

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского (Первый казачий университет)»

(ФГБОУ ВО «МГУТУ им. К.Г.Разумовского (ПКУ)»)

На правах рукописи



Быркина Татьяна Сергеевна

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕЧЕБНОЙ
ГИДРОГЕЛЕВОЙ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С
УВЕЛИЧЕННЫМ СРОКОМ ГОДНОСТИ**

Специальность 05.17.06 – Технология и переработка
полимеров и композитов

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
доктор технических наук, профессор
Олтаржевская Н.Д.

Москва – 2018

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	6
1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	14
1.1. Медицинские изделия на биополимерной основе и области их применения	14
1.1.1. Требования к биополимерам, используемым при производстве медицинских изделий	16
1.1.2. Классификация биополимеров и ресурсы для их получения	18
1.2. Полисахариды природного происхождения, используемые при создании медицинских изделий	22
1.2.1. Использование альгината натрия и гиалуроната натрия при получении медицинских изделий	23
1.2.2. Технология получения гидрогелевых медицинских изделий на основе альгината натрия	30
1.3. Стерилизация медицинских изделий	35
1.3.1. Основные способы стерилизации медицинских изделий	36
1.3.2. Радиационная стерилизация медицинских изделий	39
1.3.2.1. Особенности технологии получения медицинских изделий, влияющие на эффективность их радиационной стерилизации	42
1.3.2.2. Выбор стерилизующей дозы	44
1.3.2.3. Радиолиз биополимеров, способы снижения или предотвращения радиолиза	47
1.4. Срок годности медицинского изделия как показатель, характеризующий его качество	53
1.4.1. Факторы, приводящие к уменьшению срока годности медицинских изделий	54
1.4.1.1. Физические и химические причины ухудшения качества медицинских изделий	55
1.4.1.2. Микробиологические факторы, снижающие качество медицинских изделий, и способы предотвращения их негативного влияния	56
1.4.2. Классификация микроорганизмов в зависимости от условий среды	57
1.4.3. Применение консервантов как способ борьбы с микробиологической порчей продукции	60
2.МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	66
2.1. Объекты исследования	66
2.1.2. Реактивы, используемые при приготовлении питательных сред и вспомогательных растворов	73

2.2.	Методики приготовления гидрогелевых композиций	75
2.2.1.	Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия	75
2.2.2.	Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином	76
2.2.3.	Методика приготовления гидрогелевых композиций на основе различных полимеров	76
2.2.3.1.	Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе поливинилового спирта	77
2.2.4.	Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином с дополнительным введением поливинилового спирта	77
2.2.5.	Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с дополнительным введением гиалуроната натрия.	78
2.2.6.	Методика приготовления гидрогелевых композиций на основе альгината натрия со стабилизирующими добавками	79
2.2.7.	Методика приготовления геля-концентрата с наночастицами серебра	81
2.3.	Методы исследования	81
2.3.1.	Методика определения реологических характеристик гидрогелевых композиций	81
2.3.2.	Методика спектрофотометрических определений	82
2.3.2.1.	Методика определения скорости и степени высвобождения лекарственного вещества из гидрогелевой композиции во внешнюю среду	83
2.3.3.	Микробиологические исследования	84
2.3.3.1.	Методики отбора и подготовка проб исследуемых образцов гидрогелевых композиций и сырья при определении микробной обсемененности	84
2.3.3.2.	Методика количественного определения бактерий и грибов	85
2.3.4.	Микроскопические исследования	87
2.3.4.1.	Методика приготовления препарата для микроскопирования	88
2.3.5.	Методика проверки образцов по показателю «стерильность».....	88
2.3.6.	Методика сравнения антимикробной активности стабилизирующих добавок диско-диффузионным методом	89
2.4.	Методика определения высыхаемости гидрогелевых композиций ..	90
2.5.	Методика определения адгезивности гидрогелевых композиций ...	90

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	92
3.1. Влияние дозы и типа стерилизующей установки при радиационном облучении на реологические свойства гидрогелевой композиции ..	93
3.2. Разработка способов снижения общей микробной обсемененности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия до стадии финишной стерилизации	95
3.2.1. Оценка эффективности физических способов уменьшения общей микробной обсемененности гидрогелевой композиции до финишной стерилизации	99
3.2.2. Введение полимерных добавок в композицию на основе альгината натрия с целью снижения ее обсемененности.....	109
3.2.2. Оценка реологических характеристик композиций на основе различных полимеров	109
3.2.3. Изучение целесообразности введения поливинилового спирта в лечебную гидрогелевую композицию на основе альгината натрия ..	111
3.3. Изучение влияния лекарственного вещества на микробную обсемененность гидрогелевой композиции на основе альгината натрия	118
3.4. Изучение влияния введения стабилизирующих добавок в состав гидрогелевой композиции на основе альгината натрия на ее реологические и микробиологические параметры	120
3.4.1. Использование «зеленых» стабилизаторов для альгинатных гидрогелевых композиций	121
3.4.2. Изучение возможности стабилизации вязкости альгинатных гидрогелевых композиций после стерилизации с помощью ионной сшивки	127
3.5. Выбор стабилизирующих синтетических добавок и оценка их влияния на микробиологические характеристики гидрогелевой композиции на основе альгината натрия	131
3.6. Изучение влияния режима стерилизации на вязкостные характеристики гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с синтетическими консервирующими добавками	134
3.6.1. Оценка динамической вязкости гидрогелевых композиций с синтетическими консервирующими добавками до финишной стерилизации	134
3.6.2. Оценка влияния различных стерилизующих доз на вязкость альгинатной гидрогелевой композиции со стабилизирующими добавками и без	136

3.7.	Использование метода «ускоренного старения» при прогнозировании срока годности лечебной гидрогелевой композиции	141
3.7.1.	Разработка методики «ускоренного старения» гидрогелевых композиций. Выбор анализируемых технологических параметров, критических при «старении».....	141
3.7.2.	Выбор математической модели для расчета срока годности гидрогелевых композиций	149
3.7.3.	Описание роста микроорганизмов в гидрогелевой композиции с помощью модели Бараньи-Робертса	152
3.7.3.1.	Создание скорректированной модели роста микроорганизмов, учитывающей истощение ресурсов для их развития	155
3.7.4.	Математическое моделирование процесса изменения вязкости композиций в течение хранения после радиационной стерилизации..	158
3.8.	Сравнительный анализ влияния феноксиэтанола в различных концентрациях на изменение вязкости гидрогелевой композиции после радиационной стерилизации.....	164
3.9.	Влияние различных спиртов на реологические свойства высоковязкой гидрогелевой композиции после радиационной стерилизации	166
3.10.	Исследование вязкости композиций, используемых для урологического применения	173
	ВЫВОДЫ	181
	Список сокращений и условных обозначений	184
	Список литературы	185
	ПРИЛОЖЕНИЯ	198
	Приложение А. Изложение вспомогательных методик проведения экспериментов	198
	Приложение Б. Экспериментальные данные для расчета срока годности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия....	203
	Приложение В. Токсикологические заключения (справочное)	209
	Приложение Г. Изменения в технической документации	211

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Создание изделий медицинского назначения, в том числе на полимерной основе, является сегодня одним из основных направлений в развитии отечественной фармацевтической и химической промышленности, поскольку в основе использования этих материалов – возможность помочь больным людям, облегчить их страдания, а все, что связано со здоровьем людей и улучшением качества жизни, является основополагающим в развитии нашего общества, прерогативой в действиях правительства Российской Федерации.

Увеличение объемов выпуска медицинских изделий на биополимерной основе, появление новых производителей усиливает государственный контроль в данной области и выдвигает новые требования к показателям качества, технологическим характеристикам и методам контроля качества выпускаемых изделий.

Один из способов повышения конкурентной способности разрабатываемой продукции на рынке заключается в продлении ее срока годности и упрощении режимов хранения. Такими материалами с надежностью можно обеспечивать военно-полевые госпитали, укомплектовывать аптечки для чрезвычайных ситуаций – то есть в тех областях применения, где условия для хранения медицинских изделий и лекарственных средств имеют определенные ограничения.

Кроме того, учитывая географические размеры нашей страны, разные погодные условия на ее территории, возможность усложнения доставки лечебных материалов в аптеки, медицинские учреждения и в разные труднодоступные отдаленные пункты, проблема увеличения срока годности и оптимизации условий хранения становится очень актуальной.

Разработанные и выпускаемые в России гидрогелевые материалы на основе альгината натрия торговой марки «Колегель» имеют, несмотря на высокую эффективность применения (в онкологии, урологии, гинекологии, проктологии и

т.д.), недостаточный с точки зрения потребителей срок годности, а именно 1 год. Поэтому разработка лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с увеличенным сроком годности для применения в различных областях медицины является очень актуальной задачей.

Работа выполнена в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» в соответствии с Приоритетным направлением развития «Медицинская техника и фармацевтика» и критическими технологиями «Биомедицинские и ветеринарные технологии», а также в рамках государственного контракта № 14.N08.11.0140 и в рамках гранта РФФИ № 15-29-04847 офи_м.

Степень разработанности

При решении задачи создания лечебных гидрогелевых материалов со сроком годности не менее 2 лет необходимо рассматривать в единстве два вопроса: сохранение их физико-химических характеристик во время процесса производства и эксплуатации и сохранение специфического для данного вида изделий свойства – стерильности.

Поскольку данная исследовательская работа касалась оптимизации технологии получения лечебных гидрогелевых материалов одновременно и с точки зрения уменьшения микробной обсемененности гидрогелевой лечебной композиции до стерилизации, и с позиции предотвращения ее деструкции в ходе стерилизации, а также стабилизации данных параметров на протяжении желаемого срока годности (не менее 2 лет), то возникла необходимость поиска литературных сведений об используемых в настоящий момент способах стабилизации и препаратах-стабилизаторах подобных лечебных материалов, обеспечивающих эти требования.

В литературных источниках последних лет имеется достаточная информация о специальных добавках, предотвращающих или замедляющих рост микробной обсемененности продукции на полимерной основе, немало внимания

также уделяется и вопросу деструкции различных полимеров в ходе радиационной обработки (а именно этим способом ведется стерилизация гидрогелей), однако в недостаточной степени научно разработаны вопросы, касающиеся особенностей построения технологического процесса и выбора добавок, стабилизирующих динамическую вязкость после радиационной стерилизации и обеспечивающих стерильность в процессе хранения, чем и обосновывался, с учетом цели диссертационного исследования, выбор литературных источников для анализа.

Цели и задачи

Цель работы заключалась в научно обоснованном выборе способа стабилизации лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия, обеспечивающего сохранение её свойств в течение рекомендованного для подобных медицинских изделий срока годности – не менее 2 лет.

В соответствии с поставленной целью необходимо было решить следующие задачи:

1. Изучить технологию получения гидрогелевых медицинских изделий «Колегель» и выявить «критические точки» производства, которые предположительно могут отрицательно влиять на качество конечной продукции и срок годности выпускаемых гидрогелевых изделий.
2. Определить пути воздействия на «критические» технологические стадии с целью уменьшения их отрицательного влияния на срок годности и качество продукции.
3. Провести анализ литературных данных, посвященных возможным способам увеличения срока годности медицинских изделий на биополимерной гидрогелевой основе, и экспериментально оценить целесообразность и возможность применения предлагаемых способов воздействия.
4. Разработать методику, с помощью которой возможно достоверно и ускоренно оценивать влияние изменения состава и технологии получения лечебной гидрогелевой композиции на ее срок годности, а также определить

технологические параметры, по которым будет оцениваться качество гидрогелевой композиции.

5. Определить состав и технологию получения гидрогелевой композиции на основе альгината натрия, стабильной в течение срока годности не менее 2 лет.

6. Оценить качество созданной лечебной композиции с точки зрения ее технологичности и токсикологической безопасности применения.

Научная новизна

1. Показано, что деструкция альгината натрия, приводящая к снижению срока годности биополимерной лечебной композиции, связана с двумя процессами технологического цикла производства медицинских изделий – действием микроорганизмов (биodeградацией) на стадии изготовления и хранения до стерилизации и радиолизом при стерилизации.

2. На основании скрининга консервирующих добавок (соединений) научно обосновано и экспериментально подтверждено использование сорбата калия и феноксиэтанола в качестве стабилизаторов композиции на основе альгината натрия, позволяющих одновременно достичь ингибирования роста и развития микроорганизмов в гидрогелевой композиции до финишной радиационной стерилизации и сохранения необходимой вязкости после ее финишной радиационной стерилизации.

3. Предложены математические модели, описывающие биodeградацию композиции, вызванную микроорганизмами, при ее получении и хранении до финишной стерилизации и снижение ее вязкости в результате деструкции альгината натрия (основа гидрогелевой композиции) при радиационной стерилизации.

4. Разработана методика ускоренного старения гидрогелевых композиций на основе альгината натрия, основанная на анализе изменения микробной обсемененности нестерильной и вязкости стерильной композиции в

процессе хранения при повышенной температуре, позволяющая сократить время определения срока годности получаемого медицинского изделия.

5. Посредством моделирования процесса старения лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия обоснованы технология получения и состав, обеспечивающие ее максимальный срок годности (2 года): введение 0,25% сорбата калия в низковязкую гидрогелевую композицию и введение 1,00% феноксиэтанола в высоковязкую альгинатную гидрогелевую композицию.

Теоретическая и практическая значимость

Предложено и экспериментально апробировано математическое описание (модель) процесса старения гидрогелевой композиции из альгината натрия, на основании которого разработана методика, позволяющая в короткие сроки определять влияние вводимых в композицию добавок на ее свойства и ускоренно определять гарантийный срок годности лечебных материалов. Разработан способ увеличения срока годности медицинских гидрогелевых материалов на основе альгината натрия и предложены компоненты композиции, одновременно стабилизирующие ее вязкостные характеристики и обеспечивающие ее стерильность на протяжении 2 лет хранения, что соответствует поставленной в диссертации цели. Разработана технология получения гидрогелевого материала со сроком хранения 2 года, проведены успешные токсикологические испытания лечебных материалов и внесены соответствующие изменения в техническую документацию, регламентирующую их производство и реализацию.

Методология и методы исследования

Методологической основой исследования являлись общенаучные и специальные методы в области химической технологии полимерных материалов и анализа технологических и биологических характеристик материалов, используемые при создании лечебных материалов для применения в медицине. Использовались такие методы исследования, как вискозиметрия,

спектрофотометрический анализ, микробиологический анализ, стандартные и специально разработанные методики испытаний. Реологические свойства гидрогелевых композиций определяли с использованием ротационного вискозиметра Brookfield DV-II+PRO с программным обеспечением и «РЕОТЕСТ–2». Спектрофотометрический анализ проводили на спектрофотометре «СФ-102», рН среды определяли с использованием рН-метра «рН-150МИ». Температура хранения гидрогелевых материалов поддерживалась на необходимом уровне с помощью климатической камеры СМ-30/100-80ВХ. Микробиологические исследования проводились по стандартным методикам, при этом использовались следующие вспомогательные материалы: тест-подложки «Compact Dry» с нанесенной питательной средой, питательные среды производства ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии». Стерилизацию полученных лечебных гидрогелевых материалов в промышленных условиях проводили методом электронно-лучевой обработки на электронном ускорителе ЭУ-003 в ОАО «НИИТФА». Токсикологические испытания материалов проводили в Испытательной лаборатории медицинских изделий ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России.

Положения, выносимые на защиту

1. Научно обоснован и разработан способ получения лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия, обеспечивающий требуемую вязкость после ее радиационной стерилизации и сохраняющий ее стерильность в течение срока годности 2 года.
2. Установлено влияние стабилизирующих добавок, допустимых для введения в лечебный материал, на микробную обсемененность альгинатных гидрогелевых композиций до радиационной стерилизации и на их реологические характеристики и стерильность после радиационной стерилизации; показано, что наиболее эффективными являются феноксиэтанол и сорбат калия.
3. Разработана ускоренная методика определения срока годности лечебных гидрогелевых композиций, одним из основных показателей качества которых

является общее микробное число (обсемененность) и стерильность, заключающаяся в возможности осуществлять их «ускоренное старение» при температуре $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов исследования подтверждена использованием современных методик исследования, сертифицированного оборудования, воспроизводимостью результатов, апробацией в производственных условиях. Материалы работы доложены на Всероссийских и международных научных конференциях: VIII Международная научная конференция «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация как форма самоорганизации вещества», г. Иваново; международная научно-техническая конференция «Инновационные технологии развития текстильной и легкой промышленности», г. Москва; XII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Отечественные противоопухолевые препараты», г. Москва; XIX Международный научно-практический форум «Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX-2016)», г. Иваново; международная научная конференция и XII Всероссийской студенческой олимпиады молодых ученых «Наноструктурные, волокнистые и композиционные материалы» г. Санкт-Петербург. Опубликовано 9 научных работ, в том числе 5 научных статьи в рецензируемых журналах из Перечня ВАК. Подана 1 заявка на изобретение (№ 2017127010).

Структура и объем работы

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, методической части, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы.

Во введении обоснована актуальность решаемых в работе задач, сформулирована степень разработанности рассматриваемой проблемы, положения, выносимые на защиту. Изложена научная новизна, показаны

теоретическая и практическая значимость работы. Приведены сведения о степени достоверности результатов и апробации работы.

В первой главе представлен анализ литературных данных о способах влияния на срок годности лечебных биополимерных материалов, о стабилизирующих добавках.

Вторая глава посвящена описанию основных характеристик объектов исследования, технологий получения исследуемых композиций, методов исследования, используемых в работе, методик испытаний, разработанных, в том числе с участием автора.

В третьей главе изложены результаты экспериментальной работы, в том числе и результаты определения срока годности гидрогелевых композиций со стабилизаторами, полученные с помощью методики «ускоренного старения».

В заключении подводятся итоги проведенных исследований.

Материалы диссертационной работы изложены на 183 страницах машинописного текста, включает 52 рисунка, 33 таблицы, список литературы из 147 наименований и приложений. Общий объем диссертации - 212 страниц.

1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

1.1. Медицинские изделия на биополимерной основе и области их применения

Создание медицинских изделий, в том числе на полимерной основе, является сегодня одним из основных направлений в развитии как мировой, так и отечественной фармацевтической и химической промышленности. Особое место в этой индустрии занимают разработка и выпуск лечебных материалов (перевязочных средств, раневых покрытий, эндопротезов и шовных нитей для хирургии, искусственных тканей и органов для трансплантологии, материалов для стоматологии, матриксов для тканевой инженерии и пролонгированных лекарственных форм в фармацевтике и т.д.) на основе биodeградируемых полимеров (биополимеров).

Биополимеры отличаются от искусственных и синтетических полимеров возможностью разложения на низкомолекулярные соединения, участвующие в обмене веществ микроорганизмов, находящихся в почве, воде, воздухе, путем химического, физического или биологического воздействия. Биоразлагаемость таких материалов позволяет решить проблему отходов и загрязнения окружающей среды, что характерно для не разлагаемых синтетических полимеров, таких как полипропилен, полиэтилен, поливинилхлорид и т.д. [1,2].

Существуют различные формулировки термина «биоразлагаемый». Например, по мнению [1], это понятие означает, что материал «способен подвергаться разложению на углекислый газ, метан, воду, неорганические компаунды или биомассы, при котором преобладающим механизмом является энзимное действие микроорганизмов».

Возможны и другие терминологические варианты объяснения понятия «биоразлагаемость», к примеру: полная биodeградация материала, ведущая к общей его минерализации с образованием диоксида углерода (в аэробных условиях) или метана (в анаэробных условиях), а также воды, минеральных солей и новой биомассы (новых микробиологически образованных клеточных компонентов) [3].

Таким образом, во всех формулировках говорится о разложении биоматериалов в относительно короткий срок на простые составляющие, которые не приносят вред окружающей среде, что делает их применение высоко экологичным. Кроме того, ввиду очень ценных свойств биополимеров (биосовместимость с тканями организма человека, выраженная регенирирующая способность, хорошая сорбционная активность и т.д.) они становятся самыми перспективными материалами для создания медицинских изделий нового поколения.

Данная исследовательская работа посвящена разработке технологии получения лечебной гидрогелевой композиции на основе биополимера природного происхождения - альгината натрия - для различных областей применения в медицине (хирургия, травматология, онкология, урология и др.), причем создаваемая технология должна обеспечивать сохранение стабильности медицинского изделия, в основе которого биополимерный гидрогелевый материал в течение требуемого соответствующими нормативными документами для подобных изделий срока годности – не менее 2 лет.

В качестве базовой нами была принята технология получения стерильного лечебного гидрогелевого материала «Колегель», заключающаяся в иммобилизации лекарственных или биологически активных веществ в гидрогели на основе природных биополимеров, имеющие различные реологические (вязкостные) свойства, с последующей стерилизацией продукта. Это медицинское изделие (гидрогелевый материал «Колегель») получило сегодня широкое применение в медицинской практике, в зависимости от инкорпорированного лекарства его используют в онкологии, хирургии, гинекологии, оториноларингологии и т.д. Однако, при очевидной терапевтической эффективности медицинское изделие «Колегель» имеет существенный недостаток – небольшой срок годности, что значительно осложняет его применение и маркетинговую (экономическую) привлекательность. В нашей работе мы предполагаем, проанализировав причины, влияющие на срок годности,

научно обосновать способы оптимизации технологии получения лечебных гидрогелей на основе биополимеров, обеспечив их качество и высокую эффективность воздействия в течение требуемого нормативными документами срока годности (2 года) [4].

В этой связи в литературном обзоре будут рассмотрены основные аспекты применения биополимеров при производстве медицинских изделий (строение и свойства, технология получения лечебных материалов, основные способы стерилизации, известные из литературы и практики способы повышения стабильности лечебных свойств медицинских изделий в течение всего срока их хранения и др.) для того, чтобы подойти к научному обоснованию способа стабилизации свойств лечебного гидрогелевого материала на биополимерной основе в течение увеличенного срока годности, а также оптимальному технологическому решению этой задачи.

1.1.1. Требования к биополимерам, используемым при производстве медицинских изделий

Основными достоинствами биополимеров являются биосовместимость (неотторжение организмом изделий из биополимеров при использовании в медицине) и экологичность (быстрое и нетоксичное разложение изделий из биополимеров в окружающей среде).

Кроме того многие биополимеры обладают собственной высокой биологической активностью. Так соли альгиновой кислоты широко применяются при производстве раневых покрытий, поскольку наряду с гемостатической способностью (образование первичного тромба с помощью карбоксильных групп) обладают также хорошим регенерирующим действием [5]. Коллаген, используемый при изготовлении различных кровоостанавливающих губок и покрытий, имея большое сродство к тканям организма человека, способствует быстрому заживлению ран различной степени тяжести [6,7]. В медицинской практике также достаточно успешно применяется полисахарид хитозан в виде пленок, губок, гидрогелей для доставки лекарственных веществ к очагу

поражения, тканевых адгезивов [8-10] и гиалуронат натрия, лечебные гидрогелевые материалы на основе которого стимулируют образование новых капилляров, улучшают местную циркуляцию крови и снабжение тканей кислородом [11]. Поэтому биоразлагаемые полимеры очень перспективны для использования в медицине (хирургические и одноразовые материалы)[12,13] и фармакологии (пролонгация действия лекарственных веществ)[14,15].

Требования, которые предъявляются к биополимерам при их использовании для получения различных медицинских изделий, определяются областью применения создаваемых материалов в медицине. Так, для получения имплантатов костной ткани полимер помимо биосовместимости должен обладать определенными химическими свойствами, механическими характеристиками (прочность, стойкость к образованию трещин, износостойкость, сопротивление замедленному разрушению), биологическими свойствами (отсутствие реакций со стороны иммунной системы, стимулирование остеогенеза) [16].

При создании имплантатов для сердечно-сосудистой системы, контактирующих с кровью (эндопротезы сосудов, клапанов сердца, системы вспомогательного кровообращения и т.д.), используют материалы, обладающие высоким уровнем гемосовместимости. Эти материалы не должны вызывать разрушение и денатурацию молекулярных и клеточных компонентов крови, не должны влиять на водно-солевой баланс и рН крови, а также не должны вызывать образование тромба [17].

Биополимеры для изготовления покрытий для лечения ран и ожогов должны обеспечивать следующие свойства данных лечебных материалов: обеспечивать обезболивающий эффект, создавать в ране оптимальную среду для заживления, обладать высокой абсорбционной способностью, предотвращать проникновение микроорганизмов в раневую среду, иметь достаточную проницаемость для газов, быть эластичным с возможностью моделироваться на сложном рельефе, не обладать пирогенным, антигенным токсическим действием,

быть носителем лекарственных веществ, легко удаляться с раневой поверхности и кожи, не травмируя ее [18].

Кроме специфичных требований к биополимерам в зависимости от сферы их применения необходимо отметить общие для всех важные критерии:

- биополимеры для изготовления медицинских изделий не должны вступать в нежелательные химических реакции с тканями и межтканевыми жидкостями [17];

- должны быть подвержены стерилизации и сохранять после нее свои свойства[19].

Учитывая выдвигаемые требования к биополимерам для изготовления медицинских изделий, в данном литературном обзоре особое внимание будет обращено на особенности технологии получения лечебных материалов на биополимерной основе, а именно на способы стерилизации, которые в наименьшей степени деструктурируют биополимерную основу медицинских изделий, а также на рассмотрение и анализ научных подходов и известных способов, приводящих к уменьшению микробной обсемененности природного полимерного сырья до финишной стерилизации с целью повышения эффективности стерилизации, отчего в конечном итоге зависит качество получаемой продукции, что наиболее значимо в рассматриваемом случае.

