производства геля.

Глава 4. Получение комбинированных гелей ксимедона с наночастицами оксида цинка и изучение их свойств

На первой стадии технологии изготовления комбинированного геля проведена “защита” или иммобилизация ксимедона на ZnO нч, предотвращающая агрегацию наночастиц. Процесс проводили путём сорбции из водного раствора ксимедона.

Образцы идентифицировали УФ и ИК-спектрофотометрией и рентгеновской дифрактометрией. В ИК-спектрах присутствовали полосы, характерные для ксимедона - ν , cm^{-1} : 3209 (-OH, -NH); 3100-2500 (-CH, -CH₂, -CH₃); 1606, 1659 (C=O, амид I, амид II), и полосы наноразмерных частиц оксида цинка: ν , cm^{-1} , 3274 (-OH); 452 (Zn-O). В УФ-спектрах образцов ZnO нч с иммобилизованным ксимедоном наблюдалась полоса поглощения экситона, характерная для полупроводниковых оксидов металлов в области 320-360 нм. Рентгенограммы полученных образцов содержали рефлексы, присущие ZnO нч (а) со структурой вюрцита - 2 Θ , град.: 32,02(100); 34,48(002); 36,76(101); 47,68(102); 56,41(110), и рефлексы, отражающие кристаллическую структуру ксимедона (в) - 2 Θ , град.: 13,12; 14,84; 19,86; 24,08; 30,76; 37,41; 44,26.

Таким образом, нами получены ZnO нч, с иммобилизованным ксимедоном, пригодные для введения в гидрофильную основу полиакрилатного геля.

Для **выбора гелеобразователя** были исследованы Na-КМЦ, пектины и карбомеры марки U-10, Carbopol® 980 NF, Carbopol® 940 NF растворением навески гелеобразователя в 100 мл воды очищенной при перемешивании. Выявлено, что гелеобразователь (Карбопол

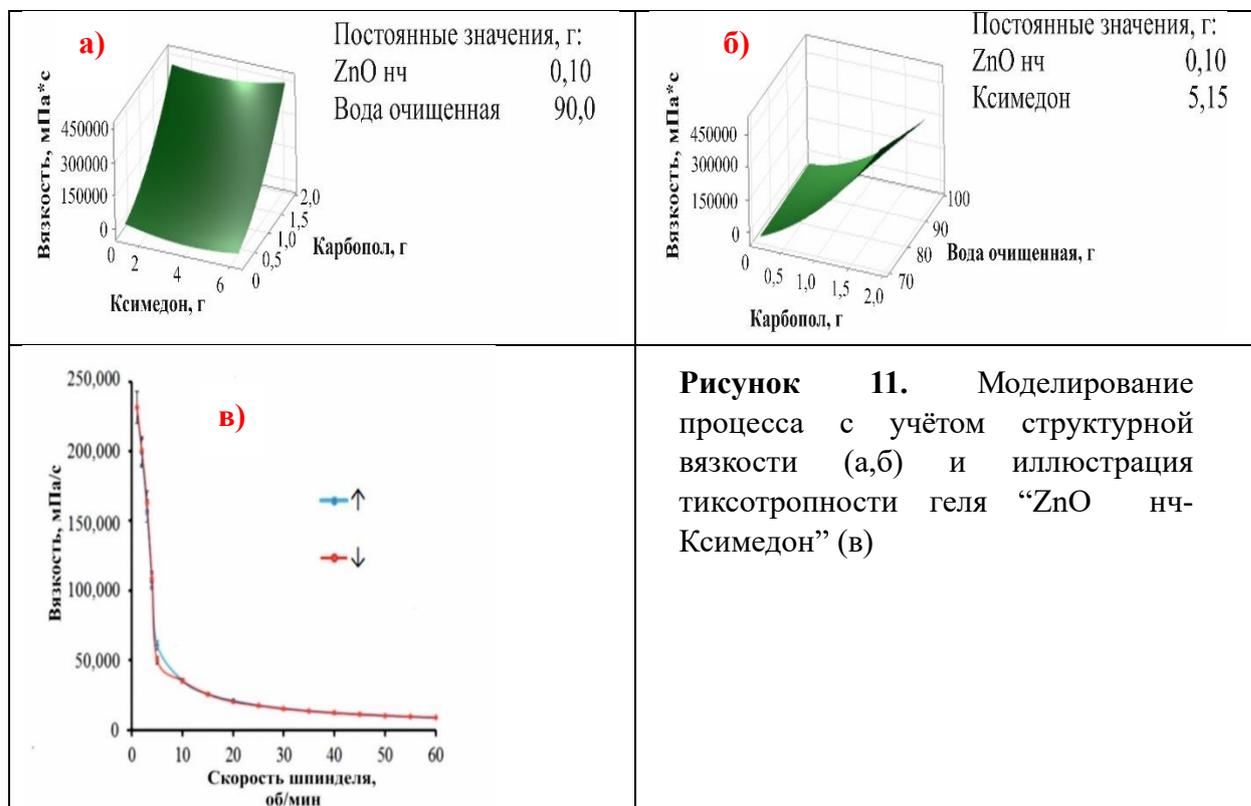
974P NF) в концентрации выше 1,0% обеспечивал образование вязких гелей, структурная вязкость которых изменялась от 8000 до 250000 мПа*с при изменении скорости шпинделя от 1 до 60 об./мин. В интервале концентраций от 0,5 до 1,0% гель оставался прозрачным и однородным, хорошо гомогенизировался, и не вызывал окисление ксимедона.

