Казахский национальный университет имени аль-Фараби

УДК 661.12

На правах рукописи

АБИЛОВА ГУЗЕЛЬ КАБИЛЕТОВНА

Разработка технологии получения гидрогелевых лекарственных форм и повязок

6D072100 – «Химическая технология органических веществ»

Диссертация на соискание доктора философии (PhD)

Отечественный научный консультант:
кандидат химических наук,
ассоц. профессор
Ирмухаметова Г.С.

Зарубежный научный консультант:
Professor, PhD
Vitaliy V. Khutoryanskiy
(University of Reading, United Kingdom)

Республика Казахстан
Алматы, 2019

СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ ……..…. 4
ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ ……..……... 5
ВВЕДЕНИЕ …….. 6
1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ ……..……. 11
1.1 Полимеры для создания лекарственных форм ……..……. 11
1.1.1 Хитозан. Свойства и его применение в биомедицине ……..……. 14
1.2 Полимерные лекарственные формы и их применение ……..…… 17
1.2.1 Мукоадгезивные лекарственные формы на основе хитозана …..…. 19
1.2.2 Гидрогелевые раневые повязки на основе хитозана ……..…… 21
1.3 Промышленные методы синтеза гидрогелевых лекарственных форм ……..….. 30
2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ ……..….... 33
2.1 Характеристика исходных веществ ……..….... 33
2.2 Приготовление растворов ……..….... 34
2.2.1 Приготовление исходной реакционной смеси для синтеза гидрогелей на основе хитозана……...…...…….…….. 34
2.2.2 Приготовление пленкообразующих растворов полимеров…...……. 34
2.2.2 Приготовление физиологических растворов и раствора лекарственного вещества..……..……... 34
2.3 Синтез гидрогелей на основе хитозана ……....…… 35
2.4 Формование полимерных пленок на основе хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин) ……... 35
2.5 Получение термически сшитых пленок основе хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин) …….. 35
2.6 Физико-химические методы исследования …….……..... 36
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ …… 43
3.1 Радиационный синтез гидрогелей на основе хитозана и их физико-химическая характеристика ……..…… 43
3.1.1 Закономерности формирования гидрогелей на основе хитозана...… 43
3.1.2 Характеристика гидрогелевых повязок на основе хитозана.……. 50
3.2 Исследования взаимодействия хитозана с поли(2-этил-2-оксазолином), получение и характеристика пленочных материалов на их основе ……... 59
3.2.1 Изучение совместимости хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина) в смесях с различным соотношением ……. 59
3.2.2 Получение пленочных материалов на основе хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин) и их характеристика ……... 65
3.2.3 Высвобождения действующих веществ из полимерных лекарственных форм …… 72
3.2.4 Изучение мукоадгезивных свойств пленок на основе смеси хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин) ……... 75
4 ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ ……... 85
4.1 Разработка радиационной технологии получения гидрогелевых

повязок на основе хитозана……... 85
4.1.1 Описание технологической схемы получения гидрогелевых раневых повязок ……. 85
4.1.2 Материальный баланс установки получения раневых повязок …… 88
4.2 Разработка технологии получения полимерных лекарственных пленок на основе хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин)……..... 90
4.2.1 Описание технологической схемы производства полимерных лекарственных пленок хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин)…….. 91
4.2.2 Материальный баланс производства полимерной лекарственной пленки хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин)..... 94
4.2.3 Основное оборудование для изготовления полимерных пленок из раствора……... 97
4.2.4 Функциональная схема автоматизации установки производства полимерной пленки……... 99
4.2.5 Технико-экономические показатели установки производства полимерной пленки…… 102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ ……... 114
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ……. 117
ПРИЛОЖЕНИЕ А Механические испытания гидрогелевых раневых повязок на основе хитозана..... 131
ПРИЛОЖЕНИЕ Б Определение адгезивных свойств гидрогелевых раневых повязок к свиной коже……... 132
ПРИЛОЖЕНИЕ В Установка для определения времени удерживания полимерной пленки на бычьей роговице..... 133
ПРИЛОЖЕНИЕ Г Акт по исследованию бактерицидной активности гидрогелевых повязок…… 134
ПРИЛОЖЕНИЕ Д Протокол исследования бактерицидной активности пленок ХТ т ХТ/ПОЗ…… 135

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 6.38-90 Унифицированные системы документации. Система организационно-распорядительной документации. Требования к оформлению документов.

ГОСТ 7.1-2003 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления.

ГОСТ 7.12-93 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращения слов на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.32-2001 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет по научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления.

ГОСТ 7.9-95 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Реферат и аннотация. Общие требования.

ГОСТ 8.417-2002 Государственная система обеспечения единства измерений. Единицы физических величин.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

ГК	-	гиалуроновая кислота
ВМ	-	высокомолекулярный
ВПС	-	взаимопроникающие сетки
ДСК	-	дифференциально-сканирующая калориметрия
ЖКТ	-	желудочно-кишечный тракт
ИВЖ	-	искусственная вагинальная жидкость
ИК	-	инфракрасная-спектроскопия с Фурье-преобразованием
ИСЖ	-	искусственная слезная жидкость
ИЯФ	-	институт ядерной физики
ЛВ	-	лекарственное вещество
ЛД	-	лидокаина гидрохлорида моногидрат
ЛС	-	лекарственное средство
ЛФ	-	лекарственная форма
МБА		N,N’-метилен-бис-акриламид
ММ	-	молекулярная масса
НКТР	-	нижняя критическая температура растворения
НЧ	-	наночастицы
НЯЦ	-	национальный ядерный центр
ПВС	-	поливиниловый спирт
ПВП	-	поливинилпирролидон
ПОЗ	-	поли(2–этил–2–оксазолин)
ПИПАМ	-	поли-N-изопропилакриламид
ПЭГ	-	полиэтиленгликоль
ПЭК	-	полиэлектролитный комплекс
ПЭО	-	полиэтиленоксид
СД	-	степень деацетилирования
СМ	-	среднемолекулярный
СЭМ	-	сканирующая электронная микроскопия
ТГА	-	термогравиметрический анализ
$T_{ст.}$	-	температура стеклования
УФ	-	ультрафиолет
ХТ	-	хитозан
ЦПФ	-	ципрофлоксацин
WAXD	-	широкоугольная рентгеновская дифракция
NaFl	-	натрия флуоресцеин

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы. Диссертационная работа посвящена созданию новых гидрогелевых лекарственных форм, исследованию их основных физико-химических свойств, установлению закономерностей межмолекулярных взаимодействий хитозана с поли(2-этил-2-оксазолином), а также разработке технологической схемы получения пленочных материалов и раневых повязок на основе хитозана.

В работе использован комплекс современных методов исследования и анализа: ИК-спектроскопия с Фурье преобразованием, термогравиметрический анализ (ТГА), дифференциально-сканирующая калориметрия (ДСК), широкоугольная рентгеновская дифракция (WAXD), сканирующая электронная микроскопия (СЭМ), гравиметрия, механические испытания (Texture Analyser), флуоресцентная спектрометрия, УФ-спектроскопия, микробиологические испытания, исследования адгезивных и мукоадгезивных свойств гидрогелей и пленок *in vivo* и *in vitro*.

Актуальность темы исследования

Во многих случаях лечение различных повреждений кожи или ожогов, воспалительных кожных заболеваний, хронических ран и профилактика инфекционных заболеваний при повреждениях кожного покрова продолжают оставаться сложной и трудноразрешимой проблемой в связи с распространением резистентности различных видов микроорганизмов к имеющимся антимикробным средствам. Растущая потребность в новых эффективных перевязочных средствах, неэффективность ватно-марлевой повязки для лечения экссудирующих ран и высокая цена повязок зарубежных производителей, значительно ограничивающая их применение в отечественном здравоохранении, ставит новую задачу – создание раневой повязки, позволяющей эффективно, длительно (до нескольких суток) и активно эвакуировать раневое отделяемое, обеспечивая только «вертикальный дренаж» и терапевтический эффект.

Другой важной задачей современной химии медико-биологических полимеров является создание новых эффективных лекарственных форм, способных обеспечить пролонгированное и контролируемое высвобождение лекарственных препаратов и их адресную доставку к месту патологического процесса. Перспективность создания полимерных носителей с пролонгированным действием лекарственных веществ обусловлена тем, что большинство лекарственных препаратов, используемые в практической медицине обладают кратковременным фармакологическим действием, с проявлением побочных эффектов на организм. В этой связи создание лекарственных форм (пленки, гели) на основе водорастворимых и сшитых полимеров рассматривается как наиболее перспективное решение этой проблемы и представляет несомненную важность и актуальность темы исследования. Применение полимерных форм лекарственных препаратов создает определенные преимущества перед обычными формами, а именно позволяет получить длительный терапевтический эффект поддерживая

равномерной концентрации лекарственного вещества в организме в течении длительного времени, уменьшить побочное действие и сократить общий расход лекарственного вещества на курс лечения.

Ранее на кафедре химии и технологии органических веществ, природных соединений и полимеров КазНУ им. аль-Фараби были разработаны пленочные лекарственные формы с пролонгированным действием лекарственных веществ с различной биологической активностью и гидрогелевые повязки на основе ПВП/ПЭГ/агар-агар структурированные наночастицами (НЧ) серебра, повязки, содержащие фитопрепарат Алхидин и анестетик Рихлокаин, исследованы их физико-химические и лечебные свойства.

Настоящая работа является продолжением данных исследований и посвящена разработке технологической схемы получения гидрогелевых материалов с антимикробной активностью для применения в качестве повязок и пленочных лечебных материалов.

Цель работы заключается в научном обосновании принципов получения новых гидрогелевых раневых повязок для лечения ран различной этиологии и мукоадгезивных пленочных форм для применения в офтальмологии, отоларингологии, гинекологии, в характеристике особенностей физико-химических и медико-биологических свойств разработанных медицинских изделий, а также разработке технологической схемы получения пленочных материалов и раневых повязок на основе хитозана.

В соответствии с целью исследования в работе были поставлены следующие **задачи:**

1. Синтез и установление основных закономерностей формирования гидрогелей на основе хитозана методом радиационного сшивания;
2. Исследование физико-химических, механических, адгезивных и антибактериальных свойств новых гидрогелевых раневых повязок на основе хитозана;
3. Установление закономерностей межмолекулярных взаимодействий хитозана с поли(2-этил-2-оксазолином) комплексом физико-химических методов (ИК-спектроскопия, термический анализ, рентгеноструктурный анализ, сканирующая электронная микроскопия);
4. Установление оптимальных условий получения пленочных материалов на основе хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина) методом полива и термосшивания; изучение их мукоадгезивных свойств и особенностей высвобождения лекарственных веществ из полимерных матриц методами *in vitro* и *in vivo,* проведение микробиологических исследований полимерных пленок*;*
5. Разработка технологии получения гидрогелевых и пленочных лекарственных форм на основе хитозана (расчет материального баланса установок, разработка функциональной схемы автоматизации, расчет технико-экономических показателей процесса).

Объекты исследования: гидрогелевые раневые повязки на основе хитозана (ХТ) и хитозана с серебром (ХТ/Ag), пленки на основе хитозана и поли(2–этил–2–оксазолин) (ХТ/ПОЗ), сшитые пленки на основе ХТ/ПОЗ.

Предмет исследования: радиационное сшивание и основные закономерности формирования гидрогеля на основе ХТ и ХТ/Ag, физико-химические свойства гидрогелей на их основе, межмолекулярные взаимодействия хитозана и поли(2-этил-оксазолином), физико-химические свойства и микробиологические исследования пленочных лекарственных форм на основе хитозана и поли(2-этил-2-оксазолин).

Научная новизна

Установлены основные закономерности формирования гидрогелей на основе поливинипирролидона и хитозана в процессе радиационного сшивания. Показано, что использование хитозана позволяет получать гидрогелевые повязки с меньшим процентным содержанием агар-агара без ухудшения механических и эксплуатационных характеристик по сравнению с коммерчески доступными повязками AQUA DRESS®. Установлено, что на процесс гелеобразования существенное влияние оказывает содержание хитозана в гидрогеле, его молекулярная масса и дозы облучения реакционной смеси.

Впервые доказана совместимость хитозана с поли(2–этил–2–оксазолином) методами сканирующей электронной микроскопии, термогравиметрического анализа и широкоугольной рентгеновской дифракции. Показано, что хитозан с поли(2–этил–2–оксазолином) образует межмолекулярные водородные связи между гидроксильными и амидными группами хитозана и карбонильной группой поли(2–этил–2–оксазолина).

Впервые получены растворимые и сшитые пленочные материалы на основе ХТ/ПОЗ. Подобраны и оптимизированы рецептуры сшитых пленок, установлены основные закономерности и условия термосшивания. Установлено, что набухающая способность пленочных образцов ХТ/ПОЗ, снижается с увеличением температуры термосшивания от 100 до 110°С и не зависит от времени термообработки в интервале 4-8 час.

Впервые полученные опытные образцы пленок на основе ХТ/ПОЗ исследованы в качестве полимерной матрицы для иммобилизации лекарственных веществ. Изучена кинетика высвобождения ЛВ из пленочных материалов на основе линейных и сшитых полимеров ХТ/ПОЗ. Установлено, что присутствие хитозана в пленке пролонгирует действие ципрофлоксацина.

Впервые установлена антибактериальная активность пленок на основе ХТ/ПОЗ в отношении *Escherichia coli*. Показано, что бактерицидная активность обусловлена наличием ПОЗ в пленке. Наличие бактерицидных свойств открывает возможности использования пленочных материалов как потенциальных лекарственных форм для адресной доставки ЛВ в офтальмологии и гинекологии.

Впервые методами *in vitro u in vivo* изучены мукоадгезивные свойства пленок на основе смеси ХТ/ПОЗ с использованием современных методологий, таких как определение времени удерживания пленки на свежесрезанной бычьей роговице *in vitro*; определение времени удерживания пленок на глазах кроликов шиншилы *in vivo*; определение силы отрыва от слизистой вагины овцы. Установлено, что увеличение содержания ХТ в пленках, способствуют усилению их мукоадгезивных свойств, что обусловлено эффектом

электростатического взаимодействия между функциональными группами хитозана и муцина, являющегося составляющим слизистой оболочки.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. На гелеобразование в процессе радиационного сшивания значительное влияние оказывает содержание хитозана в исходной реакционной смеси, его молекулярная масса и дозы облучения реакционной смеси;
2. Физико-химические и физико-механические характеристики получаемых гидрогелевых повязок существенно зависят от содержания ХТ и наночастиц серебра в гидрогелях;
3. Высокая совместимость смесей на основе хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина обусловлена формированием водородных связей между функциональными группами данных полимеров;
4. Мукоадгезивные свойства получаемых пленочных материалов в значительной степени определяется наличием в их составе хитозана;
5. Использование полимерных смесей ХТ/ПОЗ позволяет получить мукоадгезивные пленочные материалы с пролонгированным выделением лекарственных веществ.

Теоретическая значимость работы

Установленные в работе закономерности формирования гидрогелей на основе хитозана методом радиационного сшивания вносят существенный вклад в развитие теоретических представлений о методологии получения гидрогелевых раневых повязок и особенностях их физико-химических свойств. Результаты исследования межмолекулярных взаимодействий между хитозаном и поли(2-этил-2-оксазолином) могут быть использованы в научно-исследовательской практике при разработки других высокоэффективных систем с контролируемой адресной доставкой лекарственных препаратов.

Практическая значимость исследования

В ходе выполнения исследования разработаны новые мукоадгезивные лекарственные формы на основе хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина), содержащие антибиотик ципрофлоксацин и анестетик лидокаина гидрохлорид и гидрогелевые повязки на основе хитозан/серебро с антимикробной активностью, которые могут использоваться для послеоперационного ухода, при лечении гнойных заболеваний и пролежней. Разработана технологическая и функциональная схемы автоматизации процесса получения полимерных пленок и раневых повязок на основе ХТ.

Апробация работы. Основные результаты диссертации докладывались и обсуждались на Internatinal workshop «Polymers and hydrogels for wound care and other biomedical applications» (Almaty, 2017); Международной научно-практической конференции «Современные тренды высшего образования и науки в области химической и биохимической инженерии» (Алматы, 2018); American Chemical Society Meeting (Florida, USA, 2019); 14th Tihany Symposium on Radiation Chemistry (Siófok, Hungary, 2019); II Международный научный форум «Ядерная наука и технологии» 1-я Международная конференция «Ядерные и радиационные технологии в медицине, промышленности и сельском хозяйстве» (Алматы, 2019).

Личный вклад автора заключается в непосредственном выполнении экспериментальной части работы, участии в анализе, обобщении и интерпретации полученных экспериментальных данных.

Публикации. В результате исследований по теме диссертационной работы было опубликовано в соавторстве 9 научных работ, в том числе 3 статьи в республиканских специализированных изданиях, рекомендованных Комитетом по контролю в сфере образования и науки МОН РК, 1 статья в международном научном журнале входящим в базу данных Scopus (European Polymer Journal), а также материалы и тезисы 5 докладов на международных научных конференциях, симпозиумах и семинарах.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 135 страницах машинописного текста и включает введение, 4 раздела, заключение, 29 таблиц, 54 рисунков, список использованных источников из 202 наименований и приложение.

1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Полимеры для создания лекарственных форм

Полимеры представляют собой макромолекулы, универсальные по структуре, строению и свойствам. Они имеют широкий спектр применения в различных областях, таких как биофизика, медицина, электроника и другие отрасли науки и техники. Полимеры становятся все более важными в области доставки лекарств. Применение полимеров варьируется от их использования в качестве связующих в таблетках до агентов, регулирующих вязкость и текучесть, в жидкостях, суспензиях и эмульсиях. Полимеры могут быть использованы в качестве пленочных покрытий для маскировки неприятного вкуса лекарства, для повышения стабильности лекарства и для изменения характеристик высвобождения лекарства [1].

Биосовместимость и биодеградируемость являются двумя важными параметрами, которые следует отметить при выборе полимера для его биомедицинского использования [2]. Биосовместимость относится к специфическим свойствам материала, не оказывающего токсического или вредного воздействия на биологические системы [3]. Преимущество биодеградируемых полимеров заключается в том, что они могут обеспечить хорошую адгезию и пролиферацию клеток *in vivo*, сохранение их свойств в течение определенного времени, а затем деградацию без вредных воздействий на организм. Они подходят для различных применений, но их приоритетное применение в области тканевой инженерии и доставки лекарств [4]. Биоразлагаемые и биосовместимые полимеры для фармацевтических лекарственных форм позволили продвинуть фармацевтические препараты, обеспечив лучшую терапию посредством доставки лекарств с контролируемым высвобождением [3, p. 3299].

Достаточно широкое применение для изготовления лекарственных препаратов находят простые полиэфиры – полиэтиленгликоли (ПЭГ) различной молекулярной массы. ПЭГ представляет собой амфифильный полимер, состоящий из повторяющихся мономерных звеньев этиленоксида, и может растворяться как в органических растворителях, так и в воде. Он повышает физическую и химическую стабильность лекарств и предотвращает агрегацию лекарств как *in vivo*, так и во время хранения. Высокая гидрофильная природа ПЭГ повышает растворимость гидрофобных лекарств или носителей при их конъюгировании с ними. ПЭГ применяют в качестве основы мазей и некоторых лекарственных препаратов и во многих других целях. [3, p. 3300; 5, 6].

Из других водорастворимых полимеров широкое применение в биомедицине находят поливиниловый спирт (ПВС) и поли-N-винилпирролидон (ПВП). В технологии лекарств ПВС применяют в качестве эмульгатора, загустителя и стабилизатора суспензий, пролонгатора действия лекарственных веществ, пленкообразователя для капсул и таблеток, компонента маизевых основ. Растворы ПВС с концентрацией 2,5-10% широко испозуется для пролонгации ЛВ (например, антибиотиков), для создания

кровоостанавливающих средств применяют порошки на основе ПВС и хлорного железа, а также растворы ПВС с добавкой сахара и мочевины [3, p. 3301]. Гидрогели ПВС используются для различных биомедицинских и фармацевтических применений. Гидрогели ПВС имеют определенные преимущества, которые делают их идеальными кандидатами для биоматериалов. Преимущества гидрогелей ПВС в том, что они нетоксичны, не канцерогены и биоадгезивны по своей природе. ПВС также демонстрирует высокую степень набухания в воде и биологических жидкостях [6, p. 1978; 7].

Поли-N-винилпирролидон является нетоксичным, термостойким, pH-стабильным, неионогенным, бесцветным гигроскопичным полимером с молекулярной массой 10000-1000000 Да и плотностью 1190 кг/м^3. ПВП широко используется для доставки лекарств с контролируемым высвобождением благодаря его биосовместимости, химической стабильности и превосходной растворимости в воде и в ряде органических жидкостей. Кроме того, поли-N-винилпирролидон оказывает стабилизирующее действие на растворы эмульсии и суспензии, применяется в качестве связующего в технологии приготовления различных лекарств в виде драже, таблеток, мазей и капсул [8].

Полиамиды по применению в биомедицине делятся на две большие группы – синтетические полиамиды (нейлоны) и натуральные полиамиды (белковой и/или родственной природы), а также их синтетические аналоги [9]. Благодаря своим механическим свойствам, биосовместимости и высокой устойчивости к растворителям, маслам и биологическим жидкостям, нейлоны находят широкое применение в медицинских устройствах, например, в качестве имплантатов, волокон или функциональных поверхностей.

Поли(2-оксазолины) (ПОЗ) относятся к классу синтетических полиамидов, получаемых катионной полимеризацией с раскрытием кольца 2-оксазолинов, причем атом азота находится в основной полимерной цепи [10–14]. Поли(2-оксазолины) представляют собой аморфные, неионные, третичные полиамиды, с отличной термостабильностью, биосовместимостью, нетоксичностью и устойчивостью к действию ферментов. Некоторые ПОЗ растворимы в воде и широком спектре органических растворителей [15]. ПОЗ являются структурными изомерами полипептидов и полиакриламидов, проявляющими низкую токсичность (рисунок 1).

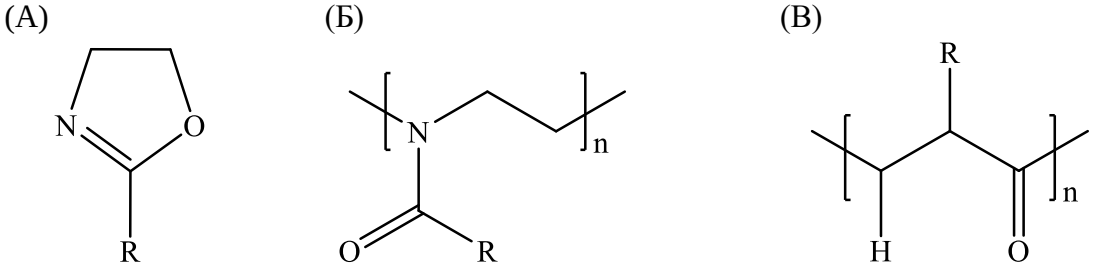


Рисунок 1 – Химические структуры 2-оксазолина (А), поли(2-оксазолина) (Б) и полипептида (В)

При этом третичные амидные группы в ПОЗах обеспечивают более высокую стабильность в биологических средах по сравнению с полипептидами, поскольку третичные амиды плохо «распознаются» и гидролизуются ферментами [16]. Таким образом, считается, что они могут быть полезны во многих биомедицинских приложениях.

Варьирование структуры алкильного заместителя позволяет моделировать их физико –химические свойства и контролировать гидрофильно-гидрофобный баланс синтезированных поли(2-оксазолинов). Небольшие боковые заместители (метил, этил, *н*-пропил и *изо*-пропил) обеспечивают гидрофильность полимеров. Кроме того, поли(2-этил-2-оксазолин), поли(2-*н*-пропил-2-оксазолин), поли(2-*изо*-пропил-2-оксазолин) обладают нижней критической температурой растворения (НКТР). Длинные алифатические (бутил, нонил) или ароматические заместители (фенил) приводят к гидрофобности полимеров [17].

В настоящее время ПОЗ уже используется в синтезе систем доставки лекарственных средств, для создания противоожоговых покрытий с контролируемым высвобождением лекарственных средств, для получения термолабильных гелей для остановки кровотечений и др. [18, 19].

Полимеры природного происхождения, в частности полисахариды и белки благодаря таким свойствам, как биосовместимость, биоразлагаемость и низкая токсичность нашли широкое применение в медицине и биотехнологии [20].

Полисахариды относится к числу наиболее распространенных в природе органических соединений. Различия в составе моносахаридов, типах и видах связей, формах цепей и молекулярной массе диктуют их физические свойства, такие как растворимость, вязкость, потенциал гелеобразования и/или поверхностные и межфазные свойства. Полисахариды получают из возобновляемых ресурсов, таких как растения, животные и микроорганизмы, и поэтому широко распространены в природе [21]. Кроме того, полисахариды выполняют различные физиологические функции и, следовательно, имеют большое потенциальное применение в области тканевой инженерии и регенеративной медицины (рисунок 2). Ниже приведена классификация полисахаридов, полученные из разных источников [22]:

1) полисахариды растительного происхождения (крахмал, целлюлоза);

2) водорослевые полисахариды (агароза, агаропектин, альгиновая кислота, галактаны и каррагинан);

3) полисахариды животного происхождения (хитин, хитозан и гиалуроновая кислота);

4) полисахаридов из микроорганизмов (декстран, гелановая камедь, пуллулан, ксантановая камедь и бактериальная целлюлоза).

На основе полисахаридов создаются различные биоматериалы и лекарственные формы с контролируемой системой доставки лекарств (рисунок 2). Среди многочисленных полисахаридов целлюлоза и хитин производятся в самых больших количествах, и они являются наиболее распространенными органическими соединениями на земле [23].

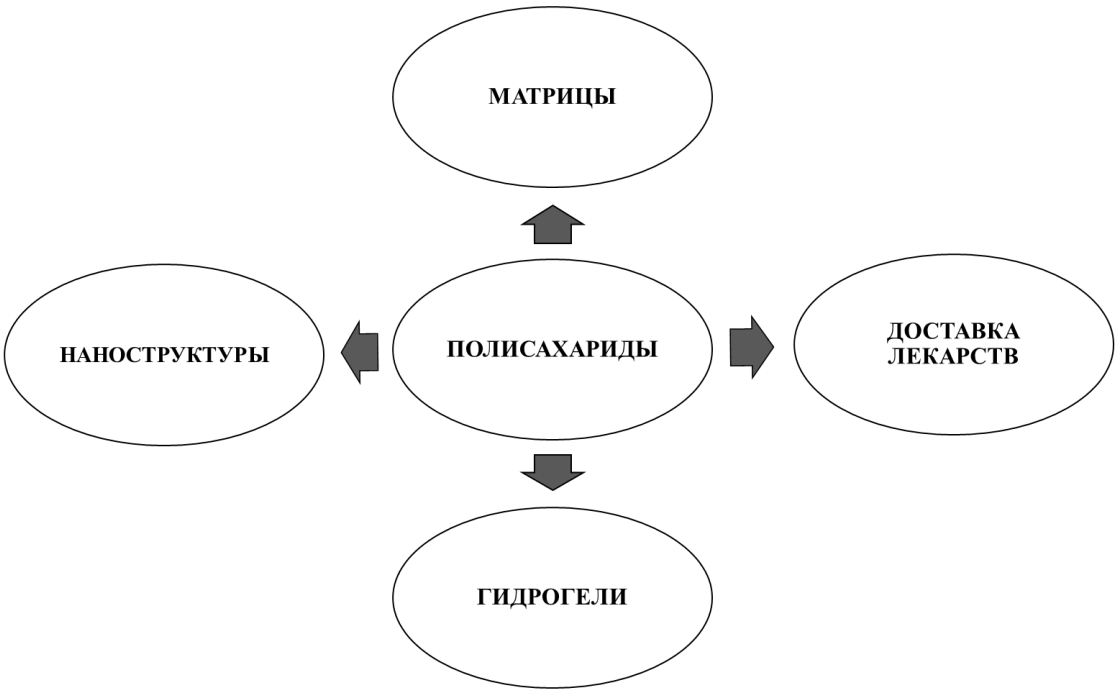


Рисунок 2 - Использование полисахаридов в биомедицине

Применение хитина в разработке новых лекарственных форм мало исследована из-за его нерастворимости в большинстве наиболее распространенных органических растворителях, используемых в фармацевтической технологии. Хитозан, деацетилированная форма хитина, является вторым по распространенности полимером в природе после целлюлозы поскольку при низких значениях pH является водорастворимым полимером. Благодаря своим свойствам хитозан широко используется для биомедицинских целей [22, p.75].

1.1.1 Хитозан. Свойства и его применение в биомедицине

Хитин и хитозан - природные возобновляемые полимеры, обладают такими свойствами как биоразлагаемость, биосовместимость и не токсичность. Большинство встречающихся в природе полисахаридов, например, целлюлоза, декстрин, пектин, альгиновая кислота, агар, агароза и каррагены проявляют кислотные свойства, тогда как хитин и хитозан являются примерами высокоосновных полисахаридов, благодаря наличию первичной аминогруппы в ее структуре [24].

Хитозан получают деацетилированием хитина 40-50% водном раствором щелочи, в большинстве случаев NaOH, при гетерогенных условиях 120-150 °C [23, p. 206]. Реакции деацетилирования хитина протекает не до конца. Хитин превращается в хитозан, когда степень ацетилирования падает ниже значения 60 мол. % (рисунок 3).

Основными факторами, которые могут влиять на свойства хитозана, являются его молекулярный вес и степень деацетилирования (СД). Хитозан практически не растворим в воде, однако легко растворяется в разбавленных

растворах большинства органических (лимонная, винная) и неорганических кислотах.

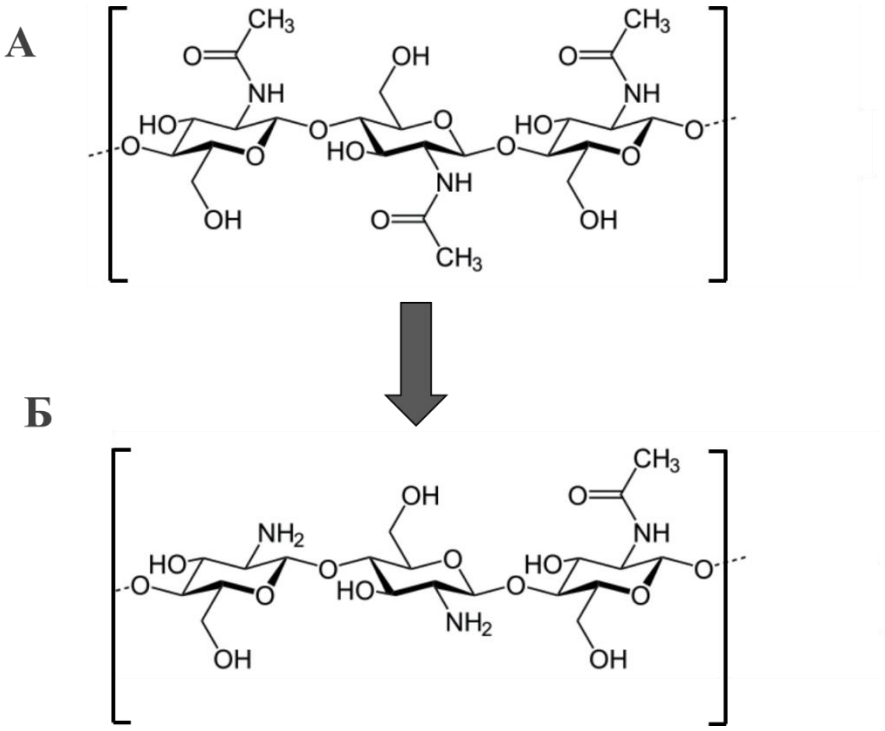


Рисунок 3 – Химическая структура хитина (А) и хитозана (Б)

Растворимость хитозана зависит от СД, pH и протонирования свободных аминогрупп (NH_3^+). Растворенный в подкисленной среде хитозан превращаясь в поликатион взаимодействует с полианионами и лекарственными препаратами, образуя при этом комплексы на основе которых разрабатываются лекарственные формы доставки лекарств из микро- и наночастиц. Например, хитозан образует наночастицы путем ионного гелеобразования с полифосфатами и с нуклеиновыми кислотами [25]. Кроме того, хитозан обладает пленкообразующими свойствами, поэтому широко применяется в создании пленочных лекарственных форм и перевязочных материалов нового поколения [26, 27].

Важным аспектом применения хитозана в системах доставки лекарств является его поведение в организме человека. Как правило, хитозан удаляется почечным клиренсом, но, если молекулярная масса слишком велика, требуется стадия деградации ферментами. В организме человека три хитиназы при помощи таких ферментов как лизоцим, папаин и пепсин показали активность, приводящая к образованию более мелких цепей (олигосахаридов) [28]. Тем не менее, скорость разложения хитозана зависит от молекулярной массы (ММ) и степени деацетилирования [29]. В работах [30, 31] показано, что полисахарид с высокой СД активизирует клеточный рост, уменьшает воспалительную реакцию. В других исследованиях [32] было установлено, что высокомолекулярный хитозан подвергался деградации более длительное время,

чем низкомолекулярный хитозан при неизменной степени деацетилирования образцов.

Полисахарид обладает уникальными биологическими свойствами, которые проложили путь для его применения в фармацевтической и биомедицинской областях [33–36] в новых системах доставки лекарств [37–39] или в качестве основы для тканевой инженерии [40–42]. Кроме того, хитозан обладает хорошими мукоадгезивными свойствами [43] благодаря своему положительному заряду, который увеличивает адгезию к слизистой оболочке и, следовательно, время контакта для проникновения лекарственного средства. Мукоадгезивные свойства хитозана используется в стоматологии, ортопедии, офтальмологии и в хирургических процедурах [44, 45]. Полисахарид прилипает к эпителиальным тканям и к слизистой оболочке, присутствующей на поверхности тканей.

Также хитозан обладает фунгистатическим или бактериостатическим и противораковым действием [46–48]. Обладая способностью подавлять рост опухолевых клеток, болезнетворных микроорганизмов, стимулировать клеточный иммунитет хитозан широко применяется в разработке противоопухолевых препаратов для имунотерапии. Доказаны противоаллергические свойства хитозана, возможность использования биополимера и его производных в качестве полимерной матрицы в системах доставки лекарств. Гемостатические свойства хитозана делают его хорошим кандидатом для перевязки ран [49–51]. Клинические испытания хитозана не сообщают о каких-либо воспалительных или аллергических реакциях после имплантации, инъекции, местного применения или приема внутрь в организме человека [52–54]. В медицинской практике нетканые ткани и нити на основе хитозана используются в качестве искусственных кож и шовных материалов с преимуществами заживления ран, биосовместимости и биоразлагаемости.

Химическая природа хитозана, в свою очередь, предоставляет много возможностей для ковалентных и ионных модификаций, которые позволяют улучшить либо придать новые свойства полисахариду [29, p. 22]. Путем модификации структуры хитозана расширяется спектр его возможных областей применения в фармацевтике и биомедицине.

Модифицирование хитозана до N-триметиленхлорида, который является четвертичным производным хитозана обладает превосходной растворимостью в воде, кишечной проницаемостью, а также более высокой абсорбцией нейтрального и катионного аналога пептида в широком диапазоне pH. Также хитозан модифицируют в сложноэфирные формы, например, глутамат хитозана, сукцинат хитозана, фталат хитозана. Эти сложные эфиры хитозана нерастворимы в кислых условиях, а при щелочной среде обеспечивают замедленное высвобождение [27, p. 29; 29, p. 22].

Клеточные матрицы (скаффолды) на основе хитозана обладают некоторыми особыми свойствами для использования в тканевой инженерии. Матрицы на основе хитозан могут быть образованы либо в виде взаимосвязанных пористых структур путем замораживания и лиофилизации раствора хитозана либо с помощью таких процессов, как «процесс внутреннего

барботирования», когда $CaCO_3$ добавляют к растворам хитозана для получения гелей хитозан-$CaCO_3$ в определенных формах [55].

Способность амфифильных производных хитозана к самосборке имеет большой интерес в области биомедицины. Мицеллярные системы, основанные на производных хитозана, использовались в качестве систем доставки лекарственных средств, главным образом для гидрофобных лекарственных средств, но также для анионных лекарственных средств и белков. Амфифильные производные хитозана также оказались очень полезными в генной терапии, так как присутствие гидрофобных фрагментов на главной цепи хитозана улучшает трансфекцию по сравнению с хитозаном. Некоторые амфифильные производные хитозана также проявляют интересные биологические свойства, такие как антибактериальная активность, совместимость с кровью, мукоадгезивность и способность открывать плотные соединения. Кроме того, некоторые амфифильные производные представляют собой интеллектуальные материалы, поведение которых зависит от pH и/или температуры [56].

Таким образом, литературный обзор свидетельствует о значительном интересе к химии хитозана. Его уникальные свойства (биосовместимость, нетоксичность, антибактериальные свойства) находят широкое применение в терапии, хирургии, стоматологии, дерматологии и других сферах.

1.2 Полимерные лекарственные формы и их применение

Полимерные лекарственные формы состоят из биосовместимого полимера и активного фармацевтического ингредиента, диспергированного или ковалентно связанного с полимером. Применение полимерных форм лекарственных препаратов создает определенные преимущества перед обычными формами, а именно позволяет получить длительный терапевтический эффект поддерживая равномерной концентрации лекарственного вещества в организме в течении длительного времени, уменьшить побочное действие и сократить общий расход лекарственного вещества на курс лечения. Высвобождение ЛВ происходит путем диффузии через полимер, деградации полимера или дезорганизации надмолекулярной структуры носителя [1, p. 25]. Высвобождение активного агента может быть постоянным в течение длительного периода, либо циклическим в течение длительного периода, либо вызвана действием внешних факторов (температуры, pH).

Многообразие возможных вариантов строения систем контралируемой доставки ЛВ открывает широкие перспективы в лечении различных заболеваний. Использование для этой цели биодеградируемых материалов значительно увеличивает перспективность данного направления.

Существенный вклад в развитии контролируемой доставки лекарственных веществ сыграли гидрогели [57]. Гидрогели – это особая группа полимеров ионного или нейтрального характера, структура которых представляет собой поперечно сшитые сетки. Такие сетки образуются слабыми когезионными силами, водородными, ионными, ковалентными связями. Образовавшаяся

трехмерная сетка может удерживать большие количества воды, хотя сами гидрогели в ней не растворяются [58]. Диффузия ЛВ из гидрогелевой матрицы в первую очередь зависит от размеров сетки в матрице геля, которая, в свою очередь, зависит от нескольких параметров, в основном, степени сшивки, химической структуры составляющих мономеров, и интенсивности внешних факторов [59]. Средства доставки на основе гидрогелей могут быть использованы в качестве перорального, ректального, глазного, эпидермального и подкожного применения. Например, авторы [60] предложили систему по доставке антибиотиков для лечения *Helicobacter pylori* при язвенной болезни желудка. Для локализованной доставки антибиотиков в кислую среду желудка, они разработали катионные гидрогели на основе хитозана и полиэтиленоксида с pH чувствительным набуханием и высвобождением лекарственного вещества.

Создание мукоадгезивных лекарственных форм различного типа рассматривается в настоящее время как один из наиболее перспективных и доступных путей решения контролируемой доставки лекарственных веществ (ЛВ) в орган-мишень или даже в клетку-мишень [61–66].

Наиболее распространенным и предпочтительным среди всех остальных с точки зрения переносимости пациентом является пероральный способ. Однако при приеме лекарств через ротовую полость они подвергаются печеночному метаболизму и ферментативному расщеплению в желудочно-кишечном тракте организма (ЖКТ), что ограничивает прием определенного класса лекарств (белков, пептидов и нуклеитидов), а также из-за низкой проницаемости слизистых для высокомолекулярных полимеров [67].

Мукоадгезивные полимеры могут не только замедлять движение лекарственных форм по ЖКТ, но и ингибировать действие протиолитических ферментов, тем самым повышать биодоступность включенных лекарственных веществ (ЛВ), характеризующихся недостатком стабильности [68]. Другим недостатком перорального способа приема лекарственных препаратов-достаточно быстрый вывод их из организма, что требует приема большего количества лекарств и может оказывать токсическое воздействие на печень.

Адгезия лекарственных форм на слизистой поверхности ведет к возрастанию концентрации лекарственных веществ на месте аппликации и позволяет снижать общую вводимую дозу лечебного препарата как при системном введении, так и при местном применении. Высокая проницаемость слизистой оболочки расширяет возможности мукоадгезивной лекарственной формы по сравнению с трансдермальными лекарственными формамы [69].

Слизистые оболочки (мукоза) представляет собой увлажнённые поверхности, выстилающие стенки органов ЖКТ, дыхательных путей, внутреннюю часть глазных век, а также носовую и ротовую полости, половые органы, что позволяет осуществлять трансмукальную доставку лекарств различными способами, такими как букальный и десневой, назальный, окулярный, вагинальный и ректальный, через желудочно-кишечный тракт [70, 71]. Мукоза образует защитный барьер, который захватывает или блокирует инородные тела и патогенные бактерии и препятствует их проникновению в клетки, вызывая повреждение или заболевание. Мукус состоит

преимущественно из воды (около 95%), гликопротеинов (2-5%), липидов и солей. Гликозилированные белки более известны как муцины. Разнообразие органов-мишеней обуславливает широкий выбор лекарственных форм для применения на слизистых оболочках.

Использование явления био/мукоадгезии способствовало успешному созданию новых или усовершенствованных офтальмологических, буккальных и вагинальных систем доставки лекарств, включая гели и пленки.

Полимерные пленки являются отличными кандидатами для таргетной доставки лекарств, чего невозможно достичь с таблетками или жидкими составами. Их используют как для системного, так и локального действия вводимый такими путями, как оральный, трансбуккальный, сублингвальный, окулярный и трансдермальный [72]. Среди различных путей использование тонких пленок для доставки лекарств в подъязычную или щечную слизистую оболочку вызвало огромный интерес [73–75]. Также в настоящее время разрабатываются офтальмологические пленки для преодоления глазных барьеров и предотвращения потери лекарств через систему слезного дренажа {Formatting Citation}. Таким образом, мукоадгезивная полимерная пленка приобретает популярность и признание на фармацевтической арене в качестве новой лекарственной формы для доставки лекарств

1.2.1 Мукоадгезивные лекарственные формы на основе хитозана

Основной интерес к системам на основе хитозана сместился в сторону доставки лекарств через слизистую оболочку. Биоадгезивные свойства хитозана все больше привлекают ученых для получения лекарственных форм. Благодаря мукоадгезивным свойствам, вызванные электростатическим взаимодействием между положительными зарядами аминогруппами хитозана и отрицательно заряженными остатками муцина, хитозан обладает способностью улучшать биодоступность лекарственного средства [78].

Разработаны различные лекарственные формы в виде гидрогелей, пленок, вкладышей, гелей и имплантов на основе хитозана. В настоящее время ведутся разностороннее исследования, касающиеся применения хитозана в стоматологии, отоларингологии, офтальмологии, и гинекологии.

Поверхность глаза состоит из конъюнктивы и роговицы. Конъюнктива представляет собой тонкую ткань, которая простирается от края века поперек глазного яблока до роговицы. Роговица является окном глаза и представляет собой прозрачную ткань в центре поверхности шара. Муцин секретируется только кубковыми клетками конъюнктивы. На этом основании мукоадгезивная лекарственная форма будет прочно прикрепляться к конъюнктиве глаза. Глазные лекарственные формы могут быть улучшены путем увеличения времени, в течение которого активные компоненты остаются в контакте с тканями глаза [79].

Основываясь на антимикробной активности хитозана Felt и др. предложили использовать раствор хитозана в составе препаратов искусственной слезы [80]. Помимо бактериостатической активности хитозана, установлено хорошая переносимость после местного глазного введения, а

также способность хитозана равномерно распространяться по всей роговице после закапывания. Было обнаружено, что растворы хитозана продлевают время пребывания антибиотика в роговице кролика [81], а наночастицы хитозана остаются прикрепленными к роговице и конъюнктиве кролика не менее 24 часов [82]. Хитозан в офтальмологических препаратах проявлял превосходную переносимость тканями роговицы кролика. Частицы, покрытые хитозаном, также улучшают проникновение в роговицу [78, p. 114].

Глазные вставки определяются как твердые или полутвердые стерильные препараты. Они имеют оптимальный размер и форму для размещения в соединительном кармане для доставки лекарств местного или системного действия. Вставки на основе биоадгезивных полимеров образуют гомогенный вязкий раствор, обеспечивающий более высокие уровни лекарственного средства в тканях глаза [79, p. 860].

Fulgencio и др. в своих исследованиях на кроликах сравнивали эффективность мукоадгезивных пленок на основе хитозана и тимолола с глазными каплями, содержащих 0,5% тимола. Пленочная лекарственная форма продемонстрировала отсутствие токсичности и доказала свою эффективность в снижении внутриглазного давления у кроликов [44, p. 354]. Это исследование показывает насколько эффективно использовать хитозан для дозированной глазной доставки лекарств.

Gupta и др. разработали глазные вставки на основе хитозана, поливинилового спирта, гидроксипропилметилцеллюлозы и альгината натрия методом литья из растворителя. Бримонидин использовали как средство против глаукомы, полезное при лечении внутриглазного давления. Исследования *in vitro* и *in vivo* (на глазах кроликов) показали, что вставки на основе хитозана обеспечивают пролонгированное действие бримонидина, в отличие от остальных полимеров. Кроме того, доказано, что вставки на основе хитозана (3%) с бримонидином (0,2 %) приводит к снижению внутриглазного давления в сравнении с глазными каплями [83].

Di Colo разработали глазные вставки с левофлоксацином на основе хитозана и желатина. Исследования высвобождения лекарственного средства *in vitro* и *in vivo* показали, что составы обеспечивают пролонгированое высвобождение лекарственного средства в течении 24 ч и остаются стабильными с интактным действием в условиях окружающей среды. Протестированы и предложены вкладыши, содержащие кеторолак, офлоксацин [84, 85].

Мукоадгезивные полимеры исследовались при разработке полутвердых и твердых вагинальных систем доставки лекарств, что позволило устранить недостатки традиционных лекарственных форм и улучшить их терапевтический эффект [86–89]. Благодаря применению мукоадгезивных полимеров наметился существенный прогресс в технологии вагинальных лекарственных форм: увеличивается время нахождения лекарственной формы в полости влагалища и действия ЛВ, что повышает их эффективность, снижает кратность применения и повышает качество жизни пациентов.

В литературе, созданию вагинальных полимерных материалов для доставки лекарственных веществ посвящен целый ряд работ, что обусловлено большой актуальностью и перспективностью применения интравагинальных препаратов для лечения гинекологических заболеваний. Гели на основе среднемолекулярного хитозана, содержащие молочную кислоту для поддержания кислотного pH влагалища, показали большую мукоадгезию, по сравнению с хитозаном высокой ММ [90]. В другом исследовании удержание гелей на основе хитозана во влагалище живых крыс было изучено с использованием методов инфракрасной визуализации [91]. Установлено, что 2% гели не смывались с поверхности слизистой влагалища в течении 24 ч. Прогресс в области науки о полимерах обеспечил создание тонких гибких пленок, удовлетворяющих требованиям для систем доставки лекарств [92, 93]. В целом, вагинальные пленки демонстрируют хорошую возможность крупномасштабного производства, благодаря улучшенной стабильности в условиях повышенных температуры и влажности [94, 95].

Таким образом, имеющиеся литературные данные свидетельствуют о значительных перспективах применения хитозана в офтальмологии при лечении различных поражений глаза.