1.1.2. Классификация биополимеров и ресурсы для их получения

Существует различные классификации биополимеров, но в данном литературном обзоре мы остановимся только на двух : в зависимости от вида деструкции и в зависимости от источника получения (метода синтеза) полимера.

В зависимости от вида деструкции выделяются следующие группы биополимеров[1,2]:

а) биологически разлагаемые полимеры – природные полимеры, они подвергаются минерализации на 100 %;

б) материалы, которые могут подвергаться биологической эрозии, – сополимеры и смеси полимеров одновременно как природного происхождения,

так и полученные путем нефтехимического синтеза [20]. Такие полимеры подвергаются лишь частичной минерализации, степень которой зависит от соотношения синтетических полимерных компонентов и компонентов природного происхождения.

В данной работе наибольший интерес представляли полимеры, которые минерализуются полностью, то есть биоразлагаемые полимеры из первой группы (альгинат натрия, гиалуронат натрия, сукцинат хитозана и т.д.). Созданные на основе данных биополимеров медицинские изделия имеют сродство к тканям человеческого организма и их не требуется удалять из организма после оказания лечебного эффекта.

Полимер, как правило, считается биоразлагаемым, если вся его масса разлагается в почве или воде за шесть месяцев [20]. Важным фактором, который определяет стойкость полимера к биоразложению, является его молекулярная масса. В то время как мономеры или олигомеры могут быть поражены микроорганизмами и служат для них источником углерода, полимеры с большой молекулярной массой более устойчивы к действию микроорганизмов. Биодеструкцию большинства технических полимеров, как правило, инициируют процессами небиологического характера (термическое и фотоокисление, термолиз, механическая деградация). Упомянутые деградационные процессы приводят к снижению молекулярной массы полимера. При этом возникают низкомолекулярные биоассимилируемые фрагменты, имеющие на концах цепи гидроксильные, карбонильные или карбоксильные группы [21].

Не менее значимым фактором, оказывающим влияние на биodeградацию, является надмолекулярная структура синтетических полимеров. Компактное расположение структурных фрагментов полукристаллических и кристаллических полимеров ограничивает их набухание в воде и препятствует проникновению ферментов микроорганизмов в полимерную матрицу. Это затрудняет воздействие ферментов не только на главную углеродную цепь полимера, но и на его

биоразрушаемые части. Аморфная часть полимера всегда менее устойчива к биодеструкции, чем кристаллическая [22].

В настоящее время производители полимерных материалов пытаются создавать материалы, пригодные при соответствующих условиях подвергаться биодegradации, то есть биоразложению с образованием безвредных для живой и неживой природы веществ. Подобные исследования ведутся во многих странах и направлены, в том числе, на использование в качестве исходных составляющих в полимерных материалах биополимеров [23].

Вторая классификация - **в зависимости от источника получения (метода синтеза) полимеров** - является наиболее всеобъемлющей. Схема ее представлена на рис. 1.

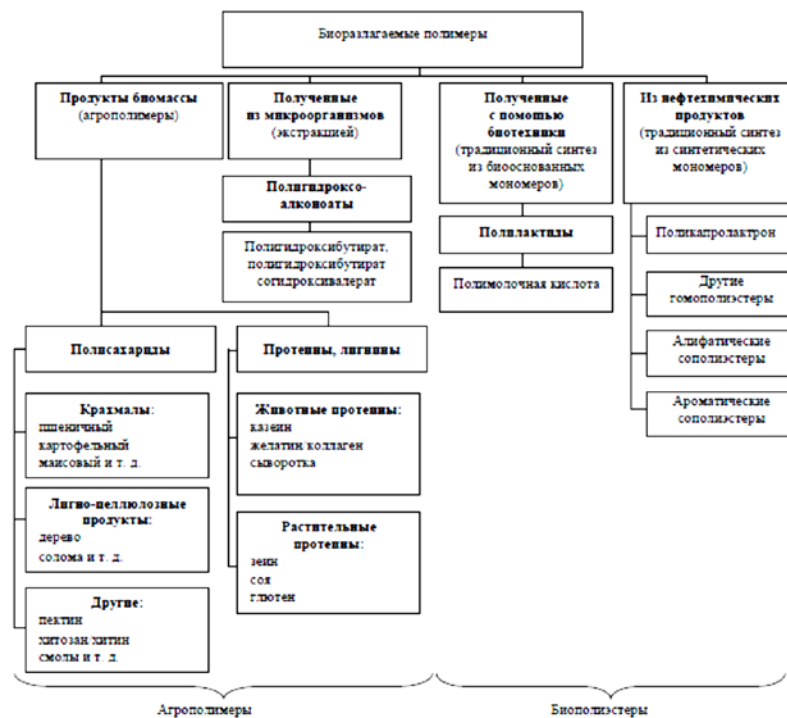


Рис.1. Классификация биологически разлагаемых полимеров[1]

Все биополимеры можно объединить в две большие группы: полимеры, источником получения которых являются животные и растения (первая категория) и биологически разлагаемые полиэферы, или биополиэферы (2–4 категорий), получаемые путем микробиологического синтеза и нефтехимического синтеза.

Среди биоразлагаемых полиэфиров наиболее применяемыми в настоящее время являются полигидроксиалканоаты, полилактид, поликапролактон. Несмотря на то, что они не являлись объектами нашего исследования, про них стоит упомянуть, поскольку за этими материалами во многом стоит будущее разработок в сфере медицинских изделий. Они имеют пористую объемную структуру, которая способствует пролиферации клеток, например, костной ткани, и которую можно рассматривать как «депо» для включения необходимых лекарственных веществ. Биополиэфиры отличаются высокими показателями прочности и износостойкости, а также в меньшей степени (по сравнению с другими полимерами) вызывают эффект отторжения иммунной системой человека, что позволяет успешно применять эти материалы для изготовления имплантатов, в том числе костных [24,25].

Основную часть биополимеров животного и растительного происхождения составляют полисахариды. Полисахариды – самые распространенные макромолекулы в биосфере. Эти сложные углеводы состоят из гликозидных связей и зачастую являются одним из основных структурных элементов экзоскелета растений и животных (целлюлоза, альгинаты, гиалуронаты, хитин и пр.).

Далее будут рассмотрены основные виды природных полисахаридов, используемых в создании медицинских изделий и, в частности, гидрогелевых, наиболее интересующих нас в рамках настоящего исследования.

Необходимо отметить ряд преимуществ форм лечебных материалов на гидрогелевой основе над формами на липофильной и жировой основе:

- большой спектр медицинских областей применения гидрогелевых форм;
- обеспечение контролируемого высвобождения лекарственного вещества из основы в очаг поражения;
- возможность иммобилизовать в лечебном материале не только жирорастворимые, но и водорастворимые лекарственные вещества;

-обеспечение воздухопроницаемости, что способствует более быстрому заживлению поврежденных тканей (что является наиболее важным);

-дополнительный эффект от действия лекарственного вещества и биополимерной основы гидрогеля из-за собственной биологической активности большинства биополимеров.

Уточним, что в настоящей работе основным объектом исследования являлся биополимер альгинат натрия, поскольку именно он составляет базу лечебной гидрогелевой композиции, технология получения которой будет детально рассмотрена в следующих разделах.

1.2. Полисахариды природного происхождения, используемые при создании медицинских изделий

В соответствии с целью данной исследовательской работы особое внимание стоит уделить медицинским изделиям на биополимерной основе, дополняющим ассортимент классических перевязочных материалов (марля, бинт, ватные тампоны и т.д.) и приходящим им на замену. Используемые в настоящее время медицинские изделия (гидрогели, полимерные матриксы, биополимерные пленки) могут заключать в себе широкий спектр лекарственных веществ, являясь для них «контейнерами» или «депо», и служить незаменимым инструментом в случае необходимости направленного подведения лекарственного вещества к очагу поражения (рана, опухоль, слизистая оболочка), а также могут являться матриксом для образования новой ткани при хирургическом вмешательстве [5,26].

При производстве таких материалов главным образом используются природные полисахариды (соли альгиновой кислоты, хитозан, гиалуроновая кислота и ее соли и др.), поскольку эти полимеры хорошо биodeградируют в организме человека и обладают собственной биологической активностью, что имеет неоценимое значение при разработке медицинских изделий на их основе.

Стоит отметить, что в соответствии с необходимостью решения поставленных российским правительством задач импортозамещения возникает

острая необходимость создания новых биодеструктурируемых материалов для применения в медицине учитывая, что на рынке биоразлагаемых медицинских изделий большую долю в настоящее время занимают зарубежные материалы, отличающиеся в том числе своей дороговизной.

1.2.1. Использование альгината натрия и гиалуроната натрия при получении медицинских изделий

В данной диссертации из всех природных биополимеров в том числе и используемых для производства медицинских изделий «Колегель» наибольший интерес для нас представлял альгинат натрия, являющийся основой лечебного гидрогелевый материала, а также гиалуронат натрия – сополимер, который может включаться в состав в гидрогелевой композиции на основе альгината натрия для придания ей определенных терапевтических свойств, расширяющих область применения рассматриваемой лечебной композиции. В связи с этим далее целесообразно остановиться на основных сведениях об этих биополимерах (строение, характеристики, источники получения и т.д.).

Альгинаты - соли альгиновой кислоты – природные полисахариды, получаемые из бурых водорослей или биотехнологической ферментацией.

Альгиновые кислоты (от лат. *alga* – морская трава, водоросль) – это полисахариды, молекулы которых построены из остатков β -D-маннурановой и α -L-гулурановой кислот (рис. 5) [27], находящихся в пиранозной форме и связанных в линейные цепи гликозидными связями. Распределение мономеров вдоль цепи носит блочный характер, причем имеются блоки трех типов: монотонные последовательности остатков β -D-маннурановой или α -L-гулурановой кислоты и участки с более или менее регулярным чередованием остатков обеих кислот. Блоки, построенные из полиманнурановой кислоты, придают вязкость альгинатным растворам, блоки гулурановой кислоты ответственны за вязкоупругие свойства геля и специфическое связывание двухвалентных ионов металлов. От соотношения мономеров и их распределения внутри цепей зависит структура альгинатов и их свойства.

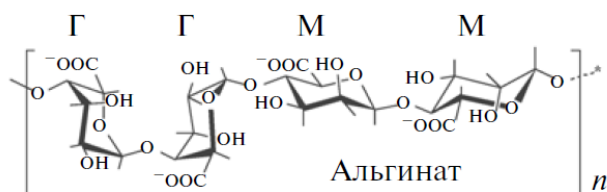


Рис.5. Расположение блоков альгинатов β -D-маннурановой (M) и α -L-гулурановой (G) кислот[27]

Альгинаты представляют собой аморфные бесцветные или слабо окрашенные вещества с молекулярной массой 35 000–1 500 000. Плохо растворимы в холодной воде (при набухании могут поглощать 200–300-кратное количество воды), растворимы в горячей воде и растворах щелочей.

Альгинаты можно получать более чем из 300 видов бурых водорослей, структурными элементами клеточных стенок которых они являются.

Наиболее часто применяемая форма альгиновой кислоты – ее натриевая соль. Альгинат натрия обладает рядом замечательных особенностей, позволяющих использовать его в медицине[27,28]:

- ионообменные свойства, лежащие в основе защиты организма от солей тяжелых металлов;
- способность элиминировать радионуклиды;
- противоаллергические и иммуномодулирующие свойства, связанные с возможностью сорбировать иммунные комплексы;
- выраженный регенерационный и цитопротективный эффект для поврежденных тканей, гемостатическое действие;
- антирефлюксное и обволакивающее действие за счет разбухания в просвете желудочно-кишечного тракта;
- высокая сорбционная активность.

Гидрогель из альгината натрия, который являлся объектом рассмотрения в данной работе, - основа всех материалов медицинского назначения марки «Колегель», выпускаемых ООО «Колетекс». «Колегель» - это современное медицинское изделие (гидрогелевая салфетка) на основе природного полимера, обладающее пролонгированным действием. В зависимости от введенной в гидрогель лекарственной субстанции он может использоваться для снятия воспаления, болевого синдрома и устранения лучевых реакций при лучевой

терапии новообразований в проктологии и гинекологии, а также для лечения гнойных ран различной этиологии, ожогов и трофических язв[29].

Стоит также отметить, что при производстве гидрогелевых материалов на основе природного сырья альгината натрия существует ряд проблем, связанных с его исходной микробной обсемененностью [30]. Из-за отсутствия возможности проводить финишную стерилизацию дозой облучения больше 6 кГр, поскольку в случае большей стерилизующей дозы вязкость гидрогелевого материала уменьшается, необходимо искать способ замедления роста и развития микроорганизмов в гидрогелевой композиции до финишной стерилизации (изменение состава композиции, предварительная обработка сырья и т.д.), чему и посвящена данная диссертация.

Альгинат натрия привлекателен для производителей медицинских изделий тем, что проявляет собственную биологическую активность. Кроме того его химическое строение также позволяет создавать различные формы лечебных материалов. Так, к примеру, образование пространственных сшивок между макромолекулами альгината в присутствии солей кальция (рис. 6) используется при получении высокоструктурированных гидрогелевых материалов с контролируемым высвобождением лекарственного вещества[31].

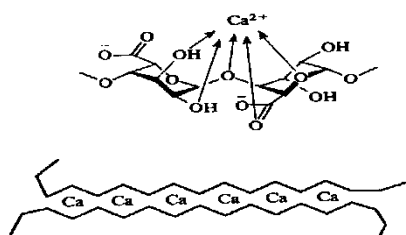


Рис.6. Схема сшивки альгинатов ионами кальция [31]

Альгинаты в виде пленок (сшитый солями кальция альгинат натрия) используют для первичной обработки ран и ожогов [32].

Одним из важнейших свойств альгинатов является его гемостатическая (кровоостанавливающая) активность. Кровоостанавливающие свойства альгинатов обусловлены сокращением времени полимеризации фибрин-мономера – заключительного этапа свертывания крови, что обусловлено

наличием в полимерной молекуле карбоксильных групп. Механизм гемостатического действия альгинатов, помимо формирования при их контакте с кровью так называемого «первичного тромба», включает способность к агрегации ферментных элементов крови, в частности эритроцитов [33]. Известны такие гемостатические препараты на основе альгината натрия как сорбсан, калтостат, ксамалган и др. [34].

В ООО «Колетекс», где выполнена данная диссертация, разработана уникальная технология, заключающаяся в нанесении на текстильный материал специальным способом гидрогелевой композиции из альгината натрия с фурагином и (или) ϵ -аминокапроновой кислотой, обладающей гемостатическими свойствами. Наносимый на кровоточащую рану альгинат, находящийся в такой салфетке, набухает, переходит во внешнюю среду, вязкость которой возрастает, что способствует образованию первичного тромба. Жидкая часть крови – плазма (55% от объема крови) скапливается и отфильтровывается текстильным материалом [35].

Следует отметить радиопротекторные свойства альгинатов, объясняемые его антиоксидантными свойствами. Этот факт изучен во многих работах, в частности в [36]. Изучая антиоксидантную активность биополимера и сравнивая ее с активностью таких известных антиоксидантов, как мексидол, дезоксирибонуклеат натрия, экстракт черники и т.д., показано, что альгинат натрия также обладает антиоксидантной активностью, но в меньшей степени. Антиоксидантная активность альгината натрия позволяет использовать его как базовый биополимер, основу лечебных гидрогелевых материалов «Колегель», используемых в качестве радиопротектора в онкорadiологии. В этом случае в альгинатный гидрогель вводят иммуномодуляторы, анестетики и др.

Таким образом, анализ литературных данных показал, что альгинат натрия является ценным биополимером для создания лечебных материалов, однако его применение значительно осложняется тем, что в силу природного происхождения данного сырья, а также особенностей получения, его микробная обсемененность в

некоторых случаях может превышать значения, допустимые при производстве стерильных медицинских изделий. Задача нахождения способов уменьшения микробной обсемененности, замедления развития микроорганизмов в лечебном материале до стерилизации и сохранение реологических свойств альгината натрия после этой технологической операции является одной из основных в этой диссертационной работе.

Довольно широкое применение в медицине нашел природный полисахарид **хитозан**, основным источником при промышленном получении которого служит **хитин**, являющийся основой наружного скелета ракообразных, кутикулы насекомых, клеточной стенки грибов и некоторых бактерий [37]. По химической структуре хитин является линейным аминополисахаридом, цепь которого состоит из N-ацетил-2-амино-2-дезоксид-Д-гликопиранозных звеньев (I) (рис. 7). Хитозан (II) является β -(1-4)-2-амино-2-дезоксид-Д-гликополисахаридом, содержащим, как правило, 5–15 % ацетамидных групп, а также до 1 % групп, соединенных с аминокислотами и пептидами [38]. Из хитина (I) данный биополимер получается в результате удаления ацетильной группы из положения C2 действием раствором щелочи путем полимераналогичных превращений (рис. 7).

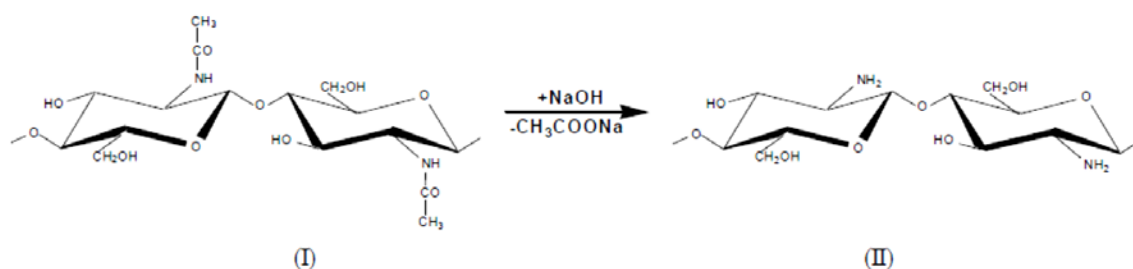


Рис.7. Схема реакции получения хитозана из хитина [37]

В медицинской практике этот полисахарид в виде пленок, губок, гидрогелей используют в качестве системы доставки лекарственных веществ, тканевых адгезивов [9,39,40]. Доступность хитозанов, способность к биodeградации и биосовместимость позволяют использовать их в качестве перевязочного материала, для закрытия ожоговых поверхностей, а также клеточной и тканевой инженерии, в качестве матриц для выращивания клеток

[32]. Недостатками хитозанов являются известная хрупкость и изменение структуры при радиационной стерилизации. Исследования, проводимые в ООО «Колетекс», показали, что вязкость композиции на основе сукцината хитозана, а также в его смеси с альгинатом натрия значительно падает после гамма-стерилизации в дозе 6 кГр [41].

Гиалуронат натрия - соль гиалуроновой кислоты (ГлК) – гликозаминогликан, естественный компонент межклеточного вещества мягких тканей позвоночных, - перспективный материал для восстановительной хирургии и тканевой инженерии. Этот биополимер, также как и альгинат натрия, был использован нами при создании лечебных гидрогелей, что найдет свое отражение в экспериментальной части представленного исследования, поэтому в данном обзоре мы более подробно остановимся на его свойствах.

Молекула ГлК состоит из повторяющихся единиц *D*-глюкуроновой кислоты и *N*-ацетил-*D*-глюкозамина [42].

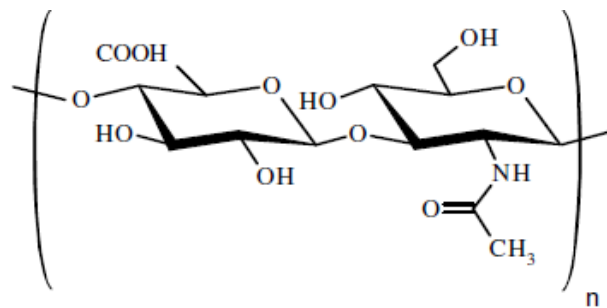


Рис.8. Мономерное звено гиалуроновой кислоты [42]

Гиалуроновая кислота была обнаружена в 1934 году в стекловидном теле коровьего глаза (*thialos* (греч.) - стекло). Чаще всего гиалуроновую кислоту получают из петушиных гребней, но в некоторых случаях используется пуповина человека и стекловидное тело глаз крупного рогатого скота.

В последнее время гиалуроновую кислоту все чаще получают биотехнологическим путем из растительного сырья с использованием бактериальных культур. например, культуры *Streptococcus zooepidermicus* на пшеничном субстрате [43].

Молекулярная масса ГлК варьируется в широких пределах в зависимости от источника выделения. Гиалуроновая кислота, полученная из природных объектов, имеет молекулярную массу (ММ) от 5 000 до 20 000 000. Растворы ГлК обладают уникальными реологическими свойствами, которые позволяют этому полимеру вести себя подобно вязкоупругому гелю даже при низких концентрациях.

Особенно ценным свойством гидрогелей на основе солей ГлК является адгезия к тканям, подвергаемым риску повреждения при хирургических вмешательствах и диагностике (например, диагностике мочевого пузыря). Присутствие вязкого слоя экзогенной ГлК на тканях и слизистых оболочках, наиболее сильно подвергаемых травматическим воздействиям, оказывает защитное действие, которое в значительной мере способствует успешному осуществлению диагностики и хирургической операции. Вязкоэластичные растворы ГлК и ее гели используются в качестве биосовместимых «барьерных веществ» для предотвращения постхирургической адгезии и образования рубцов, а также для заживления ран[44].

Известно успешное применение в урологии лечебной композиции, полученной соединением двух гидрогелей на основе альгината натрия и гиалуроновой кислоты с лекарственными веществами – диоксидином и лидокаином. Применение такого гидрогелевого материала обеспечивает пролонгированное антимикробное и обезболивающее действие введенных в композицию лекарственных веществ за счет ее вязкости и сродства гиалуроновой кислоты к гликозаминогликановому слою стенки мочевого пузыря и тем самым позволяет успешно проводить диагностические процедуры, а также эффективно действовать при лечении различных заболеваний в урологии [45].

Анализируя используемую технологию получения медицинских гидрогелевых изделий, наши исследования показали, что гиалуронат натрия меньше подвергается первичной микробной контаминации по сравнению с альгинатом натрия [46].

На основании литературных данных о рассмотренных в данном разделе полисахаридах – альгинате и гиалуронате натрия можно сказать, что эти биополимеры природного происхождения с точки зрения эффективности, биологической активности, экологичности, возобновляемости источников их получения являются уникальным сырьем для создания медицинских изделий. Они обладают высокой биосовместимостью с тканями человеческого организма и нетоксичны по отношению к нему; их применение, как следует из многочисленных публикаций, в том числе и приведенных в данном литературном обзоре, научно обосновано.

Для того чтобы понять специфику производства медицинских изделий «Колегель» на основе биополимеров, рассмотрим более подробно в качестве примера технологию получения гидрогелевых медицинских изделий на основе альгината натрия, которая являлась объектом настоящего исследования. Именно эта технология использовалась нами как базовая при получении стерильных лечебных гидрогелевых материалов с увеличенным сроком годности.

1.2.2. Технология получения гидрогелевых медицинских изделий на основе альгината натрия

Технология получения гидрогелевых композиций, являющихся основой рассматриваемых в работе медицинских изделий, основывается на приготовлении раствора лекарственных веществ заданной концентрации с последующим введением в него альгината натрия. Полученный альгинатный гидрогель с включенными в него лекарственными веществами (ЛВ) проходит стадию расфасовки в первичную упаковку (с необходимыми токсикологическими характеристиками, а также подходящую для радиационной стерилизации), а затем подвергается обязательной финишной радиационной стерилизации дозой 6 кГр, так как изделия медицинского назначения должны отвечать требованиям стерильности в соответствии с [19] (рис.9).



Рис.9. Схема производства лечебных гидрогелевых материалов «Колегель»

Основными технологическими характеристиками, по которым можно судить о качестве получаемой лечебной композиции, являются:

- динамическая вязкость;
- скорость и степень высвобождения ЛВ из композиции во внешнюю среду, от которых зависит терапевтическая эффективность медицинского изделия;
- общая микробная обсемененность до финишной стерилизации;
- стерильность после финишной стерилизации.

Вязкость гидрогелевой лечебной композиции (медицинского изделия) является важным технологическим параметром, поскольку она во многом определяет ее терапевтическую эффективность в различных областях медицины. Сфера применения диктует требования к вязкости – необходимо, чтобы гидрогелевый материал не «растекался», не «вытек», а находился на коже или в полости заданное количество времени, направленно и пролонгировано доставляя действующее лекарственное вещество к «больному месту», был удобен в использовании (например, при введении через шприц), не вызывал нежелательных болезненных реакций. В соответствии с этим, данный параметр регулируется на стадии разработки гидрогелевой композиции и должен четко

соблюдаться после ее выпуска и стерилизации (соответствовать нормативной документации и требованиям врачей). Очевидно, что выбор начальной вязкости композиции должен обеспечить требуемую по медицинским показаниям и технической документации вязкость готового медицинского изделия. Решение этой задачи представляет большую сложность, требует от производителя технолога понимания процессов, имеющих место на всех технологических переходах, соблюдения температурно-временных режимов и научно-обоснованных условий стерилизации. Нужно также отметить, что эти условия будут несколько различаться в зависимости от полимерного состава композиции и вводимых лекарств, и для каждого конкретного случая будут требовать научно-обоснованного подхода. Кроме вязкости важным реологическим параметром является тиксотропность композиции (особенно в случае гидрогелевой композиции, упакованной в шприцы).

