

На правах рукописи

РГБ ОД

22 АПР 2002

СЛЮСАР

Ольга Ивановна

**РАЗРАБОТКА СОСТАВОВ И ТЕХНОЛОГИИ МЯГКИХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ
С ЛЕВОМИЦЕТИНОМ И МЕТИЛУРАЦИЛОМ**

15.00.01 - технология лекарств,
организация фармацевтического дела

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Москва - 2002 г.

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте фармации
Московской Медицинской Академии им. И. М. Сеченова

Научный руководитель:

доктор фармацевтических наук К. В. Алексеев

Официальные оппоненты:

доктор фармацевтических наук, профессор И. И. Краснюк

доктор фармацевтических наук А. К. Соболенко

Ведущая организация:

Государственный институт усовершенствования врачей

Министерства Обороны Российской Федерации

Защита диссертации состоится "15" сентября 2002 г. в ___ часов на
заседании Диссертационного совета Д 208.040.09 при Московской
Медицинской Академии им. И. М. Сеченова по адресу: г. Москва,
Никитский бульвар, д. 13

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Московской
Медицинской Академии им И.М. Сеченова (г. Москва, Зубовский бульвар, д. 1)

Автореферат разослан "___" _____ 2002 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 208.040.09,

доктор фармацевтических наук

Н. П. Садчикова

Р 271. 811, 0

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Гнойная раневая инфекция была и остается одной из самых важных проблем практической медицины, что предусматривает постоянное усовершенствование методов местного лечения ран.

Очевидный прогресс активной хирургической обработки гнойных ран не исключает традиционного метода местного медикаментозного лечения под повязкой. Накопленный большой клинический опыт, и имеющиеся экспериментальные данные неопровержимо доказывают, что местное медикаментозное лечение ран должно строиться строго в соответствии с теми процессами, которые происходят в разные стадии раневого процесса, помогая их естественному ходу, а не тормозя его.

По современным представлениям эффективное лечение гнойной раны в первой фазе обеспечивается усилением оттока из раны, некролитическим действием, подавлением микрофлоры, а во второй и третьей репаративно-восстановительных фазах - стимулированием репаративных процессов, созданием протекторного действия на растущие грануляции и защитой раны от вторичной инфекции. Используемые в клинической практике многокомпонентные мази "Левосин" и "Левомеколь", линимент "Левомицетин-Акри 5%", а также, линимент синтомицина 1%, 5%, 10%-ный, содержащие действующее вещество левомицетин (право- и левовращающие изомеры), обладающие антимикробными, осмотическими и некролитическими свойствами, сокращают сроки лечения или подготовки раны к оперативному закрытию швами или аутодермопластикой.

Однако, левомицетин по своим фармакотерапевтическим свойствам оптимален для лечения в I фазе раневого процесса, а мазевые основы, на которых разработаны его мягкие лекарственные формы плохо смешиваются с гнойным экссудатом и подходят для II (репаративно-восстановительной) фазы, что в целом снижает эффективность лекарственного препарата и не в полной мере удовлетворяют современную хирургию.

Поэтому разработка и создание новых стабильных и эффективных лекарственных средств ранозаживляющего действия, клинико-фармакологический эффект которых учитывает основные стадии течения раневого процесса, является актуальной и имеет большое социально-экономическое значение.

Цель и задачи исследования. Цель диссертационной работы – разработка и исследование геля и мази левомецетина, на современной мазевой основе с регулируемой осмотической активностью, и линимента метилурацила на гидрофильной мазевой основе, включающих редкосшитый акриловый полимер – Ареспол, и создание рациональной лекарственной формы повышающей эффективность хорошо известных лекарственных веществ, используемых при лечении ран и ожогов в первой и во второй фазах раневого процесса. Для достижения поставленной цели предусматривалось решение следующих задач:

- экспериментально-теоретически обосновать состав и разработать технологию производства мягких лекарственных форм с левомецетином и метилурацилом;
- исследовать их реологические и физико - химические свойства, стабильность в процессе хранения и фармацевтическую доступность;
- апробировать методики физико-химического и количественного анализа лекарственных препаратов;
- изучить специфическую активность и биологическую безвредность разработанных мягких лекарственных форм;
- на основании полученных результатов исследования составить нормативную документацию и представить в Фармакопейный и Фармакологический комитеты Минздрава РФ с целью получения разрешения на проведение клинических испытаний геля и мази левомецетина и линимента метилурацила.

Объекты и методы исследования. При выполнении диссертационной работы были использованы: субстанция левомецетина (ФС 42-2786-91) и метилурацила (ФС 42-2255-95), редкосшитый акриловый полимер – Ареспол

(ТУ 2219-005-29053342-97) в качестве структурообразующего компонента и носителя лекарственного вещества и другие вспомогательные вещества, соответствующие действующей в настоящее время нормативной документации и стандартам.

В диссертационной работе использовались следующие методы исследования:

- реологические - для изучения структурно-механических свойств и оценки механической стабильности мазевых основ и лекарственных препаратов;
- тонкослойной хроматографии - для подтверждения подлинности мягких лекарственных форм;
- спектрофотометрии - для количественного определения лекарственных веществ в мягких лекарственных формах;
- для биофармацевтического исследования разработанных мягких лекарственных форм использовался метод равновесного диализа через полупроницаемую мембрану;
- изучение антибактериальной активности левомицетина проводили по общепринятой методике определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам путем серийных разведений препарата, растворенного в стерильном агаре;
- биологические методы *in vivo* на моделях микробно-инфицированной (гнойно-некротической) раны, каррагенинового отека, термopоражения, химического ожога и по методу Тринуса применялись для изучения специфической активности, безвредности геля и мази левомицетина и линимента метилурацила.

Научная новизна. Впервые научно обоснованы и разработаны состав и технология геля и мази левомицетина и линимента метилурацила на основах с отечественным редкосшитым акриловым полимером – Аресполом, для лечения ран и ожогов различной этиологии. На основании исследований физико-химических свойств мазевых основ с различным содержанием полиэтиленокси-

да (ПЭО 400) и Ареспола, подобрана оптимальная система растворителей – ПЭО 400 : вода = 60 : 40, увеличивающая растворимость левомицетина и обеспечивающая условия для набухания полимера.