1.2.2 Гидрогелевые раневые повязки на основе хитозана

Рана является результатом физических, химических, механических или термических повреждений. Естественный процесс заживления кожи является сложным и непрерывным. Заживление ран – это особый биологический путь, связанный с общим явлением роста и регенерации тканей. Он прогрессирует через ряд взаимосвязанных и соответствующих стадий, в которых различные клеточные и матричные компоненты действуют совместно для восстановления целостности поврежденной ткани и замещения утраченной ткани [40, p. 2894]. Нарушения кожного покрова сопровождаются болезненными ощущениями, оголенные подкожные участки способствует свободному проникновению инфекций. В настоящее время важнейший путь эффективного лечения нарушений кожного покрова является использование материалов, защищающих пораженный участок и способствующих быстрому заживлению. Идеальная раневая повязка должна обеспечивать влажную среду и защитную роль при вторичных инфекциях, удалять раневой экссудат и способствовать регенерации тканей, а также улучшать качество заживления ран.

Своеобразной лекарственной формой являются перевязочные материалы, предназначенные для лечения повреждений кожного покрова. До 1960-х годов раневые повязки рассматривались лишь как, так называемые, пассивные продукты с минимальной ролью в процессе заживления. Winter и др. инициировали концепцию активного вовлечения раневой повязки в создание и поддержание оптимальной среды для восстановления раны. Это осознание привело к переходу раневых повязок из традиционных пассивных материалов в функциональные активные повязки. Благодаря взаимодействию с раной функциональные активные повязки создают и поддерживают влажную среду для заживления раны [96]. Независимо от типа травмы кожи (ожог,

диабетическая стопа или операционный разрез), применение эффективных раневых повязок является важным терапевтическим методом лечения.

Учитывая вышеизложенные факторы, гидрогель обладает большим потенциалом в качестве перевязочного материала для ран [97, 98]. Гидрогели представляют собой мягкие и пористые материалы, напоминающие мягкие биологические ткани [99]. На их основе разрабатываются изделия для биотехнологии, тканевой инженерии и медицины в виде материалов различной физической формы (матрицы для выращивания клеток и иммобилизации ферментов, системы с контролируемым высвобождением ЛВ, раневые повязки) [100].

Гидрогелевые повязки имеют много преимуществ по сравнению с традиционными мазями и кремами на масляной и жировой основе и даже по сравнению с другими полимерными повязками для ран. В частности, они нетоксичны, не раздражают и не вызывают аллергических реакций, биосовместимы, улучшают клеточное взаимодействие и восстановление тканей, и большинство из них являются биоразлагаемыми [101]. Гидрогели могут поглощать и удерживать раневой экссудат, что способствует пролиферации фибробластов и миграции кератиноцитов. Последние два процесса очень необходимы для полной эпителизации и заживления раны. Кроме того, плотная сетчатая структура гидрогелей защищает рану от инфекции и препятствует проникновению микроорганизмов и бактерий в область раны. Значительное содержание воды в гидрогелях, обеспечивает необходимую гибкость и эластичность для формирования эффективного покрытия раны в различных участках тела. Их можно легко и безболезненно удалить с раневой поверхности. Гидрогелевые материалы обладают способностью поддерживать нормальное осмотическое давление клеток, что, в свою очередь, предохраняет рану от чрезмерного высыхания, это способствует грануляции, эпителизации и аутолитической санации раневой поверхности. Они также способствуют уменьшению боли, поддерживая влажность нервных окончаний и, таким образом, улучшая качество жизни пациента [97, p. 220; 102].

Пористая структура гидрогелей позволяет эффективно доставлять биологически активные вещества к месту поражения. Однако высокое содержание воды в гидрогелях способствует быстрому высвобождению из них лекарственных веществ. Для увеличения продолжительности высвобождения ЛВ применяют физическое или химическое взаимодействие ЛВ с полимерной матрицей [103]. Молекулы ЛВ могут быть вовлечены в гидрогелевую матрицу как в процессе гелеобразования [104], так и после [105].

Несмотря на очевидные преимущества гидрогелевых повязок, у них есть некоторые недостатки. Из-за высокого содержания воды (до 90%) гидрогелевые раневые повязки имеют относительно слабые механические свойства, и их применение часто требует использования вторичной повязки. Этот недостаток можно устранить путем получения композиционных гидрогелевых повязок или на основе сополимеров.

Раневые перевязочные материалы постоянно и значительно менялись в течение последних лет. В настоящее время активно разрабатывается широкий спектр средств по уходу за ранами различного генеза. Известны такие гидрогелевые раневые повязки, как альгинатные, плоские [106], гидроколлоидные [107], аморфные, пенные [108], а также повязки на основе пленочных, губчатых и композиционных материалов [109], состоящие из волокнистой подложки, пропитанной гелеобразующим полимером(рисунок 4).



(А) (Б) (В)

плоская (А); аморфная (Б); волокнистая подложка, пропитанная гелеобразующим полимером (В)

Рисунок 4 - Типы гидрогелевых повязок

Альгинатные покрытия представляют собой натриево-кальциевую соль альгиновой кислоты. Это пористые, хорошо сорбирующие, гипотравматичные пластины толщиной ~10 мм. После нанесения покрытия на рану при контакте с экссудатом соль альгиновой кислоты образует гель на поверхности раны. Такие покрытия способствуют активному росту грануляций [110].

Гидрогелевые покрытия (плоские) наиболее распространенные, представляющие собой системы из нерастворимых полимеров с гидрофильными центрами, абсорбирующие и удерживающие значительное количество воды, способствующие эпителизации раны, регидратации и отторжению сухого некротического струпа. Гидрогели напоминают натуральную живую ткань больше, чем любой другой класс синтетических материалов из-за их высокого содержания воды и мягкой консистенции. Пористая структура гидрогеля позволяет выполнять функцию дренирующих сорбентов. При этом происходит отток как раневого экссудата, так и микроорганизмов. Однако плоские гидрогелевые покрытия обладают низкой механической прочностью и подвергаются пересыханию [111, 112].

Гидроколлоидные повязки – представляют собой гетерогенную систему, матрица которой представлена, в основном, в виде полупроницаемых (по отношению к влаге и кислороду) пленок, пен, нетканых полиэфирных материалов, содержащих межфазный слой гидрофильных коллоидных частиц на основе природных полимеров (например, коллаген, желатин, хитозан и их производные). Гидроколлоидные повязки эффективней всего применять в I и II

фазах раневого процесса либо при лечении ран с умеренным отделяемым. [111, с. 1634; 113].

Аморфные (гелевые) повязки представляют собой мягкие гели, применяемые для глубоких ран, однако обладают достаточной структурной целостностью, чтобы функционировать самостоятельно без вторичной повязки. Пены также применяются в качестве перевязочного материала, абсорбирующая способность которых зависит от полимерной матрицы [114].

Пленочные покрытия в большинстве случаев прозрачны, они позволяют наблюдать за процессом заживления раны без его удаления. Они полупроницаемы по отношению к кислороду, парам воды, практически не проницаемы по отношению к влаге и бактериальной контаминации. Пленочные покрытия чаще всего используют на стадии эпителизации при отсутствии сильного увлажнения раны [114, с. 64; 115]. Для лечения ожогов и трудно заживаемых кожных ран разрабатываются различные типы полимерных пленок, содержащих антимикробные и противовоспалительные препараты.

На рынке перевязочных материалов можно наблюдать относительно новые продукты - марлю, пропитанную гидрогелем. Повязки на основе хлопковой марли с гидрогелями создает композитные материалы, которые облегчают процесс заживления ран [116, 117] и улучшают физико-химические свойства гидрогелей, такие как механическая прочность, гибкость, смачиваемость, адгезия и биосовместимость [118, 119].

Для придания повязкам лечебных свойств в их состав включают биологически активные вещества разнонаправленного действия. Чаще всего в полимерную матрицу вводят лекарственные препараты, экстракты растений, стволовые клетки, протеины и т.д [110, с. 556; 114].

Технологии применяемые при модификации гидрогелевых перевязочных материалов позволяют иммобилизовать лекарственные препараты в объем полимерной матрицы, в результате чего по мере набухания гидрогеля раневым экссудатом происходит медленное высвобождение ЛВ оказывая при этом длительное лечебное воздействие [110, с. 556]. Благодаря наличию легко вступающих в самые разнообразные химические реакции активных функциональных групп у полимеров и существующим технологическим методам переработки, производят губки, спреи, гели, гидрогели, мембраны; перспективно их использование в тканевой инженерии (в качестве полимерных скаффолдов) [114, с. 67; 120].

Одним из наиболее перспективных полимеров для создания раневых покрытий является биосовместимый и биодеградируемый аминополисахарид хитозан. Его считают вторым распространенным биополимером после коллагена, используемым в качестве повязок для ран, благодаря антимикробной активности, устойчивости к условиям окружающей среды, высокой адсорбционной способности, адгезивной природе, противогрибковым свойствам и превосходной проницаемости для кислорода [121, 122].

Гидрогели на основе хитозана играют положительную роль на различных стадиях заживления ран. На первой фазе коагуляции и гемостазы, начинающиеся сразу после травмы, хитозан способствует поверхностному

тромбозу и свертыванию крови и ускоряет свертывание in vivo, влияя на активацию тромбоцитов. Хитозан – это гемостат, который помогает в естественном свертывании крови и блокирует нервные окончания, тем самым уменьшая боль. Благодаря своему гемостатическому эффекту он ускоряет образование слоя фибробластов, что увеличивает скорость заживления [123]. Во второй фазе происходят воспалительные процессы, опосредованные цитокинами, хемокинами, факторами роста и их действием на клеточные рецепторы. В этой фазе активируются внутриклеточные сигнальные каскады, способствующие пролиферации, миграции и дифференцировке клеток, тем самым инициируя восстановление раны. В этом процессе гидрогели на основе хитозана могут регулировать активность родственных клеток и высвобождать факторы, тем самым формируя соответствующее воспалительное микроокружение, способствующее заживлению. Третья фаза – пролиферация – начинается на 2-10 дней после травмы и охватывает основные процессы заживления, характеризуется пролиферацией и миграцией в различных типах клеток. Хитозан активирует макрофаги для опухолевой активности, постепенно деполимеризуется, чтобы высвободить N-ацетил-β-d-глюкозамин. В результате гидрогели на основе хитозана могут стимулировать пролиферацию фибробластов, ангиогенез, регулярное отложение коллагена и повышать уровень синтеза естественной гиалуроновой кислоты (ГК) в месте раны. Это помогает в более быстром заживлении ран и предотвращении рубцов [123, p. 21; 124].

Различные составы гидрогелевых повязок на основе хитозана могут способствовать заживлению ран в различные периоды и ослаблять неблагоприятные факторы, влияющие на заживление ран.

Уникальные биологические свойства гидрогеля на основе хитозана позволяют ему служить как раневой повязкой, так и системой с лекарственными средствами для доставки антибактериальных агентов, факторов роста фибробластов, стволовых клеток и так далее, что может еще больше ускорить заживление ран.

Подвергая растворы хитозана с фото сшивающими агентами ультрафиолетовому облучению Ishihara с группой коллег получили нерастворимый мягкий гидрогель. Для оценки ранозаживляющей способности провели эксперименты *in vivo* (на мышах), которые продемонстрировали значительное сокращение раны, а также ее заживление в сравнении с необработанными контрольными повреждениями кожи. Гистологическое исследование также показало повышенную частоту сокращений раны в первые 2 дня и частоту заполнения тканей на 2-4 дни в ранах, обработанных гидрогелем на основе хитозана [125]. В другом исследовании Ishihara и др. установили, что добавление факторов роста фибробластов-2 (FGF-2) в гидрогель хитозана, полученный тем же способом ускоряет закрытие раны как здоровых, так и мышей больных диабетом. Гистологическое исследование также продемонстрировало прогрессивное образование грануляционной ткани, образование капилляров и эпителизацию в ранах, обработанных гидрогелями хитозана, с содержанием факторов роста FGF-2 [126].

В исследованиях Mi и др., полученная губчатая мембрана на основе хитозана показала отличную проницаемость для кислорода и улучшенную способность дренажа жидкости. Раневое покрытие способствовало быстрому заживлению. Гистологические исследования подтвердили, что скорость эпителизации была увеличена, и отложение коллагена в дерме было хорошо организовано [50, p. 170].

В последнее время создаются полимерной конструкции *in situ*. Эта методика основана на способности полимеров спонтанно образовывать твердотельные формы при введении раствора полимера в воду. В результате взаимодействия хитозана и агарозы были получены гидрогели, способные застывать в желаемом месте в результате взаимодействия полимеров. Так исследователями [127] получен термочувствительный гель *in situ* с использованием хитозана и агарозы. Эффективность гидрогеля в процессе заживления ран оценивали с помощью анализов *in vivo* в течение 21 дня. Полученные результаты показали, что гидрогель имеет размер пор (90–400 мкм), совместимый с клеточной интернализацией и пролиферацией. Улучшенное заживление и отсутствие реактивной или гранулематозной воспалительной реакции при повреждениях кожи, обработанных гидрогелем, демонстрируют его пригодность для использования в ближайшем будущем в качестве повязки на рану.

На основе хитозана сшитого диазидом терефталевой кислоты синтезированы pH- и термочувствительные гидрогели, которые характеризуются высокой набухающей способностью (500 г H_2O на 1 г полимера) [128].

Использование антимикробных свойств природного полисахарида позволяет разрабатывать повязки с улучшенными ранозаживляющими свойствами [46 p. 497]. В одном из исследований W. Mozalewska и др. представили удобный способ изготовления перевязочных материалов из гидрогеля путем введения хитозана в гидрогели поливинилпирролидана и агара (ПВП/агар). Антимикробные исследования показали подавление роста грамположительных бактерий в присутствии хитозана в этих гидрогелях [129].

Однако точные механизмы антимикробного действия хитозана остаются неясными. Хитозан лишь при определенных условиях способен проявляет антимикробные свойства. Поэтому перспективными являются гидрогелевые повязки, содержащие антимикробные вещества

Наночастицы серебра (nAg) является антимикробным агентом широкого спектра действия обладающий множеством механизмов против микробов, что значительно снижает вероятность развития резистентности. НЧ серебра обладает более эффективным противомикробным действием, чем ионное серебро из-за их лучшего проникновения [130]. Антибактериальная активность наночастиц серебра связана с их размером, причем более мелкие частицы (9–15 нм) обладают более высокой активностью за счет большой удельной площади поверхности [131, 132].

Модификация гидрогелевых полимеров с использованием частиц наносеребра может привести к образованию материалов с повышенными

антибактериальными свойствами. Tyliszczak и др. установили, что гидрогели на основе хитозана, модифицированные наночастицами серебра, обладают антимикробной активностью по отношению к *Staphylococcus aureus*. Исследования цитотоксичности показали, что экстракты, содержащие наносеребро, проанализированные после 24 часов воздействия, не проявляют токсической активности по отношению к клеткам дермы, поэтому гидрогели на основе хитозана модифицированные наночастицами серебра, могут быть использованы для биомедицинских целей в связи с их нетоксичностью и биоразлагаемостью [133].

Для лечения язв диабетической стопы Anisha с коллегами разработали противомикробную губку, состоящую из хитозана, гиалуроновой кислоты и наносеребра. Произведенные губки оказали противомикробное действие против кишечной палочки, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas.aeruginosa* и *K. pneumonia*. Кроме того, губки с повышенной концентрацией nAg (0,005%, 0,01% и 0,02%) оказались наиболее эффективными и приводили к снижению роста *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) *in vitro* [134].

Недавно был разработан усовершенствованный хлопковый марлевый композит, отвечающий всем требованиям типичных повязок. Хлопковая марля была покрыта нанокомпозитным слоем хитозан-Ag-ZnO. В результате, увеличивалась ее способность к набуханию и улучшалась антибактериальная активность по оотношению к *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [135].

В последнее время внимание исследователей привлекают многослойные многофункциональные покрытия. Для лечения инфицированных ран Нао с коллегами разработали двухслойную мембрану на основе хитозана с сульфадиазином серебра, состоящие из плотного верхнего слоя (кожного слоя) и губчатого нижнего слоя (подслоя) [41, p. 448]. Показано, что при нанесении повязки на рану сульфадиазин серебра растворяется с выделением сульфадиазина и серебра. При этом в первый день высвобождается максимальное количество (ударная доза) сульфадиазина а затем скорость высвобождения постепенно уменьшается. Однако высвобождение серебра из двухслойной хитозановой повязки демонстрировало профиль медленного высвобождения с устойчивым увеличением концентрации серебра. Антибактериальные тесты *in vivo* подтвердили эффективность ингибирования роста патогенной микрофлоры против *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* в инфицированном месте раны в течении недели.

Наряду с устойчивой бактерицидной активностью гели на основе хитозана с НЧ серебра демонстрируют длительное пролонгированное высвобождение ионов серебра из полимерной матрицы [136].

Наночастицы оксида цинка (nZnO) также обладают антибактериальной активностью, и в настоящее время они применяются при получении антибактериальных материалов биомедицинского назначения, в том числе и раневых повязок [121, p. 325]. Sudheesh Kumar получили микропористые, гибкие композитные повязки на основе хитозанового гидрогеля и nZnO. Полученные высокопористые гидрогели полезны в отношении поглощения больших объемов экссудата раны. Установлено, что гидрогели на основе

хитозан/nZnO улучшают свертываемость крови, способствует активации тромбоцитов и быстрому заживлению ран. Исследования антибактериальной активности *in vitro* и *in vivo* показали высокий антибактериальный потенциал и может быть рекомендована для лечения ожоговых, хронических и диабетических ран [137].

Раневые повязки на основе материалов природного происхождения часто обладают желательными биологическими свойствами и могут влиять на функцию клеток, но они ограничены плохими механическими свойствами и быстрыми профилями деградации. Использование синтетических полимеров (ПВС, ПЭГ, ПВП) обеспечивает механическую прочность. Однако, им не хватает биоактивных свойств природного материала [42, p. 31]. Поэтому необходимо производить гибридные материалы, комбинируя синтетические и природные полимеры, и сохранять желательные характеристики обоих материалов.

Физические, химические и механические свойства хитозана могут быть улучшены путем модификации, а также комплексообразования или сшивания с другими полимерами как природного, так и синтетического происхождения и/или сшивающими агентами. Ковалентное сшивание хитозана бифункциональными сшивающими агентами (например, генипин) приводит к образованию сетчатой структуры, придающий полимерной сетке механическую прочность и в то же время обеспечивает свободную диффузию воды [138]. При таком подходе можно создавать гидрогелевые повязки на основе хитозана с улучшенными лечебными свойствами. Они включают увеличенную абсорбционную способность экссудата, увеличенную адгезивную и противобактериологическую емкость. Большинство покрытий на основе хитозана не содержат лекарственных веществ.

Wang и др. разработали гибкие и прозрачные мембраны на основе хитозан-альгинатного полиэлектролитного комплекса (ПЭК). Исследования показали отсутствие токсичности у мембран по отношению к клеткам фибробластов мыши и человека. Мембраны были оценены в качестве потенциальных материалов для раневой повязки. По сравнению с обычной марлевой повязкой ПЭК мембраны вызывали ускоренное заживление разрезов у опытных крыс [139].

Гидрогели на основе смеси хитозана с поливиниловым спиртом (ХТ/ПВС) широко используются в качестве раневых повязок, и ряд исследований показал, что эти композиционные материалы улучшают заживление ран, а также антибактериальную активность [140, 141].

El-Salmawi и др. продемонстрировали получение гидрогелей ХТ/ПВС с использованием воздействия различных доз γ-излучения [140, p. 542]. Результаты показали, что набухающая способность гидрогелей увеличивается с увеличением содержания хитозана. Добавление хитозана к ПВС привело к подавлению микробиологического роста бактерий, грибов и микроорганизмов. Полученные ХТ/ПВС гидрогели можно рассматривать как хороший барьер против микробов, благодаря высокой плотности сшивания полимерной сетки, полученной в результате воздействия высокой дозы гамма-излучения. Все эти

исследования показали, что гидрогели ХТ/ПВС обладают отличным потенциалом для применения в качестве перевязки для ран. Авторами [141, p. 1204] были получены гидрогели на основе ХТ/ПВС с наночастицами цинка (nZnO). Полученный гидрогель обладал хорошими механическими свойствами в сухом и влажном состоянии и добавление nZnO улучшило их паропроницаемость и набухающие свойства. Скорость высвобождения гепарина из образцов гидрогеля была более устойчивой при добавлении наночастиц ZnO, по сравнению с гидрогелевыми повязками без nZnO. Тесты на токсичность и антимикробные свойства показали, что вырабатываемые бионанокомпозиты не токсичны и обладают соответствующей антибактериальной активностью, особенно при высоких концентрациях nZnO.

Поливинилпирролидон (ПВП) и полиэтиленгликоль (ПЭГ) – эти гидрофильные и биосовместимые материалы были тщательно изучены в качестве перевязочных материалов, в связи с их высокой водопоглощаемостью и проницаемостью для кислорода. ПВП обычно смешивают с другими полимерами для изменения его растворимости, свойств доставки, мягкости и эластичности. Gupta и др. получили гидрогель ХТ/ПЭГ/ПВП со скоростью проникновения водяного пара в диапазоне 2000-3500 г/м^2 в сутки, что указывает на умеренное поглощение экссудата. Использование гидрохлорид тетрациклина в качестве модельного препарата в гидрогелевой матрицепоказало быстрое заживление с минимальным рубцеванием [116, p. 92].

Chen и др. установили, что гидрогель ХТ/ПЭГ обладает хорошими механическими свойствами и соответствующими показателями деградации. Хитозан ингибирует инфильтрацию воспалительных клеток и усиливает рост фибробластов, а ПЭГ способствует эпителиальной миграции. Будь то небольшие порезы или глубокие раны, гидрогель ХТ/ПЭГ может способствовать заживлению ран с высоким качеством [142].

В работе [143] получены матрицы на основе тиолированного хитозана с поли(N-изопропилакриламидом), содержащие ципрофлоксацин. Обнаружено, что лекарственная форма непрерывно высвобождает включенный ципрофлоксацин, обеспечивая пролонгированную защиту раны в течение длительного периода. Комбинация тиолированного хитозана с поли(N-изопропилакриламидом) и ципрофлоксацином показала антибактериальные свойства в отношении бактерий *Escherichia coli*, и вполне может быть предложена в качестве раневого покрытия.

Авторами [144] разработаны инновационные раневые покрытия с нановолокнами хитозана «Хитомед-ранозаживляющие» методом электроформования по технологии NanoSpider®. Отличительной особенностью раневого покрытия является высокоразвитая поверхность и пористость, что делает его эффективным при лечении ожогов, незаживающих ран и трофических язв.

Биосовместимые композитные нановолокна хитозан/серицин (диаметром от 240 до 380 нм) полученные методом электроспиннинга показали хорошую бактерицидную активность против грамположительных и грамотрицательных

бактерий, могут способствовать пролиферации клеток и являются перспективными для применения в перевязочных материалах [145].

Коммерчески доступные раневые покрытия «Коллахит» представляют собой пористые губки или пленки на основе комплекса хитозана с коллагеном. В продаже имеются варианты раневых повязок с антисептическими препаратами такими, как фурагин («Коллахит-ФА»), шиконин («Коллахит-Ш»), а также с местным анестетиком («Коллахит-А»).

Гидрогелевое раневое покрытие «Хитоскин» также состоит из смеси хитозана с коллагеном поперечно сшитого бифункциональными агентами (формальдегид, глутаровый альдегид и др.) с добавлением в качестве пластификаторов желатинирующих веществ (аммонийных соединений). В качестве биологически активных веществ в состав покрытия вводят фермент супероксиддисмутаза или соли серебра [146].

Таким образом, гидрогели на основе хитозана рассматривается как идеальный материал благодаря его биосовместимым и антимикробным эффектам, и эти свойства гидрогелей на основе хитозана могут быть модифицированы различными природными или синтетическими полимерами. При лечении хронических, глубоких и сложных ран необходимо использовать функциональные раневые повязки, обладающие способностью высвобождать терапевтические препараты, факторы роста фибробластов, стволовые клетки, пептиды или другие активные вещества с пролонгированным высвобождением для более эффективного лечения. Резюмируя, можно сказать, что гидрогели на основе хитозана, в качестве повязки и системы доставки лекарств, имеют большой потенциал для клинического применения в заживлении ран.

1.3 Промышленные методы синтеза гидрогелевых лекарственных форм

Существует множество методов, которые можно использовать для синтеза гидрогелей: ступенчатая или цепная полимеризация гидрофильных мономеров с их одновременным химическим сшиванием, химическая прививка мономеров к полимерным цепям физическое сшивание полимеров (водородные связи, силы Ван-дер-Ваальса, кристаллизация, образование стереокомплекса и ионные взаимодействия), химическое сшивание полимеров (реакции между различными химическими группами, сшивание с использованием сшивающего агента или с использованием ионизирующего или ультрафиолетового излучения) [147–149].

В качестве сшивающих агентов широко использовались бифункциональные молекулы, такие как N,N-метиленбисакриламид, диметакрилаты или полифункциональные макромолекулы [150, 151]. В этом случае набухающую способность полимерных сетей можно легко контролировать, изменяя концентрацию сшивающего агента в исходной мономерной смеси [152].

Химическая прививка – это общепринятый метод, используемый для модификации свойств полимеров. Прививка обычно может быть осуществлены двумя подходами: «прививание от» и «прививание к» [153, 154].

Синтез гидрогелей в форме взаимопроникающей сети (ВПС) позволяет улучшить их свойства путем объединения характеристик двух компонентов в одном материале [155]. Недавно авторы [156] получили ВПС на основе чувствительного к температуре поли-N-изопропилакриламид (ПИПАМ) и pH-чувствительной гиалуроновой кислоты (ГК) путем радикальная полимеризация. ВПС из гидрогеля ГК/ПИПАМ были чувствительны как к pH, так и к температуре, и на них влияло содержание сшивающего агента. Синтезированный материал можно наносить на кожу в качестве системы трансдермальной доставки лютеолина для лечения псориаза.

Недостатком всех этих способов получения гидрогелевых перевязочных материалов является наличие остаточных мономеров, инициаторов или сшивающих агентов, которые часто являются токсичными и могут непрерывно вымываться из сети. Таким образом, производства гидрогелей описанными выше методами требует внедрения процессов очистки, которые обычно выполняются путем вымывания гидрогеля в избытке воды и занимают до нескольких недель. Этот этап в процессе синтеза может усложнить технологию производства и может привести к увеличить стоимость конечного продукта. Применение метода постполимеризации с помощью термической обработки или облучения высокой энергией устраняет необходимость удаления непрореагировавших компонентов из сети [157, 158].

Сшивание полимеров является более распространенным способом получения гидрогелевых раневых повязок, поскольку позволяет избежать загрязнения конечного продукта непрореагировавшими токсичными или раздражающими компонентами (мономеры и инициатор). Для получения гидрогелей биомедицинского назначения предпочтение отдают физическим [159] либо радиационным [160] методам сшивания. Поскольку эти способы не включают использование сшивающих агентов, органических растворителей и химических реагентов

Радиационная технология получения гидрогелевых раневых повязок, была изобретена Rosiak и др. [161]. На сегодняшний день радиационная технология сшивания водорастворимых биосовместимых природных и синтетических полимеров является одним из широко используемых способов изготовления гидрогелей для ухода за ранами.

Радиационная технология сшивания имеет много преимуществ по сравнению с другими традиционными методами синтеза гидрогелей, а именно: не требуется применения инициаторов, мономеров и сшивающих агентов, которые требуют дополнительной очистки из-за их потенциальной токсичности; одновременное сшивание и стерилизация конечного продукта [162].

Радиационное облучение (γ- или ускоренными электронами) водных растворов полимеров и гидроксильных радикалов, образующихся в результате радиолиза молекул воды, инициирует образование свободных радикалов на полимерной цепи путем расщепления C-H связей. При химической инициации свободные радикалы образуются в результате разложения инициатора на фрагменты, которые затем атакуют основной полимер, приводя к свободным

радикалам. Однако химическое инициирование ограничено концентрацией и чистотой инициаторов. В случае радиационной сшивки мощность дозы облучения может широко варьироваться, и, таким образом, позволяет получать гидрогели с желаемыми характеристиками. Кроме того, в радиационно-индуцированном процессе образование центров свободных радикалов на полимере не зависит от температуры, а зависит только от поглощения проникающей высокоэнергетической радиации полимерной матрицей [163].

Разработаны радиационные методы изготовления гидрогелевых повязок для смесей синтетических полимеров (полиакриламида и поливинилпиролидона) и природных полимеров (например, желатина или агар-агара) с полиэтиленгликолем, полипропиленгликолем и силиконовыми маслами в качестве пластификаторов. Эти смеси подвергают облучению с дозами не менее 25 кГр [164]. Комбинация различных полимеров в сетки обеспечивает лучшую механическую прочность, набухание и потенциал заживления ран. Использование синтетических полимеров (ПВС, ПЭГ, ПВП) обеспечивает механическую прочность, а природные компоненты - хорошие характеристики набухания и потенциал для заживления ран (например, хитозан обеспечивает противомикробные и ранозаживляющие свойства). Авторы [165] осуществили модификацию стеркуловой камеди с помощью ПВС-ПВП посредством радиационной сшивки, чтобы разработать гидрогели для доставки антимикробного агента к ранам.

2 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

2.1 Характеристика исходных веществ

Хитозан молекулярной массы ~310-375 кДа и степенью деацетилирования 75 - 85% производства фирмы «Sigma-Aldrich» (Исландия) использовали без предварительной очистки.

Поли(2-этил-2-оксазолин) молекулярной массы ~50 кДа производства «Sigma-Aldrich» (США) использовали без предварительной очистки.

Агар-агар микробиологический производства фирмы «Sigma-Aldrich» (США) использовали без предварительной очистки.

Поли-N-винилпирролидон молекулярной массы ~ 1500 кДа производства фирмы «Merck» (Германия) использовали без предварительной очистки.

Полиэтиленгликоль молекулярной массы ~ 600 Да производства фирмы «Merck» (Германия) использовали без предварительной очистки.

Соляная кислота производства фирмы «Fluka Analytical» (Германия) 37% водный раствор использовали без дополнительной очистки.

Натриевая соль флуоресцеина, BioReagent для флуоресценции, производства фирмы «Sigma-Aldrich» (США) использовали без дополнительной очистки.

Глицерин, 84-88% аналитический раствор марки «х.ч.» производства фирмы «РеактивСнаб» (Казахстан) использовали без предварительной очистки.

Ципрофлоксацин производства фирмы «Sigma-Aldrich» (США) использовали без дополнительной очистки.

Бычий сывороточный альбумин производства фирмы «Sigma-Aldrich» (США) использовали без дополнительной очистки.

Молочная кислота производства фирмы «Sigma-Aldrich» (США) использовали без дополнительной очистки.

Мочевина производства фирмы «Sigma-Aldrich» (США) использовали без дополнительной очистки.

N,N'–метилен-бис-акриламид производства фирмы «Sigma-Aldrich» (США) марки «х.ч.» использовали без предварительной очистки.

Лидокаина гидрохлорида моногидрат производства фирмы «Sigma Aldrich» (Тайвань) марки «х.ч.» использовали без предварительной очистки.

Диализная целлюлозная мембрана, с размером пор 14 кДа производства фирмы «Sigma Aldrich» (США) использовалась после выдерживания в дистиллированной воде в течении 5-10 минут.

Хлориды натрия и кальция производства фирмы «РеактивСнаб» (Казахстан) использовали без предварительной очистки.

Калия гидроксид производства фирмы «РеактивСнаб» (Казахстан) использовали без предварительной очистки.

Кальция гидроксид, полученный гашением оксида кальция использовали без предварительной очистки.

Глюкоза производства фирмы «РеактивСнаб» (Казахстан) использовали без предварительной очистки.

Натрия гидрокарбонат и натрия гидрофосфат производства фирмы «РеактивСнаб» (Казахстан) использовали без предварительной очистки.

Для приготовления растворов использовали деионизированную воду.

2.2 Приготовление растворов

2.2.1 Приготовление исходной реакционной смеси для синтеза гидрогелей на основе хитозана

Приготовление формовочного раствора включало проведение следующих операций: набухание хитозана в воде с последующим добавлением 0,1 н HCL и доведением системы до полного растворения, растворение ПЭГ и ПВП в дистиллированной воде при температуре 70 °С в течении 1-1,5 часа, растворение агар-агара в дистиллированной воде при температуре 80-90 °С в течение 1-2 часов, растворение нитрата серебра $AgNO_3$ в небольшом количестве воды, смешение растворов хитозана, ПЭГ с ПВП, агар-агара и раствора нитрата серебра до полной гомогенизации в течении 1-2 часа при комнатной температуре. Расчет навески полимеров проводили, исходя из определенного объема и концентрации компонентов в растворе. Концентрация компонентов гидрогеля в конечном растворе составляло: 1,25 масс. % ХТ, 1,5 масс. % ПЭГ, 7,0 масс. % ПВП, агар-агара от 0,2 до 0,5 масс. % и 100 ppm нитрата серебра. Полученный раствор оставляли при комнатной температуре в течение 20-24 часов для обезвоздушивания и стабилизации.

2.2.2 Приготовление пленкообразующих растворов полимеров

Растворы хитозана готовили с концентрацией 0,75, 1,0 %. Для этого сухую навеску полимера (7,5 и 10 г) растворяли в 0,025-0,03Н водном растворе соляной кислоты при постоянном перемешивании на магнитной мешалке в течении 20-24 часов при комнатной температуре до полного растворения.

Растворы поли(2-этил-2-оксазолина) с концентрацией 0,75 и 1,0% получены растворением массы сухой навески полимера в дистиллированной воде в течении 1-1,5 ч при комнатной температуре и непрерывном перемешивании.

2.2.3 Приготовление физиологических растворов и раствора лекарственного вещества (ЛВ)

Раствор искусственной слезной жидкости (ИСЖ) получен согласно методике [166], навески хлорида натрия (3,35 г), бикарбоната натрия (1,0 г) и хлорида кальция (0,0305 г) растворяли в 1 л деионизированной воды и перемешивали с помощью магнитной мешалки до полного растворения при комнатной температуре.

Раствор искусственной слюны приготовлен с использованием следующих солей Na_2HPO_4 (0,426 г), $NaHCO_3$ (1,68 г), $CaCl_2$ (0,147 г). Взвешенные навески указанных солей растворяли в дистиллированной воде в колбе объемом на 1 литр с добавлением 2,5 мл 1М HCl при комнатной температуре.

Раствор искусственной вагинальной жидкости (ИВЖ) готовили по методике, описанной в литературе [167]: NaCl (3,51 г), KOH (1,40 г), $Ca(OH)_2$ (0,222 г), бычий сывороточный альбумин (0,018 г), молочная кислота (2,0 г), уксусная кислота (1,0), глицерин (0,160 г), мочевина (0,4 г), глюкоза (5,0). Взвешенные навески указанных веществ растворяли в дистиллированной воде в колбе объемом на 1 литр при комнатной температуре, затем полученный раствор доводили до pH 4,2 используя 1M HCl.

Для приготовления концентрированного раствора гидрохлорида ципрофлоксацина с концентрацией 10 мг/мл сухую навеску массой 0,1 г ципрофлоксацина (ЦПФ) растворяли в 0,4 мл 1M HCl, затем доводили общий объем до 10 мл и перемешивали до полного растворения.

2.3 Синтез гидрогелей на основе хитозана

Гидрогелевая раневая повязка получена путем смешения водных растворов полимеров ХТ, ПЭГ с ПВП, агар-агара и водного раствора нитрата серебра до полной гомогенизации. Полученная смесь отливалась на подложки прямоугольной формы из поливинилхлорида и герметично запаивалась по периметру алюминиевой фольгой. Радиационное сшивание гидрогеля проводилось с использованием линейного ускорителя электронов ЭЛВ-4 на базе Института ядерной физики Национального ядерного центра Республики Казахстан (ИЯФ НЯЦ РК, пос. Алатау, Алматинская обл.) Расфасованные образцы подвергались радиационной обработке с дозой облучения 14-24 кГр.

2.4 Формование полимерных пленок на основе хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин)

Приготовленные растворы пленкообразующих полимеров смешивали в следующих объемных соотношениях ХТ/ПОЗ 80:20; 60:40; 40:60. Кроме этого получены пленки из чистых растворов полимеров ХТ (100) и ПОЗ (100). Пленки на основе ХТ, ПОЗ и ХТ/ПОЗ получены методом полива полученных смесей полимеров на пластиковые подложки. В качестве пластификатора в растворы полимерных смесей добавляли от 5 до 15 масс. % глицерина от массы сухого полимера. Флуоресцентные пленки получены путем добавления раствора флуоресцеина натрия в полимерную смесь, так что его конечная концентрация в смеси составила 0,1 мг/мл. Отлитые на полимерные подложки растворы смесей полимеров высушивались на воздухе до установления постоянной массы. Пленки с лекарственным веществом приготовлены по методике, описанной выше. В смеси полимерных растворов добавляли раствор гидрохлорида ципрофлоксацина с последующим перемешиванием в течение 2 часов. Затем приготовленные растворы выливали в чашки Петри и сушили на воздухе до установления постоянной массы.

2.5 Получение термически сшитых пленок основе хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин)

Смеси полимерных растворов приготовлены по аналогичной методике (см. 2.4), за исключением добавления точной навески сшивающего агента N,N’–

метилен-бис-акриламида в раствор ПОЗа. При формовании пленки из чистого хитозана N,N'–метилен-бис-акриламид предварительно растворяли в 1 мл дистиллированной воды, поскольку он не растворим в вязком растворе хитозана. В качестве пластификатора в растворы полимерных смесей добавляли 0,3 об. % глицерина. Полученные смеси перемешивали на магнитной мешалке в течении часа до полной гомогенизации, затем отливали в пластиковые подложки и оставляли сушиться при комнатной температуре в течение нескольких дней. Высушенные до постоянной массы образцы пленок ХТ/ПОЗ подвергали термической обработке в сушильном шкафу при температуре 100 °С и 110 °С в течение 4, 6 и 8 часов.

2.6 Физико-химические методы исследования

Выход гель – фракции и золь – фракции сшитых пленок и гидрогелей рассчитывали по формуле (1):

$$G = \frac{m_{сух.отм}}{m_{синт}} \cdot 100\% \quad (1)$$

где $m_{сух.отм.}$ – масса сухого образца гидрогеля/пленки после промывки; $m_{синт}$ – начальная масса гидрогеля/плёнки (синтезированного).

Кинетику набухания сшитых пленок и гидрогелей изучали методом гравиметрии. Гидрогели в виде дисков с размерами 9-10 мм в диаметре и 2-3 мм высотой помещали в дистилированную воду, изотонический и фосфатно – буферный растворы при температуре 37 °С и комнатной температуре. Образцы сшитых пленок погружали в сосуд с дистиллированной водой и выдерживали до достижения равновесного значения массы при комнатной температуре. Через определенные промежутки времени образцы вынимали, остаточную влагу убирали с помощью фильтровальной бумаги, далее образцы взвешивали. Степень набухания пленок и гидрогелей рассчитывали по формуле (2):

$$\alpha = (m - m_o) / m_o \quad (2)$$

где m – масса равновесно набухшего гидрогелевого образца в момент времени *t*, m_o – масса сухого образца. Массу сухой и набухшей пленки определяли на аналитических весах с точностью 0,0001. Значение степени набухания определяли, как усредненное значение трех параллельных опытов.

Определение pH повязок. Для измерения pH повязок образцы синтезированных гидрогелей погружали в стаканы с дистиллированной водой и замеряли значение pH на приборе Metrohm 781 pH/Ion Meter.

*ИК спектры** водорастворимых пленок ХТ и ХТ/ПОЗ получены с использованием спектрометра Nicolet iS5 (Thermo Scientific, Великобритания) с Фурье преобразователем, с разрешением 1 $см^{-1}$ и числом сканирования – 32.

* Исследования проводились во время научной стажировки в университете Рединг, Школа Фармации (г. Рединг, Великобритания)

ИК-спектры† образцов термически сшитых плёнок записывались на ИК спектрометре с Фурье преобразованием “Vertex 70V Bruker” (Германия) в области 4000 – 500 $см^{-1}$. Образцы для анализа были использованы в виде пленок размером 1×1 см.

*Термический анализ пленок** проводили с помощью термогравиметрического анализатора Q50 TGA (TA Instruments, Великобритания). Образцы пленок весом 5-8 мг помещали в алюминиевые тигли и нагревали от 20 до 600 °C со скоростью нагрева 10 °C/мин в атмосфере азота. Содержание влаги в каждой пленке определяли по потере веса, соответствующей потере веса на первом этапе на кривых ТГА (примерно до 150 °C).

Дифференциально-сканирующей калориметрии образцов проводили на приборе TA-Q2000 DSC (TA Instruments, Великобритания). Температуры стеклования ($Т_{ст}$) определяли по скачкам теплоемкостей на термограммах ДСК. Образцы весом 4-5 мг герметизировали в стандартных алюминиевых тиглях с проколотыми крышками для того, чтобы абсорбционная влага испарялась при нагревании. В связи с тем, что параметры термоанализа, в частности, температура стеклования, достаточно чувствительны к условиям проведения эксперимента и присутствию влаги внутри полимеров, сначала образцы пленок предварительно прогревали до 80°C при скорости 10°C /мин, потом охлаждали жидким азотом до 25°C со скоростью 10 °C /мин и затем уже в аппарате нагревали до 210°C со скоростью 20°C/мин. Термограммы ДСК каждой пленки регистрировали из второго цикла.

*Рентгеноструктурный анализ** пленок на основе ХТ и ХТ/ПОЗ оценивали при комнатной температуре с помощью дифрактометра Oxford Diffraction Gemini Ultra, оснащенного CuKα-излучением и чувствительным детектором Saturn (Oxford Diffraction Ltd., Великобритания). Образцы пленки разрезали на 1×1 см и сканировали со скоростью 2,5 $мин^{-1}$. Диапазон измерений 2θ = 6-120° с шагом сканирования 0,01° для всех образцов пленки.

*Микроснимки полимерных пленок и гидрогелей** получали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) с использованием прибора FEI Quanta 600 FEG (FEI UK Ltd., Великобритания) при ускоряющем напряжении 20 кВ. Изображения сняты с поверхности и поперечного сечения пленок, которые предварительно были заморожены в жидком азоте и покрыты золотым распылением для получения изображений с высоким разрешением. Образцы гидрогелей предварительно подвергались сухой заморозке (Freeze Dryer) и также покрывали золотым напылением.

*Механический анализ** на растяжение гидрогелей и на прокол пленок [168, 169] на основе хитозана произведен с использованием Texture Analyser Plus (Stable Micro Systems Ltd., Великобритания) при комнатной температуре с максимально приложенным усилием 0,049 Н. Механический предел прочности

---

* Исследования проводились во время научной стажировки в университете Рединг, Школа Фармации (г. Рединг, Великобритания)

† Исследования проводились в Центре физико-химических методов анализа при КазНУ им. аль-Фараби

на прокол (Р) пленок был рассчитан по формуле (3):

$$P = \frac{F}{Ar_s} \quad (3)$$

где F - максимально приложенное усилие, Н; Ar_s = 78,54 - площадь открытой части пленки, мм^2.

Относительное удлинение при разрыве (ε) представляет собой отношение между удлинением пленки в точке разрыва и начальной длиной образца и выражается в процентах (рисунок 5) [170]:

$$\varepsilon = \left(\frac{\sqrt{a'^2+b^2}+r}{a} - 1\right) \times 100\% \quad (4)$$

где a'-начальная длина образца пленки, мм; b-глубина вертикального смещение зонда, мм; r-радиус зонда; a-радиус пленки в отверстии держателя образца.

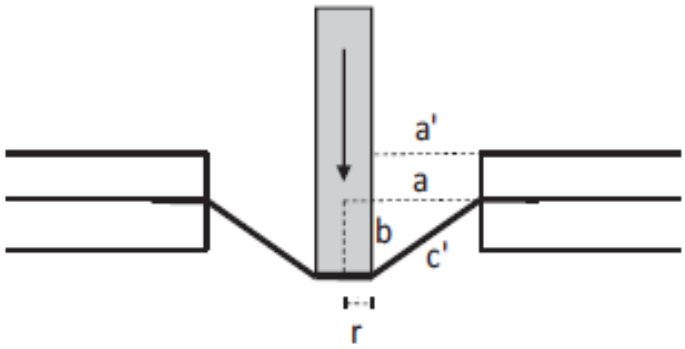


Рисунок 5 - Деформация образца пленки до разрыва (к расчету относительного удлинения пленок при прокалывании): $c' + r$ - длина после деформации; c' - удлинение пленки после деформации [170]

Исследование кинетики высвобождения лекарственного вещества из пленочных материалов. Исследование кинетики выделения ципрофлоксацина из полимерных пленок на основе ХТ и смесей ХТ/ПОЗ в фосфатно-буферный раствор и термически сшитых пленок в раствор искусственной слюны изучали методом диализа с использованием диффузионной ячейки Франца. Целлюлозную мембрану с размером пор 14 кДа использовали в качестве барьера и помещали между донорной и акцепторной частями ячейки. Через определенные промежутки времени производился отбор проб соответствующих растворов. Количество лекарственного вещества, высвобождаемого в каждом временном интервале, определяли по значениям оптической плотности растворов при длинах волн λ = 272 нм (для ципрофлоксацина) и λ = 270 нм (для лидокаина) с использованием спектрофотометра Specord 200 Plus (Analytic Jena, Германия). Концентрацию высвобожденного лекарственного вещества определяли с помощью калибровочного графика зависимости оптической плотности от концентрации ЛВ (рисунок 6).

Анализ мукоадгезивных свойств термически сшитых плёнок на основе ХТ и ХТ/ПОЗ проводили методом «вращающей корзинки» путём измерения времени удерживания пленок на поверхности слизистой оболочки свиной щеки. Образцы сшитых плёнок закрепляли на слизистой оболочке свиной щеки и погружали в сосуд с раствором искусственной слюны. Эксперимент проводили при температуре 37 °С, скорости перемешивания 80 об/мин и в трех повторах. Удерживание пленки на поверхности слизистой оценивали визуально до момента отслаивания пленки. Периодичность наблюдений составляла – 1, 5, 10 и 15 мин.