Гель ксимедона с ZnO нч на основе карбопола 974P NF был приготовлен последовательного введения раствора ксимедона в водную 1% дисперсию набухшего карбопола 974P NF, затем загрузкой ZnO нч с иммобилизованным ксимедоном при непрерывном перемешивании при комнатной температуре в течение 30 минут (Рисунок 10)



Рисунок 10. Схематическая иллюстрация приготовления комбинированной МЛФ ксимедона с ZnO нч

Величина pH водного извлечения из геля была в интервале 7,0-7,4. Структурная вязкость геля (рисунок 11) имела значение от 8000 до 250000 мПа*с. Практическое отсутствие петли гистерезиса на зависимость “вязкость – скорость вращения шпинделя” характеризует предлагаемый гель как тиксотропный: площадь под кривой при сжатии и растяжении были равны 260957 и 262261, соответственно



В таблице 8 приведены изучаемые составы гелей. Показано, что оптимальным составом, сохраняющий стабильность в течение 2-х лет, является состав №2, содержащий 5,0 % ксимедона и 0,1% ZnO нч.

Таблица 8. Состав гелей ксимедона с наночастицами оксида цинка

№ Компонент	Содержание, г				
	1	2	3	4	5
Ксимедон	5,0	5,0	5,0	2,5	5,0
ZnO нч	0,05	0,1	0,1	0,1	-
Карбопол 974P NF	1,0	1,0	1,5	1,0	1,0

Воды очищенной до 100,0 г

Общая концентрация ксимедона в геле равна 5%, из них 4% вводится в виде раствора в основу, а 1% - используется на иммобилизацию ZnO нч.

В целом, следует отметить, что введение суспензии ZnO нч с иммобилизованным ксимедоном в гидрофильную основу геля, содержащей карбопол, позволяет получить комбинированную МЛФ с удовлетворительными тиксотропными свойствами.

Оценка высвобождения проводилась с использованием ячейки Франца объемом 12,71 мл. Для валидации теста “Растворение” нами проведена валидация УФ-спектральной методики количественного определения ксимедона в гелях. **Специфичность** методики определялась по соответствию интенсивности поглощения растворов пробы из акцепторной камеры с интенсивностью поглощения раствора стандартного образца ксимедона известной концентрации в присутствии следов карбопола, измеренного в идентичных условиях на одном и том же приборе. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) отдельного результата не превышало 2,0%, что удовлетворяет показателю **специфичность** (таблица 9). Таким образом, методика удовлетворяет критерию специфичности.

Таблица 9. Оценка специфичности количественного определения ксимедона в гелях УФ-спектральным методом в присутствии примесей – соединений цинка.

Образец	Интенсивность поглощения растворов ксимедона, усл.ед.			Среднее значение интенсивности поглощения, усл.ед.	SD	RSD, %
	0,102	0,106	0,105			
Ксимедон в пробе	0,102	0,106	0,105	0,104	$2,12 \times 10^{-3}$	1,99
Стандарт ксимедона	0,221	0,220	0,228	0,223	$3,37 \times 10^{-3}$	1,51
ZnO (0,001%)	0	0	0	0	0	0

Правильность оценивали по относительному отклонению RSD, % на основании сравнения фактического и заданного количества стандарта. Метод удовлетворяет критериям правильности, так как относительное отклонение измеренного фактического значения ксимедона от истинного значения стандарта ксимедона не превышает $\pm 2,0\%$.