Выявлен пролонгированный характер высвобождения лекарственных веществ из разработанных мягких лекарственных форм, достигающий за первые пять – шесть часов максимальной концентрации в диализате, превышающей 60% и удерживающейся в течение суток.

Результаты изучения антимикробной активности геля и мази левомицетина 5% в опытах *in vitro* обнаружили у разработанных препаратов высокую антимикробную активность к возбудителям раневой инфекции, превосходящую антимикробное действие существующих линиментов синтомицина 5% и 10%, «Левомецетин - Акри» 5% и не уступающую многокомпонентной мази «Левосин», доказавшим свою клиническую эффективность.

Лечение экспериментально вызванных микробно-инфицированных ран у кроликов выявило ускоренное заживление их, по сравнению с лечением гнойных ран широко применяемыми препаратами с левомицетином и синтомицином, в среднем на шесть - семь дней. Так кожно-мышечные раны леченные мазью левомицетина 5% очищаются в среднем на шестые сутки, гелем левомицетина 5% - на восьмые, а линиментом «Левомецетин - Акри» 5% - на десятые и линиментом синтомицина 10% - на двенадцатые сутки.

На моделях каррагенинового отека, термopopажения, химического ожога и по методу Тринуса обнаружено противовоспалительное и ранозаживляющее действие линимента метилурацила 5%, при этом сроки заживления ожогов у морских свинок сокращаются на десять дней по сравнению с контролем.

Практическая значимость работы. На основании проведенных исследований разработаны и внедрены:

- состав и показатели качества геля и мази левомицетина (проект ФСІ на гель левомицетина 5% и мазь левомицетина 5% - представлены в Фармакопейный и Фармакологический комитет, письмо Департамента государственного коп-

троля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств № 291-10 / 342 от 19.02.2001 г.).

- технология получения геля и мази левомецетина (“Лабораторный регламент на производство геля левомецетина 5% и мази левомецетина 5% “ - акт наработки серийных образцов от 17.04.2001 г. ЗАО “Центральная Европейская Фармацевтическая Компания“);
- состав и показатели качества линимента метилурацила (проект ФСП на линимент метилурацила 5% - представлен в Фармакопейный и Фармакологический комитет, письмо Департамента государственного контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств № 291 – 10 / 342 от 19.02.2001 г.);
- технология получения линимента метилурацила (“Лабораторный регламент на производство линимента метилурацила 5%“ - акт наработки серийных образцов от 17.04.2001 г. ЗАО “Центральная Европейская Фармацевтическая Компания“).

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы и результаты исследований обсуждались на научно-практической конференции “Современные тенденции развития фармации “ (Самара, 1999 г.), на научно-практической конференции “Достижения и перспективы медицинской реабилитации” (Сочи, 1999 г.), на IV научно-практической конференции молодых ученых и специалистов НИИ Фармации “Современные проблемы фармации” (Москва, 1999 г.), на VII Российском национальном конгрессе “Человек и лекарство“ (Москва, 2000г), на II-ой Международной научно-практической конференции «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2001 г.).

Публикации материалов исследований. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-

исследовательских работ Федерального Государственного учреждения науки НИИ Фармации МЗ РФ (номер Государственной регистрации темы 0189. 0004246) и тематикой Проблемной комиссии по фармации № 36.08 РАМН, МЗ РФ.

На защиту выносятся следующие положения:

- результаты исследований по обоснованию состава и технологии мази и геля левомицетина и линимента метилурацила, предназначенных для лечения ран и ожогов различной этиологии, в том числе гнойно-некротических, а также воспалительных заболеваний кожи;
- результаты изучения физико-химических, реологических и биофармацевтических характеристик лекарственных форм левомицетина и линимента метилурацила;
- результаты доклинического изучения специфической активности, местно-раздражающего, сенсибилизирующего и ранозаживляющего действия на лабораторных животных геля и мази левомицетина 5% и линимента метилурацила 5%.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 268 стр. машинописного текста, содержит 4 схемы, 18 фото, 30 таблиц и иллюстрирована 37 рисунками, включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, две главы экспериментальной части, заключение, общие выводы, библиографию и приложения. Библиография включает 186 литературных источников, из которых 30 на иностранных языках.

Приложение содержит: отчеты об экспериментальном изучении раздражающего и сенсибилизирующего действия геля и мази левомицетина 5% и линимента метилурацила 5%; отчеты об изучении специфической активности мази и геля левомицетина 5% и линимента метилурацила 5%; акты о наработке серийных образцов мази и геля левомицетина 5% и линимента метилурацила 5%; проекты ФСП на мазь и гель левомицетина 5% и линимент метилурацила 5%.

Разработка состава и технологии геля и мази ранозаживляющего действия с левомецетином и линимента метилурацила

Создание высоко эффективных лекарственных средств для лечения ожогов и гнойных ран осуществляется в настоящее время по нескольким направлениям, включающим поиск новых эффективных лекарственных веществ; подбор рациональной лекарственной формы; поиск новых вспомогательных веществ и их использование с целью усиления и расширения лечебного действия существующих и хорошо известных лекарственных препаратов.

Основное медико-фармацевтическое требование к мазевым основам, предназначенным для лечения гнойных ран в I фазе раневого процесса, а также при переходе во 2 фазу - наличие у них осмотической активности, создаваемой за счет осмотически активного компонента, обеспечивающей отток гнойно-некротического отделяемого из раны, и обладающие при этом высокими атравматическими свойствами.

Известно, что с точки зрения биофармации предпочтительнее присутствие действующего вещества в растворенном виде, поэтому нами первоначально изучалась растворимость (табл.1) и осуществлялся подбор состава оптимального растворителя левомецетина в лекарственных формах.

Таблица 1.

