

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

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук**

Пермь – 2015

Диссертационная работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук

Научный руководитель

Хонина Татьяна Григорьевна доктор химических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органического синтеза им. И.Я. Постовского Уральского отделения Российской академии наук

Официальные оппоненты:

Мельникова Нина Борисовна доктор химических наук, профессор, ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующая кафедрой фармацевтической химии и фармакогнозии

Карпенко Юлия Николаевна кандидат фармацевтических наук, доцент, ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доцент кафедры токсикологической химии

Ведущая организация: Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пятигорск.

Защита состоится «26» мая 2015 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.068.01 при ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2, (342) 233-55-01.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 614070, г. Пермь, ул. Крупской, 46.

Текст диссертации размещен на сайте ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России <http://www.pfa.ru> «18» февраля 2015 г.

Дата размещения объявления о защите диссертации на сайте Министерства образования и науки Российской Федерации <http://www.mon.gov.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат, отзыв научного руководителя и объявление о защите диссертации размещены на сайте ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России <http://www.pfa.ru> «__» _____ 2015 г.

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Н.В. Слепова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ*

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 [Пат. РФ 2255939, 2005]. 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 [Pat. NZ 538113, 2006]. 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 иммуностропных средств для местного применения с использованием глицеролатов эссенциальных элементов, в частности, кремния и цинка, а также разработка новых фармацевтических композиций с использованием известных иммуностропных веществ является актуальной задачей.

Цель работы

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

* Автор выражает благодарность академику О.Н. Чупахину и д.фарм.н., профессору А.Ю. Петрову за постоянный интерес и помощь в работе.

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 иммуностропных веществ (галавита, беталейкина, полиоксидония).
4. Провести сравнительную оценку фармакологической, в том числе, иммуностропной, 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., проф. 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), экспериментальных исследований (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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Современные и потенциальные иммуностропные препараты для местного применения

В главе приводятся обобщенные литературные данные о современных иммуностропных препаратах, а также сведения о синтезе и свойствах глицеролатов кремния и цинка – перспективных прекурсоров в золь-гель синтезе новых иммуностропных лекарственных средств.

Глава 2. Экспериментальная часть

В главе приведены материалы и методы, используемые при проведении исследований, описан метод синтеза кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей. 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. Статистическая обработка данных проведена в пакете программ STATISTICA 6.0.

Глава 3. Синтез и фармакологическая активность кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей

Глава посвящена синтезу кремнийцинксодержащих глицерогидрогелей, выбору оптимального состава геля и его первичным фармакологическим исследованиям.

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-цинк-4-циклопентилметанола (моноглицеролата 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. Тетраглицеролат кремния синтезировали по реакции переэтерификации тетраэтоксисилана избытком глицерина. Образующийся при этом этиловый спирт сначала удаляли при атмосферном давлении, затем при вакуумировании до убыли теоретического количества. Тетраглицеролат кремния может быть получен также и в присутствии катализатора тетрабутоксититана. Моноглицеролат цинка получали из оксида цинка и глицерина в мольном соотношении 1 : 7 при нагревании [Pat. US 4544761, 1985].

Состав полученных гидрогелей формально отвечает приведенной формуле $k\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot \text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3) \cdot (kx+6)\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot y\text{H}_2\text{O}$ ($1 \leq k \leq 4$; $0.5 \leq x \leq 10$; $20 \leq y \leq 100$), 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, лишенные 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)) 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 и последующей гомо- и гетерофункциональной конденсации (схема) в основном наиболее активного прекурсора в золь-гель процессе – тетраглицеролата кремния, образуется

полимерный пространственный каркас кремнийцинксо­держаше­го гли­це­ро­гид­ро­ге­ля, со­дер­жа­щий си­ло­ксановые груп­пиров­ки, ана­ло­гич­но об­ра­зо­ва­нию по­ли­мер­ной фа­зы крем­ний­со­дер­жа­ще­го гли­це­ро­гид­ро­ге­ля. В яче­й­ках об­ра­зо­ую­ще­го­ся про­стран­ствен­но­го кар­ка­са крем­ний­цинк­со­дер­жа­ще­го гли­це­ро­гид­ро­ге­ля на­хо­дит­ся на­но­раз­мер­ный кол­ло­ид­ный мо­но­гли­це­ро­лат цин­ка.