Линейность методики определяли для серии растворов ксимедона (с концентрациями в диапазоне линейности от 0,01 до 0,7 мг/мл). Зависимость интенсивности поглощения от концентрации имел вид $Y=aX+b$, коэффициент корреляции $R^2=0,9984$, что подтверждает линейность методики. Предел обнаружения ксимедона составлял 0,05 мг/мл. Для определения **прецизионности** (повторяемости и воспроизводимости) мы проводили

многokrатно испытания при соблюдении следующих условий. При определении повторяемости проводили измерения количества ксимедона в пределах короткого промежутка времени в одной и той же лаборатории с использованием одного и того же прибора в лаборатории НИИ Химии университета Лобачевского. Прецизионность методики подтверждалась, поскольку коэффициент вариации составлял не более 2,0%. Метрологические характеристики количественного определения ксимедона в гелях представлены в таблице 10.

Таблица 10. Метрологические характеристики количественного определения ксимедона в гелях УФ-методом

t , мин	X_{cp} , мкг	S^2	S	$t(P, f)$	ΔX	$RSD, \%$
80	4765	8848	94	2,45	$\pm 88,4$	1,9
140	5784	12763	113	2,45	$\pm 105,3$	1,9
200	7938	25536	160	2,45	$\pm 149,5$	1,9
320	8113	28023	167	2,45	$\pm 156,9$	1,9
440	8596	29412	172	2,45	$\pm 161,7$	1,9

Таким образом, предлагаемая методика количественного определения ксимедона в геле с наночастицами оксида цинка соответствует валидационным характеристикам по показателям линейности, правильности, прецизионности, специфичности и может быть использована для количественного определения высвободившегося ксимедона. На рисунке 12 представлены зависимость количества ксимедона (Q_t , мкг/см²), высвободившегося из геля ZnO нч-Ксим в акцепторную камеру объёмом 12,71 мл от времени (t , мин): через гидрофильную ацетилцеллюлозную мембрану (кривая 1), через липидную мембрану (кривая 2).

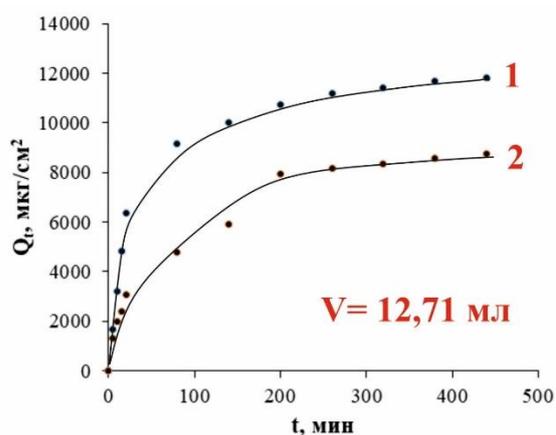


Рисунок 12. Зависимость высвобождения ксимедона (Q_t) от времени через ацетилцеллюлозную мембрану (1) и через липидную мембрану (2) из геля ZnO нч-Ксимедон ($n=7$)

Математическое моделирование процесса показало, что высвобождение ксимедона подчиняется уравнениям Корсмейера-Пеппаса.

В целом, можно ответить, что разработанная нами методика приготовления геля ксимедона с ZnO нч позволяет получить состав геля, контроль качества которого обуславливает валидационные характеристики – линейность, прецизионность, специфичность, требуемые для методик количественного определения и подлинности и может быть рекомендован для фармацевтической разработки.

Технология получения комбинированного геля ксимедона с ZnO нч (рисунок 13) на этапе подготовки сырья включала формирование навесок действующих и вспомогательных веществ в количестве, необходимых для приготовления геля. Приготовление основы геля ТП-1 осуществляют путем набухания гелеобразователя карбопола в воде очищенной. На этапе ТП-2 отдельно готовятся следующие растворы: а) ксимедон растворяют в воде очищенной; б) приготовление суспензии ZnO нч в растворе ксимедона. На стадии ТП-3 к основе геля добавляют растворы, полученные на этапе ТП-2 при тщательном перемешивании. При получении геля отбираются пробы на контроль по таким показателям, как вязкость и рН. При соответствии показателей, промежуточную продукцию передают на стадию УМО-4.



