

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского
Уральского отделения Российской академии наук**

На правах рукописи

Штанько Ирина Николаевна

**РАЗРАБОТКА ИММУНОТРОПНЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ МЕСТНОГО
ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ КРЕМНИЙ- И
КРЕМНИЙЦИНКСОДЕРЖАЩИХ ПРОИЗВОДНЫХ ГЛИЦЕРИНА**

14.04.02 – Фармацевтическая химия, фармакогнозия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
доктор химических наук,
старший научный сотрудник
Хонина Т.Г.

Пермь – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИММУНОТРОПНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)	12
1.1. Современные иммунотропные препараты	12
1.2. Глицеролаты кремния – перспективные прекурсоры в золь-гель синтезе новых лекарственных средств	27
1.2.1. Биологическая роль кремния в организме.....	27
1.2.2. Введение в золь-гель процесс	28
1.2.3. Глицеролаты кремния в золь-гель процессе	29
1.3. Моноглицеролат цинка – перспективное средство в разработке лекарственных препаратов с широким спектром фармакологической активности	36
1.3.1. Биологическая роль цинка в организме.....	36
1.3.2. Синтез и свойства моноглицеролата цинка.....	36
Выводы по главе 1	41
ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	43
2.1. Оборудование	43
2.2. Материалы и методы исследования	44
2.3. Фармакологические исследования	47
ГЛАВА 3. СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КРЕМНИЙЦИНКСОДЕРЖАЩИХ ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕЙ	52
3.1. Синтез кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей	52
3.2. Фармакологические исследования кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля	60
3.2.1. Острая токсичность.....	60
3.2.2. Местнораздражающее и алергизирующее действие	61
3.2.3. Антибактериальная активность (<i>in vitro</i>).....	61
3.2.4. Ранозаживляющая и регенерирующая активность (<i>in vivo</i>)	62
Выводы по главе 3.....	64

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА НОВЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕГО ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЯ И ИЗВЕСТНЫХ ИММУНОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ	66
4.1. Исследование фармацевтической совместимости иммунотропных веществ с кремнийсодержащим глицерогидрогелем	66
4.2. Первичные фармакологические исследования разрабатываемых фармацевтических композиций	74
4.2.1. Острая токсичность.....	74
4.2.2. Местнораздражающее и аллергизирующее действие	74
4.3. Выбор оптимальной фармацевтической композиции	75
Выводы по главе 4.....	78
ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ КРЕМНИЙЦИНКСОДЕРЖАЩЕГО ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЯ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ С ГАЛАВИТОМ.....	79
Выводы по главе 5.....	88
ГЛАВА 6. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА КРЕМНИЙЦИНКСОДЕРЖАЩЕГО ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЯ	89
6.1. Определение подлинности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля	89
6.2. Разработка и валидация методики количественного определения кремния и цинка.....	90
6.3. Разработка проекта ФСП на субстанцию теракис(2,3-диоксипропил)-орто- силикат-1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель.....	95
Выводы по главе 6.....	106
ГЛАВА 7. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ С ГАЛАВИТОМ НА КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕМ ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕ.....	107
7.1. Определение подлинности кремнийсодержащей композиции с галавитом..	107
7.2. Оптимизация и валидация методики количественного определения галавита в разрабатываемой фармацевтической композиции	107

7.3. Разработка проекта ФСП на препарат «мазь для местного применения с галавитом».....	111
Выводы по главе 7.....	119
ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ	120
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	122
ПРИЛОЖЕНИЕ	144

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АЭС – атомно-эмиссионная спектрометрия

ГФ XII – Государственная фармакопея РФ, 12 издание

ИК спектроскопия (спектр) – инфракрасная(ый) спектроскопия (спектр)

ИЛ – интерлейкин

ИНФ – интерферон

ИЭТ – изоэлектрическая точка

МДП – мурамилдипептид

МП – миелопептиды

МСМ – молекулы средней и низкой молекулярной массы

РСО – рабочий стандартный образец

РФА – рентгенофазовый анализ

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия

ТМОС – тетраметоксисилан

ТЭОС – тетраэтоксисилан

УГМУ – Уральский государственный медицинский университет

ФНО- α – фактор некроза опухоли- α

ФСП – Фармакопейная статья предприятия

ДАВ – диаминобензидин

CD – кластер дифференциации

MIF – фактор ингибиции миграции макрофагов

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Разработка новых лекарственных средств для местного лечения заболеваний кожи, мягких тканей и слизистых оболочек различной этиологии с использованием иммуностропных веществ приобретает особую актуальность, которая обусловлена резистентностью микроорганизмов к антибактериальным средствам, изменениями иммунных функций у населения из-за роста нарушений нейро-иммуно-эндокринных взаимодействий, наличием маскирующих форм иммунопатологий, обуславливающих прогрессирование патологии и терапевтическую толерантность. При этом отмечается, что местное использование иммуностропных средств часто является более эффективным, чем системное введение, когда возможны выраженные побочные эффекты.

Анализ научной и патентной литературы показывает, что в известных иммуностропных средствах для местного применения используют беталейкин, галавит, полиоксидоний, бестим, ронколейкин, тималин и другие. В качестве мазевых основ наиболее часто используют полисахаридные гелевые основы, а также смеси полиэтиленоксидов, гидрогенизированные жиры и другие. В качестве перспективной мазевой основы для средств топического применения могут быть использованы гидрогели на основе глицеролатов кремния [1]. За счет наличия эссенциального микроэлемента кремния в биологически доступной и активной форме, гели обладают выраженной ранозаживляющей, регенерирующей и транскутанной активностью. Транскутанная активность гелей позволяет не только использовать меньшие количества лекарственных добавок в фармацевтических композициях, в частности, иммуностропных веществ, но и усилить эффективность их действия за счет более глубокого проникновения в пораженные ткани.

Известны глицеролаты и других биогенных элементов. Так, моноглицеролат цинка обладает разнообразной фармакологической активностью: антибактериальной, противовирусной и дерматопротекторной [2]. При этом эссенциальный микроэлемент цинк в организме человека принимает участие во

многих ферментативных реакциях, повышает устойчивость к инфекционным заболеваниям, принимает непосредственное участие в формировании Т- и В-клеточного иммунитета, препятствует возникновению иммунодефицитов, стимулируя синтез антител.

Таким образом, создание новых иммуотропных средств для местного применения с использованием глицеролатов эссенциальных элементов, в частности, кремния и цинка, а также разработка новых фармацевтических композиций с использованием известных иммуотропных веществ является актуальной задачей.

Цель работы

Создание новых иммуотропных средств для местного применения на основе глицеролатов кремния и цинка.

Задачи исследования

1. Разработать метод синтеза биологически активных кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей на основе глицеролатов кремния и цинка; выбрать оптимальный состав геля.

2. Показать на основе первичных фармакологических исследований безопасность применения и эффективность действия нового кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля оптимального состава.

3. Создать новые фармацевтические композиции для местного применения на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и известных иммуотропных веществ (галавита, беталейкина, полиоксидония).

4. Провести сравнительную оценку фармакологической, в том числе, иммуотропной, активности разрабатываемых средств; выбрать наиболее перспективные составы для стандартизации.

5. Разработать и валидировать методику количественного определения кремния и цинка в кремнийцинксодержащем глицерогидрогеле. Разработать проект ФСП на субстанцию тетраакис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат-1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель.

6. Оптимизировать и валидировать методику количественного определения активного компонента (галавита) в разрабатываемой фармацевтической композиции. Разработать проект ФСП на препарат «мазь для местного применения с галавитом».

Научная новизна работы

1. Впервые синтезированы биологически активные кремнийцинксодержащие глицерогидрогели с использованием в качестве прекурсоров глицеролатов кремния и цинка.

2. Показано, что кремнийцинксодержащий глицерогидрогель оптимального состава нетоксичен, обладает выраженной ранозаживляющей, регенерирующей активностью и антибактериальным действием.

3. Предложен ряд фармацевтических композиций для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний с использованием известных иммуностропных веществ (галавита, беталейкина, полиоксидония) в качестве активных лекарственных добавок и кремнийсодержащего глицерогидрогеля – в качестве основы композиций. На основании фармако-технологических характеристик выбрана оптимальная композиция с содержанием в качестве активного компонента галавита.

4. Изучена фармакологическая эффективность кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля в обеспечении иммунозависимых функций в сравнении с фармацевтической композицией с галавитом на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля. Показано, что по иммуностропной активности кремнийцинксодержащий глицерогидрогель не уступает фармацевтической композиции с галавитом.

Практическая значимость работы и внедрение результатов исследования

Новый кремнийцинксодержащий глицерогидрогель с широким спектром фармакологической активности представляет интерес в качестве потенциального лекарственного средства для местного применения в стоматологии и дерматологии. Разработаны и валидированы методики количественного

определения кремния и цинка в геле; разработан проект ФСП на субстанцию тетраакис(2,3-диоксипропил)-*орто*-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель.

Новая фармацевтическая композиция с галавитом на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля может быть рекомендована для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний. Оптимизирована и валидирована методика количественного определения галавита в композиции; разработан проект ФСП на препарат «мазь для местного применения с галавитом».

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы были представлены на 4-х международных и 11-и российских конференциях: XI Андриановской конференции «Organosilicon compounds. Synthesis, properties, applications» (Moscow, 2010), II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Ученые Урала и Сибири – развитию отечественной фармации: от синтеза до инновационных лекарственных средств» (Новосибирск, 2011), Ежегодной конференции «Фармация и общественное здоровье» (Екатеринбург, 2011, 2012, 2014), X Конференции иммунологов Урала (Тюмень, 2012), Евразийском Конгрессе «Медицина, фармация и общественное здоровье» (Екатеринбург, 2013), XVIII Международном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Лондон, Великобритания, 2013), IX Всероссийской конференции «Химия и медицина» (Уфа, 2013), Объединенном иммунологическом форуме (Нижний Новгород, 2013) 15th International Congress of Immunology (ICI), (Milan, Italy, 2013), 12th China – Russia Symposium on Advanced Materials and Technologies (Kunming, China, 2013), Уральском научном форуме «Современные проблемы органической химии» (Екатеринбург, 2014), юбилейной научно-практической конференции «Современные проблемы иммунофармакологии, биотехнологии и цитокиновой регуляции» (Санкт-Петербург, 2014), III международной конференции стран СНГ «Золь-гель синтез и

исследование неорганических соединений, гибридных функциональных материалов и дисперсных систем» (Суздаль, 2014).

Связь задач исследования с проблемным планом научных работ

Диссертационная работа выполнена как часть плановых научно-исследовательских работ, проводимых в Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского УрО РАН (тема гос.рег. № 01201254098), программы Президиума РАН №№ 09-П-3-2001, 12-П-3-1030 и Уральского отделения РАН №№ 12-М-34-2071, 13-3-ИП-676.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Научные положения диссертационной работы соответствуют формуле специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки). Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 1, 2 и 3 паспорта «фармацевтическая химия, фармакогнозия».

Личное участие автора в получении научных результатов

Автором проведен анализ литературных данных, синтезированы новые кремнийцинксодержащие глицерогидрогели, а также получены новые иммуностропные средства на кремнийсодержащем глицерогидрогеле. Разработаны методики контроля качества двух наиболее перспективных для внедрения в медицинскую практику средств, проведена валидация методик количественного определения активных компонентов, разработаны соответствующие проекты ФСП. Диссертант принимал непосредственное участие в обсуждении и обобщении полученных результатов, формулировке выводов по теме диссертации и написании научных статей.

Фармакологические исследования были выполнены совместно с д.м.н., профессором кафедры фармакологии и клинической фармакологии Уральского государственного медицинского университета (УГМУ) Ларионовым Л.П. Сравнительная оценка иммуностропных свойств разрабатываемых средств была проведена совместно с аспирантом кафедры фармакологии и клинической фармакологии УГМУ Сахаутдиновой Р.Р.

Публикации. По теме диссертации получено 2 патента на изобретения, опубликовано 11 статей, из них 4 – в изданиях Перечня ВАК, 10 тезисов докладов.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора (глава 1), экспериментальной части (главы 2 – 7), общих выводов, списка литературы (145 наименований), приложения. Диссертационная работа изложена на 147 страницах машинописного текста, содержит 37 рисунков, 5 схем и 18 таблиц.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Синтез новых биологически активных кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей; выбор оптимального состава геля и первичная оценка фармакологической активности.
2. Создание новых фармацевтических композиций для местного применения на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и известных иммуностропных средств; выбор наиболее перспективного состава.
3. Сравнительная оценка фармакологической, в том числе, иммуностропной, активности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и фармацевтической композиции с галавитом на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля.
4. Разработка методик контроля качества кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и фармацевтической композиции с галавитом; валидация методик количественного определения активных компонентов и разработка соответствующих проектов ФСП.

ГЛАВА 1. СОВРЕМЕННЫЕ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ ИММУНОТРОПНЫЕ ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Современные иммуностропные препараты

Данные эпидемиологических и статистических исследований последних лет свидетельствуют о значительном ухудшении здоровья населения [3]. Неуклонно увеличивается число хронических воспалительных, аллергических, аутоиммунных, эндокринных и других заболеваний.

Современную патологию можно охарактеризовать двумя взаимосвязанными процессами: увеличением числа хронических инфекционно-воспалительных заболеваний, вызываемых условно-патогенными или оппортунистическими микроорганизмами, и изменениями иммунных функций у населения из-за роста нарушений нейро-иммуно-эндокринных взаимодействий. Использование в терапии хронических инфекционно-воспалительных заболеваний только антибактериальных лекарственных средств не приводит к достижению желаемого эффекта, поскольку они лишь подавляют размножение микроорганизмов. Конечная элиминация возбудителей заболевания из организма осуществляется по средствам факторов иммунитета. Кроме того, длительное неконтролируемое применение антибиотиков способствует подавлению иммунных функций организма, что приводит к снижению эффективности не только их действия, но и других лекарственных средств (противовирусных, противогрибковых и др.).

В связи с этим в настоящее время резко возрос интерес к иммуностропным препаратам. Иммуностропные лекарственные препараты – средства, лечебный эффект которых связан с преимущественным или селективным действием на иммунную систему организма [4]. По принципу действия на иммунную систему различают три основные группы иммуностропных препаратов: иммуномодуляторы, иммуностимуляторы и иммуносупрессоры [4].

Иммуномодуляторы – лекарственные препараты, восстанавливающие в терапевтических дозах функции иммунной системы (эффективную иммунную защиту).

Иммуностимуляторы – лекарственные препараты, повышающие активность того или иного звена иммунитета, доводя пониженные показатели до нормальных значений.

Иммуносупрессоры (иммунодепрессанты) – лекарственные препараты, подавляющие функции иммунной системы.

Поскольку иммуносупрессоры, как правило, используют при аутоиммунных заболеваниях и трансплантации органов и тканей, в настоящей работе данный класс веществ не рассматривается. Основное внимание уделено иммунотропным препаратам, относящимся к иммуномодуляторам и иммуностимуляторам.

В настоящее время не существует единого подхода к классификации иммунотропных препаратов. В данной работе рассматривается классификация, основанная на их делении по происхождению.

На сегодняшний день по происхождению выделяют 7 основных групп иммунотропных препаратов [4, 5]:

- микробные (естественные и полусинтетические);
- тимические (естественные и синтетические);
- костномозговые (естественные);
- цитокины (естественные и рекомбинантные);
- нуклеиновые кислоты (естественные и синтетические);
- растительные;
- химически чистые (низкомолекулярные и высокомолекулярные).

Поиск и создание иммунотропных препаратов начались с бактериальных антигенов, которые в организме человека и высших животных являются главными активаторами врожденного и индукторами приобретенного иммунитета (экзогенные препараты). Другое направление в разработке иммунотропных лекарственных средств связано с использованием веществ, которые образуются в результате иммунного ответа и в последующем осуществляют его регуляцию (эндогенные препараты).

Иммунотропные препараты микробного происхождения

Иммунотропные препараты микробного происхождения (экзогенные препараты), условно можно подразделить на три поколения. В начале 50-х гг XX в. в США и странах Европы впервые в качестве иммуностимулятора для медицинского применения была разрешена вакцина БЦЖ, которая усиливала факторы и врожденного, и приобретенного иммунитета. Она использовалась для активации противоопухолевого иммунитета и лечения злокачественных заболеваний. Однако, выраженный клинический эффект при использовании вакцины БЦЖ достигался только при лечении рака мочевого пузыря.

Также к препаратам первого поколения относят пирогенал и продигиозан (полисахариды бактериального происхождения), применявшиеся для стимуляции противобактериального иммунитета, но в связи с их высокой пирогенностью и другими побочными эффектами в настоящее время используются редко.

К микробным иммунотропным препаратам второго поколения относятся лизаты бактерий (бронхо-мунал, бронхо-ваксом, ИРС-19, имудон) и содержащий рибосомы основных возбудителей респираторных инфекций *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae* препарат рибомунил.

Имудон, благодаря специфическому антимикробному и противовоспалительному действию, увеличивает содержание лизоцима в слюне, активизирует фагоцитоз, увеличивает количество В-лимфоцитов, стимулирует синтез антител. В форме таблеток для рассасывания применяется для лечения и профилактики инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта и глотки: фарингита, пародонтоза, пародонтита, гингивита и стоматита. Также известно использование имудона в форме мази на основе тизоля, которую наносят тонким слоем на область увеличенных слюнных желез при диагностике и лечении сиалоденита, хронического тонзиллита [6, 7]. В ортопедической стоматологии имудон используется в виде тонкой эластичной пленки, наносимой под протез для сокращения сроков адаптации к съемным протезам и регуляции местного иммунитета ротовой полости [8].

Использование экстрактов бактерий в качестве иммуностимуляторов также разрешено и в Западной Европе, например, пицибанил (лиофилизированный препарат слобовирулентного штамма *Streptococcus pyogenes*) и биостим (экстракт очищенных гликопротеинов из *Klebsiella pneumoniae*).

При исследовании различных клеточных компонентов БЦЖ было выявлено, что мурамилдипептид (МДП), минимальный компонент пептидогликана клеточной стенки бактерий, обладает наибольшим иммуностимулирующим эффектом. Однако, ввиду высокой пиррогенности МДП не используется в медицине. Тем не менее, были синтезированы его аналоги, не обладающие пирогенной активностью, но сохраняющие иммуностимулирующее действие. Например, к таким средствам относится препарат ликолипид (третье поколение иммуномодуляторов микробного происхождения), состоящий из естественного дисахарида глюкозаминилмурамила и присоединенного к нему синтетического дипептида L-аланил-D-изоглутамина. Препараты мурамилпептидного ряда разрабатываются не только в России. Так, в Японии зарегистрирован препарат ромуртид, являющийся МДП с присоединенной к нему стеариновой кислотой через аминокислоту лизин. Препарат предназначен для восстановления лейкопоза и иммунитета после радио- и химиотерапии у онкологических больных.

Иммуотропные препараты микробного происхождения в организме человека способствуют усилению фагоцитоза и повышают продукцию провоспалительных цитокинов. В результате увеличивается продукция антител и активируется образование антиген-специфических Т-хелперов и Т-киллеров.

Иммуотропные препараты тимического происхождения

Иммуотропные препараты эндогенного происхождения условно подразделяют на иммунорегуляторные пептиды и цитокины. Иммунорегуляторные пептиды были выделены из тимуса и костного мозга группой ученых под руководством академика Р.В. Петрова для создания на их основе препаратов, восстанавливающих клеточный и гуморальный иммунитет.

Предпосылкой к их разработке стало открытие пептидных гормонов тимуса (семейство тимозинов, тимопоэтинов и сывороточный тимический фактор тимулин), которые, попадая в кровь, активируют рост и пролиферацию лимфоидных клеток.

Тактивин – первый отечественный тимический препарат, полученный из тимуса крупного рогатого скота и представляющий собой комплекс пептидов. К подобным препаратам относятся также тималин, тимоптин, тимостимулин и вилозен и др. За рубежом в данный класс препаратов входят тимостимулин, тимомодулин, тимуровак [4].

Некоторые из этих препаратов используют в местной терапии. Например, тималин применяют в терапевтической стоматологии для пломбирования канала при осложненном кариесе у детей [9], а также в виде зубных паст и гелей для лечения гингивита и периапикальных гранулем [10, 11]. В составе с коллагеном и цитохромом С тималин применяется в качестве ранозаживляющего средства в виде однослойных или двухслойных губок для местного лечения гнойных ран [12].

Терапевтическая эффективность тимических препаратов первого поколения довольно высока, но ввиду того, что они являются трудноразделимой смесью биологически активных пептидов, их сложно стандартизовать.

Второе и третье поколение лекарственных средств тимического происхождения являются синтетическими аналогами α_1 -тимозина и тимопоэтина (естественные гормоны тимуса) или их фрагментов, проявляющих биологическую активность. На основе одного из фрагментов тимопоэтина были созданы тимопентин, зарегистрированный за рубежом, и отечественный гексапептид иммунофан, включающий 32–36 аминокислотных остатков активного центра тимопоэтина.

Одним из направлений в разработке новых синтетических тимических иммуномодулирующих препаратов стало изучение активных компонентов комплекса пептидов и экстрактов из тимуса. При исследовании состава лекарственного средства тималина был обнаружен дипептид с выраженной

иммуотропной активностью, состоящий из триптофана и глутамина, ставший основой для создания синтетического препарата тимогена (альфа-глутамил-триптофана). Синтетическим препаратом, близким к тимогену, является бестим, состоящий из таких же аминокислот, но отличающийся от него наличием γ -пептидной связью и присутствием D-глутамина (в тимогене L-глутамин) [4].

Иммуномодуляторы тимического происхождения, главным образом, влияют на активность Т-лимфоцитов. При исходно пониженных показателях данные препараты повышают количество Т-клеток и их функциональную активность.

Иммуотропные препараты тимического происхождения используют для лечения различных кожных заболеваний: экзем, псориаза, атопического дерматита, акне, кератоза, базальной клеточной карциномы [13].

Иммуотропные препараты костномозгового происхождения

Первым препаратом этого класса стал миелопид, состоящий из комплекса биорегуляторных пептидных медиаторов – миелопептидов (МП), продуцируемых клетками костного мозга свиньи, с молекулярной массой 500–3000 дальтон. Выявлено, что в его состав входит 6 МП, обладающих определенным биологическим эффектом. Изначально предполагалось, что иммуномодулирующие препараты костномозгового происхождения будут обладать преимущественным эффектом на развитие гуморального иммунитета. Однако при дальнейшем изучении было выявлено, что они воздействуют на разные звенья иммунной системы в зависимости от входящего в их состав МП. Например, МП-1 усиливает функции Т-хелперов, МП-2 обладает способностью подавлять пролиферацию злокачественных клеток и снижать продукцию опухолевыми клетками токсических веществ, МП-3 стимулирует фагоцитарную активность лейкоцитов, а МП-4 способствует дифференцировке стволовых клеток. Аминокислотная последовательность всех МП полностью расшифрована, что является основой для создания новых синтетических препаратов костномозгового происхождения. Так, препарат серамил, разработанный на

основе МП-3, обладает антибактериальной активностью; препарат бивален на основе МП-2 – противоопухолевым действием [4].

Мишенью для иммуномодуляторов костномозгового происхождения преимущественно являются В-лимфоциты. Использование этих препаратов при нарушениях иммуно- или гемопоэза приводит к активации митотической активности клеток костного мозга и их дифференцировки в сторону зрелых В-лимфоцитов. В силу наличия у некоторых иммуномодуляторов костномозгового происхождения МП-1, оказывающего влияние на Т-хелперы, при их использовании наблюдается усиление дифференцировки костномозговых клеток в сторону зрелых Т-лимфоцитов.

Иммуностропные препараты цитокинового происхождения

В организме человека развившийся иммунный ответ регулируется по средствам сложных комплексов эндогенных иммунорегуляторных молекул – цитокинов, служащих основой для разработки естественных и рекомбинантных иммуностропных препаратов. Лейкинферон и суперлимф относятся к естественным иммуномодулирующим препаратам, беталейкин и ронколейкин – к рекомбинантным.

Лейкинферон является комплексом цитокинов I фазы иммунного ответа в их естественном соотношении, выработка которых индуцируется *in vitro* вакцинным штаммом вируса болезни Ньюкастла в лейкомассе здоровых доноров. В его состав входят интерлейкин-1 (ИЛ-1), ИЛ-6, ИЛ-8, фактор ингибиции миграции макрофагов (MIF), фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), комплекс интерферонов- α .

Суперлимф является комплексом естественных цитокинов, продуцируемых *in vitro* при индукции мононуклеаров периферической крови свиней Т-митогеном – фитогемагглютинином. В его состав входят ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО, MIF, трансформирующий фактор роста- β . Суперлимф практически первый иммуномодулятор цитокинового происхождения, предназначенный для местной терапии. Его действие заключается в регуляции миграции фагоцитов в очаг

воспаления, активации цитотоксических свойств макрофагов, усилении способности лейкоцитов поглощать бактерии. Под действием суперлимфа происходит усиление продукции моноцитами/макрофагами ИЛ-1 и ФНО, тем самым активируются механизмы клеточного и гуморального иммунитета. Вероятно, препарат содержит ростовые факторы для фибробластов, поскольку регулирует синтез коллагена и пролиферативную активность фибробластов кожи и пародонта, что способствует стимуляции регенерации и предупреждает образование грубых рубцов. Кроме того, суперлимф обладает также антиоксидантной активностью. Также у препарата обнаружены противовирусные и антибактериальные свойства, вероятно, обусловленные входящими в его состав дефензинов, кателицидинов и других бактерицидных веществ первичных и вторичных гранул, выделяемых лейкоцитами при культивировании *in vitro* [4].

Одним из центральных регуляторных цитокинов иммунной системы человека является ИЛ-2. С помощью методов иммунной биотехнологии с использованием клеток-продуцентов рекомбинантного штамма непатогенных пекарских дрожжей был получен рекомбинантный ИЛ-2 – препарат ронколейкин [4]. Ронколейкин способствует активации и индукции Т-, В-лимфоцитов и НК-клеток, содержащих рецептор CD25. На другие клетки иммунной системы он действует опосредовано через цитокины, синтезируемые указанными клетками-мишенями.

Также с применением методов иммунной биотехнологии из клеток рекомбинантного штамма кишечной палочки, со встроенным в ее генетический аппарат человеческим геном ИЛ-1 β , был получен препарат беталейкин, активирующий синтез колониестимулирующих факторов – главных индукторов лейкопоэза и стимуляторов иммунитета [4].

Активность препаратов ронколейкин и беталейкин исследовали при локальной иммунокоррекции больных с одонтогенными, остеогенными и неодонтогенными флегмонами. Результаты исследований свидетельствуют об эффективном использовании изучаемых препаратов при данных патологиях. При этом отмечается, что они усиливают процессы репарации в местном очаге

воспаления, способствуют более быстрой нормализации клинических и иммунологических показателей периферической крови, что в целом приводит к сокращению сроков лечения [14 – 16].

Нанесение на рану в экссудативно-воспалительной фазе гнойного раневого процесса ронколейкина с дозой активного вещества 500000МЕ, разведенного 0,9% раствором хлорида натрия позволяет нормализовать показатели местного иммунитета гнойной раны и полости рта, усилить функциональную активность фагоцитов раны, ускорить очищение ран от некротических масс, оптимизировать сроки проявления грануляций [17].

Иммуностропные препараты – производные нуклеиновых кислот

Нуклеинат натрия – первый препарат из группы нуклеиновых кислот, стимулирующий не только лейкопоэз, но и иммунитет [18]. Препарат является натриевой солью нуклеиновой кислоты, получаемой из дрожжей путем гидролиза и последующей очистки. Нуклеинат натрия благодаря большому количеству предшественников нуклеиновых кислот в своем составе, стимулирует рост и деление клеток, а также факторы врожденного и приобретенного иммунитета.

Деринат (натриевая соль нативной ДНК, выделенной из молок осетровых рыб) [19] и ридостин (препарат РНК, выделенной из пекарских дрожжей) [4] также относятся к препаратам этого класса, стимулируют репаративные и регенераторные процессы.

Целый ряд синтетических препаратов был создан на основе нуклеиновых кислот, например, полудан – биосинтетический полирибонуклеотидный комплекс полиадениловой и полиуридиловой кислот в эквимольных соотношениях. Полудан, применяется в форме мази, геля, капель в нос для профилактики респираторных заболеваний, «сухого» керратоконъюнктивита, в комплексной терапии для лечения офтальмогерпеса у больных с депрессивными расстройствами [20 – 23].

Также к данной группе препаратов условно относят инозин пранобекс (изопринозин; комплекс инозина с 4-ацетиламидобензойной кислотой), рибоксин (комплексное соединение, состоящее из гипоксантин-рибозида) и метилурацил (рис. 1.1). Инозин пранобекс и полудан разрешены к медицинскому применению не только в России, но и за рубежом [4].

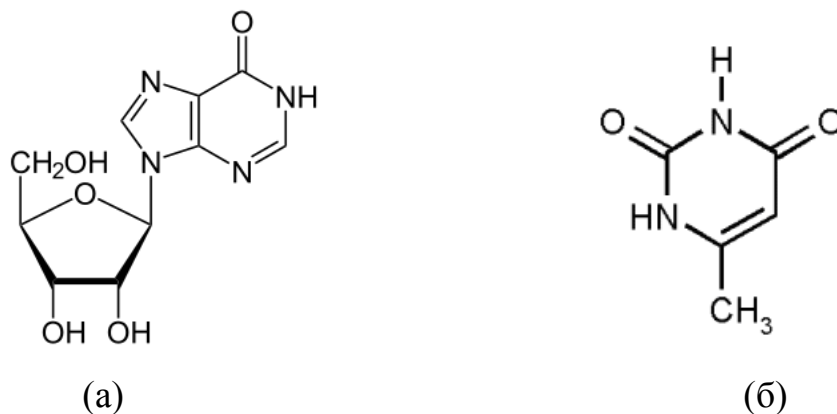


Рисунок 1.1 – Структурные формулы рибоксина (а) и метилурацила (б)

Все препараты, относящиеся к группе нуклеиновых кислот, стимулируют лейкопоз, процессы регенерации и репарации, функциональную активность практически всех клеток иммунной системы. Повышают способность нейтрофилов и моноцитов/макрофагов поглощать и убивать поглощенные бактерии, увеличивают устойчивость организма к воздействию различных патогенных антигенов, что может быть связано с активацией фагоцитоза; усиливают функциональную активность Т-хелперов и Т-киллеров, стимулируют пролиферацию В-клеток и синтез антител.

В тоже время необходимо учитывать, что препараты этой группы, например, нуклеинат натрия, содержащий предшественники для ДНК и РНК, может активировать рост и размножение бактериальных клеток.

Иммуностропные препараты растительного происхождения

В последнее время для активации иммунитета все чаще стали использовать препараты растительного происхождения – производные эхинацеи пурпурной, в частности, иммунал, эхинацин ликвидум, эхинацея композитум СН, эхинацеи

узколистной экстракт. Эти препараты в некоторой степени обладают иммуностимулирующим действием, но по мнению ряда авторов их более целесообразно относить к пищевым добавкам или адаптогенам [4]. Из патентной литературы известно местное использование эхиноцеи в составе многокомпонентного фитотерапевтического средства или в виде 20%-й спиртовой настойки для лечения воспалительных стоматологических заболеваний, в частности, пародонтита [24, 25].

Иммуотропные препараты химически чистые

Данную группу препаратов условно разделяют на две подгруппы: низкомолекулярные и высокомолекулярные [4, 5]. К низкомолекулярным иммуотропным препаратам относятся некоторые известные лекарственные средства, у которых впоследствии был обнаружен иммуотропный эффект. Одним из таких препаратов является, например, известный противоглистный препарат левамизол (декарис) – фенилимидотиазол, проявляющий выраженный иммуномодулирующий эффект (рис. 1.2а). Другой препарат дибазол (производное имидазола), сходный по химической структуре с левамизолом, также обладает в некоторой степени иммуномодулирующими свойствами (рис. 1.2б) [4].

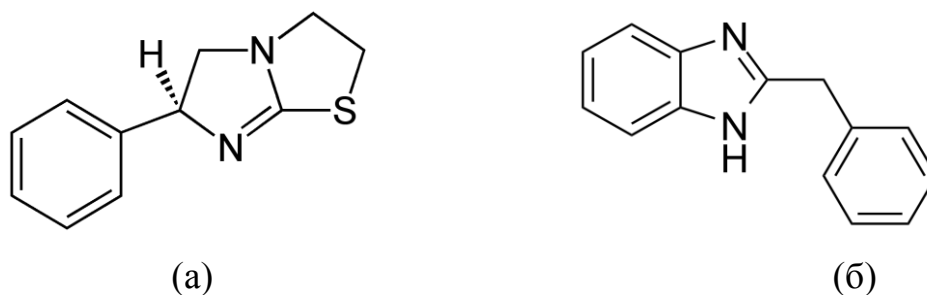


Рисунок 1.2 – Структурные формулы левамизола (а) и дибазола (б)

Еще одним из препаратов этой группы, представляющих интерес в качестве иммуотропного средства, является производное сульфоновой кислоты – диуцифон. Изначально данный препарат создавался как средство для лечения туберкулеза и лепры, поскольку производные сульфоновой кислоты обладают выраженным антимикобактериальным действием. Присоединение к сульфоновой

кислоте метилурацила привело к появлению дополнительной активности – иммуностимулирующей.

Создание препаратов такого рода (сочетающих в себе антибактериальные и иммуностимулирующие свойства) является перспективным направлением в иммунологии. Так, некоторые антибактериальные препараты последнего поколения, например, ровомицин и рулид, не только подавляют рост патогенной микрофлоры, но и способны активировать фагоцитоз и индуцировать синтез некоторых цитокинов [4].

Одним из перспективных препаратов, относящихся к низкомолекулярным иммуностимулирующим средствам, является галавит – производное фталгидразида (рис. 1.3), который обладает не только иммуностимулирующим действием, но и выраженным противовоспалительным. Он обратимо ингибирует синтез гиперактивированными макрофагами провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ФНО и др.). Нормализуется функциональное состояние макрофагов, восстанавливается нормальная продукция цитокинов и антигенпрезентирующая функция. Галавит стимулирует функциональную активность нейтрофилов, повышая поглощение и внутриклеточное переваривание бактерий, что впоследствии повышает неспецифическую устойчивость организма к инфекциям [4, 26].