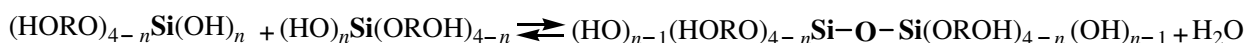
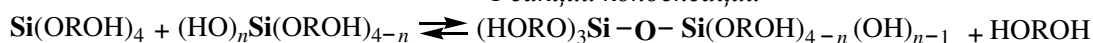
На­ми бы­ло ус­та­но­в­ле­но, что мо­но­гли­це­ро­лат цин­ка су­ще­ствен­но ус­ко­ря­ет об­ра­зо­ва­ние гид­ро­ге­лей из гли­це­ро­ла­тов крем­ния. Так, гид­ро­гель со­ста­ва $\text{Si}(\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_3)_4 \cdot 4\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3 \cdot 40\text{H}_2\text{O}$ об­ра­зо­у­ет­ся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

Схема

Реакция гидролиза



Реакции конденсации



Дан­ные ИК спек­тро­ско­пии и эле­мен­тно­го ана­ли­за под­твер­жда­ют на­ли­чие ор­га­ни­че­ской со­ста­вля­ю­щей в дис­пер­сной фа­зе крем­ний­цинк­со­дер­жа­ще­го гли­це­ро­гид­ро­ге­ля, вы­де­лен­ной ме­то­дом хо­лод­ной ис­чер­пы­ва­ю­щей экс­трак­ции аб­со­лют­ным эти­ло­вым спи­ритом. Ме­то­дом РФА до­ка­за­но на­ли­чие кри­стал­ли­че­ско­го мо­но­гли­це­ро­ла­та цин­ка (рис. 1а) в вы­де­лен­ной дис­пер­сной фа­зе крем­ний­цинк­со­дер­жа­ще­го гли­це­ро­гид­ро­ге­ля. Аморф­ная фа­за крем­ний­со­дер­жа­ще­го гли­це­ро­гид­ро­ге­ля про­яв­ля­ет­ся в ви­де га­ло (рис. 1б) и так­же при­сут­ст­вует в ком­би­ни­ро­ван­ном ге­ле.

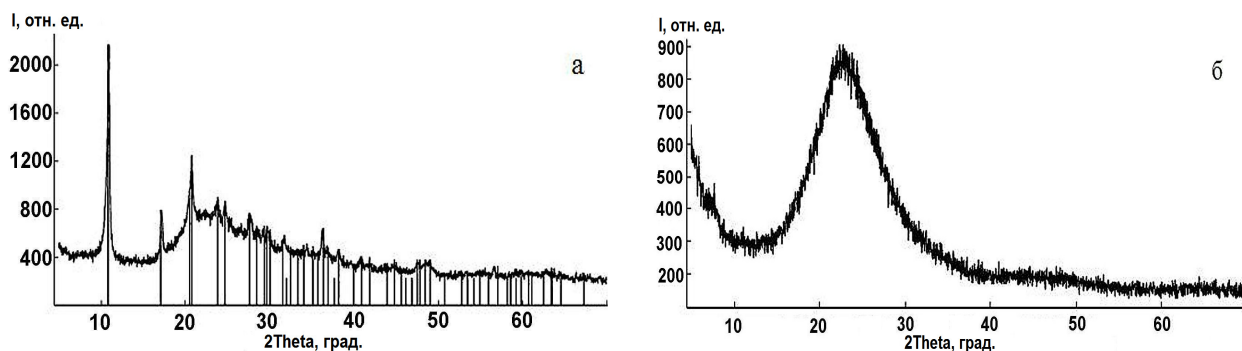


Рисунок 1 – Дифрактограммы выделенных методом экстракции твердых фаз кремнийцинк­со­дер­жа­ще­го (а) и крем­ний­со­дер­жа­ще­го (б) гли­це­ро­гид­ро­ге­лей