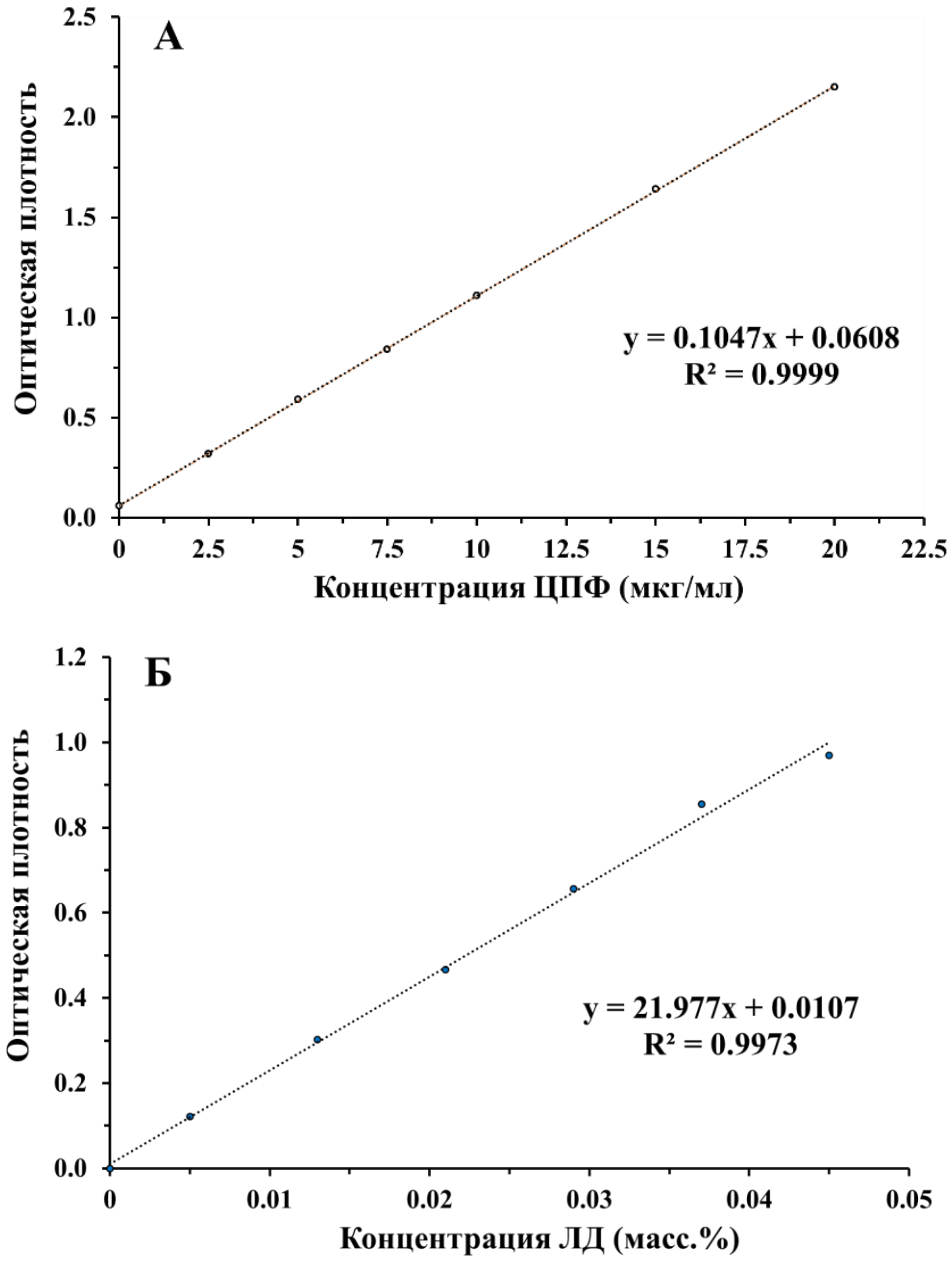


Рисунок 6 – Калибровочная кривая зависимость оптической плотности (А) фосфатно-буферного раствора от концентрации ципрофлоксацина и (Б) раствора искусственной слюны от концентрации лидокаина

Адгезивные свойства гидрогелевых раневых повязок[*] изучали с использованием Texture Analyser XT Plus (Stable Micro Systems Ltd., Великобритания). Образцы гидрогеля диаметром 10 мм были прикреплены к зонду с помощью двухсторонней клейкой ленты. Подготовленная свиная кожа размером 2×2 см фиксировалась неподвижно с помощью специального держателя образца. Во время испытаний на адгезию каждый образец гидрогеля приводили в контакт со свиной кожей в течение 20 с, а затем отрывали зонд со скоростью 0,05 см/с до полного отрыва от поверхности ткани. Для каждого образца гидрогелей по 5 деформационных кривых. Данные, полученные во время эксперимента использовались для расчета адгезивных свойств гидрогелей: максимальная сила адгезии F и общая работа адгезии W_{adh}.

Мукоадгезивные свойства полимерных пленок[**] на основе ХТ и ХТ/ПОЗ проводили на приборе Texture Analyser TA XT Plus (Stable Micro Systems Ltd, Великобритания). Образцы пленок диаметром 10 мм прикрепляли к зонду с помощью двухсторонней клейкой ленты. Для эксперимента в качестве слизистой оболочки использовалась овечья ткань влагалища, которая неподвижно фиксировалась к стационарной платформе. Перед началом каждого испытания слизистая оболочка увлажнялась искусственной вагинальной жидкостью. Образцы пленок контактировали со слизистой тканью в течение 30 сек затем зонд отрывали от поверхности контакта (слизистая оболочка) со скоростью 0,05 см/мин. Для каждого образца пленок ХТ и ХТ/ПОЗ снимали по 5 деформационных кривых. Данные, полученные во время эксперимента использовались для расчета мукоадгезивных свойств пленочных метериалов, включающие силу отрыва F и общую работу адгезии W_{adh} пленок.

Тесты in vitro[*] *на у*держание полимерных пленок на основе ХТ и ХТ/ПОЗ проводили с использованием бычьих глаз, согласно протоколу [166] с некоторыми изменениями. Роговицу с 2-3 мм склеры осторожно иссекали острым лезвием. Каждую роговицу промывали раствором искусственной слезной жидкостью (ИСЖ), помещали в чашки Петри, оборачивали липкой пленкой для предотвращения обезвоживания и хранили при 4 °С перед использованием на следующий день.

Перед экспериментом роговицу размещали на предметное стекло, затем устанавливали под углом 45° в инкубаторе и выдерживали при 37 °С в течении 15 минут до начала эксперимента. Перед каждым экспериментом образцы флуоресцентных пленок (диаметром 4 мм) смачивали в физиологическом растворе и затем помещали на роговицу. Бычью роговицу также предварительно смачивали 1 мл искусственной слезной жидкостью. Затем 12 мл раствора ИСЖ капали в течение 1 часа на поверхность роговицы со скоростью потока 200 мкл/мин.

Изображения флуоресцентной микроскопии регистрировали после каждой промывки каждые 5 мин с использованием стереомикроскопа Leica MZ10F

---

* Исследования проводились во время научной стажировки в университете Рединг, Школа Фармации (г. Рединг, Великобритания)

** Исследования проводились на базе ЧУ «Института полимерных материалов и технологий» (г. Алматы, Казахстан)

(Leica Microsystems, Великобритания) с цифровой камерой Leica DFC3000G с увеличением 0,8 × и временем экспозиции 20 мсек (усиление 3,0 ×), снабженным GFP-фильтр (синий, $\lambda_{эммиссия}$=512 нм). Изображения анализировались с помощью программного обеспечения ImageJ путем измерения интенсивности пикселей флуоресценции после каждого цикла промывки. Интенсивность пикселей была рассчитаны и преобразованы в значения интенсивности флуоресценции с использованием следующего уравнения:

$$I = \frac{I - I_b}{I_0 - I_b} \times 100\% \qquad (5)$$

где I-интенсивность флуоресценции образца ткани роговицы с мукоадгезивной пленкой после каждой промывки; I_b-интенсивность фоновой флуоресценции образца ткани роговицы без пленки (пустой образец); I_0 -начальная интенсивность флуоресценции образца с пленкой до начала первой промывки).

Параллельно раствор ИСЖ, протекающий через эпителий роговицы, собирали в заданные интервалы времени для определения процентного содержания NaFl, смываемого с поверхности роговицы. Количество NaFl определяли с использованием спектрофлуориметра FP-6200 (Jasco, Великобритания) при длинах волн возбуждения и испускания 460 и 512 нм соответственно. Стандартная кривая для определения количества высвобожденного NaFl из пленок представлена на рисунке 7.

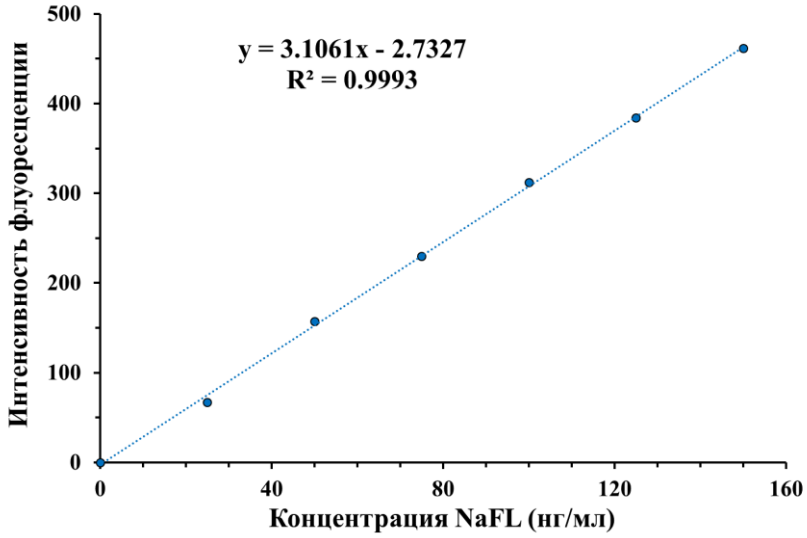


Рисунок 7. Стандартная кривая для определения количества высвобождаемой флуоресценции натрия из пленок ХТ и ХТ/ПОЗ

In vivo эксперименты⁑ флуоресцентных пленок ХТ и ХТ/ПОЗ проводились на кроликах-шиншиллах (2,5-4,0 кг) согласно протоколу [161]. Перед началом

⁑ Исследования проводились на базе Семейского государственного университета (г. Семей, Казахстан)

экспериментов кролики содержались в стандартных клетках и имели свободный доступ к пище и воде. В начале каждого эксперимента кроликов успокаивали 0,2 мл тиопентала натрия (Arterium Corporation, Украина), предварительно растворенного в 10 мл 0,9 % солевого раствора NaCl, вводимого через боковую ушную вену. Приблизительно через 5 минут после введения тиопентала натрия флуоресцентные пленки диаметром 10 мм, быстро пропитывали (1 секунда) в физиологическом растворе [0,9% NaCl] и осторожно помещали на роговицу левого глаза кролика; правый их глаз служил контролем. Для обнаружения флуоресценции в глаза кролика направляли ультрафиолетовый свет с помощью портативной УФ лампы UVGL-25 Compact (Ultra-Violet Products, Англия). Изображения получали в разные промежутки времени с помощью цифровой камеры высокого разрешения.

Исследование антибактериальной активности[††] водорастворимых пленок ХТ и ХТ/ПОЗ с лекарственным веществом проводили методом диффузии в агар. Исследования осуществляли на питательном агаре с использованием в качестве тест-организмов: грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* АТСС 6538-р и грамотрицательных бактерий *Escherichia coli* АТСС 8739. Образцы пленок (диски диаметром 6 мм) помещали на чашку с агаром с помощью стерильных пинцетов и инкубировали в течение 24 ч при 37 °С. Зону ингибирования роста бактерий измеряли для оценки его ингибирующего действия. Положительным контролем был диск с антибиотиком. Отрицательным контролем служила сама пленка без лекарственного вещества.

Исследование бактерицидной активности[×] гидрогелевых повязок на основе ХТ и ХТ/Ag. В качестве образцов для сравнения использовали базовую повязку AQUA DRESS®, также в присутствии НЧ серебра и без него. Исследование проводилось с использованием метода диффузии в агар. В качестве тест-штамма использовалась стандартная типовая культура микроорганизмов III-IV группы патогенности - *Staphylococcus aureus* – АТСС 6538. Отбирались несколько однотипных, четко изолированных колоний и петлей переносились в пробирку с водой для инъекций доводя плотность инокулюма точно до 0,5 по стандарту МакФарланда.

Инокуляция проводилась путем погружения стерильного ватного тампона в стандартную суспензию микроорганизма, затем избыток инокулюма удалялся путем отжима тампона о стенки пробирки. Инокуляцию проводилась штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60°. Стерильным пинцетом вырезались 3 квадрата гидрогеля с массой примерно 2 г, далее укладывались на поверхность среды, аккуратно прижимались пинцетом, чтобы они полностью соприкасались с поверхностью агара. Непосредственно после аппликации образцов чашки Петри помещались в термостат кверху дном, и инкубировались при температуре 35 °С в течение 18-24 ч. Учет результатов проводился путем визуальной оценки наличия роста тест-штамма в опытных пробах.

[††] Исследования проводились в лаборатории микробиологии Научного центра противоинфекционных препаратов (г. Алматы, Казахстан)

[×] Исследование проводилось на базе микробиологической лаборатории НТЦ РПИ РГП «ИЯФ»

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Радиационный синтез гидрогелей на основе хитозана и их физико-химическая характеристика

Гидрогели представляют собой двух- или многокомпонентные системы, состоящие из трехмерной сетки природных или синтетических полимеров и воды или водных растворов, заполняющих пространство между макроцепями. Сшитая структура делает их способными удерживать большое количество воды без полного растворения. Гидрогели получили значительное внимание в последние десятилетия благодаря сочетанию ряда уникальных физико-химических и медико-биологических свойств, такие как отличная сорбционная способность по воде и биологическим жидкостям, проницаемость для больших и малых молекул, мягкая тканеподобная текстура, нетоксичность и биосовместимость. Перечисленные свойства открывают возможность применения гидрогелей в фармацевтике, медицине и других отраслях [100,109]. Особенно перспективно использование полимерных гидрогелей в качестве перевязочных материалов, т.к. они являются идеальной клеточной микросредой для пролиферации и дифференциации клеток [171]. Гидрогелевая повязка – инновационная лекарственная форма, способная обеспечить заживление ран как в период воспаления, так и на последующих стадиях регенерации и эпителизации кожи.

В настоящее время в литературе представлено достаточно большое количество научных исследований, посвященных разработке новых раневых покрытий, как на текстильной, так и на полимерной основе [111,113,114,120,146] Однако, несмотря на значительное количество работ, связанных с исследованием и разработкой подобных систем, вопрос создания гидрогелевого материала для заживления ран, который удовлетворял бы всем требованиям возможных биомедицинских областей применения (например, степень пористости, степень адгезии к раневой поверхности, эластичность, упругость, абсорбционная способность и т.п.), характеризуясь при этом доступностью, достаточно простой технологией получения и относительной дешевизной, по-прежнему, остается открытым.

Применение радиационного облучения, как это указывалось ранее в обзоре литературы, считается весьма удобным и эффективным инструментом для формирования гидрогелей, в том числе гидрогелевых повязок. Преимущество метода радиационного синтеза над традиционными заключается в высокой чистоте получаемых продуктов, не требующих присутсвие инициаторов. Подготовка образцов не предполагает специальных стерильных производственных помещений, процессы сшивания полимеров и стерилизация готовой продукции объединены в одну стадию, и как следствие позволяет существенно снизить себестоимость готовой продукции [158,160,172].

В Казахстане на базе Института ядерной физики выпускаются гидрогелевые раневые повязки AQUA DRESS® на основе поливинилпирролидона (ПВП), полиэтиленгликоля (ПЭГ) и агар-агара, относящиеся к самому современному III поколению перевязочных

биоматериалов. Они применяются для лечения ожогов, пролежней, трофических язв, диабетической стопы, при трансплантации кожи и других видов повреждений, в терапии которых желательна влажная среда. Такие повязки позволяют сделать процесс перевязки безболезненным, так как исключается прилипание материала к ранам, обеспечивается дренажный эффект, т.е. удаление экссудата из раны и доступ кислорода, защищают рану от инфицирования.

Ранее на кафедре химии и технологии органических веществ, природных соединений и полимеров были разработаны гидрогелевые повязки на основе ПВП/ПЭГ/агар-агар структурированные наночастицами (НЧ) серебра [173], а также повязки, содержащие фитопрепарат Алхидин и анестетик Рихлокаин [174,175].

Настоящая работа является продолжением данных исследований и посвящена созданию новых гидрогелевых повязок с антимикробной активностью на основе хитозана. Для получения гидрогелей в работе использованы такие полимеры как ПВП, ХТ, ПЭГ и агар-агар. ПВП использовали в качестве основного гелеобразующего полимера. Ожидается, что применение ХТ придаст повязке более высокую абсорбционную способность и увеличит адгезивность повязки к ране. НЧ серебра благодаря своей ярко выраженной антибактериальной активности успешно используются для защиты различных поверхностей, а также для лечения ран различной этиологии. Учитывая свойства хитозана и серебра в настоящей работе синтезирован ряд гидрогелей на основе ХТ и ХТ/Ag и проведен комплекс исследований, направленных на разработку радиационной технологии получения раневых повязок с антимикробной активностью.

Синтезированные гидрогели прозрачны и имеют размеры: 120х100х3 мм (рисунок 8).



Рисунок 8 – Гидрогелевая раневая повязка на основе ХТ

3.1.1 Закономерности формирования гидрогелей на основе хитозана

Гидрогели на основе ХТ были получены с использованием радиационного облучения ускоренными электронами. Поскольку облучение ускоренными электронами приводят к образованию реакционноспособных свободных

радикалов на макромолекулах, то в полимерной системе образуются ковалентные связи, приводящие к образованию химически сшитого гидрогеля.

Синтез гидрогелевой повязки на основе ХТ проходил в несколько этапов. Первый этап – приготовление водных растворов полимеров и их смешивание. В данном исследовании составы гидрогелевых повязок были получены из водных растворов ПВП с молекулярной массой (ММ) 1,5 млн. Да, ХТ различной молекулярной массой, агар-агара в качестве загустителя, ПЭГ с ММ=600 Да в качестве пластификатора.

Для синтеза гидрогелевой повязки на основе ХТ/Ag к растворам полимерной смеси ХТ/ПВП/ПЭГ/агар-агар добавляли водный раствор $AgNO_3$.

Следующий этап радиационное облучение и стерилизация гидрогелевой смеси, которую проводили в первичной упаковке на ускорителе электронов ЭЛВ-4 в интервале доз облучения 14-24 кГр в Институте ядерной физики (Алматы, Казахстан). Режимы работы ускорителя электронов: энергия электронов-1,0 МэВ; ток пучка-5 мА; скорость конвейера – 6 м/мин; лучевая обработка образцов проводилась с двух сторон.

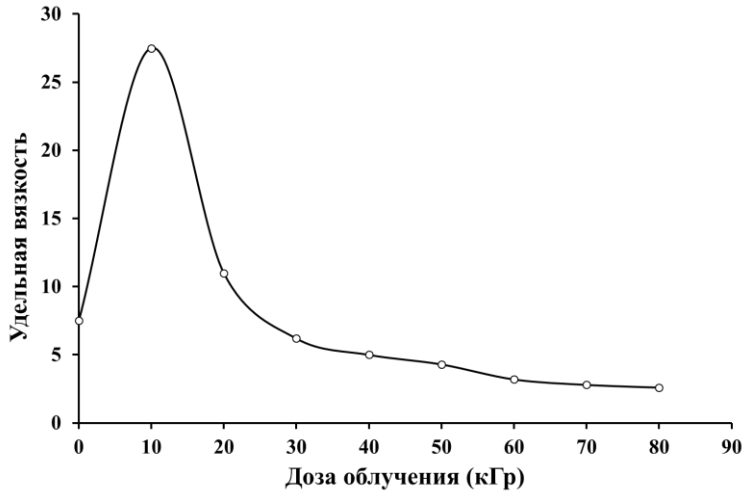
В таблице 1 приведены данные рецептуры гидрогелевых повязок на основе хитозана и хитозан/Ag. В работе исследовано влияние концентрации агара (0,2-0,5 масс.%), концентрации хитозана (1,25; 2,20 масс.%), молекулярной массы хитозана, присутствие НЧ Ag и дозы облучения на физико-химические свойства гидрогелей.

Таблица 1 – Рецептура гидрогелевых повязок на основе ХТ и AQUA DRESS®

Повязки	ХТ, масс.%	Агар, масс.%	ПВП, масс.%	ПЭГ, масс.%	$AgNO_3$, ppm	Доза облучения, кГр
AQUA DRESS®	0,0	0,20	0,70	1,50	-	22
1,25-0,0	1,25	0,20	0,70	1,50	-	
2,20-0,0	2,20	0,20	0,70	1,50	-	
1,25-0,20	1,25	0,20	0,70	1,50	-	
1,25-0,20 (СМ)	1,25	0,20	0,70	1,50	100	14; 22
1,25-0,20 (ВМ)	1,25	0,20	0,70	1,50	100	14; 18; 22; 24
1,25-0,35 (ВМ)	1,25	0,35	0,70	1,50	100	18; 22; 24
1,25-0,4 (ВМ)	1,25	0,40	0,70	1,50	100	18; 22; 24
1,25-0,45 (ВМ)	1,25	0,45	0,70	1,50	100	18; 22; 24
1,25-0,5 (ВМ)	1,25	0,50	0,70	1,50	100	18; 22; 24
Примечание: 1 (СМ) – ХТ со средней молекулярной массой; 2 (ВМ) – ХТ с высокой молекулярной массой						

При радиационном облучении ускоренными электронами линейные полимеры подвергаются сшиванию с образованием сетки либо деградации в зависимости от различных факторов: от химического состава и дозы облучения.

Как правило, увеличение дозы облучения способствует росту выхода гель-фракции полимеров, однако в случае природных полисахаридов, рост поглощенной дозы приводит к их деградации [176]. С этой целью было изучено влияние дозы облучения на водные растворы хитозана (ВМ) методом вискозиметрии в интервале доз облучения от 10 до 80 кГр (рисунок 9). Установлено, что, с ростом дозы облучения в интервале 0-20 кГр наблюдается увеличение вязкости водного раствора ХТ, что вероятно, обусловлено протеканием процессов частичного сшивания макромолекул полисахарида. При дальнейшем увеличении дозы облучения с 30 до 80 кГр наблюдается монотонное снижение вязкости раствора хитозана с выходом на плато, что свидетельствует о протекании процессов деструкции полимера. Таким образом, наиболее оптимальные дозы облучения гидрогелей на основе ХТ лежат в пределах 10-25 кГр. Необходимая для стерилизации доза облучения составляет 20-25 кГр. Следовательно, в работе для получения гидрогелевых повязок на основе ХТ были использованы дозы облучения в интервале 18-24 кГр, как наиболее оптимальные.



$C_{хит}$ = 1,25 масс. %

Рисунок 9 – Влияние дозы облучения на вязкость растворов хитозана

Радиационное облучение водных растворов полимеров сопровождается радиолизом воды с образованием большого количества гидратированных электронов и радикалов:

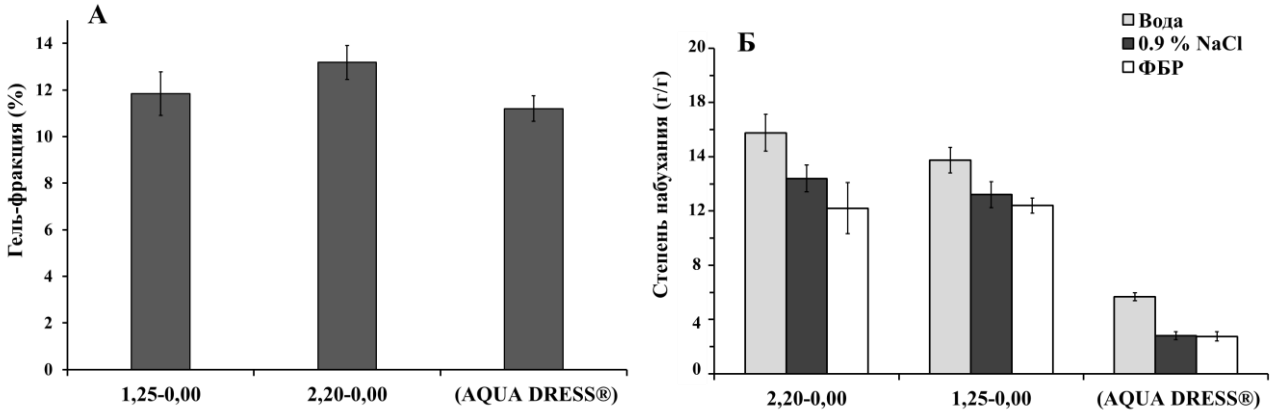
$$H_2O \rightarrow e_{aq}^-, H_2O^+, H^\bullet, H_2, OH^\bullet, H_2O_2$$

Образование необратимых трехмерных структур гидрогеля происходит вследствие взаимодействия радикалов, образовавшихся при радиолизе воды с полимерными цепями. Гель в системе образуется в том случае, когда на каждую среднемассовую молекулу приходится минимум одно сшитое звено.

Взаимодействие между компонентами гидрогеля определяет степень сшивки гидрогеля.

С целью установления оптимальных технологических параметров и для оценки эффективности процесса радиационного сшивания гидрогелей на основе ХТ изучена зависимость выхода гель-фракции и степени набухания гидрогелей от молекулярной массы хитозана, от поглощенной дозы облучения и от концентрации хитозана и агар-агара. Суть анализа заключается в вымывании золь-фракции из сшитой полимерной сетки и определении выхода гель фракции.

На рисунке 10 представлены зависимости выхода гель-фракции и равновесной степени набухания от соотношения хитозана в структуре гидрогеля. В работе изучена равновесная степень набухания гидрогелевых повязок с различной концентрацией хитозана в дистилированной воде, изотоническом растворе при комнатной температуре, а также в фосфатно – буферном растворе (ФБР) при pH=7,4 и температуре 37 °С. Образцы полученных гидрогелей на основе ХТ сравнили с базовой повязкой AQUA DRESS® без хитозана. Как видно из рисунка 10 А увеличение соотношения ХТ в структуре гидрогеля приводит к незначительному росту выхода гель-фракции, что вероятно обусловлена увеличением взаимодействия ХТ с другими компонентами гидрогеля, оказывая влияние на количество сшивок, тем самым увеличивая содержание геля. Установлено, что наименьшей способностью к набуханию обладают повязки AQUA DRESS® в 2,5-3 раза ниже по сравнению с повязками на основе ХТ (рисунок 10 Б).



Доза облучения Д = 22 кГр

Рисунок 10 – Зависимость выхода гель-фракции (А) и равновесной степени набухания (Б) от концентрации хитозана в гидрогелевых повязках

Присутсвие ХТ в том числе и увеличение его концентрации приводит к незначительному росту α. Вероятно, такое поведение полимерных сеток обусловлено ионной природой хитозана. Следует отметить, что степень набухания гидрогелей в воде выше, чем в изотоническом и фосфатно-буферном растворах. Это может быть связано с присутствием в растворах

низкомолекулярных ионов, создающих «эффект экранирования», т.е низкомолекулярные ионы хлорида натрия и других солей «вытесняют» сольватированные в макромолекулах полимера молекулы воды, тем самым, снижая степень набухания гидрогелей.

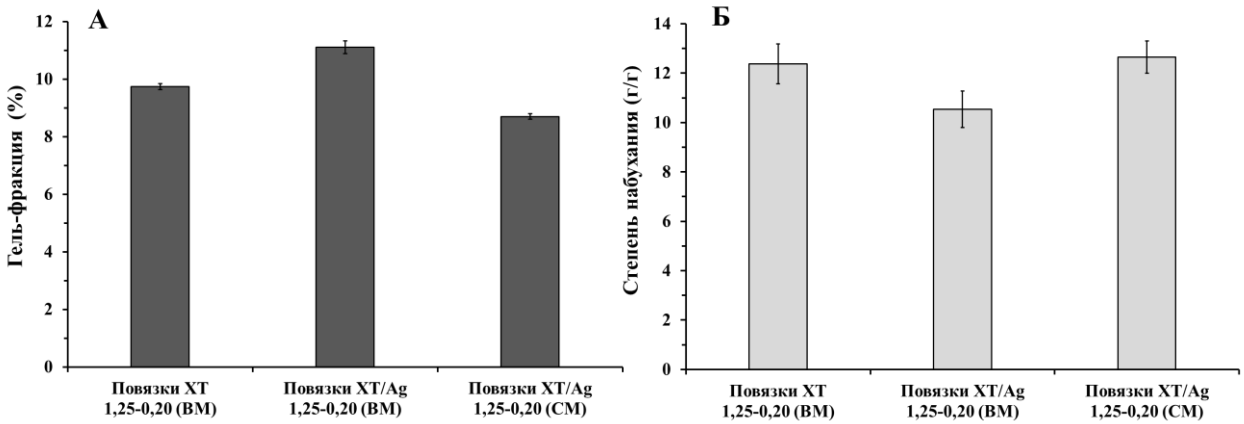
В работе исследована зависимость влияния присутствия НЧ серебра и молекулярной массы хитозана на выход гель-фракции и равновесную степень набухания гидрогелевых повязок (рисунок 11 А, Б)

Под действием радиационного облучения присутствующие в геле анионы серебра восстанавливаются до атомарного состояния с образованием НЧ [177].

$$Ag^{+} + e_{aq}^{-} \rightarrow Ag^{0} + H_2O$$

Однако присутствие ионов серебра в объеме гидрогеля не исключаем. Из рисунка 11 А, Б видно, что присутствие серебра в гидрогеле приводит к увеличению выхода гель-фракции и снижению степени набухания, что вероятно вызвано образованием дополнительных сшивок между ионами серебра и функциональными группами гидрогеля [133].

С целью изучения влияния ММ на процесс гелеобразования использовали образцы повязок на основе ХТ с высокой и средней молекулярными массами. Установлено, что увеличение молекулярной массы полимера приводит к росту выхода гель-фракции и снижению равновесной степени набухания гидрогелей. Вероятно, это связано с эффектом переплетения, т.е. чем выше молекулярная масса полимера, тем сильнее переплетены между собой полимерные цепи, т.е. вероятность сшивания полимера увеличивается, а также улучшается прочность гидрогеля.

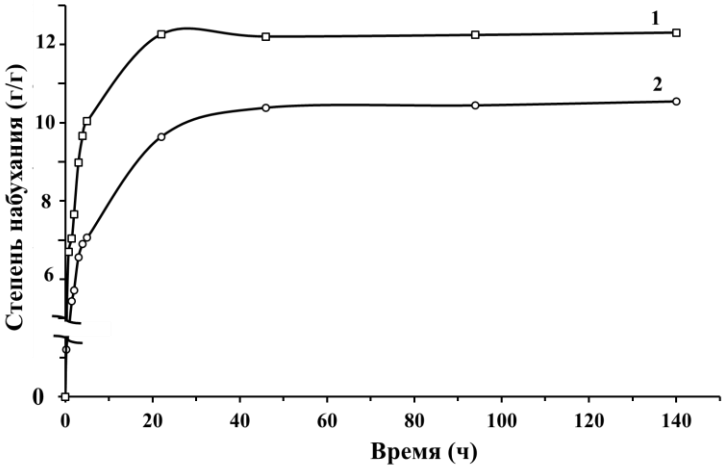


Доза облучения Д = 22 кГр, C_{AgNO3} = 100 ppm

Рисунок 11 – Зависимость выхода гель-фракции (А) и равновесной степени набухания (Б) в воде гидрогелей от молекулярной массы хитозана и от присутствия НЧ серебра в гидрогелевых повязках

Для повязки на основе ХТ со средней молекулярной массой наблюдается более высокая скорость достижения равновесного набухания (рисунок 12).

Подобное поведение обусловлено слабой степенью сшивания полимеров и их высокой α, при этом, гидрогели становятся механически слабыми и не сохраняют форму. Более высокая молекулярная масса хитозана способствует как снижению скорости набухания, так и величины равновесного набухания [178].



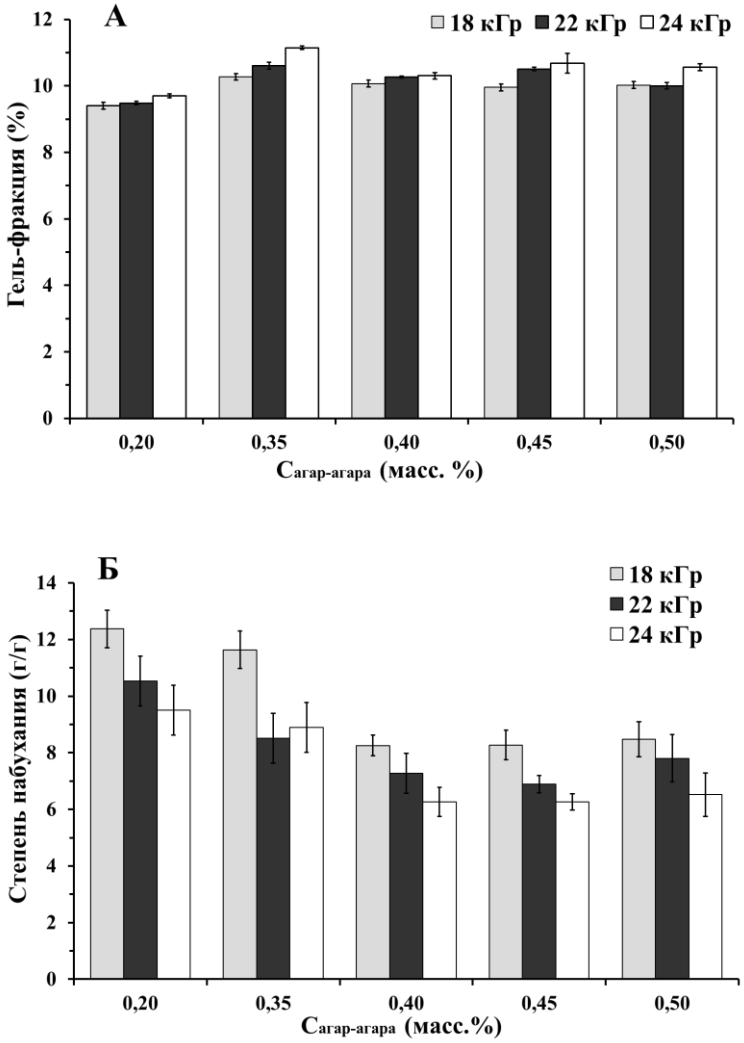
Хитозан средней молекулярной массой (1); хитозан высокой молекулярной массой (2); Доза облучения Д = 22 кГр, $C_{хит}$ = 1,25 масс. %, $C_{агар\text{-}агара}$ = 0,2 масс. %, C_{AgNO3} = 100 ppm

Рисунок 12 - Кинетика набухания гидрогелевых повязок в дистиллированной воде при комнатной температуре

Зависимость выхода гель-фракции и равновесной степени набухания от концентрации агар-агара и дозы облучения показана на рисунке 13 А, Б. для повязок на основе ХТ с НЧ серебра в интервале от 18-24 кГр. Как видно из полученных результатов (рисунок 13 А) при увеличении соотношения агар-агара в структуре гидрогеля до 0,35 масс. % наблюдается незначительное увеличение выхода гель-фракции, дальнейшее увеличение концентрации агар-агара существенно не влияет на образование гель-фракции. Кроме того, с ростом поглощенной дозы облучения наблюдается незначительный рост выхода гель-фракции, по-видимому, обусловленному увеличением степени сшивания полимеров.

Данные по равновесной степени набухания (рисунок 13 Б) гидрогелевых повязок ХТ/Ag показали, что образцы, сшитые при меньшей дозе облучения (18 кГр) проявляют большую набухающую способность по сравнению с образцами, сшитыми при 22 и 24 кГр. При этом, гидрогели, сшитые при 18 кГр плохо сохраняют форму и разрушаются при достижении равновесного набухания в воде. Подобная закономерность может быть обусловлена увеличением степени сшивания полимеров и, как следствие образованием сетки с более плотной структурой. Также установлено, что увеличение содержания агар-агара в гидрогеле приводит к снижению величины равновесного набухания, что,

видимо, связано с образованием более плотной структуры полимерной сетки. Таким образом, степень равновесного набухания гидрогелей, полученных при радиационном сшивании легко регулируется (от 6,5±0,14 до 12,4±0,2) при варьировании дозы облучения и соотношения агар-агара в их составе.



$C_{хитозана}$ = 1,25 масс. %; C_{AgNO3} = 100 ppm

Рисунок 13 – Зависимость выхода гель-фракции (А) и равновесной степени набухания (Б) гидрогелевых повязок на основе ХТ/Ag от концентрации агар-агара и от дозы облучения

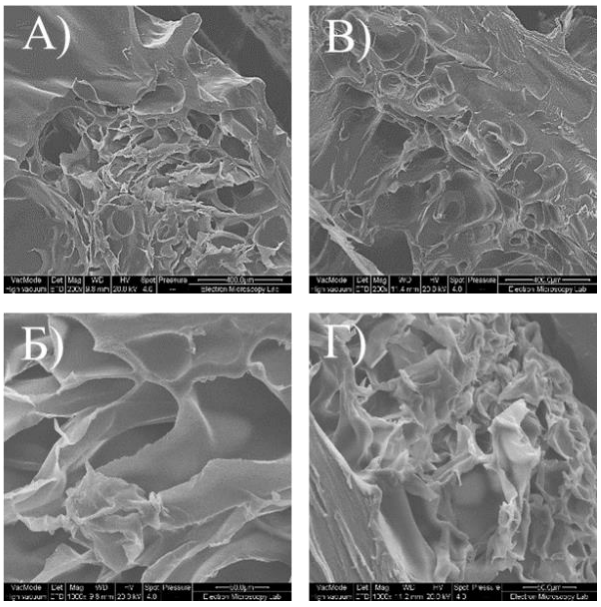
Полученные методом радиационной технологии новые гидрогели на основе ХТ и ХТ/Ag проявляют высокие сорбционные способности, в отличии от коммерчески доступных повязок AQUA DRESS®.

3.1.2 Характеристика гидрогелевых повязок на основе хитозана

Раневое покрытие должно не только дренировать раневой экссудат, но и поддерживать оптимальный микроклимат, хорошо моделироваться на ране, быть атравматичной, обеспечивать возможность визуального контроля за

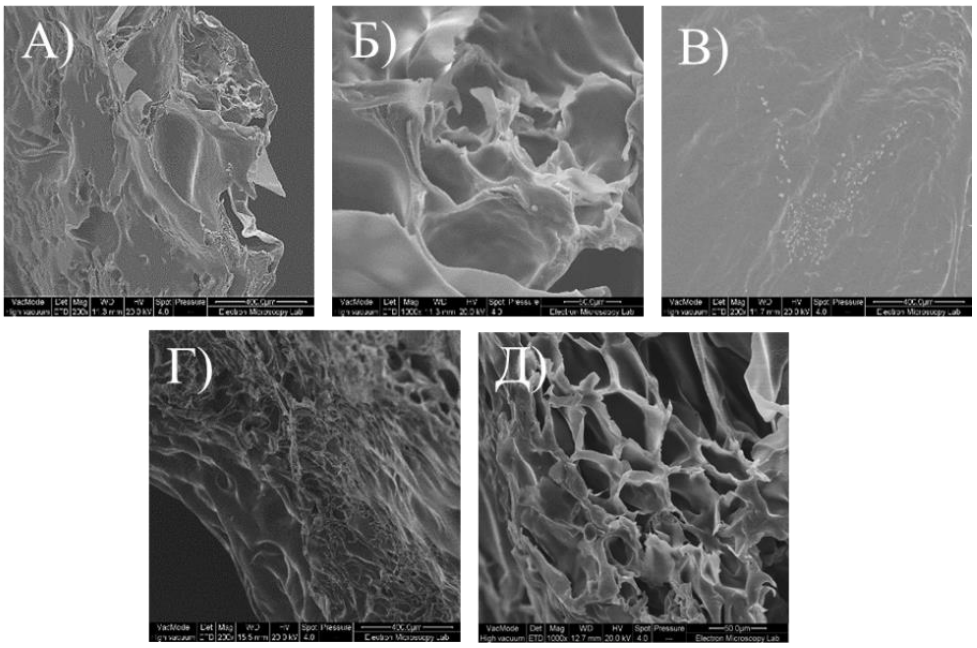
раной. Кроме того, для гидрогелей, используемых в качестве перевязочных материалов очень важно чтобы они обладали хорошей прочностью на растяжение, гибкостью и достаточной эластичностью.

С этой целью в работе исследована морфология поверхности и поперечного сечения образцов гидрогелей на основе ХТ и ХТ/Ag, а также их адгезивные и механические свойства. Для исследования морфологии методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) образцы гидрогелей на основе ХТ и ХТ/Ag с различным содержанием агар-агара предварительно подвергали сухой заморозке (Freeze Dryer). На рисунке 14,15 показаны результаты СЭМ поперечного сечения полученных гидрогелей. Как видно из рисунков, размер пор меняется с изменением состава гидрогеля. Установлено, что гидрогели на основе ХТ без содержания агар-агара образуют более пористую структуру (рисунок 14 А, Б). При этом добавление агар-агара приводит к уменьшению размера пор и образованию более плотной структуры (рисунок 14 В, Г). Аналогичная закономерность наблюдается и для образцов гидрогелей на основе ХТ/Ag (рисунок 15), где увеличение концентрации агар-агара приводит к образованию мелкопористой структуры сетки. Данные по пористости гидрогелей хорошо согласуются с данными по их степеням набухания, т.е. набухающая способность гидрогелей зависят от их пористости. Таким образом, чем больше размеры пор, тем выше значения степени набухания в воде и биологических жидкостях. При исследовании морфологии поверхности (рисунок 15 В) полученных гидрогелей обнаружены НЧ серебра. Как было сказано выше, при радиационном облучении ионы серебра восстанавливаются до НЧ серебра.



ХТ (1,25-0,0) (А, Б); ХТ/агар-агар (1,25-0,20) (В, Г). Увеличение 400 мкм (А, В), увеличение 50 мкм (Б, Г) Доза облучения 22 кГр.

Рисунок 14 – Микрофотографии СЭМ гидрогелей на основе ХТ



ХТ/Ag (1,25-0,20) (А, Б, В); ХТ/Ag (1,25-0,40) (Г, Д). Увеличение 400 мкм (А, Г), увеличение 50 мкм (Б, Д). Доза облучения 22 кГр.

Рисунок 15 – Микрофотографии СЭМ поперечного сечения (А, Б, Г, Д) и поверхности (В) гидрогелей на основе ХТ ХТ/Ag

Механические испытания на одноосное растяжение образцов полимерных гидрогелей в виде гантелей проводили на приборе Texture Analyser XT Plus (Stable Micro Systems Ltd, Великобритания). В результате механических испытаний максимально приложенная нагрузка к испытываемым образцам составляла 5кг. На основе полученных данных рассчитан модуль Юнга, характеризующий сопротивление деформации при изменении нагрузки, определены максимальное усилие растяжения (напряжения) при разрыве и удлинение при разрыве.

В таблице 2 представлены результаты влияния молекулярной массы ХТ на механические свойства гидрогелей. Установлено, что использование хитозана с высокой молекулярной массой приводит к увеличению эластичности повязок, при этом повязки на основе хитозана средней молекулярной массы обладают повышенным модулем Юнга. В тоже время как величина напряжения при разрыве не показала существенной зависимости от ММ полисахарида.

В таблице 3 приведены результаты механических испытаний гидрогелевых повязок на основе ХТ, ХТ/Ag и коммерчески доступного AQUA DRESS®. Из полученных результатов видно, что присутствие серебра в повязках на основе хитозана улучшает такие физико-механические характеристики как модуль Юнга и напряжение при разрыве. При этом снижается эластичность гидрогелевых образцов. Сравнение полученных повязок с AQUA DRESS® показало, что коммерческий образец обладает более высокими показателями механической прочности и меньшей эластичностью, по сравнению с полученными в работе гидрогелями.

Таблица 2 – Механические характеристики гидрогелевых повязок на основе ХТ/Ag с разной молекулярной массой хитозана при дозе облучения 14 кГр

Повязки	M_w ХТ	Модуль Юнга, Н/мм$^{-2}$	Напряжение при разрыве, Н мм$^{-2}$	Удлинение при разрыве, %
ХТ/Ag (1,25-0,20)	СМ	(6,1±0,40)х10^{-3}	0,36±0,01	51,10±3,90
ХТ/Ag (1,25-0,20)	ВМ	(4,7±1,80) х10^{-3}	0,46±0,12	68,66±3,00

Таблица 3 – Сравнительная характеристик механических свойств гидрогелевых повязок на основе ХТ, ХТ/Ag и AQUA DRESS® при дозе облучения 22 кГр

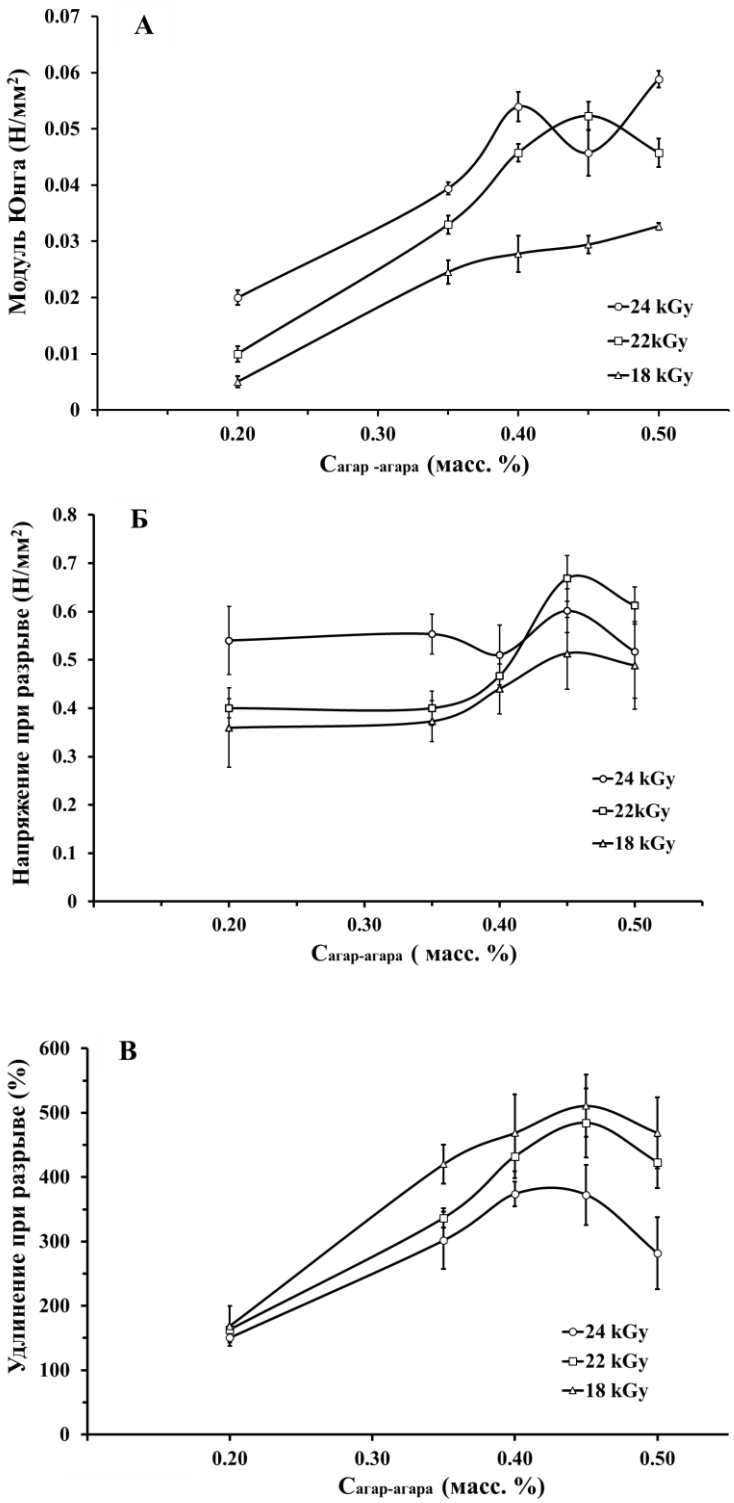
Повязки	Модуль Юнга, Н/мм$^{-2}$	Напряжение при разрыве, Н мм$^{-2}$	Удлинение при разрыве, %
ХТ (1,25-0,00)	(7,0±1,90)х10^{-3}	0,47±0,06	64,98±12,70
ХТ/Ag (1,25-0,20)	(8,4±1,30)х10^{-3}	0,54±0,07	50,55±7,41
AQUA DRESS®	(14,9±0,20)×10^{-3}	0,67±0,15	40,52±9,13

Несмотря на это, можно сделать вывод, что гидрогели на основе ХТ/Ag показали достаточную прочность и эластичность, что позволяет сохранять целостность при вынимании из упаковки, принимать форму и плотно прилегать к раневой поверхности.