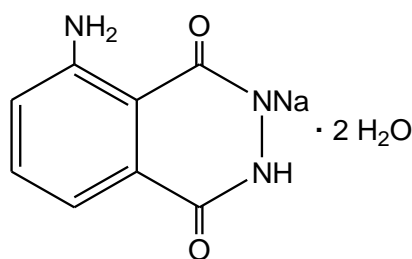


Рисунок 1.3 – Структурная формула галавита

Галавит в составе средства для местного применения на гидрофильной основе с использованием бензокаина применяют в местной терапии воспалительных заболеваний полости рта. Кроме того, фармацевтическая композиция на основе акридонуксусной кислоты, витамина Е и галавита применяется при терапии гнойно-деструктивных поражений слизистой и кожи, общесистемных заболеваний при иммунодефицитных состояниях [27, 28]. В

составе биополимерной пленки галавит используют для лечения эрозивно-язвенной формы красного плоского лишая слизистой оболочки рта. Применение пленки с галавитом позволило добиться длительной (12 – 14 месяцев) ремиссии у пациентов с десквамативным гингивитом и хроническим пародонтитом, а также позволило одновременно с депрессией патологического процесса на слизистой оболочке рта получить нормализацию показателей фагоцитоза. Данный препарат позволил сократить сроки эпителизации эрозий, увеличить период ремиссии (более года) у 76,7% пациентов основной группы, и при этом уменьшить число обострений в 1,5 раза [29, 30].

Также к этой группе относятся три синтетических олигопептида: гепон, глутоксим и аллоферон, которые помимо иммуномодулирующих свойств проявляют выраженную противовирусную активность. Из патентной литературы известно, что глутоксим используется для локальной коррекции гнойных ран челюстно-лицевой области в мажевой водорастворимой форме. Под его действием на 3 – 4 сутки лечения определялась активная регенерация пораженных тканей [31].

К группе высокомолекулярных химически чистых иммуотропных средств относится препарат полиоксидоний – N-оксидированное производное полиэтиленпиперазина с молекулярной массой около 100 кДа (рис. 1.4). Препарат обладает широким спектром фармакологического действия: иммуномодулирующим, детоксицирующим, антиоксидантным и мембранопротекторным. Полиоксидоний повышает способность нейтрофилов поглощать и убивать поглощенные бактерии, способствует понижению повышенных и повышению пониженных уровней ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО, усиливает цитотоксическую активность НК-клеток, активирует резидентные макрофаги ретикуло-эндотелиальной системы, что приводит к более быстрой элиминации из организма чужеродных частиц и повышает естественную резистентность организма [32].

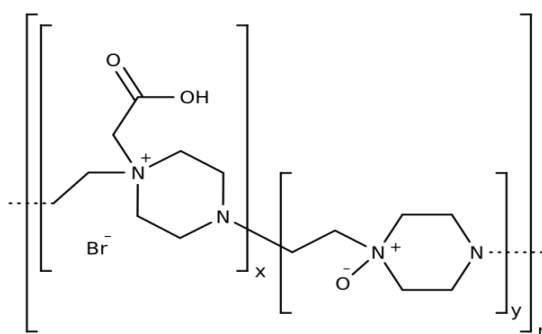


Рисунок 1.4 – Структурная формула полиоксидония

Полиоксидоний применяется для местного лечения апикального периодонтита путем введения в канал зуба турунды, смоченной его раствором, а также в мягкой лекарственной форме в комплексной антигерпетической терапии [33, 34].

Клиническое применение иммуотропных препаратов наиболее обосновано при иммунодефицитах, проявляющихся повышенной инфекционной заболеваемостью. При первичных иммунодефицитах, в основе которых лежат генетические дефекты, применение таких средств является лишь одной из составных частей многокомпонентной терапии.

Главным образом иммуотропные препараты используются в лечении вторичных иммунодефицитов, проявляющихся в виде часто рецидивирующих, невосприимчивых к терапии инфекционно-воспалительных заболеваний различной локализации и этиологии. Хронические инфекционно-воспалительные заболевания являются следствием нарушений в иммунной системе, при этом иммунодиагностические исследования не всегда могут выявить данные нарушения. Поэтому иммуотропные препараты при хроническом инфекционно-воспалительном процессе могут быть назначены несмотря на отсутствие существенных изменений в иммунограмме больного. Как правило, таким пациентам в зависимости от вида возбудителя назначают антибиотики, противогрибковые, противовирусные или другие химиотерапевтические препараты.

Основной критерий для назначения иммуностропных препаратов – клиническая картина заболевания, проявляющаяся в наличии хронического инфекционно-воспалительного процесса, трудно поддающегося адекватной антибактериальной терапии.

Таким образом, применение иммуностропных препаратов для лечения заболеваний различной этиологии является актуальной проблемой. При их системном применении необходимо вести строгий контроль за параметрами иммунной системы пациентов; подбор иммуностропных препаратов и их дозировок должен быть индивидуальным; их назначают в комплексной терапии одновременно с антибиотиками, противогрибковыми, противопротозойными или противовирусными средствами либо в виде монотерапии при неполном выздоровлении. Однако назначение иммуностропных препаратов на системном уровне не всегда целесообразно в виду развития нежелательных побочных реакций, тогда как их топическое применение является наиболее перспективным, но применяется крайне редко.

Использование иммуностропных препаратов для локальной терапии воспалительных заболеваний кожи, мягких тканей, слизистых оболочек позволяет предотвратить развитие побочных реакций при их применении, а также в ряде случаев исключить предварительную стадию противовоспалительной терапии антибактериальными средствами, нестероидными противовоспалительными и другими препаратами. Кроме того, исключение антибактериальной терапии из курса лечения позволяет предотвратить образование резистентной бактериальной микрофлоры.

Для местной терапии инфекционно-воспалительных заболеваний различной этиологии наиболее часто используют тималин, имудон, суперлимф, беталейкин, ронколейкин, полудан, глутоксим, полиоксидний, галавит. Все перечисленные иммуностропные препараты используются в виде растворов, мазей или гелей. В качестве мазевых или гелевых основ наиболее часто используют полисахаридные гелевые основы, а также смеси полиэтиленоксидов, гидрогенизированные жиры и другие. При этом используются достаточно высокие концентрации

иммунотропных веществ, что может спровоцировать развитие побочных реакций и увеличивает стоимость курса терапии. Все это в целом снижает эффективность применения данных веществ для терапии воспалительных заболеваний различной этиологии.

В качестве перспективных мазевых основ представляют интерес кремнийсодержащие глицерогидрогели на основе глицеролатов эссенциального элемента кремния, которые могут быть использованы как самостоятельные средства для местного применения, так и в качестве основ фармацевтических композиций.

1.2. Глицеролаты кремния – перспективные прекурсоры в золь-гель синтезе новых лекарственных средств

1.2.1. Биологическая роль кремния в организме

Согласно литературным данным [35] в организме млекопитающих и человека кремний содержится в небольшом количестве, но присутствует почти во всех тканях и органах.

Наиболее богаты кремнием соединительная ткань аорты, трахеи, сухожилия, кость, кожа, эпидермальные образования, легкие и лимфатические узлы, печень и почки. Содержание кремния в соединительной ткани достигает 0,05%, что по-видимому, обусловлено его наличием (структурный компонент) в составе мукополисахаридов и их белковых комплексов, которые образуют ее остов и определяют механическую прочность, эластичность и упругость. Так из различных видов соединительной ткани (хрящи, кости, кожа) при фракционировании были выделены белково-гликозаминогликановые комплексы и гликозаминогликаны с высоким содержанием кремния [36]. Кроме того, в период эмбрионального развития и при ранозаживлении кремний способствует росту и упрочнению соединительной ткани. Ввиду того, что кремний способствует синтезу гликозаминогликанов и коллагена, он занимает важную роль в

метаболизме костной ткани [37, 38]. Высокое содержание кремния ($8,65 \pm 0,64$ ммоль/кг сухой массы) свойственно также зубной эмали.

Особенно много кремния в коже [39], эластичность которой прямо пропорциональна его содержанию.

1.2.2. Введение в золь-гель процесс

Золь-гель синтез является методом препаративной химии и широко применяется для получения неорганических и органо-неорганических продуктов, разнообразных по своей структуре и свойствам, ценных для практического использования.

Интерес к золь-гель процессу получения неорганических керамических и стеклянных материалов возник в середине 19 века, когда *Ebelman* [40, 41] и *Graham* [42] занимались изучением гелей кремниевой кислоты. Они обнаружили, что продуктом гидролиза тетраэтоксисилана (ТЭОС) в кислых условиях является SiO_2 в форме «стеклоподобного материала». Было показано, что из вязкого геля могут быть получены волокна, однако для их получения требовалось большое время сушки (более 1 года), чтобы избежать выделения порошка SiO_2 .

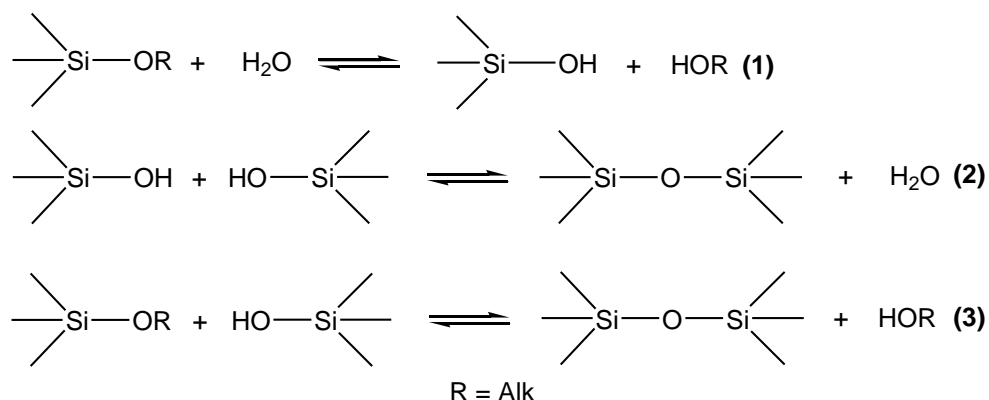
Классический золь-гель метод – физико-химический процесс, основу которого составляют реакции гидролиза и конденсации прекурсоров в растворах с последующими стадиями появления новой фазы и образования геля или отделением осадка, при этом химические реакции тесно связаны с физическими явлениями (коллоидными трансформациями) [43, 44].

Типичными прекурсорами в золь-гель процессе являются алкоксильные производные Si, Ti, Al, Zr [45 – 48].

Для алкоксильных кремнийсодержащих прекурсоров механизм золь-гель перехода достаточно подробно описан в литературе. Прекурсоры в золь-гель процессе подвергаются реакциям гидролиза (схема 1.1, реакция 1) и конденсации (схема 1.1, реакции 2, 3), в результате этих реакций могут образовываться золи или прозрачные растворы. Из золь в дальнейшем формируются коллоидные гели

(коллоидный тип гелеобразования), а из прозрачных растворов – полимерные (полимерный тип гелеобразования) [49, 50].

Схема 1.1



Тип гелеобразования определяется соотношением скоростей реакций гидролиза и конденсации, которые главным образом зависят от pH среды и мольного содержания воды.

В настоящее время в золь-гель методе используются прекурсоры большинства биогенных элементов.

1.2.3. Глицеролаты кремния в золь-гель процессе

В последнее время внимание многих исследователей привлекают биосовместимые полиолатные прекурсоры – производные многоатомных спиртов. Имеющиеся сведения носят, как правило, практическую направленность и касаются, в основном, использования глицеролатов кремния в золь-гель процессе для биомедицинских целей. В этом случае выделяющийся в результате гидролиза и конденсации глицерин не оказывает отрицательного влияния на биомакромолекулы, как, например, в случае денатурирующего и/или осаждающего действия одноатомных спиртов.

Gill and Ballesteros увидели преимущества прекурсоров, которые выделяют глицерин вместо этанола при получении диоксида кремния, модифицированного протеином [51]. Используя серию синтетических шагов, они выполнили конверсию ТЭОС в гетерогенной смеси олигомерных биосовместимых глицероксисиланов, обозначаемых как поли(глицерил силикат) состава $\text{SiO}_{1,2}\text{Glc}_{0,8}$ (где Glc – остаток глицерина $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3^-$), представляющий собой глицериновый

эфир линейной олигомерной поликремневой кислоты. По аналогичной методике были синтезированы также различные глицерилсиликаты состава SiGlc_{2-4} и полиглицерилсиликаты состава $\text{SiO}_{0,5-1,5}\text{Glc}_{0,5-2,0}$. В качестве катализаторов использовали соляную кислоту или полиэтиленгликоксид сурьмы (III), причем, катализаторы не отделяли от конечных продуктов. Позже, Брук и соавторы сообщили о применении диглицероксисилана в качестве биосовместимого прекурсора, используемого для инкапсуляции ферментов в золь-гель процессе в диоксид кремния [52]. Они показали, что гидролиз и конденсация полиол-модифицированных силанов (алкоксисиланы, полученные из сахаров и сахарных спиртов, включая глицерин, сорбит, мальтозу и декстрин), приводят к образованию оптически прозрачного монолита в очень мягких условиях протекания процесса. Было обнаружено, что в отличие алкоксисиланов, таких как тетраметоксисилан (ТМОС) и ТЭОС, скорости гидролиза и гелеобразования из полиол-модифицированных силанов, зависят от ионной силы раствора.

Из литературы [43] известно, что максимум времени гелеобразования кремниевой кислоты находится в области pH 2–4 (рис. 1.5). Эта область соответствует изоэлектрической точке (ИЭТ).

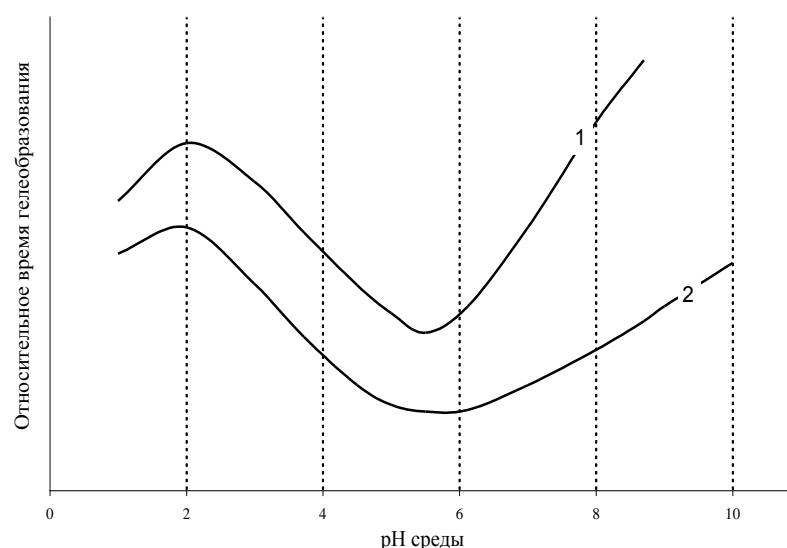


Рисунок 1.5 – Влияние pH на относительное время гелеобразования в золях кремнезема: **1** – в отсутствие электролитов, **2** – в присутствии электролитов

Вид зависимости времени гелеобразования от pH среды для глицеролатов кремния значительно отличается от ее обычного вида для кремниевой кислоты [52]. Например, в случае гидролиза диглицероксисилана $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O})_2$ в интервале $5,5 \leq \text{pH} \leq 11$ время гелеобразования остается постоянным, не зависящим от значения pH среды (рис. 1.6).

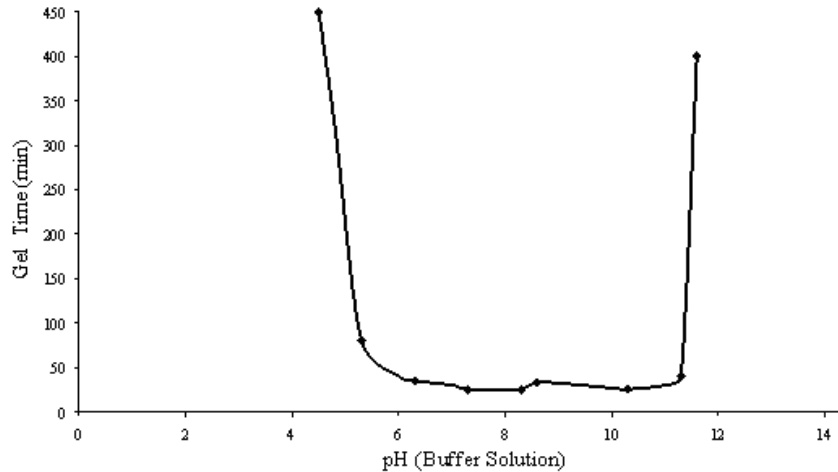


Рисунок 1.6 – Зависимость времени гелеобразования от исходного значения pH для диглицероксисилана $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O})_2$

Глицерин в составе образовавшегося геля стабилизирует его структуру по отношению к синерезису (усадка гидрогеля), но избыток глицерина в системе ингибирует гидролиз и последующую конденсацию.

При проведении гидролиза диглицероксисилана введение в систему дополнительного количества глицерина приводило к замедлению гелеобразования (рис. 1.7).

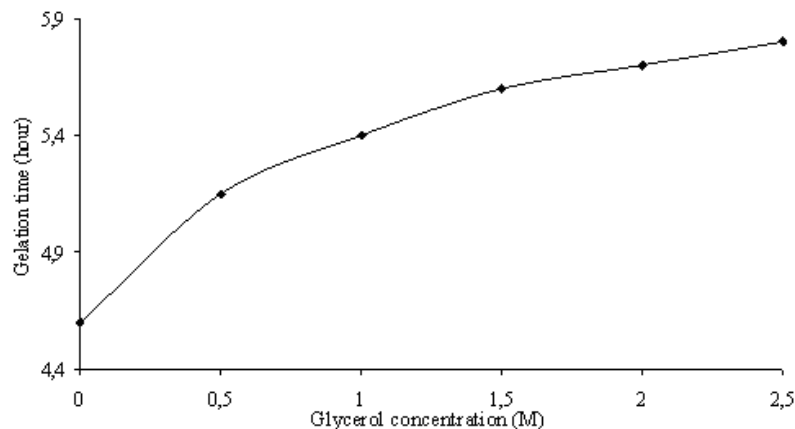
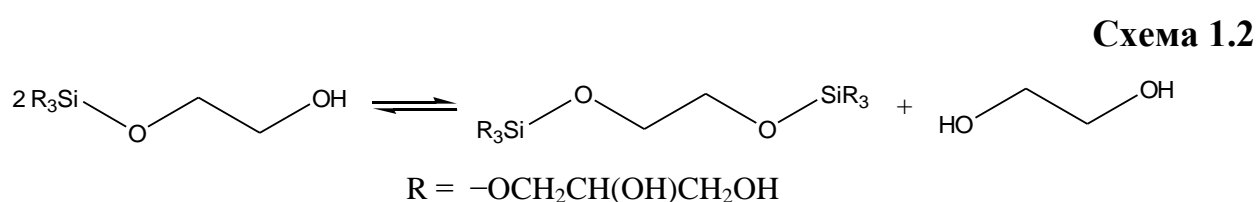


Рисунок 1.7 – Влияние глицерина на время образования гидрогелей на основе диглицероксисилана $\text{Si}(\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{O})_2$

Выявленные закономерности процесса гелеобразования авторы [52] объясняют тем, что глицерин, образующийся в результате гидролиза глицеролатов кремния, является полидентатным лигандом и образует устойчивые комплексные соединения с атомом кремния: в этих комплексах кремний находится в высококоординированном состоянии. Таким образом, в действительности образование глицеролатных комплексов стабилизирует атом кремния и значительно замедляет процесс гелеобразования.

Известны глицеролаты кремния и гидрогели на их основе [53]. Глицеролаты кремния получали путем смешения ТЭОС и глицерина в стехиометрическом соотношении 1 : 4 в атмосфере аргона при удалении образующегося этилового спирта. Полное замещение этокси-групп в полученных продуктах было подтверждено методом спектроскопии ЯМР ^1H , ^{13}C .

В спектрах ЯМР ^{29}Si для всех полученных глицеролатов кремния был зарегистрирован единственный сигнал (~ -83 ppm), который, по мнению авторов, должен соответствовать единственному виду кремнийсодержащих молекул – мономерному глицеролату кремния. Однако результаты спектроскопии ЯМР ^{29}Si , ^1H указывают также на олигомерный или полимерный характер полученных продуктов, поскольку возможно образование мостиковых молекул глицеролатов кремния в равновесии с нековалентно связанным полиолом (схема 1.2):



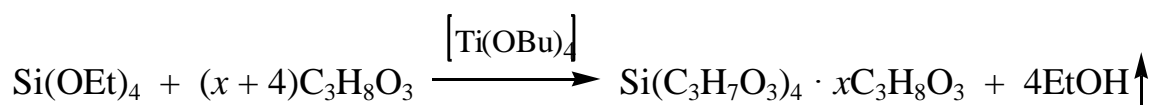
Кроме того, вполне возможно образование хелатной формы глицеролатов кремния вместо мостиковой, которое так же приводит к выделению свободных полиолов. Однако при всём этом авторы утверждают, что полученные соединения являются мономерными, а сигналы ЯМР ^{29}Si , ^1H , указывающие на их полимерный характер, возникают вследствие образования межмолекулярных водородных связей и хелатированных или мостиковых молекул полиолатов, но не вследствие конденсации мономерных молекул.

Впоследствии на примере глицеролатов кремния было изучено влияние водных растворов, содержащих 30 масс.% ПАВ Pluronic P123 и соляную кислоту (0–5М), на процесс гелеобразования. Установлено, что время гелеобразования зависит от концентрации HCl.

В отличие от алкоксидов кремния, водорастворимые глицеролаты кремния образуют гидрогели даже в нейтральной среде за малое время. Был сделан вывод, что максимальное время гелеобразования (минимальная скорость процесса) для исследуемых глицеролатов кремния наблюдалась при pH = 1,5, что соответствует ИЭТ кремниевой кислоты.

Известны также глицеролаты кремния $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot x\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$, где $3 \leq x \leq 10$, и глицерогидрогели на их основе формального состава $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot x\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot y\text{H}_2\text{O}$, где $20 \leq y \leq 40$ [1]. Глицеролаты кремния были получены по реакции алкоголиза тетраэтоксисилана избытком глицерина как без катализатора, так и в присутствии глицеролатов титана в избытке глицерина (катализатор) (схема 1.3):

Схема 1.3



В более поздних работах [54, 55] методом масс-спектрометрии с электрораспылительной ионизацией установлено, что состав и строение глицеролатов кремния состава $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot x\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ зависят от избытка глицерина (x). Получение глицеролатов кремния без избытка или в небольшом избытке глицерина ($x < 4$) способствует образованию олигомерных продуктов (рис. 1.8а). При проведении синтеза в большом избытке глицерина ($x \geq 4$) образуются в основном мономерные глицеролаты кремния (рис. 1.8б). Избыток глицерина препятствует процессам поликонденсации глицеролатов кремния.

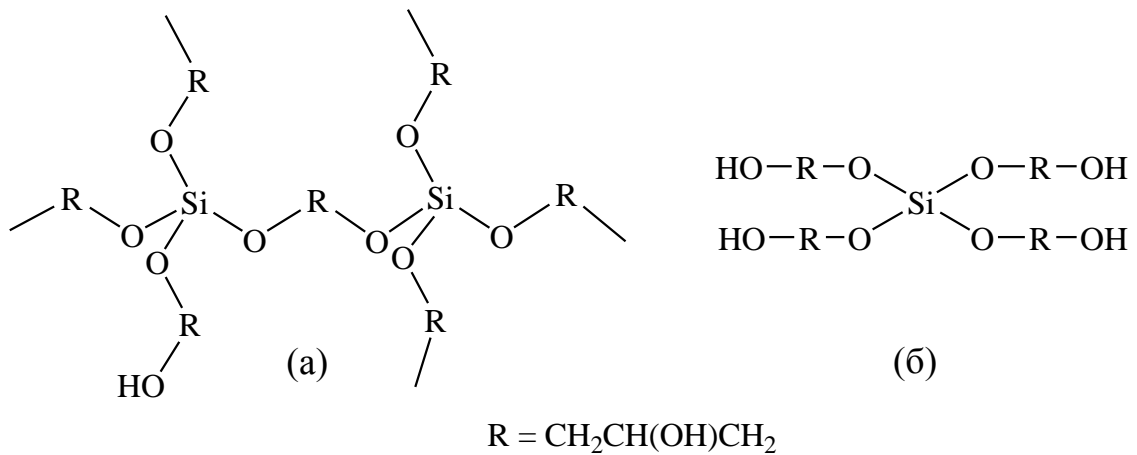


Рисунок 1.8 – Олигомерный (а) и мономерный глицеролат кремния (б)

На основе синтезированных глицеролатов кремния были получены гидрогели и исследована их структура. Гидрогели получали путем взаимодействия полученных глицеролатов с водой или водными растворами электролитов.

Процесс гелеобразования глицеролатов кремния был подробно изучен в работе [56]. Кремнийсодержащие прекурсоры в избытке глицерина и полученные гидрогели были исследованы химическими и физическими методами, включая кинетику гелеобразования, ИК спектроскопию, РФА, динамическое и электрофоретическое светорассеяние, механическую деформацию, в сравнении с известными глицеролатами титана $\text{Ti}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 10\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ и гидрогелем на их основе $\text{Ti}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 10\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 40\text{H}_2\text{O}$ [57]. Исследования выявили основные отличия в механизме гелеобразования и структуре сетки в гидрогелях. Вследствие этих отличий время гелеобразования кремниевых и титановых прекурсоров зависит от pH и добавок солей-электролитов противоположным образом. В широком интервале pH кремнийсодержащий гидрогель является полимерной однофазной системой, образованной полимерной сеткой, гомогенно набухшей в жидкой водно-глицериновой среде (рис. 1.9а). Механизм сеткообразования – трехмерная поликонденсация, ускоряемая заряженными функциональными группами, присоединенными к гибким полимерным цепям. В тоже время гели на основе глицеролатов титана являются гетерогенными коллоидными системами

при $\text{pH} > 1,5$ (рис. 1.9б) и однофазными полимерными при более низких значениях pH .

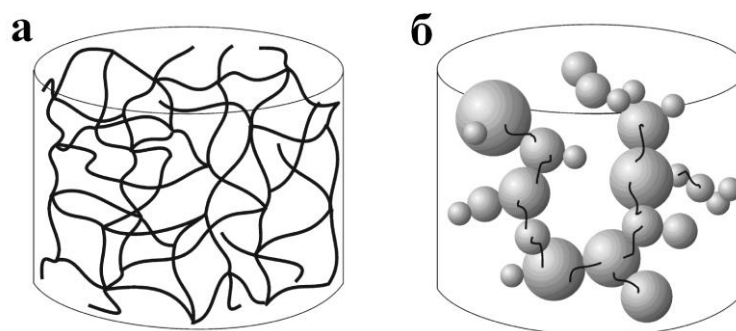


Рисунок 1.9 – Различия в структуре твердой фазы гидрогелей, полученных из: а – глицеролатов кремния; б – глицеролатов титана

Были исследованы фармакологические свойства глицеролатов кремния и гидрогелей на их основе. Показано, что глицеролаты кремния и гидрогели на их основе нетоксичны, проявляют выраженную фармакологическую активность (траскутанную, ранозаживляющую и регенерирующую) и могут быть использованы как в качестве самостоятельных лекарственных средств для местного и наружного применения, так и в качестве основ различных фармацевтических композиций с возможным широким спектром применения в медицине [58 – 62].

Таким образом, представляло интерес разработать новые фармацевтические композиции с использованием известных иммуностропных веществ на кремнийсодержащей гелевой основе. Кроме того, провести модификацию кремнийсодержащего глицерогидрогеля моноглицеролатом цинка с целью получения нового фармакологически активного гидрогеля – потенциального иммуностропного средства.

1.3. Моноглицеролат цинка – перспективное средство в разработке лекарственных препаратов с широким спектром фармакологической активности

1.3.1. Биологическая роль цинка в организме

Цинк, как и кремний, является эссенциальным элементом. Он обнаружен во всех клетках и органах высших животных и человека [63]. Наибольшее его количество обнаруживается в сетчатке глаза, печени и мышцах. Общее содержание цинка в теле человека весом ~ 70 кг составит 2 – 3г, что приближается к общему содержанию тканевого железа.

Цинк принимает участие в большинстве клеточных процессов, например, синтезе ДНК [64, 65]. Также цинк стимулирует образование костной ткани [66, 67] за счет увеличения функции остеобластов в остеогенезе, посредством пролиферации клеток, синтеза коллагена и белка [68 – 71].

Кроме того, цинк играет важную роль в обеспечении функционирования иммунной системы: участвует в процессах деления и дифференцировки нейтрофилов, лимфоцитов, НК-клеток и макрофагов. Являясь компонентом ретинолпереносящего белка, цинк препятствует возникновению иммунопатологии, стимулируя синтез антител и оказывая противовирусное действие [72].

Некоторые исследователи отмечают высокую антибактериальную активность комплексов цинка [73, 74] за счет ингибирования в бактериальных клетках трансмембранного переноса протонов и гликолиза [75], а также реакции между ионами цинка и сульфгидрильными группами клеточных оболочек [76, 77].

Соединения цинка нашли широкое применение в медицинской практике. Одним из перспективных является моноглицеролат цинка.

1.3.2. Синтез и свойства моноглицеролата цинка

Впервые моноглицеролат цинка был получен *Radoslovich* и др. [78] путем взаимодействия оксида цинка либо гидроксида цинка с глицерином в мольном соотношении 1:1 до 1:5 при температуре 110 °С. Также моноглицеролат цинка

может быть получен из карбоната цинка (температура 160 °С) или ацетата цинка (температура 110 – 160 °С). При этом отмечается, что при слабом нагревании (110 °С) формируются хорошо развитые кристаллы, а для получения более мелких кристаллических пластинок нужны более высокие температуры, по крайней мере, не меньше 120 °С.

В [79] описан способ получения моноглицеролата цинка с размером частиц от 10 до 100 мкм путем взаимодействия оксида цинка (или прекурсора оксида цинка) с глицерином при температуре 120 – 300 °С в мольном соотношении 1:10. При этом реакция оксида цинка с глицерином протекает медленнее при температуре ниже 200 °С и ускоряется при температуре около 220 °С.

Matkin с соавторами [80] описывают получение моноглицеролата цинка из оксида цинка (или прекурсора оксида цинка) и глицерина в присутствии катализатора (слабой кислоты или основания Льюиса) при температуре ниже 110 °С с последующим выделением из реакционной смеси центрифугированием. В последующих работах *Matkin* предлагал удалять остаток глицерина одновременным или попеременным промыванием C₁–C₄ спиртами, особенно изопропанолом, и центрифугированием. При этом авторы отмечают, что в качестве прекурсора наиболее предпочтительно использование оксида цинка, но также могут быть использованы и другие соединения цинка, например, гидроксид, ацетат или карбонат цинка. Также они отмечали, что слабую кислоту или основание Льюиса лучше использовать в виде свободной кислоты или основания, или в виде соответствующей соли. Лучшими катализаторами являются алифатические или ароматические карбоновые кислоты или соли, особенно соли цинка, или карбонаты металлов, особенно щелочных металлов, или карбонат цинка. Среди них наилучшими катализаторами являются C₂–C₆ карбоновые кислоты или соответствующие соли цинка, например, лимонная кислота или цитрат цинка, или, в особенности, уксусная кислота, или ацетат цинка. Другими подходящими катализаторами являются карбонат натрия и салициловая кислота. Обычно катализатор берут в количестве до 15%, как правило, от 5 до 10% от

массы оксида цинка или прекурсора оксида цинка (если только этот прекурсор сам не является катализатором).

Глицерин обычно используют в 3 – 10-и кратном избытке от массы оксида цинка или прекурсора оксида цинка. Наиболее предпочтительно использование соотношения оксид цинка (прекурсор оксида цинка):глицерин в диапазоне от 1:4 до 1:8, особенно от 1:5 до 1:8, в частности, примерно 1:6. Низкое соотношение 1:1 может быть использовано в условиях смесительного оборудования или при проведении реакции в инертном растворителе, чтобы компенсировать высокую вязкость, возникающую при использовании соотношения ниже 1:4.

В работе [81] приводится общая схема реакции (рис. 1.10) получения моноглицеролата цинка при температуре 120 – 300 °С:

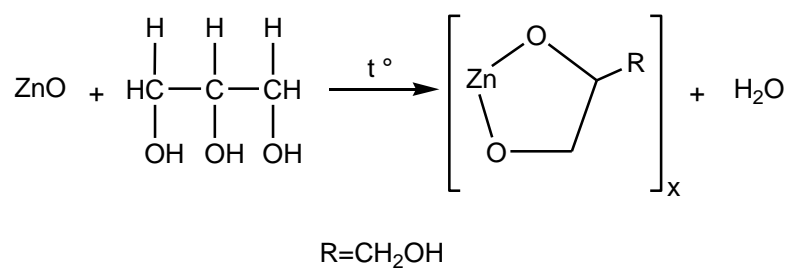


Рисунок 1.10 – Общий вид реакции между глицерином и оксидом цинка

В основном, получение моноглицеролата цинка включает в себя смешивание оксида цинка с избытком глицерина при температуре около 260 °С, и выдерживании при этой температуре при постоянном перемешивании до окончания реакции с последующим охлаждением, промыванием водой, фильтрованием и сушкой полученного твердого продукта. После удаления избыточного глицерина и воды продукт становится похож на тальк с хорошей способностью покрывать кожу и адгезией. При этом реакция протекает более медленно при более низких температурах.

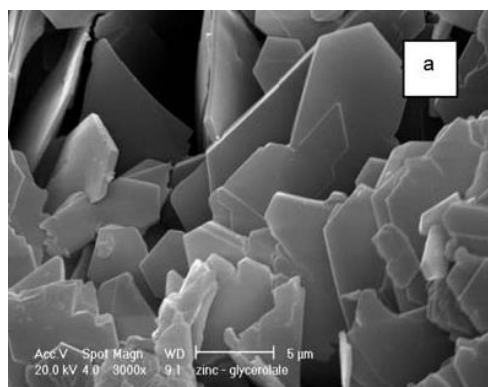
В 2006 году *Taylor* с соавторами запатентовал метод получения тонкодисперсных комплексов глицеролата цинка [82]. В целом, метод включает в себя взаимодействие соли цинка, предпочтительно ацетата цинка, с избытком глицерина при контролируемых температуре, давлении и перемешивании при

определенном времени, достаточным для эффективного взаимодействия растворенного цинка и глицерина. Как правило, температура, давление, мольное соотношение глицерина к цинку, скорость перемешивания и время, необходимое для эффективного взаимодействия глицерина и растворенного цинка, являются основными факторами, определяющими размер частиц глицеролата цинка. В этом патенте также указано, что мольное соотношение глицерина к цинку в исходной смеси варьируется от 2:1 до 10:1, преимущественно от ~ 3:1 до 4:1.

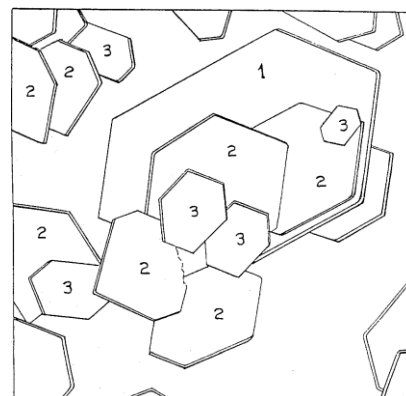
Из литературы также известно, что этот метод получения может быть улучшен обработкой суспензии оксида цинка в избытке глицерина микроволновым излучением в микроволновом реакторе. Улучшение качества кристаллического комплекса моноглицеролата цинка можно видеть по электронным микрофотографиям. Микроволновое излучение вызывает значительную вибрацию отдельных молекулярных связей, которое ускоряет и усиливает реакцию [83].