Изучение растворимости левомецетина

Растворитель ПЭО 400 : вода	Растворимость, примечания
20 : 80	Очень мало растворим при перемешивании
30 : 70	Очень мало растворим, при охлаждении образуется кристалловидный осадок
40 : 60	Мало растворим, выпадает осадок
50 : 50	Умеренно растворим, со временем выпадает осадок
60 : 40	Легко растворим
70 : 30	Легко растворим, быстро
Вода очищенная	Нерастворим
Пропиленгликоль	Очень мало растворим при перемешивании
Спирт этиловый	Растворим
Глицерин	Практически нерастворим
ПЭО 400	Легко растворим
Пропиленгликоль : вода	Практически нерастворим

В качестве растворителей использовали воду очищенную, пропиленгликоль, спирт этиловый, ПЭО 400, а также бинарную систему вода : ПЭО 400 с различными соотношениями компонентов. Проведенные исследования показали, что антибиотик хорошо растворим в спирте этиловом 95° и бинарных смесях, где содержание ПЭО более 50%. В ходе исследований было отмечено, что введение лекарственного вещества в основу, содержащую этанол приводит к выкристаллизации препарата, а при концентрации ПЭО более 80% наблюдается разжижение мазевой основы. В результате выбрали систему: ПЭО 400 – вода = 60:40.

Способность полимера к набуханию - фактор, определяющий перевод полимера в гелеобразное состояние, в связи с этим, изучали набухающую способность структурообразователя-Ареспола в оптимальных системах растворителей для левомицетина (рис.1).

Кинетика набухания Ареспола

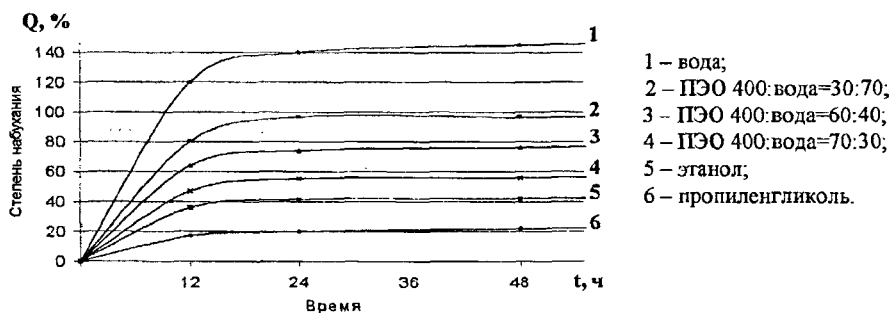


Рис. 1.

Кривые 2 – 6 наглядно демонстрируют, что при замене воды на ПЭО ухудшаются условия структурообразования, что объясняется взаимодействием дифильных молекул ПЭО 400 с полярными группами полимера, а также в результате изменения свойств воды как растворителя в присутствии органических молекул. При увеличении концентрации ПЭО скорость набухания полимера замедляется и степень набухания уменьшается, что затрудняет процесс получения геля. В спиртовых растворах загущающая способность Ареспола тоже умень-

шается. При содержании воды выше 50% полимер максимально набухает, что свидетельствует о свойствах сополимера, обладающего высоким сродством к воде, вызывать разрушение сольватной оболочки вокруг левомицетина. Однако антибиотик в данной системе выкристаллизовывается, что приводит к получению лекарственной формы, содержащей лекарственное вещество в суспензионном виде. По результатам эксперимента оптимальной является система растворителей ПЭО 400 : вода = (60 : 40), в которой максимально растворяется левомицетин и обеспечиваются оптимальные условия для набухания полимера.

Отличительным свойством разработанной основы является сохранение гелевой структуры на ране, что обусловлено высокой загущающей способностью полимера. За счет введения в состав геля и мази ПЭО 400 в концентрации 60% обеспечивается регулирование дегидратирующего действия, что позволяет использовать лекарственные препараты на ранах различной тяжести в первой фазе раневого процесса, а также при переходе из первой во вторую фазу.

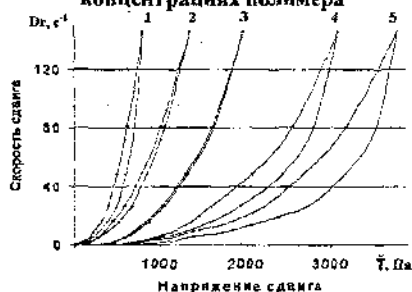
Реологические исследования (касательного напряжения сдвига, эффективной вязкости, механической стабильности и коэффициента динамического разжижения) гидрогелей Ареспола с различным содержанием сополимера показали, что с увеличением концентрации Ареспола с 1% до 2% происходит увеличение площади “петель гистерезиса”; это свидетельствует о возрастающей глубине структурообразования в системе с увеличением концентрации. Узкая “петля гистерезиса” свидетельствует о малом времени релаксации напряжений и о проявлении слабых взаимодействий межмолекулярных структурообразующих сил. Присутствие восходящих и нисходящих кривых “петли гистерезиса” (рис.2) говорит о том, что исследуемые образцы обладают слабыми тиксотропными свойствами, характеризующими хорошую намазываемость, способность к выдавливанию из туб и высокую стабильность разрабатываемых лекарственных препаратов.

Одним из факторов, влияющих на структурообразование гелевых систем на основе полимера, является степень нейтрализации и тип нейтрализующего

агента. Путем нейтрализации гидрогелей Ареспола могут быть реализованы любые промежуточные формы макроионов, что позволяет получать системы с заранее определенными свойствами.

С ростом степени нейтрализации наблюдается повышение значений эффективной вязкости, что связано с увеличением гидродинамического объема набухших полимерных частиц. Максимальные значения эффективной вязкости для образцов № 1 и № 3 отмечены при эквидермальном pH (рис.3). Наблюдаемое отличие при использовании нейтрализующих агентов объясняется различным механизмом нейтрализации, приводящим к разрушению внутримолекулярных связей.

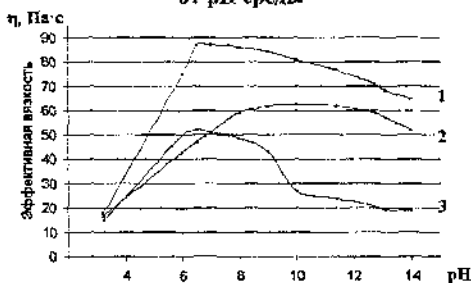
Реограммы течения гелевых систем на основе Ареспола при разных концентрациях полимера



Концентрация Ареспола: 1 - 0,5%; 2 - 0,8%; 3 - 1%;
4 - 1,5%; 5 - 2%.