В работе также исследованы механические свойства гидрогелей от концентрации агар-агара в гидрогеле и от дозы облучения в интервале от 18 до 24 кГр. При добавлении агар-агара в гидрогель повышается прочность на растяжение и эластичность, возможно это вызвано повышением как структурной прочности гидрогеля, так и его механической стабильностью [179].

На рисунке 16 представлены данные по влиянию дозы облучения (18-24 кГр) и концентрации агар-агара на механические свойства гидрогелевых повязок на основе ХТ/Ag [180]. Следует отметить, что с ростом дозы облучения наблюдается рост модуля упрости и напряжения при разрыве и снижаются величины относительного удлинения при разрыве для гидрогелей на основе ХТ/Ag. Также можно наблюдать, что увеличении концентрации агар-агара способствует возрастанию механических характеристик гидрогелей. Вероятно, увеличение дозы облучения способствует образованию структуры с большим числом поперечных сшивок, что в свою очередь приводит к формированию сетки с более плотной структурой, а увеличение соотношения агар-агар приводит уплотнению гидрогеля в силу своих особенностей строения.

Далее в работе были изучены адгезивные свойства гидрогелей на основе ХТ. Адгезия к коже является важным аспектом при рассмотрении новых биоматериалов в качестве раневых покрытий. Испытания на адгезию проводили с использованием прибора Texture Analyser XT Plus (Stable Micro Systems Ltd, Великобритания). Образцы гидрогеля (диаметром 11 мм) были прикреплены к адгезивному зонду (диаметром 11 мм) с помощью двухсторонней клейкой ленты, и кусок выбритой свиной кожи был помещен на платформу ниже.



C_{XT} = 1,25 %; C_{AgNO3} = 100 ppm
Модуль Юнга, Н/мм^2 (А); Напряжение при разрыве Н/мм^2 (Б);
Удлинение при разрыве, % (С)

Рисунок 16 – Механические характеристики гидрогелевых повязок на основе ХТ/Ag от концентрации агара-агара в гидрогеле и дозы облучения

На рисунке 17 показаны результаты, полученные при испытаниях на адгезию гидрогелей на основе хитозана. В качестве образца для сравнения использовали повязку AQUA DRESS®, не содержащий хитозан. Из рисунка видно, что присутствие хитозана, а также увеличение его концентрации улучшает адгезивные свойства полученных гидрогелевых повязок. Вероятно, биоадгезивные свойства хитозана обусловлены катионной природой полисахарида, позволяя легко связываться с раневой поверхностью. Однако повышение содержание ХТ ухудшает механические свойства гидрогелевых повязок, что делает повязки не пригодными к использованию.

На рисунке 18 показана зависимость адгезивных свойств полученных гидрогелей от влияния присутствия НЧ серебра и концентрации агара-агара. Установлено, что присутствие НЧ серебра не оказывают существенного влияния на адгезивные свойства полученных повязок. Следует отметить, что увеличение концентрации агар-агара приводит к снижению адгезивных свойств гидрогелевых повязок на основе ХТ/Ag.

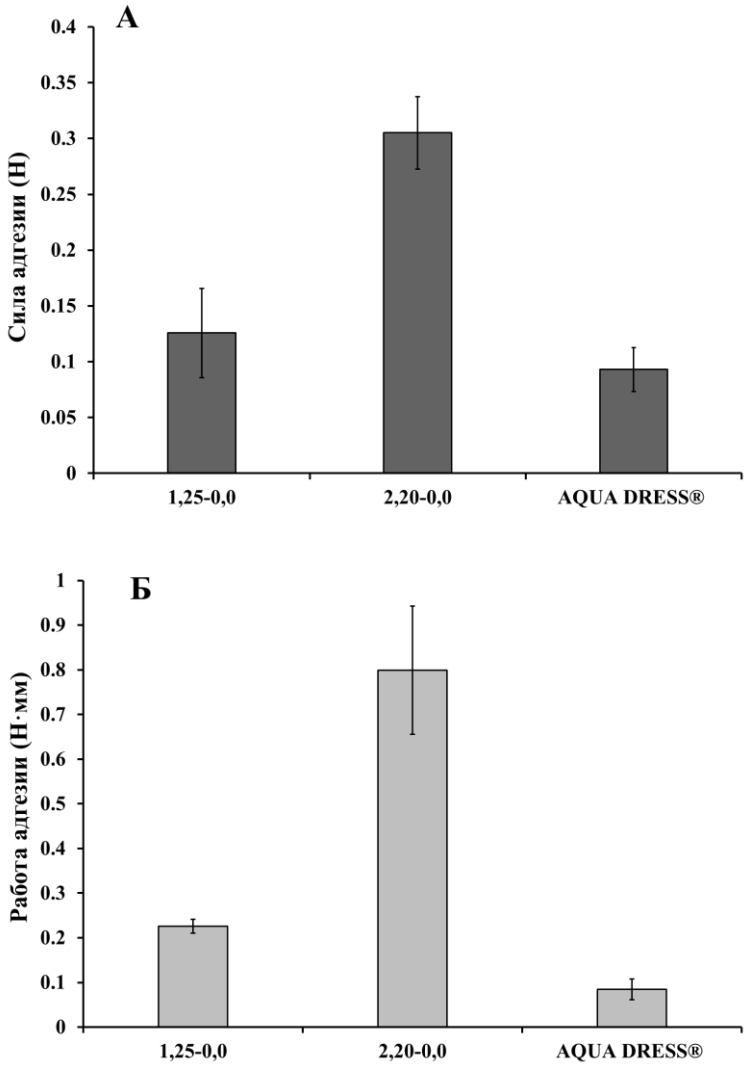
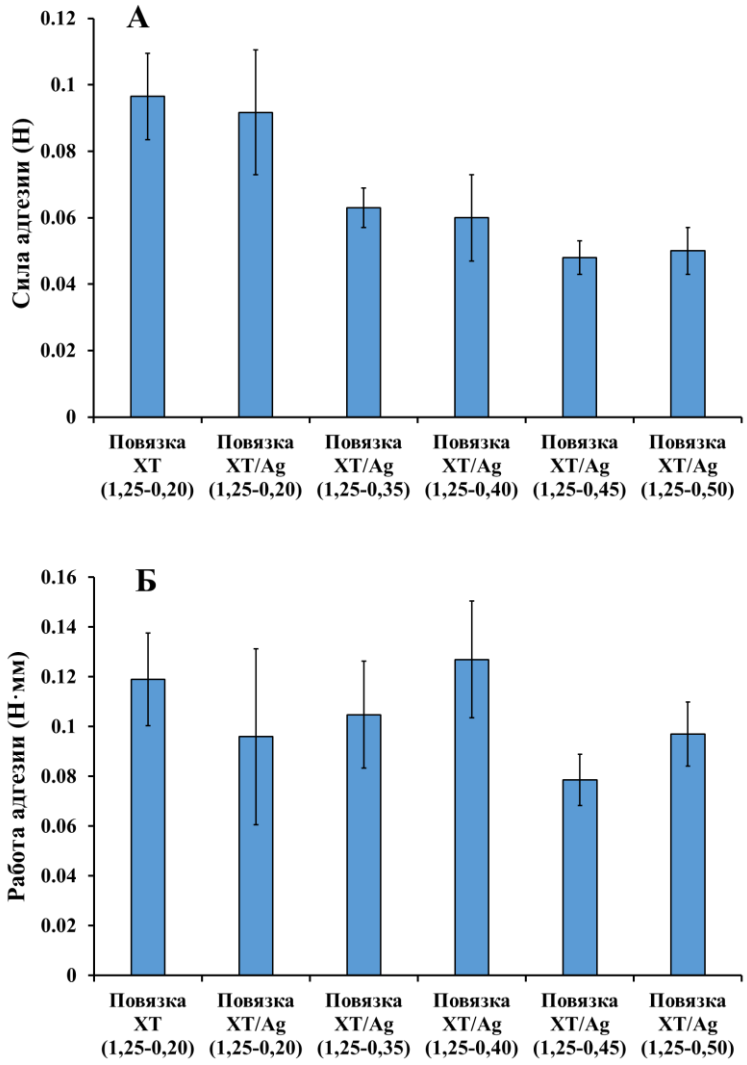


Рисунок 17 – Адгезивные свойства гидрогелевых повязок на основе ХТ и повязки AQUA DRESS® Сила адгезии, Н (А) и работа адгезии, Н·мм (Б)

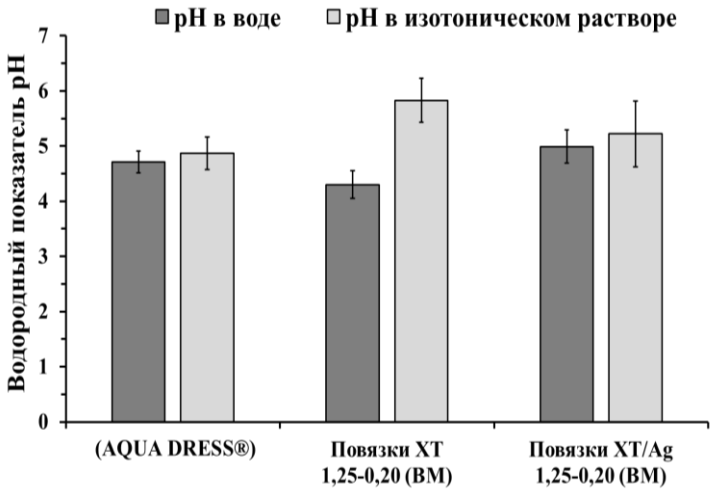


Доза облучения Д=22 кГр, C_{AgNO3} = 100 ppm

Рисунок 18 – Зависимость адгезивных свойств гидрогелевых повязок от присутствия НЧ серебра и концентрации агар-агара полученных гидрогелей Сила адгезии, Н (А) и работа адгезии, Н·мм (Б)

Течение раневого процесса и его исход во многом определяют различные факторы, так один из естественных внешних факторов, оказывающий влияние на заживление раны является значение pH среды [181,182]. В то же время единого мнения о влиянии pH на течение раневого процесса нет. Согласно литературным данным, кислотный показатель кожи здоровых людей составляет в среднем от 4,0 до 5,9 [183]. Водородный показатель раневой поверхности находится в достаточно широких пределах и по мере заживления раны pH статистически достоверно снижается: происходит закисление (pH<7,0) раневой среды, т.е для быстрого заживления ран необходимо предотвращать защелачивание (pH>8). Поскольку, pH является ключевым фактором в процессе заживления, его уровень необходимо учитывать при местном воздействии на раны [184,185]. Можно предположить, что применение гидрогелевого раневого покрытия с заданным низким pH приведет к смене щелочной реакции раневой

поверхности на кислую, что оказывает стимулирующее действие на процессы заживления. С этой целью в работе исследована величина водородного показателя pH полученных гидрогелевых повязок на основе хитозана по отношению к воде и к изотоническому раствору (рисунок 19). Показатель pH повязок приведен в сравнении с повязками AQUA DRESS®, не содержащими хитозан. Установлено, что pH полученных гидрогелей лежит в пределах 4,5±0,3 – 5,5±0,1. При этом значения pH гидрогелей по отношению к изотоническому раствору несколько выше чем в воде.



Доза облучения Д=22 кГр, C_{AgNO3} = 100 ppm

Рисунок 19 – pH гидрогелевых повязок на основе ХТ по отношению к воде и к изотоническому раствору

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что полученные новые гидрогели на основе ХТ обладают большей прозрачностью по сравнению с повязками AQUA DRESS®. Присутствие полисахарида приводит к образованию гидрогелевых повязок с большей пористостью. Новые гидрогели на основе ХТ по механическим свойствам уступают повязкам AQUA DRESS®. Однако включение НЧ серебра способствует улучшению механических свойств полученных гидрогелей. Тест на адгезивность показал, что новые гидрогели на основе хитозана обладают лучшей способностью прилипать к коже по сравнению с повязки AQUA DRESS®.

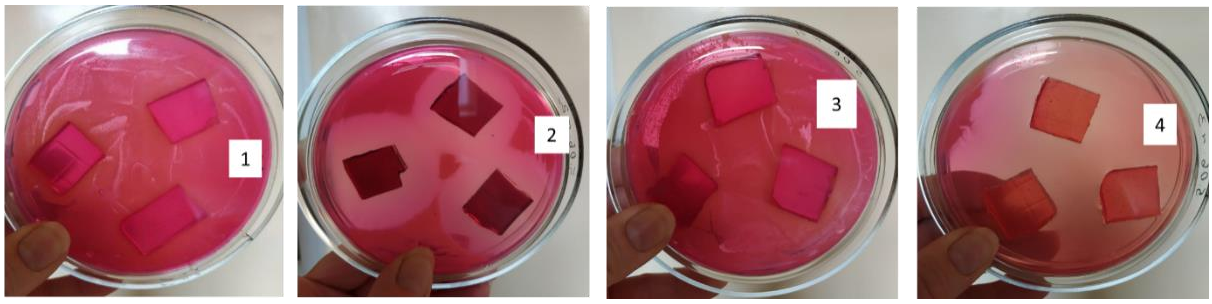
Микробиологические испытания гидрогелевых повязок на основе хитозана.

Хитозан обладает антимикробными свойствами против многих микроорганизмов, однако точные механизмы антибактериального действия достаточно не изучены Один из подходов утверждает, что этот поликатион (-NH_3^+) взаимодействует с отрицательно заряженными группами в клеточной мембране бактерий и препятствует росту бактерий [48]. Следовательно, высокая степень деацетилирования хитозана выгодна поскольку количества ионогенных аминогрупп возрастает. Биологическая активность хитозана также зависит и от его молекулярной массы. Хитозан с высокой молекулярной массой

обладает самой низкой антибактериальной активностью. Более короткие цепи обладают более высокой подвижностью и в сочетании с линейной конформацией (полиионная природа) обеспечивают эффективное взаимодействие с поверхностью мембраны бактериальной клетки [186,187,188].

Поскольку процесс заживления ран является длительным, в частности при лечении тяжелых и трудно заживающих ожоговых ран, существует риск возникновения дополнительной инфекции. Во избежание инфекционного заражения современная раневая повязка должна обладать антимикробными свойствами. Таким образом включение бактерицидных соединений, таких как например, НЧ серебра позволяет получить повязки с антимикробными свойствами.

На рисунке 20 и в таблице 4 представлены результаты исследования бактерицидной активности образцов гидрогелей на основе ХТ, ХТ/Ag, AQUA DRESS® и AQUA DRESS® с серебром. Из рисунка 20 видно, что повязки без НЧ серебра не образуют зоны подавления роста бактериальных культур. Включение НЧ серебра в матрицу гидрогеля позволило получить повязки с антимикробными свойствами как на основе агар-агара, так и хитозана. Однако было замечено, что подавление роста бактериальных культур для повязок на основе хитозана в 2 раза выше, чем для повязок на основе агар-агара (AQUA DRESS®). Следовательно, хитозан проявляет синергический эффект по отношению к НЧ серебра усиливая его действие.



Доза облучения – 22 кГр.
Гидрогели на основе: агар-агара (1); агар-агар/Ag (2); ХТ (3) и ХТ/Ag (4)

Рисунок 20 - Зона ингибирования гидрогелевых повязок против грамположительных *Staphylococcus aureus* АТСС 6538

Таблица 4 – Результат исследования бактерицидной активности на *Staphylococcus aureus*

Наименование повязки	Зоны подавления роста, мм
	Staphylococcus aureus
Повязками AQUA DRESS®.	0
Повязками AQUA DRESS® с НЧ Ag (50 ppm)	15
Повязка на основе ХТ	0
Повязка на основе ХТ с НЧ Ag (50 ppm)	30

3.2 Исследования взаимодействия хитозана с поли(2-этил-2-оксазолином), получение и характеристика пленочных материалов на их основе

Как уже отмечалось выше, пленочные материалы находят широкое применение в качестве носителей ЛВ при создании мукоадгезивных ЛФ, применяемых в офтальмологии, гинекологии и стоматологии. Водорастворимые полимеры обладают некоторыми мукоадгезивными свойствами, однако положительно или отрицательно заряженные полиэлектролиты проявляют лучшую способность прилипать к тканям слизистой оболочки по сравнению с неионными макромолекулами [63].

Хитозан обладает мукоадгезивными и пленкообразующими свойствами и легко перерабатывается в плёночные материалы на его основе. В литературе представлена информация о многочисленных попытках модифицировать мукоадгезивные свойства хитозана путем его химической модификации [45].

Межмолекулярные взаимодействия в смесях полимеров быстрее приводят к цели – получению материала с заданными свойствами, чем синтез высокомолекулярных соединений. Поэтому последние годы характерны большим числом исследований взаимодействия различных полимеров, в основном природного происхождения, так как они являются биосовместимыми и не токсичными, а также быстрее поддаются биодеградации.

Поли (2-оксазолины) представляют собой новый класс полимеров, весьма перспективных для биомедицинских применений, благодаря своей не токсичности, биоинертной природе и уникальным физико-химическим свойствам [13–17]. Водорастворимые представители этого класса, такие как поли(2-метил-2-оксазолин), поли(2-этил-2-оксазолин) и поли(н-пропил-2-оксазолин) получили большое внимание исследователей благодаря способности образовывать водородные комплексы с поликарбоновыми кислотами и танинами [18–20]. В более ранних публикациях сообщалось об исследованиях совместимости поли (2-оксазолинов) с гидроксилсодержащими полимерами [26-28] и некоторыми традиционными пластическими материалами, такими как поливинилхлорид, полистирол, полипропилен и поливинилиденфторид [29].

Несмотря на растущую биомедицинскую важность как хитозана, так и поли (2-оксазолинов), исследования совместимости и образования межмолекулярных взаимодействий в их смесях ограничены лишь публикациями авторов [30].

Настоящая работа посвящена изучению взаимодействия двух биосовместимых полимеров хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина) в смесях с различным соотношением, а также созданию новых мукоадгезивных пленок на их основе [39,189].

3.2.1 Изучение совместимости хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина) в смесях с различным соотношением

Наличие амидных карбонильных групп в структуре поли(2-этил-2-оксазолина) позволяет предположить, что этот третичный полиамид способен вступать в межмолекулярные взаимодействия с полимерами, содержащими

функциональные группы, такие как карбоновые, фенольные или гидроксильные группы [38-40]. Ряд исследований демонстрирует проявление протоноакцепторных свойств карбонильной группы ПОЗа, благодаря образованию водородной связи с протонодонорными группами других функциональных полимеров [39,41].

Хитозан имеет в своей структуре многочисленные гидроксильные и амидные группы, которые могут выступать в качестве доноров протона по отношению к протоноакцепторным группам ПОЗа и образовывать межмолекулярные водородные связи (рисунок 21).

В данной работе в результате ИК-спектрометрического анализа для пленок ХТ, ХТ/ПОЗ и ПОЗ были определены основные характеристические полосы поглощения (рисунок 22). ИК-спектр пленки ХТ показывает наличие широкого пика, появившегося выше 3000 $см^{-1}$, что свидетельствует о наличии валентных колебанияй –ОН групп, которые перекрываются в той же области с валентными колебаниями –NH групп. Полосы поглощения в области 2923 $см^{-1}$ и 2889 $см^{-1}$ характерны валентным колебаниям алифатических $–CH_2$ и –СН групп, соответственно.

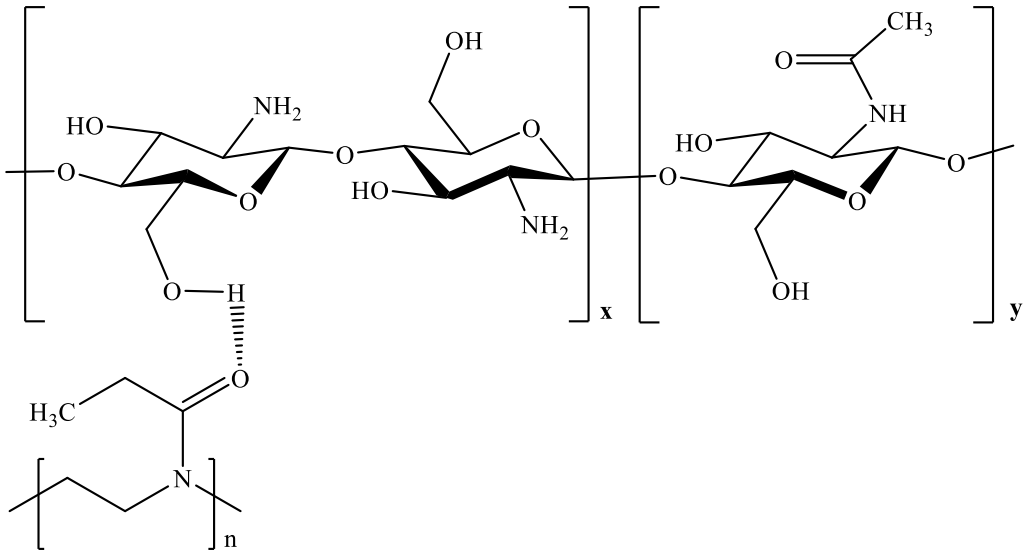


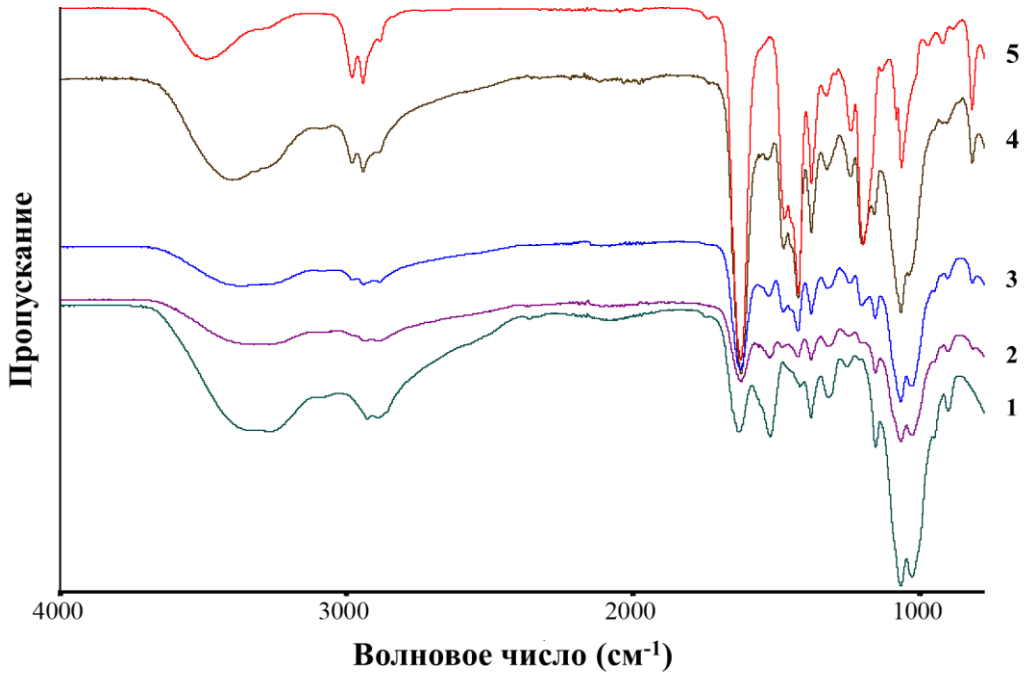
Рисунок 21 – Предполагаемая схема образования водородной связи в смесях ХТ/ПОЗ

Полосы поглощения 1627 $см^{-1}$ и 1520 $см^{-1}$ принадлежат валентным колебаниям карбонильной группы –С=О (Амид I) и деформационным колебаниям –NH группы (Амид II), соответственно. Пик 1416 $см^{-1}$ связан с деформационными колебаниями –СН и –ОН групп [10]. Полоса поглощения при длине волны 1377 $см^{-1}$ относится к симметричным деформационным колебаниям $–CH_3$ групп, указывая на то, что хитозан не полностью деацетилирован, а пик 1316 $см^{-1}$ характеризует валентные колебания –С–N (Амид III) [42]. Полоса поглощения 1250 $см^{-1}$ согласно Bonilla и соавторов [43] указывает на деформационные колебания –СН группы вокруг кольца полисахарида. Пики в области 1151 $см^{-1}$, 1062 $см^{-1}$ и 1024 $см^{-1}$ являются

характерными для структуры полисахарида и связаны с антисимметричными валентными колебаниями моста С–О–С и скелетными колебаниями, вызванными колебаниями –С-О [44].

ИК-спектр пленки ПОЗа показывает наличие широкого пика поглощения при 3488 $см^{-1}$, что свидетельствует о наличии связанной воды, которая не была полностью удалена из пленки. Полосы поглощения 2977 $см^{-1}$, 2939 $см^{-1}$ и 2880 $см^{-1}$ соответствуют валентным колебаниям $–CH_3$, $–CH_2$, –СН группам, соответственно. Полосы поглощения 1624 $см^{-1}$ и 1470 $см^{-1}$ 1419, 1374 относятся к валентным колебаниям –С=О (Амид I) и деформационным колебаниям $–CH_3$ и –СН групп [22]. Полосы поглощения 1322 $см^{-1}$,1237 $см^{-1}$, 1194 $см^{-1}$ и 1061 $см^{-1}$ валентных колебаний связи –С-С хорошо согласуются с данными, представленными в литературе [45].

Все характерные полосы поглощения полимеров присутствуют в спектрах их смесей, а интенсивности полос и форма пиков зависят от соотношения полимеров в смеси. Спектры смесей ХТ/ПОЗ показывают значительные изменения в области валентных колебаний –ОН групп, что свидетельствует о перераспределении в расположении ассоциаций гидроксильных групп. При сравнении спектров наблюдается небольшой сдвиг этой полосы в сторону более высоких волновых чисел при увеличении содержания ПОЗа в пленке. Такое изменение позволяет предположить, что значительная часть гидроксильных групп ХТ связана с амидными карбонильными группами ПОЗа с образованием водородной связи. Полученные результаты хорошо согласуется с данными, представленными Fang и др. [30].

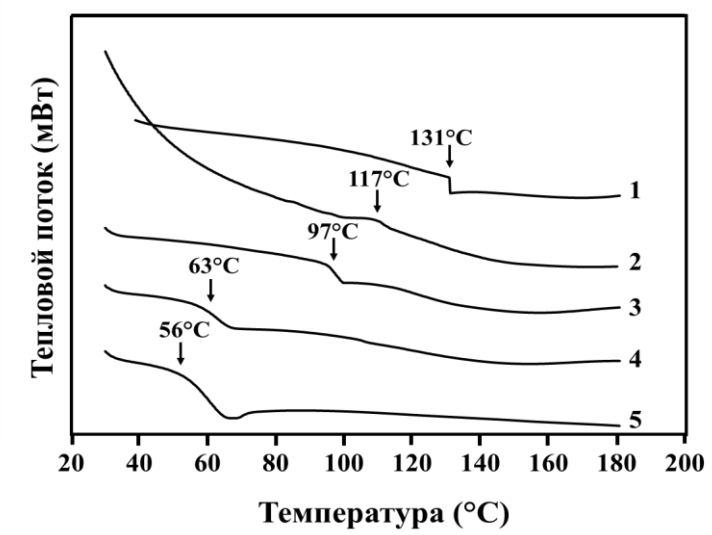


Состав пленок ХТ 100 (1); ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (2); 60:40 (3); 40:60 (4); ПОЗ 100 (5)

Рисунок 22 – ИК – спектры ХТ, ПОЗ и смеси ХТ/ПОЗ

С целью более детального изучения о совместимости полимеров использовали дифференциальную сканирующую калориметрию (ДСК). Обычно наличие одной температуры стеклования, расположенной между значениями $T_{ст}$ отдельных полимерных компонентов, свидетельствует о полной совместимости.

Как видно из рисунка 23, на ДСК термограммах обнаруживаются один переход из стеклообразного состояния в высокоэластическое, при этом наблюдается смещение значения температуры стеклования в зависимости от состава полимерной смеси. Все температуры стеклования смесей находятся между значениями $T_{ст}$ индивидуальных полимеров ПОЗ (56 °С) и хитозана (131 °С), что хорошо согласуется с данными, представленными в работе [30].



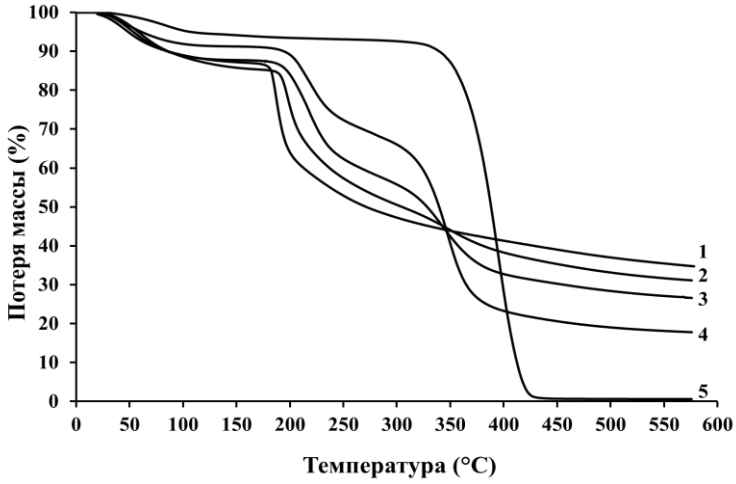
Состав пленок ХТ 100 (1); ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (2); 60:40 (3); 40:60 (4); ПОЗ 100 (5)

Рисунок 23 – Кривые ДСК пленок ХТ, ПОЗ и смеси ХТ/ПОЗ

На рисунке 24 представлены данные термогравиметрического анализа (ТГА) пленочных образцов на основе ХТ, ХТ/ПОЗ, ПОЗ различного состава.

Термогравиметрический анализ показывает, что деградация хитозановой пленки протекает через две основные стадии. Во-первых, она начинает терять физически связанную воду при >30 °С и этот процесс заканчивается при 135 °С. Количество данной физически связанной воды в чистой пленке ХТ составляет около 13 %. Следующая стадия термического разложения наступает при 178-300 °С (максимальная скорость разложения наблюдается при 188 °С). На данной стадии разложения происходит 52% потери хитозана в массе, что вызвано деполимеризацией цепей хитозана и пиранозных колец путем дегидратации и дезаминирования и, наконец, реакцией открытия кольца [46,47]. Пленка на основе ПОЗ показывает большую термическую стабильность по сравнению с хитозаном. Первое стадия потери массы начинается выше 30 °С, что связано с испарением физически связанной воды (приблизительно 8%).

Вторая стадия термического разложения ПОЗа начинается выше 315 °C (максимальная скорость разложения наблюдается при 395 °C) и достигает 92% от общей потери массы при 430 °C. Однократная стадия разложения сухого ПОЗ при 400 °C была ранее описана в работе [48], что в целом согласуется с нашими данными. Температурные профили разложения смесей ХТ/ПОЗ характеризуются тремя стадиями: 1) 25-150 °C соответствует потере физически связанной воды; 2) 175-275 °C соответствует деградации ХТ; и 3) 275-425 °C соответствует деградации ПОЗа.



Состав пленок ХТ 100 (1); ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (2); 60:40 (3); 40:60 (4); ПОЗ 100 (5)

Рисунок 24 – Кривые ТГА пленок ХТ, ПОЗ и смеси ХТ/ПОЗ.

Следует отметить, что температуры, при которых скорости деградации стадий 2 и 3 были максимальными, показали хорошую корреляцию с составом смесей (рисунок 25). Это указывает на то, что наличие более термически стабильного ПОЗ в смеси улучшает термическую стабильность менее стабильного хитозана, что может быть связано с наличием слабой водородной связи между этими полимерами.

Для получения информации о структуре полимерных пленок на основе ХТ и ПОЗ, а также их смеси ХТ/ПОЗ в данной работе использовался метод рентгеновской дифракции (WAXD) (Рисунок 26). Дифрактограммы чистых пленок ХТ и ПОЗ показывают широкий ареол, характерный преимущественно для аморфных полимеров. Пленка ХТ показывает наличие четырех дифракционных пиков при 2θ = 8,5°; 11,8°; 18,1° и 23,8°, что характерно для кристаллических доменов в этом полисахариде и согласуется с работой [49]. Дифрактограмма чистой пленки ПОЗ показывает наличие двух широких аморфных пиков при 2θ = 10,4° и 18,8°, что указывает на некристаллическую природу этого полимера, что также согласуется с литературными данными [50,51]. Характерные для хитозана дифракционные пики присутствуют и на дифрактограммах смесей ХТ/ПОЗ, при этом наблюдается смещение широкого

дифракционного пика от 23,3° до 19,2°. Кроме того, добавление ПОЗа и увеличение его концентрации в смеси приводит к аморфизации полимерной смеси (пространственная разупорядоченность макромолекул), и как следствие кристаллические пики на дифрактограмме размываются.

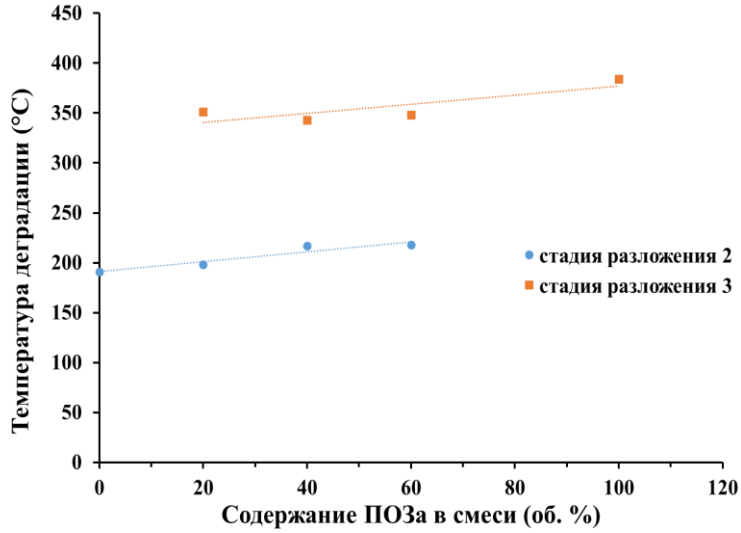
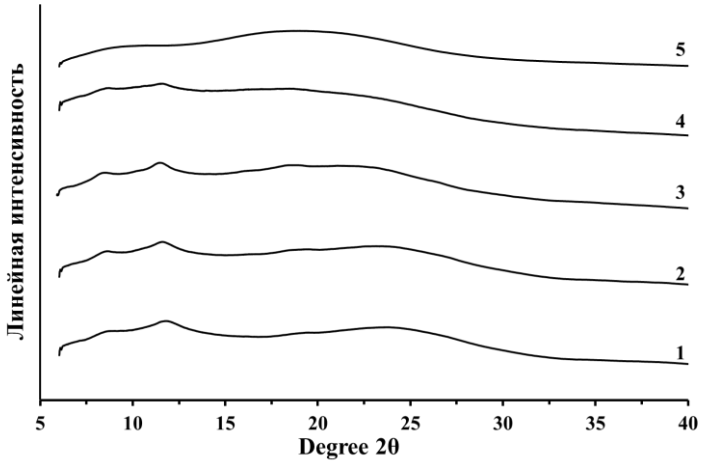


Рисунок 25 – Корреляция между температурой максимальной деструкции и содержанием ПОЗа в смеси (по данным ТГА)

Это может свидетельствовать о том, что хитозан участвует в некотором слабом взаимодействии с ПОЗом, что влияет на формирование и структуру его кристаллических доменов.



Состав пленок ХТ 100 (1); ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (2); 60:40 (3); 40:60 (4); ПОЗ 100 (5)

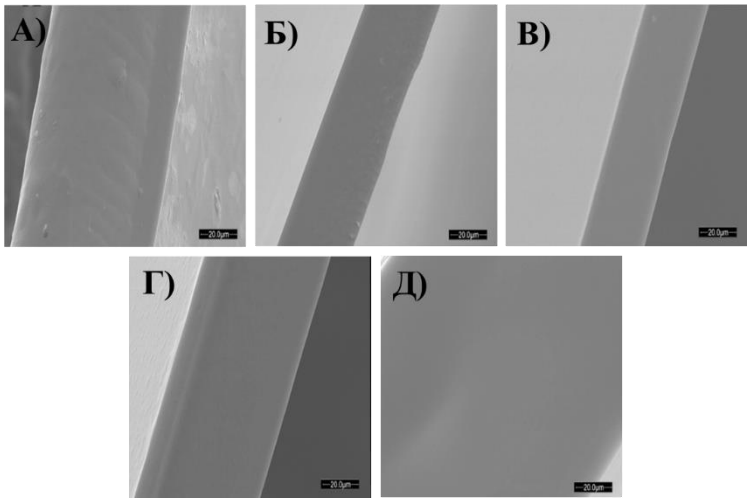
Рисунок 26 – Дифрактограммы пленок ХТ, ПОЗ, и смеси ХТ/ПОЗ

В работе с помощью сканирующей электронной микроскопии изучили морфологию пленочных образцов. Образцы пленок предварительно

замораживали в жидком азоте, затем напыляли золотом для получения качественного изображения. Результаты СЭМ показаны на рисунке 27

Исследование морфологии поперечного сечения образцов при большом увеличении (2000×) показало, что пленки имеют полностью однородную структуру без признаков разделения фаз и границ раздела фаз.

Данные сканирующей электронной микроскопии дают еще одно доказательство совместимости между ХТ и ПОЗ в твердом состоянии при различных соотношениях.



Состав пленок ХТ 100 (А); ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (Б); 60:40 (В); 40:60 (Г); ПОЗ 100 (Д), масштаб 20 мкм

Рисунок 27 – СЭМ – изображения ХТ (А), смеси ХТ/ПОЗ (Б, В, Г) и ПОЗ (Д).

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод, что значительная часть гидроксильных и амидных групп ХТ участвует в образовании водородной связи с карбонильными группами ПОЗ, демонстрируя полную совместимость между полимерами в смесях. Учитывая тот факт, что хитозан является полиэлектролитом, не исключается также наличие электростатических взаимодействий в смесях полимеров между молекулами хитозана в водной среде.

3.2.2 Получение пленочных материалов на основе хитозан/поли(2-этил-2-оксазолин) и их характеристика

В работе получены пленочные материалы на основе ХТ и ПОЗ, а также их смесей методом полива водных растворов полимеров (рисунок 28), а также термически сшитые пленочные материалы на их же основе полученные в присутствие сшивающего агента.

Выбор оптимального состава полимерных пленок, целью которого был отбор соотношения полимеров, а также концентрация пластификатора, способных сформировать пленку для последующего введения в нее лекарственных веществ. В качестве пластификатора использовали глицерин в

концентрации 5-20 % от массы полимера. Оптимальное количество пластификатора в составе пленки составляет 5-10 % от массы сухого полимера, увеличение глицерина свыше 10 % приводит к образованию более липких пленок, трудно отстающих от подложки.

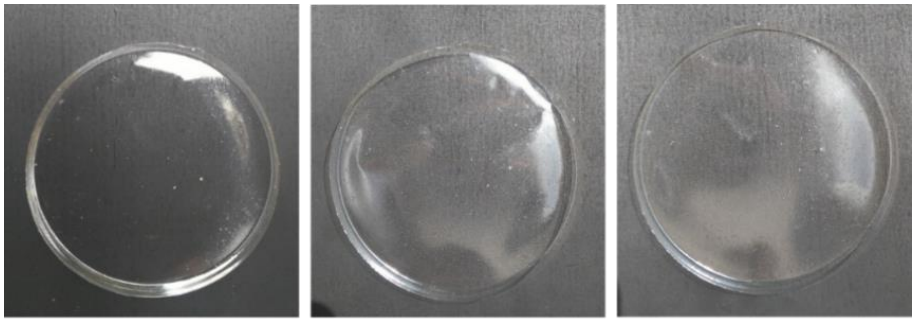


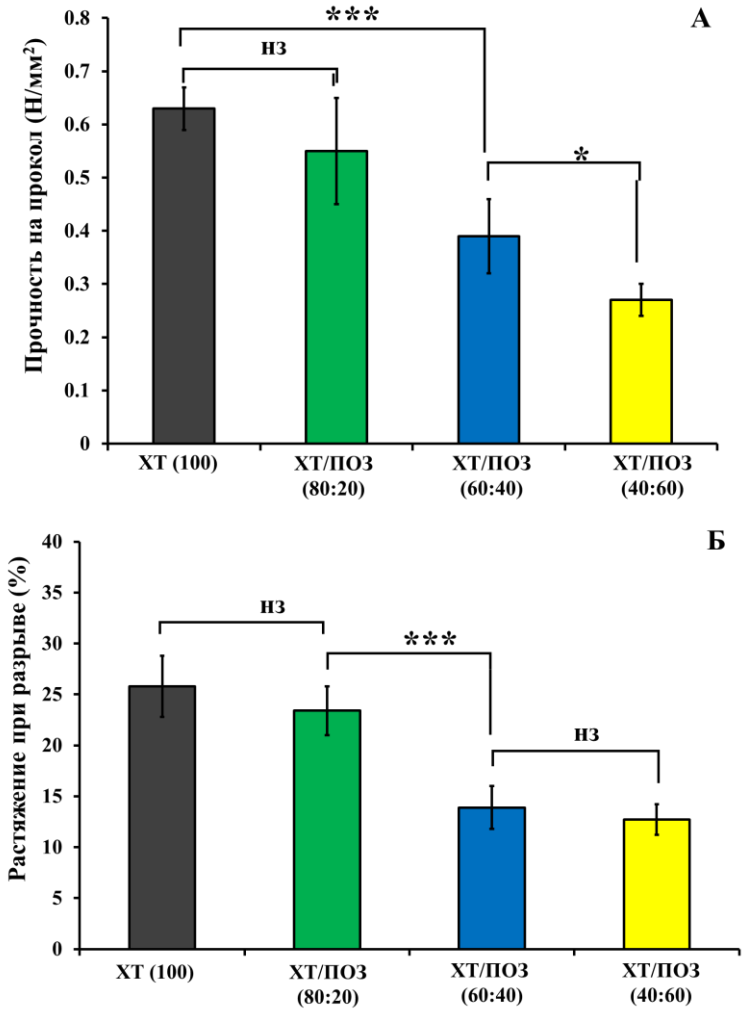
Рисунок 28 – Пленки на основе ХТ/ПОЗ полученные методом полива

Пленки на основе ПОЗа практически не сохраняют целостность при снятии его с подложки из-за чрезмерной хрупкости, а добавление глицерина приводило к формированию липких пленок, что также не пригодны к применению. Пленки на основе хитозана хрупки, а в присутствии глицерина приобретали достаточную эластичность. Хорошее сочетание показали пленки на основе ХТ/ПОЗ в присутствии глицерина. Однако, состав ХТ/ПОЗ (40:60) образует пленку заметно тоньше, чем два других состава. Критерием отбора являлся удовлетворительный внешний вид (прозрачность, эластичность, однородность, отсутствие микротрещин и разрывов в пленке). Полученные полимерные пленки на основе ХТ/ПОЗ прозрачны, однородны, без микротрещин и разрывов, достаточно эластичны, гибки, и обладают удовлетворительными показателями прочности на изгиб (таблица 5). Пленки с показателем прочности на изгиб 300 или более обладают превосходной гибкостью [190]. Плёнки однородны по толщине и весу.

Таблица 5 – Характеристики пленок на основе ХТ, ПОЗ и их смесей

Состав композиции	Толщина, мм	Вес, мг	Прочн. на изгиб	Празрач.,%* 600 nm	pH
Пленки ХТ/ПОЗ					
ХТ (100)	0,07 ± 0,01	33,41±1,52	> 300	89,8	4,06 ± 0,4
ХТ/ПОЗ (80:20)	0,08 ± 0,02	33,67±2,51	> 300	89,4	4,02 ± 0,3
ХТ/ПОЗ (60:40)	0,06 ± 0,01	35,00±4,36	< 300	89,9	4,08 ± 0,3
ХТ/ПОЗ (40:60)	0,05 ± 0,01	33,33±2,08	< 300	89,7	4,14 ± 0,3
Пленки ХТ/ПОЗ с ЛВ (ципрофлоксацин)					
ХТ (100)	0,06 ± 0,01	35,25±2,29	> 300	65,1	3,76 ± 0,5
ХТ/ПОЗ (80:20)	0,07 ± 0,01	32,70±1,51	> 300	68,1	3,86 ± 0,2
ХТ/ПОЗ (60:40)	0,06 ± 0,01	36,45±5,31	< 300	72,9	3,78 ± 0,4
ХТ/ПОЗ (40:60)	0,05 ± 0,01	38,83±1,83	< 300	78,2	3,86 ± 0,2
* - УФ/видимой спектрометрии					

В работе изучены механические свойства полученных пленочных материалов (рисунке 29). Механические испытания прочности на прокол пленок проводили с использованием Texture Analyser XT Plus (Stable Micro Systems Ltd., Великобритания) при комнатной температуре с максимально приложенным усилием 0,049 Н. Пленка, состоящая из чистого ПОЗа, не подходила для такого анализа из-за своей крайней хрупкости. Сравнение механических свойств чистых пленок ХТ и полимерных смесей показывает, что увеличение содержания ПОЗ в образце приводит к постепенному снижению относительного удлинения при разрыве и значениям прочности на прокол.



Данные выражены в виде среднего ± стандартного отклонения (n = 5). Статистически значимые различия: *** - p <0.001; * - p <0.05; нз - не имеет значения.

Рисунок 29 – Прочность пленок на прокол (А) и растяжение при разрыве (Б) для пленок ХТ и ХТ/ПОЗ

Далее в работе методом термического сшивания получены сшитые плёночные формы на основе ХТ и ХТ/ПОЗ [191]. В качестве сшивающего агента использовали N,N’-метилен-бис-акриламид (МБА). Высушенные до

постоянной массы образцы пленок ХТ и ХТ/ПОЗ сшивали в термостате при 100 °С и 110 °С в течение 4, 6 и 8 часов. Полученные образцы сшитых пленок ХТ/ПОЗ имели удовлетворительные органолептические показатели. Все образцы пленок были однородны и прозрачны, без микротрещин и разрывов, немного липкие, за счет присутствия глицерина, достаточно эластичные, гибкие и демонстрировали хорошие показатели прочности на изгиб (более 300 изгибов). Кроме того, образцы полученных плёнок имели однородную толщину (0.3 ± 0.08 мкм). Было замечено, что добавление ПОЗа приводит к незначительному уменьшению толщины пленок. Загрузка ЛВ лидокаина гидрохлорида моногидрат (ЛД) в пленки осуществлялась методом насыщения. Количество загруженного ЛД в полимерную пленку использовались для расчета процентного количества выделевшегося ЛД. В таблице 6 показаны технологические характеристики термически сшитых пленок.

Таблица 6 – Характеристика термически сшитых пленок

Состав композиции, об. %	Толщина, мм	Прочность на изгиб	Количество ЛВ, %	pH поверхн.
ХТ (100)	0,38 ± 0,09	> 300	84,1 ±14,5	4,5 ± 0,02
ХТ/ПОЗ (80:20)	0,38 ± 0,08	> 300	86,3 ±13,6	5,2 ± 0,01
ХТ/ПОЗ (60:40)	0,35 ± 0,10	> 300	76,6 ±15,4	4,5 ± 0,07
ХТ/ПОЗ (40:60)	0,30 ± 0,09	> 300	86,3 ±8,9	4,6 ± 0,02

В работе изучено влияние времени и температуры термической обработки на выход гель фракции. Результаты золь-гель анализа представлены на рисунке 30. Установлено, что с увеличением температуры и времени термообработки (в исследуемом интервале) снижается образование гель-фракции. Вероятно, это вызвано тем, что в системе начинают доминировать процессы деструкции, приводящие к распаду полимерной сетки.