Тесно связанным с динамической вязкостью параметром является степень и скорость высвобождения ЛВ из композиции во внешнюю среду (кровь, раневое отделяемое), которые зависят от рН, температуры внешней среды, а также свойств ЛВ и полимера. Чем более вязкая полимерная композиция, тем медленнее высвобождается лекарственное вещество из биополимерной матрицы в очаг поражения (рана, полость, опухоль и т.д.). Это следствие того, что скорость высвобождения контролируется скоростью набухания полимера и скоростью диффузии введенного лекарства, которая зависит от вязкости среды. Такой параметр позволяет контролировать терапевтическую концентрацию ЛВ в очаге поражения и время, за которое эта концентрация достигается. Данный параметр напрямую зависит от вязкости композиции и свойств лекарства и, таким образом, может регулироваться при помощи варьирования полимерного состава лечебной гидрогелевой композиции, введения специальных добавок, увеличивающих или уменьшающих ее вязкость.

Также взаимосвязанными между собой технологическими характеристиками являются общая микробная обсемененность гидрогелевой

композиции до финишной стерилизации, которая зависит от чистоты сырья и производственных помещений, о чем будет более подробно говориться далее, и ее стерильность после стерилизации. Очевидно, что применительно к рассматриваемой технологии (стерилизующая доза 6 кГр) стерилизация лечебной композиции тем эффективнее, чем меньше ее начальная микробная обсемененность (до стерилизации).

В представленной технологической схеме получения лечебного гидрогелевого материала на основе альгината натрия необходимо отметить несколько стадий, на которых возможно ухудшение качества конечной продукции. Рассмотрим их более подробно.

1) Радиационная стерилизация проводится γ -облучением дозой 6 кГр, поскольку термическая стерилизация не подходит для гидрогелей на основе альгината натрия ввиду его термолабильности (этот вопрос будет далее освещен более подробно).

Малая доза облучения 6 кГр выбрана на основании предварительных исследований, показавших, что при большей стерилизующей дозе происходит существенная деструкция альгинатного гидрогеля. Этот вопрос будет также подробнее рассмотрен далее.

Необходимо отметить, что такая доза стерилизации обуславливает главный принцип в данной технологии - чем менее контаминированным будет гидрогелевый материал до финишной стерилизации, тем эффективнее пройдет его стерилизация дозой 6 кГр и тем больше будет срок годности, в течение которого свойства лечебного материала будут стабильны. Бесспорно, снижение дозы стерилизации до меньших значений было бы очень желательно с точки зрения достигаемых свойств гидрогелей, но требует дополнительных исследований и на сегодняшний день является очень сложным в плане аппаратного оформления процесса (оборудование не может стерилизовать дозой менее 6 кГр) и достижения соответствия между скоростью и временем стерилизации.

2) Альгинат натрия достаточно быстро обсеменяется различными микроорганизмами, поскольку этот природный полисахарид является хорошим источником углерода для роста и развития бактерий и грибов, и, как следствие, композиции на его основе тоже имеют высокую микробную обсемененность до финишной стерилизации. Эта проблема, к сожалению, касается всех биополимеров природного происхождения и является одной из основных исследуемых тем в данной работе.

Повышенная обсемененность альгинатного гидрогеля до финишной стерилизации приводит к тому, что во избежание в дальнейшем недостаточного срока хранения таких композиций необходимо увеличивать стерилизующую дозу, а также время стерилизационной обработки, что отрицательно сказывается на качестве выпускаемой продукции.

3) В реальных производственных условиях после изготовления и расфасовки гидрогеля в первичную упаковку стадия финишной стерилизации может быть отсрочена в течение 2-7 суток, при этом расфасованная продукция хранится при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Такой момент является нежелательной технологической особенностью производственного цикла, которую в реальных условиях сложно изменить. Необходимо учитывать, что финишная радиационная стерилизация осуществляется специализированной сторонней организацией, имеющей необходимое оборудование (источник радиационного облучения, транспортеры, дозиметрические приборы, установленные в стерилизующей камере, и т.д.), а также необходимую степень радиационной защиты. За период от изготовления до стерилизации исходная микробная обсемененность гидрогелевой композиции может существенно увеличиваться, что делает стерилизующую дозу 6 кГр неэффективной для такого материала.

Таким образом, рассмотрение технологического процесса получения лечебного гидрогелевого материала на основе альгината натрия и выявление «слабых мест» данной технологии показало, что одной из основных трудностей при производстве, влияющих на качество производимой продукции, является

финишная стерилизация изделий. Эта обязательная технологическая стадия требует особого внимания.

От способа стерилизации во многом зависит обеспечение стерильности продукции, ее потребительских свойств, а также такой немаловажный параметр как срок годности продукции.

Поскольку изучаемый в данной работе лечебный гидрогелевый материал закупается больницами и аптеками в больших количествах, закладывается в специальные аптечки скорой помощи на длительный период, то важно и необходимо увеличить гарантированный срок годности выпускаемой продукции минимально до 2 лет, чтобы сохранять конкурентоспособность на рынке. Поэтому мы считаем необходимым в данном обзоре более детально и целенаправленно рассмотреть особенности стерилизации медицинских изделий.

1.3. Стерилизация медицинских изделий

Показатель «стерильность» обязательно нормируется для тех медицинских изделий, которые при использовании пациентами имеют непосредственный контакт с кровью и слизистыми оболочками (перевязочные материалы, имплантаты, раневые покрытия, шприцы, системы для переливания крови и др.). Согласно определениям, приведенным в [19,47], стерильное медицинское изделие - это изделие, свободное от жизнеспособных микроорганизмов, а стерилизация - совокупность физических, химических и механических способов освобождения стерилизуемых материалов от вегетативных и покоящихся форм микроорганизмов [47]. Для медицинских изделий на биополимерной основе очень важно, чтобы выбранный метод стерилизации наряду с обеспечением стерильности позволял сохранять структурные и биохимические свойства медицинского изделия.

Существует множество методов стерилизации медицинских изделий, основанных на различных физико-химических и биологических принципах. Представленный ниже литературный обзор, посвященный анализу способов стерилизации, ставит своей целью на основании приведенных данных выбор и

обоснование наиболее приемлемого для изучаемых гидрогелевых медицинских изделий варианта стерилизации, который затем будет конкретизирован в экспериментальной части при выборе стерилизующей дозы и технологических условий проведения процесса стерилизации.

1.3.1. Основные способы стерилизации медицинских изделий

Термическая стерилизация. Такой вид стерилизации широко распространен в медицинской практике и может осуществляться двумя способами: обработкой материала насыщенным паром при 125-130 °С в течение 20 минут (в автоклаве) или сухим жаром при температуре 160 °С в течение 2 часов (в сухожаровом шкафу) [48]. Преимуществами тепловой стерилизации являются ее эффективность (проникающая способность стерилизующего агента при термообработке - одна из самых лучших среди всех методов стерилизации, поэтому могут быть уничтожены все жизнеспособные микроорганизмы), простота, быстрота и отсутствие токсичных побочных продуктов. Этот способ широко применяется при стерилизации текстильных медицинских материалов (перевязочные средства - бинты, марля, вата), а также металлических и стеклянных принадлежностей.

Однако, поскольку большинство биополимеров термолабильны, то такая стерилизация медицинских изделий на основе биополимеров проблематична. Кроме того, в случае паровой стерилизации из-за контакта материала с водяными парами происходит его гидролитическая деструкция [49]. Вследствии сказанного для рассматриваемых в данной диссертации медицинских изделий данный способ стерилизации не подходит.

Обработка ультрафиолетом. Облучение ультрафиолетом - это достаточно новый подход к стерилизации медицинских изделий. Стерилизация таким способом заключается в возбуждении электронов стерилизуемого объекта и накоплении в нем фотопродуктов, которые губительным образом действуют на клетки микроорганизмов, нарушая репликацию ДНК. Чувствительность микроорганизмов к УФ-облучению разная: вегетативная бактериальная клетка

легко дезактивируется при такой обработке, а споровые формы, наоборот, устойчивы к действию УФ-облучения [50]. К тому же проникающая способность УФ-облучения достаточно низкая, что делает пригодным его только для поверхностной стерилизующей обработки. Нужно отметить, что стерилизация медицинских изделий с помощью ультрафиолетового облучения не одобрена FDA в США и подходит только для лабораторного применения [51], а в нашей стране этот способ используется только в качестве предварительной антимикробной обработки сырья и материалов, например, на стадии водоподготовки в фармацевтической и косметической промышленности [52].

Стерилизация этиленоксидом. Такой способ химической стерилизации очень широко используется для большого спектра медицинских материалов на основе пластиков и резин, поскольку осуществляется при низких температурах и обеспечивает обширный диапазон антимикробной активности.

Действие этиленоксида заключается в необратимом алкилировании молекул клеточных структур, которые могут содержать аминокислоты, тиольные и амидные группы, карбоксилы и гидроксилы, приводя к подавлению клеточного метаболизма и процессов деления. Грамположительные и грамотрицательные бактерии, грибы, споровые формы, вирусы легко инактивируются с помощью этиленоксида.

Недостатком данного метода стерилизации является высокая токсичность этиленоксида. Остаточные дозы стерилизующего агента могут нанести большой вред здоровью как производителей медицинских изделий, стерилизуемых данным способом, так и потребителей, поэтому этот показатель в медицинских изделиях, стерилизуемых данным способом, строго нормируется. Американский национальный институт охраны труда и здоровья (NIOSH) постановил, что максимальная остаточная концентрация этиленоксида в медицинских изделиях после стерилизации должна быть 25-250 частей на миллион (ppm), а рекомендуемый диапазон - 10-25 ppm [53]. В России данный способ стерилизации используется для стерилизации медицинских изделий из

синтетических пластиков (шприцы, катетеры, системы для переливания крови и др.) [54-56], но не в таких широких масштабах, как радиационная стерилизация.

Стерилизация этанолом. Это достаточно дешевый способ стерилизации биополимерных материалов, осуществляемый при низких температурах, но биоцидная способность этанола гораздо ниже, чем у этиленоксида. Этанол вызывает денатурацию белков, деструкцию клетки микроорганизма и растворяет липиды, находящиеся в клеточной мембране, способствуя гибели микробной клетки [57].

Этанол в концентрации от 60 до 80% инактивирует грамположительные, грамотрицательные и кислотоустойчивые бактерии, а также липофильные вирусы, в то время как гидрофильные вирусы и споры бактерий проявляют к нему устойчивость [53]. Несмотря на дешевизну данного способа стерилизации и простоту его осуществления, он подходит лишь для тех медицинских изделий, на физико-химические свойства которых он не может повлиять и из которых может быть полностью удален после проведения стерилизации [10], то есть в случае стерилизации гидрогелей он не может быть реально применен.

Плазменная стерилизация. Это очень эффективный, но дорогой метод стерилизации, заключающийся в обработке материала в газовой среде, через которую пропускают электрический ток или микроволновое излучение; при этом образуются различные разновидности реактивных частиц благодаря ионизации электронов. Механизм плазменной стерилизации, однако, до конца еще не изучен; предполагается, что происходит физическая деструкция микробной клетки, причем такой вид стерилизации эффективен даже по отношению к споровым формам [51]. В нашей стране плазменная стерилизация применяется очень редко из-за дороговизны данного способа стерилизации и сложности обслуживания плазменных стерилизаторов персоналом.

Приведем сводную таблицу, в которой указаны основные достоинства и недостатки проанализированных ранее методов стерилизации медицинских изделий.

Таблица 1. Достоинства и недостатки основных рассмотренных методов стерилизации медицинских изделий [53]

Метод стерилизации	Достоинства	Недостатки
Термическая	Простота, высокая скорость процесса, эффективность, высокая проникающая способность, отсутствие токсичных продуктов	Высокая температура, изменение структурных свойств биополимера
УФ	Высокая скорость процесса, дешевизна, низкая температура, отсутствие токсичных продуктов	Малая эффективность, при длительной обработке происходят структурные и биохимические изменения материала
Плазма	Высокая скорость процесса, увеличение влагопоглощения поверхностью биополимера, низкая температура	Дороговизна, вызывает структурные изменения
Этиленоксид	Высокая эффективность, низкая температура	Токсичность, взрывоопасность производства, изменение свойств стерилизуемого материала
Этанол	Низкая температура, дешевизна, не требует специального оборудования, высокая скорость процесса, отсутствие токсичных продуктов	Малая эффективность, при длительной обработке происходят структурные и биохимические изменения материала

Анализируя эту таблицу, основываясь на литературных данных, а также опыте работы производителей медицинских изделий на биополимерной гидрогелевой основе, нами в качестве базового метода стерилизации медицинских изделий был выбран радиационный метод, который в следующей части литературного обзора будет рассматриваться более детально.

1.3.2. Радиационная стерилизация медицинских изделий

Бактерицидное действие ионизирующих излучений стало известно вскоре после открытия лучей Рентгена. Однако потребовалось более полувека, прежде чем оказалось возможным практическое использование бактерицидного действия радиации для стерилизации.

Развитие радиационной стерилизации в России началось в 50–60 гг. XX столетия в связи с возникновением реальной необходимости такой практики и

появлением возможностей для ее реализации. Необходимость была обусловлена началом массового производства медицинских изделий из пластмасс и полимерных материалов, имевших, как правило, одноразовое назначение (шприцы, катетеры, системы переливания крови и т.п.), которые требовали проведения стерилизации в промышленных масштабах и для которых в силу ряда причин не подходили существующие на тот момент нерадиационные методы стерилизации. Возможность радиационной стерилизации кроме того была обусловлена высокими темпами развития атомной промышленности и ядерной медицины, началом ввода в действие мощных облучающих установок на основе радионуклидных источников и ускорителей электронов, пригодных для проведения радиационной стерилизации в промышленных масштабах[53].

Основными преимуществами радиационного способа стерилизации медицинских изделий является низкая температура проведения процесса, относительная дешевизна, а также отсутствие токсичных побочных веществ.

Радиационная стерилизация подразделяется на два вида: гамма-стерилизация (γ) и электронно-лучевая (ЭЛ), отличающиеся друг от друга источником ионизирующего облучения, используемого для стерилизации оборудования, и, соответственно, типом стерилизующей установки.

Для γ - и ЭЛ-стерилизации, соответственно, используются установки с облучателями на основе:

- радионуклидов ^{60}Co или ^{137}Cs ;
- генератора пучка электронов [19] ;

Гамма-излучение получают посредством источника ^{60}Co , диапазон дозы такого облучения составляет 10–30 кГр. Источником излучения при ЭЛ-стерилизации является ускоритель электронов, при этом доза облучения при использовании ЭЛ-стерилизации выше – от 15 до 50 кГр [45] и во многом зависит от режима работы ускорителя.

Механизм стерилизации в двух рассматриваемых вариантах заключается в передаче энергии валентным электронам облучаемого материала с последующей

их эмиссией (испусканием), что вызывает разрывы в молекулах ДНК и РНК клеток микроорганизмов, продуцируя кислородные соединения, которые в свою очередь повреждают важные клеточные компоненты [51].

Гамма- и электронно-лучевая стерилизация эффективна в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, дрожжей, грибов, большинства вирусов, а также некоторых бактериальных спор.

Сравнение γ - и ЭЛ- методов стерилизации медицинских изделий можно сделать из анализа табл. 2.

Таблица 2. Виды радиационной стерилизации в зависимости от источника излучения

<i>Электронно-лучевая обработка</i>	<i>Гамма-обработка</i>
<p>Использует разогнанный с помощью линейного ускорителя пучок электронов в качестве средства стерилизации.</p> <p>Время-несколько секунд.</p> <p>Энергия электронов в диапазоне от 3 до 10 млн. электронвольт (МэВ) с мощностью пучка в диапазоне от 1 до 10 кВт оказывается достаточной для проникновения в продукт, герметично упакованный в готовую тару. Электроны, сканируя продукт, проходят через множество вторичных частиц, включая ионы и свободные радикалы. Вторичные частицы разрывают ДНК-цепочки микроорганизмов и на внутренней поверхности упаковки, и внутри продукта, блокируя таким образом их дальнейшее размножение. Микроорганизмы разрушаются, и вследствие этого происходит стерилизация продукции.</p>	<p>Использует гамма-частицы. Источник излучения - радиоактивный изотоп Co^{60}</p> <p>Время-4-8 часов.</p> <p>Продукт, упакованный в конечную отгрузочную тару, проходит на конвейере через гамма-ячейку (стерилизационную камеру), где и подвергается стерилизации в течение 4-8 часов. Со временем кобальт 60 имеет тенденцию распадаться, его излучение ослабевает. Чтобы постоянно контролировать количество радиоактивного изотопа, необходимо жестко регулировать время каждого цикла. Доза излучения, получаемая продуктом, является функцией длительности (времени) воздействия облучения радиоактивным источником.</p>

Исходя из анализа приведенных выше методов стерилизации медицинских изделий можно сделать предположение о том, что для рассматриваемых в данной работе альгинатных лечебных гидрогелевых материалов наиболее подходящим способом является радиационная γ -стерилизация, поскольку стерилизующая доза при данном способе накапливается постепенно и, по сравнению с ЭЛ-стерилизации, в меньшей степени может повлиять (негативно) на структуру гидрогелевого материала, где доза стерилизации воздействует «ударно» в короткий промежуток времени. Это предположение, а также обоснование выбора

стерилизующей дозы будет подтверждаться в экспериментальной части данной работы.

Прежде чем приступить к анализу литературных данных, касающихся основных аспектов выбора стерилизующей дозы, следует рассмотреть, каким образом влияет исходная обсемененность сырья и полупродукта (нестерильной гидрогелевой композиции) на стерильность готового медицинского изделия, поскольку на анализе этого фактора основывалась наша идеология в построение эксперимента.

1.3.2.1. Особенности технологии получения медицинских изделий, влияющие на эффективность их радиационной стерилизации

В рамках представленного диссертационного исследования основополагающим является утверждение о том, что чем меньше будет микробная обсемененность изделий до финишной стерилизации, тем с большей уверенностью можно гарантировать стерильность продукции в течение всего срока годности, а именно 2 лет (для рассматриваемой нами продукции). Этот принцип должен соблюдаться обязательно, поскольку доза стерилизации изучаемых в работе медицинских изделий мала (6 кГр), и ее выбор лимитирован необратимым ухудшением структурных свойств (падение вязкости) гидрогеля в процессе радиолитического процесса, протекающем в ходе облучения.

Надежное бактерицидное действие стерилизации также зависит не только от микробной обсемененности медицинских изделий перед проведением их стерилизации (т.е. от инициальной контаминации), но и от радиорезистентности микроорганизмов, которыми загрязнена продукция. В настоящее время изучена радиочувствительность свыше 3000 штаммов микроорганизмов, обуславливающих контаминацию[59].

Качество используемого при изготовлении медицинских изделий сырья, а именно его микробиологическая чистота, главным образом определяют, насколько будет обсеменена продукция перед стадией финишной стерилизации. В этом случае «в зоне особого риска» находятся производители, использующие

сырье природного происхождения. Поскольку природное сырье (животного, растительного происхождения) более подвержено микробной контаминации по сравнению с синтетическим сырьем, так как является хорошей средой и источником питательных веществ для роста и развития микроорганизмов, значение общей микробной обсемененности может в ряде случаев быть превышено. Поэтому возникает потребность включать в технологический процесс изготовления медицинских изделий на основе природного сырья дополнительные стадии (промежуточный контроль сырья в процессе его хранения, предварительная деконтаминация сырья различными способами и т.п.)

Установлено, что исходная обсемененность продукции также обуславливается загрязнением в процессе ее изготовления в производственных помещениях, и уровни обсемененности частично зависят от санитарно-гигиенических условий на производстве. С целью обеспечения как можно более низкой начальной обсемененности стерилизуемых материалов были разработаны требования к чистоте производственных помещений, персоналу, его одежде, к обращению с продукцией на производстве, которые указываются в соответствующих нормативных документах [60]. Об источниках микроорганизмов можно судить по данным табл.3 [59]. Источниками микробной загрязненности продукции являются не только контаминированное сырье, вода, воздух, но и некоторые технологические операции тоже могут внести вклад в обсемененность, например, стадия гомогенизации, расфасовки и т.д.

Таблица 3. Предполагаемые источники загрязнения [59]

Микроорганизмы	Пример	Источники загрязнения
Грамположительные	<i>Pseudomonas</i>	Вода
Грамположительные кокки	<i>Staphylococcus</i>	Люди
Грамположительные палочки	<i>Propionibacterium</i>	Люди, пыль
Грамположительные спорообразующие палочки	<i>Bacillus</i>	Пыль
Плесневые и дрожжевые грибы	<i>Aspergillus</i>	Пыль

Одним из значительных источников загрязнения на производстве может являться персонал, непосредственно участвующий в производстве медицинских изделий, начиная от входного контроля сырья и заканчивая упаковкой и отправкой продукции на финишную стерилизацию.

Микроорганизмы могут попадать в продукцию:

- воздушно-капельным путем с выделениями полости рта;
- воздушно-пылевым и контактными путями с участков кожи, не защищенной одеждой.

Таким образом, для того, чтобы избежать повышения микробной обсемененности материалов до стерилизации и, соответственно, обеспечить эффективность стерилизации при ее наиболее «щадящих» параметрах (малая стерилизующая доза, минимальное время облучения), необходимо проводить контроль загрязнения микроорганизмами воздуха и поверхностей в производственных помещениях, а также непосредственно используемого сырья и материалов. При соблюдении необходимого гигиенического состояния производства инициальная контаминация продукции в индивидуальной упаковке обычно не превышает $1 \cdot 10^3$ КОЕ [58], что позволяет гарантировать эффективное прохождение радиационной стерилизации.

1.3.2.2. Выбор стерилизующей дозы

Как уже говорилось ранее, при радиационной стерилизации медицинских изделий необходимо одновременно с обеспечением надежного бактерицидного действия на материал сохранить его свойства (структурные, химические, потребительские).

С учетом этих требований для каждого вида медицинских изделий определяется стерилизующая доза, а также разрабатывается технология радиационной обработки продукции, обеспечивающая нужный интервал доз и, соответственно, бактерицидный эффект, и методические указания, определяющие порядок производства стерильных материалов.

Комплекс мероприятий, направленных на получение, регистрацию и интерпретацию результатов, необходимый для подтверждения того, что на выходе процесса стерилизации будет воспроизводимо получаться стерильная продукция, называется **валидацией процесса стерилизации**. В настоящее время в соответствии с требованиями системы менеджмента качества применительно к производству медицинских изделий [60] производитель медицинских изделий должен проводить валидацию стерилизации.

Одним из аспектов экспериментальной части данной диссертации являлась валидация разрабатываемого применительно к анализируемым изделиям технологического процесса стерилизации, поэтому считаем целесообразным в литературном обзоре остановиться более подробно на некоторых деталях этой процедуры.

Стерилизующая доза облучения медицинских изделий определяется на основании данных об инициальной обсемененности продукции и данных о радиочувствительности микроорганизмов[58].

При высокой первоначальной численности микробов (бионагрузке) потребуется больше времени или большая доза облучения, чтобы уменьшить число выживших микробов до определенного уровня, чем в случае, когда первоначально их было незначительное количество. Это еще раз подтверждает тот факт, что соблюдение санитарных норм на производстве отражается на надежности последующей стерилизации.

Процесс гибели микроорганизмов в течение стерилизации описывается экспоненциальным законом [61]. Наличие микроорганизмов в объекте после стерилизации может быть очень малым, но никогда не будет равно нулю, т.е. достичь абсолютной стерильности невозможно. В связи с этим возникает естественный вопрос об уровне обсемененности после стерилизации, который может считаться допустимым.

На основании исследований ВОЗ (Всемирная организация здравоохранения) было установлено, что приемлемым можно считать уровень: один выживший

микроорганизм на миллион отстерилизованных единиц продукции (например, салфеток, туб и т.п.), что возможно считать стандартом *гарантированного уровня стерильности* (УС) [62], характеризующим вероятность сохранения нестерильных единиц продукции в партии на уровне 10^{-6} .

На рис.10 приведена схема, показывающая снижение численности популяции микроорганизмов от количества 10^6 КОЕ до гарантированного уровня стерильности - 10^{-6} .

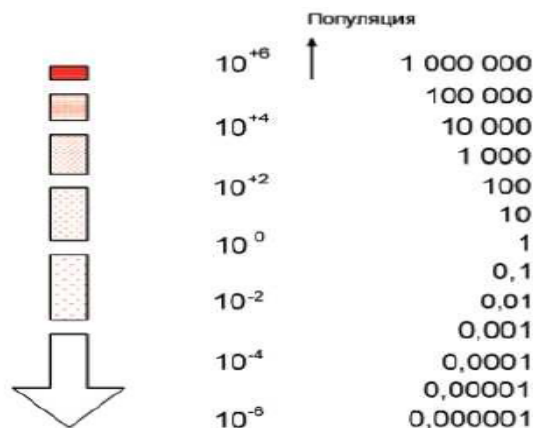


Рис.10. Сокращение бионагрузки в процессе стерилизации[62]

Таким образом, зная инициальную контаминацию медицинского изделия, стерилизующая доза (либо время стерилизации) подбираются так, чтобы УС был равен 10^{-6} . Инициальная контаминация, как уже было сказано ранее, не должна превышать $1 \cdot 10^3$ КОЕ при соблюдении надлежащих требований при производстве медицинских изделий.