Рисунок 13. Технологическая схема производства геля ксимедона с ZnO нч

Разработана спецификация показателей качества МЛФ ZnO нч-ксимедон (Таблица 11)

Таблица 11. Спецификации показателя качества геля ZnO нч-ксимедон

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Визуальный	однородная, слегка опалесцирующую дисперсия легкого желтого оттенка.
Подлинность	УФ	Появление полосы поглощения ксимедона при $\lambda_{\max} = 299-300$ нм
Вязкость	ОФС.1.2.1.0015.15 Вязкость	8000-250000 мПа×с
рН раствора	ОФС.1.2.1.0004.15 Ионметрия	7,0-7,4
Количественное определение	УФ-спектрофотометрия	Не менее 95,0% и не более 101,0%
Микробиологическая чистота	ОФС.1.2.4.0002.15	Категория 2
Упаковка	В соответствии с НД	
Маркировка	В соответствии с НД	
Хранение	В оригинальной упаковке в защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С	

Срок годности	2 года
---------------	--------

Биологическая активность ранозаживляющего геля ксимедона с ZnO нч была изучена на модели ожоговой раны. Уменьшение площади ожога при лечении гелем ZnO нч–ксимедон (на 48%) было более значительным, чем при лечении гелем ZnO нч (на 31%) и положительным контролем - мазью Метилурацила (на 40%) (Таблица 12)

Таблица 12 Изменение площади раны во время лечения

Группа	Площадь ожога			
	День 0		День 10	
	см ²	%, контроль	см ²	%, контроль
Ожог	23,97±0,54	100	18,48±0,35	77
Метилурацил	25,03±0,48	100	15,01±0,39	60
Гель ZnO нч–Ксим	24,45±0,25	100	12,75±0,54	52
Гель ZnO нч	24,67±0,23	100	16,94±0,27	69

Активность ЛДГ_{пр.} под действием геля ZnO нч–ксимедон была на 22% выше, чем при обработке Метилурацилом® и на 31% по сравнению с гелем ZnO нч. Активность ЛДГ_{обр.} при обработке крыс гелем ZnO нч–ксимедон снизилась на 43% по сравнению с гелем Метилурацила® и на 34% по сравнению и гелем ZnO нч. Такая пластичность в регуляции метаболических процессов имеет важное значение в условиях гипоксии при ожоговой травме. Активность АлДГ, которая участвует в снижении окислительного стресса, в том числе утилизации МДА в эритроцитах, увеличилась на 24–25% при обработке гелем Метилурацил® и ZnO нч–Ксим и на 10% при обработке гелем ZnO нч. Уровень МДА в эритроцитах существенно не изменился при обработке гелем Метилурацил® и ZnO нч–Ксим и остался близким к активности АлДГ в группе «Ожог без лечения», но уровень МДА_{эр.} увеличился на 15%. Активация специфических антиоксидантных ферментов, таких как СОД, каталаза и ГР, наблюдалась в группе положительного контроля (мазь Метилурацил®), группе геля ZnO нч и экспериментальной группе (гель ZnO нч–ксимедон)

Заключение

В работе разработаны подходы получения дермальных мягких лекарственных форм хорошо растворимых в воде оксопиримидинов – ксимедона и 5-фторурацила. Предложены составы и технология получения комбинированных гелей оксопиримидинов с наночастицами оксидов металлов: ранозаживляющий гель ксимедона с наночастицами оксида цинка и противоопухолевый гель 5-фторурацила с наночастицами оксида церия. Эффективность мягких лекарственных форм подтверждена биологическими экспериментами и оценкой высвобождения оксопиримидинов.

Выводы

1. Патентно-информационные исследования по разработке технологии и состава мягких лекарственных форм полярных пиримидиновых соединений – ксимедона и 5-фторурацила, показали низкую эффективность гелей и мазей, не имеющих компонентов системы доставки. Наночастицы оксидов металлов, такие как наночастицы оксида цинка и церия, способны не только выступать в качестве носителей полярных молекул, но и действовать в синергизме с основным фармакологическим эффектом. Данные о составах и технологии

получения комбинированных мягких лекарственных форм для ксимедона и 5-фторурацила практически отсутствуют, нет отечественных препаратов на фармацевтическом рынке.