Рис. 2.

Зависимость эффективной вязкости от pH среды



1 - гидрогель Ареспола 1%, нейтрализованный NaOH;
2 - гидрогель Ареспола 0,5%, нейтрализованный ТЭА;
3 - гидрогель Ареспола 0,5%, нейтрализованный NaOH

Рис. 3.

Слабо кислая или нейтральная реакция мазевых основ, по мнению клиницистов, способствует заживлению ран, так как умеренная кислотность в ране благоприятно воздействует на ферментные системы, фагоцитоз и усиливает бактерицидные свойства раневых коллоидов.

Учитывая, что при переходе раневого процесса во вторую репаративно-восстановительную фазу необходимо более мягкое воздействие лекарственного препарата и стимулирование роста грануляций, в состав мази левомецитина и линимента метилурацила вводили активный ранозаживляющий компонент -

масло касторовое. В результате проведенных исследований обнаружено, что введение масляной фазы в эмульсионную систему выше 10% ведет к увеличению эффективной вязкости и структурной стабильности препарата (рис.4).

Результаты изучения зависимости влияния количества полимера и масляной фазы, типа нейтрализующего агента на реологические характеристики и структурную стабильность образцов мягких лекарственных форм, позволили подобрать их оптимальные составы, представленные в табл. 2.

Логарифмическая зависимость эффективной вязкости эмульсионных систем от градиента скорости сдвига

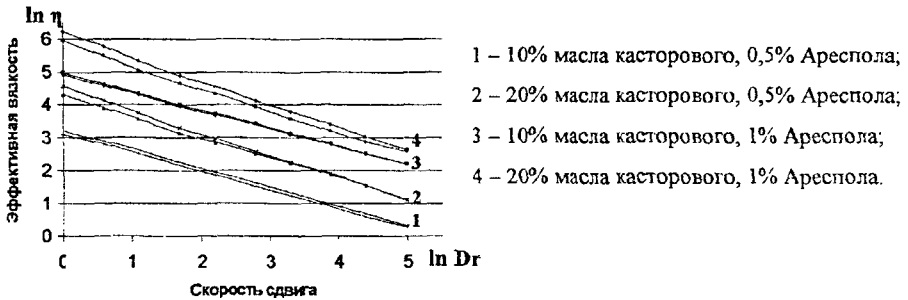


Рис. 4.

Таблица 2.

Состав мягких лекарственных форм ранозаживляющего действия

Наименование компонента	Гель левомецетина	Мазь левомецетина	Линимент метилурацила
Левомецетин	5,0	5,0	—
Метилурацил	—	—	5,0
Ареспол	1,0	1,0	0,5
Триэтаноламин (ТЭА)	до pH = 5,5 ÷ 7,5		—
Натрия гидроксид	—	—	до pH = 5,5 ÷ 7,5
ПЭО 400	60	60	—
Твин-80	—	1,0	0,5
Масло касторовое	—	10,0	10,0
Нипагин	—	—	0,08
Нипазол	—	—	0,02
Вода очищенная	до 100,0	до 100,0	до 100,0

Представляю интерес изучить, соответствуют ли вязкостные параметры разработанных мягких лекарственных форм реологическому оптимуму намазываемости гидрофильных систем (при 34°C) и оптимуму консистенции при 20°C, разработанному Л.А. Аркушей (1982 г.), который характеризует легкость нанесения мази на кожу и экструзии из туб. Значения эффективной вязкости разработанных препаратов соответствуют реологическому оптимуму консистенции для гидрофильных систем, однако нисходящий участок кривой геля и линимента несколько выходит за его границы (рис.5). Это связано с особенностями гелеобразующей мазевой основы, которая не меняет своих вязкостных характеристик при нагревании до температуры кожи, тогда как для большинства существующих мазей характерно снижение эффективной вязкости.

Антимикробную активность препаратов изучали *in vitro* методом диффузии в агар с применением 18-ти часовой культуры основных возбудителей гнойно-раневой инфекции. После 24 часового инкубирования в термостате при 37°C производили замеры зон задержки роста тест - культур микроорганизмов (табл.3).

Реограммы течения, характеризующие экструзию из туб в сопоставлении с оптимумом для гидрофильных систем

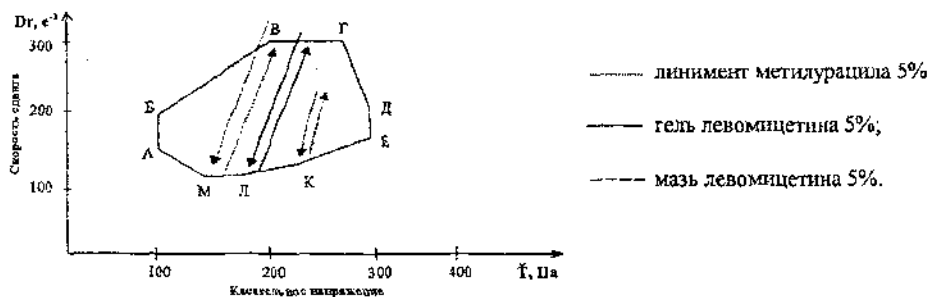


Рис. 5.

Антимикробная активность исследуемых препаратов

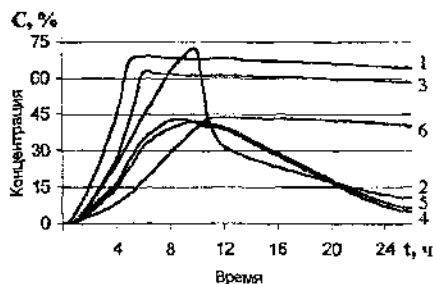
Объект исследования	Диаметр зон задержки роста тест-культур, мм			
	St. Aureus	Ps. aeruginosa	E. coli	Pr. Vulgaris
Мазь левомецетина 5%	36±3	13±2	35±2	33±3
Гель левомецетина 5%	39±3	12±2	33±3	40±2
Гелевая основа	11±2	9±2	10±3	10±2
“Левомецетин – Акри” 5%	30±2	11±2	33±3	31±2
Линимент синтомицина 5 %	29±2	9±2	28±2	32±2
Линимент синтомицина 10 %	30±3	11±2	30±3	30±2
Мазь “Левосин”	31±3	13±2	31±4	33±2
Линимент метилурацила 5 %	10±2	12 ± 2	9 ± 3	10 ± 2
Мазь метилурацила 10 %	8 ± 2	6 ± 2	7 ± 2	8 ± 2

Проведенные испытания позволяют говорить о наличии у разработанных мягких лекарственных форм левомецетина достаточно высокой антимикробной активности в опытах *in vitro* к возбудителям раневой инфекции, превосходящей антимикробное действие существующих линиментов “Левомецетин - Акри” 5% и синтомицина 5%, не уступающей линименту синтомицина 10% и многокомпонентной мази “Левосин” на гидрофильной основе.