Об­ра­зо­ва­ние мно­го­чис­лен­ных меж­мо­ле­ку­ляр­ных свя­зей между функ­ци­о­наль­ными груп­па­ми мо­но­гли­це­ро­ла­та цин­ка и тет­ра­гли­це­ро­ла­та крем­ния, вклю­чая си­ла­ноль­ные груп­пы, об­ра­зо­ую­щие­ся в ре­зуль­та­те гид­ро­ли­за крем­ний­со­дер­жа­ще­го пре­кур­со­ра, не толь­ко ока­зы­ва­ет ус­ко­ря­ю­щее вли­я­ние на ки­не­ти­ку про­цес­са ге­ле­об­ра­зо­ва­ния, но и оп­ре­де­ля­ет мор­фо­ст­рук­ту­ру об­ра­зо­ую­ще­го 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 свойств кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля показало, что гель относится к неньютоновским жидкостям, его вязкость зависит от напряжения сдвига, реограмма течения имеет нелинейный характер. Реологический оптимум консистенции может быть 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.

3.2. Фармакологические исследования кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля

Комплекс фармакологических исследований выполнен в соответствии с Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств (под ред. А.Н. Миронова, М.: Гриф и К, 2012).

Установлено, что гель относится к малотоксичным веществам (IV класс опасности согласно ГОСТ 12.1.007-76) и не обладает местнораздражающим и аллергизирующим действием.

3.2.1. Антибактериальная активность (*in vitro*)

Антибактериальную активность геля в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов определяли методом диффузии в агар в дозе 50 мг (табл. 1). Как видно из данных таблицы, кремнийцинксодержащий глицерогидрогель обладает умеренной антибактериальной активностью, наиболее чувствительными являются грамотрицательные бактерии *E. coli* и *P. aeruginosa*, в отношении которых антибактериальная активность геля превышает линимент стрептоцида.

Таблица 1 – Величина зон угнетения роста тест-штаммов микроорганизмов для кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля
2Si(C₃H₇O₃)₄·ZnC₃H₆O₃·14C₃H₈O₃·80H₂O

Тест-штамм	Зона 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

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

Ранозаживляющую и регенерирующую активность гидрогеля изучали на модели термической травмы слизистой оболочки нижней губы у крыс популяции Wistar, разработанной на кафедре фармакологии и клинической фармакологии УГМУ. Показано, что на травмированных участках слизистой оболочки на фоне лечения кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем у всех опытных крыс эпителизация наступала ~ на 5-е сутки с тенденцией к полному восстановлению эпителия на всем протяжении очага повреждения с признаками пролиферативной

активности эпителиоцитов базального слоя. В контрольной группе (без лечения) полное заживление ран наблюдалось ~ на 7-е сутки и характеризовалось большей глубиной и степенью дистрофических изменений эпителия.

Из литературных данных известно, что моноглицеролат цинка эффективен в комплексной терапии герпес-вирусных инфекций [Pat. WO 94/02131, 1994]. Противогерпетическая активность моноглицеролата цинка может быть связана с наличием в его составе эссенциального микроэлемента цинка в биологически активной форме, который оказывает иммуностропное действие на организм человека (стимулирует выработку антител), 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 автореферата.

Таким образом, кремнийцинксодержащий глицерогидрогель нетоксичен, обладает выраженным ранозаживляющим, регенерирующим действием, а также антибактериальной активностью и может быть использован в медицинской, в частности, стоматологической практике.