При определении стерилизующей дозы для медицинских изделий используется один из двух подходов [19,63] :

1) получают данные по количеству бионагрузки и/или ее устойчивости к радиации и используют их для определения стерилизующей дозы;

2)стерилизующую дозу выбирают из значений 25 или 15 кГр и обосновывают выбор. При обосновании выбранной дозы производитель должен иметь доказательства того, что она способна обеспечить достижение установленных требований к стерильности.

В источнике [64] приведены данные о том, что стерилизующая доза 15 кГр обеспечивает УС 10^{-6} для продукции с биоагрузкой, не превышающей 10^3 КОЕ. Для продукции с уровнем биоагрузки 10^4 - 10^5 КОЕ для достижения УС 10^{-6} стерилизующая доза достигала 20кГр.

Показано, что в 95% случаев стерилизации продукции, охватывающей 45 типов медицинских изделий, минимальная доза облучения была установлена в 15 кГр. При выполнении установленного в инструкции по стерилизации порядка определения минимальной дозы в 15 кГр надежность стерилизации составляла 10^6 при инициальной контаминации, не превышающей 10^3 КОЕ на изделие, и 10^4 при инициальной контаминации от 10^3 до 10^5 КОЕ на изделие (надежность стерилизации является обратной величиной уровня стерильности, т.е. вероятности нахождения нестерильного изделия среди радиационно стерилизованных) [64].

При стерилизации медицинских изделий на биополимерной основе увеличение дозы облучения с целью повышения эффективности и надежности стерилизации может приводить к необратимым структурным изменениям изделия и, как следствие, потере терапевтической эффективности и ухудшению потребительских свойств. Такие изменения связаны, прежде всего, с процессами радиоллиза, протекающими во время и даже после стерилизации. Рассмотрим их подробнее, исходя из целей и задач, поставленных в этой диссертационной работе, чтобы научно обосновать режим стерилизации для конкретных условий получения биополимерных гидрогелей.

1.3.2.3. Радиоллиз биополимеров, способы снижения или предотвращения радиоллиза

Действие ионизирующего излучения на органические вещества приводит к образованию реакционноспособных частиц – ионов, возбужденных молекул, свободных радикалов, ион-радикалов. Последствия действия ионизирующего излучения на облучаемый биополимерный материал представляют собой результат последовательного ряда реакций окисления и восстановления,

образования и разрыва химических связей, сшивки или деструкции полимерных цепей, изменения вторичной структуры и конформации макромолекул, что и приводит к негативному влиянию радиационной стерилизации на свойства биополимерных медицинских изделий [65,66].

Важный вопрос – оценка влияния способа радиационной стерилизации на деструкцию полимеров. Для нас это имеет большое значение в научном обосновании условий стерилизации гидрогелей с целью максимального сохранения их свойств, что является одной из задач диссертации.

В публикации [53] приводится информация о потере прочностных свойств матриц для выращивания клеток на основе полилактида после гамма-стерилизации, а также увеличение скорости их биодegradации при использовании. Сравнивая влияние гамма- и ЭЛ-стерилизации на прочностные свойства биополимерных матриц, авторы делают вывод о том, что ЭЛ-стерилизация предпочтительнее, так как в меньшей степени разрушает структуру материала; по их мнению, это связано с уменьшением времени обработки в случае гамма-стерилизации.

В работах [36,67,68] рассматривается наиболее близкий для нашей ситуации вопрос - деструкция альгинатных гидрогелевых материалов, а также предлагаются некоторые способы защиты полимерных гидрогелей от радиодеструкции.

Авторы этих работ исходят из того, что одним из основных компонентов гидрогелей является вода, наиболее подверженная радиолизу. В связи с этим целесообразно рассматривать взаимодействие с излучением именно этих молекул. Так как мы разделяем этот научный подход, проанализируем наиболее подробно аспекты радиолиза воды.

Согласно существующим представлениям [69], первичные продукты радиолиза воды - это H , OH и e_{aq} , они локализованы в пространстве рядом друг с другом, и образуют своеобразный кластер малого объема со средним радиусом порядка 1.5 нм, называемый «шпорой» (рис.11).

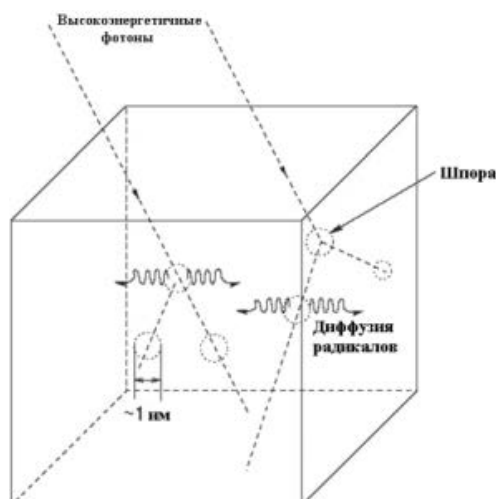
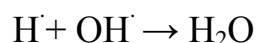


Рис.11. Индуцированный высокоэнергетическим излучением радиолиз воды происходит в «шпорах» [69]

В среднем подобный кластер содержит около 6-ти радикалов. Именно в этой области пространства происходит рекомбинация радикалов с образованием молекулярных продуктов соответственно реакциям :



Только радикалы, которые окажутся способными покинуть «шпору», вступают во взаимодействие с макромолекулами биополимера. Эти радикалы и молекулярные радиолитические формы рассматриваются как активные продукты радиолиза воды, представляя следующий набор компонентов: $\text{H}_2\text{O} \rightarrow (\text{H}^\cdot + \text{OH}^\cdot + e^-_{\text{aq}} + \text{H}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_3\text{O}^+)$, H_3O^+ - это гидратированный H^+ , который компенсирует заряд гидратированного электрона [69].

Радикал OH^\cdot действует на все атомы углерода, связанные с гидроксильными группами в углеводородном цикле полисахарида или с углеродными атомами, включенными в гликозидные связи [70]. В результате такого воздействия образуются полисахаридные радикалы [71], и, как следствие, биополимер деструктурирует на мономерные звенья (рис.12) [36, 72].

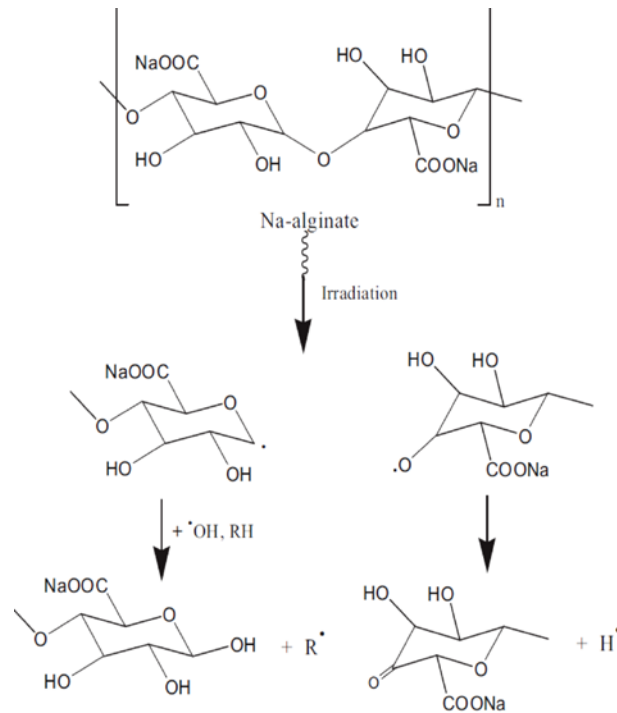


Рис.12. Деструкция основной цепи альгината натрия при его облучении в водном растворе [36,72]

Степень деструкции биполимера после стерилизации гидрогелевого материала на его основе можно оценивать с помощью анализа вязкости гидрогеля.

В работе [36] приводятся данные об изменении вязкости раствора альгината натрия различной концентрации под воздействием радиационного облучения дозой 6 кГр. Даже при такой относительно низкой дозе показана необходимость защиты гидрогелей от деструкции в процессе финишной стерилизации, например, с помощью введения различных стабилизаторов в состав гидрогелевой композиции[36].

В данной диссертации нас в большей степени интересовали радиопротекторы из класса спиртов, поскольку некоторые представители этого класса также обладают консервирующим (антимикробным) действием. Об эффективной защите альгината натрия путем введения акцептора OH ; то есть различных спиртов, можно судить по данным, представленным в [36]. Предположительно их использование может нам позволить подойти к решению

стоящей перед нами параметрической задачи – снижение обсемененности гидрогеля до финишной стерилизации и сохранение вязкостных свойств гидрогеля после стерилизации. Очевидно, что желательнее подобрать добавку, выполняющую одновременно обе функции.

В работе [67] с целью повышения эффективности защиты были исследованы тройные системы альгинат/полиэтиленгликоль/глицерин и подобран состав композиции, позволяющий снизить степень разрушения биополимера и обеспечивающий достижение необходимой технологической вязкости после радиационной стерилизации различными дозами (рис.13). Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии выбранных стабилизирующих добавок на вязкость альгинатного гидрогеля после гамма-стерилизации. Достаточно ли такой стабилизации вязкости или нет, будет выясняться в экспериментальной части.

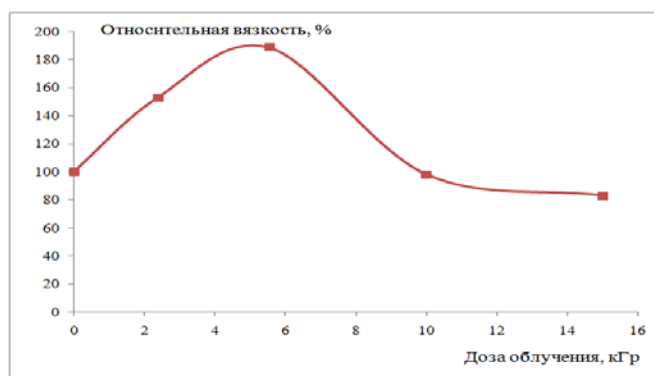


Рис.13. Изменение относительной вязкости системы 6% АН + 4% ПЭГ (40000)+ 6% глицерин в зависимости от поглощенной дозы[67]

Кроме того, нужно отметить собственную радиопротекторную активность альгината натрия, обусловленную его способностью к гелеобразованию, приводящей к инактивации свободных радикалов, образующихся в процессе радиолитического разложения, т.е. антиоксидантную активность альгината натрия.

Авторы работы [67] исследовали радиопротекторное действие альгината натрия, оценивая воздействие гамма-облучения на клетки дрожжей, используемых в качестве системы, моделирующей биологические ткани человека. Мерой радиационного повреждения клеток дрожжей служил выход ионов калия

в питательную среду [73, 74]. В качестве образцов сравнения радиопротекторной активности использовались системы с фенольными соединениями (кверцетин, рутин, морин, пирокатехин, 4-метилэскулетин, галловая кислота), исходя из имеющихся данных об их широком применении в качестве антиоксидантов и радипротекторов[75].

По итогам эксперимента установлено, что для большинства исследованных антиоксидантных соединений наблюдалось усиление их радиопротекторной активности при добавлении в систему альгината натрия, что следует учитывать при необходимости усиления активности антиоксидантов, например при создании радиопротекторных медицинских изделий, применяемых в онкологической практике [36,67].

В [76] отмечено увеличение вязкости гидрогеля на основе биополимера хитозана при введении в композицию на его основе этилового спирта и глицерина за счет образования дополнительной сетки физических связей в гидрогеле. Такой подход также интересен для нас, поскольку может являться перспективным для предотвращения снижения вязкости гидрогелей в ходе радиационной стерилизации.

Как уже отмечалось ранее, в данной диссертации мы хотели предпринять попытку найти и обосновать применение одной добавки к композиции, действующей по двум направлениям – антимикробная защита и радиопротекция биополимерного гидрогеля. Такая добавка до финишной стерилизации смогла бы ингибировать рост микрофлоры в гидрогелевом материале, тем самым повышая эффективность радиационной стерилизации малой стерилизующей дозой 6 кГр, а после финишной стерилизации данная добавка в силу своих радиопротекторных свойств должна предотвратить падение вязкости, обусловленное процессами радиолитического разложения в гидрогеле. Тем самым представляется возможным сохранить (стабилизировать) свойства лечебной альгинатной композиции и увеличить ее срок годности, связанный с длительным сохранением стерильности готовой продукции и ее лечебных свойств.

1.4. Срок годности медицинского изделия как показатель, характеризующий его качество

Такое понятие как качество медицинского изделия характеризуется множеством технологических показателей, индивидуальных для каждого вида данной продукции, от которых в свою очередь зависит и срок годности медицинского изделия. Технология получения медицинского изделия должна быть разработана таким образом, чтобы стабильность нормируемых показателей качества конечной продукции обеспечивалась в течение как можно более долгого срока хранения. Другими словами, чем стабильнее нормируемые показатели, тем более длительный срок годности у готовой продукции.

Обеспечение длительного срока годности медицинских изделий (2-5 лет) является очень важной задачей для их производителей, поскольку от этого, как уже было сказано ранее, зависит конкурентная способность разрабатываемой продукции на фармацевтическом рынке, так как продукция с увеличенным сроком годности будет выгодным образом отличаться от аналогов, не обладающих такими характеристиками. Нужно отметить, что задача значительно усложняется, если речь идет об увеличении срока годности материалов на основе природных биополимеров (альгинат и гиалуронат натрия, хитозан и др.) из-за специфических свойств этого сырья (легкая обсеменяемость микроорганизмами, отсутствие возможности значительного увеличения стерилизующей дозы облучения и др.).

Кроме того производитель медицинских изделий берет на себя ответственность перед потребителем, закрепленную юридически и заключающуюся в гарантии срока годности изделия при его правильном способе транспортировки и хранения (в соответствии с нормативными документами). Все это должно соблюдаться и не отражаться на эффективности применения медицинского изделия.

В источниках приводятся различные определения срока годности (срока хранения). Так в источнике [77] дается следующая формулировка: «**сроком годности** продукции является период времени, в течение которого она полностью

отвечает всем требованиям нормативной документации, в соответствии с которой оно было выпущено и хранилось», а также : «**срок годности** – дата, по истечении которой лекарственное средство, изделие медицинского назначения и медицинская техника не подлежат применению; срок хранения – период времени, в течение которого лекарственное средство при надлежащих условиях хранения соответствует требованиям качества и безопасности лекарственного средства...»[77].

Таким образом все определения подчеркивают, что в течение гарантированного производителем срока годности характеристики медицинского изделия (МИ) не должны ухудшаться под действием внешних факторов и подвергать угрозе здоровье и безопасность потребителей при нормальной эксплуатации изделий в условиях, соответствующих инструкциям; они должны сохранять свои параметры в пределах норм, установленных технической документацией на данное изделие.

1.4.1. Факторы, приводящие к уменьшению срока годности медицинских изделий

По истечении срока годности происходит порча продукции, в частности, медицинских изделий, из-за влияния 3 групп факторов: физических, химических, микробиологических (рост микрофлоры в продукте). Для каждого из факторов существуют свои способы уменьшения их влияния, позволяющие снизить негативное действие на качество продукции и, как следствие, продлить срок годности.

Еще раз подчеркнем, что в данной диссертационной работе подробно рассматривались подходы к уменьшению *физических* и *микробиологических* факторов влияния на качество конечного продукта (лечебного гидрогелевого материала на основе альгината натрия), то есть действия были направлены на:

- уменьшение микробной обсемененности альгинатной гидрогелевой композиции;
- предотвращение падения вязкости гидрогелевой композиции после

радиационной стерилизации вследствие радиолиза альгинатного гидрогеля.

Таким образом, основными выбранными технологическими параметрами, по изменению которых оценивали результаты в данной работе, были динамическая вязкость и общая микробная обсемененность гидрогелевой композиции.

1.4.1.1. Физические и химические причины ухудшения качества медицинских изделий

Физические причины (факторы) ухудшения качества медицинских изделий связаны с физическими изменениями, например, нарушением целостности упаковки, несоблюдением температуры хранения, заявленной в технической документации, изменением влажностного режима хранения и транспортировки [78-82].

Выше отмечалось ухудшение реологических характеристик лечебных гидрогелевых материалов на основе альгината натрия после их радиационной стерилизации, что связано с протеканием процессов радиолиза полимеров [83]. Такое воздействие на качество продукции тоже можно отнести к физическим факторам влияния на срок годности. В [83] описаны некоторые технологические подходы, направленные на уменьшение воздействия этих факторов: изменение стерилизационного режима, введение в состав композиции наряду с альгинатом натрия более устойчивого к радиационному облучению полимера – поливинилового спирта, введение стабилизирующих веществ, которые уменьшают падение вязкости после стерилизации и т.д. Это позволяет сделать вывод о том, что повлиять на физические факторы порчи конечной продукции можно благодаря научно-обоснованным системам упаковки, транспортировки и оптимизации состава композиции, а также правильно спроектированному и осуществляемому технологическому процессу.

Необходимо также отметить, что срок годности продукта зависит в некоторых случаях от химических реакций, протекающих в продукции во время ее хранения, например, реакций разложения химических компонентов продукта.

Скорость протекания химических реакций в готовом продукте напрямую зависит от температуры хранения продукции [84], а также от pH среды [85], активности воды¹ [86] и присутствия кислорода [87]. Для предотвращения протекания нежелательных реакций (окисление, брожение и т.д.) в состав могут вводиться различные стабилизаторы [88]. Так, в источнике [89] приведены данные по снижению уровня перекисного окисления эмульсионных масел с помощью антиоксидантов фенольной группы (циквалон, дибунол, феруловая кислота), то есть веществ, замедляющих процесс окисления продукта.

В настоящее время в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности существует тенденция к использованию стабилизаторов природного происхождения (взамен синтетических), которые следует характеризовать как более безопасные для организма человека и не причиняющие вред окружающей среде [90-93]. В данной диссертации тоже будут рассмотрены «зеленые» стабилизаторы (экстракт ромашки и крапивы, куркумин, экстракт мяты), исходя из предположения о замедлении ими процессов радиолитического распада после радиационной стерилизации альгинатных гидрогелей в связи с известной антиоксидантной активностью природных веществ [75]. Кроме того, будет оцениваться способность к снижению микробной обсемененности до финишной стерилизации с помощью данных природных добавок.

1.4.1.2. Микробиологические факторы, снижающие качество медицинских изделий, и способы предотвращения их негативного влияния

Присутствие в готовой продукции микроорганизмов (бактерии, грибы, вирусы), их рост и развитие в течение срока хранения сказывается на гарантийном сроке годности. Контаминированная продукция изменяет свой внешний вид, запах, становится опасной для здоровья потребителя [94].

Исходя из того, что каждый микроорганизм предъявляет особые требования

¹ Активность воды (A_w) - это отношение давления паров воды над данным продуктом к давлению паров над чистой водой при той же температуре.

к среде, в которой он развивается (наличие питательных веществ, определенная температура и рН, доступность кислорода и отсутствие противомикробных агентов), изменение указанных факторов можно контролировать и влиять на количественное присутствие и вид микроорганизмов в готовой продукции. Таким образом, рост большинства микроорганизмов можно предотвратить или замедлить регулированием температуры хранения материала, снижением рН, использованием консервантов и использованием надлежащей упаковки.

Для того, чтобы управлять процессами развития микрофлоры в готовой продукции, необходимо рассмотреть классификации микроорганизмов в зависимости от условий среды, в которой они могут развиваться.

1.4.2. Классификация микроорганизмов в зависимости от условий среды

Как уже было отмечено, на темпы роста микроорганизмов в их среде обитания влияют определенные факторы. Рассмотрим основные из них (температура, рН, наличие кислорода), которые возможно варьировать с технологической точки зрения, чтобы минимизировать развитие микроорганизмов в готовой продукции.

Для каждого из факторов устанавливается максимальное и минимальное значения, при которых темпы роста сводятся к минимуму, при оптимальном значении достигаются приемлемые условия для развития микроорганизмов (рис.14.). Такие значения характеризуются кардинальными точками [95].

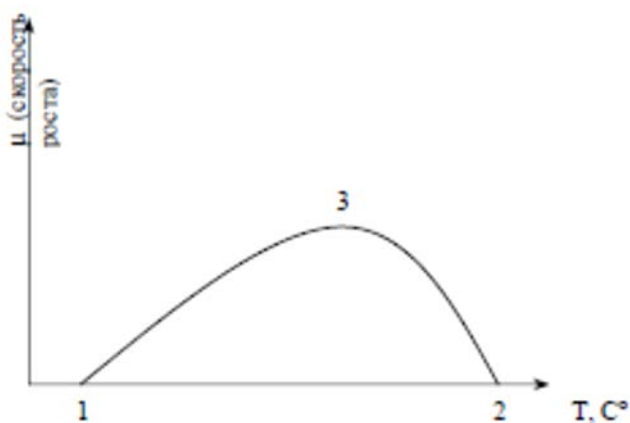


Рис.14. Зависимость скорости роста микроорганизмов от температуры. Кардинальные точки: 1-минимум,2-максимум,3-оптимум [95]

В минимальной кардинальной точке на температурной оси происходит сгущение мембранных липидов, которые находятся в оболочке микробной клетки, что нарушает процессы питания микроорганизма, а при максимальной температуре начинают денатурировать белки клетки. Эти процессы и ограничивают скорость роста микрофлоры при минимальных и максимальных значениях температуры [95].

По отношению к температуре микроорганизмы делятся на 3 группы: *психрофилы* – развиваются при 0°C, *термофилы* - развиваются при 45-50°C и *мезофилы* - развиваются при умеренных (20-35°C) температурах [96].

Так, исходя из этой классификации, применительно к данной работе можно сделать вывод, что количество мезофильных микроорганизмов, присутствующих в гидрогелевых материалах на основе альгината натрия до стерилизации, может быть значительно уменьшено путем снижения температуры хранения гидрогелей до стерилизации. Этот технологический подход будет экспериментально обоснован далее.

В отличие от температуры действием химического фактора - кислотности среды (рН) – микроорганизмы могут частично сопротивляться за счет мембранного барьера проницаемости клетки микроорганизма. В зависимости от рН среды микроорганизмы делят на *нейтрофилы* – развиваются в области рН 4-9 (наиболее часто встречающаяся группа микроорганизмов), *ацидофилы* – могут жить в кислой среде, и *алкалофилы* – развиваются в щелочной среде [96]. Исходя из данной классификации, также можно обосновать технологический способ уменьшения количества микроорганизмов в изучаемых гидрогелях на основе альгината натрия, заключающийся в изменении рН среды гидрогелевого материала за счет введения различных стабилизирующих добавок.

Среди большинства микроорганизмов существуют значительные различия в отношении к молекулярному кислороду. По этому признаку они могут быть разделены на несколько групп. Микроорганизмы, для роста которых кислород необходим, называют *облигатными (обязательными) аэробами*. Среди

облигатных аэробов обнаружены существенные различия в отношении к уровню молекулярного кислорода в среде. Некоторые представители этой группы не способны к росту при концентрации кислорода, равной атмосферной, но могут расти, если содержание кислорода в окружающей среде будет значительно ниже (порядка 2 %). Такие облигатно аэробные прокариоты получили название микроаэрофилов.

С точки зрения данной классификации для рассматриваемой нами технологии следует сделать один вывод – для предотвращения развития аэробных микроорганизмов, которые наиболее распространены среди контаминирующей микрофлоры, необходимо контролировать такой технологический показатель как герметичность тары, поскольку без доступа воздуха этот вид микрофлоры развиваться не будет.

При производстве пищевых продуктов, косметических и лекарственных средств, медицинских изделий для мониторинга производственной среды, оценки микробной обсемененности сырья и конечной продукции в первую очередь определяется количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных (т.е. способных развиваться и в присутствии кислорода) микроорганизмов (КМАФАнМ) или, так называемое общее микробное число (ОМЧ) [4]. Мы в своих исследованиях предполагаем в качестве основного именно этот показатель.

Таким образом, в данной части литературного обзора было показано, что учитывая особенности роста и развития микроорганизмов, перечисленные выше, а также причины их попадания в продукцию необходимо искать научно-обоснованные пути, чтобы контролировать их количества или полностью исключить их наличие (в случае стерильной продукции) в готовой продукции, для чего, как один из вариантов, возможно применение консервантов. Рассмотрим подробнее виды существующих на сегодняшний день консервантов (стабилизаторов), которые можно использовать при создании медицинских изделий.

1.4.3. Применение консервантов как способ борьбы с микробиологической порчей продукции

Консерванты (консервирующие добавки) - вещества, которые замедляют рост и развитие бактерий, плесневых грибов и дрожжей, снижают скорость обмена веществ в них либо уничтожают микроорганизмы полностью.

Действие консервирующей добавки существенно зависит от концентрации, в которой она применяется. В малых концентрациях добавка может оказывать фунгистатическое (угнетающее грибы) и бактериостатическое (угнетающее бактерии) действие. Эту концентрация является минимальной ингибирующей концентрацией (МИК). В больших концентрациях различают фунгицидное (убивающее грибы) или бактерицидное (убивающее бактерии) действие. Эта концентрация является минимальной бактерицидной концентрацией (МБК). Следовательно, эффект от введения в рецептуру продукта консервирующей добавки зависит от ее концентрации и времени ее действия [97].