Сравнительная динамика высвобождения действующего вещества из исследуемых образцов мягких лекарственных форм позволяет утверждать, что подобранный состав способствует более пролонгированному высвобождению лекарственного вещества, и при введении левомецетина в растворенном виде (в смеси растворителей H₂O : ПЭО 400 = 40 : 60) в гель Арспола, по сравнению с лекарственным веществом, введенным по типу суспензии, повышается фармацевтическая доступность действующего вещества (рис.6).

Полнота высвобождения из разработанного геля левомецетина 5% выше, чем у линимента синтомицина 5% и 10% примерно на 26% и 24% соответственно и из геля левомецетина, введенного по типу суспензии примерно 1,8 раза; для мази левомецетина 5% по сравнению с линиментом синтомицина 5% и 10% - примерно на 21% и 19% соответственно и по сравнению с гелем левомецетина, введенного по типу суспензии – примерно в 1,6 раза.

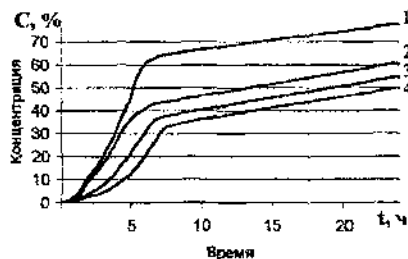
Сравнительная кинетика высвобождения левомецетина из мягких лекарственных форм



- 1 — гель левомецетина 5%;
- 2 — линимент "Левомецетин - Акри" 5%;
- 3 — мазь левомецетина 5%;
- 4 — линимент синтомитрона 5% (Акрихин);
- 5 — линимент синтомитрона 10% (Нижфарм);
- 6 — гель с введением левомецетина 5% по типу суспензии.

Рис. 6.

Кинетика высвобождения метилурацила из линиментов и мазей метилурацила (Нижфарм и Акрихин)



- 1 — линимент метилурацила 5% с 10% касторового масла;
- 2 — линимент метилурацила 5% с 20% касторового масла;
- 3 — мазь метилурацила 10% (Нижфарм);
- 4 — мазь метилурацила 10% (Акрихин).

Рис. 7.

Для линимента "Левомецетин - Акри" 5% отмечено, что полнота высвобождения действующего вещества к десяти часам эксперимента составляет 72%, а затем происходит резкое снижение концентрации лекарственного вещества и к 24 часам составляет 12%.

По результатам изучения кинетики высвобождения метилурацила (рис.7) из линиментов и мазей в опытах *in vitro*, можно сделать вывод, что наиболее полное высвобождение действующего вещества из линимента метилурацила 5% с содержанием касторового масла 10% достигается к шестому часу (~68%).

Сравнительная динамика высвобождения лекарственного вещества из исследуемых образцов линиментов и мазей позволяет утверждать, что полнота высвобождения из образца линимента метилурацила с содержанием касторового масла 10% выше, чем из образцов мазей метилурацила ОАО "Нижфарм" и ОАО "Акрихин", примерно в два и 2,3 раза соответственно, хотя концентрация лекарственного вещества в разработанном линименте в два раза меньше.

Результаты проведенных исследований позволили предложить и апробировать в ЗАО «Центрально-Европейская Фармацевтическая Компания» рацио-

нальную технологическую схему производства мягких лекарственных форм ранозаживляющего действия. Принципиальная технология разработанной мази левомецетина заключается во введении лекарственного вещества в виде раствора в гидрогель Ареспола, нейтрализованный триэтаноломином, в добавлении масляной фазы, эмульгатора, последующем перемешивании и гомогенизации, фасовки и стерилизации.

При изучении стабильности ранозаживляющих препаратов в сроки, соответствующие каждым 0,5 года хранения, оценивали качество препаратов по следующим показателям: внешний вид, рН 10% водного раствора, подлинность, количественное содержание лекарственного вещества и микробиологическая чистота.

Результаты анализа препаратов одной серии представлены в табл. 4 и свидетельствуют о стабильности разработанных мягких лекарственных форм в течение всего срока хранения и позволяют установить срок годности препаратов – два года.

Доклиническое изучение ранозаживляющих препаратов на лабораторных животных

При изучении специфической активности на базе экспериментальной лаборатории ГВКГ им. акад. Н.Н. Бурденко разработанных мази и геля левомецетина 5% на модели микробно-инфицированной некротизированной кожно-мышечной раны у кроликов породы Шиншилла обнаружено, что раны у животных при лечении разработанными мягкими лекарственными формами заживали в среднем на шесть – семь дней раньше, чем при использовании широко известных препаратов с левомецетином и синтомицином, служивших образцами сравнения (табл. 5, 6).