Глава 4. Разработка новых фармацевтических композиций для местного применения на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля и известных иммуностропных веществ

Глава посвящена разработке новых фармацевтических композиций на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля, содержащих известные иммуностропные вещества (кремнийсодержащие композиции с иммуностропными веществами), выбору перспективного состава композиции.

Учитывая актуальность использования иммуностропных средств для местного применения, а также анализа научной и патентной литературы нами предложен и запатентован ряд фармацевтических композиций для местного лечения воспалительных заболеваний полости рта* с использованием известных иммуностропных веществ в качестве активных добавок (галавита, беталейкина, полиоксидония) и субстанции кремнийсодержащего глицерогидрогеля «Силативит» в качестве гидрофильной основы. Ранее было показано, что кремнийсодержащий глицерогидрогель, 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 проводятся клинические испытания глицерогидрогеля «Силативит» с целью внедрения в стоматологическую практику.

При разработке фармацевтических композиций исследовали фармацевтическую совместимость галавита, беталейкина, полиоксидония с

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

кремнийсодержащим глицерогидрогелем на примере модельных систем. Установлено, что исследуемые вещества совместимы с кремнийсодержащим глицерогидрогелем.

Фармацевтические композиции получали в виде мягких лекарственных форм путем смешения галавита (0,70 масс. %) либо водного раствора беталейкина (0,50 масс.%; содержание беталейкина в водном растворе 100 нг/г), либо полиоксидония (0,01 масс.%) с кремнийсодержащим глицерогидрогелем.

При изучении острой токсичности установлено, что разрабатываемые композиции не оказывают токсического воздействия на организм экспериментальных животных и, согласно ГОСТ 12.1.007-76, относятся к малотоксичным веществам (IV класс опасности), а также не обладают местнораздражающим и аллергизирующим действием.

Для выбора оптимальной фармацевтической композиции была проведена сравнительная оценка ранозаживляющей и регенерирующей активности композиций на модели термического ожога II – IIIа степени кожи крыс популяции Wistar (модель разработана на кафедре фармакологии и клинической фармакологии УГМУ), 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.*

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.

При исследовании содержания МСМ в плазме крови установлено снижение их количества в опытных группах относительно не только контрольных, но и интактных животных (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели эндогенной интоксикации

Показатели		Группа				
		интактные	контроль	кремнийсодержащие композиции с иммуностропными веществами		
				галавит (0,70 масс. %)	беталейкин (0,50 масс. % раствора)	полиоксидоний (0,01 масс. %)
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 $p < 0,05$

* Автор выражает благодарность доценту, к.б.н. Гетте И.Ф. за помощь в проведении исследований по изучению показателей эндогенной интоксикации.

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 ожоговой болезни, вызывая, кроме других нарушений, повреждение почечных клубочков и почечную недостаточность. Стоит отметить, что среди исследованных композиций наиболее благоприятные результаты были получены в случае кремнийсодержащей композиции с галавитом.

На основании фармако-технологических характеристик (с учетом экономической составляющей) эта композиция была выбрана нами для дальнейшего изучения и сравнения с кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем.

Глава 5. Сравнительная оценка иммуностропных свойств кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и фармацевтической композиции на основе кремнийсодержащего глицерогидрогеля, содержащей галавит

Глава посвящена оценке иммуностропных свойств кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля и кремнийсодержащей композиции с галавитом в эксперименте на лабораторных животных.

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 по методике, описанной Gupta с соавторами [J. Pharmacol. Toxicol., 1999, V. 41. P. 183–187].

Животные были разделены на 4 группы по 15 особей в каждой: крысам 1-й группы гидрокортизон не вводили, крысам 2–4-й групп в течение всего эксперимента ежедневно внутримышечно вводили гидрокортизон. Крысам 3-й и 4-й групп на место ранения наносили кремнийцинксодержащий глицерогидрогель и кремнийсодержащую композицию с галавитом, соответственно; животные 1-й и 2-й групп лечения не получали.