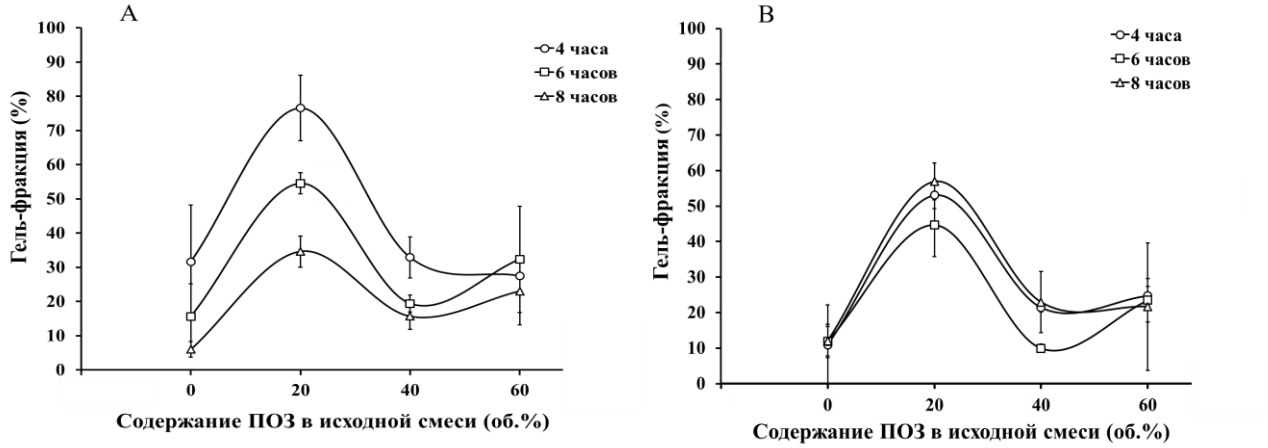
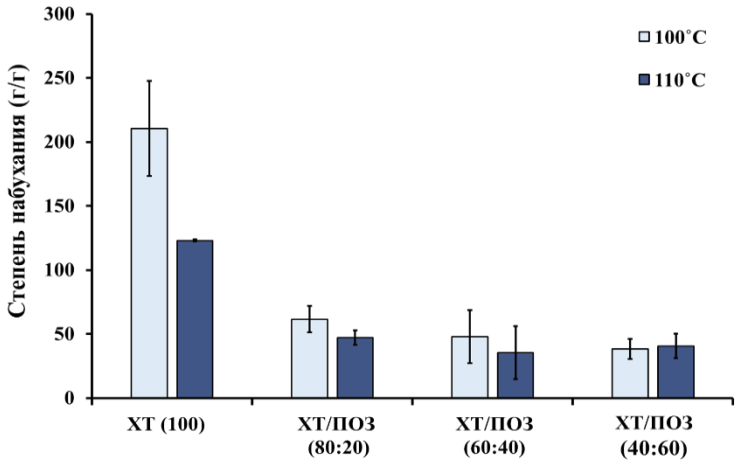


Рисунок 30 – Зависимость выхода гель-фракции при 100 °С (А) и 110 °С (В) от времени термической обработки и состава сшитых пленок ХТ и ХТ/ПОЗ

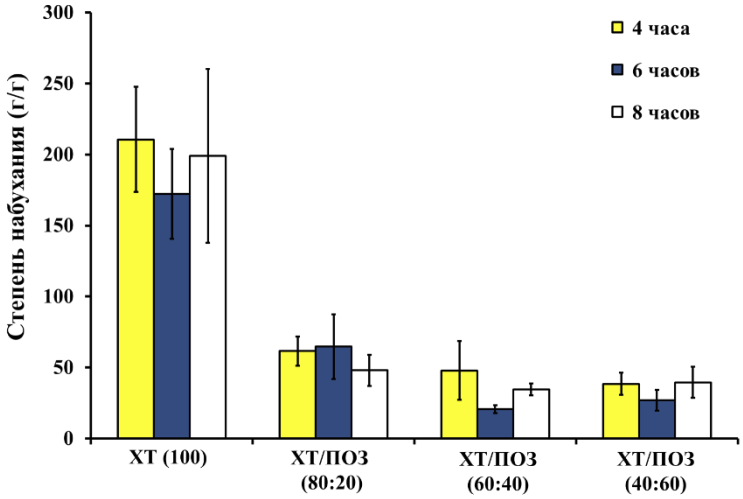
На основании результатов золь-гель анализа определены наиболее оптимальные условия термообработки, также состав пленочной композиции. Таким образом пленка состава ХТ/ПОЗ (80:20) демонстрирует самые высокие значения выхода гель-фракции при температуре 100°С и времени 4 часа.

Важным параметром, определяющим возможность использования гидрофильных пленок как биоадгезивный материал, является кинетика их набухания. В работе изучено влияние температуры и времени термообработки на равновесную степень набухания пленочных образцов. На рисунках 31 и 32 показаны зависимости равновесной степени набухания сшитых пленок ХТ и ХТ/ПОЗ от температуры сшивания образцов и от времени термообработки.



Время термосшивания 4 часа

Рисунок 31 – Зависимость равновесной степени набухания от состава сшитых плёнок ХТ и ХТ/ПОЗ

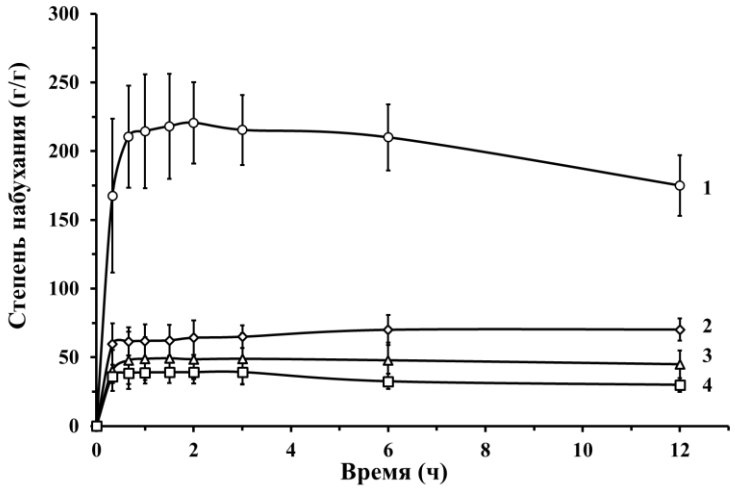


Температура сшивания 100°С

Рисунок 32 – Зависимость равновесной степени набухания от времени термообработки плёнок на основе ХТ и ХТ/ПОЗ

Высокий предел поглощения жидкости свидетельствует о невысокой степени сшивания плёнки. Установлено, что при добавлении поли(2-этил-2-оксазолина), степень набухания уменьшается в 4-5 раз. При этом в исследуемом интервале времени термической обработки (4-8 ч) и температуры (100 °С; 110 °С) изменение содержания поли(2-этил-2-оксазолина) в исходной смеси не оказывает значительного влияния равновесную степень набухания сшитых пленок.

На рисунке 33 приведены данные по скорости набухания образцов плёнок, сшитых при 100 °С в течение 4 часов. Показатели степени набухания для пленок из чистого хитозана резко возрастают в течение первого часа и стабилизируются в промежутке от 1 до 3 часов, после чего наблюдалось снижение значений степени набухания из-за слабой степени сшивания и механической прочности пленки и, как следствие, ее механической деструкции. Пленки, содержащие поли(2-этил-2-оксазолин) достигают равновесного набухания в течение 40 минут, при этом не наблюдается дальнейшего снижения их степени набухания.

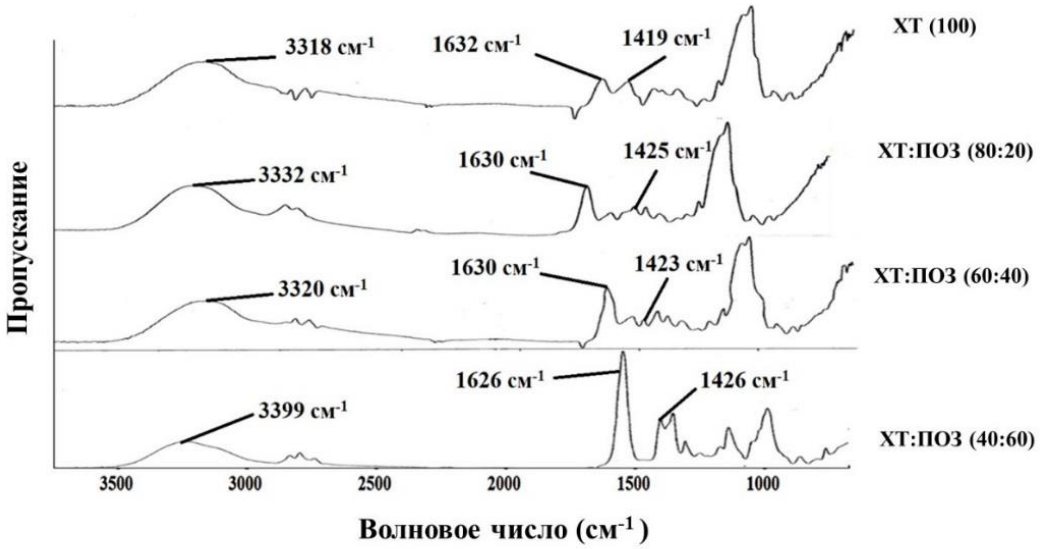


Состав пленок ХТ/ПОЗ (об. %): 100:0 (1); 80:20 (2) 60:40 (3); 40:60 (4).
Температура сшивания 100°С и время термообработки 4 ч.

Рисунок 33 – Кинетическая зависимость равновесной степени набухания сшитых плёнок ХТ и ХТ/ПОЗ различного состава от времени

Методом ИК-спектроскопии (рисунок 34) была охарактеризована структура полученных пленок ХТ/ПОЗ. На ИК-спектре сшитой пленки ХТ наблюдаются широкие пики в области 3318 $см^{-1}$ которые могут быть интерпретированы как колебания аминогруппы. Следует отметить что пик при 3318 $см^{-1}$ перекрывается с валентными колебаниями связанного гидроксила. Полоса поглощения при 1419 $см^{-1}$ связана с колебаниями -CH и –OH групп [192,193]. Пик при 1151 $см^{-1}$ – ассимметричные валентные колебания моста -C–O–C, при 1062 $см^{-1}$ и 1024 $см^{-1}$ – скелетные колебания -C–O, которые являются характеристиками структуры полисахарида хитозана [38,194].

Наблюдаемые сдвиги на спектрах ХТ/ПОЗ при 3318 $см^{-1}$ до 3399 $см^{-1}$ могут свидетельствовать об образовании ковалентной связи между молекулами хитозана по -NH_2 группе и молекулами сшивающего агента N,N’-метилен-бис-акриламида. Наблюдаемые сдвиги деформационных колебаний при 1626 $см^{-1}$ до 1632 $см^{-1}$ и 1419 $см^{-1}$ до 1426 $см^{-1}$ могут быть обусловлены образованием водородных связей между карбонильными группами молекул ПОЗа и гидроксильными и амино группами молекул ХТ, соответственно.



Температура сшивания 100 °С, время 4 часа

Рисунок 34 – ИК-спектры термически сшитых плёнок ХТ/ПОЗ

На рисунке 35 показана структурная формула N,N’-метилен-бис-акриламидом. Таким образом, можно предположить что, N,N’-метилен-бис-акриламид взаимодействует с аминогруппой хитозана, в результате чего происходит ковалентное сшивание макромолекул хитозана с образованием поперечных сшивок. [195–197]. Некоторые из NH_2 – и OH – групп хитозана образуют водородные связи с карбонильной группой ПОЗ [39].

На основании сделанных предположений о ковалентном сшивании и по результатам золь-гель анализа и ИК-спектроскопии схематически предложен механизм образования полувзаимопроникающей сетки ХТ/ПОЗ, в которой молекулы хитозана ковалентно связаны между собой сшивающим агентом N,N’-метилен-бис-акриламидом, а молекулы ПОЗ участвуют в образовании физически сшитой сетки за счет водородных связей с ХТ (рисунок 36).

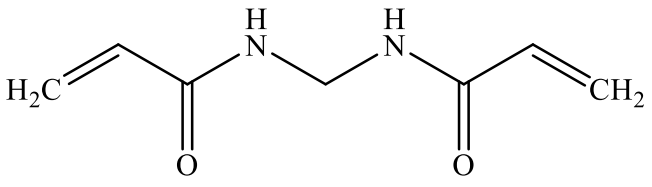


Рисунок 35 – Структурная формула N,N’-метилен-бис-акриламидом

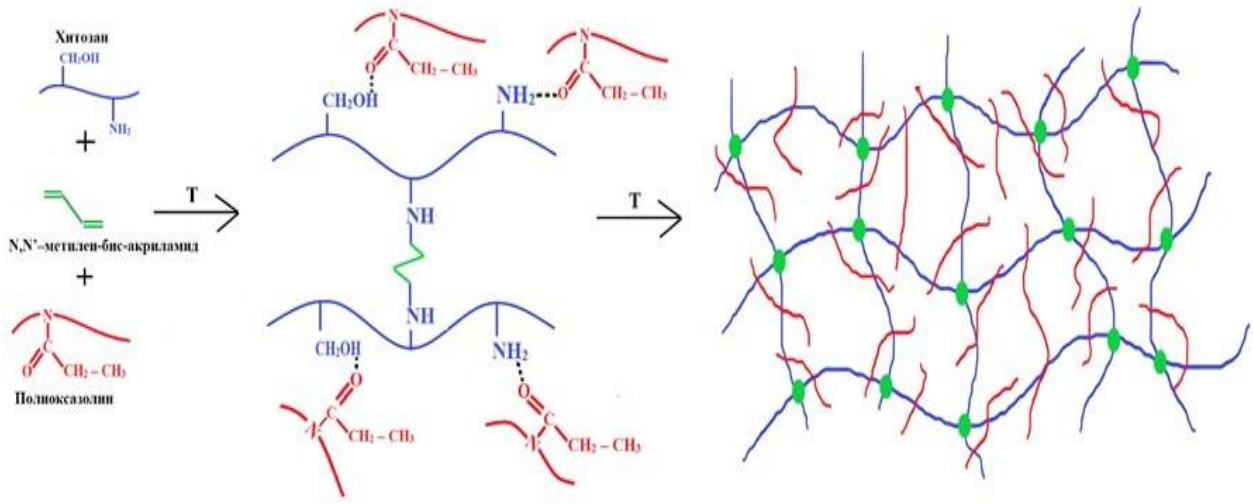


Рисунок 36 – Механизм образования полувзаимопроникающей сетки ХТ/ПОЗ

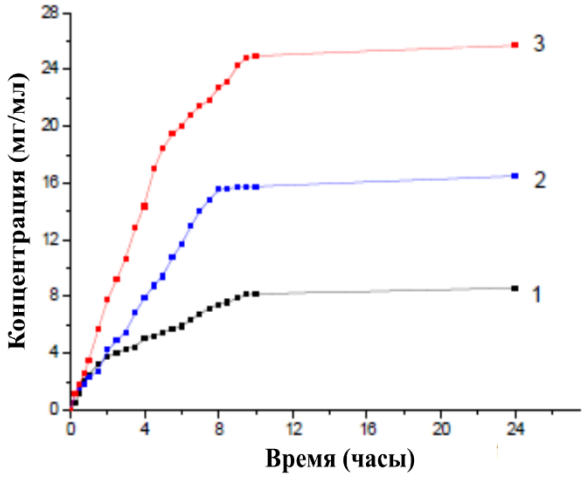
Таким образом, наибольший выход гель фракции наблюдался у образцов, полученных при 100°С в течение 4 часов и концентрации сшивающего агента МБА 0,5 моль.%. Набухающая способность образцов, снижается с увеличением температуры термосшивания от 100 до 110°С. При этом, данная зависимость наиболее отчетливо проявляется для составов с большим содержанием хитозана. Степень набухания пленок ХТ/ПОЗ не зависит от времени термообработки в интервале 4-8 ч. На основании полученных данных, можно сделать вывод, что наиболее оптимальными условиями термообработки пленок являются: температура 100°С, время 4 часа и состав пленки ХТ/ПОЗ (80:20).

3.2.3 Высвобождения действующих веществ из полимерных лекарственных форм

Как было сказано в литературном обзоре, полимерные лекарственные формы проявляют эффект пролонгирования лекарственного препарата. Ранее в работе нами [198] исследовано высвобождение α-липоевой кислоты из гелевой мази на основе карбопола с использованием диффузионной ячейки Franz Diffusion Cell, донорная и акцепторная части которой разделены мембраной (целлюлозной) [199]. На рисунке 37 результаты исследования показывают, что гелевая основа карбопола обеспечивает пролонгированный эффект в течении первых 10 часов высвобождения α-липоевой кислоты. После 10 часов пролонгация замедляется и постепенно значения достигают плато.

С целью установления пролонгированного действия пленочных лекарственных форм на основе ХТ/ПОЗ в работе исследована скорость высвобождения ципрофлоксацина из полимерной пленки с помощью установки Franz Diffusion Cell.

Ципрофлоксацин HCl (ЦПФ), назначаемый при глазных инфекциях и инфекциях мочевыводящих путей, является антибактериальным средством широкого спектра действия категории фторхинолонов (рисунок 38).



$C_{\text{α-липоевой кислоты}}$ = 0,9 % (1); 1,8 % (2); 2,7 % (3)

Рисунок 37 – Высвобождение α-липоевой кислоты из гидрогелей мази на основе карбопола через мембрану

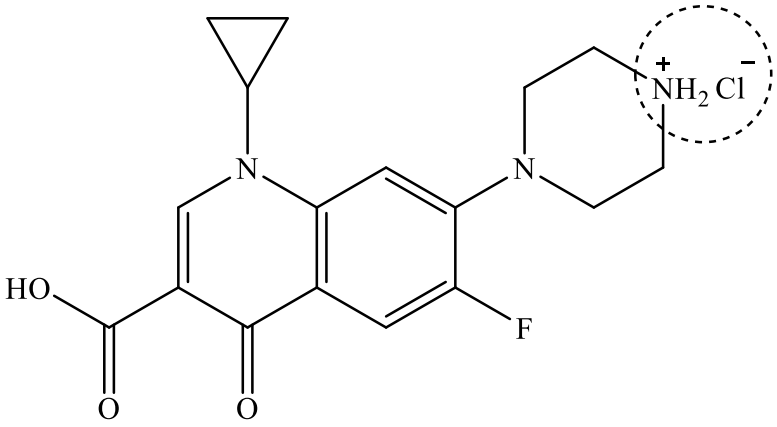
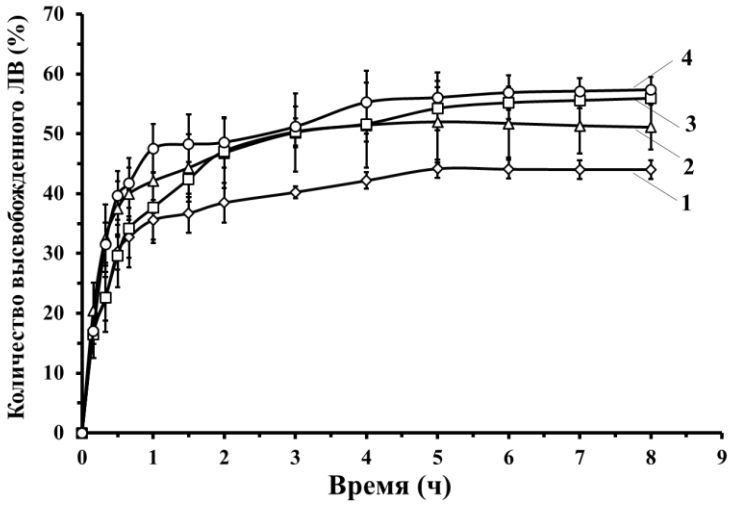


Рисунок 38 – Химическая структура ципрофлоксацина гидрохлорида

На рисунке 39 представлены результаты исследования кинетики высвобождения ципрофлоксацина из полимерной матрицы. Для пленок ХТ наблюдается наименьшее высвобождение ЦПФ, это связано скорее всего образованием взаимодействий посредством электростатических сил между аминогруппами хитозана и карбоксильными группами гидрохлорида ципрофлоксацина. Присутствие ПОЗа в пленках ХТ/ПОЗ от 20 до 60 об. % приводит к увеличению высвобождения препарата в диапазоне от 51 ± 3 % до 56 ± 2 % в течение 4 ч. Таким образом, присутствие ПОЗа в пленках препятствует взаимодействию хитозана с ЦПФ, в виду того, что карбонильные группы ПОЗа вступают в образование слабых водородных связей с –ОН и $–NH_2$ группами хитозана. Следовательно, количество высвобождаемого препарата для пленок ХТ/ПОЗ выше, чем для пленки на основе ХТ. Для всех типов пленок скорость высвобождения препарата достигает равновесного значения в течение примерно двух часов.



Состав пленок ХТ 100 (1); ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (2);
60:40 (3); 40:60 (4)

Рисунок 39 – Кумулятивные профили высвобождения ципрофлоксацина из пленок ХТ и ХТ/ПОЗ *in vitro* в различных соотношениях.

Далее в работе оценена возможность использования сшитых плёночных форм на основе ХТ/ПОЗ в качестве носителя лекарственного вещества. В качестве модельного лекарства использовали лидокаин гидрохлорида моногидрата (ЛД) (рисунок 40) используемый в стоматологии в качестве анастезирующего средства. В настоящее время для местной анестезии в стоматологии и отоларингологии применяют уколы Лидокаина 2%, а также используют примочки 10% -го раствора лидокаина на слизистую полости рта. Гидрогелевая буккальная пленки с лидокаином может быть хорошей альтернативой инъекционным препаратам с точки зрения, как безопасности, так и удобства применения [200].

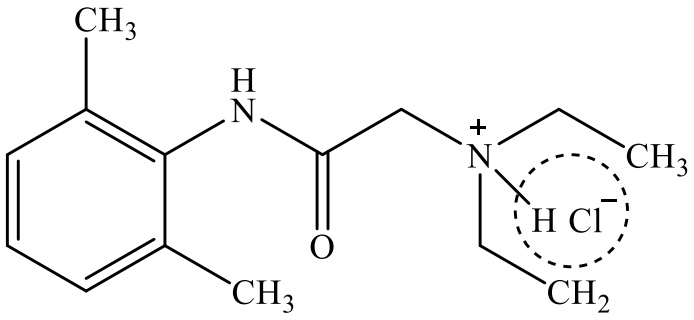
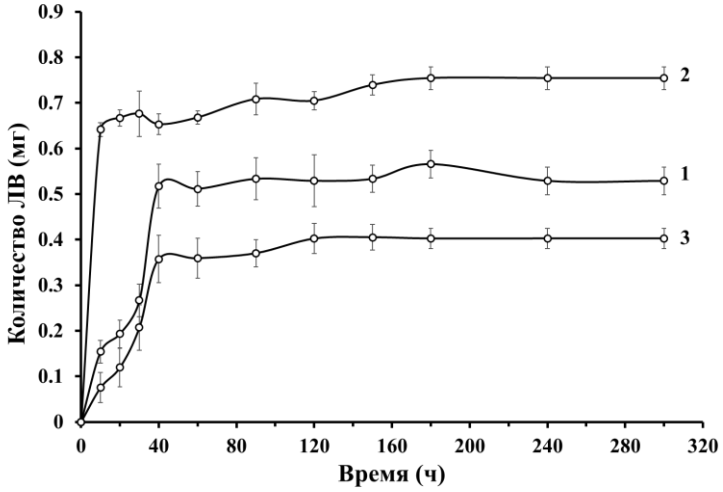


Рисунок 40 – Химическая структура лидокаина гидрохлорид моногидрата

На рисунке 41 приведены результаты кинетики высвобождения лидокаина гидрохлорида моногидрата из термически сшитых плёнок на основе ХТ/ПОЗ. Не представилось возможности исследовать образцы пленок на основе чистого хитозана, так как при погружении пленок в раствор ЛД для их насыщения, пленки сильно набухли и подверглись механической деструкции, вызванной

слабой степенью сшивания. Зависимость высвобождения лидокаина от состава полимерной матрицы не показало строгой закономерности. При этом можно сделать вывод, что присутствие ПОЗа в составе лекарственных форм приводит к увеличению количества выделяемого ЛВ. Вероятно это обусловлено свойсвами сшитой полимерной матрицы, а именно с пористостью материала, которая увеличивается при увеличение концентрации ПОЗа. Из рисунка 41 видно, что для состава ХТ/ПОЗ (40:60) характерно более быстрое высвобождение действующего вещества в первые 10 минут. В то время, как для двух других плёнок было установлено пролонгированное выделение в течение 40 минут.



Состав пленок ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (2); 60:40 (3); 40:60 (4); $C_{МБА}$ = 0,5 мол. %

Рисунок 41 – Профиль высвобождения ЛД из термически сшитых пленок на основе ХТ/ПОЗ.

В результате исследования высвобождения лидокаина гидрохлорида моногидрата установлено, что присутствие полиоксазолина в составе лекарственных форм приводит к увеличению количества выделяемого ЛД.

3.2.4 Изучение мукоадгезивных свойств пленок ХТ и ХТ/ПОЗ методами *in vitro* и *in vivo*

Длительная экспозиция ЛФ, достаточная для высвобождения и всасывания лекарственного вещества, напрямую зависит от наличия мукоадгезивных свойств.

Хитозан является катионным полисахаридом, пролонгированное время контакта и наилучшее проникновение полимера через роговицу обеспечивается благодаря его электростатическим взаимодействиям с отрицательно заряженными муциновым слоем слезной пленки и мембранами эпителия роговицы и конъюнктивы [43]. Растворимые или набухающие полимерные пленки используются в глазной терапии либо для повышения эффективности доставки лекарственных средств (по сравнению с обычными глазными

каплями), либо для защиты поврежденной роговицы [72, 77]. Такие пленки должны обладать некоторыми мукоадгезивными свойствами для длительного пребывания на слизистой оболочке. Однако в конечном итоге предполагается, что эти материалы полностью растворяются в слезной жидкости или должны обеспечивать их нетравматическое отслоение от поверхности глаза. Пленочные материалы с недостаточно мукоадгезивными свойствами не пригодны для применения из-за трудностей их прикрепления к поверхности глаза и, наоборот, чрезмерно адгезивные пленки будут вызывать дискомфорт, поскольку они могут мешать морганию [70].

С этой целью в работе предложено изучить возможность применения пленок на основе смесей ХТ/ПОЗ в качестве глазных лекарственных пленок с помощью тестов *in vitro* и *in vivo*. Тесты *in vitro* на удержание полимерных пленок ХТ/ПОЗ на поверхности свежесрезанных бычьих роговиц проводили методом проточного анализа с флуоресцентным обнаружением. Эта методология ранее использовалась для исследования удержания полимерных материалов на различных слизистых поверхностях, включая глазные ткани и была валидирована в сравнении с другими методами, применяемых при оценке мукоадгезивных свойств [161, 166, 201].

Данный тест позволяет имитировать физиологические условия пребывания лекарственной формы на слизистой поверхности глаза т.е. имитирует процесс растворения полимерной пленки слезной жидкостью и высвобождения ЛВ в глаз живого организма.

В качестве модельного ЛВ был использован флюоресцеин натрий (NaFl) с концентрацией 0,1 мг/мл. При использовании NaFl с концентрацией выше 0,1 мг/мл наблюдалось образование сильных комплексов с хитозаном и выпадение осадков из растворов. Это связано с тем, что отрицательно заряженный NaFl (при его избытке) образует комплексы с катионным полисахаридом под действием сил электростатического притяжения. Следовательно, для получения флуоресцентных пленок использовали NaFl с более низкой концентрацией.

Тест на удержание был проведен в инкубаторе при 37°С, где бычью роговицу с нанесенной на ее поверхность пленкой с NaFl, промывали искусственной слезной жидкостью (ИСЖ). После нанесения пленки и после каждой промывки были получены фотографии с использованием цифровой камеры Leica DFC3000G с увеличением 0,8 × и временем экспозиции 20 мс, прикрепленный к стереомикроскопу Leica MZ10F (Leica Microsystems, Великобритания) с GFP-фильтром (синий, λ-излучение=512нм). Изображения анализировались с помощью программного обеспечения ImageJ. На рисунке 42 представлены флуоресцентные изображения полимерных пленок после цикла промывки в определенные промежутки времени. Степень удерживания оценивалась по интенсивности флуоресценции, после каждого цикла промывки (через каждые 5 мин в течении 1 ч). На рисунке 43 представлены данные по степени удерживания полимерной пленки на бычьей роговице в зависимости от времени промывки слизистой оболочки бычьей роговицы, орошаемой ИСЖ (200 мкл/мин).

Анализ флуоресцентных изображений пленок с помощью программного обеспечения ImageJ показали увеличение интенсивности флуоресценции после первой промывки (5 мин). Это потенциально может быть связано с воздействием влаги на флуоресцентные пленки, что приводит к увеличению яркости, и как следствие приводит к значениям интенсивности флуоресценции> 100%.

Несмотря на первоначальное увеличение интенсивности, последующие промывки приводили к снижению интенсивности флуоресценции за счет растворения пленок и вымывания из них NaFl. Установлено, что пленки ХТ (100) и ХТ/ПОЗ (80:20 и 60:40) проявляют значительно большую способность удерживаться на слизистой оболочке (p <0,01) в начальных циклах промывки по сравнению с пленкой ХТ/ПОЗ (40:60). Таким образом, введение ПОЗа уменьшает время удерживания пленок на слизистой оболочке т.е. снижает мукоадгезивные свойства. Более того, было установлено, что удержание пленок ХТ/ПОЗ (80:20 и 60:40) на слизистой оболочке глаза не сильно отличается от удержания пленок ХТ (100) (p> 0,05) демонстрируя аналогичный профиль удерживания почти до конца цикла промывки (рисунок 41).

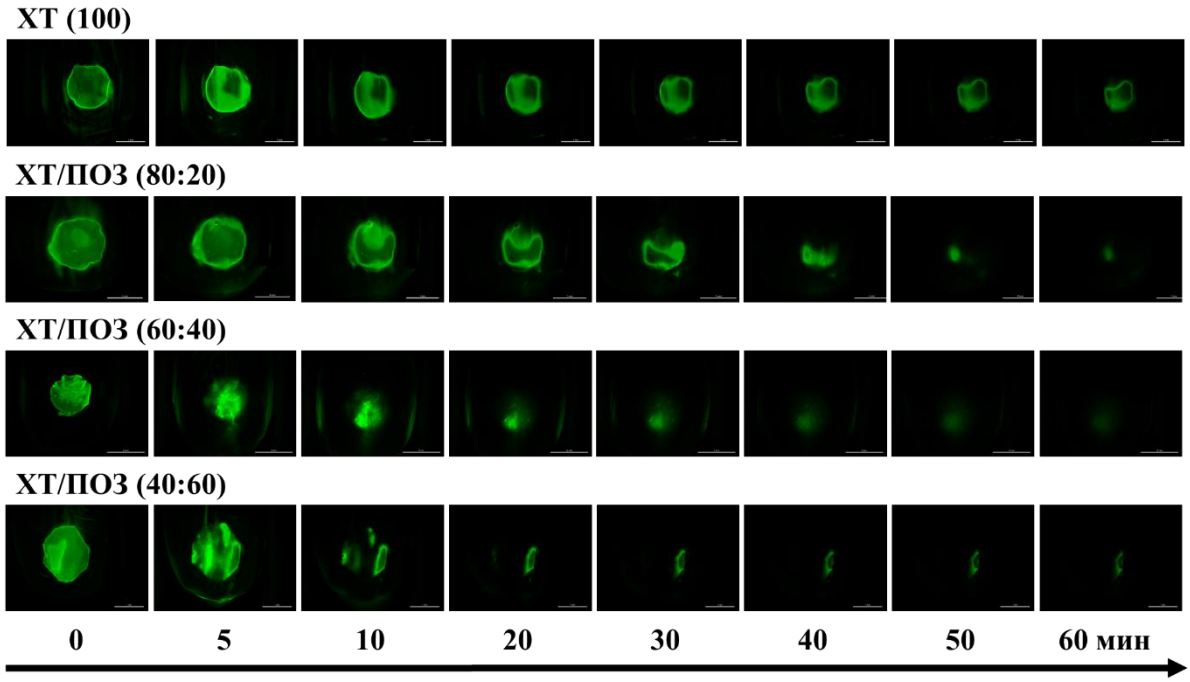
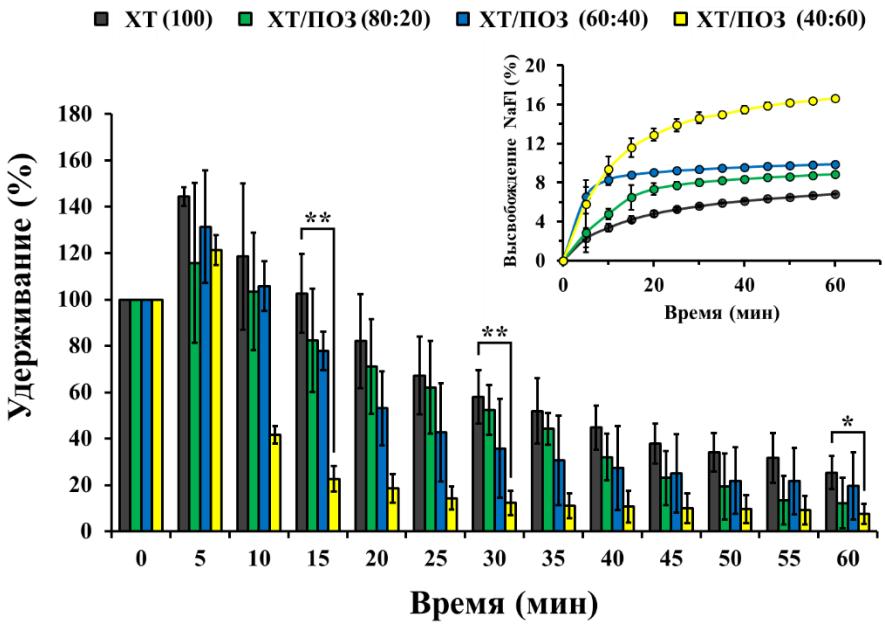


Рисунок 42 - Флуоресцентные изображения, полученные в результате теста на удержание полимерной пленки на бычьей роговице, промытой в течении 60 мин. Масштабные линейки составляют 1 мкм.

Параллельно раствор ИСЖ, стекающий по поверхности роговицы во время каждого цикла промывки, собирали через заданные интервалы времени и анализировали с помощью флуоресцентной спектрометрии.

На рисунке 40 показан суммарный процент высвобождения NaFl из пленок ХТ и ХТ/ПОЗ. Установлено, что в пленках ХТ/ПОЗ (40:60) после полного цикла промывки (60 мин) количество высвобожденного NaFl составила 16,6 ±

0,2 %, что в 1,5 – 2,0 больше по сравнению пленками ХТ (100) и ХТ/ПОЗ (80:20 и 60:40). Кроме того, скорость высвобождения NaFl для пленки ХТ/ПОЗ (40:60) значительно выше и в 15 мин достигает 11,6 ± 0,09 %, в то время как пленки ХТ/ПОЗ (60:40; 80:20) и ХТ (100) высвобождают NaFl 8,8 ± 0,1, 6,5 ± 1,2 и 4,2 ± 0,3 %.



[ХТ]=[ПОЗ]=0,75 масс.%; [NaFl]=0,1 мг/мл; одно промывание=1мл ИСЖ
Все значения являются средними ± среднее отклонение (n=3). Статистически значимые различия приведены ниже: * - p <0.01; * - p <0.05.

Рисунок 43 – Зависимость степени удерживания пленок ХТ и ХТ/ПОЗ на бычьей роговице от времени.

В результате эксперимента было установлено, что чем ниже содержание хитозана в полимерной пленке, тем больше NaFl высвобождается. Тот факт, что ХТ (100) высвобождает меньше количество NaFl, можно объяснить частичным попаданием флюоресцеина натрия в эпителий роговицы и/или мукоадгезивным действием хитозана, т.е. специфическими взаимодействиями макромолекул хитозана со слизистой поверхности глаза.

Эксперименты *in vivo* проводились на глазах кроликов (n=3) породы шиншилла (2,5–4,0 кг) в соответствии с описанным протоколом [161]. На рисунке 44 показаны флуоресцентные изображения полимерных пленок ХТ и ХТ/ПОЗ, полученные в результате теста *in vivo* на глазах кролика в определенные интервалы времени.

На изображениях можно заметить изменения, которые происходят с флуоресцентной пленкой после его введения в глаз кролика, т.е. время отслоения, физические изменения, такие как набухание пленок и сморщивание. Пленки на основе поли(2-этил-оксазолина) не подходили для экспериментов *in vivo* из-за их чрезвычайной хрупкости.

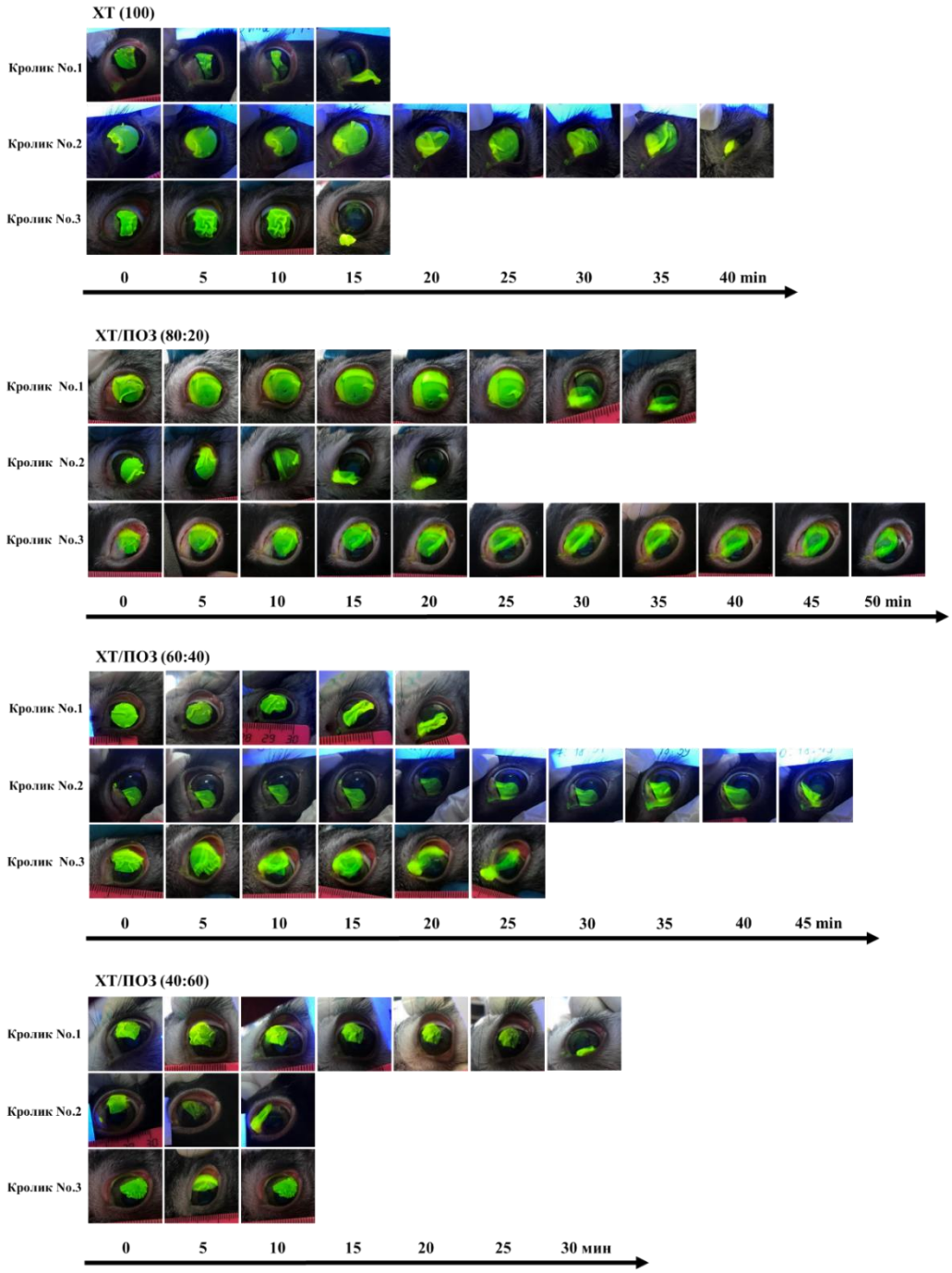


Рисунок 44 – Флуоресцентные изображения полимерных пленок ХТ и ХТ/ПОЗ, полученные в результате теста *in vivo* на глазах кролика в определенные интервалы времени.

Результаты *in vivo* показывают, что время удержания пленок на основе ХТ и его смесей с ПОЗ на поверхности глаза составляет как минимум от 10 минут до 50 минут, что согласуется с результатами *in vitro*. В целом, все пленки демонстрировали отличную адгезию к роговице. Однако наличие мигательной мембраны (третьего века) на роговице кролика шиншиллы часто приводило к смещению или полному удалению пленки с поверхности роговицы в нижнюю часть конъюнктивы. Это сильно повлияло на воспроизводимость данных эксперимента *in vivo*. Существенных различий ($p > 0,05$) между всеми

составами пленки с точки зрения их удерживания на роговице кролика не наблюдалось (рисунок 45). Следует также отметить, что пленки не вызывали какого-либо заметного дискомфорта, раздражения, воспалительных реакций или чрезмерного раздирания в глазах кролика, что свидетельствует о биосовместимости данных пленочных материалов и их потенциальной пригодности для применения в офтальмологии.

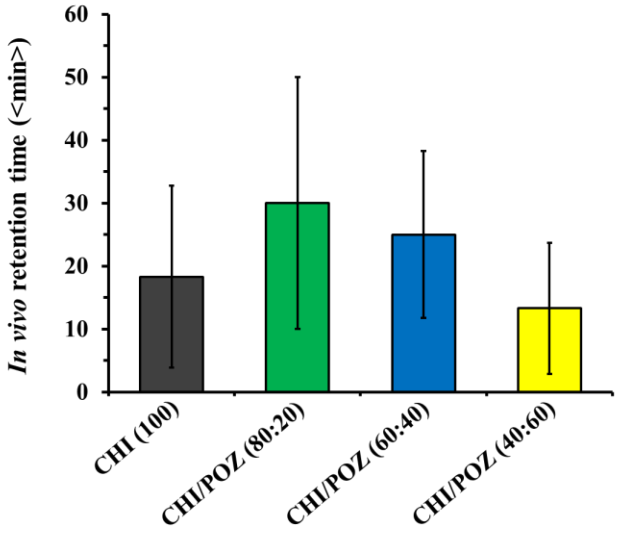
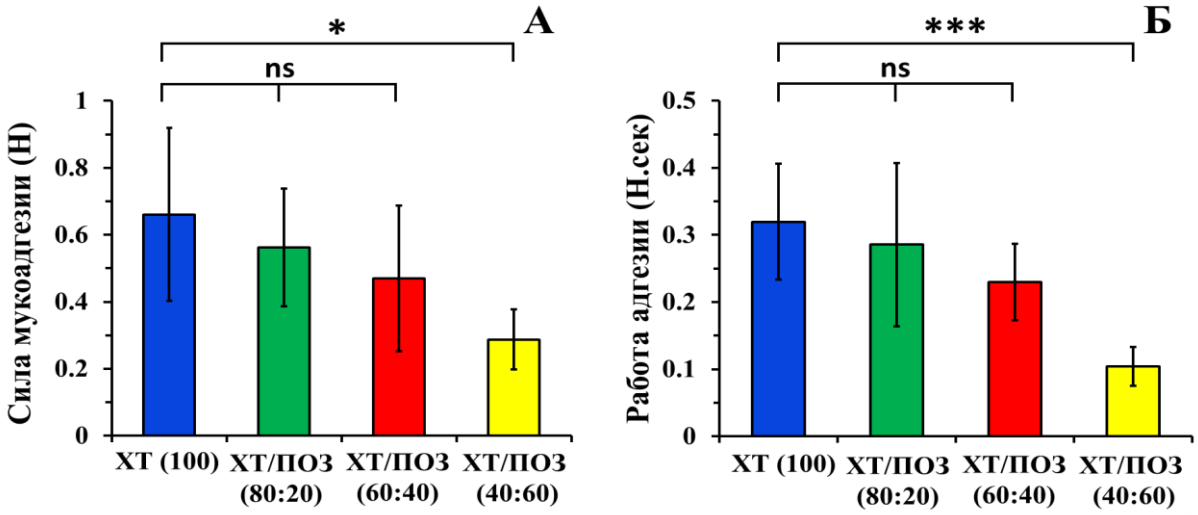


Рисунок 45 – Зависимость времени удерживания полимерных пленок на глазу кролика в зависимости от состава.

Таким образом, результаты показывают, что пленки ХТ/ПОЗ биосовместимы и не вызывают раздражения глаз. Они также демонстрируют способность прилипать к роговице и удерживать ее в течение 50 минут, обеспечивая стабильное высвобождение лекарственных средств.

Как было показано в литературном обзоре гели и гибкие пленки на основе хитозана также нашли применение в качестве мукоадгезивных вагинальных лекарственных форм. В работе были изучены мукоадгезивные свойства пленок на основе ХТ/ПОЗ методом *in vitro.* Адгезивность пленок измеряли с помощью анализатора текстуры XT Plus (Stable Micro Systems Ltd, Великобритания) с использованием цилиндрического зонда P/25. Сила отрыва - это метод *in vitro*, широко используемый для анализа мукоадгезивных свойств большинства лекарственных форм, включая пленки. На рисунке 46 показаны данные, полученные при отрыве образца пленки от слизистой овечьей вагины использовались для расчета свойств мукоадгезии (сила отрыва $F_{макс}$ и работа адгезии $W_{ад}$).

До начала испытаний каждую пленку разрезали на круглые диски (10 мм), а затем прикрепляли к зонду с помощью двухсторонней клейкой ленты. Изолированная овечья ткань влагалища плотно прилегала к нижней стационарной части анализатора. Перед каждым испытанием слизистая оболочка овечьей ткани влагалища увлажнялась искусственной вагинальной жидкости (ИВЖ).



Данные выражены в виде среднего ± стандартного отклонения (n = 5). Статистически значимые различия приведены ниже: * - p <0.05; *** - p <0.001; ns - не имеет значения.

Рисунок 46 – Мукоадгезивная сила $F_{макс}$ (А) и работа адгезии $W_{ад}$ (Б) пленок ХТ и ХТ/ПОЗ.