Результаты анализа лекарственных форм в процессе хранения

Срок хранения 2 года	Описание	Подлинность		pH от 5,5 до 7,5	Однородность	Посторонние примеси	Масса содержимого упаковки		Количественное содержание, % от 4,75 до 5,25	Микробиологическая чистота *	Примечания		
		ТСХ	УФ-спектроскопия				Контурная упаковка от 9,6 до 10,4 г	Тубы от 28,8 до 31,2 г					
			минимум при 237±2 нм для геля и мази, при 231±2 нм для линимента									максимум при 278±2 нм для геля и мази, при 260±3 нм для линимента	
нач 6 мес 1 год 1 г 6 м 2 года 2 г 6 м	Мазь левомецетина белого или белого с желтоватым оттенком цвета, со специфическим запахом	Зона адсорбции на уровне левомецетин-стандарта не должна отличаться по интенсивности окрашивания и размерам	238,9 238,8 238,8 238,7 238,7 238,7	279,5 279,5 279,4 279,4 279,4 279,4	6,1 6,1 6,1 6,0 6,0 6,0	Однородны	Не более трёх посторонних пятен (не более 0,5 % каждой примеси)	9,8	29,8	4,98	Соответствуют требованиям ГФ XI и дополнениям	Соответствуют проекту ФСП	
нач 6 мес 1 год 1 г 6 м 2 года 2 г 6 м	Прозрачный гель левомецетина светлого желтого цвета со специфическим запахом		238,9 238,9 238,9 238,8 238,7	278,5 278,5 278,4 278,4 278,4	6,0 6,0 6,0 5,9 5,9			9,9 9,9 9,9 9,9 9,8	29,8 29,8 29,8 29,7 29,7	5,05 5,05 5,04 5,04 5,03			
нач 6 мес 1 год 1 г 6 м 2 года 2 г 6 м	Линимент метилурацила - однородная масса без механических включений, белого цвета и со специфическим запахом	Зона адсорбции на уровне метилурацил-стандарта (Rf 0,48) не должна отличаться по интенсивности окрашивания и размерам	229,9 229,9 229,8 229,8 229,7	260,4 260,4 260,4 260,3 260,3	7,0 7,0 6,9 6,9 6,8			На хроматограмме должно быть только одно пятно	9,8	29,8			5,05
6 мес		229,9	260,4	7,0	9,8				29,8	5,04			
1 год		229,8	260,4	6,9	9,8				29,8	5,03			
1 г 6 м		229,8	260,3	6,9	9,7				29,7	5,03			
2 года		229,8	260,3	6,9	9,7				29,7	5,03			
2 г 6 м		229,7	260,3	6,8	9,7				29,7	5,03			

Примечание: * В связи с Изменением №2 к статье Госфармакопей XI издания « Методы микробиологического контроля лекарственных средств» (ГФ XI, вып.2, с.187) от 01.01.2002 г., в ходе дальнейших исследований перед предстоящими клиническими испытаниями необходимо провести повторное микробиологическое исследование разработанных мягких лекарственных форм.

Динамика раневого процесса у кроликов в ходе лечения

Критерии, характеризующие раневой процесс.	Лекарственные препараты				
	Гель левомецетина 5%	Мазь левомецетина 5%	Линимент левомецетина 5% Акри	Линимент синтомицина 10%	контроль
Количество гнойного отделяемого	1,0 мл на 4 ^{ый} день	1,0 мл на 3 ^{ий} день	2,0 мл на 5 ^{ый} день	2,0 мл на 6 ^{ой} день	~3,0 мл на 12 ^{ый} день
Воспалительная реакция в ране и окружающих тканях	Воспаление по всей толще некратизированных тканей на 3 ^{ий} сутки		Воспален. лимфоузла	Отечность значительная	Воспаление по всей толще некратизированных тканей
Сроки появления грануляций	4 ^{ые} сутки	3 ^{ьи} сутки	5 ^{ые} сутки	7 ^{ые} сутки	8 ^{ые} сутки
Время появления эпителизации	8 ^{ые} сутки	6 ^{ые} сутки	9 ^{ые} сутки	10 ^{ые} сутки	12 ^{ые} сутки
Сроки очищения раны от гнойного детрита	8 ^{ые} сутки	6 ^{ые} сутки	10 ^{ые} сутки	12 ^{ые} сутки	>13 ^{ые} сутки
Сроки заживления раны	21 ^{ые} сутки	18 ^{ые} сутки	24 ^{ые} сутки	28 ^{ые} сутки	30 ^{ые} сутки

19

Таблица 6.

Динамика заживления ран у кроликов на фоне проводимого лечения

Используемые лекарственные препараты	Площадь раневой поверхности (см ²) в различные сроки эксперимента (сут)						
	3	6	9	12	18	21	25
Гель левомецетина 5%	16,1 ± 1,3	13,0 ± 1,2	10,4 ± 1,0	8,6 ± 0,7	3,2 ± 0,3	0	0
Мазь левомецетина 5%	14,4 ± 1,2	8,7 ± 1,3	5,5 ± 0,8	3,0 ± 0,5	0	0	0
“Левомецетин – Акри” 5%	17,9 ± 1,3	15,2 ± 1,2	13,1 ± 1,1	10,7 ± 0,9	6,1 ± 0,4	2,9 ± 0,2	0
Линимент синтомицина 10%	21,1 ± 1,3	19,7 ± 1,1	17,4 ± 1,1	12,6 ± 0,8	7,8 ± 0,3	4,3 ± 0,3	0,5 ± 0,2
Спонтанное заживление ран	23, ± 1,4	20,3 ± 1,2	17,5 ± 1,2	13,6 ± 1,0	9,3 ± 0,5	6,8 ± 0,4	3,4 ± 0,2

В течение первых трех суток после микробного инфицирования ран бактериальная обсемененность их превышает критический уровень несмотря на лечение. К шестым суткам бактериальная обсемененность ран леченных препаратами левомецетина достигает критического уровня адекватности очищения, в то время как в контрольной группе и при лечении линиментом синтомицина этот уровень достигается лишь на двенадцатые сутки.

Разработанные препараты с левомецетином обладают антимикробным действием в отношении основных представителей микрофлоры ран. Применение их при местном лечении ран поддерживает микробную обсемененность на уровне ниже критического. Использование геля и мази возможно на всех этапах развития раны при поверхностных и глубоких поражениях, что расширяет арсенал средств антимикробной защиты при различных ранах и ожогах.

Изучение ранозаживляющего действия линимента метилурацила на модели ожоговой травмы морских свинок показало, что полное заживление наступало на двадцатые сутки после ожога, а у интактных животных площадь раны уменьшалась медленно и полное заживление наступало лишь к 31 суткам после нанесения ожога (табл. 7).

Целенаправленное исследование возможной острой и хронической токсичности разработанных мягких лекарственных форм на морских свинках, позволило сделать вывод об отсутствии токсического влияния геля и мази левомецетина 5% и линимента метилурацила 5% на организм животных.