На 14-й день эксперимента полная эпителизация ран в 100% случаев наблюдалась в 1-й группе (без лечения) и 3-й группе (лечение кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем). В 4-й группе при использовании кремнийсодержащей композиции с галавитом эпителизация ран отмечена у 80% животных. У крыс 2-й группы к указанному сроку полной эпителизации не наблюдалось.

При гистологическом исследовании образцов кожи, полученных в ходе лечения, наиболее выраженная положительная динамика с улучшенными морфоструктурными показателями наблюдалась для кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля.

В иммуногистохимическом исследовании оценивали клетки с маркерами CD68 (макрофаги). Показано, что для образцов травмированной кожи, обработанных кремнийцинксодержащим глицерогидрогелем и кремнийсодержащей композицией с галавитом, значительно определяются макрофаги (CD68+), что подтверждает положительный эффект, обеспеченный топическим воздействием разрабатываемых средств 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.

Глава 6. Методы контроля качества кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля

Глава посвящена разработке методов качественного и количественного анализа кремнийцинксодержащего глицерогидрогеля, валидации методик количественного анализа кремния и цинка в геле, а также разработке проекта ФСП.

6.1. Определение подлинности

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

Наличие кремния и цинка в геле доказывают соответствующими качественными химическими реакциями. Гель предварительно прокалывают для получения смеси оксидов кремния и цинка. Затем диоксид кремния SiO_2 переводят в летучий тетрафторид кремния SiF_4 путем добавления плавиковой кислоты. Образовавшийся тетрафторид кремния SiF_4 обнаруживают по реакции помутнения капли воды, внесенной в ушко платиновой проволоки. Оксид цинка переводят в раствор хлорида цинка, который обнаруживают по образованию белого осадка сульфида цинка.

Глицерин открывают по реакции образования комплексных глицератов меди сине-фиолетовой окраски.

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).

Методика количественного определения кремния и цинка гравиметрическим методом: навеску образца прокалывают при температуре 650 °С до постоянной массы. Образующуюся смесь оксидов охлаждают, добавляют хлористоводородную кислоту (2,36 М) для перевода оксида цинка в раствор хлорида цинка; затем образовавшийся хлорид цинка удаляют фильтрованием. Осадок диоксида кремния промывают дистиллированной водой, сушат, вторично прокалывают 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 прокалывания, 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: навеску образца растворяют при нагревании в разбавленной азотной кислоте с добавлением фтористоводородной кислоты, помещают в мерную колбу объемом 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.

Для проведения анализов готовили модельные системы (№№1–3), состоящие из тетраглицеролата кремния, моноглицеролата цинка, глицерина и воды, содержащие, соответственно, 80, 100 и 120% определяемых компонентов (кремний и цинк) (аналитическая область определения) по отношению к кремнийцинксодержащему глицерогидрогелю формального состава $2Si(C_3H_7O_3)_4 \cdot ZnC_3H_6O_3 \cdot 14C_3H_8O_3 \cdot 80H_2O$. 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.

Специфичность устанавливали с помощью смесей «плацебо» по методикам, приведенным выше. В случае гравиметрического метода при анализе смеси плацебо №1 после первого прокаливания, обработки хлороводородной 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, содержащие 90 и 110% определяемых компонентов (кремний и цинк). Установлено, что методики отвечают критерию «линейность» в аналитической области определения кремния и цинка (рис. 2, 3). Кроме того, полученные коэффициенты корреляции удовлетворяют требованию $|r| \geq 0,99$, доверительные интервалы находятся в пределах 2% относительно значения определяемых величин.