Хитозан, посредством электростатических взаимодействий связывается с отрицательно заряженным муцином. Также не маловажную роль в биоадгезии играет водородная связь. Хитозан, в отличие от поли (2-этил-2-оксазолина), имеет в своей структуре многочисленные гидроксильные группы, которые могут выступать во взаимодействие с муцином и образовывать межмолекулярные водородные связи. Поли(2-этил-2-оксазолин) напротив проявляет слабые мукоадгезивные свойства, которая может быть объяснена тем фактом, что он не является ионным полимеров и поэтому не может участвовать в электростатических взаимодействиях. Таким образом, увеличение содержания ПОЗа в пленке приводит к постепенному снижению силы мукоадгезии $F_{макс}$ и работы адгезии $W_{ад}$ этих образцов на слизистой ткани влагалища овцематки. Два мукоадгезивных параметра были хорошо коррелированы; чем выше сила адгезии, тем больше работа адгезии.

Далее в работе мукоадгезивные свойства термически сшитых пленок оценивались временем удерживания пленки на слизистой поверхности свинных щечек, которые имитировали слизистую поверхность ротовой полости человека. Эксперимент проводили с помощью прибора «Вращающаяся корзинка». Данный метод позволяет имитировать физиологические условия пребывания лекарственной пленки на слизистой полости рта.

Образцы пленок закрепленные на слизистой свинной щеки погружали в сосуд с раствором исскуственной слюны. Полученные данные по зависимости времени удерживания пленок на слизистой поверхности свинной щеки от их состава представлены на рисунке 47. Установлено, что введение поли(2-этил-2-оксазолина) в состав плёнки от 20 до 60 мас.% приводит к уменьшению

времени удержания плёнки на слизистой поверхности от 10 до 2 минут, соответственно. Подобное поведение обусловленно лучшими мукоадгезивными свойствами хитозана по сравнению с поли(2-этил-2-оксазолином). Максимальное время удержания наблюдалось у плёнки из чистого хитозана – 11 минут. Плёночная форма состава ХТ/ПОЗ (80:20)% проявляла адгезивные свойства в течение 10 минут. При потенциальном применении в стомалогических целях, данный временной отрезок является оптимальным, поскольку аппликация на слизистой поверхности ротовой полости более, чем 15 минут, вызывает дискомфорт у пациента.

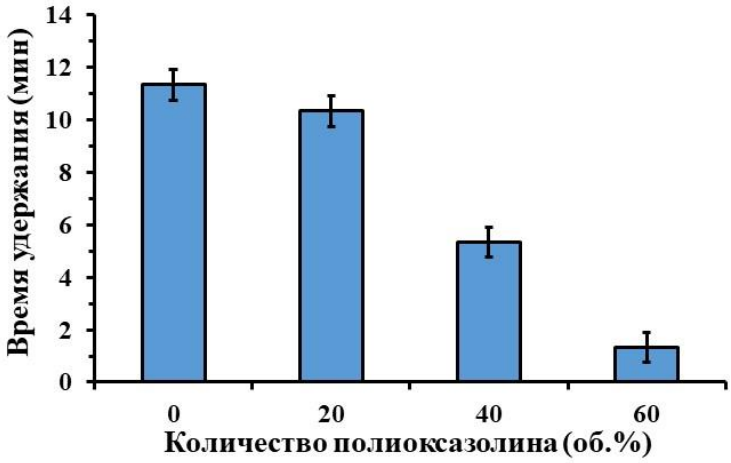


Рисунок 47 – Зависимость времени удерживания термически сшитых плёнок на поверхности слизистой оболочки от содержания поли(2-этил-2-оксазолина) в их составе

Как уже отмечалось в выше, мукоадгезивные пленочные материалы находят широкое применение в качестве носителей лекарственных веществ с замедленным высвобождением. Полученные в работе полимерные пленки на основе биосовместимых полимеров ХТ/ПОЗ могут быть применены в качестве матрицы различных лекарственных средств (антибиотики, анестетики) для лечения глазных и гинекологических заболеваний. Полученные пленки показали медленное растворение в фосфатно-буферном растворе, постепенно высвобождая ЛВ.

Термически сшитые пленки на основе ХТ/ПОЗ могут быть использованы также в качестве носителя лекарственного вещества лидокаина гидрохлорид моногидрат (ЛД) для буккального применения. Применение буккальных лекарственных пленок обеспечивает лучшую фиксацию к слизистой поверхности в сравнении с мазями и гелями, и как следствие оказывает длительное воздействие лекарственных средств. являются: исключение прохождения лекарств через печень, доступность, возможность локализации места аппликации и быстрого удаления в случае появления побочных эффектов, а также способность хорошей фиксации к слизистой поверхности в

сравнении с мазями и гелями, и тем самым обеспечение длительного воздействия лекарственных средств.

Микробиологические испытания пленочных материалов на основе ХТ и ХТ/ПОЗ.

К полимерным матрицам биомедицинского назначения предъявляют ряд требований. Одним из требований является антимикробная активность материала. Бактерицидная активность определяется способностью материала подавлять рост микроорганизмов. В связи с этим в работе исследована антимикробная активность пленок на основе ХТ/ПОЗ с антибиотиком широкого спектра действия ципрофлоксацином (ЦПФ). Противомикробную активность пленок ХТ/ПОЗ изучали методом дисковой диффузии в агар с использованием в качестве тест-микроорганизма штамма *Staphylococcus aureus* АТСС 6538-р и *Escherichia coli* АТСС 8739.

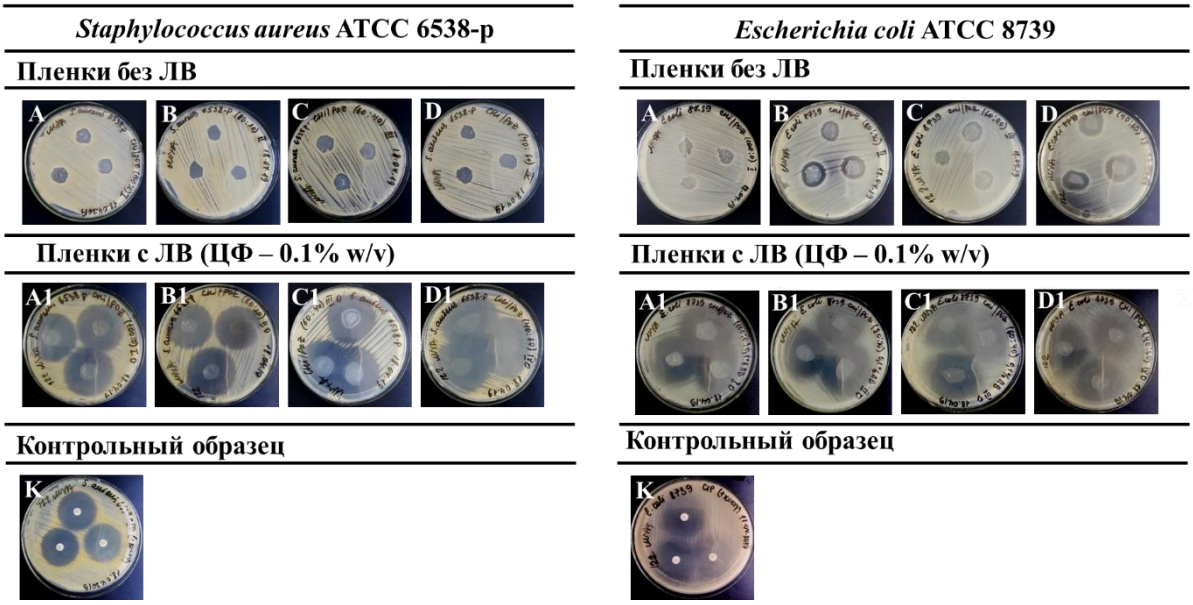
На рисунке 48 и в таблице 7 представлены результаты микробиологических испытаний. Полученные результаты свидетельствуют об отсутствие зоны подавления роста против штамма *Staphylococcus aureus* для пленочных образцов ХТ/ПОЗ без ЦПФ.

Таблица 7 – Антимикробная активность пленочных образцов

Образец	Химический состав	Диаметр зоны подавления роста, мм	
		Staphylococcus aureus	*Escherichia coli*
Пленки ХТ и ХТ/ПОЗ			
A	ХТ (100)	0,0	0,0
B	ХТ/ПОЗ (80:20)	0,0	17,3±2,1
C	ХТ/ПОЗ (60:40)	0,0	13,3±2,1
D	ХТ/ПОЗ (40:60)	0,0	21,0±2,0
Лекарственно – нагруженные пленки ХТ и ХТ/ПОЗ (0,1% w/v ЦПФ)			
A1	ХТ (100)	38,6±1,3	39.5±1,9
B1	ХТ/ПОЗ (80:20)	36,0±1,9	40,1±2,6
C1	ХТ/ПОЗ (60:40)	38,6±1,6	42,5±2,2
D1	ХТ/ПОЗ (40:60)	46,1±1,7	39,3±2,3
K	Контроль (диск с антибиотиком)	31,2±0,4	35,1±1,2

Как сказано выше, антибактериальные свойства хитозана определяются активностью аминогрупп, молекулярной массой полисахарида и уровнем pH среды. В работе пленки ХТ/ПОЗ получены с использованием высокомолекулярного хитозана при pH ~ 4,0. Возможно, эти два фактора сыграли важную роль в подавлении антибактериального действия хитозана. Однако, против *Escherichia coli* данные образцы проявляют не стабильную устойчивость. Возможно, присутствие ПОЗа придает пленкам ХТ/ПОЗ слабые антимикробные свойства против *Escherichia coli*.

В качестве контрольного образца использовали ЦПФ, который продемонстрировал антибактериальную активность против как *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-p так и против *Escherichia coli* ATCC 8739 и характеризует эти штаммы как чувствительные к этому антибиотику. Результаты микробиологических испытаний пленок с ЛВ (0,1% w/v ЦПФ) свидетельствует о высокой антибактериальной активности данных образцов против *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-p и *Escherichia coli* ATCC 8739



ХТ (100) (A, A1); ХТ/ПОЗ (об. %): 80:20 (B, B1); 60:40 (C, C1); 40:60 (D, D1); контрольный образец (ЦПФ) (K), концентрация ЦПФ – 0,1 % w/v

Рисунок 48 – Зона ингибирования полимерных пленок против *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* бактерий

Таким образом, использование пленок ХТ/ПОЗ в качестве полимерной матрицы для ЦФ показало повышенную антимикробную активность против грамотрицательного штамма *Escherichia coli* по сравнению с пленкой из ХТ и контрольным образцом ЦФ. Чувствительность к грамположительному штамму *Staphylococcus aureus* наблюдалась только у пленок с ЛВ.

4 ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

4.1 Разработка радиационной технологии получения гидрогелевых повязок на основе хитозана

Радиационная технология сшивания полимеров позволяет легко получать гидрогелевые раневые повязки на основе хитозана без присутствия инициатора и сшивающих агентов, нет необходимости очистки от непрореагировавших мономеров. Следует отметить, что данная технология позволяет совместить в одну технологическую стадию процесс формирования гидрогелевых повязок, их стерилизацию, а также структурирование НЧ серебра.

Производство гидрогелевой раневой повязки состоит из следующих основных стадий:

Приготовление и смешение водных растворов полимеров: поли-N-винилпироллидона (ПВП), полиэтиленгликоля (ПЭГ), хитозана (ХТ) агар-агара и водного раствора нитрата серебра;

Подготовка полимерной реакционной смеси (фильтрация и деаэрация);

Дозирование и первичная упаковка реакционной смеси;

Радиационная полимеризация и стерилизация на электронном ускорителе;

Упаковка, маркировка и хранение.

Полезных технологических отходов на производстве не образуется.

Источником вредных вентиляционных выбросов в атмосферу является ускоритель электронов ЭЛВ-4, на котором осуществляется стадия полимеризации и стерилизации повязок. При работе ускорителя происходит образование продуктов радиолиза воздуха: озона и окислов азота. Для удаления продуктов радиолиза воздуха предусмотрена вытяжная вентиляция из камеры облучения. Продукты радиолиза после перемешивания с вытяжным воздухом выводятся в атмосферу через трубу высотой 16 метров. Радиоактивных отходов при производстве не образуется.

Производство является пожаро - и взрывобезопасным, но в случае возникновения пожара следует руководствоваться действующими инструкциями о мерах пожарной безопасности.

При работе ускорителя ЭЛВ-4 фактором радиационной опасности является тормозное излучение, защитой от которого служит бункер с блокировочными дверьми, исключающими нахождение людей в опасных зонах во время работы ускорителя. Дозиметрический контроль производится непрерывно, установленными на технологических проемах бункера входа и выхода конвейера. В камере облучения ускорителя в результате радиолиза воздуха образуется озон и окислы азота, что обусловливает 10-минутное запретное время входа в бункер после выключения ускорителя.

4.1.1 Описание технологической схемы получения гидрогелевых повязок на основе хитозана

Технологический процесс получения гидрогелевых раневых повязок представлен на рисунке 49.

В смеситель (1) с помощью центробежного насоса поступает вода, и затем постепенно загружают через дозировочные весы исходный ПЭГ. Растворение проводят при температуре 60-70 °С, со скоростью вращения мешалки 35-40 об/мин и продолжительностью 30 минут. Затем в полученный раствор ПЭГ через мерник-дозатор постепенно загружают ПВП. Процесс растворения ПВП продолжается в течении 6 часов.

Для растворения агара в вертикальный смесительный аппарат с рубашкой (2) с помощью центробежного насоса подается вода и затем небольшими порциями поступает взвешенный порошок агара. Время растворения составляет 30 минут при температуре 90-95 °С и частоты вращения мешалки 35-40 об/мин

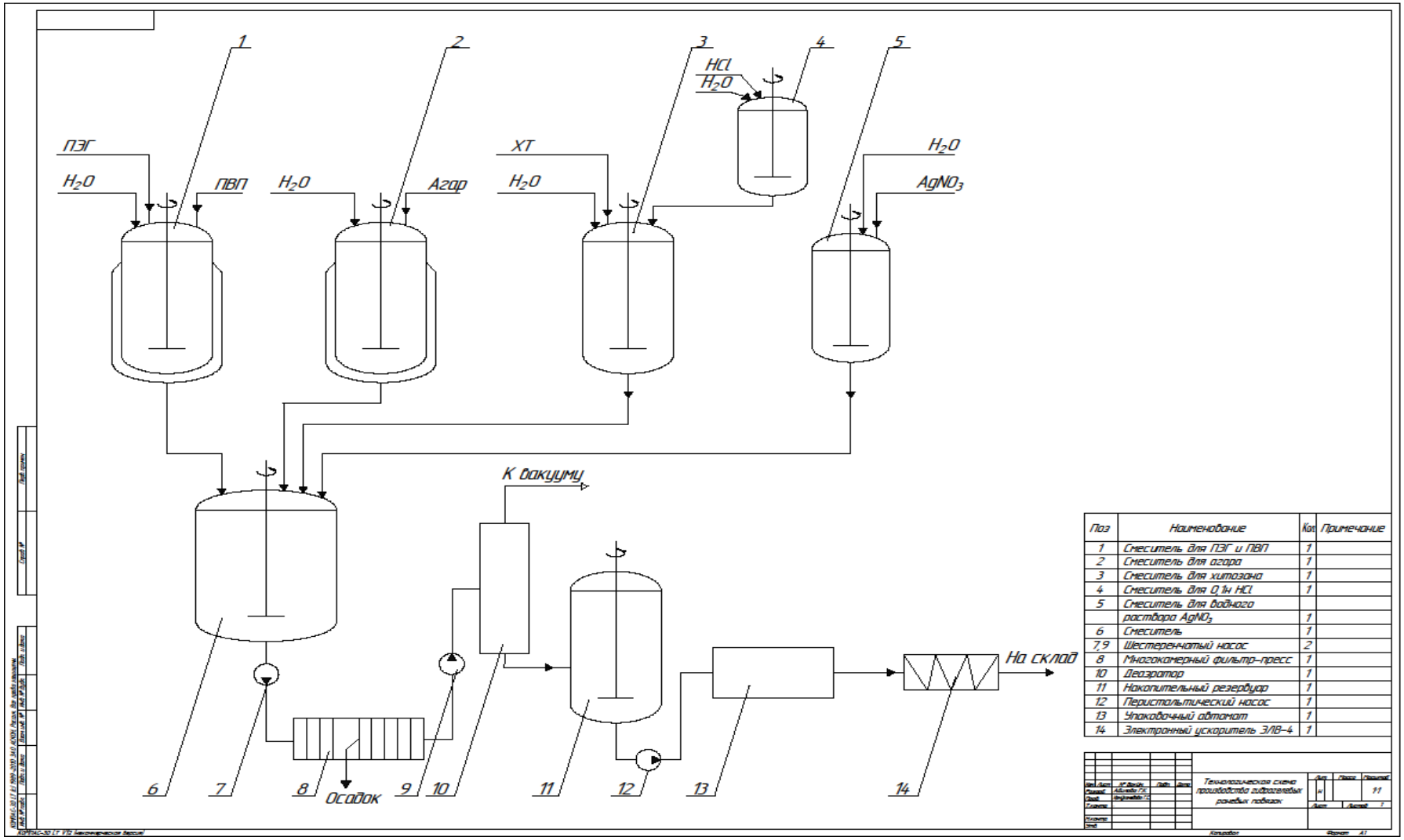
Растворение хитозана (ХТ) проводят в смесителе (3) из легированной стали, снабженный рамной мешалкой с частотой вращения вала 35-40 об/мин. В аппарат центробежным насосом подается небольшое количество воды, затем из мерника-дозатора поступает хитозан и небольшое количество растворителя. Процесс приготовления раствора включает в себя стадии набухания и собственно растворения, поэтому растворитель поступает в смеситель частями. Растворяют хитозан в 0,1 н водном растворе HCl в течении 6-8 часов.

Приготовление водного раствора $AgNO_3$ осуществляют в небольшой емкости (5) с лопастной мешалкой. В емкость насосом подают воду, затем загружают взвешенное количество $AgNO_3$.

Смешение полученных растворов полимеров и водного раствора $AgNO_3$ проводят в смесителе (6), снабженный якорной мешалкой в течении 1-2 часа при температуре 35-40 °С. Полученный полимерный раствор с помощью шестеренчатого насоса (7) поступает на фильтрование под давлением в несколько атмосфер в многокамерный фильтр-пресс (8) для удаления твердых включений. Затем смесь полимерного раствора насосом (9) подается в деаэратор (10) и выдерживают под вакуумом в течении 6-8 часов. Полученная однородная смесь подается в накопительный резервуар (11).

Далее гидрогелевая смесь перекачивается и дозируется перистальтическим насосом (12) в упаковочный автомат (13). В упаковочном автомате осуществляется упаковка (запайка по периметру) гидрогелевой смеси на подложки из поливинилхлорида алюминиевой фольгой и маркируется.

Упакованная гидрогелевая смесь укладывается на транспортировочные вагонетки и направляется в узел радиационной полимеризации и стерилизации. Облучение гидрогелевой смеси осуществляется в первичной упаковке на электронном ускорителе ЭЛВ–4 (14) дозой 20-25 кГр при этом скорость конвейера составляет – 6 м/мин. Радиационная обработка проводится с двух сторон. Полученные гидрогелевые повязки имеют размеры: 120 мм х 100 мм х 3 мм. Повязки в индивидуальной потребительской упаковке укладывают в групповую упаковку (по четыре повязки в одной упаковке). Повязки в групповой упаковке укладывают в (ящики, коробки) из гофрированного картона по ГОСТ 7376 или иную тару, обеспечивающую безопасность при транспортировании и хранении. В одну единицу тары упаковывают повязки одного технического исполнения и размера.



Поз	Наименование	Кол	Примечание
1	Смеситель для ПЭГ и ПВП	1	
2	Смеситель для агара	1	
3	Смеситель для хитозана	1	
4	Смеситель для 0,1н HCl	1	
5	Смеситель для водного раствора $AgNO_3$	1	
6	Смеситель	1	
7,9	Шестеренчатый насос	2	
8	Многокамерный фильтр-пресс	1	
10	Деаэратор	1	
11	Накопительный резервуар	1	
12	Перистальтический насос	1	
13	Упаковочный автомат	1	
14	Электронный ускоритель ЭЛВ-4	1	

Технологическая схема производства гидрогелевых раневых повязок

Рисунок 49 – Технологическая схема производства гидрогелевых раневых повязок

4.1.2 Материальный баланс установки получения раневых повязок

Задача материального баланса состоит в определении расхода сырья по основным стадиям технологического процесса и достижении баланса между массой готовой продукции с учетом безвозвратных отходов и массы сырья.

Для расчета материального баланса установки по производству гидрогелевых повязок примем разработанную рецептуру изделия (масс. %) (таблица 8). Материальный баланс рассчитаем на 1000 шт готовых изделий. Масса изделия - 30 г (0,03 кг)

Таблица 8 – Рецептура гидрогелевой повязки на основе хитозана

Компонент	Количество масс, %	Функциональное назначение
Хитозан	1,25	Исходные компоненты смеси
ПВП	0,7	
Агар-агар	0,2	Загуститель
ПЭГ	1,5	Пластификатор
$AgNO_3$	0,01	Антимикробный агент
Соляная кислота	0,002	Растворитель
Вода	96,338	Растворитель
	100	

Значения безвозвратных потерь К по стадиям производства приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Безвозвратные потери по стадиям

Стадия производства	Безвозвратные потери	
	обозначения	величина
Транспортировка сырья	$К_{транс}$	2,0
Приготовление реакционной смеси	$К_{пригот}$	3,0
Фильтрация	$К_{фильтр}$	2,3
Деаэрация	$К_{деаэрац}$	0,2
Фасовка повязок	$К_{фасовка}$	0,5
Итого:		8,0

Потери на стадии радиационного облучения и транспортировки продукции на склад полностью отсутствуют.

Стадия дозировки и первичной упаковки гидрогеля

Количество реакционной смеси с учетом безвозвратных потерь рассчитывается по выражению:

$$М_{см} = М_{изд} + М_{пот.} \quad (6)$$

где $М_{изд}$ – масса гидрогеля в расчете на 1000 шт упакованных готовых раневых повязок кг; $М_{пот.}$ – потери гидрогеля на стадии фасовки, кг.

Тогда потери составят:

$$М_{пот} = \frac{М_{изд} \cdot К_{фасовка}}{100}$$

$$М_{пот} = \frac{0{,}03 \cdot 2{,}0}{100} = 0{,}6 \text{ кг}$$

Тогда количество необходимой реакционной смеси составит:

$$М_{раств} = 30 + 0{,}6 = 30{,}6 \text{ кг}$$

Стадия подготовки реакционной смеси (фильтрования, аэрация)
Потери при аэрации реакционной смеси:

$$М_{пот} = \frac{30{,}6 \cdot 0{,}2}{100} = 0{,}061 \text{ кг}$$

Количество реакционной смеси, поступающего на деаэрацию:

$$М_{раств} = 30{,}6 + 0{,}061 = 30{,}661 \text{ кг}$$

Потери при фильтровании реакционной смеси составляет:

$$М_{пот} = \frac{30{,}661 \cdot 2{,}3}{100} = 0{,}705 \text{ кг}$$

Количество реакционной смеси, поступающего на фильтрацию, составит:

$$М_{раств} = 30{,}6612 + 0{,}7052 = 31{,}366 \text{ кг}$$

Стадия приготовления реакционной смеси. В таблице 10 представлен материальный маланс стадии приготовления реакционной смеси
Потери на стадии приготовления составляют:

$$М_{пот} = \frac{31{,}366 \cdot 3{,}0}{100} = 0{,}941 \text{ кг}$$

Стадия транспортировки сырья
Потери хитозана: $М_{пот.ХТ} = \frac{0{,}404 \cdot 2{,}0}{100} = 0{,}008 \text{ кг}$

Потери ПВП: $М_{пот.ПВП} = \frac{0,226 \cdot 2,0}{100} = 0,005$ кг

Потери агар-агара: $М_{пот.Агар} = \frac{0,065 \cdot 2,0}{100} = 0,001$ кг

Потери ПЭГ: $М_{пот.ПЭГ} = \frac{0,4842 \cdot 2,0}{100} = 0,01$ кг

Таблица 10 – Материальный баланс стадии приготовления реакционной смеси

Приход	%	кг	Расход	%	кг
Хитозан	1,25	0,404	Реакционная смесь	97	31,366
ПВП	0,7	0,226			
Агар-агар	0,2	0,065	Потери	3,0	0,941
ПЭГ	1,5	0,4842			
$AgNO_3$	0,01	0,0032			
Соляная кислота	0,002	0,0006			
Вода	96,338	31,124			
Итого:	100	32,307	Итого:	100	32,307

Количество исходных полимеров:

$$М_{ХТ} = 0,404 + 0,008 = 0,412 \text{ кг}$$
$$М_{ПВП} = 0,226 + 0,005 = 0,231 \text{ кг}$$
$$М_{Агар} = 0,065 + 0,001 = 0,066 \text{ кг}$$
$$М_{ПЭГ} = 0,4842 + 0,01 = 0,4942 \text{ кг}$$

В таблице 11 представлен сводный материальный баланс установки с учетом всех постадийных безвозвратных потерь.

Таблица 11 – Сводный материальный баланс установки получения гидрогелевых повязок на основе хитозана

Приход	кг	Расход	кг
Хитозан	0,412	Гидрогелевая повязка (1000 шт)	30
ПВП	0,231		
Агар-агар	0,066	Безвозвратные потери	2,331
ПЭГ	0,4942		
$AgNO_3$	0,0032		
Соляная кислота	0,0006		
Вода	31,124		
Итого:	32,331	Итого:	32,331

4.2 Разработка технологии получения полимерных лекарственных пленок на основе хитозана и поли(2–этил–оксазолина)

Для получения полимерных пленок на основе ХТ/ПОЗ использовали метод отливания пленок из растворов на подложке («сухой» метод). Этот метод имеет свои экономические и технологические преимущества, во-первых, формование «сухим» методом промышленно более применим за счет простаты

оборудования и низкой себестоимости, во-вторых, позволяет получить пленки с высокими эксплуатационными характеристиками.

Основной принцип этого метода состоит в формировании вязкого раствора полимера. Смесь тщательно перемешивают, излишки воздуха удаляют под вакуумом. Из полученного раствора формируют пленку, сушат и затем нарезают необходимого размера.

Производство полимерных пленок планируется проводит в закрытом производственном помещении. В первую очередь важно исходить из положений правил «Надлежащая производственная практика» (на анг. Good Manufacturing Practice (GMP)). Под правилами GMP в данном случае понимаем директивы, принятые Европейским Сообществом и связанные с ними Указания по практике доброкачественного производства. Здания должны располагаться в такой окружающей среде, которая гарантирует минимальный риск контаминации. Помещения необходимо содержать в тщательной чистоте с учетом поддержания качества продукции. Освещение, температура и влажность должны соответствовать назначению помещения – производство или хранение.

Основное оборудование производства размещаться в основном здании, также предусматривается вспомогательные помещения – склад и пункт питания.

В основном здании размещается лаборатория контроля параметров исходных компонентов и качества готовой продукции, оборудование для производства лекарственных пленок, а также административные, операторские и санитарно-бытовые помещения для персонала. Помещения оборудованы таким образом, чтобы обеспечить максимальную защиту от контаминации ЛВ.

Основные стадии технологического процесса формования лекарственных пленок на основе ХТ/ПОЗ: приготовление растворов полимеров хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина); приготовление раствора ЛВ с заданными концентрациями; фильтрование раствора хитозана; смешение компонентов (ХТ, ПОЗ и раствора ЛВ); деаэрация формовочного раствора; формование пленки на поверхности ленты сушильного аппарата; вытяжка и досушивание пленки; прием намотка и резка готовой пленки; штамповка, упаковка и маркировка готовой продукции.

В производстве сшитых пленок дополнительно включены стадии термического сшивания и насыщения пленок с ЛВ.

4.2.1 Описание технологической схемы производства полимерных лекарственных пленок на основе ХТ/ПОЗ

Для опытного производства новых лекарственных пленок на основе хитозана и поли (2–этил–2–оксазолина) разработана технологическая схема, представленная на рисунке 50.

Исходный хитозан поступает в смеситель (1) с коррозионностойким внутренним покрытием, снабженный рамной мешалкой, где происходит его растворение. В качестве растворителя хитозана использует 0,03 н водный раствор соляной кислоты, который получают в смесителе (2) с лопастной мешалкой, изготовленный из легированной стали. Загрузку хитозана в

смесительный аппарат проводят при работающей мешалке. Сначала с помощью насоса подают воду в количестве 10-20 % от общего объема растворителя и не большими порциями через бункер загружают хитозан, затем после не продолжительного перемешивания через дозатор вводят половинное количество водного раствора соляной кислоты. После набухания хитозана в смеситель (1) подается оставшееся количество растворителя. Процесс растворения продолжается 12-24 часов при постоянном перемешивании. Приготовленный раствор ХТ шестеренчатым насосом (14) под давлением в несколько атмосфер поступает на многоступенчатые фильтр-прессы (3), для удаления нерастворенных частиц хитина. В процессе фильтрации раствора вследствие засорения фильтров наблюдается нарастание давления, и при достижении критических давлений поток переключают на резервный фильтр-пресс, а засоренный промывают водой и затем продувают сжатым воздухом.

Для приготовления раствора поли(2-этил-2-оксазолина) используют вертикальный аппарат с лопастной мешалкой (7). Вода с помощью центробежного насоса поступают в смесительную емкость, затем постепенно при постоянном перемешивании загружают взвешенные гранулы ПОЗа. Растворение ПОЗа занимает около 1 часа.

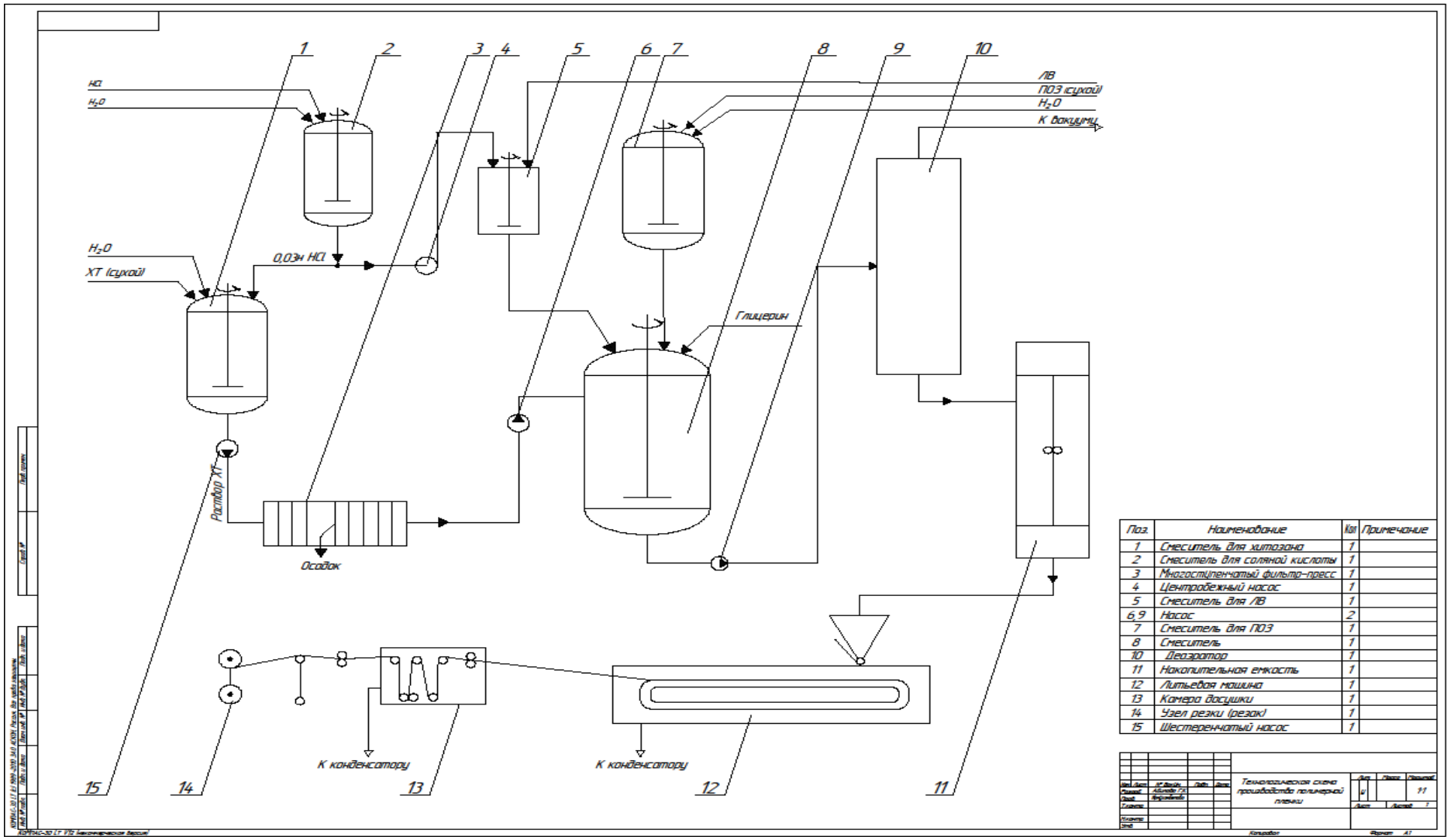
В смеситель (8) поступает раствор ПОЗа, затем раствор с ЛВ и отфильтрованный раствор ХТ. После продолжительного перемешивания в полученный гомогенный раствор добавляют пластификатор. Продолжительность приготовления пленкообразующего раствора при частоте вращения мешалки 40-60 об/мин составляет 2 часа.

Процесс смешивания растворов может непреднамеренно ввести пузырьки воздуха в жидкость, поэтому деаэрация является необходимым условием для получения однородного полимерного раствора. Пленкообразующий раствор вакуумируется в деаэраторе (10) в течении 4-6 ч и подается в накопительную емкость (11).

Из емкости (11) полимерный раствор с ЛВ подается в емкость мажущей фильеры, из которой наносится на поверхность движущейся непрерывной ленты отливочной машины (12). Скорость формования составляет 1-5 м/мин. Оптимальный режим сушки 28-30 °С, исключающий образования осаждения ПОЗа, как полимера обладающего низкой температурой помутнения. Продолжительность технологического процесса сушки составляет 24 часа.

В отливочной машине пленка высушивается до остаточного содержания растворителя 15-20 %, после чего пленка снимается с подложки ножом и поступает в камеру досушки (13) и окончательно досушивается нагретым воздухом.

После этого пленка поступает на узел резки (14). Она проходит через вал, оборудованный приспособлением для обрезки кромок, после чего поступает на намоточный станок, режется вдоль полотна на пластины размером 6×3, упаковывается по 10 пластин в контурно-ячеистую упаковку из полихлорвиниловой пленки и алюминиевой фольги маркируется и направляется на газовую стерилизацию окисью этилена, а затем поступает на склад готовой продукции. Отходы идут на повторную переработку.



Поз.	Наименование	Кол	Примечание
1	Смеситель для хитозана	1	
2	Смеситель для соляной кислоты	1	
3	Многоступенчатый фильтр-пресс	1	
4	Центробежный насос	1	
5	Смеситель для ЛВ	1	
6,9	Насос	2	
7	Смеситель для ПОЭ	1	
8	Смеситель	1	
10	Деаэратор	1	
11	Накопительная емкость	1	
12	Литьевая машина	1	
13	Камера досушки	1	
14	Узел резки (резак)	1	
15	Шестеренчатый насос	1	

Технологическая схема производства полимерной пленки

Рисунок 50 – Технологическая схема получения полимерной пленки

4.2.2 Материальный баланс производства полимерной лекарственной пленки на основе ХТ/ПОЗ

Материальный баланс служит основой для определения производительности оборудования и его количества, технико-экономических показателей проектируемого производства.

Для расчета материального баланса принимаем практически испытанную рецептуру (таблица 12) полимерной лекарственной пленки состава ХТ/ПОЗ (80:20).

Таблица 12 – Состав полимерной лекарственной пленки

Компонент	Количество масс, %	Функциональное назначение
Хитозан	0,8	Исходные компоненты смеси
ПОЗ	0,2	
ЦПФ	0,1	Лекарственное вещество
Глицерин	0,1	Пластификатор
Соляная кислота	0,0009	Растворитель
Вода	98,7991	Растворитель
	100	

Значения безвозвратных потерь К по стадиям производства приведены в таблице 13.

Таблица 13 - Безвозвратные потери по стадиям

Стадия производства	Безвозвратные потери
Транспортировка сырья	0,2
Приготовление полимерной композиции	0,2
Формование пленки методом полива	0,1
Измельчение возвратных отходов производства	0,2
Механическая обработка, разбраковка и упаковка	0,8
Итого:	1,5

Потери на стадии транспортировки продукции на склад полностью отсутствуют. Из практических данных, предполагаемое количество кромки (возвратные отходы) составляет 6%, а скорость движения ленты 2,8 м/мин. Ширина и толщина полученной готовой пленки составляет 1,2 м и 100 мкм, соответственно.

Процесс получения лекарственных пленок в промышленности чаще всего организован периодическим способом. Для периодических процессов наиболее удобным является составление материального баланса на 1 т товарного продукта.

С учетом безвозвратных потерь количество товарной пленки составит:

$$G_{\text{пленки}} = 1000 + \frac{1{,}5 \cdot 1000}{100 - 1{,}5} = 1015 \text{ кг}$$

В соответствии с составом пленкообразующего раствора количество исходных компонентов в расчете на 1015 кг готовой пленки распределится следующим образом:

Хитозан $0{,}8/1{,}2009 \cdot 1015 = 676{,}16$ кг

ПОЗ $0{,}2/1{,}2009 \cdot 1015 = 169{,}04$ кг

ЦПФ (ЛВ) $0{,}1/1{,}2009 \cdot 1015 = 84{,}52$ кг

Глицерин $0{,}1/1{,}2009 \cdot 1015 = 84{,}52$ кг

Соляная кислота (HCl) $0{,}0009/1{,}2009 \cdot 1015 = 0{,}761$ кг

Возвратные отходы (кромка) составит следующее количество:

$$G_{\text{кромка}} = 1015 \cdot 0{,}06 = 61 \text{ кг}$$

Тогда, общее количество веществ, остающихся в пленке, составит:

$$G'_{\text{пленки}} = 1015 + 61 = 1076 \text{ кг}$$

Влажность готовой пленки принимаем $w^{\text{сух}}$ 8 % в расчете на сухую пленку.

Пересчитаем влажность пленки на общий вес раствора w^o:

$$w^o = \frac{w^{\text{сух}}}{100 + w^{\text{сух}}} \quad (7)$$

$$w^o = \frac{8}{100 + 8} = 0{,}074\%$$

Количество исходного раствора поступающего на формование пленки:

$$G_p = \frac{G'_{\text{пленки}} \cdot (100 - w_2^o)}{100 - w_1^o} \quad (8)$$

$$G_p = \frac{1015 \cdot (100 - 0.074)}{100 - 98.7991} = \frac{101424.89}{1.2009} = 84457{,}39 \text{ кг}$$

Количество испаренной влаги равно разности весов материала до и после его сушки:

$$W = G_{\text{р}} - G_{\text{пленки}}$$

$$W = 84457{,}39 - 1015 = 83442{,}39 \text{ кг}$$

Рассчитанные данные сведем в таблицу материального баланса, рассчитанный на 1000 кг готовой пленки (таблица 14).

Таблица 14 – Материальный баланс производства водорастворимой пленки

Приход (кг)		Расход (кг)	
1) Формовочный раствор	84457,39	1) Товарная пленка	1000,00
в том числе:		2) Кромка	61
Хитозан	676,16	3) Рекуперат	83442,39
ПОЗ	169,04	4) Потери безвозвратные	15,00
Соляная кислота	0,76		
Глицерин	84,52		
ЦПФ	84,52		
Вода	83443,14		
2) Кромка	61		
Итого:	84518,39	Итого:	84518,39

В производстве пленок на основе ХТ/ПОЗ основным аппаратурным звеном является формовочная машина конвейерного типа с камерой досушки.

Рассчитаем производительность такого агрегата в пересчете на сухую пленку:

$$G_{\text{сух.пленки}} = 60 \cdot 0{,}5 \cdot \delta \cdot v \cdot \rho_{\text{пл}} \quad (9)$$

где b и δ - ширина и толщина готовой пленки, м; v - скорость движения ленты, м/мин; $\rho_{\text{пл}}$- плотность пленки (при влажности 12 %).

$$G_{\text{сух.пленки}} = 60 \cdot 0{,}6 \cdot 0{,}0001 \cdot 2{,}8 \cdot 965 = 9{,}804 \text{ кг/ч}$$

Время, необходимое для изготовления 1000 кг пленки:

$$t = 1000/9{,}75 = 103 \text{ ч}$$

Ширина обрезаемой кромки составляет:

$$b_{\text{кромка}} = \frac{b \cdot G_{\text{кромка}}}{G_{\text{сух.пленка}}} \quad (10)$$

$$b_{\text{кромка}} = \frac{60 \cdot 0{,}594}{9{,}75} = \sim 4 \text{ см}$$

Поэтому на ленту машины следует наносить слой пленкообразующего раствора шириной 65 см (с учетом усадки пленки по ширине при досушке).

Материальный баланс литьевой формовочной машины, отнесенный к единице времени представлен в таблице 15.

Таблица 15 – Материальный баланс формовочной машины

Приход	кг/ч	т/год	Расход	кг/ч	т/год
Хитозан	6,59	53,7744	Товарная пленка	9,75	80,0
ПОЗ	1,645	12,4232	Кромка	0,295	2,4072
Соляная кислота	0,0075	0,0312	Рекуперат	812,7	6631,63
Глицерин	0,825	6,732	Потери безвозвратные	0,145	1,1832
ЦПФ	0,825	6,732	Потери растворителя	1,185	9,6696
Вода	813,885	6641,3			
Кромка	0,295	2,4072			
Итого:	824,075	6724,89	Итого:	824,075	6,724,89

4.2.3 Основное оборудование для изготовления полимерных пленок из раствора

В настоящее время в заводских условиях наиболее широко используются литьевые машины двух типов: барабанная и ленточная.

Барабанная машина - представляет собой металлический барабан большого диаметра (3м и более) с антиадгезионной поверхностью, вращающийся в герметизированном корпусе, в котором циркулирует теплоноситель.

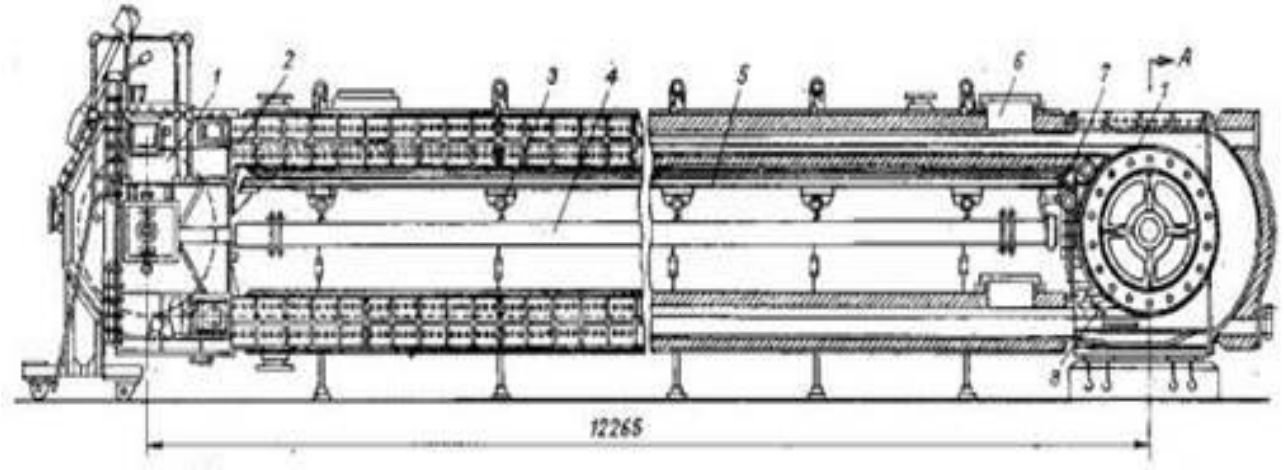
Значительно большее распространение получил второй тип – ленточная машина. Это устройство, состоящее из двух массивных металлических барабанов, на которые натянута бесконечная металлическая лента, служащая поверхностью для нанесения пленкообразующего раствора. В современных машинах непрерывные ленты изготовлены из специальных сортов кованной нержавеющей стали и покрывают антиадгезионным слоем. На рисунке 51 показана принципиальная схема ленточной машины. Пленкообразующий раствор при помощи специального устройства - фильеры, установленной над верхней частью ленточной машины, наносится на поверхность ленты и последовательно проходит стадии стеклования и высушивания. Сформировавшуюся пленку направляют в камеру досушки для окончательного высушивания.

После нанесения пленкообразующего раствора на поверхность бесконечной ленты из раствора начинает интенсивно испаряться растворитель. Пары растворителя удаляются из сушильных каналов ленточной машины теплоносителем (нагретый до 30 °С воздух). Применение более высокой температуры теплоносителя может привести к образованию кристаллов ПОЗ, т.к. он является термочувствительным полимером. Сушильные каналы ленточной машины можно разделить на несколько зон:

1) зона нанесения пленкообразующего раствора на поверхность ленты;

2) зона интенсивного испарения растворителей и переход полимера из растворенного в стеклообразное состояние с формованием определенного типа структуры пленки (активная часть бесконечной ленты);

3) зона высушивания сформировавшейся пленки.



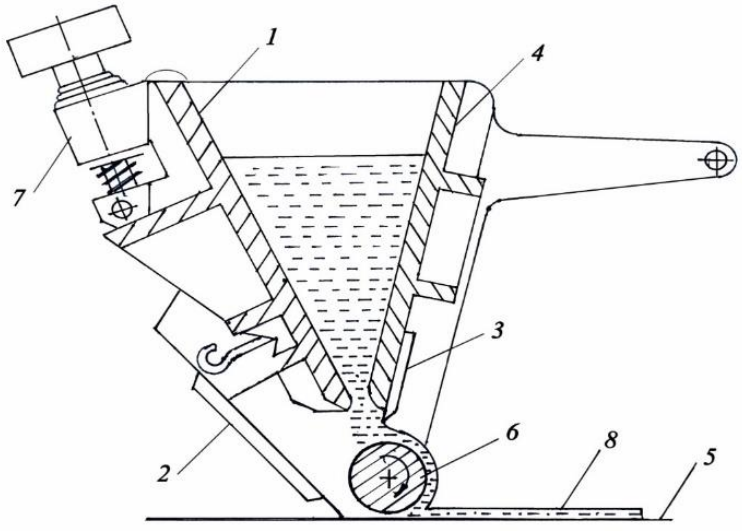
1 - барабан; 2 - бесконечная лента; 3 - крепление верхнего корпуса сушильного канала; 4 - распорная труба; 5 - каркас машины; 6 - предохранительный клапан; 7 - натяжное устройство; 8 - нож для очистки поверхности барабана

Рисунок 51 – Схема литьевой машины ленточного типа

Влажность готовой пленки должна составлять 5-8 %. Высушивание пленки до такой влажности непосредственно на ленте машины было бы нецелесообразным. Оно потребовало бы уменьшения скорости движения ленты, а, следовательно, производительности машины, и увеличения количества, подаваемого в сушильные каналы теплоносителя. Пленку снимают с ленты машины с влажностью 15-20 %, после чего направляют в сушильные шкафы для досушивания нагретым воздухом. Такие сушильные шкафы, называемые досушками, составляют вместе с ленточной машиной непрерывно действующий агрегат для получения пленки.