Гибель всех микроорганизмов при использовании обычных концентраций консерванта, указанных в нормативной документации, происходит в течение нескольких дней или недель. Зависимость скорости гибели микроорганизмов под действием консервантов от времени описывается уравнением для мономолекулярного процесса и зависимостью числа микроорганизмов от времени (рис.15)[98]:

$$K = \ln \left(\frac{Z_0}{Z_t} \right) / t, \text{ или} \quad (1)$$

$$Z_t = Z_0 \cdot e^{-Kt}, \quad (2)$$

где K – константа скорости гибели микроорганизмов;

t – время; Z_0 – число живых клеток в начальный момент (t=0);

Z_t – число живых клеток в момент времени

Добавление консервантов в продукцию имеет смысл только в том случае, если они применяются в достаточной концентрации (рис.15).

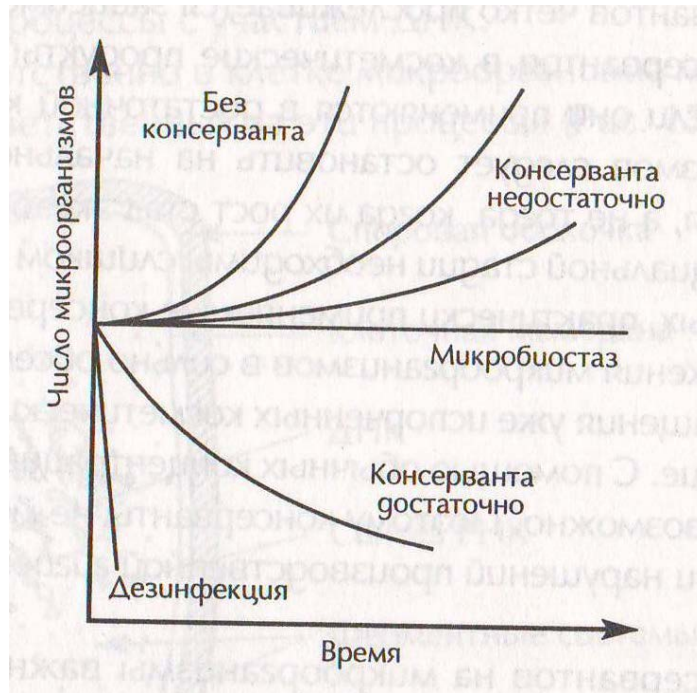


Рис.15. Изменение числа бактерий в зависимости от концентрации консерванта [98]

Развитие микроорганизмов следует останавливать на начальной стадии их размножения. Этот вывод очень существенно анализировался нами и учитывался при выборе консервантов, их концентраций и момента введения (технологической стадии).

Консерванты, которые используются для стабилизации лекарственных форм и медицинских материалов, должны удовлетворять следующим требованиям:

- обеспечивать широкий спектр антимикробного действия;
- не обладать токсическим или раздражающим действием;
- быть совместимыми с лекарственными и вспомогательными веществами;
- быть устойчивыми во времени;
- не влиять на органолептические характеристики изделия.

Вещества, используемые в качестве консервантов, можно отнести к следующим классам химических соединений (табл.4)[97]:

Таблица 4. Классы веществ, обладающих консервирующим действием в отношении лекарственных форм и косметических средств[97]

Кислоты, их соли и эфиры	Спирты	Галогенсодержащие вещества
Бензойная	Бензиловый	Бронопол
Дегидрацетовая	Хлорбутанол	5-бром-5-нитро-1,3-диоксан
Орто-фенилфенол	Дихлорбензиловый	Йодпропинил бутилкарбамат
Парабены	Хлорксиленол	Метилдибромоглутаронитрил
Сорбиновая	Этиловый	Триклокарбан
Салициловая	Феноксиэтанол	Триклозан
Пропионовая	Фенилэтиловый	Хлоргексидин
Муравьиная	Дихлорбензиловый	Хлорацетамид

Четвертичные соли аммония	Неорганические соединения
Бензалкония хлорид	Борная кислота
Бензетония хлорид	Йодат натрия
Метенаммония хлорид	Тиомерсал
Полиаминопропил бигуанид	Оксид цинка
Поликватерниум – 42, кватерниум - 15	

Большинство консервантов, имеющих практическое применение, действуют в первую очередь против дрожжей и плесневых грибов. Некоторые консерванты (бензойная и сорбиновая кислоты и их соли) малоэффективны против многих бактерий, так как в области оптимальных для бактерий значений рН (часто это нейтральная среда) они слабо проявляют своё действие. В свою очередь в средах с низкими значениями рН такие виды бактерий не развиваются [97,98]. Чтобы повысить эффективность антимикробного действия этих добавок, их чаще всего используют в смесях с другими консервантами [97].

В литературных источниках имеется большое количество данных об эффективности консервантов в отношении отдельных микроорганизмов. Из табл. 5 можно получить общее представление об областях применения некоторых консервантов.

Таблица 5. Спектр действия некоторых консервантов [97]

Консервант	Бактерии		Грибы	
	Грам/+бактерии	Грам/- бактерии	Дрожжи	Плесень
Сорбиновая кислота	+/-	+/-	+	++
Бензойная кислота	+/-	+/-	+	+
Бензиловый спирт	+++	+	+/-	+/-
Бронопол	+	++	+/-	+/-
Quaternium 15	+++	++	+/-	+/-
Раствор дибромодицианобутана в феноксиэтаноле	+	+	+	+/-
Формальдегид	+++	++	+	+
Имидазолидинилмочевина	+	++	+/-	+/-
Диазолидинилмочевина	+	++	+/-	+/-
ДМДМ – гидантоин	+	++	+/-	+/-
Хлорметилизотоазолинон/ метилизотиазолинон	+++	++	+++	+++
Эфиры парабенов	+	+/-	+	+
Раствор парабенов в феноксиэтаноле	+/-	+	+	+
Феноксиэтанол	+/-	+	+/-	+/-
+/- - низкая эффективность; + - средняя эффективность ; ++ - высокая эффективность				

Говоря об антимикробном действии, нужно отметить добавки на основе серебра в различной форме. Очень важно, что такие добавки могут работать как консерванты, например, известен консервант цитрат серебра [97], и как компоненты композиции, обладающие антимикробной активностью, что может использоваться при создании антимикробных лечебных материалов.

Интерес к разработкам и применению серебросодержащих препаратов в медицинских целях во всем мире постоянно растет. Это обусловлено чрезвычайно ценным комплексом терапевтических свойств, присущих препаратам серебра:

- широкий антибактериальный спектр в отношении патогенной флоры, в том числе устойчивой к антибиотикам;
- сложностью выработки защитных механизмов к действию серебра у патогенных микроорганизмов;

- наличие вирулицидной и фунгицидной активности, что особенно ценно в случае ассоциаций бактериальной и вирусной или грибковой инфекции;
- хорошо выраженное и ранозаживляющее действие;
- относительно низкая стоимость препаратов.

Современные технологии позволяют получать медицинские материалы, содержащие в своем составе наночастицы различных металлов, такие материалы обладают выраженной антимикробной активностью [99,100].

Наибольший интерес при создании медицинских изделий представляет применение, в частности, наночастиц серебра, а именно введение их в полимерную матрицу [101]. Известно также распределение ультрадиспергированного серебра в толще различных сорбентов [102]. В источнике [103] описаны губки для остановки кровотечений на основе комплекса хитозана и альгината, импрегнированные сульфадиазином серебра.

Нужно отметить, что альгинат натрия, как и многие другие природные высокомолекулярные соединения, является биовосстановителем, позволяя рассматривать биополимерную матрицу в форме гидрогеля на его основе как биореактор, биовосстановитель и биостабилизатор (коллоидный стабилизатор). Учитывая свойства альгината как биовосстановителя, способного к redox-реакциям, а также его нетоксичность, «дружественность» природе, биоразлагаемость, сравнительно легкое извлечение из возобновляемых природных ресурсов, становится объяснимым широкое и все более растущее использование этого биополимера, в том числе и для иммобилизации ионов металлов и для перевода их в наноформу. Первоначально биополимерная матрица адсорбирует катионы металла и восстанавливает их до нулевой степени окисления, при этом функциональные восстанавливающие гидроксильные группы окисляются до карбоксильных (-COOH). По этому принципу создан гидрогелевый материал «Колегель» с включенными в него наночастицами серебра, которые обладают широким спектром антимикробного действия [104,105].

Однако, введение в рецептуру любого антимикробного агента (консерванта) необходимо лишь для стабилизации микробиологических характеристик продукции в течение гарантированного срока хранения и не позволяет ослаблять требования к чистоте производственных помещений и технологической одежды, мероприятиям по дезинфекции помещений и технологического оборудования, а также к квалификации персонала. Кроме того, мало данных (или они отсутствуют) о влиянии консервантов на стабилизацию других потребительских свойств, например, реологических.

В настоящей работе мы ставим себе целью научное обоснование выбора такой консервирующей добавки, которая позволила бы решить компромиссную задачу, обусловленную рассматриваемой технологией получения медицинских изделий на основе альгината натрия, а именно: добавка должна максимально ингибировать рост и развития микроорганизмов в гидрогелевом материале до его финишной стерилизации и предотвращать процесс радиолитического разложения альгината натрия, сохраняя вязкость гидрогеля на его основе после финишной радиационной стерилизации. Уменьшая обсемененность гидрогелевого материала на основе альгината натрия до радиационной стерилизации, можно гарантировать эффективность процесса стерилизации (стерильность лечебной композиции) при малой стерилизующей дозе 6 кГр, которая в меньшей степени деструктурирует альгинатный гидрогель. В свою очередь консервирующая добавка, действуя в течение процесса стерилизации и после него как стабилизатор вязкости гидрогеля, обеспечит сохранение потребительских свойств гидрогелевой композиции на протяжении необходимого, в том числе увеличенного до 2 лет, срока годности.

Таким образом, обзор литературы показал, что медицинские изделия на основе биополимеров - перспективное развивающееся направление медицины и фармацевтической промышленности. Производство таких лечебных материалов имеет ряд особенностей, связанных с выбором способа и условий их

стерилизации, что тесно связано с обеспечением потребительских качеств медицинских изделий и сроком годности.

Основываясь на проведенном анализе литературных данных в экспериментальной части следует выделить следующие этапы:

1. выбор наиболее эффективного способа снижения микробной обсемененности гидрогелевого материала до его финишной стерилизации;
2. оптимизация режима стерилизации с точки зрения снижения микробной обсемененности и сохранения вязкостных свойств гидрогелевого материала;
3. выбор технологического подхода, позволяющего продлить срок годности лечебного гидрогелевого материала.

2. МЕТОДИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2.1. Объекты исследования

2.1.1. Полимеры, лекарственные вещества и стабилизирующие добавки, используемые в работе

Объектами исследования в данной работе являлись гидрогелевые лечебные композиции на основе биополимеров, используемые в различных областях медицины.

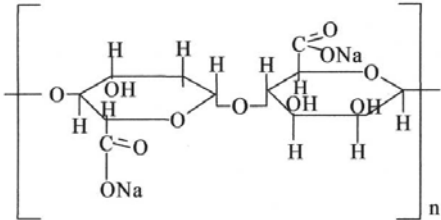
Основной используемый в работе биополимер – природный полисахарид альгинат натрия (АН), который служит биodeградируемой матрицей всех медицинских изделий, выпускаемых ООО «Колетекс». Альгинат натрия выбран в качестве основы лечебных композиций с различной вязкостью (высоко- и низковязкие), поскольку, являясь хорошим загустителем, он также обладает собственной биологической активностью (гемостатик, иммуномодулятор, регенирует поврежденные ткани и т.д.), что крайне важно при создании медицинского изделия. Однако из-за того, что альгинат натрия, во-первых, подвержен быстрой контаминации различными микроорганизмами, а во-вторых, гидрогелевые композиции на его основе сильно деструктурируются в процессе радиационной стерилизации (данный тип стерилизации является наиболее приемлемым для медицинских изделий, рассматриваемых в данной работе), то мы

изучали возможность использования альтернативных биополимеров с целью оптимизации состава и технологии получения лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия.

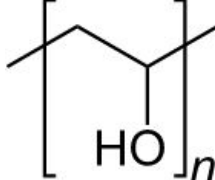
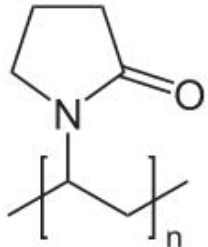
В качестве альтернативных полимеров для стабилизации микробиологических характеристик композиции во время хранения до стадии финишной стерилизации, а также для стабилизации реологических свойств композиции при финишной радиационной стерилизации использовали манукол (альгинат натрия высокой степени очистки), поливиниловый спирт различной молекулярной массы, поли-N-винилпирролидон, карбоксиметилцеллюлозу, гиалуронат натрия.

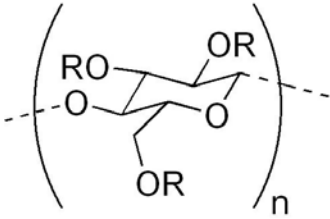
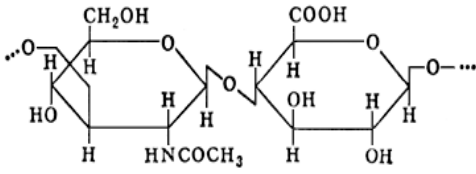
В табл. 6 приведена информация об используемых в данной работе полимерах.

Таблица 6. Полимеры, входящие в состав исследуемых гидрогелевых композиций

№	Объект исследования, химическое строение	Технические характеристики, область применения	Производитель
1	<p>Альгинат натрия</p>  <p>Брутто-формула: $(C_6H_7O_6Na)_n$</p>	<p>Пластинки кремового с сероватым оттенком цвета. Массовая доля альгиновой кислоты в перерасчете на сухое вещество 70 %. Применяется в медицине, пищевой промышленности в качестве загустителя. Биосовместим, биоразлагаем.</p> <p>ММ 143 кДа</p>	<p>ОАО «Архангельский опытный водорослевый комбинат»</p> <p>ТУ 15-544-83, ФСП 42-0372-3392-06</p>

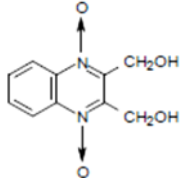
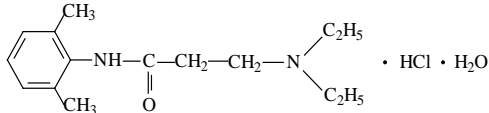
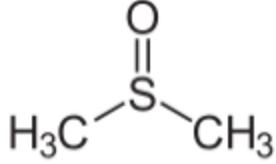
Продолжение табл.6

2	<p>Поливиниловый спирт 45.000, 145.000</p>  <p>Брутто-формула: $(C_2H_4O)_n$</p>	<p>Бесцветные прозрачные хлопья, хорошо растворяются в воде при нагревании с образованием прозрачного геля.</p> <p>Применяется в фармацевтической промышленности в качестве загустителя и, пленкообразователя, в хирургии - в качестве шовного материала и как компонент имплантов.</p> <p>ММ 45 кДа ММ 145кДа</p>	<p>Mowiol 6-98 - 45.000 и Mowiol 28.99 - 145.000, Kuraray Europe GmbH, Германия</p>
3	<p>Поли-N-винилпирролидон</p>  <p>Брутто-формула: $(C_6H_9NO)_n$</p>	<p>Светло-желтый слоеный гигроскопичный порошок хорошо растворим в воде и в других полярных растворителях.</p> <p>Применяется в качестве загустителя, стабилизатора, пленкообразователя, эмульгатора.</p> <p>ММ 12,6 кДа</p>	<p>ФС -001513-031016 ООО «ЮжФарм»</p>
4	<p>Карбоксиметилцеллюлоза (натриевая соль)</p>	<p>Аморфное бесцветное вещество, слабая кислота, хорошо растворяется в воде. Используется в качестве загустителя, пластификатора в косметической,</p>	<p>Марка: 75/400 ООО «Саломон»</p>

	 <p>R = H or CH₂CO₂H</p> <p>Брутто-формула: [C₆H₇O₂(OH)_{3-x}(OCH₂COOH)_x]_n, где x = 0,08-1,5</p>	<p>фармацевтической и пищевой промышленности.</p> <p>ММ 75-100 кДа</p>	
5	<p>Гиалуронат натрия (натриевая соль гиалуроновой кислоты)</p>  <p>Брутто-формула: (C₈H₈₅₂N Na)_n</p>	<p>Порошок белого цвета, при набухании в воде образует гель. Присутствует во всех тканях живого организма, участвует в регенерации тканей, нормализует состояние тканей и значительно ускоряет динамику эпителизации.</p> <p>Применяется в косметологии, офтальмологии, урологии, онкологии.</p> <p>ММ 900-1000 кДа</p>	<p>ФС 001247-271015</p> <p>Хэбэй Чаншань Биохемикал Фармасьютикал Ко., Лтд, Китай</p>

Из всех используемых в ООО «Колетекс» лекарственных веществ и растительных компонентов в качестве объектов исследования мы выбрали следующие (табл.7)

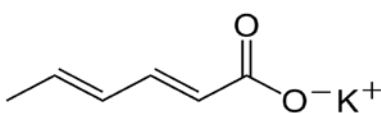
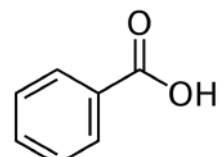
**Таблица 7. Лекарственные вещества,
входящие в состав исследуемых гидрогелевых композиций**

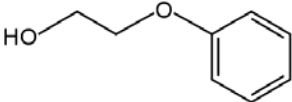
№	Наименование вещества, структурная формула	Техническая характеристика, нормативный документ
1	Диоксидин (2,3-Бис-(гидроксиметил)хиноксалина-1,4-ди-N-оксид)  Брутто-формула: C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₄	ФС 42-2309-97.ФСП42-0144-7176-05 Порошок желтого цвета, плохо растворим в воде. Синтетический антимикробный препарат широкого спектра действия, антисептик. Применяется для лечения различных форм гнойной инфекции, как в формах для местного применения, так и для введения в полости и внутривенно, оказывает бактерицидное действие [106]
2	Лидокаина гидрохлорид (2-этиламино-2,6-ацетоксилидида гидрохлорид)  Брутто-формула: C ₁₀ H ₁₀ N ₂ O ₄	ВФС 42-2080-96. Белый или почти белый кристаллический порошок. Очень легко растворим в воде, растворим в спирте. Является местным анестетиком [106].
3	Димексид (диметилсульфоксид)  Брутто-формула: C ₂ H ₆ SO	ФС 42-2980-98. Бесцветная прозрачная жидкость со слабым специфическим запахом. Гигроскопичен. Смешивается во всех соотношениях с водой, спиртом. Оказывает анальгетическое, противовоспалительное, антисептическое действие. Обладает способностью проникать через биологические мембраны, в том числе через кожные барьеры, усиливает проникновение через кожу ряда лекарственных средств [106]
4	Ромашки цветы	ФСП/НД ЛСР-008850/10-300810. Неоднородная смесь корзинок и их частей, размером не более 5 мм, цвет - от светло-зеленого, до зеленова-коричневого. запах – ароматный. Данное лекарственное средство обладает противовоспалительным, бактерицидным действием [106].
5	Листья крапивы	ФСП 42-7872-06 Кусочки листьев различной формы размером не более 7 мм, цвет – темно-зеленый, запах-слабый травянистый. Данное лекарственное средство обладает антимикробным действием [106].

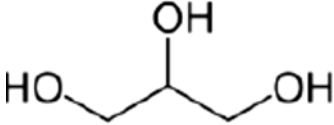
Диоксидин и димексид, применяемые в производстве медицинских изделий «Колегель», целесообразно было рассматривать в этой работе исходя из данных об их антимикробном действии, для того, чтобы оценить их воздействие на присутствующую в альгинатной гидрогелевой композиции микрофлору.

В табл. 8 приведена информация о стабилизирующих добавках, которые мы использовали в настоящей работе. Данные добавки были выбраны исходя из их консервирующей способности, для ингибирования контаминирующей микрофлоры до финишной стерилизации и для обеспечения стерильности в течение гарантированного срока годности, а также исходя из возможности сохранения с помощью приведенных ниже добавок вязкости композиции после радиационной стерилизации [36,107,108]. Нашей целью являлось подобрать такую добавку (или комплекс добавок), которая работала бы в каждом из двух названных направлений. При выборе стабилизаторов мы также руководствовались их низкой токсичностью (перечисленные вещества являются безвредными для организма человека), а также их ценовыми характеристиками.

Таблица 8. Стабилизирующие добавки, используемые в работе

№	Наименование консервирующей добавки, структурная формула	Техническая характеристика
1	Сорбат калия 	Белые гранулы, растворимые в воде. Сорбат калия обладает слабой активностью против бактерий, умеренной активностью против дрожжей и высокой активностью против плесени. С целью высвобождения недиссоциированной сорбиновой кислоты понижают pH после введения сорбата в рецептуру. Сорбиновая кислота угнетает важные ферменты углеводного обмена клетки. Также она нарушает цикл лимонной кислоты. Максимальная безопасная концентрация 0,15 -0,25%.
2	Бензойная кислота 	Белый кристаллический порошок с запахом миндаля, плохо растворяется в воде, растворимость увеличивается при нагревании раствора. Микробиологическим эффектом обладает недиссоциированная форма, которая хорошо проникает через клеточную мембрану. Максимальная допустимая концентрация кислоты в фармацевтических препаратах 0,1-0,25%.

		Микробиологическим эффектом обладает недиссоциированная бензойная кислота, которая достаточно хорошо проникает в клетку через клеточную мембрану. Максимальная допустимая концентрация кислоты в фармацевтических препаратах 0,1-0,25%.
3	NovaSol DS/4 ¹ Водо- и жирорастворимый солюбилизат 4% сорбиновой кислоты.	Состав: 4% сорбиновой кислоты, эмульгатор. Вязкая жидкость желтого цвета с характерным запахом. Полностью растворим в воде и в большинстве полярных органических растворителей.
4	NovaSol DS/12 ¹ Водо- и жирорастворимый солюбилизат 12% бензойной кислоты.	Состав: 12% бензойной кислоты, эмульгатор. Вязкая жидкость желтого цвета с характерным запахом. Данный консервант представляет собой солюбилизат со структурой мицелл, заключающих в себе минимально 12% сорбиновой кислоты. Растворим в воде и в полярных органических растворителях.
5	NovaSol DS/44 ¹ Водо- и жирорастворимый солюбилизат 4% сорбиновой и 4% бензойной кислоты.	Состав: 4% сорбиновой кислоты, 4% бензойной кислоты, эмульгатор. Вязкая жидкость желтого цвета с характерным запахом. Данный консервант представляет собой солюбилизат со структурой мицелл, заключающих в себе минимально 4% сорбиновой кислоты и 4% бензойной кислоты. Растворим в воде и в полярных органических растворителях.
6	Euxyl [®] PE 9010 ² (феноксизтанол - ФЭ) 	Консервант на основе 2-феноксизтанола. Почти бесцветная жидкость с характерным запахом. Ограничено растворим в воде и неполярных растворителях. Отлично растворим в полярных органических растворителях, таких как спирты, эфиры, сложные эфиры и кетоны. Активен при pH до 12. Консервант одинаково эффективен против бактерий, дрожжей и плесневых грибов.
7	Fortra 101 Dry (экстракт мяты) ²	Рассыпчатый порошок зеленоватого цвета с характерным запахом мяты, хорошо растворим в воде, используется в качестве антиоксиданта в пищевой промышленности
8	NovaSol Curcumin (куркумин) ¹	Состав: 6% куркумина E100, заключенного в мицеллы Вязкая жидкость оранжевого цвета, хорошо растворима в воде

9	ПЭГ 3000 (полиэтиленгликоль) $\text{HO}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2)_n-\text{CH}_2-\text{OH}$	Белый порошок. Растворим в воде. Молекулярная масса 3000 Да.
10	Глицерин 	ГОСТ 6279-75. Глицерин – бесцветная, вязкая, очень гигроскопичная жидкость, смешивается с водой в любых пропорциях. Глицерин относится к группе стабилизаторов обладающих свойствами сохранять и увеличивать степень вязкости, а так же консистенции пищевых продуктов. Зарегистрирован как пищевая добавка E422, и используется в качестве эмульгатора, при помощи которого смешиваются различные несмешиваемые смеси.
11	Этанол $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	ФС 000490-190213. Концентрат 95% Бесцветная прозрачная подвижная жидкость с характерным спиртовым запахом.
12	Серебро азотнокислое AgNO_3	ГОСТ 83-79 «хч» Молекулярная масса: 105,99 г/моль Описание: светочувствительные кристаллы, в массе - белого цвета, легко растворяется в воде
13	Натрий углекислый б/в Na_2CO_3	ГОСТ 1277-75 «хч» Молекулярная масса: 169.87 г/моль Описание: порошок тонкого помола, белого цвета, хорошо растворимый в воде
14	Кальций углекислый CaCO_3	ГОСТ 4530-76 «ч» Молекулярная масса: 100.09 г/моль Описание: порошок белого цвета, нерастворим в воде. Применяется как пищевая добавка.
15	Сорбиновая кислота (2,4-гексадиеновая кислота) $\text{CH}_3-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$	ГОСТ 32779-2014 Молекулярная масса: 112.12 г/моль Описание: бесцветные кристаллы, плохо растворимые в воде. Применяется в качестве пищевой добавки, относится к группе консервантов.
¹ образец предоставлен ЗАО «АКВАНОВА РУС»; ² образец предоставлен компанией Bang & Bonsomer Group Oy		

2.1.2. Реактивы, используемые при приготовлении питательных сред и вспомогательных растворов

Для приготовления растворов, являющихся растворителями испытуемых образцов (сырья, гидрогелевых композиций), в качестве модельных сред в

спектрофотометрическом анализе использовали реактивы, перечисленные в таблице 9.1. При микробиологическом анализе использовали питательные среды, указанные в таблице 9.2.