Морфология исходного оксида цинка оказывает определенное влияние на внешний вид продукта – глицеролата цинка. *Remias* с соавторами в 2009 году синтезировал «микростеки» моноглицеролата цинка, длиной от 2 до 4 μm , при нагревании оксида цинка в форме наностержней и глицерина при 100 °C с обратным холодильником [84]. Оксид цинка в форме наностержней был сначала получен термическим разложением наностержней оксалата цинка. И наоборот, если нет какого-либо определенного воздействия на структуру продукта, моноглицеролат цинка образуется в виде гексагональных призм, расположенных случайным образом, со средним диаметром и толщиной ~ 2.5 μm и ~ 350 nm, соответственно.

Монолицеролат цинка, полученный обычным прямым нагреванием оксида цинка и глицерина, имеет тонкопластинчатую морфологию, в основном, с гексагональными кристаллами относительно малой толщины, и высокую маслянистость (рис. 1.11).



(a)



(б)

Рисунок 1.11 – Структура моноглицеролата цинка: (а) – электронная микрофотография (сканирующий электронный микроскоп) и (б) – схематичное изображение

Моноглицеролат цинка нерастворим в воде и обычных органических растворителях, проявляет гидрофобные свойства [78]. Рентгенофазовый анализ глицеролата цинка показал, что он образует моноклинные кристаллы [85]. *Cheong* с соавторами также доказали пластинчатую гексогональную форму глицеролата цинка [81].

Моноглицеролат цинка нашел широкое применение в фармации, медицине и косметологии. подавляет рост грибов и некоторых бактерий [79]. Его используют местно для лечения кожных заболеваний и системно, например, для лечения такого воспалительного заболевания, как артрит. Терапевтическое действие моноглицеролата цинка обусловлено наличием Zn^{2+} в цинк-глицериновом комплексе, который наносится на кожу или используется *in vivo*. Когда моноглицеролат цинка, содержащий ^{65}Zn маркер, наносили на кожу крыс, то маркированный Zn обнаруживался в выделениях животных, что свидетельствовало о значительной кожной абсорбции цинка из этого комплекса [86]. Известны работы [87], в которых чрескожное, подкожное, внутримышечное и пероральное введение моноглицеролата цинка используется при лечении диабета. Моноглицеролат цинка также является антибактериальным агентом и противовоспалительным агентом при лечении артрита. Используется для лечения различных кожных заболеваний таких, как атопический дерматит, псориаз,

экземы, опрелости [2] Он может быть использован для лечения дефицита цинка и как гастропротективное средство при лечении язвы желудка. Также известно использование моноглицеролата цинка для лечения герпетических поражений ротовой полости [88]. Показана возможность использования моноглицеролата цинка *in vivo* как эффективного гипогликемического агента в профилактике и лечении диабета, поскольку этот комплекс имеет низкую токсичность и высокую инсулиноподобную активность [89 – 91].

Можно заключить, что для получения моноглицеролата цинка предпочтительным является использование оксида цинка и избытка глицерина в мольном соотношении 1:5 до 1:8, соответственно, при этом образуются наноразмерные тонкопластинчатые гексагональные кристаллы относительно малой толщины. Благодаря наличию микроэлемента цинка, моноглицеролата цинка проявляет различную фармакологическую активность: антибактериальную, противогрибковую, противовоспалительную, дерматопротекторную, противовирусную и гипогликемическую.

Таким образом, моноглицеролат цинка как фармакологически активное вещество может быть использован в синтезе биологически активных гелей с широким спектром фармакологической активности.

Выводы по главе 1

1. Использование иммуностропных средств в местной терапии заболеваний различной этиологии является перспективным направлением в медицинской практике. Наиболее часто применяют следующие группы препаратов: тимические, микробные, цитокиновые, нуклеиновые кислоты и синтетические (химически чистые).

2. Иммуностропные средства при местном применении используют в виде растворов, мазей или гелей. При этом используются достаточно высокие концентрации данных веществ, что может спровоцировать развитие побочных реакций и увеличивает стоимость курса терапии, что в целом снижает эффективность применения.

3. При разработке новых препаратов топического действия использование инновационных мазевых основ (кремнийсодержащих глицерогидрогелей, обладающих транскутанной активностью) позволяет снизить дозу активных лекарственных добавок и минимизировать развитие нежелательных побочных реакций.

4. Одним из перспективных направлений в создании новых иммуностропных средств топического применения является использование глицеролатов биогенных элементов – кремния и цинка.

Основываясь на разработанных нами методологических подходах к синтезу биоактивных глицерогидрогелей, представляло интерес получить золь-гель методом комбинированный кремнийцинксодержащий гидрогель (потенциальное иммуностропное вещество) с использованием глицеролатов эссенциальных элементов, кремния и цинка, в качестве прекурсоров. Кроме того, разработать новые фармацевтические композиции с использованием известных иммуностропных веществ и глицерогидрогеля на основе глицеролатов кремния.

ГЛАВА 2. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1. Оборудование

Элементный анализ выполнен на элементном анализаторе PE 2400 серия II CHNS-O EA 1108 «Perkin–Elmer». ИК спектры записаны на ИК-Фурье спектрометре «Nicolet 6700 Thermo Scientific» методом НПВО в области 400–4000 см⁻¹. Содержание кремния и цинка определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии на оптическом эмиссионном спектрометре «iCAP 6300 Duo Thermo Scientific» с индуктивно связанной плазмой. Рентгено-фазовый анализ (РФА) выполнен на дифрактометре Shimadzu XRD 700 (Cu_{Kα}-излучение). Морфологические исследования проведены методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) на приборе JEOL JSM 6390 LA с энерго-дисперсионным анализатором. ЯМР ¹H спектры зарегистрированы на спектрометре AVANCE DRX-400 фирмы «Bruker» с рабочей частотой 400 МГц в ДМСО-d₆. УФ спектры регистрировали на спектрофотометре UV-2401 фирмы Shimadzu.

Исследование реологических характеристик выполнено с помощью вискозиметра Брукфилда DV-II+Pro.

Диспергирование проводили на лабораторном диспергаторе IKA[®] T25 digital ULTRA-TURRAX[®] при 4000 об/мин.

Центрифугирование проводили на центрифуге марки ЦЛН-2 при скорости 6000 об/мин (исследование стабильности) и на центрифуге MULTI CENTRIFUGE CM 6M фирмы ELMi при скорости 3000 об/мин (экстрагирование галавита).

Эксперименты на лабораторных животных выполнены с соблюдением этических принципов и в соответствии с Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 г по охране животных, используемых в научных целях. Все биохимические исследования крови животных проводили с использованием прибора DU 800 Beckman Coulter. Статистическая обработка данных проведена в пакете программ STATISTICA 6.0.

2.2. Материалы и методы исследования

Исходные вещества (жидкие) перед использованием перегоняли: тетраэтоксисилан $\text{Si}(\text{OEt})_4$ – при атмосферном давлении, глицерин $\text{HOCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ – в вакууме. ZnO использовали марки чда (ЗАО «Купавнареактив»).

Синтез кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля

Кремнийцинксодержащий глицерогидрогель формального состава $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$ получали из предварительно синтезированных тетракис(2,3-дигидроксипропокс)силана в 4-х мольном избытке глицерина (глицеролаты кремния в избытке глицерина) [1] и 1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола в 6-и мольном избытке глицерина (моноглицералат цинка в избытке глицерина) [79].

Глицеролаты кремния в 4-х мольном избытке глицерина $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 4\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$. В одnogорлую круглодонную колбу, снабженную двурогой насадкой, механической мешалкой и обратным холодильником, помещали 39.78 г (0.432 моль) глицерина и 11.25 г (0.054 моль) $\text{Si}(\text{OEt})_4$. Реакционную массу выдерживали в течение 3 ч при температуре 130 °С, после чего удаляли образующийся этиловый спирт сначала при атмосферном давлении, затем при вакуумировании на роторном испарителе до постоянной массы (что соответствует убыли теоретического количества спирта) при остаточном давлении 5–10 Торр и температуре 130 °С. Контроль за полнотой протекания реакции осуществляли методом ЯМР спектроскопии по отсутствию в спектрах сигналов протонов остаточных этокси-групп у атома кремния в области δ_{H} 1.08 – 1.18 (т, 3H, Me). Получено 41.04 г (99%) бесцветной прозрачной вязкой жидкости, легко растворимой в воде, n_{D}^{20} 1.4815. Найдено (%): С, 38.02; Н, 8.08; Si, 3.60. $\text{C}_{24}\text{H}_{60}\text{O}_{24}\text{Si}$. Вычислено (%): С, 37.89; Н, 7.95; Si, 3.69. ИК спектр, ν/cm^{-1} : 3400 (ОН); 2935, 2880 (С–Н); 1450 (CH₂); 1110, 1038, 992 (С–О, Si–О).

Моноглицералат цинка в 6-и мольном избытке глицерина $\text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 6\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$. В одnogорлую плоскодонную колбу, снабженную

нисходящим холодильником, помещали 17.56 г (0.191 моль) глицерина. В нагретый до 80 °С глицерин при перемешивании на магнитной мешалке добавляли 2.22 г (0.027 моль) порошка ZnO. Реакционную массу нагревали при перемешивании 24 ч при 130°C. Контроль за полнотой проведения реакции проводили методом РФА по отсутствию исходного ZnO в выделенном из коллоидного раствора кристаллическом моноглицеролате цинка (см. ниже). Получено 19.10 г (99%) белой вязкой жидкости (коллоидный раствор), легко смешивающейся с водой. Найдено (%): C, 35.22; H, 7.30; Zn, 9.70. $C_{21}H_{54}O_{21}Zn$. Вычислено (%): C, 35.62; H, 7.69; Zn, 9.23. ИК спектр, $\nu / \text{см}^{-1}$: 3400 (OH); 2935, 2880, 2844 (C–H); 1948 (O–H···O); 1454 (CH₂); 1122, 1050, 991 (C–O); 647 (Zn–O).

Для получения кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля 41.04 г (0.054 моль) глицеролатов кремния в избытке глицерина $Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot 4C_3H_8O_3$, и 19.10 г (0.027 моль) моноглицеролата цинка в избытке глицерина $ZnC_3H_6O_3 \cdot 6C_3H_8O_3$, смешивали при температуре 20 °С до получения однородной массы. Затем при температуре 20 °С и интенсивном перемешивании добавляли 38.87 г (2.179 моль) H₂O и продолжали перемешивать до потери в системе текучести и получения однородного геля белого цвета. Время гелеобразования 30 мин. Выход продукта 99.01 г (100%). Состав продукта соответствует формуле $2Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot ZnC_3H_6O_3 \cdot 14C_3H_8O_3 \cdot 80H_2O$. Найдено (%): C, 22.34; H, 9.01; Si, 1.48; Zn, 1.87. $C_{69}H_{334}O_{149}Si_2Zn$. Вычислено (%): C, 22.58; H, 9.17; Si, 1.53; Zn, 1.78. ИК спектр, $\nu / \text{см}^{-1}$: 3292 (OH); 2932, 2881, (C–H); 1948 (O–H···O); 1645 (НОН); 1436 (CH₂); 1110, 1060, 1038, 992 (C–O, Si–O–C, Si–O–Si); 647 (Zn–O).

Кремнийсодержащий глицерогидрогель $Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot 4C_3H_8O_3 \cdot 40H_2O$
получали путем взаимодействия 18.29 г (0.027 моль) глицеролатов кремния в избытке глицерина $Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot 4C_3H_8O_3$ и 19.44 г (0.108 моль) H₂O при температуре 80 °С и перемешивании до образования прозрачного монолитного продукта. Время гелеобразования 40 мин. Выход продукта 37.73 г (100%); n_D^{20} 1.4038. Найдено (%): C, 19.23; H, 9.38; Si, 1.82. $C_{24}H_{140}O_{64}Si$. Вычислено (%): C, 19.46; H, 9.53; Si, 1.90. ИК спектр, $\nu / \text{см}^{-1}$: 3367 (OH); 2932, 2883 (C–H); 1645 (НОН); 1455 (CH₂); 1110, 1060, 1038, 992 (C–O, Si–O–C, Si–O–Si).

Моноглицеролат цинка $ZnC_3H_6O_3$ получен из 10.00 г коллоидного раствора моноглицеролата цинка состава $ZnC_3H_6O_3 \cdot 6C_3H_8O_3$ путем добавления 25 мл H_2O с последующим фильтрованием и многократным промыванием белого осадка этанолом, который затем удаляли в вакууме при температуре 60 °С. Выход продукта 1.98 г (90%). Найдено (%): С, 23.03; Н, 3.70; Zn, 42.27. $C_3H_6O_3Zn$. Вычислено (%): С, 23.18; Н, 3.89; Zn, 42.06. ИК спектр, $\nu / \text{см}^{-1}$: 2933, 2882, 2844 (С–Н); 1948 (О–Н \cdots О); 1463 (CH_2); 1122, 1062, 987 (С–О); 647 (Zn–О). Данные РФА и ИК спектроскопии подтверждают состав продукта и соответствуют литературным данным [92].

Выделение дисперсной фазы проводили с использованием метода холодной исчерпывающей экстракции абсолютным этиловым спиртом: в бюкс объемом 50 мл помещали 5.00 г исследуемого геля, добавляли 10 мл абсолютного этанола и перемешивали на магнитной мешалке 10 мин. Осадок отделяли фильтрованием, после чего 5 раз промывали этанолом (по 5 мл) и сушили в эксикаторе при комнатной температуре и остаточном давлении 10 Торр в течение 2-х ч. Выделенную дисперсную фазу анализировали методами элементного анализа, атомно-эмиссионной спектроскопии, ИК спектроскопии, РФА и СЭМ.

Фармацевтические композиции получали в виде мягких лекарственных форм (мазей) путем диспергирования галавита (0,70 мас. %) либо водного раствора беталейкина (0,50 мас.%; содержание беталейкина в водном растворе 100 нг/г), либо полиоксидония (0,01 мас.%) в кремнийсодержащий глицерогидрогель.

Химическую совместимость субстанций галавита, беталейкина, полиоксидония и кремнийсодержащего глицерогидрогеля устанавливали методом ИК спектроскопии. Для этого регистрировали ИК спектры модельных систем, содержащих 10% иммуностропного вещества, и сопоставляли их со спектрами иммуностропных веществ и кремнийсодержащего глицерогидрогеля.

Физическую и физико-химическую совместимость иммуностропных веществ с кремнийсодержащим глицерогидрогелем устанавливали методом центрифугирования. Для этого навески разрабатываемых средств (около 5,0 – 7,0 г) в соответствии с [93] помещали в лабораторную центрифугу марки ЦЛН-2 и центрифугировали в течение 5 минут при 6000 об/мин.

2.3. Фармакологические исследования

Исследование острой токсичности проводили согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [94] на белых беспородных мышах массой 30–40 г. Экспериментальные животные содержались в виварии при температуре 18–20 °С в условиях естественного светового цикла на стандартной диете при свободном доступе к пище и воде. Разрабатываемые средства вводили в желудок через зонд и внутрибрюшинно однократно в виде 50%-ных водных суспензий в количестве 0,5–1,0 мл (объем желудка). После введения веществ ежедневно наблюдали за поведением животных в течение первых суток, а в последующие 13 дней – ежедневно. В процессе эксперимента регистрировали общую двигательную активность животных, нервно-мышечную возбудимость, рефлексы (болевой, роговичный), вегетативные реакции (саливация, диурез, дефекация).

Местнораздражающее действие разрабатываемых средств изучали путем их нанесения на свободный от шерсти участок кожи и слизистую век правого глаза кроликов. Аппликации проводили ежедневно в течение 30-и дней, наблюдая за возможным проявлением раздражающего действия.

Для оценки аллергизирующих свойств опытным кроликам за веко правого глаза и на подготовленный участок кожи правого бока размером 4 x 6 см наносили разрабатываемые средства по 0,1 и 1,0 г соответственно. Контрольным кроликам на такие же участки наносили вазелин. Подобные аппликации проводили один раз в день в течение 6-и дней. На 7-, 14- и 28-е сутки проводили

разрешающую пробу путем нанесения разрабатываемых средств на подобный участок кожи противоположного бока кроликов.

Антибактериальную активность кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля оценивали методом диффузии в агар в отношении следующих штаммов тест-культур микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* 906, *Staphylococcus epidermidis* 14990, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Pseudomonas aeruginosa* 9027, *Escherichia coli* 25922 (тест-культуры выращивали при температуре 37 °С в течение 18–24 часов на скошенном мясопептонном агаре) согласно [95]. В стерильные чашки Петри (пластмассовые разового использования) разливали питательную агаризованную среду (с содержанием аминного азота 0.03 % и рН 7.0–7.2). Предварительно в расплавленную и охлажденную до 45–48 °С среду вносили соответствующую тест-культуру в концентрации 1×10^7 микробных клеток (по оптическому стандарту мутности) на 1 см³ среды. После застывания и подсушивания питательной среды в течение 60 мин на её поверхность накладывали кольца из нержавеющей стали с внутренним диаметром кольца (6.0±0.1) мм и высотой (2.5±0.1) мм. В кольца помещали навески исследуемого геля и контроля – вазелина, кремнийсодержащего глицерогидрогеля и линимента стрептоцида 5%-го растворимого. Масса навесок, помещенных в кольца, составляла ~ 50 мг. По величине зоны угнетения роста вокруг кольца (диаметру роста) после 20-часового инкубирования при температуре (36.0 ± 1.0) °С судили об отсутствии или наличии и о степени выраженности антибактериального действия кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля.

Исследование ранозаживляющей и регенерирующей активности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля проводили на модели термической травмы слизистой оболочки нижней губы крыс популяции Wistar массой 280–330 г, разработанной на кафедре фармакологии и клинической фармакологии УГМУ. Крысы были разделены на 3 группы по 10 особей в каждой. Крысам 1-ой

(опытная) и 2-ой (контрольная) групп под эфирным рауш-наркозом наносили термический ожог с помощью нагретого до 100 °С металлического шпателя при 20-секундном контакте со слизистой оболочкой нижней губы; 3-ая группа оставалась интактной, контрольная – лечения не получала.

Лечение животных опытной группы начинали через сутки после создания термического ожога и проводили открытым способом, нанося тонкий слой геля (~0.1 г) непосредственно на место поражения один раз в сутки в утренние часы до полного заживления ран.

За сутки до нанесения термической травмы, а также на 2- и 14-е сутки после ожога проводили изучение ориентировочно-исследовательских реакций крыс. Использовали методику «открытое поле», в которой регистрировали время ухода животных с центрального круга, а в последующем в течение трех минут их горизонтальную (количество пересеченных квадратов) и вертикальную (количество вертикальных стоек) двигательную активность, груминг и заглядывание в «норы».

На 5-, 7-, 10- и 14-е сутки эксперимента у животных проводили общие и биохимические анализы крови, а также морфологические исследования висцеральных органов и слизистой оболочки.

Гистологические препараты готовили после фиксации тканей (сердца, легких, печени, почек, надпочечников, селезенки, кожи) 10%-ным раствором формалина и заливали парафином. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином по Ван-Гизону.

Оценку ранозаживляющей и регенерирующей активности фармацевтических композиций на кремнийсодержащем глицерогидрогеле проводили на модели термического ожога II – IIIа степени кожи крыс популяции Wistar массой 230–370 г, разработанной на кафедре фармакологии и клинической фармакологии УГМУ. Все животные были разделены на 5 групп по 10 особей в каждой. Крысам 1 – 4 групп под эфирным рауш-наркозом наносили термический ожог II – IIIа степени с помощью металлической пластины размерами 2x3 см,

нагретой до 100 °С, при 30-секундном контакте с кожей обработанного от шерсти левого бока; 5-я группа оставалась интактной, 4-я (контрольная) – лечения не получала.

Лечение животных опытных групп (1 – 3) начинали через сутки после создания термического ожога и проводили открытым способом, нанося тонкий слой (~0,2 г) кремнийсодержащих фармацевтических композиций, содержащих галавит, водный раствор беталейкина и полиоксидоний на кремнийсодержащем глицерогидрогеле, соответственно, непосредственно на место поражения один раз в сутки в утренние часы.

За сутки до нанесения термической травмы, а также на 2- и 15-ые сутки после ожога проводили изучение ориентировочно-исследовательских реакций крыс по методике «открытое поле» (см. выше, с. 49).

После завершения курса лечения у животных под эфирным рауш-наркозом брали кровь из полостей сердца, висцеральные органы и лоскуты кожи с локальными ожогами, которые помещали в 10 % раствор формалина для их фиксации и оценки морфоструктурных показателей.

Сравнительную оценку иммуотропных свойств кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и фармацевтической композиции с галавитом на кремнийсодержащем глицерогидрогеле проводили на модели на модели осложненного раневого процесса у крыс популяции Wistar (механическая травма нижней части спины) на фоне иммуносупрессии, вызванной введением гидрокортизона [96].

Животные были разделены на 4 группы по 15 особей в каждой: крысам 1-й группы гидрокортизон не вводили, крысам 2–4 групп в течение всего эксперимента ежедневно внутримышечно вводили гидрокортизон в дозе 40 мг/кг. Под эфирным рауш-наркозом на предварительно обработанной от шерсти коже поверхности спины создавали полнокожные раны диаметром 8 мм.

Крысам 3-й и 4-й групп на место ранения наносили кремнийцинксодержащий гидрогель и кремнийсодержащую композицию с галавитом, соответственно; животные 1-й и 2-й групп лечения не получали.

На 3-й и 8-й день эксперимента проводили гистологические и иммуногистохимические исследования травмированных участков кожи.

Для гистологических исследований брали кожные лоскуты размером 2×2 см, фиксировали в 10% растворе формалина, проводили по спиртам возрастающей концентрации и заливали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по методу Ван-Гизона и по Вейгерту.

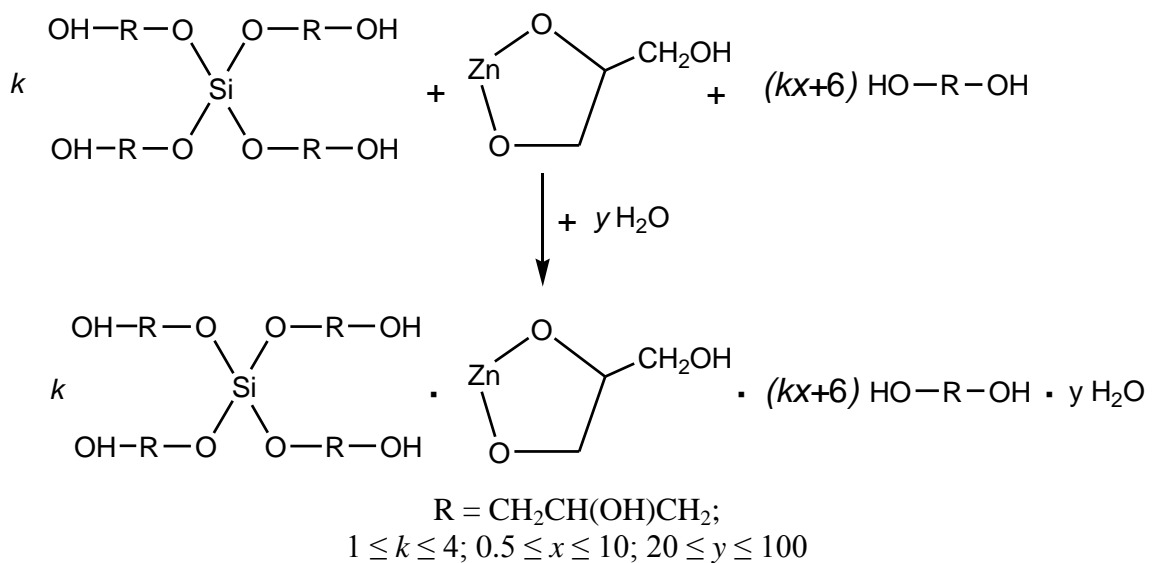
При иммуно-гистохимическом исследовании парафиновые срезы ткани, размещенные на предметных стеклах, подвергали депарафинизации ксилолом и спиртами различной концентрации. Восстановление эпитопов проводили высокотемпературным методом путем нагревания в цитратном буфере. Промывку образцов осуществляли в фосфатно-солевом буфере. До инкубации с антителом проводили инактивацию эндогенной пероксидазы. Для идентификации макрофагов в зоне раны использовали первичное антитело CD68 в разведении 1:6000. В качестве системы визуализации применяли универсальный иммунопероксидазный полимер и диаминобензидин (DAB). Докрашивание ядер проводили гематоксилином, просветление в *орто*-ксилоле.

ГЛАВА 3. СИНТЕЗ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ КРЕМНИЙЦИНКСОДЕРЖАЩИХ ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕЙ

3.1. Синтез кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей

Синтез кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей осуществляли золь-гель методом путем взаимодействия прекурсоров – тетраакис(2,3-дигидроксипропил)-*орто*-силиката (тетраглицеролата кремния) $\text{Si}[\text{OCH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}]_4$ – в виде раствора в глицерине и 1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола (моноголицеролата цинка) $\text{Zn}[\text{OCH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})\text{O}]$ – в виде коллоидного раствора в глицерине с водой при температуре 20 – 40 °С [97 – 101] (схема 3.1).

Схема 3.1



Тетраглицеролат кремния синтезировали по реакции переэтерификации тетраэтоксисилана избытком глицерина. Образующийся при этом этиловый спирт сначала удаляли при атмосферном давлении, затем при вакуумировании на роторном испарителе до убыли теоретического количества [1; 102]. Тетраглицеролат кремния может быть получен также и в присутствии катализатора тетрабутоксититана.

Следует отметить, что продукт взаимодействия тетраэтоксисилана с глицерином в стехиометрическом соотношении реагентов (мольное соотношение 1:4) не является индивидуальным веществом [52, 53]. В силу полифункциональности глицеролаты кремния склонны к равновесной межмолекулярной реакции конденсации с образованием олигомерных продуктов и выделением глицерина [39, 53]. Показано, что синтезированные в избытке глицерина, глицеролаты кремния в основном существуют в мономерном виде – в форме тетраглицеролата $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4$ [55].

Моноглицеролат цинка получали из оксида цинка и глицерина в мольном соотношении 1 : 7 при нагревании [79].

Состав полученных гидрогелей формально отвечает приведенной формуле $k\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3) \cdot (kx+6)\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot y\text{H}_2\text{O}$ ($1 \leq k \leq 4$; $0.5 \leq x \leq 10$; $20 \leq y \leq 100$) и обозначен нами с использованием символа «•», что соответствует мольному соотношению тетраглицеролат кремния / моноглицеролат цинка / глицерин / вода в исходном составе для получения гелей, равном $k / 1 / (kx + 6) / y$, но не отражает всю сложность их многокомпонентного состава, образующегося в результате золь-гель процесса.

Экспериментально было установлено, что при $k < 1$ (мольное содержание тетраглицеролата кремния) образование гидрогелей не происходит. При $k > 4$ полученные гели близки по свойствам к кремнийсодержащим глицерогидрогелям и не обладают явно выраженной антибактериальной активностью, присущей моноглицеролату цинка.

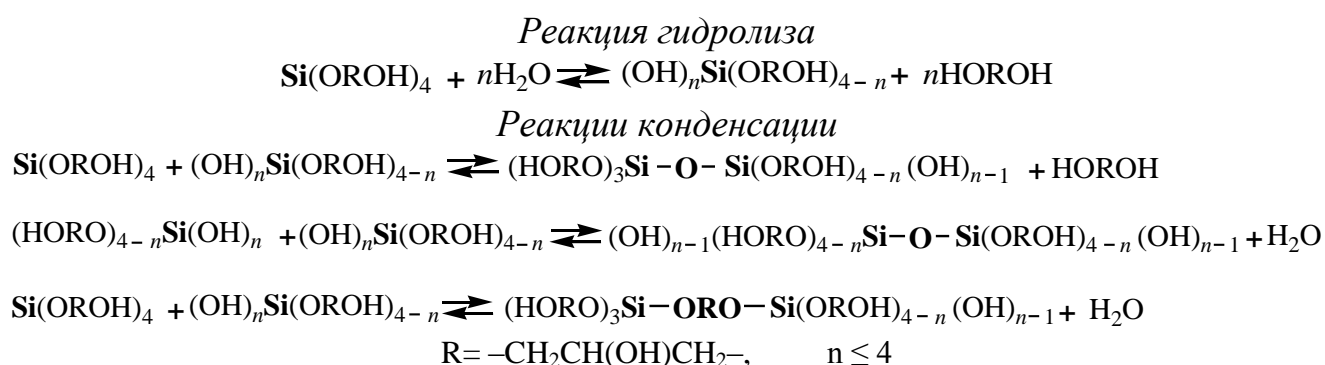
При содержании глицерина $x > 10$ и воды $y > 100$ гидрогели подвергаются синерезису. При $x < 0.5$ и $y < 20$ образуются твердые, хрупкие, растрескивающиеся при хранении и малоудобные в применении продукты.

Полученные в оптимальных интервалах значений k , x и y гели представляют собой вещества молочно-белого цвета, лишённые текучести, устойчивые к синерезису. При диспергировании гели легко переходят в мазеподобное состояние, хорошо распределяются на коже и слизистой оболочке.

С точки зрения фармако-технологических характеристик (устойчивость при хранении, необходимая консистенция, легкость и нетравматичность нанесения на кожу и слизистую, эффективность фармакологического действия (см. ниже, с. 59)) для дальнейшего изучения был выбран кремнийцинксодержащий глицерогидрогель формального состава $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3) \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$. Приведенный состав геля является оптимальным по содержанию глицеролатов кремния и цинка, глицерина и воды.

С использованием физических и физико-химических методов исследований было показано, что в результате гидролиза (схема 3.2) и последующей гомо- и гетерофункциональной конденсации (схема 3.2) в основном наиболее активного прекурсора в золь-гель процессе – тетраглицеролата кремния, образуется полимерный пространственный каркас кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля, содержащий силоксановые группировки, аналогично образованию полимерной фазы кремнийсодержащего глицерогидрогеля. В ячейках образующегося пространственного каркаса кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля находится наноразмерный коллоидный моноглицеролат цинка (рис. 3.1).

Схема 3.2



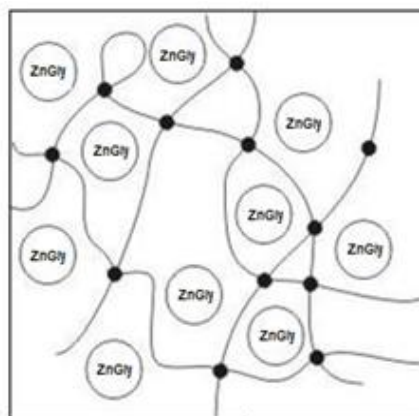


Рисунок 3.1 – Предполагаемая структура дисперсной фазы кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля

Нами было установлено, что моноглицеролат цинка существенно ускоряет образование гидрогелей из глицеролатов кремния. Так, гидрогель состава $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 4\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 40\text{H}_2\text{O}$ образуется ~ за 40 мин при 80 °С, в то время как кремнийцинксодержащий глицерогидрогель образуется при комнатной температуре ~за 30 мин. Следует отметить, что гель из моноглицеролата цинка в отсутствие глицеролатов кремния в исследуемых условиях не образуется.

С целью изучения состава, структуры кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и механизма его образования, методом холодной исчерпывающей экстракции абсолютным этиловым спиртом была выделена и охарактеризована рядом физических и физико-химических методов дисперсная фаза гидрогеля [98, 103].

На рисунке 3.2 приведены ИК спектры выделенной дисперсной фазы кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля (а) и моноглицеролата цинка, полученного из коллоидного раствора (б). В ИК спектре дисперсной фазы содержится полоса поглощения при 1948 см^{-1} , характерная для ОН-группы моноглицеролата цинка, координированной по связи $\text{O}-\text{H} \cdots \text{O}$ [92]. Наличие Si–O–Si группировок в ИК спектре подтверждает поликонденсационный механизм образования кремнийсодержащего пространственного каркаса.

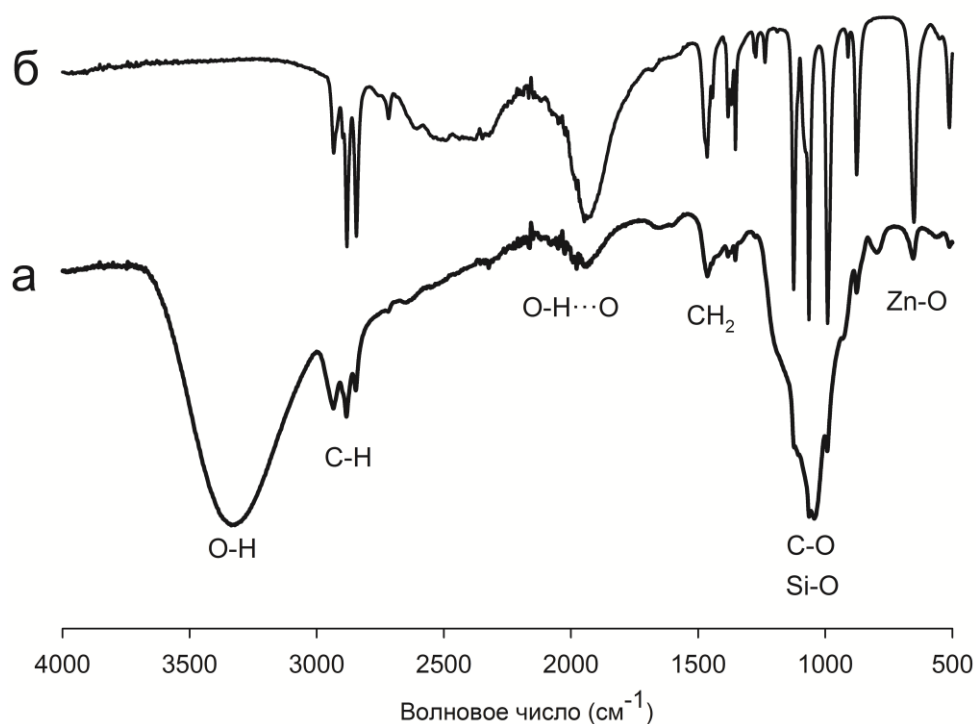


Рисунок 3.2 – ИК спектры выделенной дисперсной фазы кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля (а) и моноглицеролата цинка (б)

По данным атомно-эмиссионной спектроскопии весь цинк, содержащийся в исходном геле (1.78%) определяется в дисперсной фазе, что можно объяснить тем, что находящийся в ячейках пространственного каркаса нанодисперсный коллоидный моноглицеролат цинка агломерируется при выделении и переходит в дисперсную фазу геля. Данные элементного анализа подтверждают наличие органической составляющей в дисперсной фазе геля (С, 23.18%; Н, 3.89%).