Изучение раздражающего и сенсибилизирующего действия разработанных ранозаживляющих препаратов на организм и кожу морских свинок подтверждает их безвредность. Проницаемость капилляров и рН кожи на участках длительного нанесения мазей находились в пределах нормы.

Динамика заживления ран у морских свинок

Группа животных	Средняя площадь ран (мм ²) на разные сроки эксперимента (сутки)							Средний срок заживления ран, сутки
	3	5	10	15	20	23	26	
Линимент метилурацила 5%	312,5 ± 17,2	184,8 ± 13,4	21,6 ± 8,9	3,0 ± 1,0	0	0	0	20
Мазевая основа	320,5 ± 21,2	242,3 ± 17,1	84,5 ± 13,2	42,7 ± 9,1	16,1 ± 4,6	5,3 ± 1,4	0	26
Контроль	370,0 ± 19,2	341,2 ± 18,1	225,7 ± 9,6	100,7 ± 7,3	39,4 ± 5,5	28,6 ± 3,2	17,4 ± 2,1	31

Гистоморфология кожи морской свинки при изучении сенсibilизирующего действия разработанных мягких лекарственных форм

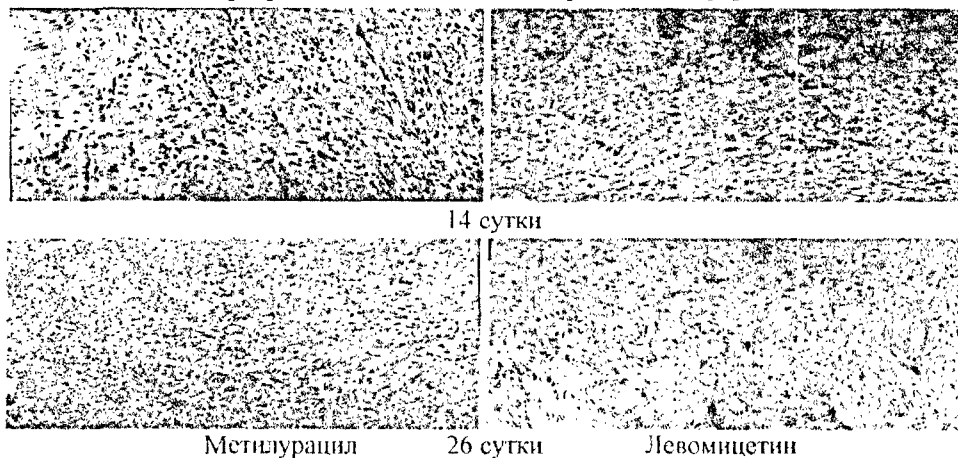


Рис. 8

Гистоморфологические исследования кусочков кожи морских свинок (рис. 8) с участков, подвергшихся воздействию препаратов в течение 26 дней, показали, что у животных реакция кожи на длительное нанесение была минимальной, признаки сенсибилизации отсутствовали.

Разработанные мягкие лекарственные формы левомецетина и метилурацила, как было подтверждено при проведении доклинических испытаний на лабораторных животных, хорошо наносятся и равномерно распределяются по ране даже без применения тампонов и марлевых салфеток. Кроме того, препараты обладают осмотической активностью, что благоприятно сказывается при лечении загрязненных ран, когда лекарственные формы действуют как вымывающее и очищающее средство.

Результаты проведенных доклинических испытаний представлены в Фармакологический комитет МЗ РФ с целью получения разрешения на проведение клинических испытаний.

Выводы

1. Теоретически и экспериментально путем изучения реологических параметров гелевых систем на основе Ареспола подобраны составы и разработаны технологии получения стабильных мягких лекарственных форм ранозаживляющего действия - геля левомецетина 5% и мази левомецетина 5% применительно к I фазе течения раневого процесса и линимента метилурацила 5% - для II репаративно-восстановительной фазы, в которых подобрана основа, обеспечивающая комплекс необходимых структурно-механических и медико-биологических свойств разработанных препаратов в соответствии с их терапевтическим действием.

2. Методом ротационной вискозиметрии выявлена зависимость структурно-механических свойств ранозаживляющих препаратов (эффективная вязкость, структурная стабильность, касательное напряжение сдвига, коэффициенты ди-

намического разжижения) от концентрации полимера и масляной фазы, pH растворов и установлено, что разработанные мазь и гель левомецетина 5% и линимент метилурацила 5% обладают оптимальными реологическими параметрами: касательное напряжение сдвига 125 ± 250 Па при скорости сдвига 115 ± 295 с⁻¹.

3. Изучение фармацевтической доступности разработанных геля и мази левомецетина 5% и линимента метилурацила 5% методом равновесного диализа показало, что высвобождение лекарственных веществ носит пролонгированный характер, достигая максимальной концентрации лекарственного вещества в диализате: 67% к пятому часу – для геля левомецетина, 62% к шестому часу – для мази левомецетина, 68% к шестому часу – для линимента метилурацила, и удерживается на этом уровне в течение суток.

4. Стандартизация ранозаживляющих мягких лекарственных форм включает: качественный анализ препаратов методом тонкослойной хроматографии (в системе 95% этанол : вода очищенная в соотношении 1 : 1), количественное определение левомецетина и метилурацила апробированным методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 278 нм и 261 нм соответственно. Относительная ошибка среднего результата при $P=95\%$ и $n=10$ составила: в геле – 1,16%; в мази – 1,20%; в линименте – 0,90%, что находится в пределах допустимой погрешности спектрофотометрического метода.

5. Проведенные микробиологические исследования и изучение антимикробного действия разработанных мягких лекарственных форм в отношении основных возбудителей гнойных осложнений ран выявили антимикробное действие в отношении *St. aureus*, *E. coli*, и *Pr. vulgaris*, и низкую чувствительность *Ps. Aeruginosa* к этим препаратам. Сравнительный анализ антимикробной активности разработанных и выпускаемых фармацевтической промышленностью препаратов с левомецетином, понижается в ряду: мазь левомецетина 5% на основе с Аресполом, гель с левомецетином 5% на той же основе, мазь “Левосин”, линимент “Левомецетин-Акри” 5%, линимент синтомицина 10%, линимент синтомицина 5%.