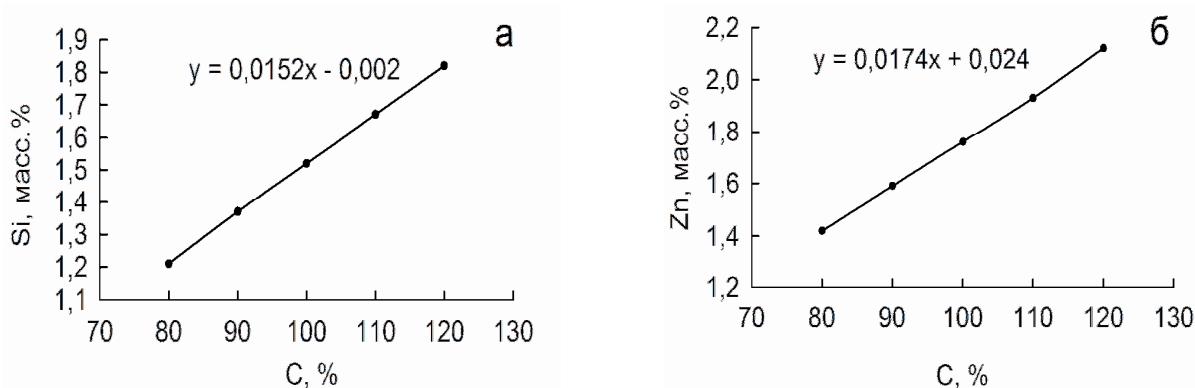


Рисунок 2 – Корреляция концентраций кремния (а) и цинка (б) и определяемого массового содержания ($R_{Si}=0,99991$; $R_{Zn}=0,99974$) гравиметрическим методом

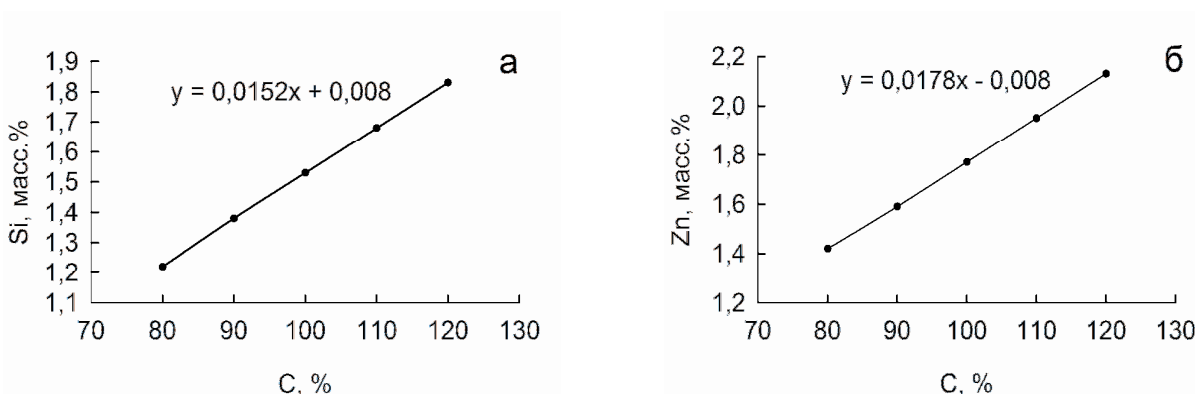


Рисунок 3 – Корреляция концентраций кремния (а) и цинка (б) и определяемого массового содержания ($R_{Si}=0,99991$, $R_{Zn}=0,99994$) методом АЭС

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 $P = 95\%$, $f = 12$).

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.

Метрологические характеристики методик количественного определения кремния и цинка в кремнийцинксодержащем глицерогидрогеле приведены в таблицах 3, 4.

Таблица 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 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 лаборатории.

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

По результатам исследований разработан проект ФСП на субстанцию тетракис(2,3-диоксипропил)-орто-силикат–1,3-диокса-2-цинка-4-циклопентилметанола глицерогидрогель (таблица 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 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 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 прилаемого ИК спектра.
	Качественная реакция на кремний	После прокаливания 0,5 г субстанции в муфельной печи при 650 °С к образовавшемуся диоксиду 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.