На рисунке 3.3 представлены дифрактограммы выделенных фаз кремнийцинксодержащего (а) и для сравнения – кремнийсодержащего (б) глицерогидрогелей. Данные РФА указывают на присутствие кристаллического моноглицеролата цинка (рис. 3.3а) в дисперсной фазе комбинированного геля. Аморфная фаза кремнийсодержащего глицерогидрогеля (рис. 3.3б) проявляется в виде гало и также присутствует в комбинированном геле.

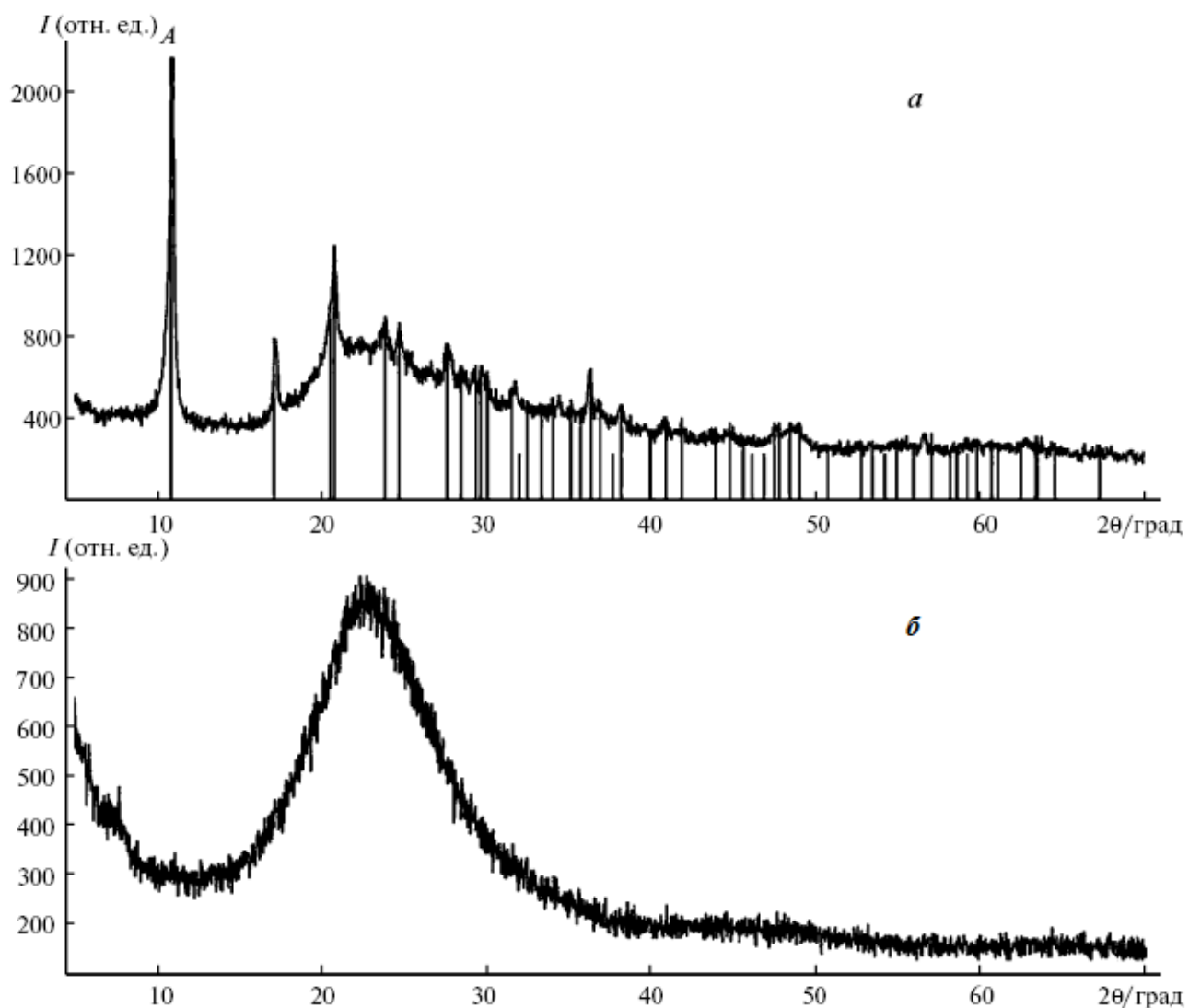


Рисунок 3.3 – Дифрактограммы дисперсных фаз кремнийцинксодержащего (а) и кремнийсодержащего (б) глицерогидрогелей; А – $Zn(C_3H_6O_3)$ /глицеролат цинка

Образование многочисленных межмолекулярных связей между функциональными группами моноглицеролата цинка и тетраглицеролата кремния, включая силанольные группы, образующиеся в результате гидролиза кремнийсодержащего прекурсора, не только оказывает ускоряющее влияние на кинетику процесса гелеобразования, но и определяет морфоструктуру образующего геля.

Данные СЭМ дисперсной фазы кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля подтверждают упорядоченную структуру

кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля с элементами кристаллических включений размером от 100 нм до 10 мкм (рис. 3.4а), характерных для моноглицеролата цинка (рис. 3.4б) – слоистые агрегаты, образованные плоскими кристаллитами субмикронного размера (на микрофотографиях четко видны тонкие чешуйки). Дисперсная фаза кремнийсодержащего глицерогидрогеля (рис. 3.4в) аморфизирована, не обладает кристаллической структурой и представляет собой агрегаты неправильной формы, размер которых определяется степенью и качеством помола.

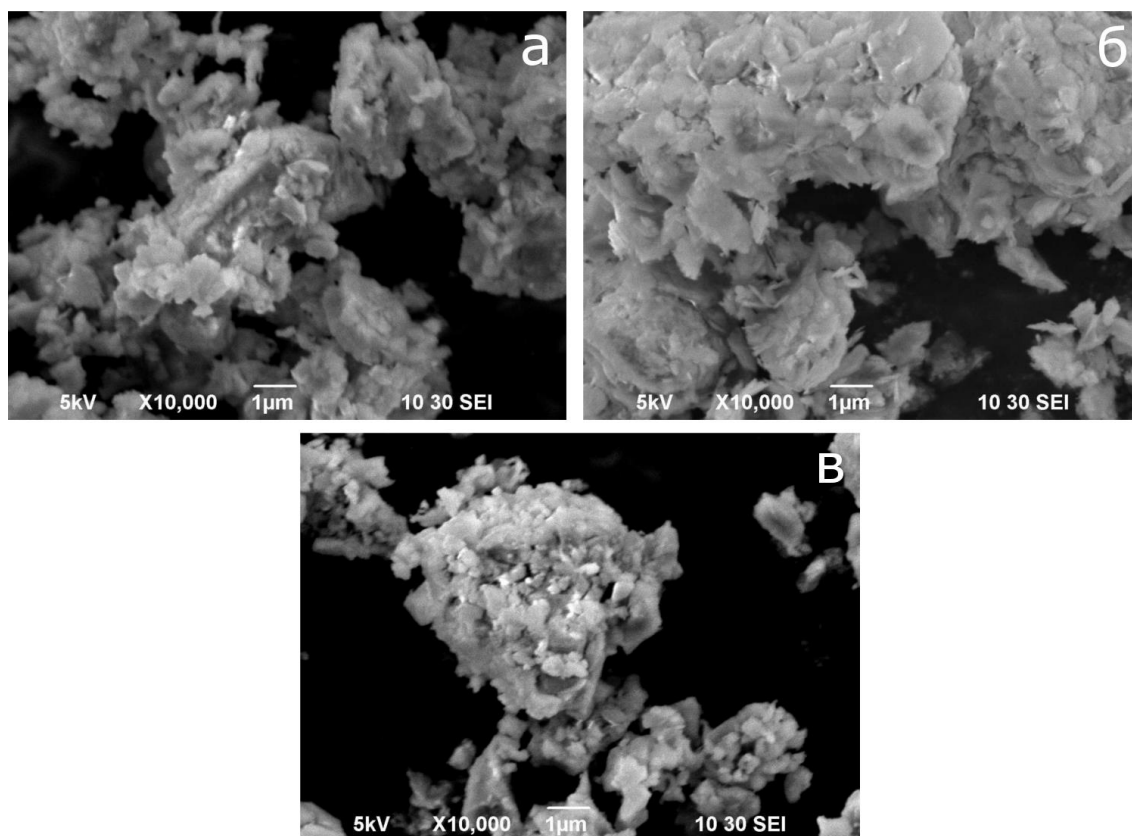


Рисунок 3.4 – Электронные микрофотографии дисперсной фазы кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля (а), кристаллического моноглицеролата цинка (б) и дисперсной фазы кремнийсодержащего глицерогидрогеля (в)

Таким образом, можно сделать вывод, что присутствие моноглицеролата цинка структурирует дисперсную фазу комбинированного геля.

Водорастворимые глицеролаты кремния, не вошедшие в полимерную фазу, и коллоидный моноглицеролат цинка, содержащийся в ячейках

пространственного каркаса, по нашему мнению, обеспечивают высокую фармакологическую активность геля.

*Исследование реологических характеристик кремнийцинксодержащего
глицерогидрогеля*

В настоящее время при разработке и создании мазей учитывают их реологические характеристики (пластичность, эластичность, структурная динамическая вязкость, тиксотропность), которые в значительной мере определяют качество мазей и могут служить эффективным и объективным контролем их качества на этапе создания, производства, хранения и применения [104 – 106]. Также реологические свойства оказывают влияние на процессы высвобождения и всасывания лекарственных веществ из мазей, стабильность мазей, внешний вид, намазываемость, способность выдавливаться из туб.

Нами определены реологические характеристики кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля. Гель предварительно диспергировали на лабораторном диспергаторе до мазеподобного состояния. По показаниям вискозиметра строили кривые зависимости в координатах «скорость сдвига – напряжение сдвига» (реограмма течения).

Исследования показали, что кремнийцинксодержащий глицерогидрогель имеет неньютоновский тип течения, реограмма течения имеет нелинейный характер, наблюдается петля гистерезиса. При этом восходящая кривая петли гистерезиса характеризует разрушение системы при нагрузке и отличается от нисходящей кривой, характеризующей восстановление системы при разгрузке. Данные результаты объясняются наличием остаточной деформации под влиянием приложенного напряжения. Наличие петли гистерезиса свидетельствует о тиксотропных свойствах системы, при этом ширина петли гистерезиса может служить оценкой эксплуатационно-потребительских свойств гидрогеля: намазываемость и распределение по поверхности кожи и слизистых оболочек, способность к наполнению и выдавливанию из туб [107]. Реологический оптимум консистенции кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля охарактеризован

эффективной динамической вязкостью 45,0–80,0 Па·с в диапазоне скоростей сдвига 8,0–74,9 с⁻¹, что соответствует нормам качества для мягких лекарственных форм [105].

3.2. Фармакологические исследования кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля

Комплекс фармакологических исследований* выполнен в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [94].

3.2.1. Острая токсичность

При изучении острой токсичности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля формального состава $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3) \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$ в эксперименте на лабораторных животных (белые беспородные мыши) установлено, что при внутрижелудочном и внутривентральном введении гидрогеля экспериментальные животные оставались живыми, признаков интоксикации выявлено не было в течение всего срока наблюдения (14 суток), LD₅₀ не определяется. Все контролируемые показатели (частота сокращения дыхательных мышц, наличие одышки и седации, тонус скелетных мышц, реакция на внешние раздражители, наличие и характер судорог) у животных опытных групп существенно не отличались от аналогичных показателей контрольной группы.

Таким образом, кремнийцинксодержащий глицерогидрогель согласно [108] относится к малотоксичным веществам (IV класс опасности).

* Автор выражает благодарность д.м.н., профессору кафедры фармакологии и клинической фармакологии УГМУ Ларионову Л.П. за помощь в проведении фармакологических исследований.

3.2.2. Местнораздражающее и аллергизирующее действие

Изучение местнораздражающего действия кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля при нанесении его на кожу и слизистую век кроликов показало отсутствие каких-либо отрицательных реакций (гиперемии и отека) в течение всего периода наблюдения. Таким образом, степень местнораздражающего действия геля соответствует 0 классу опасности.

При оценке аллергизирующих свойств кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля после проведения разрешающей пробы видимых изменений на коже в области воздействия, изменений склеры, конъюнктивы, слезного протока у кроликов отмечено не было.

Таким образом, можно заключить, что опасность сенсibilизации кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем и его лекарственными формами через неповрежденную кожу и слизистую оболочку маловероятна.

3.2.3. Антибактериальная активность (*in vitro*)

В таблице 3.1 приведены данные исследования антибактериальной активности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля в сравнении с контролем – линимент стрептоцида, кремнийцинксодержащий глицерогидрогель и вазелин.

Таблица 3.1 – Величина зон угнетения роста тест-культур для кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$

Тест-культура	Величина зоны подавления роста, мм
<i>S. aureus</i> 906	15,0 ± 1,1
<i>S. epidermidis</i> 14990	18,0 ± 0,9
<i>S. pyogenes</i> ATCC 19615	14,0 ± 1,1
<i>P. aeruginosa</i> 9027	> 25,0
<i>E. coli</i> 25922	> 28,0
Контроль (линимент стрептоцида)	18,0 – 22,5
Контроль (кремнийсодержащий глицерогидрогель)	зона угнетения отсутствует
Контроль (вазелин)	зона угнетения отсутствует

Как видно из данных таблицы, кремнийцинксодержащий глицерогидрогель обладает умеренной антибактериальной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Среди исследованных штаммов более чувствительными являются тест-культуры грамотрицательных бактерий *E.coli* и *P. aeruginosa*, в отношении которых антибактериальная активность геля превышает линимент стрептоцида.

Вероятно, антибактериальное действие геля может быть обусловлено биологической активностью эссенциального микроэлемента цинка (в виде моноглицеролата цинка), входящего в структуру геля. Механизм антибактериального действия цинка на грамположительные и грамотрицательные бактерии ряд исследователей связывают с особенностью строения их клеточных стенок и способностью ионов цинка проникать через клеточные мембраны [109, 110]. Проникновение ионов цинка через внешнюю оболочку клеточной мембраны грамотрицательных бактерий осуществляется посредством неселективной пассивной диффузии с помощью поринов, встроенных в клеточную мембрану. После этого ионы цинка с помощью транспортных систем внутренней мембраны транспортируются в цитозоль, для насыщения клетки ионами цинка [109], после этого цитозоль начинает эффективно концентрировать ионы цинка [111], что является энергозатратным процессом [112]. Условия жизни бактерии ухудшаются, так как она транспортирует большое количество ионов цинка. Грамположительные бактерии не имеют периплазмы и в отличие от грамотрицательных бактерий транспортируют меньшее количество ионов цинка, тем самым затрачивая меньшее количество энергии [110]. Таким образом, грамотрицательные бактерии проявляют большую чувствительность к ионам цинка, чем грамположительные.

3.2.4. Ранозаживляющая и регенерирующая активность (*in vivo*)

Ранозаживляющую и регенерирующую активность кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля изучали на модели термической травмы слизистой оболочки нижней губы крыс популяции Wistar, разработанной

на кафедре фармакологии и клинической фармакологии УГМУ. На травмированных участках слизистой оболочки на фоне лечения гелем у всех опытных крыс эпителизация наступала ~ на 5-ые сутки с тенденцией к более быстрому уменьшению гиперемии и отёка слизистой. В контрольной группе полное заживление ран наблюдалось ~ на 7-ые сутки.

В исследовании «открытое поле» наибольшее снижение активности по всем показателям наблюдалось в контрольной группе; в опытной группе активность приближалась к исходному уровню.

Гематологическое и биохимическое исследование крови животных опытной и контрольной групп выявило воспалительную реакцию в первые сутки после травмы. В процессе лечения в контрольной группе нейтрофильный лейкоцитоз сохранялся до 7-и суток, в опытной – до 5-и суток, что свидетельствует также и о противовоспалительных свойствах геля.

Активность трансаминаз крови (АЛТ, АСТ), содержание мочевины и гемоглобина существенно не различались у животных опытной и контрольной групп, что свидетельствует об отсутствии токсического воздействия геля.

Гистологическое исследование среза слизистой оболочки у крыс опытной группы свидетельствует о формировании эпителия равномерной толщины на всем протяжении. Соединительно-тканые сосочки четко выражены, клетки базального слоя располагаются в один ряд, базальная мембрана непрерывна. Клетки шиповатого слоя крупные, в состоянии активного деления.

В то же время гистологическое исследование среза слизистой оболочки у крыс контрольной группы также свидетельствует о формировании эпителия равномерной толщины, но на месте травмы его толщина несколько увеличена. Роговой слой нарастает неравномерно, клетки шиповатого слоя находятся на разных стадия деления. В эндотелии сосудов подэпителиального слоя обнаруживаются процессы пролиферации и образование тромбов. Выявляются тучные клетки в незначительном количестве.

На основании полученных данных можно заключить, что применение кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля ускоряет процессы регенерации и

оказывает противовоспалительный эффект с улучшением морфоструктурных показателей слизистой оболочки губы [98, 113].

Из литературных данных известно, что моноглицеролат цинка эффективен в комплексной терапии герпес-вирусных инфекций [114]. Вероятно, противогерпетическая активность моноглицеролата цинка связана с наличием в его составе эссенциального микроэлемента цинка в биологически активной форме, который оказывает иммуностропное действие (стимулирует выработку антител) на организм человека, тем самым обеспечивая противовирусное действие. Мы полагали, что синтезированный нами кремнийцинксодержащий глицерогидрогель, с входящим в его состав эссенциальным микроэлементом цинком в биологически активной форме (в форме моноглицеролата цинка), также будет проявлять иммуностропную активность.

Сравнительное изучение иммуностропной активности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля с разрабатываемыми нами новыми фармацевтическими композициями на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля с использованием известных иммуностропных веществ см. в главе 5 диссертации.

Таким образом, кремнийцинксодержащий глицерогидрогель нетоксичен, обладает выраженным ранозаживляющим, регенерирующим действием и антибактериальной активностью.

Выводы по главе 3

Таким образом, впервые были синтезированы новые кремнийцинксодержащие глицерогидрогели. С использованием физических и физико-химических методов исследований охарактеризована выделенная дисперсная фаза кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля, предложена модель структуры.

Показано, что кремнийцинксодержащий глицерогидрогель оптимального состава нетоксичен, обладает выраженным ранозаживляющим, регенерирующим действием и умеренной антибактериальной активностью.

ГЛАВА 4. РАЗРАБОТКА НОВЫХ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ ДЛЯ МЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ НА ОСНОВЕ КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕГО ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЯ И ИЗВЕСТНЫХ ИММУНОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ

Учитывая актуальность использования иммуностропных средств для местного применения, а также анализа научной и патентной литературы нами предложен ряд фармацевтических композиций для местного лечения воспалительных заболеваний полости рта*, с использованием известных иммуностропных средств в качестве активных добавок (галавита, беталейкина, полиоксидония) и субстанции кремнийсодержащего глицерогидрогеля «Силативит» в качестве гидрофильной основы композиций [101, 115 – 122]. Ранее было показано, что кремнийсодержащий глицерогидрогель формального состава $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 6\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, обладающий транскутанной, ранозаживляющей и регенерирующей активностью, может быть использован как в качестве самостоятельного лекарственного средства в стоматологической практике, так и в качестве основы фармацевтических композиций. В настоящее время нами проводятся клинические испытания глицерогидрогеля «Силативит» с целью внедрения в стоматологическую практику [123].

4.1. Исследование фармацевтической совместимости иммуностропных веществ с кремнийсодержащим глицерогидрогелем

Различают три типа фармацевтической (не)совместимости: физическую, физико-химическую и химическую [124]. Основными причинами возникновения физической и физико-химической несовместимости компонентов могут быть несмешиваемость ингредиентов, коагуляция коллоидных систем, отсыревание и расплавление сложных порошков, адсорбция лекарственных веществ.

* Исследование выполнено совместно с сотрудниками кафедры терапевтической стоматологии УГМУ к.м.н. Саркисян Н.Г. и к.м.н. Чернышевой Н.Д.

Химическая несовместимость возникает в результате реакций образования нерастворимых и малорастворимых соединений, гидролиза органических веществ, образования газов, окисления и восстановления.

В результате возникновения фармацевтической несовместимости может возникать ослабление или потеря биологической активности компонентов, а также усиление побочного или токсического действия.

Таким образом, при разработке новых лекарственных средств необходимо учитывать и исследовать фармацевтическую совместимость активных компонентов, входящих в их состав.

Нами изучена фармацевтическая совместимость активных компонентов (галавита, беталейкина, полиоксидония) разрабатываемых композиций с кремнийсодержащим глицерогидрогелем на примере модельных систем.

На рисунках 4.1 – 4.3 приведены ИК спектры субстанций галавита, беталейкина, полиоксидония, кремнийсодержащего глицерогидрогеля и модельных систем, содержащих 10% активных компонентов.

Наличие основных групп и связей в ИК спектрах подтверждается основными полосами поглощения валентных и деформационных колебаний в области $400 - 4000 \text{ см}^{-1}$ (рис. 4.1 – 4.3; табл. 4.1 – 4.3):

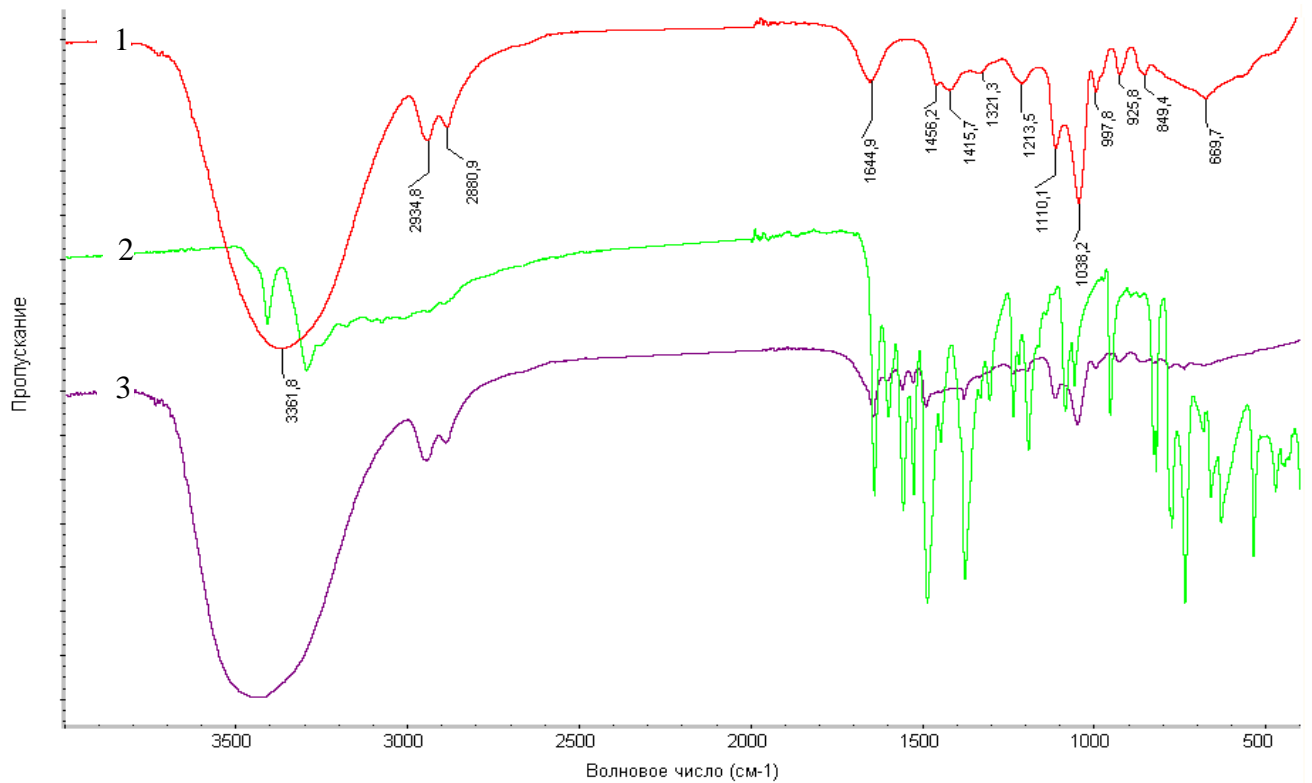


Рисунок 4.1 – ИК спектры субстанции галавита, кремнийсодержащего глицерогидрогеля и модельной системы: 1 – кремнийсодержащий глицерогидрогель; 2 – субстанция галавита; 3 – модельная система, содержащая 10% галавита

Таблица 4.1 – Результаты исследования химической совместимости галавита и кремнийсодержащего глицерогидрогеля на примере модельной системы методом ИК спектроскопии

Характеристическая частота поглощения, см ⁻¹			Вид колебаний группы атомов
Галавит	Кремнийсодержащий глицерогидрогель	Модельная система (10 % галавита)	
3410	–	3438	NH
3294	3364	3364	Валентные колебания O–H
–	2937 2884 1231 1208	2944 2885 1236	Валентные колебания C–H
1645 1604 1231	–	1645 1604 1236	Валентные колебания C=O
1555 1528 1488	–	1556	C=C

1442	1456 1415	1488	Деформационные колебания С–Н
1379 1303	–	1375	Н–С
1195 – 1057 822 – 737	849	822 – 737	Скелетные колебания С–Н
–	1111	1110	С–О в С–О–Н
–	1038 994	1047 993	Валентные колебания Si–O в –Si–O–C и –Si–O–Si (в открытой цепи)

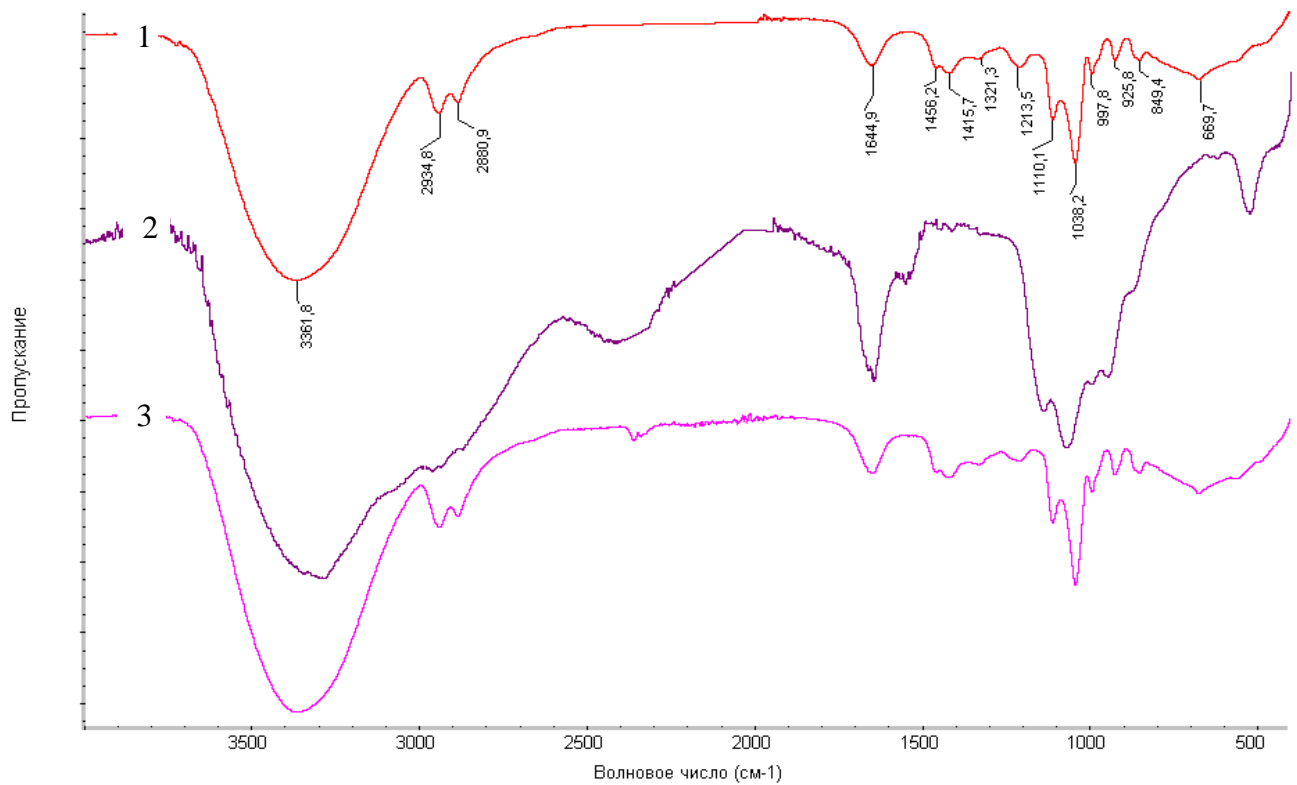


Рисунок 4.2 – ИК спектры субстанции беталейкина, кремнийсодержащего глицерогидрогеля и модельной системы: 1 – кремнийсодержащий глицерогидрогель; 2 – субстанция беталейкина; 3 – модельная система, содержащая 10% беталейкина

Таблица 4.2 – Результаты исследования химической совместимости беталейкина и кремнийсодержащего глицерогидрогеля на примере модельной системы методом ИК спектроскопии

Характеристическая частота поглощения, см ⁻¹			Вид колебаний группы атомов
Беталейкин	Кремнийсодержащий глицерогидрогель	Модельная система (10 % беталейкина)	
3348 1546	–	3348	NH
3294	3364 1231 1208	3364 1209	Валентные колебания O–H
2953 2872	2937 2884	2944 2885	Валентные колебания C–H
2422	–	2422	Валентные колебания NH ³⁺
1644	–	1644	Валентные колебания C=O
1546	–	не проявляется	C=C
–	1456 1415	1451 1416	Деформационные колебания C–H
1065 853	849	853	Скелетные колебания C–H
1137 989 939	1111	1105	C–O в C–O–H
–	1038 994	1043 998	Валентные колебания Si–O в –Si–O–C и –Si–O–Si (в открытой цепи)

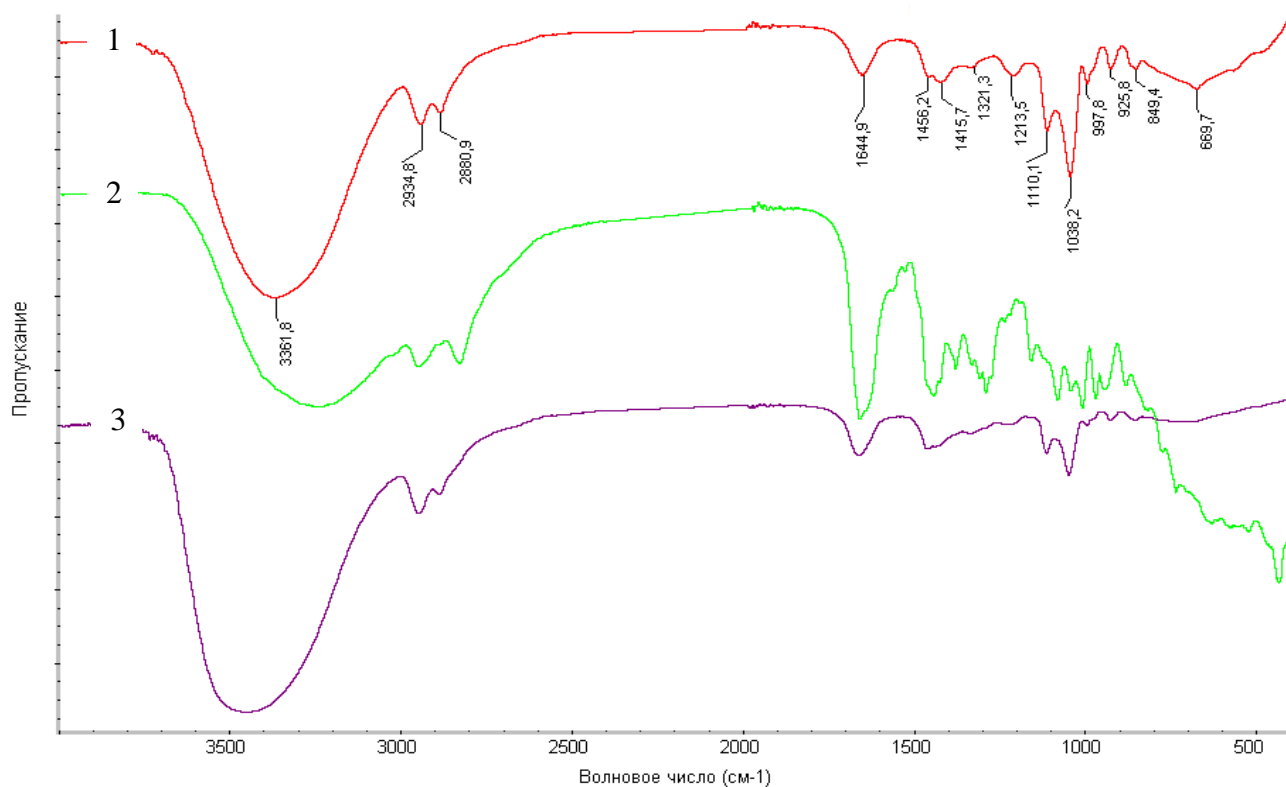


Рисунок 4.3 – ИК спектры субстанции полиоксидония, кремнийсодержащего глицерогидрогеля и модельной системы: 1 – кремнийсодержащий глицерогидрогель; 2 – субстанция полиоксидония; 3 – модельная система, содержащая 10% полиоксидония

Таблица 4.3 – Результаты исследования химической совместимости полиоксидония и кремнийсодержащего глицерогидрогеля на примере модельной системы методом ИК спектроскопии

Характеристическая частота поглощения, см ⁻¹			Вид колебаний группы атомов
Полиоксидоний	Кремнийсодержащий глицерогидрогель	Модельная система (10 % полиоксидония)	
3353	3364 1231 1218	3364	Валентные колебания O–H
2948 2832	2937 2884	2953 2885	Валентные колебания C–H
1667	–	1667	Валентные колебания C=O
1456	1456 1415	1465 1429	Деформационные колебания C–H
1384	–	1384	N–C
1325 1285	–	1325 1285	N–O

1083 971 – 737	849	849	Скелетные колебания С–Н
1155	1111	1115	С–О в С–О–Н
–	1038 994	1047 989	Валентные колебания Si–O в –Si–O–C и –Si–O–Si (в открытой цепи)

Как видно, из сопоставления спектров субстанции галавита, беталейкина, полиоксидония, кремнийсодержащего глицерогидрогеля со спектрами модельных систем, существенных изменений в характеристических частотах поглощения компонентов разрабатываемых композиций не наблюдается, что подтверждает их химическую совместимость.

В таблицах 4.4 – 4.6 приведены результаты исследования физической и физико-химической совместимости галавита, беталейкина и полиоксидония с кремнийсодержащим глицерогидрогелем методом центрифугирования.