6. На моделях микробно-инфицированной (гноино-некротической) раны, каррагенинового отека, термopожжения, химического ожога и по методу Три-нуса определена специфическая активность геля и мази левомецетина 5% и линимента метилурацила 5%. Установлено, что разработанные препараты обладают выраженными противовоспалительным, антиэкссудативным и ранозаживляющим действиями.

Изучение безвредности геля и мази левомецетина и линимента метилурацила показало, что препараты не обладают токсическим, местнораздражающим, сенсибилизирующим и парааллергизирующим действием.

7. Разработаны проекты ФСП на мазь и гель левомецетина 5%, линимент метилурацила 5% и нормативная документация, направлены в Фармакопейный и Фармакологический комитеты МЗ РФ для получения разрешения на проведение клинических испытаний.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

1. Алексеев К.В., Калмыкова Т.П., Суслина С.Н., Слюсар О.И., Поправка С.Н. Фитопрепараты при лечении ран различной этиологии. // Актуальные проблемы медицинской реабилитации / Достижения и перспективы медицинской реабилитации: Сборник научных трудов, посвященный 65-летию военного санатория "Чемитоквад-же". / Под общей ред. Иванова В.Н., Голова Ю.С., Сапроненкова П.М. — М.: Институт реабилитологии и восстановительной медицины РАЕН, 1999. - с. 215-217.
2. Суслина С.Н., Стародубова М.В., Слюсар О.И., Алексеев К.В. Разработка составов и технологии противовоспалительных, ранозаживляющих мазей на основе Ареспола. // Тез. докл. научн.-практ. конф., посвященной 80-летию фарм. факультета Самарского ГМУ. - Самара, 1999. - С. 35-36.
3. Алексеев К.В., Коновалов В.Я., Слюсар О.И., Суслина С.Н., Стародубова М.В. Перспективные противовоспалительные препараты для заживления ран. // Военно-медицинский журнал. - 2000. - №1. - Т. 321. - С.85-86.
4. Алексеев К.В., Суслина С.Н., Стародубова М.В., Слюсар О.И. Ареспол - новое вспомогательное вещество в технологии мазей. // Тез. докл. VII конгресса "Человек и лекарство" - М., 2000. - С. 598.
5. Слюсар О.И., Калмыкова Т.П., Алексеев К.В., Бессарабова А.Г., Колосова Г.В. Разработка состава и исследование геля левомецетина 5%. // Биомедицинские технологии. / Труды межведомственного научно-исследовательского и научно-методического центра биомедицинских технологий. - М., 2000. - С. 103 - 105.
6. Слюсар О.И., Суслина С.Н., Иванова М.В. Разработка оптимального состава линимента метилурацила. / Сб. "Современные проблемы фармации". Материалы 4-й ежегодной научной конференции молодых ученых, посвященной памяти

М.Т. Алюшина. НИИ Фармации. - Деп. ГЦНМБ, №Д-26.485. - М., 2000. - С. 225-232.

7. Слюсар О.И., Суслина С.Н., Колосова Г.В. Подбор растворителя и выбор оптимального состава геля левомицетина. / Сб. "Современные проблемы фармации". Материалы 4-й ежегодной научной конференции молодых ученых, посвященной памяти М.Т. Алюшина. НИИ Фармации. - Деп. ГЦНМБ, №Д-26.485. - М., 2000. - С. 215 - 224.

8. Суслина С.Н., Стародубова М.В., Слюсар О.И., Алексеев К.В. Изучение реологических параметров эмульсионных систем на основе Аресполо. // "Фармация на современном этапе - проблемы и достижения". Сб. науч. тр. НИИ Фармации - М., 2000. - Т. XXXIX. - Ч.1. - С. 303-308.

9. Алексеев К.В., Слюсар О.И., Калмыкова Т.П., Колосова Г.В. Разработка мягких лекарственных форм ранозаживляющего действия с левомицетином. // Актуальные проблемы диагностики и восстановления профессионального здоровья : Сборник научных трудов, посвященный 10-летию 6 ЦВКГ МО РФ./ Под общей ред. Иванова В.Н., Шакулы А.В. — М.: 6 ЦВКГ МО РФ, 2001. - С. 172 - 173.

10. Алексеев К.В., Слюсар О.И., Стародубова М.В., Суслина С.Н., Колосова Г.В. Современные вспомогательные средства в технологии мягких лекарственных форм ранозаживляющего действия. // Актуальные проблемы диагностики и восстановления профессионального здоровья : Сборник научных трудов, посвященный 10-летию 6 ЦВКГ МО РФ./ Под общей ред. Иванова В.Н., Шакулы А.В.— М.: 6 ЦВКГ МО РФ, 2001. - С. 170 - 172.

11. Алексеев К.В., Слюсар О.И., Филатов В.В., Горячева И.А., Машенко Г.И., Тихонов Ю.Г., Гусарова Т.А.. Новые препараты для местного лечения ран. // Военно-медицинский журнал. - 2001. - №1. - Т. 322. - С.73.

12. Слюсар О.И. Изучение фармацевтической доступности лекарственного вещества в мягких лекарственных формах с левомицетином. // Материалы II Российской конференции молодых ученых "Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины". - М., 2001. - С. 243.

13. Слюсар О.И. Исследование структурно-механических свойств линимента метилурацила 5% на основе с редкосшитым акриловым полимером. // Материалы II Российской конференции молодых ученых "Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины". - М., 2001. - С. 243.

14. Слюсар О.И., Алексеев К.В. Новые ранозаживляющие препараты левомицетина. // Материалы II научно-практич. конф. "Здоровье и образование в XXI веке". - М., 2001. - С. 167.

15. Слюсар О.И., Алексеев К.В., Машенко Г.И., Гусарова Т.А. Доклинические исследования мази и геля левомицетина 5% на гидрофильных основах с Арссполом. // Материалы II научно-практич. конф. "Здоровье и образование в XXI веке". - М., 2001. - С. 167.

16. Стародубова М.В., Багирова В.Л., Слюсар О.И., Захарова Г.В., Алексеев К.В. Разработка нормативной документации на новые мягкие лекарственные формы на основе Аресполо. // Тез. докл. VIII конгресса "Человек и лекарство" - М., 2001. - С. 711 - 712.

Слюсар