2. На основании исследования цитотоксичности наночастиц оксида церия и их комбинаций с 5-фторурацилом на клеточных линиях меланомы (В16), колоректального рака (НСТ116) показана возможность создания комбинированных лекарственных средств, при этом IC_{50} (мкмоль) снижалась с 10,1 мкмоль/л до 6 мкмоль/л по отношению к 5-фторурацилу и уменьшалось с 219 мкг/мл до 89 мкг/мл по отношению к наночастицам оксида церия.
3. Разработана методика синтеза наночастиц оксида церия в матрице полисахарида методом окислительного осаждения аминспиртом – меглюмином, используя в качестве прекурсора нитрат церия (III), при температуре 60 градусов в течение 40 минут. Методами рентгеновской дифрактометрии, РФЭС, УФ и ИК-спектроскопии, элементного анализа (ИСП) доказано образование наночастиц оксида церия в матрице полисахарида.
4. Разработан и оптимизирован состав комбинированной мягкой лекарственной формы 5-фторурацилом с наночастицами оксида церия на основе гидроксиэтилцеллюлозы: (%): ГЭЦ -1,6; SeO_2 нч – 0,08; 5-ФУ – 1,0; меглюмина – 0,87; воды очищенной до 100,0.
5. Разработана технология получения стабильной мягкой лекарственной формы “ SeO_2 нч-5-ФУ”, включающий введение раствора 5-фторурацила в гелевую основу с наночастицами оксида церия и предложена технологическая схема производства.
6. Разработаны спецификации показателей качества 5-фторурацила, SeO_2 нч и геля “ SeO_2 нч-5-ФУ” (подлинность, количественное определение 5-фторурацила, рН, вязкость), валидация методики оценки высвобождения по показателям специфичность, линейность, правильность, повторяемость, аналитическая область, результаты которой легли в основу технологической схемы производства геля “ SeO_2 нч-5-ФУ”.
7. Разработан состав ранозаживляющего стабильного комбинированного гидрофильного геля ксимедона с наночастицами оксида цинка на основе карбопола 974Р NF состава, (%): ксимедон – 5,0; ZnO нч – 0,1; Карбопол 974Р NF – 1,0; вода очищенная до 100,0 и спецификации показателей качества ксимедона в мягкой лекарственной форме.
8. Разработана технологическая схема производства мягкой лекарственной формы ксимедона с наночастицами оксида цинка. Высвобождение ксимедона из комбинированного геля составляло 80%, что на 25% больше, чем в геле в отсутствие наночастиц оксида цинка. Валидация методики оценки высвобождения ксимедона с использованием ячейки Франца показала, что методика удовлетворяет требованиям по показателям линейности, правильности, специфичности, прецизионности.
9. Продемонстрированы антиоксидантные и высокие ранозаживляющие свойства мягкой лекарственной формы ксимедона с наночастицами оксида цинка на модели ожоговой раны на крысах. Уменьшение площади ожога при лечении гелем ZnO нч-Ксим (на 48%) было более значительным, чем при лечении гелем ZnO нч (на 31%) и мазью Метилурацила (на 40%).

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах перечня рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации, рекомендованные ВАК Минобрнауки России

1. Шеферова, А. А. Исследование способности наночастиц оксида церия к окислению и адсорбции органических красителей / А. А. Шеферова, В. Ж. Корокин, Хайдер Аль-Аззави, **И. А. Шеферов**, Е. А. Захарычев, И. В. Спицкая, Н. Б. Мельникова, А. И. Сливкин // Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2025. – № 1. – С. 45-57.

2. Мельникова, Н. Б. Оценка высвобождения лекарственных веществ из мягких лекарственных форм и прогнозирование проницаемости через кожный барьер (обзор) / Н. Б. Мельникова, **И. А. Шеферов**, А. А. Емашева, А. А. Шеферова, Д. А. Пантелеев, А. И.

Сливкин // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2024. – Т. 13, № 3. – С. 52-65.