Таблица 4.4 – Результаты исследования стабильности для 5 опытных серий кремнийсодержащей композиции с галавитом

Серия №	Дата анализа	Срок хранения, мес.	Коллоидная стабильность
010712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
020712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
030712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
040712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
050712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.

Таблица 4.5 – Результаты исследования стабильности для 5 опытных серий кремнийсодержащей композиции с беталаейкином

Серия №	Дата анализа	Срок хранения, мес.	Коллоидная стабильность
010712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
020712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
030712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
040712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
050712	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.

Таблица 4.6 – Результаты исследования стабильности для 5 опытных серий кремнийсодержащей композиции с полиоксидонием

Серия №	Дата анализа	Срок хранения, мес.	Коллоидная стабильность
010711	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
020711	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
030711	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
040711	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.
050711	30.07.2012	1	Соотв.
	30.08.2012	2	Соотв.
	30.09.2012	3	Соотв.

Как видно из таблиц 4.4 – 4.6 все опытные образцы исследуемых серий разрабатываемых композиций стабильны при центрифугировании (отсутствие расслоения). Кроме того, в процессе хранения (1 год) не наблюдалось никаких

видимых изменений: появление окраски, посторонних запахов, выделения воды в результате химических реакций, изменения консистенции.

Таким образом, установлено, что галавит, беталейкин и полиоксидоний совместимы с кремнийсодержащим глицерогидрогелем.

4.2. Первичные фармакологические исследования разрабатываемых фармацевтических композиций

4.2.1. Острая токсичность

При изучении острой токсичности (белые беспородные мыши массой 30–40 г) установлено, что при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении 50%-х водных суспензий разрабатываемые композиции не оказывают токсического воздействия на организм экспериментальных животных, LD₅₀ не определяется. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 разрабатываемые фармацевтические композиции относятся к малотоксичным веществам (IV класс опасности).

4.2.2. Местнораздражающее и аллергизирующее действие

Изучение местнораздражающего действия разрабатываемых фармацевтических композиций при нанесении на кожу и слизистую век кроликов показало отсутствие каких-либо отрицательных реакций (гиперемии и отека) в течение всего периода наблюдения. Таким образом, степень местнораздражающего действия разрабатываемых средств соответствует 0 классу опасности.

При оценке аллергизирующих свойств разрабатываемых фармацевтических композиций после проведения разрешающей пробы видимых изменений на коже в области воздействия, изменений склеры, конъюнктивы, слезного протока у кроликов отмечено не было.

Таким образом, можно заключить, что опасность сенсibilизации разрабатываемыми фармацевтическими композициями через неповрежденную кожу и слизистую оболочку маловероятна.

4.3. Выбор оптимальной фармацевтической композиции

Для выбора оптимальной фармацевтической композиции была проведена сравнительная оценка ранозаживляющей и регенерирующей активности композиций на модели термического ожога II – IIIа степени (модель разработана на кафедре фармакологии и клинической фармакологии УГМУ) кожи крыс популяции Wistar, а также проведена оценка эндогенной интоксикации по содержанию молекул средней и низкой молекулярной массы (МСМ), имеющих максимальные длины волн при 254 нм и 280 нм, включая пептиды, гликопротеины, липопротеиды, в плазме крови и эритроцитах*.

Исследование ранозаживляющей и регенерирующей активности фармацевтических композиций

Установлено, что сроки ранозаживления во всех опытных группах сокращаются до 14 – 15 дней по сравнению с контрольной группой (без лечения, 21 – 22 дня) с формированием значительно более эластичного послеожогового рубца, наименее выраженной деструкцией и некрозом эпидермиса и восстановлением шерстистого покрова. При этом существенных отличий в сроках заживления между опытными группами выявлено не было.

В исследовании «открытое поле» в контрольной группе наблюдали снижение горизонтальной и вертикальной активности, показателей груминга и обследования «нор» по сравнению с исходным уровнем на протяжении всего эксперимента (1, 6, 15 сутки после травмы). Во всех опытных группах в 1-е сутки также отмечали снижение активности по всем показателям. На 6-й день появилась тенденция к восстановлению активности, но в большинстве групп она оставалась ниже исходного уровня. На 15-й день исследования активность животных опытных групп приблизилась к исходному уровню и не отличалась от таковой интактных животных. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при

* Автор выражает благодарность доценту, к.б.н. Института иммунологии и физиологии УрО РАН Гетте И.Ф. за помощь в проведении исследований по изучению показателей эндогенной интоксикации.

лечении животных опытных групп разрабатываемыми композициями значительно улучшается их общее состояние (крысы быстрее адаптируются к условиям эксперимента).

Биохимические показатели крови, в частности, белки, липиды и форменные элементы крови (лейкоциты, эритроциты и др.) у крыс опытных групп практически не отличались от показателей интактной группы животных.

В результате морфологических исследований выявлено, что в опытных группах на фоне лечения разрабатываемыми композициями в месте повреждения наблюдается полное восстановление эпидермиса с признаками пролиферативной активности эпителиоцитов базального слоя. В дерме сохраняется умеренная диффузная лимфогистиоцитарная инфильтрация. Над зоной повреждения отмечена более выраженная пролиферативная активность клеток многослойного плоского ороговевшего эпителия.

В контрольной группе повреждение кожи характеризуется большей глубиной и степенью дистрофических изменений эпидермиса, в дерме – субэпителиальные полости на фоне выраженного отека с деструкцией коллагеновых волокон сосочкового слоя, выраженная инфильтрация сегментоядерных лейкоцитов; в подкожно-жировой клетчатке и поперечно-полосатой мышечной ткани – выраженный интерстициальный склероз.

Таким образом, разрабатываемые композиции обладают выраженным ранозаживляющим и регенерирующим действием, при этом существенных отличий по срокам ранозаживления между опытными группами выявлено не было.

Оценка эндогенной интоксикации

Эндогенная интоксикация занимает важную роль в патогенезе ожоговых травм, определяя исход процесса [125 – 127]. К компонентам эндогенной интоксикации относятся продукты деградации клеток некротизированной и ишемизированной кожи, которые вследствие деструкции становятся антигенами

[128]. Несмотря на многообразие компонентов продуктов эндогенной интоксикации, универсальным маркером являются МСМ [125, 129].

К МСМ относятся пептиды, гликопептиды, нуклеопептиды, аминсахара, олигосахариды, полиамины, многоатомные спирты и другие. О содержании среднемолекулярных пептидов можно судить на основании прямой спектрометрии депротеинизированного супернатанта, полученного после осаждения белков раствором трихлоруксусной кислоты при длинах волн 254 нм (пептиды, гликопротеины, липопротеиды) и 280 нм (ароматические аминокислоты и содержащие их пептиды, катехоламины) [130, 131].

При исследовании содержания МСМ в плазме крови экспериментальных животных, установлено снижение их количества в опытных группах относительно не только контрольных, но и интактных животных (табл. 4.7).

Таблица 4.7 – Показатели эндогенной интоксикации

Показатели		Группа				
		интактные	контроль	кремнийсодержащие композиции с иммуностропными веществами		
				галавит (0,70 мас. %)	беталейкин (0,50 мас. %)	полиоксидоний (0,01 мас. %)
МСМ в плазме крови (усл.ед.)	254 нм	0,084 ± 0,010	0,086 ± 0,003	0,040 ± 0,007*	0,046 ± 0,011*	0,051 ± 0,010*
	280 нм	0,135 ± 0,006	0,123 ± 0,003	0,102 ± 0,003*	0,115 ± 0,013	0,112 ± 0,007*
МСМ в эритроцитах (усл.ед.)	254 нм	0,554 ± 0,042	0,667 ± 0,020	0,490 ± 0,016*	0,577 ± 0,016*	0,520 ± 0,043*
	280 нм	0,245 ± 0,004	0,263 ± 0,011	0,218 ± 0,022	0,246 ± 0,007	0,227 ± 0,011*

* различия достоверны при $p < 0,05$

Также отмечено снижение МСМ, относящихся к группе пептидов, в эритроцитах при лечении разрабатываемыми композициями. Снижение количества пептидов является благоприятным фактором, так как именно пептиды в составе иммунных комплексов ответственны за аутоиммунные процессы при ожоговых травмах, вызывая, кроме других нарушений, повреждение почечных

клубочков и почечную недостаточность. Стоит отметить, что среди исследованных композиций наиболее благоприятные результаты были получены в случае средства с галавитом.

На основании фармако-технологических характеристик (с учетом экономической составляющей) это средство было выбрано нами для дальнейшего изучения и сравнения с кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем.

Выводы по главе 4

Таким образом, предложены новые фармацевтические композиции для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний с использованием в качестве активных добавок известных иммуностропных веществ галавита, беталейкина и полиоксидония на кремнийсодержащем глицерогидрогеле в качестве мазевой основы композиций.

Показана фармацевтическая совместимость иммуностропных веществ с кремнийсодержащем глицерогидрогелем. В эксперименте на лабораторных животных показана безопасность применения и эффективность фармакологического действия разрабатываемых композиций.

На основании фармако-технологических характеристик (с учетом экономической составляющей) для дальнейшего изучения и сравнения с кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем была выбрана оптимальная фармацевтическая композиция с галавитом (0,70 масс. %) на кремнийсодержащем глицерогидрогеле.

ГЛАВА 5. СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ИММУНОТРОПНЫХ СВОЙСТВ КРЕМНИЙЦИНКСОДЕРЖАЩЕГО ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЯ И ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ С ГАЛАВИТОМ*

Сравнительную оценку эффективности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и кремнийсодержащей композиции с галавитом в обеспечении иммунозависимых функций проводили на модели осложненного раневого процесса у крыс (механическая травма нижней части спины) популяции Wistar на фоне иммуносупрессии, вызванной введением гидрокортизона [96] в течение 14 дней. При этом поддерживался вялотекущий воспалительный процесс, не приводящий к полному ранозаживлению.

Установлено, что на 8-й день эксперимента в 3-й группе на фоне применения кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля у 83% животных фиксировали отхождение струпа, во 1-й и 4-й группе – у 33% животных, в 2-й – отхождения струпа не отмечено. На 14-й день эксперимента полная эпителизация ран в 100% случаев наблюдалась в 1-й и 3-й группах. В 4-й группе при использовании галавита эпителизация ран отмечена у 80% животных, в случае 2-й группы – у 70% животных.

При гистологическом исследовании выявлено, что на 3-й день эксперимента во всех четырех группах краевая эпителизация наблюдалась лишь в 20 % случаев, также отмечалось формирование грануляционной ткани с единичными лимфоцитами и макрофагами (рис. 5.1). В месте повреждения сохранялись выраженная воспалительная реакция и лейкостаз в тонкостенных сосудах капиллярного типа.

* Исследования выполнены совместно с аспирантом кафедры фармакологии и клинической фармакологии УГМУ Сахаутдиновой Р.Р.

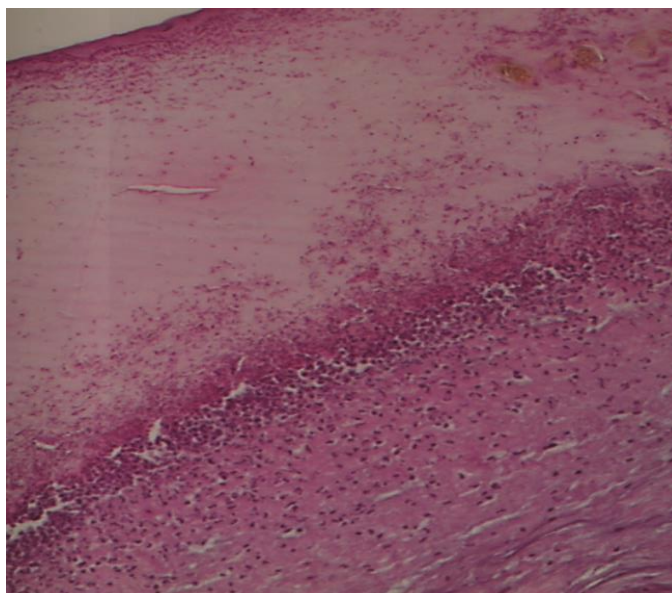


Рисунок 5.1 – Фрагмент травмированного участка кожи на 3-й день эксперимента на фоне лечения кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем (заживление под струпом, тканевой детрит; окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$)

В 1-й группе животных (острая рана без лечения) на 8-й день эксперимента отмечалась краевая эпителизация у 75 % животных, у 25 % – сохранялась умеренно-выраженная воспалительная реакция и дефект эпидермиса с формированием пролиферативного акантоза и слоя грануляционной ткани (рис. 5.2).

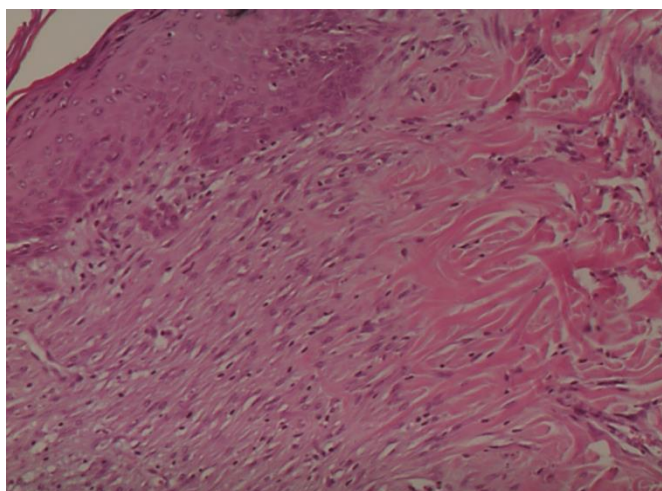


Рисунок 5.2 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента в случае острой раны (без иммуносупрессии) без лечения (грануляционная ткань; окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$)

В случае осложненного раневого процесса на фоне иммуносупрессии без лечения (группа 2) на 8-й день эксперимента сохранялись выраженная воспалительная реакция и лейкостаз в тонкостенных сосудах капиллярного типа, формировалась грануляционная ткань с межэпителиальной инфильтрацией лимфоцитами и макрофагами (рис. 5.3). При этом полной эпителизации травмированного участка кожи не наблюдалось, лишь у 60 % животных отмечалась краевая эпителизация, в 40 % – сохранялся дефект эпидермиса.

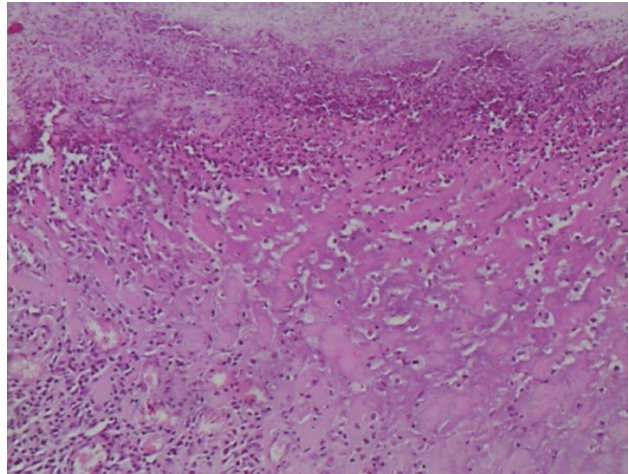


Рисунок 5.3 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента в случае осложненного раневого процесса на фоне иммуносупрессии без лечения (тканевой детрит, грануляционная ткань; окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$)

На 8-й день эксперимента на фоне применения кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля (группа 3) отмечалось снижение воспалительной инфильтрации сегментоядерными нейтрофилами, отсутствие лейкостаза в тонкостенных сосудах капиллярного типа, отсутствовали межэпителиальная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами и формирование слоя грануляционной ткани (рис. 5.4). При этом у 30 % животных отмечена полная эпителизация, в остальных случаях – краевая эпителизация и заживление под струпом.

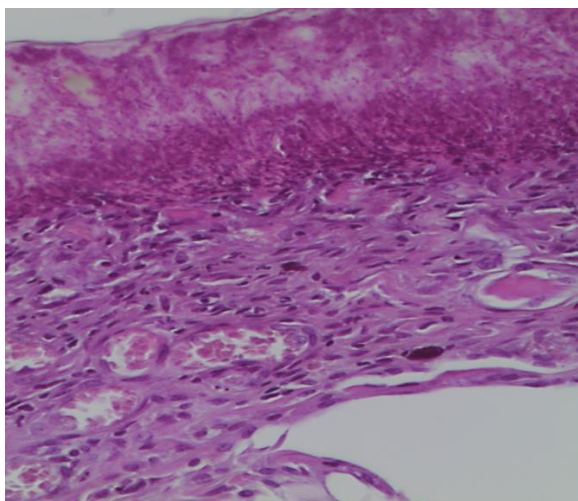


Рисунок 5.4 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента на фоне лечения кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем (заживление под струпом, васкуляризация дермы; окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$)

Подобная картина имела место и при использовании кремнийсодержащей композиции с галавитом (группа 4). При этом полная эпителизация травмированного участка кожи имела место в 25 % случаев, краевая эпителизация – в 75 % (рис.5.5).

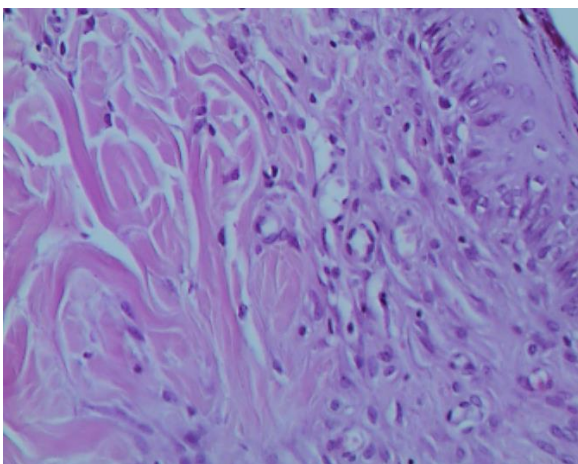


Рисунок 5.5 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента на фоне лечения фармацевтической композиции с галавитом (грануляционная ткань; окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$)

Таким образом, кремнийцинксодержащий глицерогидрогель в условиях осложненного иммуносупрессией раневого процесса благоприятно влияет на процессы регенерации, что в итоге приводит к формированию более эластичной ткани и сокращению сроков ранозаживления [132, 133].

В иммуногистохимическом исследовании на 3-й день эксперимента в 1-й группе (острая рана без лечения) в дерме в большом количестве определялись лейкоциты и единичные макрофаги (рис. 5.6).

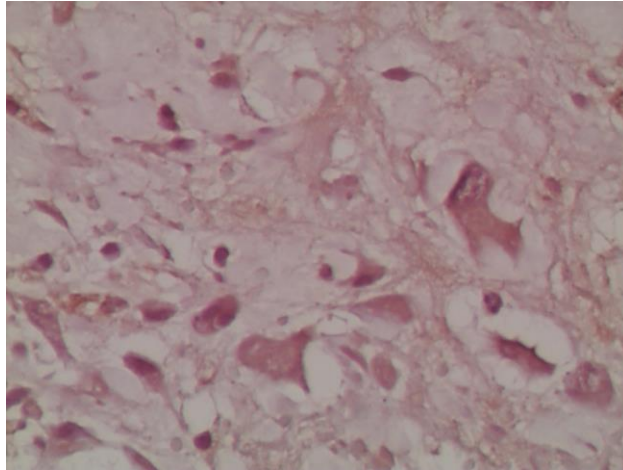


Рисунок 5.6 – Фрагмент травмированного участка кожи на 3-й день эксперимента в случае острой раны (без иммуносупрессии) без лечения (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммунопероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

Во 2-й группе на фоне иммуносупрессии (без лечения) определялись единичные лейкоциты и единичные макрофаги, преимущественно периваскулярно. Кроме того, наблюдались фибробласты и коллагеновые волокна (рис. 5.7).

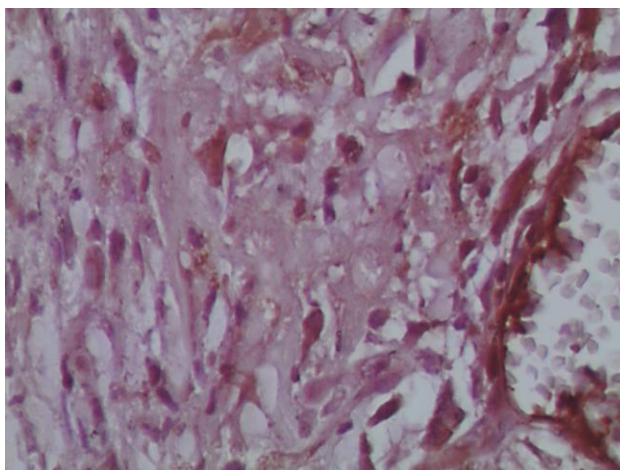


Рисунок 5.7 – Фрагмент травмированного участка кожи на 3-й день эксперимента в случае осложненного раневого процесса на фоне иммуносупрессии без лечения (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммуно-пероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

При лечении разрабатываемыми средствами (группы 3, 4) на 3-й день эксперимента в месте травмирования также сохранялись единичные полиморфноядерные лейкоциты, но при этом нарастало количество макрофагов, в том числе, периваскулярно (рис. 5.8, 5.9).

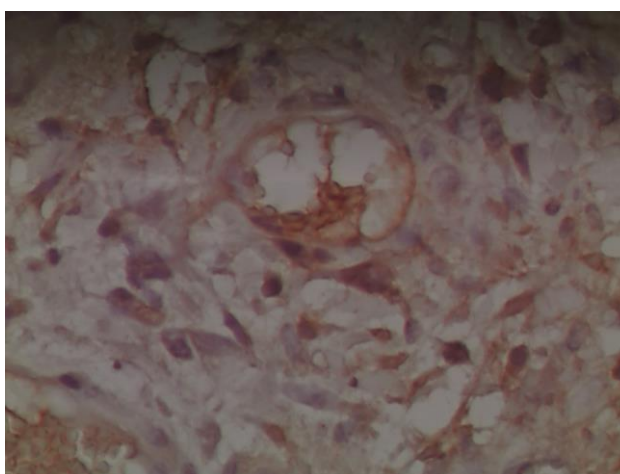


Рисунок 5.8 – Фрагмент травмированного участка кожи на 3-й день эксперимента на фоне лечения кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммуно-пероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

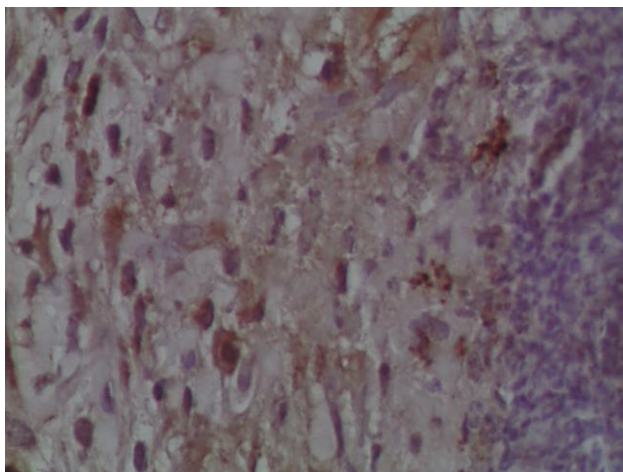


Рисунок 5.9 – Фрагмент травмированного участка кожи на 3-й день эксперимента на фоне лечения кремнийсодержащей композицией с галавитом (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммуно-пероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

На 8-й день эксперимента в случае острой раны без лечения в дерме кожи в большом количестве определялись полиморфноядерные лейкоциты и умеренное количество макрофагов (рис. 5.10).

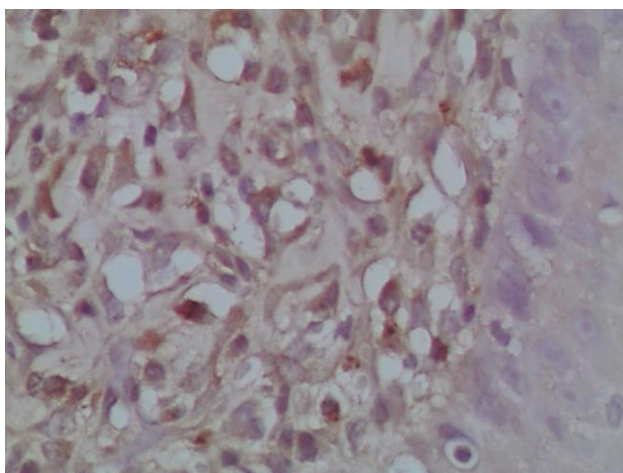


Рисунок 5.10 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента в случае осложненного раневого процесса на фоне иммуносупрессии без лечения (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммуно-пероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

В случае осложненного раневого процесса на фоне иммуносупрессии, вызванной введением гидрокортизона (без лечения), в дерме кожи определялись немногочисленные полиморфноядерные лейкоциты, единичные макрофаги и увеличивалось количество фибробластов и волокнистых структур в дерме, что указывает на ее склерозирование (рис. 5.11).

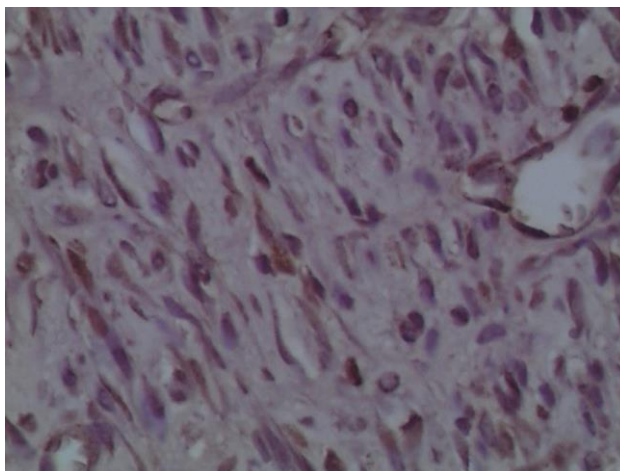


Рисунок 5.11 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента в случае осложненного раневого процесса на фоне иммуносупрессии без лечения (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммуно-пероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

В 3-й и 4-й группах на фоне лечения кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем и кремнийсодержащей композицией с галавитом, соответственно, на 8-й день эксперимента отмечалось уменьшение лейкоцитарной инфильтрации, увеличение преимущественно периваскулярной макрофагальной инфильтрации, снижение отёка и отсутствие очагов формирования грубоволокнистой соединительной ткани (рис. 5.12, 5.13).

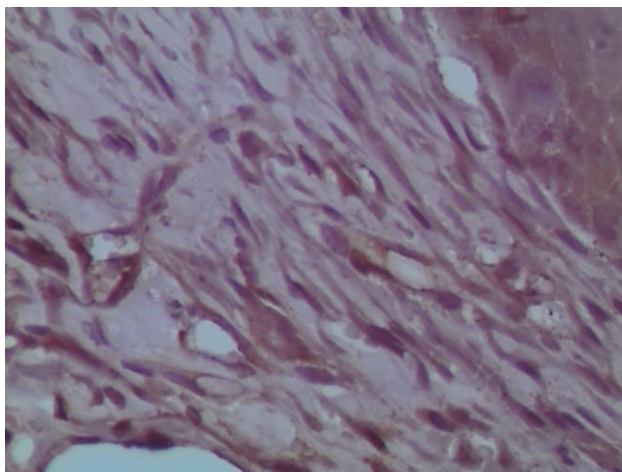


Рисунок 5.12 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента на фоне лечения кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммунопероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

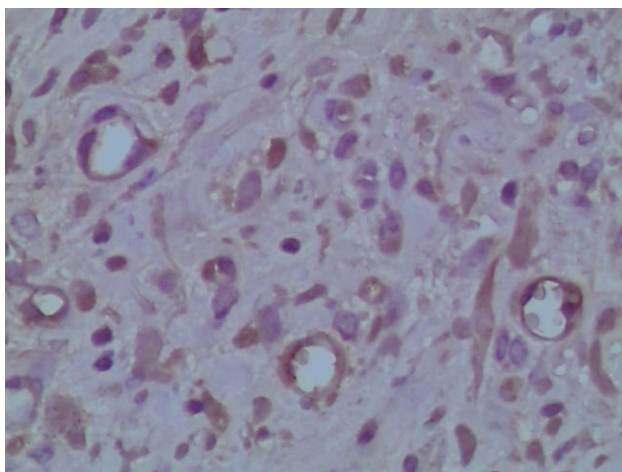


Рисунок 5.13 – Фрагмент травмированного участка кожи на 8-й день эксперимента на фоне лечения кремнийсодержащей композицией с галавитом (иммуногистохимия, система визуализации – универсальный иммунопероксидазный полимер Histofine Simple Stain Max PO и Histofine DAB. Ув. $\times 400$)

Таким образом, показано, что для образцов участков травмированной кожи, обработанных кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем и кремнийсодержащей композицией с галавитом, значимо определяются макрофаги (CD68+), что подтверждает положительный эффект, обеспеченный топическим воздействием разрабатываемых веществ на механизмы иммунитета.

На основании полученных данных можно заключить, что наиболее перспективными с точки зрения внедрения в медицинскую практику являются кремнийцинксодержащий глицерогидрогель и кремнийсодержащая композиция с галавитом, которые обладают ранозаживляющей, регенерирующей и иммуностропной активностью; при этом кремнийцинксодержащий глицерогидрогель дополнительно обладает антибактериальным действием.

Данные средства выбраны нами для стандартизации.

Выводы по главе 5

На модели осложненного раневого процесса у крыс популяции Wistar (механическая травма нижней части спины) на фоне иммуносупрессии, вызванной введением гидрокортизона, показана эффективность действия (ранозаживляющего, регенерирующего, иммуностропного) нового кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля в сравнении с разрабатываемой кремнийсодержащей композицией с галавитом. При этом кремнийцинксодержащий глицерогидрогель дополнительно обладает антибактериальным действием.

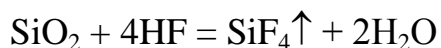
ГЛАВА 6. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА КРЕМНИЙЦИНКСОДЕРЖАЩЕГО ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЯ

6.1. Определение подлинности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля

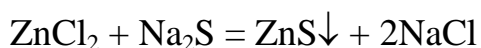
Подлинность кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля подтверждают методом ИК спектроскопии и качественными химическими реакциями на компоненты геля.

Наличие кремния и цинка в геле доказывают соответствующими качественными химическими реакциями. Гель предварительно прокаливают для получения смеси оксидов кремния и цинка, которую далее обрабатывают хлористоводородной кислотой до растворения оксида цинка и удаления его в виде раствора путем фильтрования. Затем остаток диоксида кремния SiO_2 промывают дистиллированной водой, сушат, вторично прокаливают, растворяют в плавиковой кислоте с образованием летучего тетрафторида кремния SiF_4 .

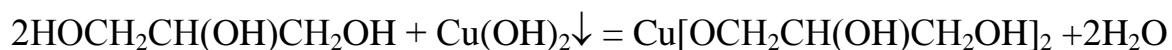
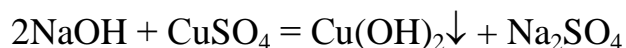
Реакцию проводят следующим образом: 0,5 г кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля прокаливают в муфельной печи при $650\text{ }^\circ\text{C}$ до образования оксидов кремния и цинка (SiO_2 и ZnO), которые далее обрабатывают хлористоводородной кислотой (2,36 М) до растворения оксида цинка и удаления его в виде раствора путем фильтрования. Затем остаток диоксида кремния SiO_2 промывают дистиллированной водой, сушат, вторично прокаливают и растворяют в концентрированной плавиковой кислоте с образованием летучего тетрафторида кремния SiF_4 , который при взаимодействии с каплей воды, внесенной в ушко платиновой проволоки, подвергается гидролизу с образованием кремниевой кислоты, мутнеющей в воде ввиду своей нерастворимости.



К полученному раствору хлорида цинка добавляют сульфид натрия. Образуется белый осадок сульфида цинка, нерастворимый в уксусной кислоте и легко растворимый в разведенной хлористоводородной кислоте.



Глицерин в кремнийцинксодержащем глицерогидрогеле открывают по реакции образования комплексных глицератов меди сине-фиолетовой окраски. Для этого 0,5 г геля смешивают с 2 мл 1М раствора гидроксида натрия и 1 мл 1М раствора сульфата меди, появляется сине-фиолетовое окрашивание, характерное для комплекса глицерата меди.



6.2. Разработка и валидация методики количественного определения кремния и цинка

Нами разработана методика количественного определения кремния и цинка при их совместном присутствии в кремнийцинксодержащем глицерогидрогеле состава $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3) \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$ с использованием гравиметрического метода. Для сравнения метрологических и валидационных характеристик использовали метод атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС) [134 – 136].

Методика количественного определения кремния и цинка гравиметрическим методом заключается в следующем: около 1,0–1,5 г (точная навеска) образца помещают в предварительно прокаленный и взвешенный платиновый тигель, осторожно нагревают до озоления и прокаливают в муфельной печи при температуре 650 °С до постоянной массы (около 2 ч). Образовавшуюся смесь оксидов охлаждают, добавляют 10 мл хлористоводородной кислоты (2,36 М) для перевода оксида цинка в раствор хлорида цинка, образовавшийся хлорид цинка удаляют фильтрованием. Осадок диоксида кремния промывают дистиллированной водой, сушат, вторично прокаливают в печи при 650 °С в течение 1–1,5 ч и взвешивают.

Содержание кремния (ω_{Si}) в гидрогеле (%) вычисляют по формуле:

$$\omega_{\text{Si}} = \frac{b \times 0,4675 \times 100}{a},$$

где b – масса остатка после второго прокаливания, г; a – навеска образца, г;

0,4675 – фактор пересчета с диоксида кремния на кремний.

Содержание цинка (ω_{Zn}) в гидрогеле (%) вычисляют по формуле:

$$\omega_{Zn} = \frac{c \times 0,8034 \times 100}{a},$$

где c – разница масс остатков после первого и второго прокаливания, г; a – навеска образца, г; 0,8034 – фактор пересчета с оксида цинка на цинк.

Пробоподготовка образца кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля для количественного определения кремния и цинка методом АЭС: около 1 г (точная навеска) образца растворяют при нагревании в разбавленной азотной кислоте с добавлением фтористоводородной кислоты, помещают в мерную колбу объёмом 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Концентрацию кремния и цинка в полученном растворе определяют при помощи оптического эмиссионного спектрометра по наиболее чувствительным линиям Si 251,611 нм и Zn 206,191 нм.

Расчет метрологических характеристик и валидационную оценку методик количественного определения кремния и цинка с использованием гравиметрического метода и метода АЭС проводили на трёх образцах модельных систем в пяти параллельных определениях (для каждой методики) по показателям: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность и прецизионность [137 – 140].