Таблица 9.1. Реактивы, используемые в работе

№	Наименование консервирующей добавки, структурная формула	Техническая характеристика
1	Твин-80 Брутто-формула: $C_{58}H_{114}O_{26}$	Содержание основного вещества: 97,0 % Молекулярная масса: 3,572 кг/кмоль Плотность: 1,07 г/см ³ Описание: представляет собой вязкую водорастворимую жидкость янтарно-желтого цвета, также хорошо растворяется в спирте. Относится к классу поверхностно-активных веществ и эмульгаторов; пищевая добавка Е 433.
2	Калий фосфорнокислый однозамещенный Химическая формула: KH_2PO_4	«ч.д.а» Молекулярная масса: 136,086 г/моль Описание: калиевая соль ортофосфорной кислоты; порошок белого цвета. При температуре 252,6°С разлагается до ортофосфата калия и воды. Растворимость в воде следующая: при 20 °С в 100 мл растворяется 22,6 г, при 90 °С — 83,5 г.
3	Натрий фосфорнокислый двухзамещенный Химическая формула: Na_2HPO_4	«ч.д.а» Молекулярная масса: 141,96 Описание: кислая соль натрия и ортофосфорной кислоты, бесцветные кристаллы, хорошо растворимые в воде, образует кристаллогидраты.
4	Хлорид натрия Химическая формула: $NaCl$	«х.ч.» Молекулярная масса: 58,44 г/моль Описание: чистый хлорид натрия имеет вид бесцветных кристаллов. Умеренно растворяется в воде, растворимость мало зависит от температуры
5	Пептон ферментативный	Мелкодисперсный порошок серого цвета с белыми вкраплениями. Продукт гидролиза белков: смесь свободных аминокислот и пептидов, растворимых и после нагревания до 100°С. Основной компонент питательных сред; является легко доступным источником азота для микроорганизмов, которые обычно не растут на исходных белках.

В качестве основного растворителя в работе использовалась вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

Таблица 9.2. Бактериологические питательные среды, используемые в работе

№	Наименование консервирующей добавки, структурная формула	Состав и назначение
1	Питательная среда №1 ГРМ сухая ¹	Состав: пептон ферментативный, агар, экстракт дрожжевой, натрий хлористый. Используется для выращивания и подсчета общего числа бактерий.
2	Питательная среда №2 ГРМ (Сабуро) сухая ¹	Состав: пептон ферментативный, агар, глюкоза. Используется для выращивания и подсчета общего числа дрожжевых и плесневых грибов.
3	Тиогликолевая среда сухая ¹	Состав: панкреатический гидролизат казеина, экстракт дрожжевой, натрий хлористый, глюкоза, натрия тиогликолят, натрий углекислый, цистеина гидрохлорид, агар. Используется для проведения испытаний на стерильность лекарственных средств и медицинских изделий
4	Бульон Сабуро сухой ¹	Состав: пептон ферментативный, агар, глюкоза. Используется для культивирования дрожжей и грибов.

¹Производитель: ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

Кроме классического чашечного агарового метода при подсчете общего количества микроорганизмов использовали тест-подложки Compact Dry TC с нанесенной питательной средой.

2.2. Методики приготовления гидрогелевых композиций

2.2.1. Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия

Композиция на основе альгината натрия имеет следующий состав:

	% масс.
Альгинат натрия	7,0
Вода дистиллированная	93,0

Предварительно взвешивают необходимое количество альгината натрия на аналитических весах Sartorius CP 64 с точностью до 0,01 г, мерным цилиндром отмеряют нужный объем дистиллированной воды. Затем к альгинату натрия приливают необходимый объем воды. Тщательно перемешивают и оставляют набухать в течение 1,5-2,0 ч., после чего снова перемешивают композицию. Готовый гидрогель должен быть бежевого цвета и иметь однородную консистенцию.

2.2.2. Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином

Композиция на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином имеет следующий состав:

	% масс.
Альгинат натрия	7,0
Диоксидин	0,9
Лидокаин	2,0
Вода дистиллированная	90,1

Мерным цилиндром отмеряют нужный объем дистиллированной воды и растворяют в нем предварительно взвешенное на весах Sartorius CP 64 количество диоксидина и лидокаина (0,9% и 7,0% масс. соответственно). После полного растворения ЛВ небольшими порциями добавляют нужное количество альгината натрия при постоянном перемешивании и оставляют набухать в течение 1,5-2,0 ч. После чего снова перемешивают композицию. Готовый гидрогель должен быть бежевого цвета и иметь однородную консистенцию.

2.2.3. Методика приготовления гидрогелевых композиций на основе различных полимеров

Композиции на основе альгината натрия высокой степени очистки (манукола), поли-N-винилпирролидона, КМЦ готовили согласно методике описанной в 2.2.1. Концентрация всех перечисленных полимеров в композиции составляла 7%.

2.2.3.1. Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе поливинилового спирта

Композиция на основе поливинилового спирта имеет следующий состав:

	% масс.
ПВС	7,0
Вода дистиллированная	93,0

Предварительно взвешивают необходимое количество ПВС на аналитических весах Sartorius CP 64 с точностью до 0,01 г, мерным цилиндром отмеряют нужный объем дистиллированной воды. Затем к ПВС приливают необходимый объем воды, оставляют набухать 1,5-3 ч, затем нагревают композицию на водяной бане до 70 - 90°C, постоянно перемешивая, до полного растворения. Готовый гидрогель должен быть прозрачным.

2.2.4. Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином с дополнительным введением поливинилового спирта

В работе исследовались образцы композиций с различным содержанием ПВС: 10%,20%,30% от общего содержания основного полимера в гидрогелевой композиции – альгината натрия. Рецептуры гидрогелевых композиций приведены в табл. 10.

Таблица 10. Состав композиций на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином с дополнительным введением поливинилового спирта

Компоненты композиции	Содержание компонента в % мас. в композиции					
	1	2	3	4	5	6
Альгинат натрия	6,3	5,6	4,9	6,3	5,6	4,9
Диоксидин	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
Лидокаин	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
ПВС 45.000	0,7	1,4	2,1	-	-	-
ПВС 145.000	-	-	-	0,7	1,4	2,1
Вода дистиллированная	90,1	90,1	90,1	90,1	90,1	90,1

Для приготовления геля ПВС, используемого далее в приготовлении альгинатной гидрогелевой композиции, взвешенное на аналитических весах Sartorius CP 64 с точностью до 0,01 г количество ПВС заливают частью

холодной водой и оставляют на 1,5-3 ч для набухания, затем нагревают до 70 - 90°C, постоянно перемешивая до полного растворения. Другую часть воды приливают к диоксидину и лидокаину, после полного их растворения добавляют к раствору необходимое количество альгината натрия, взвешенное на аналитических весах Sartorius CP 64 с точностью до 0,01 г, тщательно перемешивают и оставляют набухать в течение 1.5-2 ч. После остывания полученного геля ПВС до 25-30°C, его вводят в композицию с альгинатом натрия и тщательно перемешивают до однородной консистенции.

2.2.5. Методика приготовления гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с дополнительным введением гиалуроната натрия

В работе были изучены образцы низковязких гидрогелевых композиций на основе альгината натрия и гиалуроната натрия, имеющий следующий состав (табл. 11.):

Таблица 11. Состав композиций на основе альгината натрия с дополнительным введением гиалуроната натрия

Компоненты композиции	Содержание компонента в % мас. в композиции	
	№1	№2
Альгинат натрия	1,5	4,0
Гиалуронат натрия	1,0	1,0
Вода дистиллированная	97,0	95,0

Предварительно на весах Sartorius CP 64 с точностью до 0,01 г взвешивают необходимое количество альгината натрия и гиалуроната натрия, мерным цилиндром отмеряют нужный объем воды дистиллированной. Альгинат натрия смешивают с частью воды, после чего добавляют в смесь гиалуронат натрия и оставшуюся воду, перемешивают и оставляют набухать в течение 1.5-2 ч. После набухания композицию снова перемешивают. Готовый гидрогель должен быть бежевого цвета и иметь однородную консистенцию.

2.2.6. Методика приготовления гидрогелевых композиций на основе альгината натрия со стабилизирующими добавками

Нами исследовались образцы гидрогелевых композиций на основе альгината натрия со стабилизирующими добавками и их смесями, состав которых приведен в табл. 12. Смеси индивидуальных консервантов (№1-9 табл. 12) использовали, поскольку по литературным данным известно, что при использовании смеси консервантов бактериальная микрофлора угнетается сильнее [97].

Таблица 12. Состав гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с различными стабилизирующими добавками

№ образца	Компоненты композиции	%, масс.
1	альгинат натрия сорбат калия вода дистиллированная	7,000 0,150 92,850
2	альгинат натрия сорбат калия вода дистиллированная	7,000 0,200 92,800
3	альгинат натрия сорбат калия вода дистиллированная	7,000 0,250 92,75
4	альгинат натрия бензойная кислота вода дистиллированная	7,000 0,150 92,850
5	альгинат натрия бензойная кислота вода дистиллированная	7,000 0,200 92,800
6	альгинат натрия бензойная кислота вода дистиллированная	7,000 0,2500 92,750
7	альгинат натрия сорбат калия бензойная кислота вода дистиллированная	7,000 0,150 0,150 92,700
8	альгинат натрия сорбат калия бензойная кислота вода дистиллированная	7,000 0,100 0,150 92,750

Продолжение табл. 12

9	альгинат натрия сорбат калия бензойная кислота вода дистиллированная	7,000 0,150 0,100 92,750
10	альгинат натрия DS/4 вода дистиллированная	7,000 0,250 92,75
11	альгинат натрия DS/44 вода дистиллированная	7,000 3,125 89,875
12	альгинат натрия DS/12 вода дистиллированная	7,000 2,125 90,875
13	альгинат натрия феноксизтанол вода дистиллированная	7,000 1,000 92,000
14	альгинат натрия феноксизтанол вода дистиллированная	7,000 1,000 92,000
15	альгинат натрия экстракт мяты вода дистиллированная	7,000 0,250 92,75
16	альгинат натрия экстракт куркумина вода дистиллированная	7,000 0,250 92,75
17	альгинат натрия экстракт ромашки и крапивы вода дистиллированная	7,000 2,000 91,000
18	альгинат натрия гель-концентрат с НЧС ² вода дистиллированная	7,000 (1-5) 92,000

Предварительно на весах Sartorius CP 64 взвешивают необходимое количество альгината натрия и консерванта, мерным цилиндром отмеряют нужный объем воды дистиллированной. Готовят раствор консерванта в воде (если консервант плохо растворим в воде, то систему нагревают не более, чем до 40°C).

² Наночастицы серебра, полученные по методике [101], стабилизированные альгинатом натрия. В данной работе изучалась антимикробная активность данной добавки при различных концентрациях введения в альгинатную гидрогелевую композицию (от 1 до 5%)

Далее в систему вводят альгинат натрия, тщательно перемешивают и оставляют набухать в течение 1,5 -2,0 ч., после чего снова перемешивают композицию. Готовый гидрогель должен быть бежевого цвета и иметь однородную консистенцию.

2.2.7. Методика приготовления геля-концентрата с наночастицами серебра

Готовят раствор А (0,1 М раствор натрия углекислого): 1,06 г натрия углекислого помещают в мерную колбу объемом 100 мл, растворяют в дистиллированной воде, после чего доводят объем раствора дистиллированной водой до метки.

Готовят раствор В (0,1 М раствор азотнокислого серебра): навеску 1,70 г азотнокислого серебра помещают в мерную колбу объемом 100 мл, растворяют в дистиллированной воде, после чего доводят объем раствора дистиллированной водой до метки.

К 80,00 г альгинатной гидрогелевой композиции (2.2.1.) прибавляют 10 мл раствора А и тщательно перемешивают композицию до однородности. Затем к полученной композиции прибавляют 10 мл раствора В и снова тщательно перемешивают. Полученный гель-концентрат выдерживают при комнатной температуре в течение 3 часов и перемешивают каждые 30 мин, наблюдая за изменением цвета. Готовый гель-концентрат должен иметь не изменяемый во времени темно-коричневый цвет, который свидетельствует об образовании в полимерной матрице наночастиц серебра, и однородную консистенцию.

2.3. Методы исследования

2.3.1. Методика определения реологических характеристик гидрогелевых композиций

Оценка динамической вязкости исследуемых гидрогелевых композиций проводилась на программируемом вискозиметре Брукфилда RVDV-II+Pro. Программируемый вискозиметр RVDV-II+Pro компании Брукфилд (Brookfield) предназначен для измерения вязкости при заданных скоростях сдвига.



Рис. 16. Программируемый вискозиметр RVDV-II+Pro компании Brookfield

Принцип работы вискозиметра RVDV-II+Pro – вращение специального измерительного шпинделя, погруженного в тестируемую жидкость, посредством калиброванной спиральной пружины.

Исследование вязкостных свойств дает возможность оценить особенности вязкого течения изучаемых гидрогелевых композиций, на основе чего провести их сравнительный анализ.

2.3.2. Методика спектрофотометрических определений

Количественный анализ веществ по их спектрам основан на законе Бугера-Ламберта-Бера, в соответствии с которым, интенсивность поглощения и концентрация поглощающего вещества связаны между собой прямо пропорциональной зависимостью. Снятие спектра поглощения необходимо для определения характеристической длины волны ЛВ, при которой в дальнейшем будут проводиться количественные определения. На практике для определения интенсивности поглощения света используют величину оптической плотности (D), равную десятичному логарифму коэффициента обратного пропускания. Для измерения спектров использовали спектрофотометр СФ-102.

Навеску ЛВ (диоксидина, лидокаина гидрохлорида) растворяли в расчетном объеме дистиллированной воды (или физиологического раствора). Величина массы навески определялась с учетом того, что оптимальные значения оптической плотности находятся в области от 0,2 до 1,7; надежно определяемые значения оптических плотностей находятся в интервале от 0,5 до 1,0 [109]. По полученному спектру определяли аналитическую длину волны ЛВ (длина волны, измерения при которой, обладают максимальной чувствительностью определения

и воспроизводимостью и меньше проявляется влияние сопутствующих примесей), соответствующую максимуму полосы поглощения. В тех случаях, когда в спектрах поглощения было выявлено несколько максимумов, для дальнейших определений выбирали самый длинноволновый, ярко выраженный пик, т.к. в коротковолновых областях мешающее действие рассеянного света проявляется сильнее. Построение калибровочных графиков проводили с использованием стандартных растворов ЛВ, получаемых методом разбавления базового раствора.

Из базового раствора методом разбавления получали стандартные растворы для калибровки.

2.3.2.1. Методика определения скорости и степени высвобождения лекарственного вещества из гидрогелевой композиции во внешнюю среду

С помощью данной методики определяли, насколько быстро и в каком количестве высвобождается ЛВ (диоксидин и лидокаин) из изучаемых гидрогелевых композиций, после чего на основании полученных данных производили сравнительный анализ результатов и выбирали наиболее оптимальную композицию.

В коническую колбу объемом 100 мл помещали точную навеску исследуемой композиции. Растворяли ее в необходимом объеме модельной среды (физиологического раствора).

Объем физиологического раствора в мл рассчитывали по формуле:

$$V = m_{обр} \cdot M \quad (3)$$

где $m_{обр}$ – масса образца гидрогелевой композиции, мг

M – модуль разбавления, $M = 2$

Колбу с раствором перемешивали на водяной бане при до 37°C со скоростью 50 об/мин. Степень (количество) и скорость десорбции ЛВ изучали спектрофотометрически путем отбора пробы из колбы через определенные промежутки времени, определения оптической плотности раствора и соответствующей ей концентрации ЛВ в пробе относительно модельной среды. Нами использовалась модель «с уносом», при которой каждая отобранная проба анализируемого раствора заменяется свежей порцией модельной среды того же

объема. Такая модель позволяет приблизиться к реальным условиям, когда часть действующего вещества «уносится» кровотоком или с раневым отделяемым в организм пациента. Для каждого образца было проведено не менее 3 параллельных испытаний.

Пересчет концентрации в мг десорбированного лекарственного вещества из 1 г гидрогелевой композиции определялся по формуле:

$$C = \frac{c \left[\frac{\text{мг}}{\text{л}} \right] \cdot V_{\text{мод.ср.}}}{m_{\text{комп.}} \cdot 1000} \quad (4)$$

где $c \left[\frac{\text{мг}}{\text{л}} \right]$ – экспериментально полученная концентрация лекарственного вещества в отобранной пробе;

$V_{\text{мод.ср.}}$ - объем модельной среды, мл;

$m_{\text{комп.}}$ – навеска композиции, взятой для испытания, г.

Далее определялось процентное содержание десорбированного лекарственного вещества от общего содержания лекарственного вещества в 1 г гидрогелевой композиции.

2.3.3. Микробиологические исследования³

2.3.3.1. Методики отбора и подготовка проб исследуемых образцов гидрогелевых композиций и сырья при определении микробной обсемененности

При количественном определении микробной обсемененности (общего количества бактерий и грибов) исследуемых гидрогелевых композиций пользовались следующей методикой пробоподготовки:

1. 10 г геля асептически помещают в стерильную колбу.
2. Добавляют 100 мл стерильного фосфатного буфера.
3. Нагревают до температуры не более, чем 40°C.
4. Перемешивают до получения однородной системы.

³ Автор выражает большую благодарность к.б.н., сотруднику кафедры «Технология химико-фармацевтических и косметических средств» РХТУ им. Д.И. Менделеева Буторовой И.А. за оказанную помощь при микробиологических исследованиях в данной диссертационной работе.

При количественной оценке микробной обсемененности сырья, используемого для приготовления гидрогелевых композиций, отбор и подготовку проб проводили следующим образом:

1. 1 г сырья асептически помещают в стерильную колбу.
2. Добавляют 100 мл стерильного фосфатного буфера.
3. Альгинат натрия гомогенизировали в фосфатном буфере в течение 10 мин. при 120 об./мин.

2.3.3.2. Методика количественного определения бактерий и грибов

В данной работе для количественной оценки микроорганизмов использовался поверхностный вариант чашечного агарового метода [110]. Он заключается в высеве определенного объема исследуемой пробы на твердую среду в чашки Петри и последующем подсчете числа выросших колоний, что позволяет вести учет только жизнеспособных клеток микроорганизмов. Учет микроорганизмов производили в следующей очередности:

1. Приготовление разведений.

С целью получения изолированных колоний готовят последовательность разведений. Для приготовления разведений стерильный фосфатный буфер разливают по 9 мл в стерильные сухие пробирки. Затем 1 мл исследуемой суспензии стерильной пипеткой переносят в пробирку с 9 мл стерильного фосфатного буфера – это первое разведение (10^{-1}). Полученное разведение тщательно перемешивают новой стерильной пипеткой, несколько раз вбирая полученную суспензию клеток в пипетку и выпуская из нее. Затем той же пипеткой отбирают 1 мл суспензии и переносят во вторую пробирку, получая второе разведение (10^{-2}). Таким же образом готовят следующие разведения (рис.17) [111].

Степень разведения зависит от плотности исследуемой популяции микроорганизмов; соответственно она тем больше, чем больше плотность популяции.

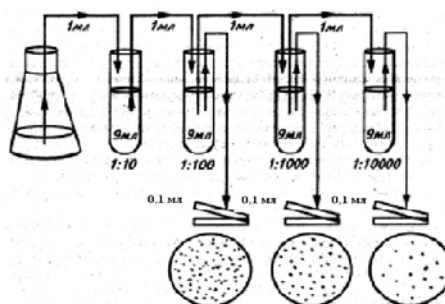


Рис.17. Схема приготовления разведений образца гидрогелевой композиции и посева[111]

2. Посев.

В чашку Петри с подсушенной средой вносят точно измеренный объем (0.1 мл) соответствующего разведения и распределяют его по поверхности среды стерильным стеклянным шпателем. Посевы можно делать одной пипеткой, но при этом начинать следует обязательно с большего разведения. Для каждого разведения используют новый стерильный шпатель. После посева чашки Петри с засеянными средами переворачивают вверх дном, помещают в термостат и инкубируют в течение определенного срока при необходимой температуре.

3. Подсчет выросших колоний

Подсчет колоний проводят, не открывая чашек Петри. Для удобства каждую посчитанную колонию отмечают точкой на наружной стороне дна чашки. При большом количестве колоний дно чашки делят на секторы, просчитывают колонии в каждом секторе и суммируют результаты.

Количество микроорганизмов в 1 г исследуемого образца определяли по следующей формуле:

$$M = \frac{a}{V} \cdot 10^n, \quad (5)$$

M – количество клеток микроорганизмов в 1 г исследуемого образца;
 a – среднее число колоний, выросших после посева из данного разведения;
 V – объем суспензии, взятый для высева, мл;
 10^n – коэффициент разведения.

4. Для того, чтобы узнать общее количество микроорганизмов в 1 г исследуемого образца, полученное количество бактерий и грибов суммировали.

Кроме плотных питательных сред при количественном определении ОМЧ, пользовались также тест-подложками с нанесенной аналогичной сухой питательной средой, позволяющей учитывать одновременно и грибы и бактерии.

2.3.4. Микроскопические исследования

Для подтверждения морфологического типа выросших микроорганизмов были проведены микроскопические исследования.

Образцы микроскопировали с объективом 100 МИ, препарат «раздавленная капля».

Исследования проводили с помощью микроскопа МБИ – 6 (фазово-контрастная микроскопия).

Фазовый контраст представляет собой идеальный метод для тонких неокрашенных предметов, например, клеток на стекле, которые в ядре имеют «высоту» около 5-10 мкм, на периферии менее 1 мкм и почти не обладают поглощением в видимой части спектра. Глаз не распознаёт их в светлом или темном поле. Однако имеются очень незначительные различия в показателе преломления между клетками и окружающим их водным раствором, а также в пределах клеток между цитоплазмой и ядром. Фазовый контраст делает эти мельчайшие различия видимыми благодаря оптическим средствам, т.е. он преобразует их в разность интенсивностей [111].

Микроскопические исследования проводили следующим образом:

1. Включить микроскоп и поместить препарат на предметный столик .
2. На выбранный выбранный участок препарата пипеткой наносят маленькую каплю иммерсионного масла
4. Осторожно опустить иммерсионный объектив (100×) до соприкосновения его фронтальной линзы с каплей масла
5. Сфокусировать объект с помощью макро- и микровинтов микроскопа, подобрать необходимое положение препарата
6. По окончании микроскопических исследований, удалить остатки иммерсионного масла с линзы объектива, тщательно протирая ее мягкой тканью.

2.3.4.1. Методика приготовления препарата для микроскопирования

В данной работе при микроскопических исследованиях выросшей микрофлоры использовали препарат «раздавленная капля».

На обезжиренное предметное стекло наносят каплю водопроводной воды, помещают в нее небольшое количество клеток изучаемых микроорганизмов, размещивают и накрывают покровным стеклом. Микроорганизмы, выращенные на плотной среде, переносят в каплю воды бактериологической петлей, которую предварительно прокалывают в пламени спиртовки. Капля исследуемого материала должна быть настолько мала, чтоб из-под покровного стекла не выступал избыток жидкости. Если он образовался, его необходимо удалить фильтровальной бумагой.

2.3.5. Методика проверки образцов по показателю «стерильность»

Образцы гидрогелевых композиций, прошедшие радиационную стерилизацию, проверяли по показателю «Стерильность», чтобы оценить эффективность того или иного режима стерилизации, а также обосновать применение консервирующих добавок.

Проверку проводили по следующей методике согласно рекомендациям, представленным в [112]:

1. Для испытания отбирают пробы образцов гидрогелевой композиции в количестве 10 г (10% от содержимого упаковки), при вскрытии образцов не допускают их контаминации микроорганизмами, находящимися на его внешней поверхности, упаковки протирают спиртом этиловым (96%) и фламбируют.

2. Отобранные в стерильные колбы ($V= 100$ мл) пробы растворяют в жидкой питательной среде и осторожно перемешивают, не допуская образования пены.

3. Пробы инкубируют не менее 14 сут. при температуре $(22,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ и $(32,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ для грибов и бактерий соответственно, периодически просматривая питательную среду.

4. Наличие роста микрофлоры определяют визуально; если исследуемая проба вызывает помутнение питательной среды и визуально нельзя определить наличие или отсутствие роста микроорганизмов, то через 14 сут. после начала испытания переносят не менее 1мл помутневшей среды в пробирки с той же стерильной питательной средой, инкубируют новые и исходные пробы, общее время инкубации 14+4 сут.

5. При отсутствия роста микроорганизмов, считают, что исследуемый образец соответствует требованиям испытания; при наличии роста микроорганизмов, наблюдаемом визуально и подтверждаемом микроскопическим исследованием, считают, что исследуемый образец не соответствует требованиям испытания на стерильность.

Для проверки образцов на стерильность используются жидкие питательные среды (бульон Сабуро и тиогликолевая для грибов и бактерий соответственно), указанные в приложении А.4.