3. Melnikova, N. Design and Study of Nanoceria Modified by 5-Fluorouracil for Gel and Polymer Dermal Film Preparation / N. Melnikova, **I. Sheferov**, D. Panteleev, A. Emasheva, I. Druzhkova, N. Ignatova, T. Mishchenko, M. Vedunova // *Pharmaceuticals*. – 2023. – Vol. 16, № 8. – P. 1-20.

4. **Sheferov, I.** The Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Properties and Burn Wound Healing Activity of Thixotropic Xymedone Gels / **I. Sheferov**, A. Balakireva, D. Panteleev, I. Spitskaya, S. Orekhov, O. Kazantsev, A. Solovyeva, D. Novopoltsev, N. Melnikova // *Scientia Pharmaceutica*. – 2022. – Vol. 90, № 61. – P. 1-17.

Другие публикации

5. **Sheferov, I.** Study of xymedone release from hydrogels with zinc oxide nanoparticles / **I. Sheferov**, A. Emasheva, A. Sheferova, D. Panteleev, A. Mitin, V. Kuzmichev, N. Melnikova // *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. – 2024. – Vol. 14, № 8. P. 43-48.

6. **Шеферов, И. А.** Синтез и свойства наночастиц оксида цинка с иммобилизованным оксопиримидином – ксимедоном / **И. А. Шеферов**, А. А. Балакирева // Сборник тезисов XXV Всероссийской конференции молодых учёных-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, 19-21 апреля 2022 года. – Нижний Новгород: Изд-во ННГУ им. Н. И. Лобачевского, 2022. – С. 37.

7. Космачева, К. Д. Физико-химические свойства наночастиц оксида церия с привитыми якорными группами для доставки лекарственных веществ / К. Д. Космачева, **И. А. Шеферов** // Сборник тезисов XXV Всероссийской конференции молодых учёных-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, 19-21 апреля 2022 года. – Нижний Новгород: Изд-во ННГУ им. Н. И. Лобачевского, 2022. – С. 88.

8. Сулейманова, А. Р. Возможности применения наночастиц оксида церия в медицине / А. Р. Сулейманова, Н. И. Игнатова, **И. А. Шеферов**, Н. Б. Мельникова, И. Н. Дружкова // Сборник тезисов 76-й Всероссийской школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление», Нижний Новгород, 11-14 апреля 2023 года. – Нижний Новгород: Изд-во ННГУ им. Н. И. Лобачевского, 2023. – С. 300

9. **Шеферов, И. А.** Влияние нанокластеров оксида церия в матрице производных целлюлозы на проницаемость 5-фторурацила из дерматологических пленок и гидрогелей / **И. А. Шеферов**, А. А. Балакирева, И. В. Спицкая, Н. Б. Мельникова // Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 15-летию создания фармацевтического отделения на факультете фундаментальной медицины МГУ «Образование и наука – стратегическая платформа для будущего фармации», Москва, 9 октября 2023 года. – Москва: РУДН, 2023. – С. 204-206.

10. Емашева, А. А. Влияние липофильности мембраны и пленкообразующего полимера в гелях на высвобождение 5-фторурацила из гидрофильных гелей с наночастицами оксида церия / А. А. Емашева, **И. А. Шеферов**, А. А. Шеферова // Сборник материалов Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2024», секция «Химия», Москва, 12-26 апреля 2024 года. – Москва: Перо, 2024. – С. 785.

11. **Шеферов, И. А.** Разработка и исследование плёнок для трансдермальной доставки 5- фторурацила, привитого к наночеррию / **И. А. Шеферов**, А. А. Емашева, А. А. Шеферова, Н. Б. Мельникова // Сборник тезисов XXVII Всероссийской конференции молодых ученых-химиков (с международным участием), Нижний Новгород, 16-18 апреля 2024 года. – Нижний Новгород: Изд-во ННГУ им. Н. И. Лобачевского, 2024. – С. 699.

12. **Шеферов, И. А.** Математическое моделирование кинетики высвобождения 5-фторурацила в *in vitro* экспериментах из дермальных гелей и пленок / **И. А. Шеферов**, А. А. Емашева, А. А. Шеферова, Д. А. Пантелеев, Н. Б. Мельникова // Сборник тезисов 6-й Российской конференции по медицинской химии, Нижний Новгород, 1-4 июля 2024 года. – Нижний Новгород: Изд-во ООО «Адмирал-принт», 2024. – С. 178.