Для проведения анализов готовили модельные системы (№№1–3), состоящие из тетраглицеролата кремния $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4$, моноглицеролата цинка $\text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3$, глицерина и воды, содержащие соответственно 80, 100 и 120% определяемых компонентов (кремний и цинк) (аналитическая область определения) по отношению к кремнийцинксодържающему глицерогидрогелю $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$:

№1 – $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 18,70\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 106,83\text{H}_2\text{O}$ – 80% определяемых компонентов

№2 – $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$ – 100% определяемых компонентов

№3 – $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 10,87\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 62,09\text{H}_2\text{O}$ – 120% определяемых компонентов

Также, дополнительно готовили две смеси «плацебо»: №1, состоящую из тетраглицеролата кремния, глицерина и воды, №2 – из моноглицеролата цинка, глицерина и воды; при этом содержание кремния, цинка, а также глицерина и воды соответствовало их содержанию в анализируемом геле:

смесь плацебо №1 – $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 9,31\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 53,21\text{H}_2\text{O}$

смесь плацебо №2 – $\text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 13,21\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 75,49\text{H}_2\text{O}$

В таблицах 6.1 и 6.2 представлены результаты статистической обработки данных количественного определения кремния и цинка в модельных системах, полученных гравиметрическим методом и методом АЭС.

Таблица 6.1 – Данные статистической обработки результатов количественного определения кремния и цинка в модельных системах гравиметрическим методом

Метрологические характеристики	Si			Zn		
	Модельная система №			Модельная система №		
	1	2	3	1	2	3
μ , масс. %	1,22	1,53	1,84	1,42	1,78	2,14
\bar{x} , масс. %	1,21	1,52	1,82	1,42	1,76	2,12
s^2	0,0002	0,0004	0,0006	0,0003	0,0006	0,0007
s, масс. %	0,0141	0,0192	0,0239	0,0182	0,0239	0,0268
$s_{\bar{x}}$, масс. %	0,0063	0,0086	0,0107	0,0081	0,0107	0,0120
$s_{\bar{x},\%}$, %	0,5227	0,5667	0,5873	0,5737	0,6060	0,5666
Δx , %	0,04	0,05	0,07	0,05	0,07	0,07
$\Delta \bar{x}$, масс. %	0,02	0,02	0,03	0,02	0,03	0,03
ε , %	3,25	3,52	3,65	3,57	3,77	3,52
$\bar{\varepsilon}$, %	1,45	1,58	1,63	1,59	1,68	1,58
$t_{\text{выч.}} (95\%, 4)$	1,58	1,39	2,06	1,72	1,69	1,83

Таблица 6.2 – Данные статистической обработки результатов количественного определения кремния и цинка в модельных системах методом АЭС

Метрологические характеристики	Si			Zn		
	Модельная система №			Модельная система №		
	1	2	3	1	2	3
μ , масс. %	1,22	1,53	1,84	1,42	1,78	2,14
\bar{x} , масс. %	1,22	1,53	1,83	1,42	1,77	2,13
s^2	0,0001	0,0001	0,0002	0,0001	0,0003	0,0003
s, масс. %	0,0110	0,0114	0,0130	0,0084	0,0164	0,0179

$s_{\bar{\delta}}$, масс. %	0,0049	0,0051	0,0058	0,0037	0,0073	0,0080
$s_{\bar{\delta}, \%}$	0,4022	0,3341	0,3183	0,2631	0,4156	0,3752
Δx , %	0,03	0,03	0,04	0,02	0,05	0,05
$\Delta \bar{x}$, масс. %	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02
ε , %	2,50	2,08	1,98	1,64	2,58	2,33
$\bar{\varepsilon}$, %	1,12	0,93	0,88	0,73	1,16	1,04
$t_{\text{выч.}} (95\%, 4)$	0,41	0,78	1,37	2,14	1,63	1,00

Специфичность устанавливали с помощью смесей «плацебо» по методикам, приведенным выше (см. выше, с. 90, 91). В случае гравиметрического метода при анализе смеси плацебо №1 после первого прокаливания, обработки хлористоводородной кислотой и второго прокаливания определялся только диоксид кремния; при анализе смеси плацебо №2 после удаления цинка в виде раствора $ZnCl_2$ и последующего прокаливания диоксид кремния не определялся. В случае метода АЭС отсутствовали наиболее чувствительные линии поглощения для кремния (смесь плацебо №2) и цинка (смесь плацебо №1). Таким образом, полученные результаты подтверждают специфичность методик определения кремния и цинка.

Для подтверждения линейности методик дополнительно готовили модельные системы (№№4, 5), содержащие 90 и 110% определяемых компонентов (кремний и цинк) по отношению к кремнийцинксодержащему глицерогидрогелю $2Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot ZnC_3H_6O_3 \cdot 14C_3H_8O_3 \cdot 80H_2O$:

№1 – $2Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot ZnC_3H_6O_3 \cdot 16,10C_3H_8O_3 \cdot 91,97H_2O$ – 90% определяемых компонентов

№2 – $2Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot ZnC_3H_6O_3 \cdot 12,28C_3H_8O_3 \cdot 70,19H_2O$ – 110% определяемых компонентов

Установлено, что методики отвечают критерию «линейность» в аналитической области определения кремния и цинка (рис. 6.1, 6.2). Кроме того, полученный коэффициент корреляции удовлетворяет требованию $|r| \geq 0,99$, доверительные интервалы находятся в пределах 2% относительно значения определяемых величин.

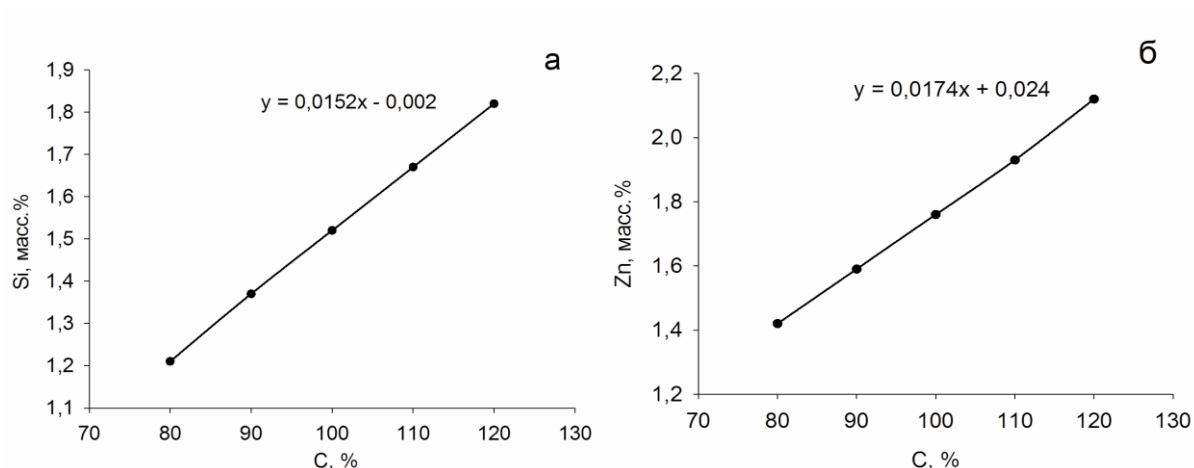


Рисунок 6.1 – Корреляция концентраций кремния (а) и цинка (б) и определяемого массового содержания ($R_{Si}=0,99991$, $R_{Zn}=0,99974$) гравиметрическим методом

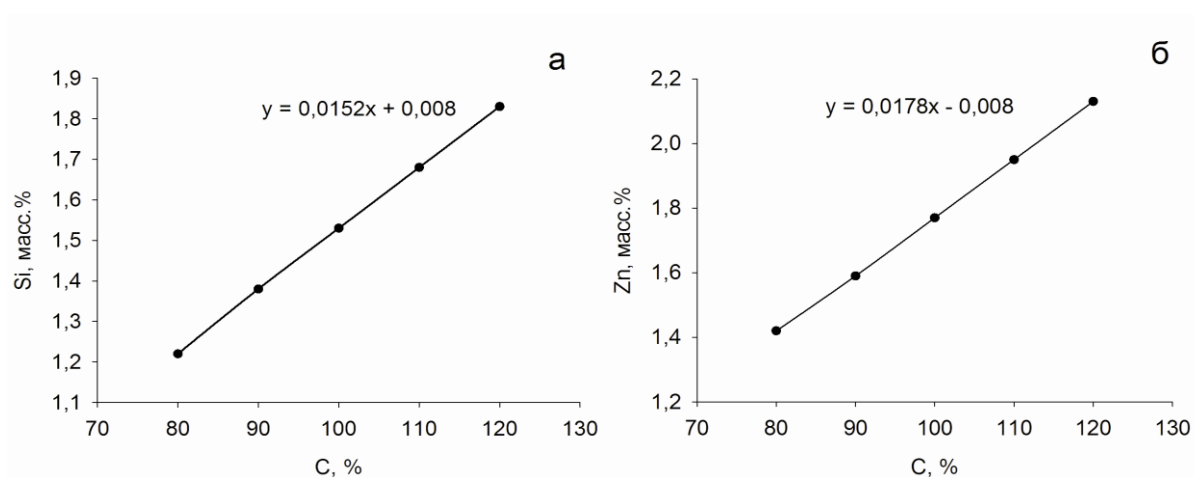


Рисунок 6.2 – Корреляция концентраций кремния (а) и цинка (б) и определяемого массового содержания ($R_{Si}=0,99991$, $R_{Zn}=0,99994$) методом АЭС

Для оценки правильности анализировали модельные системы №№1–3. Валидируемые методики могут быть признаны правильными, поскольку определяемые экспериментально значения лежат внутри доверительных интервалов, соответствующих средним результатам анализа. При этом с вероятностью 95% можно заключить, что отсутствует значимая систематическая ошибка, так как $t_{\text{выч.}} < t_{\text{табл.}}$ (2,18 при $P = 95\%$, $f = 12$) (см. табл. 6.3, 6.4).

Прецизионность также определяли, используя модельные системы №№1–3. Показано, что величина относительной ошибки результата отдельного

определения не превышает 3,77% (гравиметрический метод) и 2,58% (метод АЭС) от истинного значения измеряемой величины.

Таблица 6.3 – Метрологические характеристики методики количественного определения кремния и цинка гравиметрическим методом

Элемент	μ	f	\bar{x}	s^2	s	P	$t(P, f)$	Δx	ε
Si	1,53	12	1,52	0,0004	0,0191	95	2,18	0,05	3,47
Zn	1,78	12	1,77	0,0005	0,0230	95	2,18	0,06	3,62

Таблица 6.4 – Метрологические характеристики методики количественного определения кремния и цинка методом АЭС

Элемент	μ	f	\bar{x}	s^2	s	P	$t(P, f)$	Δx	ε
Si	1,53	12	1,53	0,0001	0,0118	95	2,18	0,03	2,19
Zn	1,78	12	1,77	0,0002	0,0142	95	2,18	0,04	2,18

Из полученных результатов следует, что в анализируемом глицерогидрогеле содержание кремния (%) составляет не менее 1,48 и не более 1,58 (гравиметрический метод) и не менее 1,50 и не более 1,56 (метод АЭС) (вычисленное значение (μ) для кремния 1,53 %); содержание цинка (%) – не менее 1,72 и не более 1,84 (гравиметрический метод) и не менее 1,74 и не более 1,82 (метод АЭС) (вычисленное значение (μ) для цинка 1,78 %). При этом методика с использованием метода АЭС обладает несколько большей точностью определения кремния и цинка; в то же время гравиметрический метод анализа прост в исполнении и может быть использован в условиях любой лаборатории.

6.3. Разработка проекта ФСП на субстанцию теракис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель

По результатам исследований разработан проект ФСП на субстанцию теракис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель. Спецификация на субстанцию

представлена в таблице 6.5. В качестве посторонней примеси в геле допускается наличие соединений Ti (IV), алкоксиды которого могут быть использованы в качестве катализатора при синтезе прекурсора – тетраглицеролата кремния.

Таблица 6.5 – Спецификация. Субстанция тетракис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Органолептический. ГФ XII.	Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха.
Растворимость	ГФ XII	Нерастворим в хлороформе и эфире, мало растворим в спирте 95 % и в воде.
Подлинность	Инфракрасная спектроскопия	Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см ⁻¹ должен иметь полное совпадение полос поглощения с полосами поглощения прилагаемого ИК спектра.
	Качественная реакция на кремний	После прокаливания 0,5 г субстанции в муфельной печи при 650 °С к образовавшемуся порошку двуокиси кремния SiO ₂ добавляют плавиковую кислоту для получения летучего тетрафторида кремния SiF ₄ . Последний обнаруживают по реакции помутнения капли воды, внесенной в ушко платиновой проволоки.
	Качественная реакция на цинк	После прокаливания 0,5 г субстанции в муфельной печи при 650 °С, образовавшийся оксид цинка ZnO растворяют в хлористоводородной кислоте (2,36 М), добавляют сульфид натрия. Образуется белый осадок сульфида цинка, нерастворимый в уксусной кислоте и легко растворимый в разведенной хлористоводородной кислоте.
	Качественная реакция на глицерин	0,5 г субстанции смешивают с 2 мл 1М раствора гидроксида натрия и 1 мл 1 М раствора меди сульфата; появляется сине-фиолетовое окрашивание, характерное для комплекса меди глицерата.

рН водного извлечения	Потенциометрически. ГФ XII	От 7,40 до 7,50
Посторонние примеси	Качественный химический анализ на соединения Ti(IV) – катализатор	Выдерживает
	Количественное определение титана методом атомно-эмиссионной спектроскопии	Не более 0,3 % (Ti)
Тяжелые металлы	Метод атомно-эмиссионной спектроскопии. ГФ XII	Не более 0,001 %
Коллоидная стабильность	Центрифугирование. ГОСТ Р 52343-2005	Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования в течение 5 мин при 6000 об/мин
Микробиологическая чистота	ГФ XII	Категория 2.2
Количественное определение	Гравиметрический метод	Не менее 1,48 и не более 1,58 % Si; не менее 1,72 и не более 1,84 % Zn
	Метод атомно-эмиссионной спектроскопии	Не менее 1,50 и не более 1,56 % Si; не менее 1,74 и не более 1,82 % Zn
Упаковка	По 0,1 кг и 1 кг в банки из стекломассы оранжевого цвета с винтовой горловиной типа БВ-1000-28 по ОСТ 64-2-71-80 с навинчиваемыми пластмассовыми крышками и прокладками по ОСТ 64-2-87-81.	
Маркировка	Соответствует ФС	
Транспортирование	ГОСТ 17768-90	
Хранение	В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше +25 °С	
Срок годности	1 год	

Химическое название. теракис(2,3-диоксипропил)-*орто*-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола тетрадекаглицерат октаконтагидрат.

Состав. Глицерогидрогель теракис(2,3-диоксипропил)-*орто*-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола представляет собой сложную многокомпонентную дисперсную систему, в которой полимерный пространственный каркас образуется в результате реакций гидролиза и последующей конденсации наиболее активного прекурсора – тетраглицеролата кремния. В ячейках пространственного каркаса кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля находится наноразмерный коллоидный моноглицеролат цинка, который регулирует и стабилизирует структуру гидрогеля за счет

межмолекулярного (координационного) взаимодействия по связям $\text{Si}\cdots\text{O}\cdots\text{Zn}$, $\text{Si}\cdots\text{O}\cdots\text{H}$ без образования ковалентных связей.

Эмпирическая формула. $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$
($\text{C}_{69}\text{H}_{334}\text{O}_{149}\text{Si}_2\text{Zn}$).

Молекулярная масса. 3670,8 г/моль.

Субстанция содержит кремния (%) не менее 1,48 и не более 1,58; цинка (%) – не менее 1,72 и не более 1,84, что соответствует содержанию кремния не менее 96,73 и не более 103,27 %; содержанию цинка не менее 96,63 и не более 103,37 % в субстанции $\text{C}_{69}\text{H}_{334}\text{O}_{149}\text{Si}_2\text{Zn}$.

Описание. Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха (ГФ XII) [141].

Растворимость. Нерастворим в хлороформе и эфире, мало растворим в спирте 95 % и в воде (ГФ XII) [141].

Подлинность.

ИК спектр

Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 cm^{-1} должен иметь полное совпадение полос поглощения с полосами поглощения прилагаемого ИК спектра (рис. 6.3) (ν , cm^{-1}): 3292 (ОН); 2932, 2881, (С–Н); 1948 (О–Н \cdots О); 1645 (НОН); 1436 (CH_2); 1110, 1038, 992 (С–О, Si–О); 647 (Zn–О).

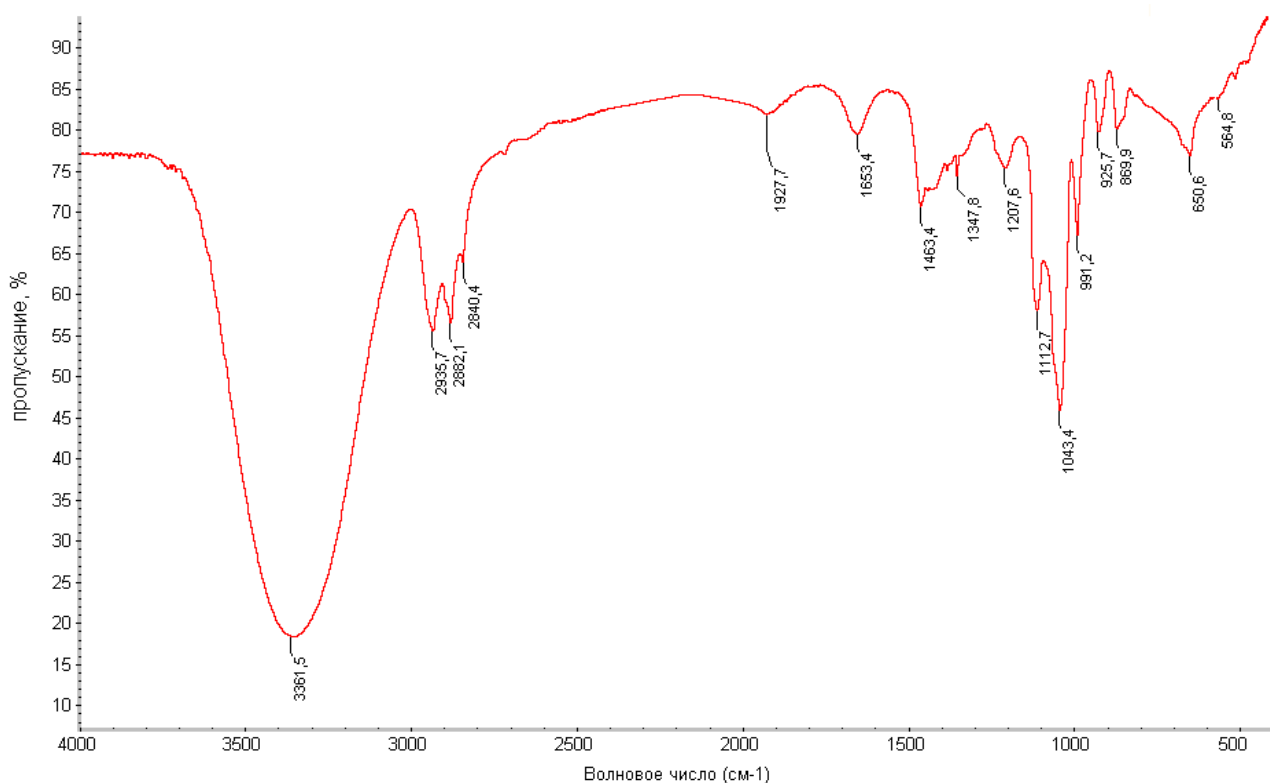
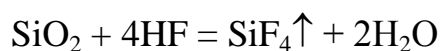
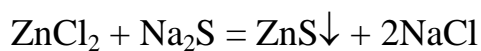


Рисунок 6.3 – Инфракрасный спектр глицерогидрогеля тетраакис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат-1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола

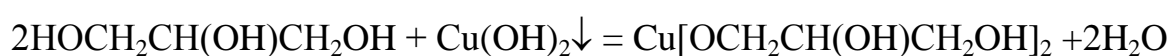
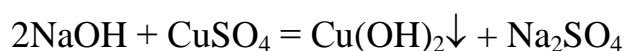
Качественные химические реакции на кремний и цинк. 0,5 г кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля прокаливают в муфельной печи при 650 °С до образования оксидов кремния и цинка (SiO_2 и ZnO), которые далее обрабатывают хлористоводородной кислотой (2,36 М) до растворения оксида цинка и удаления его в виде раствора путем фильтрования. Затем остаток диоксида кремния SiO_2 промывают дистиллированной водой, сушат, вторично прокаливают и определяют путем его растворения в концентрированной плавиковой кислоте с образованием летучего тетрафторида кремния SiF_4 , который при взаимодействии с каплей воды, внесенной в ушко платиновой проволоки, подвергается гидролизу с образованием кремниевой кислоты, мутнеющей в воде ввиду своей нерастворимости.



К полученному раствору хлорида цинка добавляют сульфид натрия. Образуется белый осадок сульфида цинка, нерастворимый в уксусной кислоте и легко растворимый в разведенной хлористоводородной кислоте.



Качественная химическая реакция на глицерин. 0,5 г субстанции смешивают с 2 мл 1М раствора гидроксида натрия и 1 мл 1 М раствора меди сульфата; появляется сине-фиолетовое окрашивание, характерное для комплекса меди глицерата.



pH водного извлечения. От 7,40 до 7,50. Определение потенциометрическим методом. Перед определением 5 г субстанции ресуспендируют в четырёхкратном количестве дистиллированной воды при тщательном перемешивании на магнитной мешалке в течение 10 минут (ГФ XII) [141].

Посторонние примеси. В качестве посторонней примеси в геле допускается наличие соединений Ti(IV), алкоксиды которого могут быть использованы в качестве катализатора при синтезе прекурсора – тетраглицеролата кремния.

Качественный химический анализ на соединения Ti(IV). К 0,5 г субстанции прибавляют 2–3 капли разведенной серной кислоты и каплю перекиси водорода – появляется светло-жёлтое окрашивание.

Количественное определение титана методом АЭС. Около 1 г (точная навеска) образца растворяют при нагревании в разбавленной азотной кислоте с добавлением фтористоводородной кислоты, помещают в мерную колбу объёмом 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Количественное определение титана в полученном растворе определяют при помощи оптического эмиссионного спектрометра по наиболее чувствительным линиям Ti 334,940 нм.

Содержание титана (Ti) не должно превышать 0,3 %.

Тяжелые металлы. Зольный остаток из 1 г субстанции, полученный после сжигания в присутствии серной кислоты, должен выдерживать испытание на тяжелые металлы (не более 0,001 %) (ГФ XII) [141].

Коллоидная стабильность. Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования навески субстанции около 5,0–7,0 г в течение 5 мин при 6000 об/мин [93].

Микробиологическая чистота. Субстанция должна выдерживать требования на микробиологическую чистоту: категория 2.2 [141].

Количественное определение. Содержание кремния и цинка определяют гравиметрическим методом и методом АЭС [141].

Гравиметрический метод. Около 1,0–1,5 г (точная навеска) субстанции помещают в предварительно прокаленный и взвешенный платиновый тигель, осторожно нагревают до озоления и прокаливают в муфельной печи при температуре 650 °С до постоянной массы (около 2 ч). Образовавшуюся смесь оксидов охлаждают, добавляют 10 мл хлористоводородной кислоты (2,36 М), после чего осадок диоксида кремния отфильтровывают, промывают дистиллированной водой, сушат, вторично прокаливают в печи при 650 °С в течение 1–1,5 ч и взвешивают.

Содержание кремния (ω_{Si}) в гидрогеле (%) вычисляют по формуле:

$$\omega_{Si} = \frac{b \times 0,4675 \times 100}{a},$$

где b – масса остатка после второго прокаливания, г; a – навеска образца, г; 0,4675 – фактор пересчета с диоксида кремния на кремний.

Содержание цинка (ω_{Zn}) в гидрогеле (%) вычисляют по формуле:

$$\omega_{Zn} = \frac{c \times 0,8034 \times 100}{a},$$

где c – разница масс остатков после первого и второго прокаливания, г; a – навеска образца, г; 0,8034 – фактор пересчета с оксида цинка на цинк.

Содержание Si (кремния) в субстанции должно быть не менее 1,48 и не более 1,58 %, что соответствует содержанию не менее 96,73 и не более 103,27 % кремния в субстанции $2Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot ZnC_3H_6O_3 \cdot 14C_3H_8O_3 \cdot 80H_2O$. Содержание Zn

(цинка) в субстанции должно быть не менее 1,72 и не более 1,84 %, что соответствует содержанию не менее 96,63 и не более 103,37 % цинка в субстанции $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$.

Метод АЭС. Около 1 г (точная навеска) субстанции растворяют при нагревании в разбавленной азотной кислоте с добавлением фтористоводородной кислоты, помещают в мерную колбу объёмом 100 мл и доводят дистиллированной водой до метки. Концентрацию кремния и цинка в полученном растворе определяют при помощи оптического эмиссионного спектрометра по наиболее чувствительным линиям Si 251,611 нм и Zn 206,191 нм.

Содержание Si (кремния) в субстанции должно быть не менее 1,50 и не более 1,56 %, что соответствует содержанию не менее 98,04 и не более 101,96 % кремния в субстанции $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$. Содержание Zn (цинка) в субстанции должно быть не менее 1,74 и не более 1,82 %, что соответствует содержанию не менее 97,75 и не более 102,25 % цинка в субстанции $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$.

Упаковка. По 0,1 кг и 1 кг в банки из стекломассы оранжевого цвета с винтовой горловиной типа БВ-1000-28 по ОСТ 64-2-71-80 с навинчиваемыми пластмассовыми крышками типа 1.1 и прокладками типа 2.1 по ОСТ 64-2-87-81. На каждую банку наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 или писчей по ГОСТ 18510-87, или импортной, или самоклеющуюся этикетку по ТУ 9572-037-11624078-99.

Групповая упаковка и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Маркировка. На этикетках указывают предприятие-изготовитель, его товарный знак и адрес, название субстанции на латинском и русском, количество в кг, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности, назначение, дата изготовления входит в номер серии.

Маркировка групповой упаковки и транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.

Транспортирование. ГОСТ 17768-90

Хранение. Список Б. В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше +25 °С.

Срок годности. 1 год.

Срок годности субстанции устанавливают в соответствии с ОСТ 42-2-72 по контролю основных характеристик 5 серий образцов средства в соответствии с требованиями проекта ФСП (табл. 6.6).

Результаты исследования стабильности качественных и количественных характеристик контроля 5 опытных серий субстанции теракис(2,3-диоксипропил)-*орто*-силикат-1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель состава $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$ представлены в таблице 6.7. Наблюдения за изменениями субстанции, проводимые с ноября 2013 г. по ноябрь 2014 года показали, что субстанция стабильна при хранении.

На основании фактических данных можно рекомендовать срок годности субстанции – 1 год.

Таблица 6.6 – Результаты аналитического контроля 5-и опытных серий субстанции теракис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель состава $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$ по проекту ФСП

Серия №	Описание	Растворимость	Подлинность	рН водного извлечения	Посторонние примеси	Тяжёлые металлы	Коллоидная стабильность	Микробиологическая чистота	Количественное определение	
									Гравиметрический метод	Метод АЭС
Требования проекта ФСП	Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха	Нерастворим в хлороформе и эфире, мало растворим в спирте 95 % и в воде	ИК спектроскопия. Качественный химический анализ (*)	От 7,40 до 7,50	Не более 0,3 %	Не более 0,001%	Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования в течение 5 мин при 6000 об/мин	В 1 г субстанции допускается общее число аэробных микроорганизмов не более 10^3 , общее число грибов не более 10^2 КОЕ, отсутствие <i>Escherichia coli</i>	от 1,48 до 1,58% Si; от 1,72 до 1,84% Zn	от 1,50 до 1,56% Si; от 1,74 до 1,82% Zn
010113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,53% Si; 1,75% Zn	1,53% Si; 1,77% Zn
020113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,45	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,58% Si; 1,81% Zn	1,55% Si; 1,79% Zn
030113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,49% Si; 1,72% Zn	1,51% Si; 1,75% Zn
040113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,55% Si; 1,79% Zn	1,52% Si; 1,76% Zn
050113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,58% Si; 1,84% Zn	1,56% Si; 1,82% Zn

(*)Инфракрасный спектр субстанции (0,01-0,02 г) в области от 4000 до 400 см^{-1} должен иметь полное совпадение полос поглощения с полосами поглощения прилагаемого ИК спектра.

Таблица 6.7 – Результаты исследования стабильности качественных и количественных характеристик контроля 5 опытных серий субстанции теракис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель состава $2\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{ZnC}_3\text{H}_6\text{O}_3 \cdot 14\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 80\text{H}_2\text{O}$

Серия №	Дата анализа	Срок хранения, мес.	Описание (*)	Растворимость	Подлинность (**)	pH водного извлечения	Посторонние примеси, 0,3%	Тяжёлые металлы, 10 ⁻³ %	Коллоидная стабильность (***)	Микробиологическая чистота (****)	Количественное определение			
											Гравиметрический метод		Метод АЭС	
											Si	Zn	Si	Zn
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
010113	12.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,52	1,75	1,53	1,76
	14.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,45	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,57	1,74	1,51	1,74
	14.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,45	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,58	1,76	1,54	1,73
020113	12.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,48	1,72	1,56	1,82
	14.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,41	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,49	1,74	1,54	1,82
	14.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,53	1,74	1,54	1,79
030113	12.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,51	1,84	1,53	1,77
	14.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,48	1,82	1,50	1,74
	14.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,45	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,49	1,81	1,51	1,77
040113	12.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,55	1,78	1,55	1,79
	14.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,53	1,76	1,52	1,81
	14.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,45	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,53	1,79	1,54	1,81
050113	12.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,45	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,57	1,75	1,53	1,76
	14.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,45	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,58	1,73	1,51	1,77
	14.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	7,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	1,58	1,77	1,51	1,74

(*) Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха.

(**) Инфракрасный спектр субстанции (0,01-0,02 г) в области от 4000 до 400 см⁻¹ должен иметь полное совпадение полос поглощения с полосами поглощения прилагаемого ИК спектра.

(***) Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования в течение 5 мин при 6000 об/мин.

(****) В 1 г субстанции допускается общее число аэробных микроорганизмов не более 10³, общее число грибов не более 10² КОЕ, отсутствие *Escherichia coli*

Выводы по главе 6

1. Разработана методика количественного определения кремния и цинка в новом кремнийцинксодержащем глицерогидрогеле методом гравиметрии.
2. Определены основные валидационные характеристики, которые подтверждают её обоснованность для количественного анализа кремния и цинка.
3. Проведено сравнение метрологических характеристик предлагаемого гравиметрического метода и известного метода АЭС. Полученные данные свидетельствуют о сопоставимости результатов количественного определения кремния и цинка.
4. Разработан проект ФСП на субстанцию теракис(2,3-диоксипропил)-*орто*-силикат–1,3-диока-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель.

ГЛАВА 7. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПОЗИЦИИ С ГАЛАВИТОМ НА КРЕМНИЙСОДЕРЖАЩЕМ ГЛИЦЕРОГИДРОГЕЛЕ

7.1. Определение подлинности кремнийсодержащей композиции с галавитом

Для определения подлинности использовали метод УФ спектроскопии и качественные химические реакции на галавит.

УФ спектр водной вытяжки галавита из разрабатываемой фармацевтической композиции и УФ спектр раствора рабочего стандартного образца (РСО) галавита в области длин волн от 230 до 400 нм имели максимумы и минимумы поглощения при одних и тех же длинах волн. (рис. 7.1).

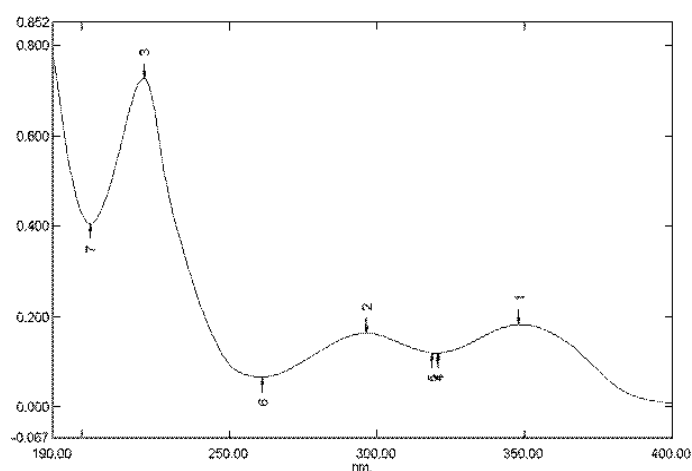


Рисунок 7.1 – УФ спектр галавита

Также подлинность галавита подтверждалась качественной реакцией на натрий: окрашивание пламени горелки в желтый цвет.

7.2. Оптимизация и валидация методики количественного определения галавита в разрабатываемой фармацевтической композиции

Известная методика количественного определения галавита в мягких лекарственных формах методом УФ спектроскопии нами была оптимизирована применительно к разрабатываемой кремнийсодержащей композиции с галавитом [142, 143].

Количественное содержание галавита в разрабатываемой фармацевтической композиции определяли после его исчерпывающей водной экстракции методом УФ спектроскопии в области длин волн 400 – 190 нм. Предварительно строили калибровочный график (рис. 7.2) по полосе поглощения 297 нм, характерной для субстанции галавита.

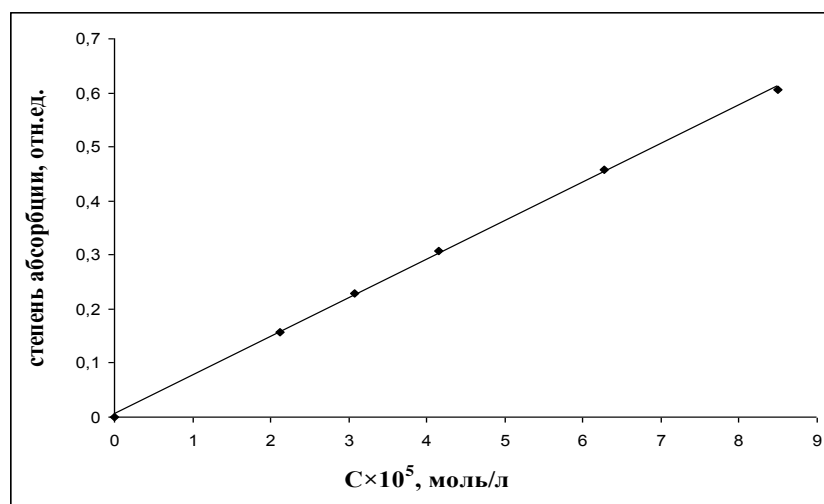


Рисунок 7.2 – Калибровочный график зависимости степени абсорбции от концентрации галавита (С) в исследуемом растворе

Методика количественного определения галавита основана на его исчерпывающей водной экстракции из разрабатываемой композиции. Около 2 г (точная навеска) образца суспендируют 50 мл дистиллированной воды при перемешивании на магнитной мешалке в течение 1 часа. Затем полученную водную суспензию центрифугируют в течение 10 мин. После центрифугирования 1 мл надосадочной жидкости помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем водой до метки. Концентрацию галавита в надосадочной жидкости определяют из калибровочного графика. Содержание галавита (X) в разрабатываемой композиции (%) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{M \times V_{\text{мк1}} \times V_{\text{мк2}} \times C \times 100}{V_{\text{ал}} \times a},$$

где M – молярная масса галавита, г/моль; V_{mk1} – объем мерной колбы 1, л; V_{mk2} – объем мерной колбы 2, л; C – концентрация галавита в водном извлечении, моль/л; $V_{ал}$ – объем аликвоты, л; a – навеска фармацевтической композиции, г.