2.3.6. Методика сравнения антимикробной активности стабилизирующих добавок диско-диффузионным методом

Для сравнительной оценки антимикробной активности стабилизирующих добавок диско-диффузионным методом [113,114] использовали суточные культуры микроорганизмов музейных штаммов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Candida albicans* ATCC 10231, *Escherichia coli* ATCC 25992, *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

1. Готовили инокулят суточных культур тест-штаммов бактерий и *C. albicans*, смывая их с поверхности скошенного агара стерильным 0,9% раствором хлористого натрия. Концентрацию клеток бактерий доводят до 10^9 КОЕ/мл, а *C. albicans* – 10^8 КОЕ/мл, используя стандарт мутности Мак-Фарланда (McF).

2. 0,1 мл приготовленного инокулята бактерий высевали на питательную среду №1, 0,1 мл приготовленного инокулята *C. albicans* высевали на питательную среду №2 (Сабуро).

3. Стерильные диски из фильтровальной бумаги диаметром 6 мм с помощью стерильного пинцета на 1-2 с погружали в анализируемую гидрогелевую композицию с введенной стабилизирующей добавкой, а затем накладывали их на посев на расстоянии 2,5 см от центра чашки по кругу (на одну чашку 5 дисков). Также на посев накладывали диск, погруженный в гидрогелевую композицию без введения стабилизирующих добавок (контрольный образец).

4. Посевы инкубировали 18–24 ч при температуре $(22,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ для *S. albicans* и $(32,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ для бактерий.

5. После инкубации на фоне равномерного газона вокруг дисков образовывались зоны подавления роста тест-микроорганизмов круглой формы.

6. Учет результатов осуществляли путем измерения диаметра зоны подавления роста тест-микроорганизмов, после чего полученные данные по антимикробной активности стабилизирующих добавок подвергались сравнительному анализу.

2.4. Методика определения высыхаемости гидрогелевых композиций

Образцы гидрогелей помещают в чашки Петри с постоянной площадью 10,0 см² и высотой 0,5 см. Заполняют до краев, избегая образования пузырьков воздуха, излишки удаляют стеклянной палочкой, образуя ровную поверхность испарения, определяют массу на аналитических весах. Подготовленные таким образом чашки с гелями хранят в течение 20 суток при температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и относительной влажности 45-50%. Взвешивание образцов проводят ежедневно в течение первых 5-ый дней, затем на 10-ый день, 15-ый и 20-ый дни. Убыль в весе выражают в процентах по отношению к первоначальной массе [115].

2.5. Методика определения адгезивности гидрогелевых композиций

Адгезивность (липкость) гидрогелевых композиций в зависимости от вводимых стабилизаторов определяли на анализаторе текстуры Brookfield СТЗ с программным обеспечением (рис.19). Принцип работы анализатора текстуры СТЗ заключается в том, что образец композиции подвергается действию

контролируемых сил при нажатии цилиндрического зонда. Сопротивление гидрогеля этим силам измеряется с помощью динамометрического датчика. Адгезивность (липкость) является функцией свойств образца и параметров метода испытания.



Рис. 18. Анализатор текстуры Brookfield CT3

В режиме сжатия зонд медленно перемещается с предварительно заданной скоростью до достижения порогового значения. Затем зонд под определенной нагрузкой, которая является функцией времени и расстояния, входит с заданной скоростью на заданное расстояние в подложку с гидрогелем, размещенную на опорном столике, после чего возвращается в исходное положение. Для выполнения анализа испытуемый гидрогель, помещенный на подложку, кладется на предметный столик, через программное обеспечение задаются параметры образца и параметры прижатия (они моделируют степень прижатия аппликации с нанесенной лечебной гидрогелевой композицией к коже пациента). На гидрогель опускается зонд с цилиндрической насадкой, происходит надавливание. После достижения заданной нагрузки происходит время удерживания при этой нагрузке. Время удерживания позволяет контролировать отклик материала на удержание в состоянии прижатия цилиндра, после чего происходит отрыв зонда от гидрогелевой композиции с определенной силой, которая фиксируется датчиком прибора.

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Медицинские изделия, контактирующие при их применении непосредственно с поврежденными тканями и кровью, должны выпускаться обязательно стерильными. Это же относится и к салфеткам «Колетекс», представляющим собой текстильный материал с односторонним нанесением композиции из гидрогеля альгината натрия и лекарственного вещества, и гидрогелевым материалам «Колегель», состоящим из природных биополимеров (альгината натрия, гиалуроната натрия и т.д.) и лекарственного вещества. Наличие в этих материалах биополимеров в форме гидрогеля определяет способ их стерилизации, а именно использование радиационной стерилизации, поскольку тепловая обработка не только может изменить свойства компонентов композиции, но и повлиять на внешний вид изделий, сделать невозможным их использование, при этом не гарантируя их стабильности при термической обработке.

Для того, чтобы добиться стерильности изделий при радиационной обработке, необходимо использовать соответствующие дозы облучения и время обработки. Например, для стерилизации салфеток марки «Колетекс» согласно утвержденной нормативной документации эта доза составляет 15 кГр, что соответствует принятым в РФ нормам. Для материалов, имеющих непосредственный контакт со слизистыми оболочками и раневыми поверхностями, эта доза может быть увеличена до 25 кГр.

Что касается стерилизации гидрогелей «Колегель», то их радиационная обработка является очень сложной задачей. Это связано с тем, что если салфетки на текстильной основе «Колетекс» поступают на стерилизацию предварительно высушенными при температуре 23-25°C, то гидрогели «Колегель» в основе своей содержат воду (93-95% масс.). Поэтому если для текстильных салфеток радиолит нанесенного на поверхность биополимера и потери прочностных показателей изделия не критичны, то для гидрогелевых материалов радиолит может привести

к существенному изменению свойств, а именно потери вязкости композиции из-за разрушения связей в макромолекулах полимера.

Следовательно, перед технологом, создающим материалы на гидрогелевой биополимерной основе, стоит сложная компромиссная задача создания таких условий получения и стерилизации материала, чтобы он не потерял свои вязкостные свойства, но приобрел стерильность, гарантированную в течение не менее 2 лет.

В данной работе рассмотрены принципиально возможные варианты решения этой сложной компромиссной задачи.

3.1. Влияние дозы и типа стерилизующей установки при радиационном облучении на реологические свойства гидрогелевой композиции

Стадия финишной радиационной стерилизации осложнена тем, что радиационное воздействие осуществляется на очень сложном специфическом оборудовании. Данное оборудование находится не на предприятии, непосредственно изготавливающим лечебные материалы, в том числе и марки «Колегель», а в специальных организациях, где установлены ускорители электронов или другое (подобное) оборудование, требующее определенных условий труда, очень серьезной радиационной защиты персонала от облучения, дозиметрического контроля и т.д.

Как уже было сказано в литературном обзоре, на данный момент существует 2 типа наиболее часто используемых стерилизующих установок (табл. 2), отличающиеся типом источника радиационного облучения: электронно-лучевая стерилизация и гамма-стерилизация.

В соответствии с международными требованиями, предъявляемыми к проведению радиационной стерилизации медицинских изделий, стерилизующая доза должна составлять не менее 15-25 кГр. Такой режим стерилизации предусмотрен для таких изделий как инъекционные шприцы, системы переливания крови и т.д., при этом доказано, что качество таких изделий не будет ухудшаться из-за радиационного воздействия.

В нашем случае, так как речь идет о стерилизации биополимерных материалов на основе природных полисахаридов, то стерилизующая доза должна быть значительно ниже, чтобы предотвратить протекание радиолиза и, как следствие, снижение вязкости композиции.

В настоящее время согласно технической документации гидрогелевые композиции «Колегель» на основе альгината натрия стерилизуются дозой 6 кГр. Эта доза обеспечивает стерильность изделий в течение 1 года, что подтверждено токсикологическими исследованиями (приложение В). Такое малое время сохранения стерильности неудобно для потребителей и сокращает объемы закупок изделия. Поскольку интервал допустимых доз ограничен возможностями стерилизующего оборудования, дозу меньше 6 кГр на используемой для указанных целей установке ГУ- 200М получить технически нельзя. Следующая по величине большая доза - 15 кГр, что могло бы сделать стерилизацию более эффективной и позволило бы гарантировать больший срок годности гидрогеля, однако нами экспериментально установлено, что при повышении дозы с 6 до 15 кГр вязкость альгинатных гидрогелей очень сильно и необратимо теряется (табл. 13), независимо от типа стерилизующей установки, то есть гамма- или электронного облучения, которое в ней используется.

Таблица 13. Влияние дозы облучения на вязкость гидрогелевых композиций на основе альгината натрия

Доза облучения, кГр	Тип обработки	Вязкость гидрогелевой композиции на основе альгината натрия (7%), Па · с
0	-	50,4
6	γ - облучение	2,3
	ЭЛ-облучением	2,1
15	γ - облучение	0,8
	ЭЛ-облучением	0,3

Из данных в табл.13 видно, что гамма-стерилизация и электронная стерилизация дозой 6 кГр снижает вязкость гидрогеля на основе альгината

натрия на 95%, а дозой 15 кГр – практически на 100%. Разница в значениях вязкости композиции после стерилизации в зависимости от типа стерилизующей установки очень мала, хотя можно отметить, что гамма-стерилизация снижает вязкость гидрогеля в несколько меньшей степени. Предполагается, что этот факт обусловлен временем обработки и режимом подачи стерилизующей дозы в камеру со стерилизуемым материалом (табл.2). Так при очень коротком времени стерилизации электронно-лучевым способом вся доза подается одновременно, т.е. «залпом», при этом гидрогель деструктурируется в большей степени по сравнению с гамма-стерилизацией, где стерилизующая доза накапливается постепенно в течение нескольких часов. Это дает нам основание выбрать для дальнейших исследований гамма-стерилизацию.

Таким образом, показано, что стерилизация в минимально возможной технологической дозе 6 кГр не позволяет получить продукцию с нужными параметрами (стерильность, вязкость). Поэтому при производстве медицинских изделий на основе альгината натрия необходимо решить компромиссную задачу и разработать технологию, предотвращающую резкое падение вязкости композиции после стерилизации с большей дозой и в то же время обеспечивающую стерильность композиции в течение всего срока годности (не менее 2 лет), то есть решить двухпараметрическую задачу компромиссного характера.

3.2. Разработка способов снижения общей микробной обсемененности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия до стадии финишной стерилизации

Одним из способов, позволяющих обеспечить стерильность гидрогелевого материала при сохранении реально возможной технологически дозы облучения 6 кГр, (то есть при которой в меньшей степени снижается вязкость альгинатного гидрогеля), является сокращение начальной микробной обсемененности как сырья, так и приготовленной из него гидрогелевой композиции до проведения стерилизации. Следует предположить, что чем ниже исходная обсемененность

композиции, тем более «щадящими» впоследствии могут быть условия достижения ее стерильности. Решение задачи существенно осложняется тем, что природный биополимер полисахарид альгинат натрия в реальности поступает на производство уже с повышенной микробной обсемененностью, которая в ряде случаев даже превышает значение, указанное в технической документации. Это связано не только с природным происхождением основного сырья для получения альгината натрия – бурых водорослей, но и методикой получения, способом очистки, транспортировки, хранения этого продукта, а также другими факторами. Таким недостатком обладают и другие природные полисахариды. Однако использование альгината натрия при создании медицинских изделий имеет большое преимущество перед другими полимерами, в том числе и синтетическими, заключающееся в его гемостатических свойствах, способности положительно влиять на регенерацию тканей, а также в наличии большого числа микроэлементов.

Нами была определена микробная обсемененность альгината натрия, изготовленного на Архангельском водорослевом комбинате, хранившегося на складе предприятия ООО «Колетекс». Это исследование показало необходимость предпринять меры по ее снижению.

Изначально определяли обсемененность образцов сырья (АН), хранившегося в первичной упаковке во вскрытом состоянии в течение года, а также обсемененность гидрогелевой композиции, приготовленной на основе этого сырья. Результаты эксперимента приведены в табл. 14

Таблица 14. Оценка микробной обсемененности альгината натрия и гидрогелевой композиции, приготовленной на его основе

Микрофлора	Количество микроорганизмов, N, КОЕ/г	
	АН	альгинатный гидрогель (7%)
Грибы	$1,00 \cdot 10^3$	$2,00 \cdot 10^2$
Бактерии	$2,1 \cdot 10^3$	$1,00 \cdot 10^2$
Общее микробное число	$3,1 \cdot 10^3$	$3,0 \cdot 10^2$

По окончании инкубации посевов выросшие колонии были описаны (количество колоний на чашке Петри, размер, вид). Общий вид колоний бактерий и грибов представлен на рис. 19, 20.

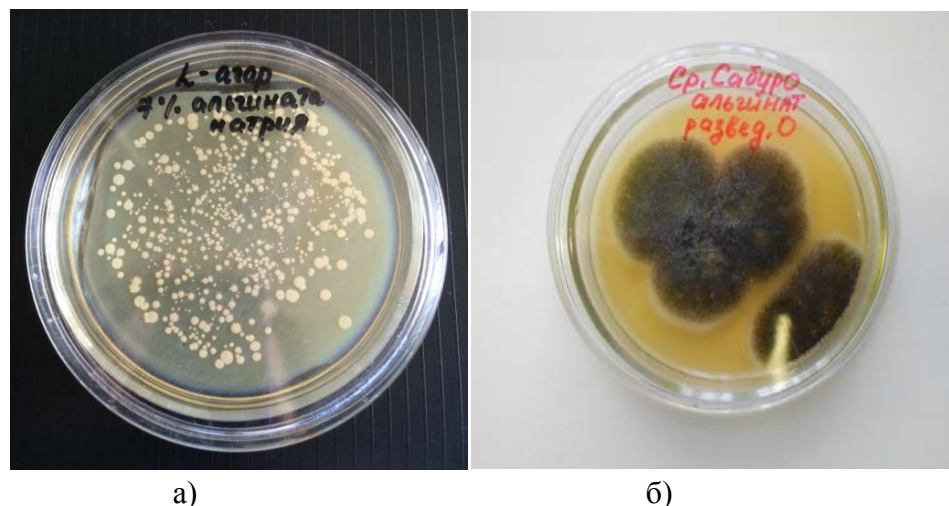


Рис. 19. Морфология бактерий (а) и грибов (б), выросших при высеве проб альгината натрия

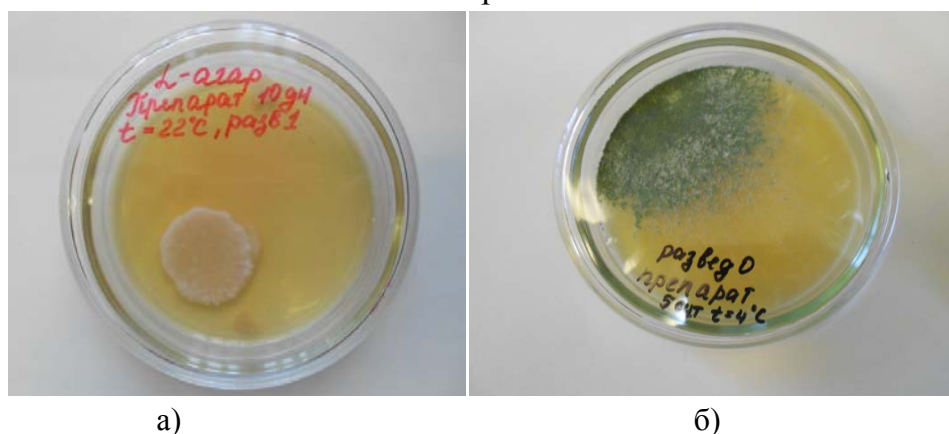


Рис. 20. Морфология бактерий (а) и грибов (б), выросших при высеве проб гидрогелевой композиции на основе альгината натрия

Микроскопические исследования (п. 2.3.4.) показали, что в составе контаминирующей микрофлоры присутствуют одновременно(рис.21):

- бактерии, представленные одинарными и сдвоенными палочками, полиморфными по размеру и форме клеток;
- спорообразующие формы бактерий;
- дрожжеподобные и мицелиальные грибы.

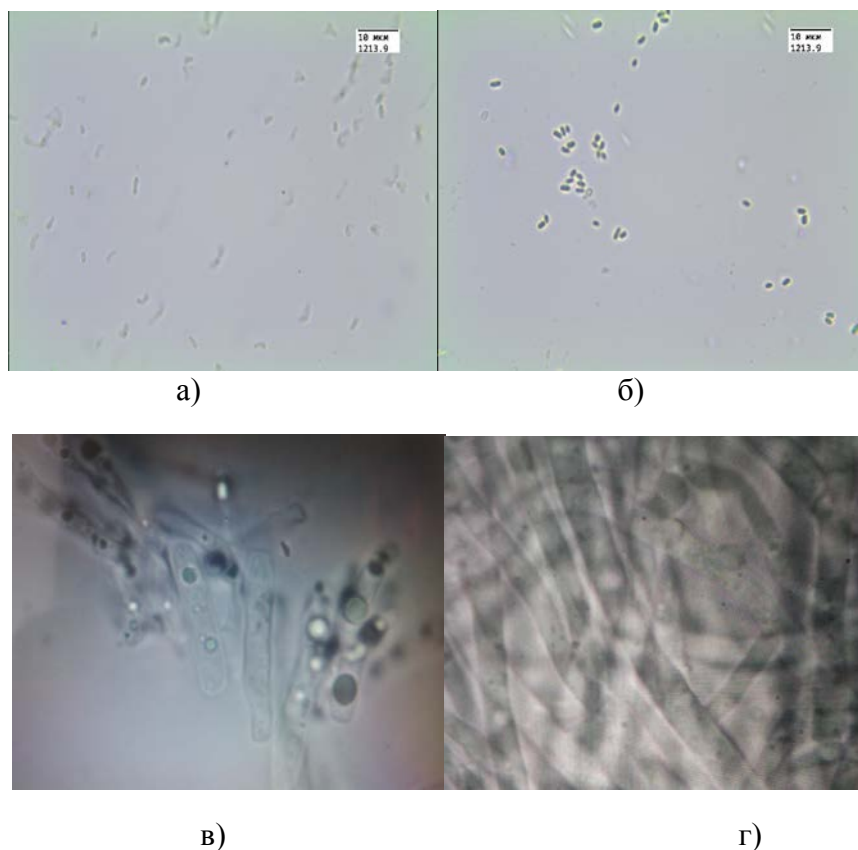
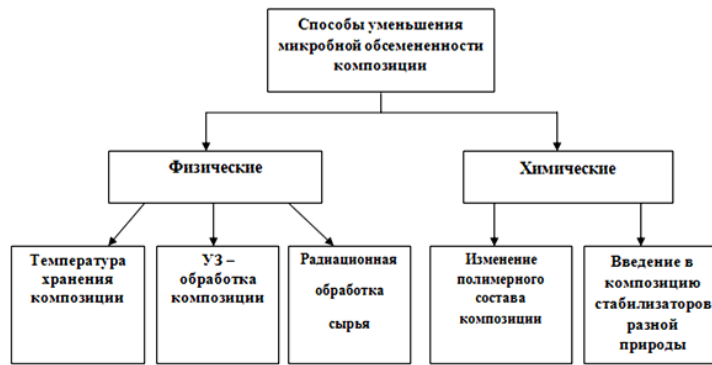


Рис.21. Контаминирующая микрофлора: а - бактерии, б – спорообразующие формы бактерий, в – дрожжеподобные грибы, г – мицелиальные грибы.

По данным табл.14 видно, что обсемененность гидрогелевой композиции на основе альгината натрия в 10 раз меньше обсемененности самого альгината натрия, что объясняется фактором «разведения» дистиллированной водой, добавляемой к сырью (альгинату натрия) при получении композиции.

Как показали исследования, общая микробная обсемененность альгината натрия, хранившегося на складе предприятия, увеличилась за 1 год с $1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г до $3,1 \cdot 10^4$ КОЕ/г, что осложняет его применение для производства стерильных медицинских изделий. Поэтому нами изучались различные возможности снижения микробной обсемененности как непосредственно альгината натрия, так и гидрогелевой композиции на его основе.

Анализируемые нами способы уменьшения микробной обсемененности можно разделить на несколько групп, представленных на следующей схеме.



Нами оценивалось влияние каждого и приведенных способов не только на микробную обсемененность сырья и композиции до финишной стерилизации, но на ее вязкость.

3.2.1. Оценка эффективности физических способов уменьшения общей микробной обсемененности гидрогелевой композиции до финишной стерилизации

На начальном этапе исследований нами было изучено влияние снижения температуры хранения гидрогелевой композиции на рост микрофлоры в ней до стадии финишной стерилизации. В качестве образца в данном эксперименте использовали гидрогелевую композицию на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином марки «Колетекс-АДЛ». Образцы хранили при разных температурах: одну серию - при температуре $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$, вторую серию - при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$, которая обеспечивалась с помощью промышленных холодильных установок. Определяли общую микробную обсемененность всех образцов после 1 суток хранения и после 5 суток хранения. Данные эксперимента иллюстрирует рис. 22.

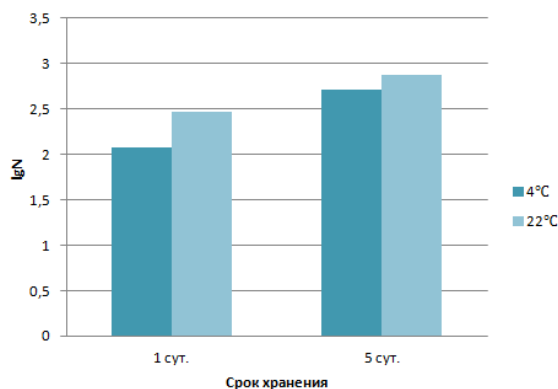


Рис.22. Влияние температуры на изменение микробной обсемененности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином во время хранения до финишной стерилизации

Учитывая, что допустимая в соответствии с документацией на сырье микробная обсемененность альгината натрия не более, чем $1 \cdot 10^2$ КОЕ/г, то и микробная обсемененность композиции на его основе (7,0%мас.) до финишной стерилизации должна быть не более, чем $1 \cdot 10^1$ КОЕ/г в связи с разведением альгината с водой и уменьшением микробной обсемененности.

Данные свидетельствуют о том, что хранение гидрогелевого материала при $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ позволяет сохранить нужные значения микробной обсемененности гидрогелевой композиции - $1 \cdot 10^1$ КОЕ/г ($\lg N = 2$) – только в первые сутки. При дальнейшем хранении снижение температуры практически не оказывает ингибирующего влияния на рост микроорганизмов – по гистограмме видно, что на 5 сутки хранения микробная обсемененность гидрогеля, хранившегося при 4°C , и гидрогеля, хранившегося при $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$, стала практически одинаковой - $5 \cdot 10^1$ КОЕ/г ($\lg N = 2,7$), что недопустимо.

Таким образом, данного технологического подхода недостаточно для снижения микробной обсемененности гидрогелевого материала до финишной стерилизации. Удовлетворительное значение микробной обсемененности гидрогелевой композиции отмечено лишь в первые сутки хранения при температуре 4°C , что делает данное технологическое решение малоэффективным, поскольку финишная стерилизация медицинских изделий может быть проведена не ранее, чем на 2-3 сутки в силу того, что процесс стерилизации проводится сторонней организацией, которая диктует свои временные условия.

Представлялось интересным определить, какой вид микрофлоры (грибная или бактериальная) вносит наибольший вклад в общую микробную обсемененность композиции в течение 10 суток хранения при температуре 4°C . Результаты эксперимента представлены на рис. 23.

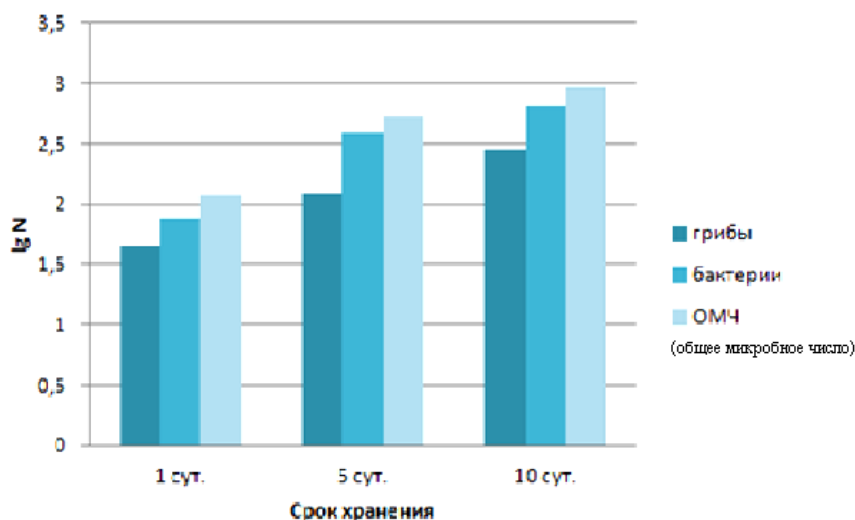


Рис.23. Рост микрофлоры в гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с диоксидином и лидокаином в течение хранения до финишной стерилизации при температуре (4 ± 1) °С

Гистограмма, представленная на рис. 23, показывает, что способы обеспечения необходимых микробиологических характеристик данного лечебного материала должны основываться на подавлении преимущественно бактериальной микрофлоры, поскольку ее количество больше по сравнению с грибной микрофлорой.