Продолжение таблицы 5

Подлинность	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	

Глава 7. Методы контроля качества фармацевтической композиции с галавитом на кремнийсодержащем глицерогидрогеле

В главе рассмотрены методы качественного и количественного анализа галавита в фармацевтической композиции на основе кремнийсодержащего

глицерогидрогеля, валидации методики количественного анализа, а также разработке проекта ФСП.

7.1. Определение подлинности

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. 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.

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 по полосе поглощения 297 нм, характерной для субстанции галавита.

Концентрацию галавита в надосадочной жидкости определяют из калибровочного графика. Содержание галавита (X) в разрабатываемой композиции (%) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{235,17 \times V_{mk1} \times V_{mk2} \times C \times 100}{V_{al} \times a},$$

где 235,17 – 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.

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.

На примере смеси «плацебо» показано, что методика количественного определения галавита специфична – отсутствует 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. 4). Кроме того, полученный коэффициент корреляции удовлетворяет требованию $|r| \geq 0,99$, доверительные интервалы находятся в пределах 2% относительно значения определяемой величины.

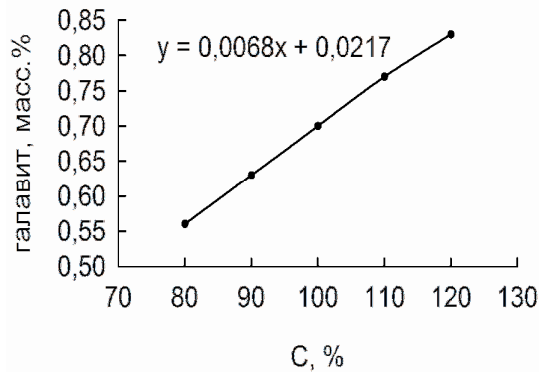


Рисунок 4 – Корреляция концентраций галавита и определяемого массового содержания ($R=0,99957$)

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 6.

Таблица 6 – 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 (таблица 7).

Таблица 7 – Спецификация. Препарат «мазь для местного применения с галавитом»

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Органолептический. ГФ XII	Гелеобразная белая непрозрачная масса без 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	45,0–80,0 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 % и не более 0,72 % галавита
Упаковка	По 30 г в в банки тёмного 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	

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, беталаейкина и полиоксидония в качестве активных иммунотропных 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».

Основные положения диссертации опубликованы в работах:

Патенты:

1. 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 (Штанько) 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). – заявл. 15.04.2011; опубл. 27.12.2012, Бюл. №36.

2. Патент 2520969 Российская Федерация, МПК С07F 7/18, С07F 3/06, А61К 31/695. Кремнийцинксодержащий глицерогидрогель, обладающий ранозаживляющей, регенерирующей и антибактериальной активностью / **Штанько И.Н.**, Хонина Т.Г., Бондарев А.Н., Шадрин 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). – заявл. 05.03.2013; опубл. 27.06.2014, Бюл. №18.

Публикации в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных для размещения материалов диссертаций:

1. Оценка безопасности и переносимости препарата «Силативит» при применении у добровольцев / Н.Д. Чернышева, А.С. Назукин, Т.Г. Хонина, **И.Н. Тосова (Штанько)** // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2011. – №4 (37). – С. 121–123.

2. 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.

3. Синтез и свойства биологически активного кремний,цинк-глицерогидрогеля / О.Н. Чупахин, А.Н. Бондарев, **И.Н. Штанько**, Т.Г. Хонина, Е.В. Шадрин, Е.А. Богданова, Л.П. Ларионов // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2014. – № 5. – С. 1219–1224.

4. 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.

Статьи в сборниках материалов конференций:

1. Тосова (Штанько), И.Н. Иммуностропное средство для местного применения с использованием галавита / **И.Н. Тосова (Штанько)**, Т.Г. Хонина, Л.П. Ларионов // «Фармация и общественное здоровье»: материалы конференции с международным участием. – Екатеринбург, 2011. – С. 29–31.