Валидацию методики проводили как на модельных системах (№№1–3) с различным содержанием субстанции галавита (80, 100 и 120%), так и на смеси «плацебо» (без субстанции галавита).

Расчет метрологических характеристик и валидационную оценку методики количественного определения галавита проводили на пяти образцах каждой модельной системы по показателям: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность и прецизионность [137 – 140, 144, 145].

В таблице 7.1 приведены данные статистической обработки результатов количественного определения галавита в модельных системах.

Таблица 7.1 – Данные статистической обработки результатов количественного определения галавита в модельных системах

Метрологические характеристики	Модельная смесь, №		
	1	2	3
μ , масс.%	0,56	0,70	0,84
\bar{x} , масс.%	0,56	0,70	0,83
s^2	0,0001	0,0001	0,0001
s , масс.%	0,0071	0,0084	0,0055
$s_{\bar{x}}$, масс.%	0,0002	0,0038	0,0025
$s_{\bar{x},\%}$, %	0,01	0,54	0,30
Δx , масс.%	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$
$\Delta \bar{x}$, масс.%	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$
ε , %	3,52	3,35	1,83
$\bar{\varepsilon}$, %	1,57	1,49	0,81
$t_{\text{выч.}} (95\%, 4)$	0,01	0,53	1,63

На примере смеси «плацебо» показано, что методика количественного определения галавита специфична – отсутствовала полоса поглощения в области 297 нм.

Для подтверждения линейности методики дополнительно готовили модельные системы, содержащие 90 и 110% определяемого компонента. Установлено, что методика отвечает критерию «линейность» в аналитической области определения галавита (рис. 7.3). Кроме того, полученный коэффициент корреляции удовлетворяет требованию $|r| \geq 0,99$, доверительные интервалы находятся в пределах 2% относительно значения определяемой величины.

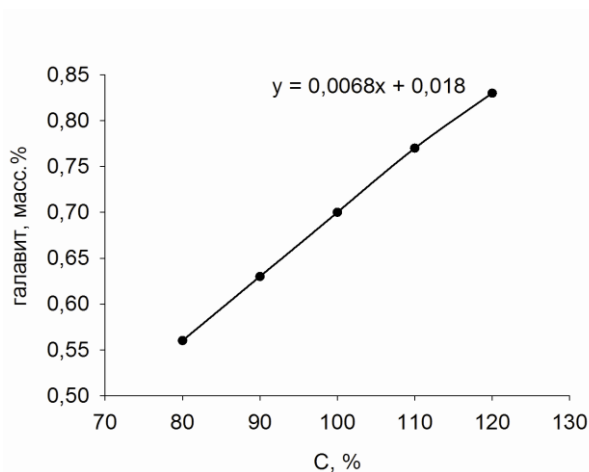


Рисунок 7.3 – Корреляция концентраций галавита и определяемого массового содержания ($R=0,99957$)

Для оценки правильности анализировали модельные системы №№1–3. Валидируемая методика отвечает условию «правильность», так как определяемые экспериментально значения лежат внутри доверительных интервалов, соответствующих средним результатам анализа. При этом с вероятностью 95% можно заключить, что отсутствует значимая систематическая ошибка, так как $t_{\text{выч.}} < t_{\text{табл.}}$ (2,18 при $P = 95\%$, $f = 12$).

Прецизионность также определяли, используя модельные системы №№1–3. Показано, что величина относительной ошибки результата отдельного определения не превышает 2,28 % от истинного значения измеряемой величины.

Метрологические характеристики методики количественного определения галавита в разрабатываемой композиции приведены в таблице 7.2.

Таблица 7.2 – Метрологические характеристики методики количественного определения галавита в разрабатываемой композиции

μ	f	\bar{x}	s^2	s	P	$t(P, f)$	Δx	ε
0,70	12	0,70	0,0001	0,0070	95	2,18	0,02	2,28

Таким образом, метрологические характеристики, полученные в результате статистической обработки данных количественного определения галавита в разрабатываемой фармацевтической композиции методом УФ спектроскопии в модельных системах, подтверждают обоснованность данной методики. Установлено, что содержание галавита (%) составляет не менее 0,68 и не более 0,72, вычисленное значение (μ) для галавита 0,70 %. Данная методика может быть рекомендована для включения в проект ФСП на разрабатываемую композицию.

7.3. Разработка проекта ФСП на препарат «мазь для местного применения с галавитом»

По результатам исследований разработан проект ФСП на препарат «мазь для местного применения с галавитом», предназначенный для лечения воспалительных стоматологических заболеваний. Спецификация на препарат представлена в таблице 7.3.

Таблица 7.3 – Спецификация. Препарат «мазь для местного применения с галавитом»

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Органолептический. ГФ XII	Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха.
Подлинность	Ультрафиолетовая спектроскопия	УФ спектры водной вытяжки галавита из препарата и раствора РСО галавита, в области длин волн от 230 до 400 нм должны иметь максимумы и минимумы поглощения при одних и тех же длинах волн.
	Качественная реакция на натрий. ГФ XII	Окрашивание пламени в желтый цвет
Вязкость	ГФ XII	От 45,0 до 80,0 Па·с
pH водного извлечения	Потенциометрически. ГФ XII	От 8,30 до 8,50
Посторонние примеси	Тонкослойная хроматография	Любой единичной неидентифицированной примеси – не более 0,2%; сумма – не более 1,0%
Тяжелые металлы	Метод атомно-эмиссионной спектрометрии. ГФ XII	Не более 0,001 %
Коллоидная стабильность	Центрифугирование. ГОСТ Р 52343-2005	Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования в течение 5 мин при 6000 об/мин
Микробиологическая чистота	ГФ XII	Категория 2
Количественное определение	Ультрафиолетовая спектроскопия	Не менее 0,68 г и не более 0,72 г галавита
Упаковка	По 30 г в банки темного стекла.	
Масса содержимого упаковки	ОСТ 64-492-85	
Маркировка	Соответствует ФС	
Транспортирование	ГОСТ 17768-90	
Хранение	В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше +4 °С	
Срок годности	1 год	

Состав. 1 г мази содержит:

действующее вещество: аминодигидрофталазиндион натрия (галавит) – 7 мг
основа для мази: кремнийсодержащий глицерогидрогель – до 1 г.

Описание. Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха.

Подлинность. УФ спектры водной вытяжки галавита из препарата и УФ спектр раствора рабочего стандартного образца (PCO) галавита, приготовленных для количественного определения, в области длин волн от 230 до 400 нм должны иметь максимумы и минимумы поглощения при одних и тех же длинах волн.

Качественная химическая реакция на натрий. 2 г препарата суспендируют 50 мл дистиллированной воды при перемешивании на магнитной мешалке в течение 1 часа. Затем полученную водную суспензию центрифугируют в течение 10 мин. После центрифугирования 1 мл надосадочной жидкости помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем водой до метки. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу, отбрасывая первые порции фильтрата. Фильтрат дает характерную реакцию на натрий: окрашивание пламени горелки в желтый цвет.

Вязкость. От 45,0 до 80,0 Па·с. Определяют эффективную динамическую вязкость препарата на вискозиметре Брукфилда DV-II+Pro [141].

pH водного извлечения. От 8,30 до 8,50. Определение потенциометрическим методом. Перед определением 5 г препарата ресуспендируют в четырёхкратном количестве дистиллированной воды при тщательном перемешивании на магнитной мешалке в течение 10 минут [141].

Посторонние примеси. 2 г препарата в 50 мл дистиллированной воды перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 часа. Затем полученную водную суспензию центрифугируют в течение 10 мин. После центрифугирования 1 мл надосадочной жидкости помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем водой до метки. Полученный раствор фильтруют через бумажный фильтр в коническую колбу, отбрасывая первые порции фильтрата. Фильтрат используют для дальнейшего анализа.

На линию старта пластинки «Кизельгель 60 F₂₅₄» (фирма «Merk», Германия) с толщиной слоя 0,25 мм, размером 10 x 20 см, в токе холодного воздуха в точку 1 наносят 5 мкл (50 мкг галавита) испытуемого раствора, в качестве свидетеля в точку 2 наносят 5 мкл (0,1 мкг) стандартного раствора 1 галавита, в точку 3 – 5 мкл (0,01 мкг) стандартного раствора 2.

Пластинку выдерживают на воздухе в течение 10 мин. Затем помещают в насыщенную камеру со смесью растворителей: н-бутанол / спирт этиловый 95 % / раствор аммиака концентрированный в соотношении 3 : 2 : 2 и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт растворителей пройдет 12 см от линии старта, пластинку вынимают из камеры и высушивают на воздухе в течение 10 мин.

Хроматограмму просматривают в УФ свете при длине волны 365 нм. На хроматограмме испытуемого раствора, кроме основного пятна галавита, возможно появление дополнительных пятен, каждое из которых по величине и интенсивности не должно превышать пятно на хроматограмме стандартного раствора 1 (не более 0,2 %). Суммарно количество примесей не должно превышать 1 %. Пятно на линии старта при оценке хроматограммы не учитывается.

Примечание.

1. Приготовление стандартного раствора 1 галавита.

0,05 г галавита (ФСП 42-0098-0228-05) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в достаточном количестве воды и доводят водой до метки. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Раствор годен в течение 1 суток при хранении в защищенном от света месте.

2. Приготовление стандартного раствора 2 галавита.

10 мл стандартного раствора 1 помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки, перемешивают. Раствор годен в течение 1 суток при хранении в защищенном от света месте.

3. Проверка пригодности хроматографической системы.

Хроматографическая система считается пригодной, если на хроматограмме стандартного раствора 2 (0,01 мкг) отчетливо видно пятно.

Для приготовления подвижной фазы используют концентрированный раствор аммиака с содержанием аммиака не менее 25 %.

Тяжелые металлы. Зольный остаток из 1 г препарата, полученный после сжигания в присутствии серной кислоты, должен выдерживать испытание на тяжелые металлы (не более 0,001 %) [141].

Коллоидная стабильность. Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования навески препарата около 5,0–7,0 г в течение 5 мин при 6000 об/мин [93].

Микробиологическая чистота. Препарат должен выдерживать требования на микробиологическую чистоту: категория 2 [141].

Количественное определение. Содержание галавита в препарате определяют методом УФ спектроскопии по полосе поглощения 297 нм, характерной для субстанции галавита.

Около 2 г (точная навеска) препарата растворяют в 50 мл дистиллированной воды и перемешивают на магнитной мешалке в течение 1 часа. Затем полученную водную суспензию центрифугируют в течение 10 мин. После центрифугирования 1 мл надосадочной жидкости помещают в мерную колбу на 50 мл и доводят объем водой до метки. Концентрацию галавита в надосадочной жидкости определяют из калибровочного графика. Содержание галавита (X) в препарате (%) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{M \times V_{mk1} \times V_{mk2} \times C \times 100}{V_{al} \times a},$$

где M – молярная масса галавита, г/моль; V_{mk1} – объем мерной колбы 1, л; V_{mk2} – объем мерной колбы 2, л; C – концентрация галавита в водном извлечении, моль/л; V_{al} – объем аликвоты, л; a – навеска фармацевтической композиции, г.

Содержание галавита в препарате составляет не менее 0,68 и не более 0,72 %.

Упаковка. По 30 г в банки из стекломассы с треугольным венчиком типа БТС-30-27.5-ОС-1, укуповенные крышками натягиваемыми типа 1.2. по ОСТ 64-

2-87-81. На каждую банку наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 или писчей по ГОСТ 18510-87, или импортной, или самоклеющуюся этикетку по ТУ 9572-037-11624078-99. Групповая упаковка и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Масса содержимого упаковки. В соответствии с требованиями ОСТ 64-492-85 «Лекарственные средства. Допустимые отклонения на промышленное фасование».

Маркировка. На этикетках указывают предприятие-изготовитель, его товарный знак и адрес, название препарата на латинском и русском, количество в граммах, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности, дата изготовления входит в номер серии.

Маркировка групповой упаковки и транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.

Транспортирование. ГОСТ 17768-90

Хранение. Список Б. В сухом, защищенном от света месте, при температуре не выше +4 °С.

Срок годности. 1 год.

Срок годности препарата устанавливают в соответствии с ОСТ 42-2-72 по контролю основных характеристик 5 серий образцов средства в соответствии с требованиями проекта ФСП (табл. 7.4).

Результаты исследования стабильности качественных и количественных характеристик контроля 5 опытных серий препарата в таблице 7.5. Наблюдения за изменениями препарата, проводимые с ноября 2013 г. по ноябрь 2014 года показали, что препарат стабилен при хранении.

На основании фактических данных можно рекомендовать срок годности препарата – 1 год.

Таблица 7.4 – Результаты аналитического контроля 5-и опытных серий препарата «мазь для местного применения с галавитом» по проекту ФСП

Серия №	Описание	Подлинность	Вязкость	pH водного извлечения	Посторонние примеси	Тяжёлые металлы	Коллоидная стабильность	Микробиологическая чистота	Количественное определение
Требования проекта ФСП	Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха	УФ спектроскопия. Качественный химический анализ (*)	От 45,0 до 80,0 Па·с	От 8,30 до 8,5	Не более 0,3 %; Любой единичной неидентифицированной примеси не более 0,2%; сумма не более 1,0%	Не более 0,001%	Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования в течение 5 мин при 6000 об/мин	В 1 г препарата допускается общее число грибов и аэробных бактерий не более 10 ² КОЕ, при отсутствии <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Candida albicans</i>	От 0,68 % до 0,72 % галавита
010113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,68 %
020113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,30	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,69 %
030113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,69 %
040113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,71 %
050113	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,30	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,72 %

(*)УФ спектры водной вытяжки галавита из препарата и раствора РСО галавита, в области длин волн от 230 до 400 нм должны иметь максимумы и минимумы поглощения при одних и тех же длинах волн.

Таблица 7.5 – Результаты исследования стабильности качественных и количественных характеристик контроля 5 опытных серий препарата «мазь для местного применения с галавитом»

Серия №	Дата анализа	Срок хранения, мес.	Описание (*)	Подлинность (**)	Вязкость	pH водного извлечения	Посторонние примеси, 0,3% не более 0,2%; сумма не более 1,0%	Тяжёлые металлы, 10 ⁻³ %	Коллоидная стабильность (***)	Микробиологическая чистота (****)	Количественное определение
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
010113	18.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,68
	19.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,68
	19.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,69
020113	18.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,30	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,70
	19.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,69
	19.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,69
030113	18.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,68
	19.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,69
	19.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,50	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,69
040113	18.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,30	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,71
	19.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,30	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,70
	19.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,72
050113	18.11.13	0	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,72
	19.05.14	6	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,40	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,72
	19.11.14	12	Соотв.	Соотв.	Соотв.	8,30	менее	менее	Соотв.	Соотв.	0,71

(*) Гелеобразная белая непрозрачная масса без цвета и запаха.

(**) УФ спектры водной вытяжки галавита из препарата и раствора РСО галавита, в области длин волн от 230 до 400 нм должны иметь максимумы и минимумы поглощения при одних и тех же длинах волн.

(***) Не должно наблюдаться расслоения после центрифугирования в течение 5 мин при 6000 об/мин.

(****) В 1 г препарата допускается общее число грибов и аэробных бактерий не более 10² КОЕ, при отсутствии *P. aeruginosa*, энтеробактерий, *S. aureus*, *Candida albicans*

Выводы по главе 7

1. Оптимизирована и валидирована методика количественного определения галавита в новой фармацевтической композиции на гидрофильной кремнийсодержащей основе методом УФ спектроскопии.
2. Обоснованность выбранной методики подтверждена результатами определения основных валидационных характеристик (специфичность, аналитическая область, линейность, правильность и прецизионность).
3. Разработан проект ФСП на препарат «мазь для местного применения с галавитом».

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

1. Впервые получены кремнийцинксодержащие глицерогидрогели с использованием в качестве прекурсоров в золь-гель процессе тетраглицеролата кремния и моноглицеролата цинка. Определены условия получения гелей; выбран оптимальный состав геля.
2. Проведены первичные фармакологические исследования. Показано, что кремнийцинксодержащий глицерогидрогель оптимального состава нетоксичен, обладает выраженной ранозаживляющей, регенерирующей активностью и антибактериальным действием.
3. Предложен ряд фармацевтических композиций для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний с использованием галавита, беталейкина и полиоксидония в качестве активных иммуностропных веществ и кремнийсодержащего глицерогидрогеля – в качестве основы композиций. В эксперименте на лабораторных животных выбрана оптимальная композиция с содержанием в качестве активного компонента галавита (0,70 масс.%).
4. Проведена сравнительная оценка эффективности кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и кремнийсодержащей фармацевтической композиции с галавитом в обеспечении иммунозависимых функций. Установлено, что по иммуностропной активности кремнийцинксодержащий глицерогидрогель не уступает композиции с галавитом.
5. Разработана и валидирована методика количественного определения активных компонентов (кремния и цинка) в кремнийцинксодержащем глицерогидрогеле. Разработан проект ФСП на субстанцию тетраакис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат-1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель.
6. Оптимизирована и валидирована методика количественного определения галавита в фармацевтической композиции на основе кремнийсодержащего

глицерогидрогеля. Разработан проект ФСП на препарат «мазь для местного применения с галавитом».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Патент 2255939 Российская Федерация, МПК⁷ C07F 7/04, A61K 47/30, A61P 31/04. Глицераты кремния, обладающие транскутанной проводимостью медикаментозных средств, и глицерогидрогели на их основе / Хонина Т. Г., Ларионов Л. П., Русинов Г. Л., Суворов А. Л., Чупахин О. Н. ; заявитель и патентообладатель Институт органического синтеза УрО РАН (RU). – № 2003124688/04 ; заявл. 07.08.2003 ; опубл. 10.07.2005, Бюл. № 19, Ч. III. – С. 832.
2. Patent NZ538113 C07F3/06, A61K7/36, A61K7/48, A61K31/315, A61K33/30, C07C31/22. Microfine zinc glycerolate complexes useful for treating skin disorders [Electronic resource] / Taylor R., Fairlie D., Moffitt R. // Espacenet. – URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20061130&CC=NZ&NR=538113A&KC=A. – (Дата обращения 9.02.2015 г).
3. Афиногенова В. П. Иммуноterapia: механизм действия и клиническое применение иммунокорректирующих препаратов / В. П. Афиногенова, И. В. Лукачев, М. П. Костинов // Лечащий врач. – 2010. – № 4. – С. 15–18.
4. Иммуноterapia: руководство / под ред. Р. М. Хаитова, Р. И. Атауллаханова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 672 с.
5. Хаитов Р. М. Иммуномодуляторы: классификация, фармакологическое действие, клиническое применение / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Фарматека. – 2004. – № 7. – С. 11–15.
6. Патент 2413507 Российская Федерация, МПК A61K 31/00, A61P 1/02. Способ лечения сиалоаденита / Козлова С. Н., Брезгина А. А. ; патентообладатели Козлова С. Н., Брезгина А. А. – №2007129552 ; заявл. 01.08.2007 ; опубл. 10.03.2011, Бюл. № 7, Ч. II. – С. 459.
7. Патент 2391991 Российская Федерация, МПК A61K 35/62. Способ лечения хронического тонзиллита у больных с иммунодефицитным состоянием / Хабаров А. С., Зяблицкая Н. К., Волощенко Л. Г., Шойхет Я. Н. ;

- патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Алтайский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (RU). – № 2009108832/14 ; заявл. 10.03.2009 ; опубл. 20.06.2010, Бюл. № 17, Ч. III. – С. 536.
8. Патент 2380082 Российская Федерация, МПК А61К 6/00, А61К 39/02, А61С 13/23. Пленка для сокращения сроков адаптации к съемным протезам и регуляции местного иммунитета ротовой полости / Каливграджиян Э. С., Лещева Е. А., Примачёва Н. В., Чиркова Н. В., Ерусалимов Ф. А., Пакусина Н. В ; патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко» Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ (RU). – № 2008127723/15 ; заявл. 07.07.2008 ; опубл. 27.01.2010, Бюл. № 3, Ч. III. – С. 858.
9. Патент 2026063 Российская Федерация, МПК⁶ А61К 6/02. Состав для пломбирования зубов / Мойсеенкова Е. И., Михайлова Г. В., Добронравов Б. В., Дорфман Л. М., Байрамов М. Б., Леонова Л. Е., Штейнгарт М. З. ; заявитель и патентообладатель Санкт-Петербургский медицинский институт им. акад. И. П. Павлова, Производственное объединение медицинских полимеров «Ленмедполимер» (RU). – № 5047135/14 ; заявл. 04.06.1992 ; опубл. 09.01.1995, Бюл. № 1. – С. 121.
10. Patent US6139862 А61К 38/05, А61К 38/07, А61К 38/08, А61К 38/12, А61К 39/39, С07К 5/06, С07К 5/072, А61К 38/00. Pharmaceutical dipeptide compositions and methods of use thereof [Electronic resource]/ Khavinson V. K., Sery S. V., Morozov V. G., Cytran INC. // Espacenet. – URL: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20001031&CC=US&NR=6139862A&KC=A. – (Дата обращения 9.02.2015 г).
11. Patent US6777195 А61К 38/05, А61К 47/02, А61К 47/18, А61К 9/00, С07К 5/072, С07К 5/113, С07К 5/12, С07К 7/64, А61К 38/00. Pharmaceutical dipeptide

- compositions and methods of use thereof: immunostimulants [Electronic resource] / Kozhemyakin A. L., Sinackevich N. V., Seryi S. V., Rakhilov A. M., Morozov V. G., Khavinson V. K., L. R. Cytran INC. // Espacenet. - http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20021128&CC=US&NR=2002177226A1&KC=A1. – (Дата обращения 9.02.2015 г).
12. Патент 2126693 Российская Федерация, МПК⁶ А61L 15/38, А61L 15/32. Ранозаживляющее средство губка цитотимокол, ее лекарственные формы (варианты) и способы их получения / Сидорова Н. Д., Селиванов Е. А., Алексеева Н. Н., Абоянц Р. А., Слепнева Л. В., Истранов Л. П., Истранова Е. В., Малинин В. В., Буракова М. А. ; заявитель и патентообладатель Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии (RU). – № 96102416/14 ; заявл. 15.02.1996 ; опубл. 27.02.1999, Бюл № 6. – С. 359.
13. Patent US5807830 А61К 38/05, А61К 47/02, А61К 47/18, С07К 5/072, С07К 5/113, С07К 5/12, С07К 7/64, А61К 38/00. Method for treatment of purulent inflammatory diseases [Electronic resource] / Morozov V. G., Khavinson V. K., Cytoven J. V. // Espacenet. - URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=19980915&CC=US&NR=5807830A&KC=A. – (Дата обращения 09.02.2015 г).
14. Латюшина Л. С. Клинико-иммунологическая оценка эффективности локальной иммунокоррекции в комплексном лечении гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области : дис. ...док. мед. наук : 14.00.36, 14.00.21 / Латюшина Лариса Сергеевна. – Челябинск, 2009. – 372 с.
15. Препарат «Беталейкин» в лечении гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области / М. М. Соловьев, А. С. Симбирцев, О. Ю. Петропавловская, Е. А. Варюшина, А. С. Котов // TERRA MEDICA. – 2003. – № 2. – С. 14–16.

16. Патент 2128706 Российская Федерация, МПК⁶ C12N 15/24, C12N 12/25, A61K 38/20, A61K 45/05, C12R 1/19. Иммуномодулирующий препарат «Беталейкин» / Келинский С. А., Симбирцев А. С., Ищенко А. М., Митрофанов Е. В., Гершанович М. А., Филатова Л. В., Свентицкий Е. Н., Калинин Ю. Т. ; заявитель и патентообладатель Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов, Товарищество с ограниченной ответственностью «Цитокин» . (RU). – № 98107188/13 ; заявл. 23.04.1998 ; опубл. 10.04.1999, Бюл. № 10, Ч. II. – С. 417.
17. Патент 2361607 Российская Федерация, МПК A61K 38/20, A61K 31/10, A61K 33/14, A61P 37/02. Способ локальной иммунотерапии гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей челюстно-лицевой области / Латюшина Л. С., Долгушин И. И. ; заявитель и патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию Российской Федерации» (RU). – № 2007121812/14 ; заявл. 09.06.2007 ; опубл. 20.07.2009, Бюл. № 20, Ч. III. – С. 802.
18. Машковский М. Д. Лекарственные средства. – 16-е изд., перераб., испр. и доп. / М. Д. Машковский. – М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2010. – 1216 с.
19. Иммунокорректоры: руководство для врачей и провизоров / под ред. А. С. Ларионова, Л. П. Сидорова. – Екатеринбург: ООО «ИРА УТК», 2002. – 255 с.
20. Патент 2220739 Российская Федерация, МПК⁷ A61K 38/21, A61P 31/00. Интраназальное средство / Гапонюк П. Я., Марков И. А., Маркова Е. А., Гапонюк П. П. ; заявитель и патентообладатель Гапонюк П. Я., Марков И. А., Маркова Е. А., П. П. Гапонюк П. П. – № 2002123272/15 ; заявл. 30.08.2002 ; опубл. 10.01.2004, Бюл. № 1, Ч. III. – С.639.
21. Патент 2233171 Российская Федерация, МПК⁷ A61K 38/44, A61K 35/70, A61P 31/00, A61P 35/00, A61P 37/02. Полифункциональная фармацевтическая композиция на основе L-лизин- α -оксидазы из грибка рода *Trichoderma* и способ получения этого фермента / Смирнова И. П., Смирнов К. А., Родькин

- А. А. ; заявитель и патентообладатель Смирнова И. П., Смирнов К. А., Родькин А. А. – № 2002108326/15 ; заявл. 03.04.2002 ; опубл. 27.07.2004, Бюл. № 21, Ч. II. – С. 279.
22. Патент 2197201 Российская Федерация, МПК⁷ А61F 9/00. Способ лечения «сухого» кератоконъюнктивита после эстетической блефаропластики / Обрубов С. А., Сидоренко Е. И., Грищенко С. В., Имамалиева Г. А., Виссарионов В. А., Обрубова Г. А. ; заявитель и патентообладатель Научно-исследовательский институт пластической хирургии и косметологии (RU). – № 2001133327/14 ; заявл. 13.12.2001 ; опубл. 27.01.2003, Бюл. № 3. Ч. III. – С. 472.
23. Патент 2327449 Российская Федерация, МПК А61К 31/05, А61К 31/50, А61К 36/835, А61F 9/00, А61Р 31/22, А61К 31/167, А61К 38/00, А61К 35/30, А61Р 27/02. Способ лечения офтальмогерпеса у больных с пролонгированными депрессивными расстройствами / Арсененко Л. Д., Ветлугина Т. П., Семке В. Я., Жилова Л. Н. ; заявитель и патентообладатель ГУ Научно-исследовательский институт психического здоровья Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук (RU) – № 2006138541/14 ; заявл. 31.10.2006 ; опубл. 27.06.2008, Бюл. № 18, Ч. II. – С. 554.
24. Патент 2147223 Российская Федерация, МПК⁷ А61К 7/26, А61К 35/78. Средство для лечения заболеваний пародонта и способ его получения / Куркин В. А., Бурова Е. М., Ежков В. Н., Авдеева Е. В., Куркина А. В. ; патентообладатель Куркин В. А. (RU) – № 97113011/14 ; заявл. 29.07.1997 ; опубл. 10.04.2000.
25. Патент 2163116 Российская Федерация, МПК⁷ А61К 6/02. Способ лечения воспалительных заболеваний пародонта / Шайдуллина Х. М., Гришай Е. В., Никляев В. Г. ; заявитель Башкирский государственный медицинский университет ; патентообладатель Гришай Е. В. (RU) – № 99124528/14 ; заявл. 18.11.1999 ; опубл. 20.02.2001.

26. Предклиническое изучение препарата Галавит / Н. А. Оборотова, Е. М. Уколова, О. Л. Орлова, З. С. Шпрах, Л. Н. Жилова, М. А. Барышникова, Л. П. Юдина // Проблемы клинической медицины. – 2006. – № 1. – С. 33–38.
27. Патент 2290918 Российская Федерация, МПК А61К 8/49, А61К 8/37, А61Q 11/00, А61Р 1/02. Средство и способ лечения воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта / Сохов С. Т., Цветкова А. А., Рабинович С. А., Анисимова Е. Н., Цветкова Л. А. ; патентообладатель ГОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (RU). – № 2005137987/15 ; заявл. 07.12.2005 ; опубл. 10.01.2007, Бюл. № 1, Ч. I. – С.176.
28. Патент 2404773 Российская Федерация, МПК, А61К 31/473, А61К 31/706, А61К 9/00, А61Р 37/00, А61Р 31/00. Фармацевтическая композиция на основе акридоноуксусной кислоты и ее соединений для лечения гнойно-деструктивных поражений слизистой и кожи, общесистемных заболеваний при иммунодефицитных состояниях / Межбурд Е. В., Косякова Н. И., Мурашев А. Н. ; патентообладатель ЗАО «Биологические исследования и системы» (RU). – № 2008147792/15 ; заявл. 04.12. 2008 ; опубл. 27.11.2010, Бюл. № 33, Ч. III. – С. 664–665.
29. Арутюнов С. Д. Применение диплен-пленки «Галавит» в комплексной терапии эрозивно-язвенной формы плоского лишая слизистой оболочки полости рта. / С. Д. Арутюнов, Л. В. Петрова, В. Б. Акинфиева // Всероссийская научно-практическая конференция «Образование, наука и практика в стоматологии» : сборник научных трудов. – М. – 2004. – С. 32–35.
30. Акинфиева В. Б. Опыт использования дипленовых пленок «Галавит» при лечении эрозивно-язвенной формы плоского лишая слизистой оболочки рта / В. Б. Акинфиева, Е. Е. Конопля // «Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины» : .сборник трудов конференции – М.: Изд. дом «Русский врач». – 2004. – С. 294.
31. Патент 2311174 Российская Федерация, МПК А61К 31/11, А61Р 37/04. Способ локальной иммунокоррекции гнойных ран челюстно-лицевой области /

- Латюшина Л. С, Долгушин И. И. ; патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Челябинская Государственная медицинская академия Министерства Здравоохранения Российской Федерации» . (RU). – № 2005104230/14 ; заявл. 16.02.2005 ; опубл. 27.11.2007, Бюл. № 33, Ч. II. – С. 444.
32. Хаитов Р. М. Современные представления о механизме действия Полиоксидония / Р. М. Хаитов, Б. В. Пинегин // Иммунология. – 2005. – № 4. – С. 197–200.
33. Патент 2291690 Российская Федерация, МПК А61К 31/19, А61К 35/00, А61Р 31/12. Фармацевтическая противогерпетическая композиция / Баринский И. Ф., Лазаренко А. А., Мусаева А. Р., Петров Р. В., Хаитов Р. М., Хаитов М. Р ; патентообладатель ООО «РусГен» (RU), Мусаева А. Р. – № 2004128635/15 ; заявл. 27.09.2004 ; опубл. 20.01.2007, Бюл. № 2, Ч. II. – С. 374.
34. Патент 2370238 Российская Федерация, МПК А61С5/02, А61К31/41, А61К31/496, А61К33/14, А61К36/28, А61Р1/02. Способ лечения апикального периодонтита / Дмитриева Л. А., Георгиева О. А., Нисанова С. Е. ; патентообладатель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию РФ» (RU). – № 2008103714/14 ; заявл. 06.02.2008 ; опубл. 20.10.2009, Бюл. № 29, Ч. III. – С. 594.
35. Дьяков В. М. Применение кремнийорганических соединений в лекарственных средствах / В. М. Дьяков, С. В. Шелудякова, А. Ф. Галкин. – М.: ВНИИТЭХИМ, 1984. – 56 с.
36. Carlisle E. M. Silicon as an essential trace element in animal nutrition / E. M. Carlisle // Ciba Foundation Symposium. – 1986. – V. 121. – P. 123–139.
37. Effect of silicon supplement on osteopenia induced by ovariectomy in rats / H. Rico, J. L. Gallego-Lago, E. R. Hernández, L. F. Villa, A. Sanchez-Atrio, C. Seco, J. J. Gervas // Calcified Tissue International. – 2000. – V. 66 (1) – P. 53–55.

38. Carlisle E. M. In vivo requirement for silicon in articular cartilage and connective tissue formation in the chick / E. M. Carlisle // *The Journal of Nutrition*. – 1976. – V. 106 (4). – P. 478–484.
39. Воронков М. Г. Кремний и жизнь. Биохимия, фармакология, токсикология / М. Г. Воронков, Г. И. Зелчан, Э. Я. Лукевиц. – Рига: Зинатне, 1978. – 587 с.
40. Ebelmen M. // *Annales de Chimie et de Physique*. – 1846. – V. 16. – P. 129.
41. Ebelmen M. // *Comptes rendus de l'Academie Sciences*. – 1847. – V. 25. – P. 854.
42. Graham T. // *Journal of the Chemical Society*. – 1864. – V. 17. – P. 318.
43. Шабанова Н. А. Золь-гель технологии. Нанодисперсный кремнезем / Н. А. Шабанова, П. Д. Саркисов. – М. : Бинном, 2012. – 328 с.
44. Hench L. L. The Sol–Gel Process / L. L. Hench, J. K. West // *Chemical Reviews*. – 1990. – V. 90. – P. 33–72.
45. Roy D. M. An experimental study of the formation and properties of synthetic serpentines and related layer silicates / D. M. Roy, R. Roy // *American Mineralogist*. – 1954. – V. 39. – P. 957–975.
46. Roy R. Aids in Hydrothermal Experimentation: II, Methods of Making Mixtures for Both 'Dry' and 'Wet' Phase Equilibrium Studies / R. Roy // *Journal of the American Ceramic Society*. – 1956. – V. 39. – P. 145–146.
47. Roy R. Gel route to homogeneous glass preparation / R. Roy // *Journal of the American Ceramic Society*. – 1969. – V. 52. – P. 344–345.
48. McCarthy G. J. Preliminary Study of Low-Temperature “Glass” Fabrication from Noncrystalline Silicas / G. J. McCarthy, R. Roy, J. M. McKay // *Journal of the American Ceramic Society*. – 1971. – V. 54. – P. 637–638.
49. Pierre A. C. Introduction to Sol–Gel Processing / A. C. Pierre. – Boston: Kluwer, 1998. – 394 p.
50. Pierre A. C. Chemistry of aerogels and their application / A. C. Pierre, G. M. Pajonk // *Chemical Reviews*. – 2002. – V. 102. – P. 4243–4265.
51. Gill I. Encapsulation of biologicals within silicate, siloxane, and hybrid sol-gel polymers: an efficient and generic approach / I. Gill, A. Ballesteros // *Journal of the American Chemical Society*. – 1998. – V. 120. – P. 8587–8598.