Формование пленки осуществляется мажущей фильерой, представляющей собой корытообразное устройство с щелевым прямоугольным отверстием внизу, зазор которого может регулироваться. Конструкция отливочной фильеры показана на рисунке 52. Она представляет собой широкое корытообразное устройство с прямоугольной открыткой щелью внизу, через которую вытекает полимерный раствор на поверхность движущейся ленты-подложки. Открытый зазор щели может регулироваться за счет винта, установленного на задней подвижной стенке фильеры. Вытекающий полимерный раствор задерживается у задней стенки (1) фильеры специальной планкой (2). Другая, передняя планка (3) – это нож с отшлифованным нижним краем. Он крепится на передней стенке фильеры (4) и служит для равномерного размазывания раствора по всей поверхности движущейся подложки (5). Толщина отливаемого слоя раствора регулируется расстоянием формирующего

ножа передней стенки до поверхности подложки. Фильера снабжена калибрующим валиком (6), выравнивающим толщину пленки.



1 – задняя подвижная стенка фильеры; 2 – задняя планка из стекла; 3 – передняя планка-нож; 4 – передняя неподвижная стенка; 5 – лента-подложка; 6 – вращающийся валик; 7 – кронштейн с винтом для регулировки размера щели; 8– полимерная пленка

Рисунок 52 – Схема устройства мажущей фильеры для отливки пленок

4.2.4 Функциональная схема автоматизации установки получения полимерной пленки

Функциональная схема автоматизации технологического процесса получения полимерной лекарственной пленки разработана в соответствии с требованиями единой системы конструкторской документации (ЕСКД) и является основным техническим документом, характеризующим систему автоматизации данной технологической установки (рисунок 53).

В качестве показателя эффективности процесса перемешивания различных сред в смесителях технологической установки принимаем состав готовой смеси (Q), т.е концентрацию соляной кислоты, состав полимерного раствора и раствора лекарственного вещества. Задачей автоматического управления блоком приготовления и подготовки раствора для формования пленок является контроль и регулирование параметров технологического процесса: заданная концентрация требуемого продукта, расход исходных компонентов, плотность и вязкость полученных смесей, уровень жидкостей в аппаратах, а также количество электроэнергии, потребляемой электроприводами мешалок и давление во всасывающих и нагнетательных трубопроводах насосных установок.

Регулирующими воздействиями, стабилизирующими концентрацию смеси, являются изменение расхода материального потока и поддержание

соотношения расходов компонентов смесей в смесителях 1, 2, 8, 9, с коррекцией по концентрации смеси.

В смесителях необходимо всегда иметь определенный объём жидкости (смеси) чтобы избежать переполнения или опорожнения аппаратов. Показателем наличия определенного заданного объема продуктов смещения является уровень в смесителях, который необходимо сигнализировать LIA и стабилизировать LIRC изменением расхода одного из компонентов не нарушая состав QIRC получаемой смеси. Обеспечение данных условий необходимо для последующих стадий технологического процесса и получения товарного продукта с требуемыми свойствами.

На технологической установке обеспечивается постоянный контроль расхода FIRC материалов и уровня LISA смеси в аппаратах с сигнализацией отклонений от заданных значений, предельных максимальных и минимальных значений параметров.

Для поддержания определенных значений расходов сыпучих, порошкообразных материалов необходимо обеспечить показатель эффективности процесса дозирования. Расход дозируемого хитозана в смесителе 1 регулируется степенью открытия заслонки и изменением скорости NSA перемещения материала на ленте конвейера.

Дозирование ЛВ (мелкодисперсный порошок) осуществляется с помощью аэропитателя, позволяющего регулировать подачу ЛВ с помощью расхода воздуха. Для дозирования кристаллов поли (2-этил-2-оксазолина) (ПОЗ) используется секторный питатель (дозатор), в котором масса подаваемого в смеситель ПОЗа регулируется с помощью вариатора WIRC, т.е. изменением проходного сечения патрубка загрузки полимера.

Для измерения расхода глицерина используется ультразвуковые или роторные шестигранные расходомеры – счетчики. Уровнемеры с контактными устройствами установлены по месту для сигнализации верхних и нижних значений уровня в смесителях 1, 8 и 9.

О работе используемых на установке насосов судят по значению давления, показываемого манометрами, установленными по месту на линиях нагнетания продуктов.

При автоматизации работы фильтр-прессов контролируется и сигнализируется давление PISA в нагнетательной линии насоса 6, толщина осадка GISA и перепад давления PDSA в аппарате.

Решение задач по централизованному автоматическому управлению данной технологической установки обеспечивают соблюдение технологического режима, поддерживание параметров на уровне требований технологического регламента.

Решение задач по централизованному автоматическому управлению данной технологической установки обеспечивают соблюдение технологического режима, поддерживание параметров на уровне требований технологического регламента. На рисунке 54 показана структурная схемы автоматизированной системы управления технологическим процессом (АСУТП).

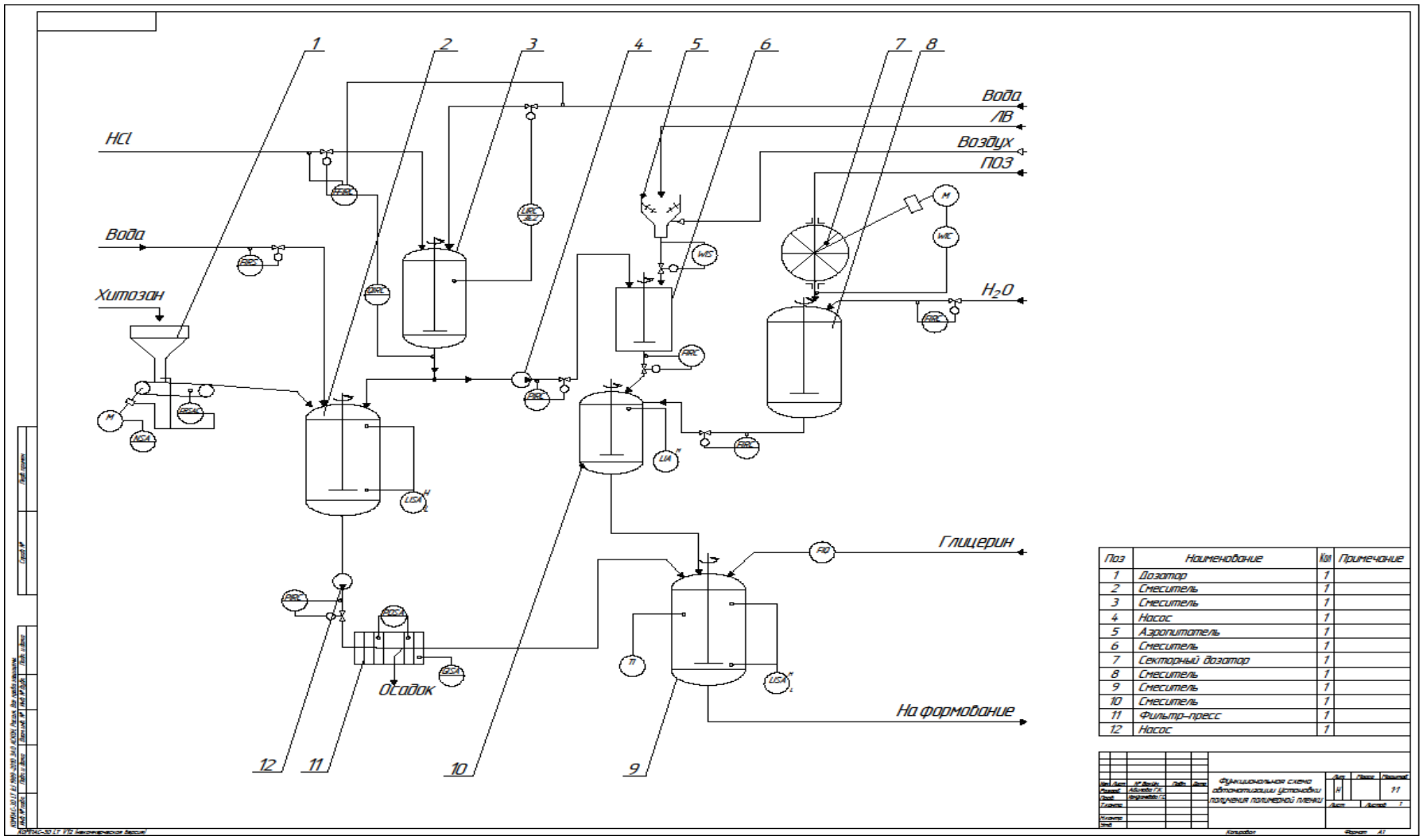


Рисунок 53 – Функциональная схема автоматизации установки получения полимерной пленки



Рисунок 54 – Структурная схема АСУТП

4.2.5 Технико-экономические показатели производства

Техническую целесообразность проектируемого производства определяют на основе расчета и составления технико-экономических показателей.

Технико-экономические показатели установки производства лекарственных пленок зависят от способа организации процесса (периодический/непрерывный), активности движения сырьевых потоков, производительности и мощности проектируемого оборудования, требований к качеству производимой продукции, наличия конкурентов на рынке сбыта.

Производительность установки по готовой продукции (лекарственной пленки) – 80 т/год.

Расчет фонда времени работы оборудования в году

Эффективный фонд времени рассчитывается для ведущего оборудования, которое обеспечивает заданную производительность цеха. В начале, исходя из календарного фонда времени, определяется номинальный (режимный) фонд времени работы оборудования. Для расчета эффективного фонда времени работы оборудования определяем планируемые остановки оборудования на капитальный, средний и текущий ремонты (таблица 16) и баланс времени работы оборудования (таблица 17).

Таблица 16 - Нормы межремонтных пробегов и простоев оборудования

Наименование оборудования	Нормы пробегов оборудования между ремонтами, ч		Нормы простоев оборудования в ремонте, ч	
	Текущими, T_t	Капитальными, $T_{кап}$	Текущем, P_t	Капитальном P_k
Литьевая машина ленточного типа	768	42600	19,7	720

Таблица 17 – Баланс времени работы оборудования в году

Наименование показателей	Дни	Часы
Календарный фонд времени T_K	365	8760
Нерабочие дни по режиму	10	240
В том числе:		
остановки на ремонт коммуникаций в днях	10	240
Количество дней работы в году по режиму	355	8520
Номинальный фонд T_H		8520
Планируемые остановки оборудования в рабочие дни в часах:		
на капитальный ремонт		144
на текущий ремонт		216
Итого		360
Эффективный фонд времени работы $T_{ЭФ}$ в часах		8160
Коэффициент экстенсивного использования оборудования $K_Э$	0,93	

Расчет капитальных вложений и амортизация основных фондов

Капитальные вложения в проектируемый объект, складывается из затрат на: строительство зданий и сооружений; приобретение и монтаж оборудования, транспортных средств, КИП, электрооборудования, инструмента и производственного инвентаря, относящегося к основным фондам; прочие капиталовложения, так называемые внеобъемные затраты.

При определении капитальных затрат на оборудования должны быть учтены все виды аппараты технологической линии, включенные в спецификацию. Количество единиц основного оборудования берется из технологической части проекта. Стоимость каждой единицы основного оборудования определяется на основе прейскурантов оптовых цен. Общая стоимость определяется как произведения стоимости, единицы оборудования на его количество. При расчёте балансовой стоимости оборудования нужно учесть – затраты на транспортировку, строительно-монтажные работы оборудования–25-30% (от стоимости оборудования).

Рассчитаем стоимость производственного оборудование, полученные данные сносим в таблицу 18

Таблица 18 – Расчет капитальных затрат на оборудование

Наименов. оборудования	Кол. ед.оборуд.	Оптовая цена ед. оборуд, тыс тг	Сумма затрат на приобретение оборудования тыс.тг	Дополнит. затраты на доставку и монтаж		Сметная стоимость, тыс.тг	Амортизац. отчисления	
				%	тыс.тг		%	тыс.тг
1. Учтенное оборудование:								
Смеситель для HCl	1	1116,96	1116,96	20	223,39	1340,35	10	134,035
Смеситель для ХТ	1	1256,55	1256,55		251,31	1507,86		150,786
Смеситель для ПОЗа	1	1123,00	1123,0		224,6	1347,6		134,760
Смеситель для ЛВ	1	500,00	500,0		100,0	600,0		60,0
Смеситель	1	2752,67	2752,67		550,5	3303,17		330,317
Фильтр-пресс	1	12336,0	12336,0		2467,2	14803,2		1480,032
Деаэратор	1	615,70	615,70		123,14	738,84		73,884
Литьевая машиная	1	25000,0	25000,0		5000,0	30000,0		3000,0
Насос	10	140,0	1400,0		280,0	1680,0		168,0
Сборник	1	1000,0	1000,0		200,0	1200,0		120,0
Итого						56521,02		5651,814
2. Неучтенное оборудование (9% от учтенного оборудования)						5086,89		
3. Трубопроводы (5% от учтенного оборудования)						2826,051		
4. КИП и монтаж (7% от учтенного оборудования)						3956,471		
Итого						6782,521	10	678,252
Всего						63303,541		6330,066

Расчёт сметной стоимости строительства зданий и сооружений. Стоимость производственных зданий и сооружений (79% от учтенного оборудования):

$$56\ 521{,}02 \cdot 0{,}6 = 33\ 912{,}6 \text{ тыс. тг}$$

Норма амортизации составляет 7% от сметной стоимости зданий и сооружений:

$$33\ 912{,}6 \cdot 0{,}07 = 2\ 373,\ 882 \text{ тыс. тг}$$

Стоимость административно-бытовых зданий и сооружений (15% от сметной стоимости зданий и сооружений):

$$33\ 912{,}6 \cdot 0{,}15 = 5\ 086{,}89 \text{ тыс. тг}$$

Норма амортизации составляет 5% от сметной стоимости административно-бытовых зданий и сооружений:

$$5086{,}89 \cdot 0{,}05 = 254{,}344 \text{ тыс. тг}$$

Итого: $33912{,}6 + 5086{,}89 = 38999{,}49$ тыс. тг

Норма амортизации: $2373{,}882 + 254{,}344 = 2628{,}226$ тыс. тг

Сведем рассчитанные данные в таблицу 19.

Таблица 19 – Сводная смета капиталовложений в проектируемый объект

Элементы основных фондов	Сметная стоим. основных фондов		Удельные капиталовложения, тг/т	Годовая сумма амортизацион. отчисл., тыс.тг
	тыс.тг	%		
Здания и сооружения	38999,49	40,8	423,9	2628,226
Оборудование	56521,02	59,2	706,51	6330,066
итого	95520,51	100	1130,41	8958,292

Расчет численности и фонда заработной платы рабочих

Численность и фонд заработной платы работающих проектируемого объекта рассчитывается раздельно по следующим категориям: основные рабочие, вспомогательные рабочие, инженерно-технические работники и младший обслуживающий персонал.

В непрерывных производствах номинальный фонд рабочего времени в днях определяется путем вычитания из календарного времени количества выходных и праздничных дней для текущего года по календарю.

Эффективный фонд рабочего времени в днях представляет собой разницу между номинальным фондом и количеством целодневных невыходов на работу.

Эффективный фонд рабочего времени в часах определяется как разница между максимальным количеством рабочих часов и планируемыми внутрисменными потерями рабочего времени. В таблице 20 и таблице 21 представлен баланс рабочего времени одного среднесписочного рабочего и график сменности, соответственно.

Таблица 20 – Баланс рабочего времени одного среднесписочного рабочего

Календарный фонд времени $Т_К$, в днях	365
Нерабочие дни	169
Номинальный фонд рабочего времени $В_П$	
в днях	196
в часах	2352
Целодневные невыходы на работу, дни	
очередные и дополнительные отпуска	28
Эффективный фонд рабочего времени $В_{ЭФ,}$ в днях	196-28=168
Максимальное количество рабочих часов $В_{МЧ,}$ ч/год	2016
Эффективный фонд рабочего времени $В_{ЭФ,}$ в часах	2016

Таблица 21 – График сменности

Дни недели / Бригада	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
I	1	1	1	1	1	1	В	2	2	2	2	2	2	В
II	2	2	2	2	2	2	В	1	1	1	1	1	1	В

Примечание: 1 смена: с 8^{00} до 15^{00} ч; 2 смена: с 15^{00} до 22^{00} ч;

При расчете численности рабочих по нормам обслуживания вначале определяется явочная численность ($Л_{ЯВ}$) по формуле:

$$Л_{ЯВ}=М/Н_{ОБ} \quad (11)$$

где М - число агрегатов или машин; $Н_{ОБ}$ - норма обслуживания.

Коэффициент перехода к списочной численности рабочих (коэффициент списочного состава ($К_{СП}$)) рассчитывается по формуле:

$$К_{СП}=Т_{ЭФ}/n_с \cdot В_{ЭФ} \quad (12)$$

где $Т_{ЭФ}$ - эффективный фонд времени работы оборудования в днях; $В_{ЭФ}$ - эффективный фонд рабочего времени одного среднесписочного рабочего, дни; n_c - число смен в сутки.

Списочное число рабочих ($Л_{СП}$) определяется по формуле:

$$Л_{СП}=Л_{ЯВ}\cdot К_{СП} \quad (13)$$

Явочный состав рабочих в смену:

$$Л_{ЯВ(см)}=М/Н_{ОБСЛ} \quad (14)$$

Годовой фонд заработной платы с учетом премий из фонда материального поощрения определяется только для расчета среднегодовой заработной платы:

$$З_{СГ}=Ф_{ГОД}/Л_{СП} \quad (15)$$

где $З_{СГ}$ - среднегодовая заработная плата одного работающего, тыс.тг; $Ф_{ГОД}$ - годовой фонд заработной платы с учетом премий, тыс.тг $Л_{СП}$ - списочная численность работающих, чел.

В таблице 22 и в таблице 23 приведены данные расчета численности рабочих и расчет годового фонда заработной платы основных и вспомогательных рабочих, соответственно.

Таблица 22 – Расчет численности рабочих по нормам обслуживания

Наименование профессий и специальностей	Тарифный разряд	Норма обслуживания	Кол-во аппаратов, шт	Яв.состав раб в смену	Кол. смен в сутки	Яв.состав раб в сутки	Коэффициент списоч. состав	Списочный состав $Л_{СП}$	Взято в проект
Основные производственные рабочие (ОПР):									
Аппаратчик установи	7	3	10	2	2	4	0,5	4	4
Оператор установки	8			1		2		2	2
Вспомогательные рабочие (ВР):									
Слесарь КИП и СА	6	3		1	2	1	0,5	1	1
Деж. электрик	6			1		1		1	1
Лаборант	6			1		2		2	2
Всего									10

Таблица 23 – Расчет фонда заработной платы основных и производственных рабочих

Наименование профессий	Тарифный разряд	Тарифная ставка, тг	Среднесписочное число рабочих, чел.	Эф.фонд раб. времени одного рабочего, чел.	Основная зарплата				Среднечасовая зарплата, тг	Среднедневная зарплата, тыс.тг	За очередной и дополнительный отпуска	Годовой фонд зарплаты, тыс тг
					Фонд зарплаты, тыс.тг	Премии		Итого часовой фонд, тыс.тг				
						%	Сумма тыс.тг					
Основные производственные рабочие:												
Оператор установки	8	484	2	2016	1951,5	30	585,45	2536,95	629	7548	422,7	2959,65
Аппаратчик упаковочной машины	6	419	4	2016	3378,8	25	844,7	4223,5	523	6276	527,2	4750,7
Итого			6		12216,9		3242,73	15459,63				7 710,35
Вспомогательные рабочие												
Слесарь КИП и СА	6	419	1	2016	844,7	25	211,175	1055,87	262	3144	176,05	1231,925
Деж. электрик	6	419	1	2016	844,7	25	211,175	1055,87	262	3144	176,05	1231,95
Лаборант	6	419	2	2016	1689,4	25	422,35	2111,75	524	6288	352,1	2463,85
Итого			4									4927,7
Всего			10		17285,1		4509,78	21794,88				12638,05

В таблице 24 представлен расчет фонда заработной платы с учетом всех премий инженерно-технических работников (ИТР). В таблице 25 приведены сводные по заработной плате рабочих и ИТР

Таблица 24 – Расчет фонда заработной платы и суммы премий ИТР

Наименование должностей	Тарифный разряд	Категории	Месячный должностн. оклад, тыс тг	Доплата за вредность, тыс.тг	Штатная численность	Годовой фонд зарплаты по окладу тыс.тг	Премии	
							%	Сумма тыс.тг
Общецеховой персонал:				15%				
Начальник цеха	10	ИТР	170	25,5	1	2541,5	45	1143,7
Инженер-технолог	9	ИТР	160	24	1	2392	40	956,8
Инженер-механик	9	ИТР	160	24	1	2392	40	956,8
Зав. лаборатории	8	ИТР	150	22,5	1	2242,5	35	784,9
Итого					4	9568,0		3842,2

Таблица 25 – Сводные показатели по труду и заработной плате

№	Категория работающих	Списочная численность		Годовой фонд оплаты труда, тыс. тнг	Среднегодовая заработная плата одного рабочего, тнг	Производ. труда, т/чел
		чел	%			
1	2	3	4	5	6	7
1	Рабочие	10	71,4	12638,05	1 566 860,7	5,71
2	ИТР	4	28,6	9 568,0		
	Итого	14	100	21936,0		

Расчет проектной себестоимости продукции

Для расчета проектной себестоимости продукции необходимо рассчитать: смету расходов на содержание и эксплуатацию оборудования; смету цеховых расходов; себестоимость изделия.

Смета расходов на содержание и эксплуатацию оборудования

Расходы на содержание и эксплуатацию оборудования рассчитывается на год путем составления сметы, а затем определяется их величина на калькуляционную единицу (таблица 26).

Цеховые расходы рассчитываются на год (таблица 27). После чего определяется их величина на калькуляционную единицу.

Таблица 26 – Смета расходов на содержание и эксплуатацию оборудования

Наименование статей расходов	Исходные данные для расчета	Сумма, тыс.тг
Содержание производственного оборудования	2% от стоимости оборудования	1130,42
Заработная плата вспомогательных рабочих	Табл. 4.20	4927,7
Отчисления из фонда оплаты труда (ФОТ) вспомогательных рабочих	30% от зарплаты	1478,31
Текущий ремонт производственного оборудования и капитальный ремонт	5% от затрат на оборудование	3165,177
Амортизация производственного оборудования	Табл. 4.15	6 330,066
Итого		17031,673

Таблица 27 – Смета цеховых расходов

Статья затрат	Сумма, тыс. тнг	Исходные данные для расчета
Содержание зданий и сооружений	779,9898	2% от стоимости зданий и сооружений
Заработная плата ИТР	9 568,0	Таблица 4.21
Отчисления из ФОТ ИТР	2 870,4	30% (от строчке 2)
Амортизация зданий и сооружений	2628,226	Таблица 4.16
Текущий и капитальный ремонт зданий и сооружений	1949,974	5% от стоимости зданий и сооружений
Расходы по охране труда и технике безопасности	1665,454	25% от ФОТ всех работающих
Итого	19462,0	

Калькуляция себестоимости продукта.

В работе рассчитывается проектная производственная себестоимость. Расчет проектной себестоимости продукции (затрат на переработку) осуществляется путем составления калькуляции. Затраты, образующие себестоимость продукции, группируются в соответствии с их экономическим содержанием по следующим элементам: материальные затраты; амортизация основных фондов; затраты на оплату труда; прочие затраты; отчисления на социальные нужды. Для расчета себестоимости продукции составляется проектная калькуляция (таблица 28).

Наименование продукта: Полимерная лекарственная пленка

Калькуляционная единица: 1000 кг, годовой выпуск: 80 т/год пленки

Таблица 28 – Проектная калькуляция себестоимости

№ строк	Наименование статей калькуляции	Ед. измерения	Оптовая цена за единицу измерения, тнг	Затраты на годовой выпуск		Затраты на калькуляционную единицу	
				Колич. (т)	Сумма, тнг	Колич. (кг)	Сумма, тнг
1	Сырье Хитозан ПОЗ ЦПФ Глицерин	 т т т т	 2 331 600 3 886 000 7 772 000 500 000	 53,77 12,42 6,732 6,732	 125370132 48264120 52321104 3336000	 676 169 82,5 72,5	 1576161 656734,0 641190,0 36250,0
	Всего			80,0	229291356	1000,0	2910335,6
2	Заработная плата ОПР	Таблица 4.20			7710350,0		196,379
3	Отчисления из ФОТ ОПР	20% от стр.2			1542070,0		19,276
4	Смета расходов на содержание и эксплуатацию оборудования	Таблица 4.23			17031673,0		212,89
5	Цеховые расходы	Таблица 4.24			19462000		243,275
6	Цеховая себестоимость (ЦС)	строка1 +строка2 +строка 3 + строка 4 + строка 5			275037 449		2 911007,4
7	Прочие производ. расходы	1% от ЦС			27 503744,9		291100,74
8	Производственная себестоимость (ПС)	ЦС+ +строка 6 +строка 7			302 541193,9		3202108,2
9	Внепроизводст. расходы	1-% от ПС			30 254119,4		320210,816
10	Итого полная себестоимость	ПС+ строка 9			332795313,3		3522318,9

Расчет основных технико-экономических показателей

Для общей характеристики проектируемого объекта приводятся основные технико – экономические показатели, которая заполняется по итоговым данным экономических расчетов (таблица 29).

Срок окупаемости капитальных вложений показывает время, в течение которого капитальные вложения будут возмещены приростом прибыли, обеспечиваемой реализацией планируемой программы капитальных работ. Чем

меньше срок окупаемости капитальных вложений, тем при прочих равных условиях выше эффективность их использования.

Срок окупаемости определяют по формуле:

$$Т = \frac{К_{общ}}{П} \quad (16)$$

где $К_{общ}$ – общий объем капитальных вложений, $К_{общ}$ = 95 520 510 тнг; П – валовая прибыль, тнг

Валовая прибыль определяется как разность между стоимостной оценкой годового выпуска и его себестоимостью:

$$П = Q \cdot (Ц - С) \quad (17)$$

где Q – годовой выпуск товарной лекарственной пленки, Q=80 т/год; Ц=1,15·С– цена единицы товарной продукции за тонну, Ц=4050666,74 тг; С – себестоимость единицы товарной продукции, С=3522318,9 тг.

$$П = 80 \cdot (4050666{,}74 - 3522318{,}9) = 42267826{,}8 \text{ тг}$$

Тогда срок окупаемости составит:

$$Т = \frac{95520\ 510}{42267826{,}8} = 2{,}3 \text{ года}$$

Для характеристики эффективности производственно-хозяйственной деятельности предприятия применяется такой показатель, как рентабельность.

Рентабельность – показатель, характеризующий уровень прибыли с одного тенге затраченных средств. Рекомендуется рассчитывать рентабельность продукции:

$$Re = \frac{П}{С_{пол}}$$

где П – валовая прибыль, тг; $С_п$ = 332795313,3 – полная себестоимость продукции, тг.

$$Re = \frac{42267826{,}8}{332795313{,}3} \cdot 100\% = 12{,}7\%$$

Средняя рентабельность фармацевтической отрасли лежит в пределах 16-18 %. Как показали экономические расчёты рентабельность продукции (полимерной пленок) полученные сухим способом формования т.е. методом литья из водных растворов полимеров составляет 12,7 %.

Таблица 29 – Сводная таблица основных технико-экономических показателей установки производства полимерной лекарственной пленки

Наименование показателей	Единица измерения	Значение показателей
Годовой выпуск продукции в натуральном выражении	т/год	80
Эффективный фонд времени работы оборудования	ч/год	8160
Капитальные вложения в основные фонды	тыс.тг	95520,510
Удельные капитальные вложения	тг/т	1130,41
Численность рабочих всего: В том числе Основных и вспомогательных рабочих ИТР	чел	16 10 4
Производительность труда:	т/чел	5,71
Среднегодовая заработная плата одного рабочего, тнг	тыс.тг	1566860,7
Срок окупаемости капитальных вложений	лет	2,3
Себестоимость единицы продукции	т	3522318,9
Полная себестоимость единицы продукции	тг	332795313,3
Рентабельность продукции	%	12,7

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных в работе исследований работы можно сделать следующие выводы:

1. Методом радиационного сшивания получены новые гидрогели на основе хитозана, которые проявляют более высокие сорбционные характеристики и адгезивные свойства по сравнению с коммерчески доступными повязками AQUA DRESS®. Показано, что использование хитозана позволяет получать раневые повязки с меньшим процентным содержанием агар-агара без ухудшения механических и эксплуатационных характеристик. При этом, увеличение хитозана приводит к образованию полимерной сетки с большей пористостью, что способствует повышению набухающей способности гидрогеля.

2. Впервые систематически исследованы механические, адгезивные и антимикробные свойства новых гидрогелевых материалов на основе хитозана. Показано, что увеличение дозы облучения для формируемых гидрогелей сопровождается повышением их модуля упругости и снижением величины относительного удлинения при разрыве, что обусловлено образованием трехмерной структуры сетки большим числом поперечных сшивок. Кроме того, включение НЧ серебра способствует улучшению механических свойств полученных гидрогелей. Установлено, полученные гидрогели обладают более высокой адгезионной способностью к коже по сравнению с повязки AQUA DRESS®, что обусловлено, очевидно, наличием в их составе хитозана. Выявлено, наличие, синергетического эффекта относительно на антибактериальных свойства повязок, содержащих хитозан и НЧ серебра.

3. Впервые комплексом современных методов изучено межмолекулярное взаимодействие хитозана с поли(2-этил-2-оксазолином). Данные ИК-спектроскопии, наличие одной температуры стеклования в смесях на термограммах ДСК, смещение широкого дифракционного пика от 23,3° до 19,2° на дифрактограммах WAXD свидетельствует о формировании водородных связей между гидроксильными и амидными группами ХТ с карбонильными группами ПОЗ, что обусловливает высокую совместимость смесей хитозана с поли(2-этил-2-оксазолином).

4. Впервые разработаны лекарственные формы в виде водорастворимых и сшитых пленок на основе хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина) различного состава. Полученные полимерные пленки исследованы в качестве мукоадгезивных лекарственных форм с помощью тестов *in vitro* и *in vivo*. Показано, что мукоадгезивные свойства пленок обусловлены наличием хитозана в их составе, аминогруппы которого посредством электростатических взаимодействий связываются с отрицательно заряженным составляющим слизистых оболочек - муцином. Установлено пролонгированное высвобождение препаратов (натрия флуоресцеин, ципрофлоксацин, лидокаина моногидрохлорид) из полимерных пленок ХТ/ПОЗ, показано возможность создания на их основе мукоадгезивных лекарственных форм в качестве глазных, вагинальных и буккальных пленок с контролируемым

высвобождением. Результаты микробиологических испытаний пленок с лекарственным веществом (ципрофлоксацин) свидетельствует о высокой антибактериальной активности данных образцов против *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli.*

5. Разработаны технологические схемы получения гидрогелевых лекарственных форм и повязок на основе хитозана. Рассчитаны основные материальные потоки, составлен сводный материальный баланс. С целью автоматического управления над технологическим режимом и обеспечения высокого контроля качества готовой продукции разработана функциональная схема автоматизации установки получения полимерной пленки, в частности блока подготовки формовочного раствора. Расчеты технико-экономических показателей производства полимерной пленки.

Оценка полноты решения поставленных задач. Цели и задачи, поставленные в диссертационной работе, решены полностью. Полнота решения поставленных задач достигнута путем радиационного синтеза гидрогелей, формованием пленок из водных растворов полимеров и систематического исследования физико-химических, мукоадгезивных, микробиологических свойств с использованием современных широко апробированных методов исследования (ИК-спектроскопия с Фурье преобразованием, термогравиметрический анализ, дифференциально-сканирующая калориметрия (ДСК), гравиметрия, механические испытания полимерных пленок и гидрогелей, сканирующая электронная микроскопия, исследование мукадгезии с помощью методов «*in vivo*» и «*in vitro*»).

Рекомендации и исходные данные по конкретному использованию результатов исследования: Полученные гидрогели на основе ХТ и ХТ/Ag могут быть эффективно использованы в медицинской практике в качестве раневых покрытий для лечения поражений кожного покрова. Водорастворимые и сшитые полимерные пленки на основе ХТ/ПОЗ, после проведения соответствующих клинических испытаний, могут быть рекомендованы для создания мукоадгезивных лекарственных форм для применения в офтальмологии, стоматологии и гинекологии. Установленные в работе закономерности формирования гидрогелей на основе хитозана и межмолекулярных взаимодействий между хитозаном и поли(2-этил-2-оксазолином могут быть использованы в научно- исследовательской практике в качестве теоретического материала при разработке других полимерных лекарственных форм с пролонгированным действием.

Оценка технико-экономической эффективности внедрения

Полученные результаты характеризуются высоким научным и практическим уровнем. Синтезированные в работе новые раневые повязки расширяют арсенал отечественных перевязочных материалов с антимикробной активностью. Разработанные пленочные лекарственные формы на основе водорастворимых и сшитых (водонабухающих) полимеров имеют существенные преимущества. Их использование позволяет увеличить длительность лечебного эффекта, снизить токсическое и побочное действие препаратов за счет пролонгированного действия, тем самым сократить

количество приемов лекарственного вещества и уменьшить общий расход препаратов на курс лечения.

Оценка научного уровня выполненной работы в сравнении с лучшими достижениями в данной области.

О высоком научном уровне выполненной работы в сравнениями с лучшеми достижениями в данной области свидетельствует статья, опубликованная в международном научном журнале, входящем в базу данных Scopus (European Polymer Journal) а также апробация на представленных международных конференциях, семинарах и симпозиумах «Polymers and hydrogels for wound care and other biomedical applications» (Almaty, 2017); «Современные тренды высшего образования и науки в области химической и биохимической инженерии» (Алматы, 2018); American Chemical Society meeting (Florida, USA, 2019); 14th Tihany Symposium on Radiation Chemistry (Siófok, Hungary, 2019); «Ядерные и радиационные технологии в медицине, промышленности и сельском хозяйстве» (Алматы, 2019)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1Bhowmik D., Gopinath H., Kumar B.P., Duraivel S., Kumar K.P.S. Controlled Release Drug Delivery Systems // The pharma innovation journal – 2012. – Vol.1, №10. – P.24–32.

2 Joseph Francis PJ, Arun KJ , Navas AA and Joseph I. Biomedical Applications of Polymers -An Overview // Curr. Trends Biomed. Eng. Biosci. – 2018. – Vol.15, №2. – P.44–45.

3 Mansour H.M., Sohn M., Al-ghananeem A., Deluca P.P. Materials for Pharmaceutical Dosage Forms: Molecular Pharmaceutics and Controlled Release Drug Delivery Aspects // Int. J. Mol. Sci. – 2010. – Vol.11. – P.3298–3322.

4 Nair L.S., Laurencin C.T. Biodegradable polymers as biomaterials // Progress in Polymer Science. – 2007. – Vol.32, №8-9. – P. 762-798.

5 Peppas N.A., Colombo P. Analysis of drug release behavior from swellable polymer carriers using the dimensionality index // J. Control. Release. – 1997. – Vol. 45. – P.35–40.

6 Kadajji V.G., Betageri G. V. Water Soluble Polymers for Pharmaceutical Applications // Polymers. – 2011. – Vol.3. – P.1972–2009.

7 Kamoun E.A., Chen X., Mohy Eldin M.S., Kenawy E.R.S. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers // Arab. J. Chem. – 2015. – Vol.8. – P.1–14.

8 Teodorescu M., Bercea M. Poly(vinylpyrrolidone) – A Versatile Polymer for Biomedical and Beyond Medical Applications // Polym. Plast. Technol. Eng. – 2015. – Vol.54, №9. – P.923–943.

9 Winnacker M. Polyamides and Their Functionalization: Recent Concepts for Their Applications as Biomaterials // Biomater. Sci. – 2017. – Vol.5, №7. – P.1230–1235.

10 Tomalia D.A., Sheetz D.P. Homopolymerization of 2-alkyl- and 2-aryl-2-oxazolines // J. Polym. Sci. Part A-1 Polym. Chem. – 1966. – Vol. 4. – P.2253–2265.

11 Seeliger W., Aufderhaar E., Diepers W., Feinauer R., Nehring R., Thier W., Hellmann H. Recent Syntheses and Reactions of Cyclic Imidic Esters // Angew. Chemie Int. Ed. English. – 1966. – Vol. 5. – P.875–888.

12 Kagiya T., Narisawa S., Maeda T., Fukui K. Ring-opening polymerization of 2-substituted 2-oxazolines // J. Polym. Sci. Part B Polym. Lett. – 1966. – Vol.4. – P.441–445.

13 Bassiri T.G., Levy A., Litt M. Polymerization of cyclic imino ethers. I. Oxazines // J. Polym. Sci. Part B Polym. Lett. – 1967. – Vol.5. – P.871–879.

14 Verbraeken B., Monnery B.D., Lava K., Hoogenboom R. The chemistry of poly(2-oxazoline)s // Eur. Polym. J. – 2017. – Vol.88. – P.451–469.

15 Hoogenboom R. Poly(2-oxazoline)s: A polymer class with numerous potential applications // Angew. Chemie. – 2009. – Vol.48. – P.7978–7994.

16 Bauer M., Lautenschlaeger C., Kempe K., Tauhardt L., Schubert U.S., Fischer D. Poly(2-ethyl-2-oxazoline) as Alternative for the Stealth Polymer Poly(ethylene glycol): Comparison of in vitro Cytotoxicity and Hemocompatibility // Macromol. Biosci. – 2012. – Vol.12. – P.986–998.

17 Huber S., Hutter N., Jordan R. Effect of end group polarity upon the lower critical solution temperature of poly(2-isopropyl-2-oxazoline) // Colloid Polym. Sci. – 2008. – Vol.286. – P.1653–1661.

18 Sedlacek O., Monnery B.D., Filippov S.K., Hoogenboom R., Hruby M. Poly(2-oxazoline)s - Are they more advantageous for biomedical applications than other polymers? // Macromol. Rapid Commun. – 2012. – Vol.33. – P.1648–1662.

19 Claeys B., Vervaeck A., Vervaet C., Remon J.P., Hoogenboom R., De Geest B.G. Poly(2-ethyl-2-oxazoline) as matrix excipient for drug formulation by hot melt extrusion and injection molding // Macromol. Rapid Commun. – 2012. – Vol.33. – P.1701–1707.

20 Ramesh H.P., Tharanathan R.N. Carbohydrates - The renewable raw materials of high biotechnological value // Crit. Rev. Biotechnol. – 2003. – Vol.23, №2. – P.149–173.

21 Mano J.F., Silva G.A., Azevedo H.S., Malafaya P.B. Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends // J. R. Soc. Interface. – 2007. – Vol.4. – P.999–1030.

22 Aravamudhan A., Ramos D.M., Nada A.A., Kumbar S.G. Natural Polymers: Polysaccharides and Their Derivatives for Biomedical Applications // Elsevier Inc. – 2014. – P.67-89

23 Kurita K. Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans // Mar. Biotechnol. – 2006, – Vol.8. – P.203–226.

24 Dutta P.K., Duta J., Tripathi V.S. Chitin and Chitosan: Chemistry, properties and applications // J. Sci. Ind. Res. – 2004. – Vol.63. – P.20–31.

25 Berger J., Reist M., Mayer J.M., Felt O., Peppas N.A., Gurny R. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2004. – Vol.57, № 1. – P.19-34.

26 Alonso M.J., Sánchez A. The potential of chitosan in ocular drug delivery, J. Pharm. Pharmacol. – 2003. – Vol.55. – P.1451–1463.

27 Bansal V., Sharma P.K., Sharma N., Pal O.P., Malviya R. Applications of Chitosan and Chitosan Derivatives in Drug Delivery // Adv. Biol. Res. – 2011, – Vol.5. – P.28–37.

28 Kean T., Thanou M. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2010. – Vol.62, №1. – P.3–11.

29 Raphael Riva, Heloıse Ragelle, Anne des Rieux, Duhem N., Jerome C., Preat V. Chitosan and Chitosan Derivatives in Drug Delivery and Tissue Engineering // Adv. Polym. Sci. – 2011. – Vol.244. – P.19–44.

30 Prasitsilp M., Jenwithisuk R., Kongsuwan K., Damrongchai N., Watts P. Cellular responses to chitosan in vitro: The importance of deacetylation // J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2000, – Vol.11. – P.773–778.

31 Molinaro G., Leroux J.C., Damas J., Adam A. Biocompatibility of thermosensitive chitosan-based hydrogels: An in vivo experimental approach to injectable biomaterials // Biomaterials. – 2002, – Vol.23. – P.2717–2722.

32 Zhang H., Neau S.H. In vitro degradation of chitosan by a commercial enzyme preparation: Effect of molecular weight and degree of deacetylation //

Biomaterials. – 2001. – Vol.22. – P.1653–1658.

33 Alonso M.J., Sánchez A. The potential of chitosan in ocular drug delivery // J. Pharm. Pharmacol. – 2003. – Vol.55, №11. – P.1451-1463

34 Hamman J.H. Chitosan based polyelectrolyte complexes as potential carrier materials in drug delivery systems // Mar. Drugs. – 2010. – Vol.8, №4 – P.1305–1322.

35 Scherließ R., Buske S., Young K., Weber B., Rades T., Hook S. In vivo evaluation of chitosan as an adjuvant in subcutaneous vaccine formulations // Vaccine. – 2013. – Vol.31. – P.4812–4819.

36 Kumar M.N.V.R., Muzzarelli R.A.A., Muzzarelli C., Sashiwa H., Domb A.J. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives // Chemical Reviews. – 2004. – Vol. 104 (12). – P. 6017–6084.

[37] Bhattarai N., Gunn J., Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2010. – Vol.62, №1. – P.83-99

38 Silva C.L., Pereira J.C., Ramalho A., Pais Alberto A.C.C., Sousa Joao J.S. Films based on chitosan polyelectrolyte complexes for skin drug delivery: Development and characterization // J. Memb. Sci. – 2008. – Vol.320. – P.268–279.

39 Abilova G.K., Kaldybekov D.B., Ozhmukhametova E.K., Saimova A.Z., Kazybayeva D.S., Irmukhametova G.S., Khutoryanskiy V.V. Chitosan/poly(2-ethyl-2-oxazoline) films for ocular drug delivery: Formulation, miscibility, in vitro and in vivo studies // Eur. Polym. J. – 2019. – Vol.116, №311–320.

40 Boateng J.S., Matthews K.H., Stevens H.N.E., Eccleston G.M. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review // J. Pharm. Sci. – 2008. – Vol.97. – P.2892–2923.

41 Hao J.Y., Mi F.L., Shyu S.S., Wu Y.B., Schoung J.Y., Tsai Y.H., Bin Huang Y. Control of wound infections using a bilayer chitosan wound dressing with sustainable antibiotic delivery // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – Vol.59. – P.438–449.

42 Ahmed S., Ikram S. Chitosan Based Scaffolds and Their Applications in Wound Healing // Achiev. Life Sci. – 2016. – Vol.10. – P.27–37.

43 Sogias I.A., Williams A.C., Khutoryanskiy V.V. Why is chitosan mucoadhesive? // Biomacromolecules. – 2008. – Vol.9, – P.1837–1842.

44 De Oliveira Fulgêncio G., Viana F.A.B., Ribeiro R.R., Yoshida M.I., Faraco A.G., Da Silva Cunha-Júnior A. New mucoadhesive chitosan film for ophthalmic drug delivery of timolol maleate: In vivo evaluation // J. Ocul. Pharmacol. Ther. – 2012. – Vol.28. – P.350–358.

45 Ways T.M.M., Lau W.M., Khutoryanskiy V.V. Chitosan and its derivatives for application in mucoadhesive drug delivery systems // Polymers. – 2018. – Vol.10, № 3. – P.267-304

46 Ahmed S. Chitosan: A Natural Antimicrobial Agent-A Review, // J. Appl. Chem. – 2014. – Vol.3. – P.493–503.

47 Liu X.F., Guan Y.L., Yang D.Z., Li Z., De Yao K. Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan // J. Appl. Polym. Sci. – 2001. – Vol.79. – P.1324–1335.

48 Chung Y.C., Chen C.Y. Antibacterial characteristics and activity of acid-

soluble chitosan // Bioresour. Technol. –2008. – Vol.99. – P.2806–2814.

49 Azad A.K., Sermsintham N., Chandrkrachang S., Stevens W.F. Chitosan Membrane as a Wound-Healing Dressing: Characterization and Clinical Application // J. Biomed. Mater. Res. - Part B Appl. Biomater. – 2004. – Vol.69. – P.216–222.

50 Mi F.L., Shyu S.S., Wu Y.B., Lee S.T., Shyong J.Y., Huang R.N. Fabrication and characterization of a sponge-like asymmetric chitosan membrane as a wound dressing, Biomaterials. – 2001. – Vol.22. – P.165–173.

51 Hao J.Y., Mi F.L., Shyu S.S., Wu Y.B., Schoung J.Y., Tsai Y.H., Bin Huang Y. Control of wound infections using a bilayer chitosan wound dressing with sustainable antibiotic delivery // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – Vol.59. – P.438–449.

52 Denuziere A., Ferrier D., Damour O., Domard A. Chitosan - chondroitin sulfate and chitosan - hyaluronate polyelectrolyte complexes: Biological properties // Biomaterials. – 1998. – Vol.19. – P.1275–1285.

53 Muzzarelli R.A.A., Zucchini C., Ilari P., Pugnaloni A., Mattioli Belmonte M., Biagini G., Castaldini C. Osteoconductive properties of methylpyrrolidinone chitosan in an animal model // Biomaterials. – 1993. – Vol.14. – P.925–929.

54 Francis Suh J.K., Matthew H.W.T. Application of chitosan-based polysaccharide biomaterials in cartilage tissue engineering: A review // Biomaterials. – 2000. – Vol.21. – P.2589–2598.

55 Kim I.Y., Seo S.J., Moon H.S., Yoo M.K., Park I.Y., Kim B.C., Cho C.S. Chitosan and its derivatives for tissue engineering applications // Biotechnol. Adv. – 2008. – Vol.26. – P.1–21.

56 Aranaz I., Harris R., Heras A. Chitosan Amphiphilic Derivatives. Chemistry and Applications // Curr. Org. Chem. – 2010. – Vol.14, – P.308–330.

57 Chanda J. Anticalcification treatment of pericardial prostheses // Biomaterials. – 1994. – Vol.15. – P.465–465.

58 Mi F.L., Shyu S.S., Peng C.K. Characterization of ring-opening polymerization of genipin and pH-dependent cross-linking reactions between chitosan and genipin // J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem. – 2005. – Vol.43. – P.1985–2000.

59 Gao L., Gan H., Meng Z., Gu R., Wu Z., Zhang L., Zhu X., Sun W.,. Li J, Zheng Y., Dou G. Effects of genipin cross-linking of chitosan hydrogels on cellular adhesion and viability // Colloids Surfaces B Biointerfaces. – 2014. – Vol.117. – P.398–405.

60 Cruise G.M., Scharp D.S., Hubbell J.A. Characterization of permeability and network structure of interfacially photopolymerized poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels // Biomaterials. – 1998. – Vol.19. – P.1287–1294.

61 Asane G.S., Nirmal S.A., Rasal K.B., Naik A.A., Mahadik M.S., Rao Y.M. Polymers for mucoadhesive drug delivery system: A current status // Drug Dev. Ind. Pharm. – 2008. – Vol.34. – P.1246–1266.

62 Zhang Y., Chan H.F., Leong K.W. Advanced materials and processing for drug delivery: The past and the future // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2013. – Vol.65, №1. – P.104–120.

63 Khutoryanskiy V.V. Advances in Mucoadhesion and Mucoadhesive

Polymers // Macromol. Biosci. – 2011. – Vol.11, №6. – P.748–764.