2. Нилова, М.В. Валидация методики количественного определения галавита в мягкой лекарственной форме / М.В. Нилова, **И.Н. Тосова (Штанько)**, Т.Г. Хонина // Там же. – С.56–58.

3. Тосова (Штанько), И.Н. Иммуностропные средства для местного применения на гидрофильной кремнийсодержащей основе / **И.Н. Тосова (Штанько)**, Т.Г. Хонина, Л.П. Ларионов // «Фармация и общественное здоровье»: материалы конференции с международным участием. – Екатеринбург, 2012. – С.58–60.

4. Использование моноглицеролата цинка в средствах для местного применения / **И.Н. Штанько**, Е.А. Ваневская, Т.Г. Хонина, Л.П. Ларионов // «Медицина, фармация и общественное здоровье»: материалы Евразийского Конгресса. – Екатеринбург, 2013. – С. 377–380.

5. Разработка и валидация методики количественного определения кремния и цинка в кремнийцинксодержащих глицерогидрогелях / А.Н. Бондарев, **И.Н. Штанько**, Т.Г. Хонина, Л.П. Ларионов // Там же – С. 60–63.

6. 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.

7. 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 с международным участием. – Екатеринбург, 2014. – С.471–474.

Тезисы материалов конференций:

1. Usage of glycerohydrogel «Silativit» and its compositions in the local treatment of phlogistic dental diseases / **I.N. Tosova (Shtan'ko)**, 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.

2. Тосова (Штанько), И.Н. Новое иммуностропное средство для местного применения / **И.Н. Тосова (Штанько)**, Т.Г. Хонина // Вестник уральской медицинской академической науки. – 2011. – №3 (1) : материалы II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Ученые Урала и Сибири – развитию отечественной фармации: от синтеза до инновационных лекарственных средств», Новосибирск, 2011. – С. 49.

3. Иммуностропное средство топического применения с использованием беталаейкина / **И.Н. Тосова (Штанько)**, 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.

4. 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.

5. Новый фармакологически активный кремнийцинксодержащий глицерогидрогель / **И.Н. Штанько**, А.Н. Бондарев, Т.Г. Хонина, Е.А. Ваневская // «Химия и медицина»: материалы IX Всероссийской конференции. – Уфа, 2013. – С. 125-126.

6. 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, Нижний Новгород, 2013. – С. 211.

7. 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).

8. 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.

9. 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.

10. 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.

Штанько Ирина Николаевна (Россия)
Разработка иммуотропных средств для местного применения на основе кремний- и кремнийцинксодержащих производных глицерина

Впервые синтезированы новые кремнийцинксодержащие глицерогидрогели, обладающие широким спектром фармакологической активности: ранозаживляющей, регенерирующей, антибактериальной, иммуотропной. Для геля оптимального состава изучен механизм образования и предложена его структура. Предложен ряд новых высокоэффективных средств для местного лечения воспалительных стоматологических заболеваний с использованием известных иммуотропных веществ (галавита, беталейкина, полиоксидония) и кремнийсодержащего глицерогидрогеля в качестве основы. Разработаны методики контроля качества двух наиболее перспективных для внедрения в медицинскую практику средств, проведена валидация методик количественного определения активных компонентов, разработаны соответствующие проекты ФСП.

Irina Shtan'ko (Russia)
Development of topical immunotropic preparations on the basis of silicon- and silicon-zinc-containing glycerol derivatives

Silicon-zinc-containing hydrogels with a broad spectrum of pharmacological activity such as wound-healing, regenerative, antibacterial, and immunotropic were synthesized for the first time. A mechanism of formation of the gel with optimal composition was investigated and its structure was proposed. A series of novel highly effective preparations for the topical treatment of inflammatory dental diseases using known immunotropic substances (galavit, betaleukin, polyoxidonium) and silicon-containing hydrogel as a basis was proposed. Quality control procedures for two preparations that are the most promising for introduction in medical practice were developed; the techniques for quantitative determination of active components were validated; the appropriate regulatory and technical documentation was developed.