52. Sugar-modified silanes: precursors for silica monoliths / M. A. Brook, Y. Chen, K. Guo, Z. Zhang, J. D. Brennan // *Journal of Materials Chemistry*. – 2004. – V. 14. – P. 1469–1479.
53. Glycol-modified silanes in the synthesis of mesoscopically organized silica monoliths with hierarchical porosity / D. Brandhuber, V. Torma, C. Raab, H. Peterlik, A. Kulak, N. Hüsing // *Journal of Materials Chemistry*. – 2005. – V. 17. – P. 4262–4271.
54. Шадрина Е. В. Исследование состава и строения глицеролатов кремния методом масс-спектрометрии / Е. В. Шадрина, И. Н. Ганебных, Т. Г. Хонина // «Фармация и общественное здоровье» : материалы конференции. – Екатеринбург, 2010. – С. 201–203.
55. Шадрина Е. В. Исследование состава глицеролатов кремния и структуры гидрогелей на их основе / Е. В. Шадрина, Т. Г. Хонина, И. Н. Ганебных // *Актуальные проблемы органического синтеза и анализа: сборник статей*. – Екатеринбург, 2010. – С. 242–250.
56. Mechanism of structural networking in hydrogels based on silicon and titanium glycerolates / T. G. Khonina, A. P. Safronov, E. V. Shadrina, M. V. Ivanenko, A. I. Suvorova, O. N. Chupakhin // *Journal of Colloid and Interface Science*. – 2012. – V. 365. – P. 81–89.
57. Патент 1838318 Российская Федерация, МПК⁵ C07F 7/28. Способ получения тизоля – комплекса тетракопан гидроксотетракис(окси-3,4-дигидроксипропил)титана с декан-1,2,3-тригидроксипропаном, обладающего транскутанной проводимостью медикаментозных добавок / Емельянова И. В., Лопатина Г. П. ; заявитель и патентообладатель Емельянова И. В., Лопатина Г. П. – № 4905866/04 ; заявл. 18.12.1990 ; опубл. 30.08.1993, Бюл. № 32, Т. 2. – С. 251.
58. Патент 2326667 Российская Федерация, МПК⁷ А61К 31/496, А61К 31/5383, А61К 31/47, А61К 31/167, А61К 31/155, А61К 47/30, А61Р 31/04. Средство для лечения гнойно-воспалительных заболеваний кожи и мягких тканей различной этиологии / Чарушин В. Н., Хонина Т. Г., Чупахин О. Н., Ларионов Л. П.,

- Зобнина Г. А., Зобнин С. А., Браташ Б. М., Бояковская Т. Г., Забокрицкий Н. А. Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской Академии наук (RU). – № 2006139707/15 ; заявл. 09.11.2006 ; опубл. 20.06.2008, Бюл. № 17, Ч. III. – С. 626.
59. Патент 2336877 Российская Федерация, МПК⁷ А61К 31/4709, А61К 31/4164, А61К 31/155, А61К 8/25, А61Р 31/04. Местное антимикробное средство / Чарушин В. Н., Хонина Т. Г., Чупахин О. Н., Чернышева Н. Д., Ронь Г. И., Ларионов Л. П., Зобнина Г. А., Зобнин С. А., Браташ Б. М., Шадрина Е. В., Забокрицкий Н. А. ; Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской Академии наук, Государственное образовательное учреждение Высшего профессионального образования «Уральская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (RU). – № 2007117063/15 ; заявл. 07.05.2007 ; опубл. 27.10.2008, Бюл. № 30, Ч. III. – С. 852.
60. Патент 2296556 Российская Федерация, МПК А61К 6/033. Средство для лечения воспалительных заболеваний пародонта / Сабирзянов Н. А., Хонина Т. Г., Яценко С. П., Ронь Г. И., Чупахин О. Н. ; патентообладатель Государственное учреждение «Институт химии твердого тела» Уральского отделения Российской Академии наук, Учреждение Институт органического синтеза Уральского отделения Российской Академии наук (RU). – № 2005119112/15 ; заявл. 20.06.2005 ; опубл. 10.04.2007, Бюл. № 10, Ч. II. – С. 351.
61. Патент 2330645 Российская Федерация, МПК А61К 31/155, А61К 31/192, А61К 31/203, А61К 31/4164, А61К 33/00, А61К 33/06, А61К 31/355, А61Р 1/02. Способ лечения пародонтита / Саркисян Н. Г., Ронь Г. И., Сабирзянов Н. А., Богданова Е. А., Яценко С. П., Чарушин В. Н., Хонина Т. Г., Чупахин О. Н. ; патентообладатели Уральская государственная медицинская академия, Государственное учреждение «Институт химии твердого тела», Уральского отделения Российской академии наук (RU). – № 2006126476/14 ; заявл. 20.07.2006 ; опубл. 10.08.2008, Бюл. № 22, Ч. III. – С. 672.

62. Патент 2340366 Российская Федерация, МПК А61N 2/04, А61К 47/30, А61К 31/155, А61К 31/4164, А61К 31/47, А61Р 1/02. Способ лечения воспалительных заболеваний пародонта / Шнейдер О. Л., Баньков В. И., Журавлев В. П., Ларионов Л. П., Хонина Т. Г., Шнейдер О. Л., Баньков В. И. – № 2007120212/14 ; заявл. 30.05.2007 ; опубл. 10.12.2008, Бюл. № 34, Ч. III – С. 810-811.
63. Коломийцева М. Г. Микроэлементы в медицине / М. Г. Коломийцева, Р. Д. Габович. – М.: Издательство «Медицина», 1970. – 288 с.
64. Decreased brain zinc availability reduces hippocampal neuro-genesis in mice and rats / S. W. Suh, S. J. Won, A. M. Hamby, B.H. Yoo, Y. Fan, C. T. Sheline, H. Tamano, A. Takeda, J. Liu // Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. – 2009. – V. 29 (9). –P. 1579–1588.
65. MacDonald R. S. The role of zinc in growth and cell proliferation / R. S. MacDonald // The Journal of Nutrition. – 2000. – V. 130 (5). – P. 1500–1508.
66. Yamaguchi M. Action of zinc on bone metabolism in rats: increases in alkaline phosphatase activity and DNA content / M. Yamaguchi, R. Yamaguchi // Biochemical Pharmacology. – 1986. – V. 35 (5). – P. 773–777.
67. Yamaguchi M. Stimulatory effect of zinc on bone formation in tissue culture / M. Yamaguchi, H. Oishi, Y. Suketa // Biochemical Pharmacology. – 1987. – V. 36 (22). – P. 4007–4012.
68. Zinc may increase bone formation through stimulating cell pro-liferation, alkaline phosphatase activity and collagen synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells / H. Seo, Y. Cho, T. Kim, H. Shin, I. Kwun // Nutrition Research and Practice. – 2010. – V. 4 (5). – P. 356–361.
69. Hashizume M. Stimulatory effect of β -alanyl-L-histidinato zinc on cell proliferation is dependent on protein synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells / M. Hashizume, M. Yamaguchi // Molecular and Cellular Biochemistry. – 1993. – V. 122 (1). – P. 59–64.

70. Zinc-containing apatite layers on external fixation rods promoting cell activity / X. Wang, A. Ito, Y. Sogo, X. Li, A. Oyane. // *Acta Biomaterialia*. – 2010. – V. 6 (3). – P. 962–968.
71. Hashizume M. Effect of beta-alanyl-L-histidinato zinc on differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells – increase in alkaline-phosphatase activity and protein-concentration / M. Hashizume, M. Yamaguchi // *Molecular and Cellular Biochemistry*. – 1994. – V. 131 (1). – P. 19–24.
72. Shankar A. H. Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection / A. H. Shankar, A. S. Prasad // *The American Journal of Clinical Nutrition*. – 1998. – V. 68. – P. 447–463.
73. Zinc complexes of the antibacterial drug oxolinic acid: structure and DNA-binding properties / A. Tarushi, G. Psomas, C. P. Raptopoulou, D. P. Kessissoglou // *Journal of Inorganic Biochemistry*. – 2009. – V. 103 (6). – P. 898–905.
74. Zinc-ion implanted and deposited titanium surfaces reduce adhesion of *Streptococcus mutans* / J. Xu, G. Ding, J. Li, S. Yang, B. Fang, H. Sun, Y. Zhou // *Applied Surface Science*. – 2010. – V. 256 (24). – P. 7540–7544.
75. Physiologic actions of zinc related to inhibition of acid and alkali production by oral streptococci in suspensions and biofilms / T. N. Phan, T. Buckner, J. Sheng, J. D. Baldeck, R. E. Marquis // *Oral Microbiology and Immunology*. – 2004. – V. 19 (1). – P. 31–38.
76. Cummins D. Zinc citrate/triclosan: a new anti-plaque system for the control of plaque and the prevention of gingivitis: short-term clinical and mode of action studies / D. Cummins // *Journal of Clinical Periodontology*. – 1991. – V. 18 (6). – P. 455–461.
77. Thiol groups and reduced acidogenicity of dental plaque in the presence of metal ions in vivo / R. V. Oppermann, G. Rolla, J. R. Johansen, S. Assev // *European Journal of Oral Sciences*. – 1980. – V. 88 (5). – P. 389–396.
78. Radoslovich E. W. Crystalline cobalt, zinc, manganese and iron alkoxides of glycerol / E. W. Radoslovich // *Australian Journal of Chemistry*. – 1970. – V. 23. – P. 1963–1970.

79. Patent US4544761 C01F 3/06. Pharmaceutical compound zinc glycerolate complex prepared by reacting zinc oxide and glycerol [Electronic resource]/ Taylor R. M., Brock A. J. // Espacenet. – URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=19851001&CC=US&NR=4544761A&KC=A. – (Дата обращения 09.02.2015 г).
80. Patent US5646324 C01F 3/06. Zinc glycerolate manufacture [Electronic resource] / Matkin D. A., Renshaw D. C., Harrison A. R., Pharmaserve Limited, Stiefel Laboratories (Ireland) Limited // Espacenet. – URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=19970708&CC=US&NR=5646324A&KC=A. – (Дата обращения 09.02.2015 г).
81. Zinc glycerolate: potential active for topical application / M. Y. Cheong, A. H. Hazimah, A. H. Zafarizal, I. Rosnah // Journal of Oil Palm Research. – 2012. – V. 24 (4). – P. 1287–1295.
82. Patent US2006173073 A61K 31/315. Microfine zinc-glycerol complex [Electronic resource] / Taylor R. M., Taylor M. L., Fairlie D. P., Moffitt R. M. Pure Pharmaceuticals INC. // Espacenet. – URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=20060803&CC=US&NR=2006173073A1&KC=A1. – (Дата обращения 09.02.2015 г).
83. Patent US4943316 B22F 9/00, B22F 9/24, B22F 9/30, C07C 27/00, C07C 29/70, C07C 31/28, C07C 67/00. Relating to the formation of metal alkoxides and metal powders by the use of microwave radiation [Electronic resource] / Taylor R. M., Hallsworth & Associates Pty. Limited // Espacenet. – URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=19900724&CC=US&NR=4943316A&KC=A. – (Дата обращения 09.02.2015 г).

84. Synthesis of zinc glycerolate microstacks from a ZnO nanorod sacrificial template / R. Remias, A. Kukovecz, M. Daranyi, G. Kozma, S. Varga, Z. Konya, I. Kiricsi // European Journal of Inorganic Chemistry. – 2009. – V. 24. – P. 3622–3627.
85. Hambley T. W. The crystal and molecular structure of zinc (II) monoglycerolate / T. W. Hambley, M. R. Snow // Australian Journal of Chemistry. – 1983. – V. 36 (6). – P. 1249–1253.
86. Fairlie D. P. Zinc monoglycerolate – a slow release source of therapeutic zinc: solubilisation by endogenous ligands / D. P. Fairlie, M. W. Whitehouse, R. M. Taylor // Agents and Action. – 1992. – V. 36. – P. 152–158.
87. Patent US4876278 A61K 31/045, A61K 31/315, A61K 33/30, A61P 1/04, A61P 17/00, A61P 29/00, A61P 3/00, A61P 31/04, C07F 3/06. Zinc glycerolate complex and additions for pharmaceutical applications [Electronic resource] / Taylor R. M., A. J. Brock A. J. Glyzinc Pharmaceuticals Limited // Espacenet. – URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=worldwide.espacenet.com&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=en_EP&FT=D&date=19891024&CC=US&NR=4876278A&KC=A. – (Дата обращения 09.02.2015 г).
88. Zinc monoglycerolate is effective against oral herpetic sores / A. Apisariyakulm, D. Buddhasukh, S. Apisariyukul, B. Ternai // The Medical Journal of Australia. – 1990. – V. 152. – P. 54.
89. Coulston L. Insulin-like effects of Zn^{2+} on adipocytes / L. Coulston, P. Danson // Diabets. – 1980. – V. 29. – P. 665–667.
90. May J.M. The mechanism of the insulin-like effects of ionic zinc / J. M. May, C. S. Contoreggi // The Journal of Biological Chemistry. – 1982. – V. 257. – P. 4362–4368.
91. Shisheva A. Insulin-like effects of zinc ion *in vitro* and *in vivo* / A. Shisheva, D. Gefel, Y. Shechter // Diabets. – 1992. – V. 41. – P. 982–989.
92. Isolation and characterization of intermediate catalytic species in the Zn-catalyzed glycerolysis of urea / J.-H. Park, J. S. Choi, S. K. Woo, S. D. Lee, M. Cheong, H. S. Kim, H. Lee // Applied Catalysis A: General – 2012. – V. 433–434. – P. 35–40.

93. ГОСТ Р 52343-2005 Кремы косметические. Общие технические условия. – М. : Стандартиформ, 2005. – 9 с.
94. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А. Н. Миронова. – М.: Гриф и К, Ч. 1, 2012. – 944 с.
95. Медицинская микробиология : учебник для ВУЗов / под ред. В. И. Покровского. – М.: ГЭОТАР–МЕД, 2001. – 765 с.
96. Gupta A. A time course study for the development of an immunocompromised wound model, using hydrocortisone // A. Gupta, G. K. Jain, R. Raghbir. // *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. – 1999. – V. 41. – P. 183–187.
97. Патент 2520969 Российская Федерация, МПК C07F 7/18, C07F 3/06, A61K 31/695. Кремнийцинксодержащий глицерогидрогель, обладающий ранозаживляющей, регенерирующей и антибактериальной активностью / Штанько И. Н., Хонина Т. Г., Бондарев А. Н., Шадрина Е. В., Чупахин О. Н., Ваневская Е. А., Мандра Ю. В., Базарный В. В., Ларионов Л. П., Григорьев С. С., Тузанкина И. А. ; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук /(RU). – № 2013109945/04 ; заявл.05.03.2013 ; опубл. 27.06.2014, Бюл. №18.
98. Синтез и свойства биологически активного кремний, цинк–глицерогидрогеля / О. Н. Чупахин, А. Н. Бондарев, И. Н. Штанько, Т. Г. Хонина, Е. В. Шадрина, Е. А. Богданова, Л. П. Ларионов // *Известия академии наук. Серия химическая*. – 2014. – № 5. – С. 1219–1224.
99. Preparation and properties of silicon–zinc–glycerol hydrogels / I. N. Shtan'ko, A. N. Bondarev, E. V. Shadrina, T. G. Khonina, O. N. Chupakhin // *Materials of 12th China – Russia Symposium on Advanced Materials and Technologies, Kunming, 2013*. – P. 235–237.
100. Новый фармакологически активный кремнийцинксодержащий глицерогидрогель / И. Н. Штанько, А. Н. Бондарев, Т. Г. Хонина, Е. А. Ваневская // IX Всероссийская конференция «Химия и медицина» : тезисы докладов. – Уфа, 2013. – С. 125–126.

101. Штанько И. Н. Разработка иммуностропных средств для местного применения на основе кремний- и кремнийцинксодержащих производных полиолов / И. Н. Штанько, Т. Г. Хонина, О. Н. Чупахин // Уральский научный форум «Современные проблемы органической химии» : сборник тезисов. – Екатеринбург, 2014. – С.229.
102. Синтез, токсичность и трансдермальная проницаемость глицератов кремния и гидрогелей на их основе / Т. Г. Хонина, О. Н. Чупахин, Л. П. Ларионов, Т. Г. Бояковская, А. Л. Суворов, Е. В. Шадрин // Химико-фармацевтический журнал. – 2008. – № 11. – С. 5–9.
103. Synthesis and structure of zinc monoglycerolate, a new biocompatible precursor in sol–gel process / A. N. Bondarev, I. N. Shtan'ko, T. G. Khonina, E. A. Bogdanova // «Золь-гель синтез и исследование неорганических соединений, гибридных функциональных материалов и дисперсных систем» : материалы III международной конференции стран СНГ – Суздаль, 2014. – С.190.
104. Ляпунов А. Н. Создание мягких лекарственных средств на различных основах. Сообщение 2. Исследование реологических свойств гелей, образованных карбомерами / А. Н. Ляпунов, Н. В. Воловик // Фармаком. – 2001. – № 2. – С. 52–61.
105. Контроль качества и производство мягких лекарственных средств в свете требований Государственной фармакопеи Украины [Электронный ресурс] / И. М. Перцев, С. А. Гуторов, Г. В. Загорий, Е. Л. Халеева // Провизор. – 2002. – № 8. – Режим доступа: http://www.provisor.com.ua/archive/2002/N8/art_29.php. – (Дата обращения 09.10.2014 г).
106. Фармацевтические и биологические аспекты мазей : монография / И. М. Перцев, А. М. Котенко, О. В. Чуешов, Е. Л. Халеева; под. ред. И. М. Перцева. – Харьков : Изд-во НФаУ: Золотые страницы, 2003. – 288 с.
107. Ахметова Т. А. Разработка состава и технологии мази и геля ципрофлоксацина для местного применения в офтальмологии : автореф. дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.01 / Ахметова Татьяна Алексеевна. – Пермь, 2008. – 23 с.

108. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности. – М.: Стандартинформ, 2007. – 7 с.
109. Coordination chemistry of bacterial metal transport and sensing / Z. Ma, F. E. Jacobsen, D. P. Giedroc // *Chemical Reviews*. – 2009. – V. 109 (10). – P. 4644–4681.
110. Osteogenic activity and antibacterial effect of zinc ion implanted titanium / G. Jin, H. Cao, Y. Qiao, F. Meng, H. Zhu, X. Liu // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2014. – V. 117. – P. 158–165.
111. Outten C. E. Femtomolar sensitivity of metalloregulatory proteins controlling zinc homeostasis / C. E. Outten // *Science*. – 2001. – V. 292 (5526). – P. 2488–2492.
112. Hantke K. Bacterial zinc transporters and regulators / K. Hantke // *Biometals*. – 2001. – V. 14 (3–4). – P. 239–249.
113. Штанько И. Н. Использование моноглицеролата цинка в средствах для местного применения / И. Н. Штанько, Е. А. Ваневская, Т. Г. Хонина, Л. П. Ларионов // Евразийский Конгресс «Медицина, фармация и общественное здоровье», Екатеринбург, 21–23 мая 2013 г. : тезисы докладов. – Екатеринбург, 2013. – С. 377-380.
114. Patent WO9402131 A61K 31/045. Treatment of herpetic diseases [Electronic resource] / Taylor R. M. Glyzinc Pharmaceuticals Limited // Espacenet. – URL.: http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?DB=EPODOC&II=0&ND=3&adjacent=true&locale=ru_ru&FT=D&date=19940203&CC=WO&NR=9402131A1&KC=A1. – (Дата обращения 09.02.2015 г).
115. Патент 2470640 Российская Федерация, МПК А61К 31/502, А61К 37/787, А61К 38/20, А61К 31/355, А61К 33/30, А61К 47/30, А61Р 1/02. Средство для лечения воспалительных заболеваний полости рта и способ лечения воспалительных заболеваний полости рта / Чупахин О. Н, Симбирцев А. С., Тузанкина И. А., Хонина Т. Г., Тосова И. Н., Ларионов Л. П., Ронь Г. И., Саркисян Н. Г., Чернышева Н. Д. ; патентообладатель Учреждение Российской

- академии наук Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского Уральского отделения РАН (RU). – № 2011115075/15 ; заявл. 15.04.2011 ; опубл. 27.12.2012, Бюл. № 36, Ч. I. – С. 64-65.
116. Тосова И. Н. Иммуностропное средство для местного применения с использованием галавита / И. Н. Тосова, Т. Г. Хонина, Л. П. Ларионов // «Фармация и общественное здоровье» : материалы конференции с международным участием. – Екатеринбург, 2011. – С. 29–31.
117. Тосова И. Н. Иммуностропные средства для местного применения на гидрофильной кремнийсодержащей основе / И. Н. Тосова, Т. Г. Хонина, Л. П. Ларионов // «Фармация и общественное здоровье» : материалы конференции с международным участием. – Екатеринбург, 2012. – С. 58–60.
118. Usage of glycerohydrogel «Silativit» and its compositions in the local treatment of phlogistic dental diseases / I. N. Tosova, T. G. Khonina, N. D. Chernysheva, I. I. Safiullina, G. I. Ron' // Materials of XI Andrianov conference «Organosilicon compounds. Synthesis, properties, applications». – Moscow, 2010. – P. 165.
119. Тосова И. Н. Новое иммуностропное средство для местного применения / И. Н. Тосова, Т. Г. Хонина // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2011. – №3 (1) : «Ученые Урала и Сибири – развитию отечественной фармации: от синтеза до инновационных лекарственных средств» : материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, – Новосибирск, 2011. – С. 49.
120. Иммуностропное средство топического применения с использованием беталейкина / И. Н.Тосова, А. С. Симбирцев, И. А. Тузанкина, Т. Г. Хонина, Л. П. Ларионов // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2012. – №4 (41) : материалы X конференции иммунологов Урала, – Тюмень, 2012. – С. 219–220.
121. Разработка иммуностропных средств топического применения на гидрофильных кремний- и кремнийтитансодержащих основах в стоматологической практике / Н. Г. Саркисян, Н. Д. Чернышева, Г. И. Ронь, И. Н. Штанько, Т. Г. Хонина, И. А. Тузанкина // Аллергология и иммунология. –

2013. – Т. 14, № 2. : материалы XVIII Международного конгресса по реабилитации в медицине и иммунореабилитации. – Лондон, 2013. – С. 152.
122. Immunotropic drugs for local use in stomatology [Electronic resource] / N. G. Sarkisian, G. I. Ron', I. N. Shtan'ko, T. G. Khonina, I. A. Tuzankina, A. S. Simbirtsev // Materials of 15th International Congress of Immunology (ICI), Milan, 2013. – URL.: http://www.frontiersin.org/10.3389/conf.fimmu.2013.02.00237/event_abstract. – (Дата обращения 10.02.2015 г).
123. Оценка безопасности и переносимости препарата «Силативит» при применении у добровольцев / Н. Д. Чернышева, А. С. Назукин, Т. Г. Хонина, И. Н. Тосова // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2011. – № 4 (37). – С. 121– 123.
124. Фармацевтическая технология. Технология лекарственных форм: учебник для студентов высших учебных заведений / под ред. И. И. Краснюка, Г. В. Михайловой. – 3-е изд., перераб. и доп. – М. : Издательский центр «Академия», 2007. – 592 с.
125. Критерии оценки эндогенной интоксикации при ожоговой травме / С. Б. Матвеев, Т. Г. Спиридонова, Е. В. Клычникова, Н. Ю. Николаева, С. В. Смирнов, П. П. Голиков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2003. – № 10. – С. 3–6.
126. Рябинин В. Е. Влияние термической травмы и средне-молекулярных пептидов на хемолуминесценцию плазмы крови / В. Е. Рябинин, А. Г. Палимов, Р. И. Лифшиц // Вопросы медицинской химии. – 1988. – № 6 (43). – С. 60–64.
127. Самойленко Г. Е. Динамика интоксикации при ожоговой болезни у детей младшего возраста / Г. Е. Самойленко // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2005. – Т. 6, № 2. – С. 268–271.
128. Термические и радиационные ожоги / Л. И. Герасимова, В. Н. Жижин, Е. В. Кижаяев, А. Н. Путинцев. – М. : Медицина, 1996. – 245 с.


129. Эндогенная интоксикация при экспериментальном пародонтите и иммунологические механизмы ее коррекции / И. Г. Данилова, И. Ф. Гетте, М. Т. Абидов, Л. П. Кисельникова, Б. Г. Юшков, С. Ю. Медведева, И. А. Госьков // Институт стоматологии : научно-практический журнал. – 2005. – № 4. – С. 99–101.
130. Габриэлян Н. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н. И. Габриэлян, В. И. Липатова // Лабораторное дело. – 1984. – № 3. – С. 138–140.
131. Малахова М. Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации : методические рекомендации / М. Я. Малахова. – СПб, 1995. – 33 с.
132. Штанько И. Н. Кремнийцинксодержащий глицерогидрогель, обладающий иммуностропной активностью / И. Н. Штанько, Т. Г. Хонина // Российский иммунологический журнал. – 2013. – Т. 7(16), № 2–3. : материалы объединенного иммунологического форума. – С. 211.
133. Новые иммуностропные средства для местного применения на основе кремний- и цинксодержащих глицерогидрогелей / И. Н. Штанько, Т. Г. Хонина, Р. Р. Сахаутдинова, Л. П. Ларионов, И. А. Тузанкина // Цитокины и воспаление. – 2014. – Т. 13, № 1. : материалы юбилейной научно-практической конференции «Современные проблемы иммунофармакологии, биотехнологии и цитокиновой регуляции», Санкт-Петербург, 2014. – С. 133–134.
134. Количественное определение кремния и цинка в новом фармакологически активном кремнийцинксодержащем глицерогидрогеле / И. Н. Штанько, А. Н. Бондарев, Т. Г. Хонина, Н. И. Москаленко // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2014. – № 11. – С. 27–31.
135. Разработка и валидация методики количественного определения кремния и цинка в кремнийцинксодержащих глицерогидрогелях / А. Н. Бондарев, И. Н. Штанько, Т. Г. Хонина, Л. П. Ларионов // Евразийский Конгресс «Медицина, фармация и общественное здоровье», Екатеринбург, 21-23 мая 2013 г. : тезисы докладов. – Екатеринбург, 2013 – С. 60–63.

136. Штанько И. Н. Сравнительная оценка валидационных характеристик методик количественного определения кремния и цинка в элементсодержащих глицерогидрогелях гравиметрическим и атомно-абсорбционным методами / И. Н. Штанько, А. Н. Бондарев, Т. Г. Хонина // Фармация и общественное здоровье : материалы конференции, Екатеринбург, 21 мая 2014 г. . – Екатеринбург, 2014. – С.471–474.
137. Государственная фармакопея Российской Федерации. – М. : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, XII изд., Ч. 2., 2010. – 600 с.
138. ГОСТ Р ИСО 5725–2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. – М. : ИПК Издательство стандартов, 2002. – 31 с.
139. Валидация аналитических методик для производителей лекарств: типовое руководство предприятия по производству лекарственных средств / под ред. В. В. Береговых. – М. : «Литтерра», 2008. – 132 с.
140. Huber L. Validation of analytical Methods: Review and Strategy, LC-GC 1997-1, Version February 21 / L. Huber // BioPharm. – 1999. – V. 12. – P. 64–66.
141. Государственная фармакопея Российской Федерации. – М. : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, XII изд., Ч. 1., 2008. – 696 с.
142. Штанько И. Н. Разработка и валидация методики количественного определения галавита в мягкой лекарственной форме на гидрофильной кремнийсодержащей основе / И. Н. Штанько, Т. Г. Хонина // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 10 (11). – С. 2491–2494.
143. Нилова М. В. Валидация методики количественного определения галавита в мягкой лекарственной форме / М. В. Нилова, И. Н. Тосова, Т. Г. Хонина // Фармация и общественное здоровье : материалы ежегодной конференции, Екатеринбург, 19 мая 2011 г. – Екатеринбург, 2011. – С.56–58.
144. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности (методические рекомендации) / под ред. Н. В. Юргеля. – М. : «Спорт и культура – 2000», 2007. – 192 с.

145. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, Н. В. Денисенко, Ю. В. Подпужников // Фармаком. – 2004. – № 3. – С. 1–15.

ПРИЛОЖЕНИЕ

«УТВЕРЖДАЮ»
 Генеральный директор
 ОАО «Екатеринбургская
 фармацевтическая фабрика»
 А.Н.Мехоношин
 «18» декабря 2014 г



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Предмет внедрения: нормативная документация на препарат «мазь для местного применения с галавитом» (ФСП).

Кем предложен: соискателем ученой степени кандидата фармацевтических наук, аспирантом Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук Штанько Ириной Николаевной.

Где внедрено: г. Екатеринбург, ОАО «Екатеринбургская фармацевтическая фабрика».

Источник информации: материалы диссертационного исследования Штанько И.Н.

Цель внедрения: Проведение апробации методик стандартизации лекарственного препарата «мазь для местного применения с галавитом» в условиях фармацевтического производства и отдела контроля качества.

Ответственные за внедрение: заместитель Генерального директора по качеству А.И.Фадеева, заместитель Генерального директора Ю.А.Мальцев.

Результаты внедрения: методики стандартизации лекарственного препарата, приведенные в проекте фармакопейной статьи предприятия, позволяют достоверно оценить качество мази, хорошо воспроизводятся, просты в исполнении.

Эффективность внедрения: полученные результаты исследований являются предпосылкой для расширения ассортимента отечественных лекарственных средств и включены в перспективный план развития производства.

Заместитель Генерального директора

Ю.А.Мальцев

Заместитель Генерального директора по качеству

А.И.Фадеева



государственное бюджетное
образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Уральский государственный
медицинский университет»
Министерства здравоохранения
Российской Федерации
(ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России)
ул. Репина, 3, г. Екатеринбург, 620028
Тел. (343) 371-34-90; факс 371-64-00
E-mail: usma@usma.ru
ИНН/КПП 6658017389/665801001

№
на № _____ от 09.02.2015г.

Заключение

О перспективности использования фармацевтической композиции на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и галавита для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний

На основании решения Комитета по Этике при Федеральной службе по надзору в сфере здравоохранения и социального развития (протокол № 72 от 23 июня 2010 г) и решения локального Этического Комитета при Уральском государственном медицинском университете, после проведения доклинических и токсикологических испытаний фармацевтической композиции на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и галавита, предлагаемое средство было апробировано на ограниченном числе пациентов-добровольцев в многопрофильной стоматологической клинике при Уральском государственном медицинском университете на кафедре терапевтической стоматологии в качестве средства для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний.

Под наблюдением находились 3 пациента-добровольца с диагнозом хронический генерализованный пародонтит легкой степени в стадии обострения и 2 пациента-добровольца с диагнозом хронический генерализованный пародонтит средней степени тяжести в стадии обострения. У всех пациентов-добровольцев при осмотре отмечались гиперемия и отек десны, твердые зубные отложения, гноетечение, кровоточивость при зондировании.

Всем пациентам-добровольцам были назначены аппликации фармацевтической композиции на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и галавита на десну тонким слоем 1 раз в сутки на 15 минут в течение 7 дней вместе с комплексной терапией. Эффективность лечения оценивали в динамике по субъективным признакам и клинической картине. В процессе лечения наблюдалось изменение клинической картины в сторону уменьшения воспалительных явлений (уменьшились гиперемия, отек десны,

отсутствовали гноетечение и кровотечение). На 7-е сутки лечения у пациентов-добровольцев отсутствовали признаки воспаления, десна была бледно-розовая влажная, блестящая.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности применения фармацевтической композиции при местном лечении воспалительных стоматологических заболеваний. Данные клинических исследований по применению фармацевтической композиции на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и галавита для лечения воспалительных стоматологических заболеваний являлись предметом патента на изобретение.

Предлагаемое средство может найти широкое применение в стоматологической практике для лечения воспалительных стоматологических заболеваний, что приведет к расширению ассортимента лекарственных препаратов и улучшению качества терапии таких заболеваний.

Зав. кафедрой терапевтической стоматологии
д.м.н., профессор

Ронь Г.И. Ронь Г.И.

Доцент кафедры терапевтической
стоматологии к.м.н.

Чернышева Н.Д.





МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
 высшего профессионального образования
 "УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"
 (ФГБОУ ВПО УрГАУ)

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education
 "URALS STATE AGRARIAN UNIVERSITY"
 (FSBEI HPE UrSAU)

ул. К. Либкнехта, 42, г. Екатеринбург, 620075
 Тел.: /343/ 371-33-63 Факс: /343/ 221-40-26
 rector@urgau.ru; academy@usaca.ru

42, K. Liebknecht Str., Ekaterinburg, 620075, Russia
 Tel.: /343/ 371-33-63 Fax: /343/ 221-40-26
 rector@urgau.ru; academy@usaca.ru

№ 102-14/349

« 09 » сентября 2015 г.

Заключение

о перспективности использования кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля в ветеринарной практике

В соответствии с разрешением Управления ветеринарии Министерства сельского хозяйства Свердловской области от 10.04.2009 № 06-18/126 были проведены клинические испытания кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля для лечения гиперкератоза сосков вымени высокопродуктивных молочных коров.

Клиническое исследование кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля проводилось на базе сельхозпредприятий Свердловской области. В исследование были включены лактирующие коровы, имеющие на сосках вымени поражения в виде осложненного или неосложненного гиперкератоза. Гель наносили после доения в течение 7 дней непосредственно на зону поражения.

Результаты исследований показали высокую терапевтическую эффективность кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля, а также выраженность его пролонгированного действия. Непосредственно после окончания лечения происходит сокращение количества сосков с поражением в виде неосложненной формы гиперкератоза в 3.3 – 3.5 раза, в виде осложненной формы в 2 – 6 раз, отмечается появление сосков, не имеющих патологических изменений в области отверстия соскового канала. Через 21 день после окончания применения геля количество сосков с поражением в виде осложненного гиперкератоза сокращается в 4.1 – 5.1 раза по сравнению с исходными данными, в виде неосложненного гиперкератоза в 1.5 – 2.1 раза.

В настоящее время потребность сельхозпредприятий Свердловской области в разрабатываемом средстве оценивается в десятки килограммов.

Полученные результаты свидетельствуют о реальном практическом выходе и имеют серьезную значимость для внедрения в ветеринарную практику российского животноводства.

Проректор по научной работе
и инновациям ФГБОУ ВПО УрГАУ

Зам. декана по науке факультета
ветеринарной медицины ФГБОУ ВПО УрГАУ



Б.А. Воронин

А.С. Баркова