64 Mansuri S., Kesharwani P., Jain K., Tekade R.K., Jain N.K. Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system // React. Funct. Polym. – 2016. – Vol.100. – P.151–172.

65 Mackie A.R., Goycoolea F.M., Menchicchi B. et.all Innovative Methods and Applications in Mucoadhesion Research // Macromol. Biosci. – 2017. – Vol.17, №8. – P.1-32

66 Andrews G.P., Laverty T.P., Jones D.S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2009. – Vol.71, №3. – P.505–5018.

67 Ponchel G., Irache J.M. Specific and non-specific bioadhesive particulate systems for oral delivery to the gastrointestinal tract // Adv. Drug Deliv. Rev. – 1998. – Vol.34, №2-3. – P.191–219.

68 Salamat-Miller N., Chittchang M., Johnston T.P. The use of mucoadhesive polymers in ybuccal drug deliver // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2005. – Vol.57. – P.1666–1691.

69 Lokhande S.D., Lahoti S.S. Buccoadhesive Drug Delivery System: Need 1 // Asian J. Biomed. Pharm. Sci. – 2012. – Vol.2. – P.29–36.

70 Khutoryanskaya O.V., Morrison P.W.J., Seilkhanov S.K., Mussin M.N., Ozhmukhametova E.K., Rakhypbekov T.K., Khutoryanskiy V.V. Hydrogen-bonded complexes and blends of poly(acrylic acid) and methylcellulose: Nanoparticles and mucoadhesive films for ocular delivery of riboflavin // Macromol. Biosci. – 2014. – Vol.14, №2. – P.225-234

71 Qu X., Khutoryanskiy V.V., Stewart A., Rahman S. et. all Carbohydrate-based micelle clusters which enhance hydrophobic drug bioavailability by up to 1 order of magnitute // Biomacromolecules. – 2006. – Vol.7. – P.3452–3459.

72 Karki S., Kim H., Na S.J., Shin D., Jo K., Lee J. Thin films as an emerging platform for drug delivery // Asian J. Pharm. Sci. – 2016. – Vol.11. – P.559–574.

73 Morales J.O., McConville J.T. Manufacture and characterization of mucoadhesive buccal films // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2011. – Vol.77. – P.187–199.

74 Bhalodia R., Basu B., Garala K., Joshi B., Mehta K. Buccoadhesive drug delivery systems: A review // Int. J. Pharma Bio Sci. – 2010. – Vol.1, №4. – P.381-387.

75 Cui Z., Mumper R.J. Buccal transmucosal delivery of calcitonin in rabbits using thin-film composites, Pharm. Res. – 2002. – Vol.19. – P.1901–1906.

76 Boateng J.S., Popescu A.M. Composite bi-layered erodible films for potential ocular drug delivery // Colloids Surfaces B Biointerfaces. – 2016. – Vol.145. – P.353–361.

77 Abdelkader H., Pierscionek B., Alany R.G. Novel in situ gelling ocular films for the opioid growth factor-receptor antagonist-naltrexone hydrochloride: Fabrication, mechanical properties, mucoadhesion, tolerability and stability studies // Int. J. Pharm. – 2014. – Vol.477. – P.631–642.

78 Peptu C.A., Buhus G., Popa M., Perichaud A., Costin D. Double cross-linked chitosan'"Gelatin particulate systems for ophthalmic applications // J. Bioact.

Compat. Polym. – 2010. – Vol.25. – P.98–116.

79 Lee J.W., Park J.H., Robinson J.R. Bioadhesive-based dosage forms: The next generation, J. Pharm. Sci. – 2000. – Vol.89. – P.850–866.

80 Felt O., Carrel A., Baehni P., Buri P., Gurny R. Chitosan as tear substitute: A wetting agent endowed with antimicrobial efficacy // J. Ocul. Pharmacol. Ther. – 2000. – Vol.16. – P.261–270.

81 Felt O., Furrer P., Mayer J.M., Plazonnet B., Buri P., Gurny R. Topical use of chitosan in ophthalmology: Tolerance assessment and evaluation of precorneal retention // Int. J. Pharm. – 1999. – Vol.180. – P.185–193.

82 De Campos A.M., Sánchez A., Alonso M.J. Chitosan nanoparticles: A new vehicle for the improvement of the delivery of drugs to the ocular surface. Application to cyclosporin A // Int. J. Pharm. – 2001. – Vol.224. – P.159–168.

83 Gupta S., Gilhotra R.M. Enhancement of anti-glaucoma potential by novel ocular drug delivery system // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. – 2011. – Vol.3. – P.55–58.

84 Di Colo G., Zambito Y., Burgalassi S., Serafini A., Saettone M.F. Effect of chitosan on in vitro release and ocular delivery of ofloxacin from erodible inserts based on poly(ethylene oxide) // Int. J. Pharm. – 2002. – Vol.248. – P.115–122.

85 Jethava J., Jethava G. Design, formulation, and evaluation of novel sustain release bioadhesive in-situ gelling ocular inserts of ketorolac tromethamine // Int. J. Pharm. Investig. – 2014. – Vol.4. – P.226–232.

86 Acarturk F. Mucoadhesive Vaginal Drug Delivery Systems // Recent Pat. Drug Deliv. Formul. – 2009. – Vol.3. – P.301–313.

87 Rohan L.C., Sassi A.B. Vaginal drug delivery systems for HIV prevention // AAPS J. – 2009. – Vol.11, №1. – P.78–87.

88 Machado R.M., Palmeira-De-Oliveira A., Martinez-De-Oliveira J., Palmeira-De-Oliveira R. Vaginal films for drug delivery // J. Pharm. Sci. – 2013. – Vol.102. – P.2069–2081.

89 Ghosal K., Ranjan A., Bhowmik B.B. A novel vaginal drug delivery system: Anti-HIV bioadhesive film containing abacavir //J. Mater. Sci. Mater. Med. – 2014. – Vol.25. – P.1679–1689.

90 Bonferoni M.C., Giunchedi P., Scalia S., Rossi S., Sandri G., Caramella C. Chitosan gels for the vaginal delivery of lactic acid: Relevance of formulation parameters to mucoadhesion and release mechanisms // AAPS PharmSciTech. – 2006. – Vol.7. – P.104.

91 Şenyiğit Z.A., Karavana S.Y., Eraç B., Gürsel Ö., Limoncu M.H., Baloğlu E. Evaluation of chitosan based vaginal bioadhesive gel formulations for antifungal drugs, Acta Pharm. – 2014. – Vol.64. – P.139–156.

92 Baloglu E., Senyigit Z.A., Karavana S.Y., Bernkop-Schnürch A. Strategies to prolong the intravaginal residence time of drug delivery systems // J. Pharm. Pharm. Sci. – 2009. – Vol.12, №3. – P.312–336.

93 Akil A., Parniak M.A., Dezzutti C.S., Moncla B.J., Cost M.R., Li M., Rohan L.C. Development and characterization of a vaginal film containing dapivirine, a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), for prevention of HIV-1 sexual transmission // Drug Deliv. Transl. Res. – 2011. – Vol.1. – P.209–222.

94 Garg S., Vermani K., Garg A., Anderson R.A., Rencher W.B., Zaneveld L.J.D. Development and characterization of bioadhesive vaginal films of sodium polystyrene sulfonate (PSS), a novel contraceptive antimicrobial agent // Pharm. Res. – 2005. – Vol.22. – P.584–595.

95 Dobaria N.B., Badhan A.C., Mashru R.C. A novel itraconazole bioadhesive film for vaginal delivery: Design, optimization, and physicodynamic characterization // AAPS PharmSciTech. – 2009. – Vol.10. – P.951–959.

96 Winter G.D. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig // Nature. – 1962. – Vol.193. – P.293–294.

97 Kamoun E.A., Kenawy E.R.S., Chen X. A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings // J. Adv. Res. – 2017. – Vol.8, №3. – P.217–233.

98 Bullock A.J., Pickavance P., Haddow D.B., Rimmer S., MacNeil S. Development of a calcium-chelating hydrogel for treatment of superficial burns and scalds // Regen. Med. – 2010. – Vol.5. – P.55–64.

99 Peppas N.A., Bures P., Leobandung W., Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2000. – Vol.50, №1. – P.27-46.

100 Hoffman A.S. Hydrogels for biomedical applications // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2012. – Vol.64. – P.18–23.

101 Huang S., Fu X. Naturally derived materials-based cell and drug delivery systems in skin regeneration // J. Control. Release. – 2010. – Vol.142, №2. – P.149–159.

102 Seaman S. Dressing selection in chronic wound management // J. Am. Podiatr. Med. Assoc. – 2002. – Vol.92, №1. – P.24–33.

103 Григорьева М.В. Полимерные системы с контролируемым к высвобождением биологически активных соединений, Біотехнологія. – 2011. – Vol.4. – P.9–23.

104 Pawar H.V., Tetteh J., Boateng J.S. Preparation, optimisation and characterisation of novel wound healing film dressings loaded with streptomycin and diclofenac // Colloids Surfaces B Biointerfaces. – 2013. – Vol.102. – P.102–110.

105 Caccavo D., Cascone S., Lamberti G., Barba A.A. Modeling the drug release from hydrogel-based matrices // Mol. Pharm. – 2015. – Vol.12. – P.473–483.

106 Koehler J., Brandl F.P., Goepferich A.M. Hydrogel wound dressings for bioactive treatment of acute and chronic wounds // Eur. Polym. J. – 2018. – Vol.100. – P.1–11.

107 Jin S.G., Yousaf A.M., Kim K.S., Kim D.W., Kim D.S., Kim J.K., Yong C.S., Youn Y.S., Kim J.O., Choi H.G. Influence of hydrophilic polymers on functional properties and wound healing efficacy of hydrocolloid based wound dressings // Int. J. Pharm. – 2016. – Vol.501. – P.160–166.

108 Nolff M.C., Albert R., Reese S., Meyer-Lindenberg A. Comparison of Negative Pressure Wound Therapy and Silver-Coated Foam Dressings in Open Wound Treatment in Dogs: A Prospective Controlled Clinical Trial // Vet. Comp. Orthop. Traumatol. – 2018. – Vol.31. – P.229–238.

109 Caló E., Khutoryanskiy V.V. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products // Eur. Polym. J. – 2015. – Vol.65. – P.252–267.

110 Винник Ю. С., Маркелова Н. М., Тюрюмин В. С. Современные методы лечения гнойных ран // Сибирское медицинское обозрение. – 2013. –№ 1. – С. 18–24.

111 Осиков М.В., Симонян Е.В., Григорьева Г.П., Саедгалина О.Т., Ножкина Н.Н. Трансдермальные гидроколлоидные покрытия – перспективное направление локальной иммунокоррекции при термической травме // Фундаментальные исследования. – 2014. –№ 10. – С. 1632–1639.

112 Kumar A., Wang X., Nune K.C., Misra R.D.K. Biodegradable hydrogel-based biomaterials with high absorbent properties for non-adherent wound dressing // International Wound Journal. – 2017. – Vol. 14 (6). – P. 1076–1087.

113 Винник Ю.С., Маркелова Н. М., Соловьева Н.С., Шишацкая Е.И., Кузнецов М.Н., Зуев А.П. Современнные раневые покрытия в лечении гнойных ран. // Новости хирургии. – 2015. –Т. 23, –№ 5. – С. 552–558.

114 Легонькова О.А., Алексеев А.А. Современные раневые покрытия: их свойства и особенности // Вестник Росздравнадзора. –,2015. –№ 6. – С. 66–68.

115 Бленов А.В. Перспективные направления в разработке новых перевязочных средств // Новости хирургии. – 2006. –Т. 14, –№ 1. – С. 9–19.

116 Anjum S., Arora A., Alam M.S., Gupta B. Development of antimicrobial and scar preventive chitosan hydrogel wound dressings // International Journal of Pharmaceutics. – 2016. – Vol. 508 (1-2). – P. 92–101.

117 Pinho E., Soares G. Functionalization of cotton cellulose for improved wound healing // J. Mater. Chem. B. – 2018. – Vol.8, №13. – P.1887–1898.

118 Ou K., Wu X., Wang B., Meng C., Dong X., He J. Controlled in situ graft polymerization of DMAEMA onto cotton surface via SI-ARGET ATRP for low-adherent wound dressings // Cellulose. – 2017. – Vol.24. – P.5211–5224.

119 Thakur V.K., Thakur M.K. Recent advances in graft copolymerization and applications of chitosan: A review // ACS Sustain. Chem. Eng. – 2014. – Vol.2. – P.2637–2652.

120 Шаблин Д.В., Павленко С.Г., Евглевский А.А., Бондаренко П.П., Хуранов А.А. Современные раневые покрытия в местном лечении ран различного генеза // Фундаментальные исследования. – 2013. –№ 12. – С. 361–365.

121 Deepachitra R., Pujitha Lakshmi R., Sivaranjani K., Helan Chandra J., Sastry T.P. Nanoparticles embedded biomaterials in wound treatment: A review // J. Chem. Pharm. Sci. – 2015. – Vol.8. – P.324–329.

122 Dai T., Tanaka M., Huang Y.Y., Hamblin M.R. Chitosan preparations for wounds and burns: Antimicrobial and wound-healing effects // Expert Rev. Anti. Infect. Ther. – 2011. – Vol.9, №7. – P.857–879.

123 Paul W., Sharma C.P. Chitosan and Alginate Wound Dressings : A Short Review // Trends Biometerials Artif. Organs. – 2004. – Vol.18. – P.18–23.

124 Muzzarelli R.A., Mattioli-Belmonte M., Pugnaloni A., Biagini G. Biochemistry, histology and clinical uses of chitins and chitosans in wound healing. //

EXS. – 1999. – Vol.87. – P.251–264.

125 Ishihara M., Ono K., Sato M., Nakanishi K., Saito Y., Yura H., Matsui T., Hattori H., Fujita M., Kikuchi M., Kurita A. Acceleration of wound contraction and healing with a photocrosslinkable chitosan hydrogel // Wound Repair Regen. – 2001. – Vol.9. – P.513–521.

126 Obara K., Ishihara M., Ishizuka T., Fujita M., Ozeki Y., Maehara T., Saito Y., Yura H., Matsui T., Hattori H., Kikuchi M., Kurita A. Photocrosslinkable chitosan hydrogel containing fibroblast growth factor-2 stimulates wound healing in healing-impaired db/db mice // Biomaterials. – 2003. – Vol.24. – P.3437–3444.

127 Miguel S.P., Ribeiro M.P., Brancal H., Coutinho P., Correia I.J. Thermoresponsive chitosan – agarose hydrogel for skin regeneration // Carbohydr. Polym. – 2014. – Vol.111. – P.366–373.

128 Мочалова А.Е., Будруев А.В., Олейник А.В., Смирнова Л.А. Термо - и pH -чувствительные гидрогели на основе хитозана, полученные с использованием диазида терефталевой кислоты // Перспективные материалы. – 2009. –№ 5. – С. 61–65.

129 Mozalewska W., Czechowska-Biskup R., Olejnik A.K., Wach R.A., Ulański P. Chitosan-containing hydrogel wound dressings prepared by radiation technique // Radiation Physics and Chemistry. – 2017. – Vol. 134. – P. 1-7

130 Lok C.N., Ho C.M., Chen R., He Q.Y., Yu W.Y., Sun H., Tam P.K.H., Chiu J.F., Che C.M. Silver nanoparticles: Partial oxidation and antibacterial activities // J. Biol. Inorg. Chem. – 2007. – Vol.12, №4.– P.527–534.

131 Букина Ю. А. Сергеева Е. А., Получение антибактериальных текстильных материалов на основе наночастиц серебра посредством модификации поверхности текстиля неравновесной низкотемпературной плазмой, Вестник КТУ. – 2012. –№ 7. – С. 125–128.

132 Martínez-Castañón G.A., Niño-Martínez N., Martínez-Gutierrez F., Martínez-Mendoza J.R., Ruiz F. Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles with different sizes // J. Nanoparticle Res. – 2008. – Vol.10. – P.1343–1348.

133 Tyliszczak B., Drabczyk A., Kudłacik-Kramarczyk S., Bialik-Wąs K., Kijkowska R., Sobczak-Kupiec A. Preparation and cytotoxicity of chitosan-based hydrogels modified with silver nanoparticles // Colloids and Surfaces B Biointerfaces. – 2017. – Vol.160. – P.325–330.

134 Anisha B.S., Biswas R., Chennazhi K.P., Jayakumar R. Chitosan-hyaluronic acid/nano silver composite sponges for drug resistant bacteria infected diabetic wounds // Int. J. Biol. Macromol. – 2013. – Vol.62. – P.310–320.

135 Abbasipour M., Mirjalili M., Khajavi R., Majidi M.M. Coated cotton gauze with Ag/ZnO/chitosan nanocomposite as a modern wound dressing // J. Eng. Fiber. Fabr. – 2014. – Vol.9. – P.124–130.

136 Sámano-Valencia C., Martinez-Castanon G.A., Martínez-Martínez R.E., Loyola-Rodríguez J.P., Reyes-Macías J.F., Ortega-Zarzosa G., Niño-Martínez N. Bactericide efficiency of a combination of chitosan gel with silver nanoparticles // Mater. Lett. – 2013. – Vol.106. – P.413–416.

137 Sudheesh Kumar P.T., Lakshmanan V.K., Anilkumar T.V., Ramya C.,

Reshmi P., Unnikrishnan A.G., Nair S.V., Jayakumar R. Flexible and microporous chitosan hydrogel/nano ZnO composite bandages for wound dressing: In vitro and in vivo evaluation // ACS Appl. Mater. Interfaces. – 2012. – Vol.4. – P.2618–2629.

138 Arteche Pujana M., Pérez-Álvarez L., Cesteros Iturbe L.C., Katime I. Biodegradable chitosan nanogels crosslinked with genipin // Carbohydr. Polym. – 2013. – Vol.94. – P.836–842.

139 Wang L., Khor E., Wee A., Lim L.Y. Chitosan-alginate PEC membrane as a wound dressing: Assessment of incisional wound healing // J. Biomed. Mater. Res. – 2002. – Vol.63. – P.610–618.

140 El Salmawi K.M. Gamma radiation-induced crosslinked PVA/chitosan blends for wound dressing // J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem. – 2007. – Vol.44. – P.541–545.

141 Khorasani M.T., Joorabloo A., Moghaddam A., Shamsi H., MansooriMoghadam Z. Incorporation of ZnO nanoparticles into heparinised polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels for wound dressing application // Int. J. Biol. Macromol. – 2018. – Vol.114. – P.1203–1215.

142 Chen S.H., Tsao C.T., Chang C.H., Lai Y.T., Wu M.F., Chuang C.N., Chou H.C., Wang C.K., Hsieh K.H. Assessment of reinforced poly(ethylene glycol) chitosan hydrogels as dressings in a mouse skin wound defect model // Mater. Sci. Eng. C. – 2013. – Vol.33. – P.2584–2594.

143 Radhakumary C., Antonty M., Sreenivasan K. Drug loaded thermoresponsive and cytocompatible chitosan based hydrogel as a potential wound dressing // Carbohydr. Polym. – 2011. – Vol.83. – P.705–713.

144 Прокопчук Н. Р., Меламед В. Д., Прищепенко Д. В. Инновационные раневые покрытия с нановолокнами хитозана // Труды БГТУ. – 2017. –№ 1. – С. 15–22.

145 Zhao R., Li X., Sun B., Zhang Y., Zhang D., Tang Z., Chen X., Wang C. Electrospun chitosan/sericin composite nanofibers with antibacterial property as potential wound dressings // Int. J. Biol. Macromol. – 2014. – Vol.68. – P.92–97.

146 Майорова А.В., Сысуев Б.Б., Ханалиева И.А., Вихрова И.В. Современный ассортимент, свойства и перспективы совершенствования перевязочных средств для лечения ран // Фармация и фармакология – 2018. – Т. 6, –№ 1. – С. 4–32.

147 Akhtar M.F., Hanif M., Ranjha N.M. Methods of synthesis of hydrogels A review // Saudi Pharm. J. – 2016. – Vol.24. – P.554–559.

148 Hennink W.E., van Nostrum C.F. Novel crosslinking methods to design hydrogels // Adv. Drug Deliv. Rev. – 2012. – Vol.64. – P.223–236.

149 Mathur A.M., Moorjani S.K., Scranton A.B. Methods for synthesis of hydrogel networks: A review // J. Macromol. Sci., Part C: Polymer Reviews. – 1996. – Vol.36, №2. – P.405–430.

150 Reddy N., Reddy R., Jiang Q. Crosslinking biopolymers for biomedical applications // Trends Biotechnol. – 2015. – Vol.33. – P.362–369.

151 Joseph M., Mathew T., Devipriya S., Chen Y., Kuriakose S. Equilibrium swelling and solvation studies on crosslinked polyacrylamides // Polym. Int. – 2004. – Vol.53. – P.794–801.

152 Serafim A., Dragusin D.M., Zecheru T., Dubruel P., Petre D., Ciocan L.T., Vasile E., Stancu I.C. Gelatin hydrogels: Effect of ethylene oxide based synthetic crosslinking agents on the physico-chemical properties // Dig. J. Nanomater. Biostructures. – 2012. – Vol.8. – P.101–110.

153 Glasing J., Champagne P., Cunningham M.F. Graft modification of chitosan, cellulose and alginate using reversible deactivation radical polymerization (RDRP) // Curr. Opin. Green Sustain. Chem. – 2016. – Vol.2. – P.15–21.

154 Hu Y., Li Y., Xu F.J. Versatile Functionalization of Polysaccharides via Polymer Grafts: From Design to Biomedical Applications // Acc. Chem. Res. – 2017. – Vol.50. – P.281–292.

155 Wang M., Fang Y., Hu D. Preparation and properties of chitosan-poly (N-isopropylacrylamide) full-IPN hydrogels // Science. – 2001. – Vol.48. – P.215–221.

156 Kim A.R., Lee S.L., Park S.N. Properties and in vitro drug release of pH- and temperature-sensitive double cross-linked interpenetrating polymer network hydrogels based on hyaluronic acid/poly (N-isopropylacrylamide) for transdermal delivery of luteolin // Int. J. Biol. Macromol. – 2018. – Vol.118. – P.731–740.

157 Park K.R., Nho Y.C. Synthesis of PVA/PVP hydrogels having two-layer by radiation and their physical properties // Radiat. Phys. Chem. – 2003. – Vol.67, №3-4. – P.361–365.

158 Rosiak J.M., Ulański P., Pajewski L.A., Yoshii F., Makuuchi K. Radiation formation of hydrogels for biomedical purposes. Some remarks and comments // Radiat. Phys. Chem. – 1995. – Vol.46, №2. – P.161–168.

159 Kenawy E.R., Kamoun E.A., Mohy Eldin M.S., El-Meligy M.A. Physically crosslinked poly(vinyl alcohol)-hydroxyethyl starch blend hydrogel membranes: Synthesis and characterization for biomedical applications // Arab. J. Chem. – 2014. – Vol.7. – P.372–380.

160 Mun G.A., Nurkeeva Z.S., Koblanov S.M., V.V. Khutoryanskiy, Shaikhutdinov E.M. Radiation synthesis of polyampholyte hydrogels based on vinyl ether of monoethanolamine and sodium acrylate and their interactions with linear polyelectrolytes // Radiat. Phys. Chem. – 2004. – Vol.71. – P.1031–1037.

161 Al Khateb K., Ozhmukhametova E.K., Mussin M.N., Seilkhanov S.K., Rakhypbekov T.K., Lau W.M., Khutoryanskiy V.V. In situ gelling systems based on Pluronic F127/Pluronic F68 formulations for ocular drug delivery // Int. J. Pharm. – 2016. – Vol.502, № 1-2.– P.70–79.

162 Chmielewski A.G., Haji-Saeid M., Ahmed S. Progress in radiation processing of polymers // Nucl. Instruments Methods Phys. Res. B. – 2005. – Vol.236, №1-4. – P.44–54.

163 Bhattacharya A. Radiation and industrial polymers // Prog. Polym. Sci. – 2000. – Vol.25. – P.371–401.

164 Ajji Z., Othman I., Rosiak J.M. Production of hydrogel wound dressings using gamma radiation // Nucl. Instruments Methods Phys. Res. B. – 2005. – Vol.229. – P.375–380.

165 Singh B., Pal L. Radiation crosslinking polymerization of sterculia polysaccharide-PVA-PVP for making hydrogel wound dressings // Int. J. Biol. Macromol. – 2011. – Vol.48. – P.501–510.

166 Irmukhametova G.S., Mun G.A., Khutoryanskiy V.V. Thiolated mucoadhesive and PEGylated nonmucoadhesive organosilica nanoparticles from 3-mercaptopropyltrimethoxysilane // Langmuir. – 2011. – Vol.27. – P.9551–9556.

167 Owen D.H., Katz D.F. A vaginal fluid simulant // Contraception. – 1999. – Vol.59. – P.91–95.

168 Mali S., Grossmann M.V.E., García M.A., Martino M.N., Zaritzky N.E. Barrier, mechanical and optical properties of plasticized yam starch films // Carbohydr. Polym. – 2004. – Vol.56, №2. – P.129-135.

169 Sobral P.J.A., Menegalli F.C., Hubinger M.D., Roques M.A. Mechanical, water vapor barrier and thermal properties of gelatin based edible films // Food Hydrocoll. – 2001. – Vol.15. – P.423–432.

170 Preis M., Knop K., Breitkreutz J. Mechanical strength test for orodispersible and buccal films // Int. J. Pharm. – 2014. – Vol.461. – P.22–29.

171 Caló E., de Barros J.M.S., Fernández-Gutiérrez M., San Román J., Ballamy L., Khutoryanskiy V.V. Antimicrobial hydrogels based on autoclaved poly(vinyl alcohol) and poly(methyl vinyl ether-*alt* -maleic anhydride) mixtures for wound care applications // RSC Adv. – 2016. – Vol.6. – P.55211–55219.

172 Yang X., Zhu Z., Liu Q., Chen X., Ma M. Effects of PVA, agar contents, and irradiation doses on properties of PVA/ws-chitosan/glycerol hydrogels made by γ-irradiation followed by freeze-thawing // Radiat. Phys. Chem. – 2008. – Vol.77. – P.954–960.

173 Irmukhametova G.S., Shaikhutdinov E.M., Rakhmetullayeva R.K., Yermukhambetova B.B., Ishanova A.K., Temirkhanova G., Mun G.A. Nanostructured hydrogel dressings on base of crosslinked polyvinylpyrrolidone for biomedical application // Adv. Mater. Res. – 2014. – Vol.875–877. – P.1467–1471.

174 Патент 31605 РК. Гидрогелевая полимерная композиция на основе природного вещества /Темирханова Г.Е., М.Ж.К. Бурашева Г.Ш., Мун Г.А., Абилов Ж.А.; опубл. 30.09.2016, Бюл. № 12. – 4 с.

175 Патент 31128 РК. Способ получения ранозаживляющего, противовоспалительного геля с обезболивающим действием / Бурашева Г.Ш., Турмуханова М.Ж., Абилов Ж.А., Мурзагулова К.Б., Калугин С.Н., Мун Г.А., Темирханова Г.Е.; опубл.16.05.2016, Бюл. №5. – 4 с.

176 Al-assaf S., Coqueret X., Dahlan K.Z.H.M., Sen M., Ulanski P. Radiation chemistry of polysaccharides / Editor by Al-assaf S. – VIENNA: International Atomic Energy Agency, 2006. – 486 p.

177 Khampieng T., Brikshavana P., Supaphol P. Silver nanoparticle-embedded poly(vinyl pyrrolidone) hydrogel dressing: Gamma-ray synthesis and biological evaluation // J. Biomater. Sci. Polym. Ed. – 2014. – Vol.25. – P.826–842.

178 Kozicki M., Kołodziejczyk M., Szynkowska M., Pawlaczyk A., Lešniewska E., Matusiak A., Adamus A., Karolczak A. Hydrogels made from chitosan and silver nitrate // Carbohydr. Polym. – 2016. – Vol.140. – P.74–87.

179 Абилова Г.К., Ирмухаметова Г.С., Тумабаева А.М., Бексултанов Ж.И., Хуторянский В.В.. Гидрогелевые раневые повязки на основе хитозана, полученные радиационной технологией // Материалы 1-ой международ. конф. «Ядерные и радиационные технологии в медицине, промышленности и

сельском хозяйстве». – Алматы, 2019. – С.231–232.

180 Abilova G.K., Irmukhametova G.S., Beksultanov Zh., Khutoryanskiy V.V. Developing radiation technology for production of chitosan based hydrogel wound dressings // 14 Th Tihany Symp. Radiat. Chem. – Hungary, 2019. – P. P8

181 Weingarten M.S., Papazoglou E., Zubkov L., Zhu L., Vorona G., Walchack A. Measurement of optical properties to quantify healing of chronic diabetic wounds // Wound Repair Regen. – 2006. – Vol.14. – P.364–370.

182 Shimokawa N., Kumaki I., Takayama K. MafG-2 is a novel Maf protein that is expressed by stimulation of extracellular H+ // Cell. Signal. – 2001. – Vol.13. – P.835–839.

183 Фаттахов В.Л., Винник Ю.С., Теплякова О.В., Блескина А.В. Влияние кислотно-основного состояния среды на течение раневого процесса при сахарном диабете // Сибирское медицинское обозрение. – 2009. – Т. 60, № 6. – С 1-10

184 Kumaran D., Eswaramoorthy S., Furey W., Sax M., Swaminathan S. Structure of staphylococcal enterotoxin C2 at various pH levels // Acta Crystallogr. D: Biol. Crystallogr. – 2001. – Vol.57. – P.1270–1275.

185 Wilson I.A.I., Henry M., Quill R.D., Byrne P.J. The pH of varicose ulcer surfaces and its relationship to healing // Vasa - J. Vasc. Dis. – 1979. – Vol.8. – P.339–342.

186 Croisier F., Jérôme C. Chitosan-based biomaterials for tissue engineering // Eur. Polym. J. – 2013. – Vol.49, №4. – P.780–792.

187 Goy R.C., De Britto D., Assis O.B.G. A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan // Polimeros. – 2009. – Vol.19, №3. – P.241–247.

188 Raafat D., Von Bargen K., Haas A., Sahl H.G. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound // Appl. Environ. Microbiol. – 2008. – Vol.74. – P.3764–3773.

189 Абилова Г.К., Әбілкәрім Ә.М., Ирмухамбетова Г.С. Получение и характеристика пленок на основе хитозана с полиоксазолином // Материалы междунар. научно-практич. конф. «Современные тренды высшего образования и науки в области химической и биохимической инженерии». – Алматы, 2018. – С.124–125.

190 Tighsazzadeh M., Mitchell J.C., Boateng J.S. Development and evaluation of performance characteristics of timolol-loaded composite ocular films as potential delivery platforms for treatment of glaucoma // Int. J. Pharm. – 2019. – Vol.566. – P.111–125.

191 Абилова Г.К., Әбілкәрім Ә.М., Ирмухамбетова Г.С. Получение и характеристика термически сшитых пленок на основе хитозана и поли (2-этил-2-оксазолина) // Вестник КазНУ Им. Аль-Фараби. – 2019. №3. – С.20–27.

192 Luo K., Yin J., Khutoryanskaya O.V., Khutoryanskiy V.V., Mucoadhesive and elastic films based on blends of chitosan and hydroxyethylcellulose // Macromol. Biosci. – 2008. – Vol.8. – P.184–192.

193 Yin J., Luo K., Chen X., Khutoryanskiy V.V. Miscibility studies of the blends of chitosan with some cellulose ethers // Carbohydr. Polym. – 2006. – Vol.63. – P.238–244.

194 Bonilla J., Fortunati E., Atarés L., Chiralt A., Kenny J.M. Physical, structural and antimicrobial properties of poly vinyl alcohol-chitosan biodegradable films // Food Hydrocoll. – 2014. – Vol.35. – P.463–470.

195 Harish Prashanth K.V., Tharanathan R.N. Crosslinked chitosan - Preparation and characterization // Carbohydr. Res. – 2006. – Vol.341, – P.169–173.

196 Samanta H.S., Ray S.K. Controlled release of tinidazole and theophylline from chitosan based composite hydrogels // Carbohydr. Polym. – 2014. – Vol.106. – P.109–120.

197 Maity J., Ray S.K. Enhanced adsorption of methyl violet and congo red by using semi and full IPN of polymethacrylic acid and chitosan // Carbohydr. Polym. – 2014. – Vol.104. – P.8–16.

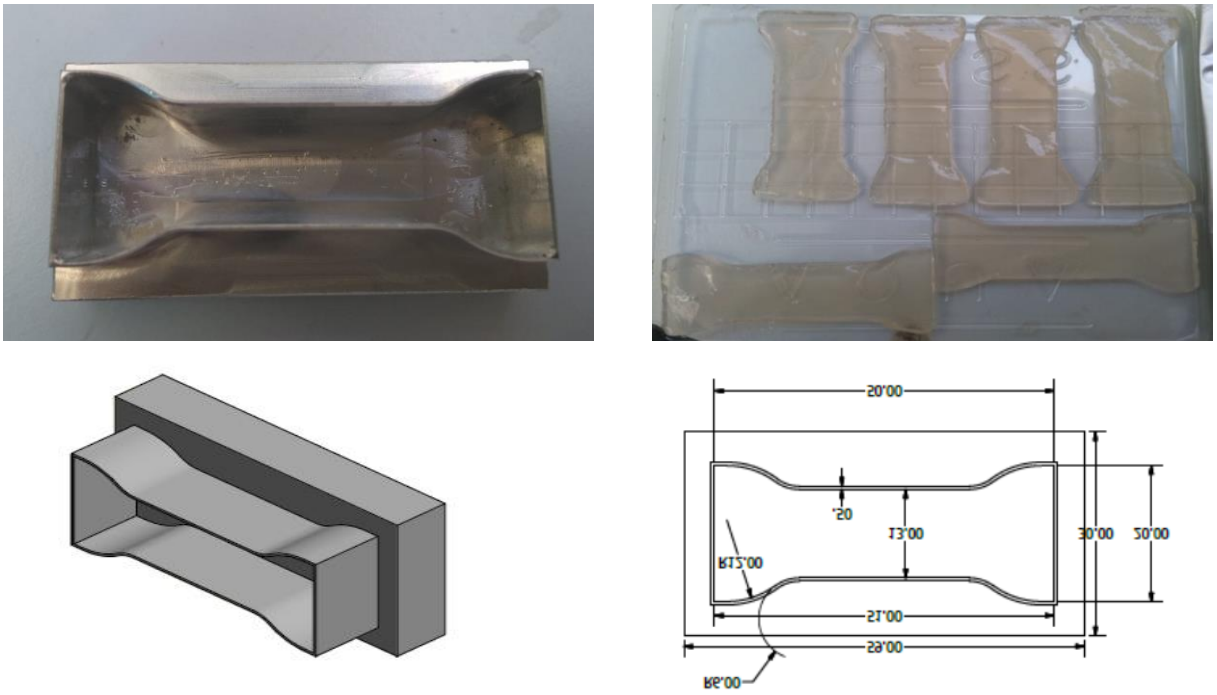
198 Kunakbayeva A., Abilova G., Irmukhametova G., Murzagulova K., Mun G. Development of hydrogel ointments based on carbopol with α-lipoic acid // Int. J. Biol. Chem. – 2017. – Vol.10. – P.69–77.

199 Siewert M., Dressman J., Brown C., Shah V., Aiache J.M., et. all. FIP/AAPS guidelines for dissolution/In vitro release testing of novel/special dosage forms // Dissolution Technol. – 2003. – Vol.4. – P.1–10.

200 Абилова Г.К., Әбілкәрім Ә.М., Ирмухамбетова Г.С. Сшитые пленки на основе хитозана и поли(2-этил-2-оксазолина) для буккальной доставки лекарств, Вестник КазНМУ. – 2019. №4. – С.431–435.

201 Mun E.A., Morrison P.W.J., Williams A.C., Khutoryanskiy V.V. On the barrier properties of the cornea: A microscopy study of the penetration of fluorescently labeled nanoparticles, polymers, and sodium fluorescein // Mol. Pharm. – 2014. – Vol.11. – P.3536–3564.

202 Viegas T.X., Bentley M.D., Harris J.M., Fang Z., Yoon K., Dizman B., Weimer R., Mero A., Pasut G., Veronese F.M. Polyoxazoline: Chemistry, properties, and applications in drug delivery // Bioconjug. Chem. – 2011. – Vol.22. – P.976–986.



А) Б)



В) Г)

Форма для вырезания образцов (А), подготовка образцов и размеры образца (Б), процесс испытания гидрогелей на универсальной разрывной машине «Texture Analyzer» (В), вид образца после разрыва (Г)

Рисунок А1 - Механические испытания гидрогелевых раневых повязок на основе хитозана

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

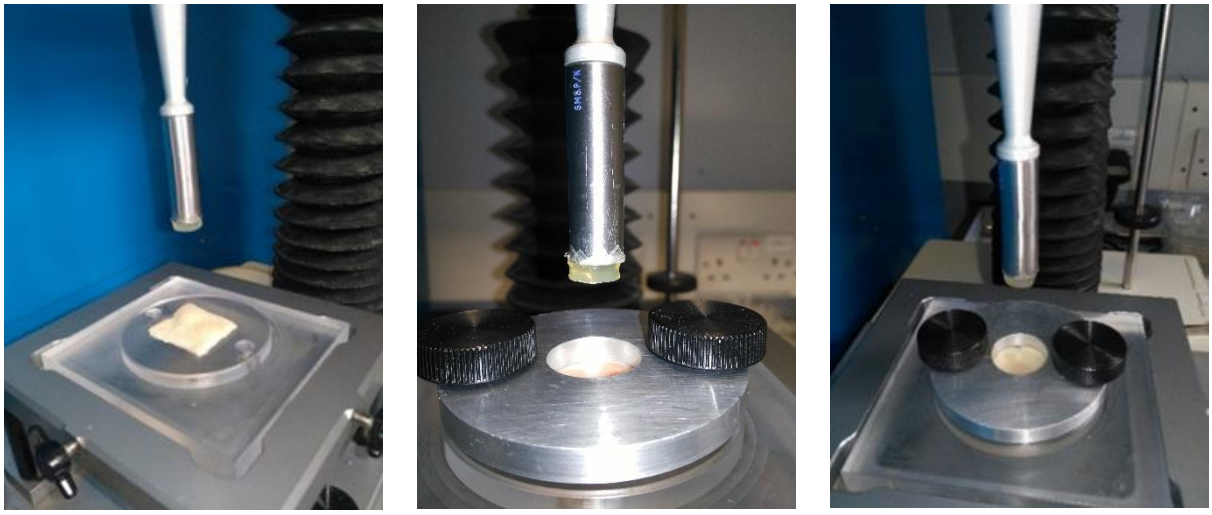


Рисунок Б1 – Определение адгезивных свойств гидрогелевых раневых повязок к свиной кожи

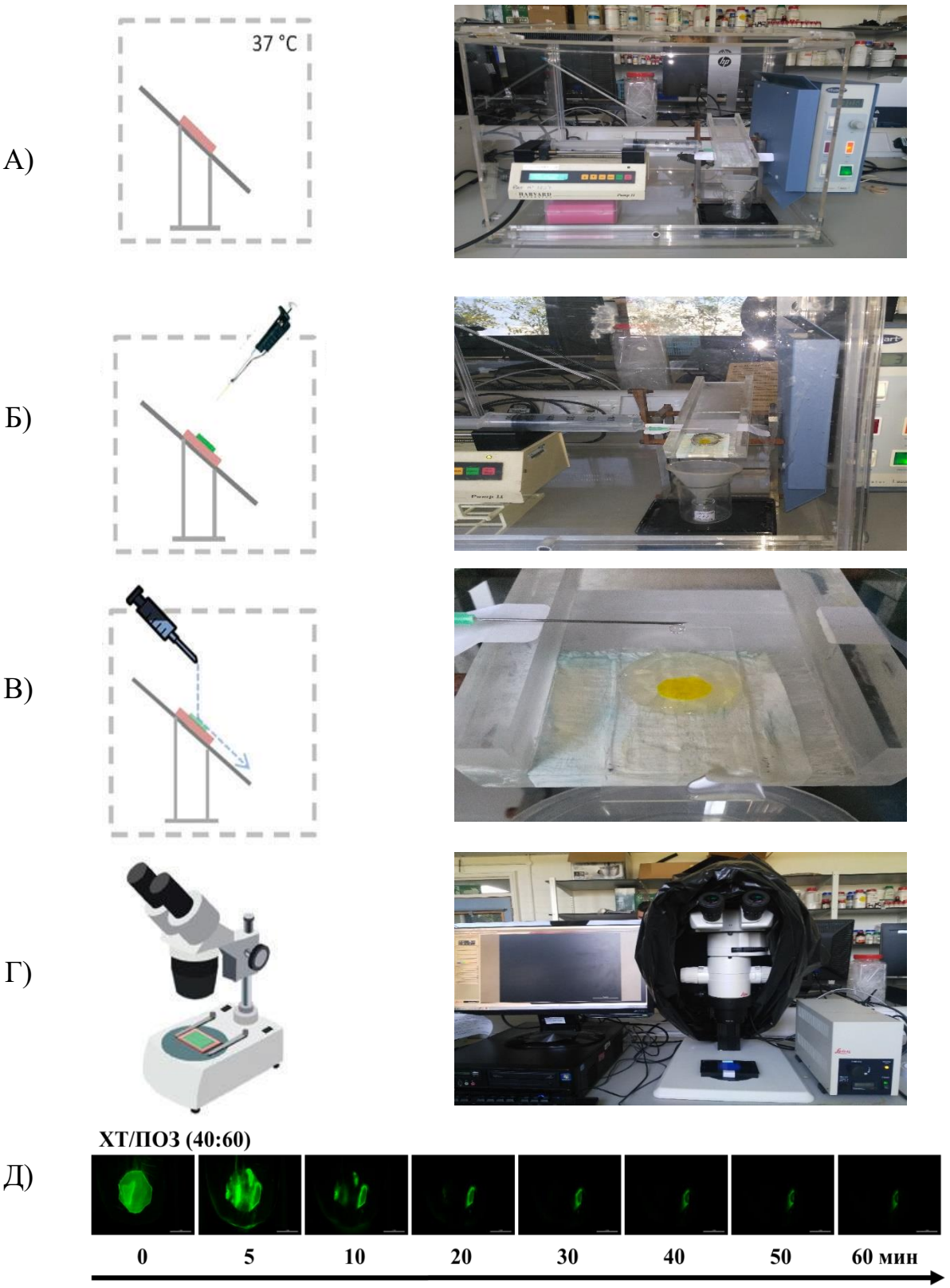


Рисунок В1 – Установка для определения времени удерживания полимерной пленки (А), нанесение полимерной пленки на бычью роговицу (Б), промывание поверхности бычьей роговицы шприцевым насосом (В) микроскопический анализ (Г), микрофотографии флуоресцентных пленок (Д).

АКТ ПО ИССЛЕДОВАНИЮ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ГИДРОГЕЛЕВЫХ ПОВЯЗОК

Исследование проводилось с 3 по 7 июня 2019 года на базе микробиологической лаборатории НТЦ РПИ РГП «ИЯФ» с целью проверки наличия антибактериальной активности гидрогелевых повязок, содержащих коллоидное серебро с хитозаном.

Исследование проводилось согласно внутренней инструкции ИСМ-КК-03-14.03-05-2019 «инструкция по исследованию бактерицидной активности гидрогелевой повязки, содержащей коллоиды серебра», которая составлена на основе Методических указаний МУК 4.2.19.1890-04 "Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам". Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2004, Том 6, №4.

Исследуемые образцы:

1. Повязка базовая (7% ПВП, 1,5% ПЭГ, 0,5% агара)
2. Повязка с ионами серебра (50 ppm)
3. Повязка с хитозаном 1,25% и ионами серебра (50ppm).
4. Повязка с хитозаном 1,25%

В качестве тест-штамма использовалась стандартная типовая культура микроорганизмов III-IV группы патогенности - Staphylococcus aureus – ATCC 6538.

Учет результатов проводился путем визуальной оценки наличия роста тест-штамма в опытных пробах в сопоставлении с ростом тест-штамма в положительном контроле (питательная среда с тест-штаммом без препарата). Отрицательный контроль (питательная среда без тест-штамма, контроль стерильности питательной среды), а также контроль стерильности препаратов (питательная среда без тест-штамма, но с добавлением препарата). Зона подавления роста измерялась с точностью до 1 мм.

Результат исследования бактерицидной активности на Staphylococcus aureus:

1. Повязка базовая - зона угнетения отсутствует;
2. Повязка с ионами серебра (50 ppm) зона угнетения не превышает 15 мм.
3. Повязка с хитозаном 1,25% и ионами серебра (50 ppm) зона угнетения не превышает 30 мм
4. Повязка с хитозаном 1,25% – зона угнетения отсутствует.

Руководитель
группы контроля качества Банных В.И.

Начальник НПЦ РТ Бексултанов Ж.И..

1

АО «Научный центр противоинфекционных препаратов» Министерство индустрии и инфраструктурного развития РК
050060, Алматы, пр. аль-Фараби 75А, (727) 266 52 29; 266 38 77, факс (727) 245 54 71

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПЛЕНОК ХТ и ХТ/ПОЗ № 27
от 13 мая 20 19 г.

Основание для выполнения работ: акт приема-передачи образцов на исследование № 14 от 29.04.2019г.

Объекты исследования:

- пленка на основе хитозана (100:0);
- пленка на основе хитозана (100:0) с 0,1 % ципрофлоксацина;
- пленка на основе хитозана и поли-2(этил-2оксазолин) (80:20);
- пленка на основе хитозана и поли-2(этил-2оксазолин) (80:20) с 0,1 % ципрофлоксацина;
- пленка на основе хитозана и поли-2(этил-2оксазолин) (60:40);
- пленка на основе хитозана и поли-2(этил-2оксазолин) (60:40) с 0,1 % ципрофлоксацина;
- пленка на основе хитозана и поли-2(этил-2оксазолин) (40:60);
- пленка на основе хитозана и поли-2(этил-2оксазолин) (40:60) 0,1 % ципрофлоксацина;

В качестве положительного контроля использовали коммерческий диск с антибиотиком ципрофлоксацин (Himedia).

Документация, регламентирующая исследования:
Определение антимикробной активности осуществляли диско-диффузионным методом, согласно *Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Test*, CLSI Vol. 30 No1, Jan 2010.

Результаты исследования:

Образец	Химический состав	Диаметр зоны подавления роста, мм	
		***Staphylococcus aureus* АТСС 6538-р**	***Escherichia coli* АТСС 8739**
Пленки ХТ и ХТ/ПОЗ			
A	ХТ (100)	0	0
B	ХТ/ПОЗ (80:20)	0	17,3±2,1
C	ХТ/ПОЗ (60:40)	0	13,3±2,1
D	ХТ/ПОЗ (40:60)	0	21,0±2,0
Лекарственно-наружнные пленки ХТ и ХТ/ПОЗ (ЦФ – 0,1 % w/v)			
A1	ХТ (100)	38,6±1,3	39,5±1,9
B1	ХТ/ПОЗ (80:20)	36,0±1,9	40,1±2,6
C1	ХТ/ПОЗ (60:40)	38,6±1,6	42,5±2,2
D1	ХТ/ПОЗ (40:60)	46,1±1,7	39,3±2,3
Контроль	диск с ципрофлоксацином	31,2±0,4	35,1±1,2

с.н.с. лаборатории микробиологии Ж.А. Искакбаева

и.о. заведующего лабораторией микробиологии А.Б. Джумагазиева

Страница 1 из 1