Исходя из полученных данных установлено, что понижение температуры хранения гидрогелевых материалов на производстве до момента отправки на финишную стерилизацию не позволяет в необходимой мере замедлить развитие микрофлоры, и может использоваться только в качестве дополнительного мероприятия по уменьшению микробной обсемененности композиции до стерилизации.

Еще одна попытка снижения микробной обсемененности заключалась в ультразвуковой обработке альгинатной композиции. Применение ультразвука (УЗ) для снижения микробной обсемененности на этапе подготовки сырья и полупродуктов к дальнейшему использованию в производстве применяется достаточно широко [116-118]. Ультразвуковая обработка позволяет в ряде случаев снизить количество микроорганизмов на 90-99% от исходного значения, однако ее эффективность зависит от частоты ультразвука и времени

обработки[116]. Эффект воздействия УЗ на микроорганизмы зависит от интенсивности УЗ воздействия и может быть диаметрально противоположным. При низких интенсивностях и малых временах воздействия ультразвук может стимулировать активность и рост микроорганизмов за счет перемешивания среды их развития (например, гидрогель) и ее аэрации. При больших интенсивностях ультразвук подавляет и разрушает микроорганизмы. Длительная обработка воды ультразвуком большой мощности приводит к обеззараживанию. Бактерицидное действие УЗ в основном связано с кавитацией [118,119].

Кавитация - это возникновение в жидкости массы пульсирующих газовых пузырьков. При воздействии УЗ колебаниями в течение всего отрицательного полупериода давления и части положительного наблюдается рост кавитационного пузырька до некоторого максимального размера. Затем пузырек захлопывается, создавая ударные волны с импульсным давлением до нескольких тысяч атмосфер. Если ударная волна встречает на своем пути препятствие, то она разрушает его поверхность. Кроме того, в кавитационном пузырьке возникают активные радикалы, например радикал ОН, являющийся сильнейшим окислителем. Кавитация возникает при интенсивностях звукового поля выше порогового значения $0,3-1 \text{ Вт/см}^2$. Увеличение частоты приводит к повышению порогового значения интенсивности, соответствующего началу кавитации. Чем ниже частота, тем легче получить кавитацию, и тем более агрессивное воздействие оказывает последняя на обрабатываемый объект, поэтому во многих устройствах используют УЗ с частотой 20–22 кГц [119].

Таким образом, в таком технологическом подходе существует ряд нюансов: повышение частоты ультразвука и времени УЗ-обработки гелеобразных материалов может привести к ухудшению их структурно-механических свойств, в то время как обработка низкими частотами, как уже было сказано ранее, способствует росту колоний микроорганизмов. С учетом описанных особенностей нам необходимо было:

- оценить влияние УЗ обработки геля на сохранение вязкости в течение 1 суток до и сразу же после гамма-стерилизации;

- выявить целесообразность проведения УЗ обработки геля, т.е сравнить обмененность гелей до и после гамма-стерилизации.

Гидрогелевые композиции, хранившиеся 1 сутки при температуре 21-23°C и 3-5°C в реакторе объемом 100 мл, обрабатывали УЗ, резонансная частота которого - 22±2 кГц и мощность 600 Вт. Время обработки выбирали с точки зрения влияния УЗ-обработки на вязкость гидрогелей, поскольку помимо снижения обсемененности нужно также сохранить вязкость на нужном уровне.

Таблица 15. Влияние УЗ-обработки гидрогеля на основе 7% альгината натрия на его вязкость

Время обработки мин	Динамическая вязкость, η , Па · с					
	Температура хранения 21-23°C			Температура хранения 3-5°C		
	Температура, приобретаемая гидрогелем, °C	До стерилизации	После бкГр (гамма)	Температура, приобретаемая гидрогелем, °C	До стерилизации	После бкГр (гамма)
0	24	48,8	2,3	10	50,2	2,4
5	27	49,7	2,6	13	51,1	2,6
10	33	50,6	2,1	21	52,4	2,5

Исходя их данных, представленных в табл. 15, можно сказать, что при обработке гидрогелевой композиции на основе 7% альгината натрия используемой частотой 22±2 кГц ее температура после обработки в течение максимального времени – 10 мин. составила 33 °C при температуре хранения композиции 21-23 °C, и 21°C при температуре хранения композиции 3-5 °C. Поскольку лечебный гидрогелевый материал на основе альгината натрия начинает терять свои структурно-механические свойства при повышении температуры выше 35 °C, то основываясь на полученных данных при выборе времени обработки 10 минут целесообразнее подвергать ультразвуковому воздействию гидрогелевые композиции, хранившиеся до этого при температуре

3-5 °С, чтобы предотвратить ухудшения их структурно-механических свойств при увеличении температуры. Также данные в табл. 10 показывают, что 10-минутная УЗ обработка повышает вязкость композиции до стерилизации в среднем на 2 Па·с, что является положительным влиянием такого технологического подхода, однако после стерилизации вязкость всех композиций практически одинакова. Это связано с тем, что эффект повышения вязкости гидрогеля на основе альгината натрия сохраняется только в течение 2 суток, что подтверждают данные в табл. 16.

Таблица 16. Вязкость композиции, предварительно обработанной УЗ частотой 22 ± 2 кГц в течение 10 минут, после стерилизации дозой 6 кГр

Температура хранения композиции	Вязкость после стерилизации, η , Па·с		
	1 сут.	2 сут	3 сут
21-23°С	50,6	50,3	47,5
3-5°С	52,4	51,9	50,6

Не выявив ухудшения в вязкостных свойствах гидрогелевой композиции на основе альгината натрия после ультразвуковой обработки в течение 10 мин, оценивали снижение микробной обсемененности гидрогелевых композиций после ее проведения. Также анализировались образцы, хранившиеся при 21-23 °С и 3-5 °С. Их обсемененность определялась после 1 и 5 суток хранения. Результаты эксперимента приведены в табл. 17.

Таблица 17. Влияние УЗ-обработки гидрогеля на основе 7% альгината натрия на его обсемененность

Время обработки, мин	Время хранения, сут	Общая микробная обсемененность, КОЕ/г	
		Температура хранения 21-23°С	Температура хранения 3-5°С
		0	1
	5	$1,5 \cdot 10^3$	$2,5 \cdot 10^2$
10	1	$5,0 \cdot 10^1$	$4,0 \cdot 10^1$
	5	$3,7 \cdot 10^2$	$4,0 \cdot 10^1$

Из полученных данных следует, что УЗ обработка гидрогелей позволяет незначительно снизить их обсемененность. Вязкость обработанных УЗ

гидрогелей после стерилизации практически не отличается от вязкости гидрогелей, не проходивших УЗ-обработку. Однако такой способ снижения обсемененности композиции до стерилизации нецелесообразен, поскольку, являясь малоэффективным с точки зрения снижения обсемененности (обсемененность снижается только на один порядок); он существенно усложняет технологию изготовления гидрогелевых материалов и повышает их себестоимость.

Еще одним способом снижения микробной обсемененности гидрогелевой композиции, рассмотренным нами в данной работе, была предварительная обработка контаминированного альгината натрия радиационным излучением перед его использованием для приготовления гидрогелевой композиции.

Данный эксперимент основывался на нашем предположении о том, что в «сухом» сырье при его радиационной обработке в отсутствие воды деструкция альгината натрия, связанная со свободно-радикальными реакциями, будет происходить в меньшей степени, что позволит избежать резкого падения вязкости приготовленного на его основе гидрогеля. При этом значение общей микробной обсемененности сырья достигнет необходимого значения – не более $1.0 \cdot 10^2$ КОЕ/г и финишная стерилизация дозой 6 кГр позволит гарантировать стерильность готовой продукции.

Для оценки приемлемости данного технологического подхода образцы альгината натрия подвергались обработке радиационным излучением дозой 6 кГр. Обработку проводили, также как и финишную стерилизацию, на стерилизующих установках двух типов : с облучателем на основе радионуклидов ^{60}Co (γ - облучением) и с облучателем на основе генератора пучка электронов (ЭЛ - облучением). После радиационной обработки альгината натрия оценивали снижение его микробной обсемененности в сравнении с исходной. Результаты приведены в табл. 18.

Таблица 18. Влияние радиационного облучения на микробную обсемененность альгината натрия

Микрофлора	Количество микроорганизмов, N, КОЕ/г в		
	необработанном альгинате натрия	обработанном γ - облучением	обработанном ЭЛ - облучением
Грибы	$1,0 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^2$	$1,0 \cdot 10^2$
Бактерии	$2,1 \cdot 10^3$	$1,0 \cdot 10^2$	$4,0 \cdot 10^2$
Общее микробное число	$3,1 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^2$	$5,0 \cdot 10^2$

На основании полученных данных можно сказать, что обработка контаминированного альгината натрия радиационным облучением позволяет снизить уровень его микробной обсемененности в 15 раз с помощью γ - облучения и в 6 раз с помощью электронно-лучевой обработки. При этом грибная микрофлора снижается в одинаковой степени при обработке как γ - облучением, так и ускоренными электронами - с $1,0 \cdot 10^3$ КОЕ/г до $1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г (в 10 раз). В то же время бактериальная микрофлора снижается с помощью γ - облучения с $2,1 \cdot 10^3$ КОЕ/г до $1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г (в 21 раз), а с помощью ЭЛ-обработки с $2,1 \cdot 10^3$ КОЕ/г до $4,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г (в 5 раз).

Микроскопические исследования показали, что после радиационного облучения в составе контаминирующей микрофлоры образцов гидрогелевого материала на основе альгината натрия обнаруживаются микроскопические грибы и спорообразующие формы бактерий, которые являются наиболее устойчивыми к внешним воздействиям (в данном случае к радиационному облучению).

Анализ результатов эксперимента в очередной раз подтверждает преимущество стерилизации на установке с источником на основе радионуклидов ^{60}Co (γ -стерилизации). Однако следует отметить, что в плане снижения контаминации альгината натрия его предварительное γ - облучением позволило достичь значения микробной обсемененности, равного $2,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г, что в 2 раза превышает значение микробной обсемененности сырья, которое мы пытаемся достигнуть ($1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г).

В силу неоднозначности полученного результата конечный вывод о приемлемости предварительного γ - облучения в качестве способа снижения микробной обсемененности получаемой на его основе гидрогелевой композиции мы могли сделать только после оценки изменения вязкости данной композиции после ее финишной стерилизации.

Поскольку вязкость альгинатной гидрогелевой композиции, лежащей в основе медицинского изделия, является важным технологическим параметром и потребительским качеством, нам необходимо было оценить, как повлияет предварительная радиационная обработка альгината натрия на вязкость композиции после ее стерилизации.

Измерялась вязкость композиции из альгината натрия, не подвергавшегося радиационной обработке, и облученного альгината натрия, а также вязкость тех же композиций после стерилизации. Результаты эксперимента представлены в табл. 19.

Таблица 19. Влияние предварительного радиационного облучения альгината натрия на вязкость альгинатной гидрогелевой композиции

Тип облучения	Гидрогелевая композиция (7% альгинат натрия)	Динамическая вязкость, η , Па · с
-	исходный гидрогель (до финишной стерилизации)	50,4(100,0%)
Электронное облучение 6КГр	гидрогель из облученного сырья (до финишной стерилизации)	13,4 (26,5%)
	облученный гидрогель из облученного сырья (после финишной стерилизации)	0,4(0,8%)
γ -облучение 6КГр	гидрогель из облученного сырья (до финишной стерилизации)	26,3(52,2%)
	облученный гидрогель из облученного сырья (после финишной стерилизации)	2,6 (5,2%)

Из данных, приведенных в табл.19, видно, что предварительная радиационная обработка исходного сырья с целью снижения его микробной обсемененности оказывает значительное влияние на вязкость получаемой из него

композиции. В случае предварительного электронного облучения сырья вязкость композиции на его основе падает на 73,5%, а после финишной стерилизации данным способом и вовсе снижается до 0,8%; предварительное γ -облучение в меньшей степени снижает вязкость композиции, чем электронное облучение. Так, при γ -облучении альгината натрия вязкость приготовленной из него композиции снижается на 47,8%, после же финишной стерилизации композиции γ -облучением – на 94,8% после, однако такой результат тоже не является удовлетворительным.

Таким образом, исследования показали, что предварительная обработка хранившегося на складе предприятия альгината натрия γ -облучением позволяет снизить его микробную обсемененность до $2,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г, но сильное снижение вязкости получаемой из него гидрогелевой композиции (более 90%) на основе облученного альгината натрия не позволяет использовать предварительную радиационную обработку хранившегося на складе предприятия сырья для снижения его микробной обсемененности.

Основываясь на полученных данных можно сказать, что физические способы снижения контаминации гидрогелевой композиции до финишной стерилизации не обеспечивают необходимого значения микробной обсемененности ($1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г). Можно сделать следующие выводы, важные в дальнейшем для оптимизации технологии получения гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с целью повышения ее срока годности:

- температура хранения гидрогелевой композиции до финишной стерилизации должна быть от 2 до 5 °С;
- при хранении гидрогелевой композиции до финишной стерилизации в большей степени развивается бактериальная микрофлора;
- с точки зрения степени сохранения вязкости композиции и действия в отношении бактериальной микрофлоры гамма-стерилизация является предпочтительнее ЭЛ-способа стерилизации.

3.2.2. Введение полимерных добавок в композицию на основе альгината натрия с целью снижения ее обсемененности

Не получив желаемого эффекта от использования физических способов для снижения обсемененности композиции на основе альгината натрия, мы перешли к изучению возможности снижения обсемененности композиции химически, за счет введения в состав гидрогеля других полимеров, а также различных стабилизирующих добавок. Так же как и в предыдущем разделе наряду с микробиологическими характеристиками гидрогелевой композиции нами анализировались и ее вязкостные характеристики.

Для снижения микробной обсемененности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия до проведения радиационной стерилизации была изучена возможность дополнительного введения в нее различных полимеров, которые, учитывая их состав, способ получения, являются менее контаминированными, а также, исходя из литературных данных, разрешены для применения в медицине и используются в фармацевтической промышленности.

3.2.2.1. Оценка реологических характеристик композиций на основе различных полимеров

Этот эксперимент проводили с целью изучения реологического поведения композиций на основе синтетических полимеров и оценки последующей возможности дополнительного введения какого-либо полимера в альгинатную гидрогелевую композицию в качестве добавки, понижающей исходную микробную обсемененность альгинатного гидрогеля до финишной стерилизации.

На начальной стадии исследования нами оценивалась вязкость композиций, содержащих 7 % масс. каждого полимера, испытание проводили на протяжении 3 суток до финишной стерилизации с учетом особенности технологии получения лечебных материалов «Колегель», а также после стерилизации. Данные, полученные для всех рассматриваемых полимерных композиций, сравнивались с показателями, полученными для контрольного образца гидрогелевой композиции, содержащей 7% альгината натрия. Результаты приведены в табл. 20.

Таблица 20. Анализ вязкости гидрогелевых композиций, содержащих различные полимеры

№	Состав полимерной композиции	Динамическая вязкость, η , Па · с			
		До стерилизации ($t_{\text{хран.}}=3-5^{\circ}\text{C}$)			После стерилизации
		1 день	2 день	3 день	
1	ПВС 45.000	9,10	7,30	5,50	1,20
2	ПВС 145.000	11,70	9,20	8,70	2,10
3	ПВП	0,25	0,25	0,25	0,05
4	КМЦ	7,20	7,20	7,60	0,15
5	альгинат натрия 7%	15,20	13,80	13,50	2,80

По данным, полученным после оценки вязкости композиций на основе различных полимеров, можно сделать вывод, что в течение 3 суток хранения до финишной γ -стерилизации вязкость всех композиций снижается на 2-4 Па·с за исключением вязкости композиции на основе КМЦ – ее вязкость в течение 3 суток хранения практически не изменяется. Вязкость композиции на основе 7% ПВП значительно меньше вязкости контрольного образца, как до финишной стерилизации, так и после нее, что не позволяет использовать его в качестве добавки к композиции на основе альгината натрия. Вязкость композиции на основе 7% КМЦ до финишной стерилизации в 1,8 раза ниже вязкости контрольного образца, а после финишной стерилизации, также как и у композиций на основе манукола и ПВП, значительно меньше вязкости контрольного образца. Поэтому ПВП и КМЦ в дальнейшей работе не будут рассматриваться как дополнительные полимерные добавки.

Таким образом, наиболее приемлемыми по значению вязкости до и после финишной стерилизации в сравнении с вязкостью контрольного образца являются композиции на основе ПВС 45 000 и ПВС 145 000. После γ -стерилизации вязкость композиции на основе 7% ПВС м.м. 45 000 меньше в 2,3 раза, а вязкость композиции на основе 7% ПВС м.м. 145 000 меньше в 1,3 раза.

Также мы оценили тиксотропность полимерных композиций на основе ПВС, поскольку этот параметр показывает, в какой мере вязкость композиции восстанавливается после снятия нагрузки.

До стерилизации показатель тиксотропности гидрогелевого материала важен с технологической точки зрения, поскольку им определяется режим работы фасующего оборудования (скорость наполнения туб, используемое давление в дозаторе и т.д.). Из табл.21 (левый столбец) следует, что способность к восстановлению первоначальной структуры до стадии стерилизации у композиций на основе ПВС хуже, чем у контрольного образца, хотя эта разница незначительна. Поскольку значение тиксотропности гидрогелей с дополнительно введенным ПВС больше 1, особых технологических условий при фасовке данных материалов не требуется.

После стерилизации, несмотря на разрушение структуры в процессе радиолитического воздействия, тиксотропность всех гидрогелей, в том числе и контрольного образца, практически равна 1. Это позволяет сделать вывод о том, что после изъятия гидрогелей из туб или введения с помощью шприца композиции удастся восстановить свою структуру в полостях организма и оказать нужный терапевтический эффект.

Таблица 21. Тиксотропность полимерных композиций

№	Состав полимерной композиции	Тиксотропность	
		до стерилизации	после стерилизации
1	ПВС 45.000	1,01	1,01
2	ПВС 145.000	1,07	1,05
3	альгинат натрия 7%	1,11	1,01

Таким образом можно сказать, что исходя из анализа вязкости в течение хранения до финишной стерилизации и после нее, а также оптимального значения тиксотропности композиции, в качестве добавки в лечебный гидрогелевый материал на основе альгината натрия можно использовать поливиниловый спирт с молекулярной массой 45.000 и 145.000. Применение других из изучаемых полимеров в лечебной гидрогелевой композиции нецелесообразно.

3.2.3. Изучение целесообразности введения поливинилового спирта в лечебную гидрогелевую композицию на основе альгината натрия

На основании результатов экспериментов, приведенных в предыдущем разделе, в качестве дополнительной полимерной добавки к альгинатному

гидрогелю были выбраны поливиниловый спирт (ПВС) Mowiol 6-98 и Mowiol 28.99 с молекулярной массой 45.000 и 145.000 соответственно. Нами предполагалось, что частичная замена альгината натрия в лечебной композиции на ПВС позволит понизить ее микробную обсемененность, потому что данный полимер имеет синтетическое происхождение и, как известно, менее подвержен контаминации микроорганизмами. Имеются данные о том, что данный синтетический полимер широко используется в современных перевязочных материалах и раневых покрытиях ввиду его хорошей биосовместимости[121,122], однако недостаточная биодegradуемость ограничивает его концентрацию в лечебной композиции.

На начальном этапе сравнивали исходную общую микробную обсемененность ПВС с м.м. 45 000 и 15 000 с обсемененностью альгината натрия, чтобы подтвердить возможность его использования для понижения обсемененности лечебной композиции. Результаты определения обсемененности полимеров (в сухом виде) представлены в табл. 22.

Таблица 22. Исходная общая микробная обсемененность альгината натрия и поливинилового спирта (ПВС)

Образец	Общая микробная обсемененность, КОЕ/г
Альгинат натрия	$3,0 \cdot 10^3$ КОЕ/г
ПВС 45.000	$<1,0 \cdot 10^1$ КОЕ/г
ПВС 145.000	$<1,0 \cdot 10^1$ КОЕ/г

Полученные данные (табл.22) подтверждают наше предположение о том, что введение ПВС в альгинатную гидрогелевую композицию позволяет снизить микробную обсемененность. Это важно также и в связи с тем, что основной целью при достижении стабильности альгинатной гидрогелевой композиции в течение всего срока хранения является снижение ее инициальной обсемененности (до стадии финишной стерилизации), поскольку в таком случае возможно использовать низкую стерилизующую дозу (6 кГр), тем самым предотвращая деструкцию полимерной композиции и, как следствие, ухудшение качества выпускаемой продукции.

Подтвердив, что исходная обсемененность ПВС удовлетворяет нашим требованиям, необходимо было также подтвердить возможность применение ПВС в качестве полимерной добавки, стабилизирующей контаминацию гидрогелевой композиции до финишной стерилизации.

Для этого с учетом особенности производственного цикла, подразумевающей отсроченность финишной стерилизации расфасованной в первичную упаковку продукции, определялось количество микроорганизмов в композициях, хранившихся 3 суток при температуре 3-5°C (холодильник) до стадии радиационной стерилизации.

Для эксперимента брали композиции, в которых содержание ПВС (низкомолекулярного и высокомолекулярного) составляло 10%, 20%, 30% от общего содержания альгината натрия с целью определения оптимального значения концентрации и выбора необходимой нам молекулярной массы ПВС. Результаты эксперимента приведены в табл. 23.

Таблица 23. Общая микробная обсемененность альгинатных гидрогелевых композиций с различным содержанием ПВС

№ композиции	Общая микробная обсемененность, КОЕ/г
№1 АН 7%	$3,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г
№2 ПВС 45.000 0,7% АН 6,3%	$<1,0 \cdot 10^1$ КОЕ/г
№3 ПВС 45.000 1,4% АН 5,6 %	$1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г
№4 ПВС 45.000 2,1% АН 4,9 %	$8,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г
№5 ПВС 145.000 0,7% АН 6,3%	$<1,0 \cdot 10^1$ КОЕ/г
№6 ПВС 145.000 1,4% АН 5,6 %	$1,1 \cdot 10^3$ КОЕ/г
№7 ПВС 145.000 2,1% АН 4,9 %	$7,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г

Данные табл. 23 показывают, что введение в композицию синтетического полимера ПВС с меньшей микробной обсемененностью по сравнению с альгинатом натрия в количестве 0,7% (10% от общего содержания альгината натрия в композиции) позволяет понизить общую микробную обсемененность композиции до финишной стерилизации.

После начальной оценки микробиологических характеристик альгината натрия и ПВС, а также гидрогелевых композиций на их основе, необходимо было определить оптимальную концентрацию ПВС, вводимую в альгинатную гидрогелевую композицию с точки зрения реологических характеристик и степени высвобождения ЛВ из данной композиции, зависящей от реологических параметров.

Составы гидрогелевых композиций с добавлением ПВС приведены в методике 2.2.4 (табл. 10). За образец сравнения брали композицию на основе альгината натрия (7,0% масс. альгината натрия) с 0,9 % диоксида и 2,0% лидокаина (2.2.2.).

По результатам оценки динамической вязкости исследуемых композиций (табл.10, 2.2.4) получены данные, по которым построены следующие зависимости (рис.24).

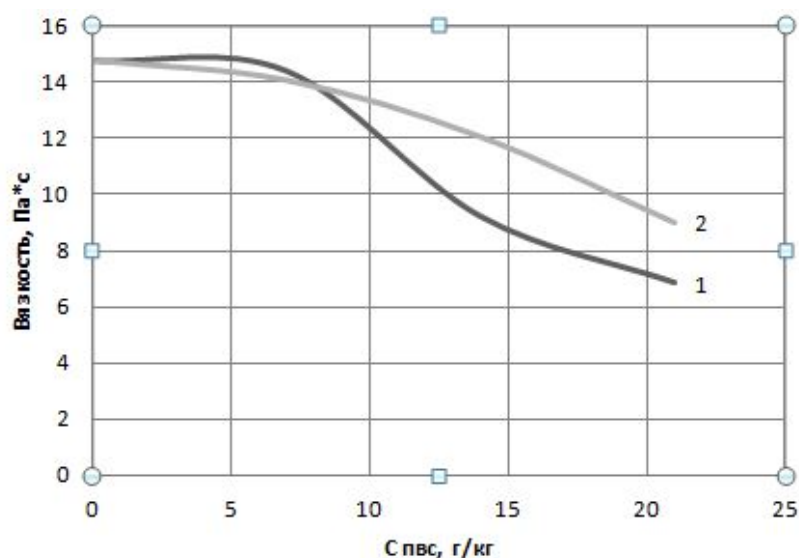


Рис. 24. Зависимость динамической вязкости гидрогелевых композиций от содержания ПВС с различной молекулярной массой (до финишной стерилизации);
1 – ПВС 45.000, 2 – ПВС 145.000

Как видно из рис. 24, введение в композицию как высокомолекулярного ПВС, так и низкомолекулярного в концентрации, не превышающей 10% масс., несущественно влияет на ее вязкость, однако при дальнейшем увеличении концентрации вязкость композиции в большей степени зависит от молекулярной

массы ПВС. Таким образом, оптимальной является концентрация ПВС в количестве 7 г/кг (10% от содержания альгината натрия).

Поскольку область применения в медицинской практике и способ введения лечебных гидрогелевых материалов на основе альгината натрия обуславливают их вязкость, нами было изучено реологическое поведение альгинатных гидрогелевых композиций с различным содержанием ПВС при разных сдвиговых напряжениях. Данные иллюстрируют кривые течения (рис. 25).

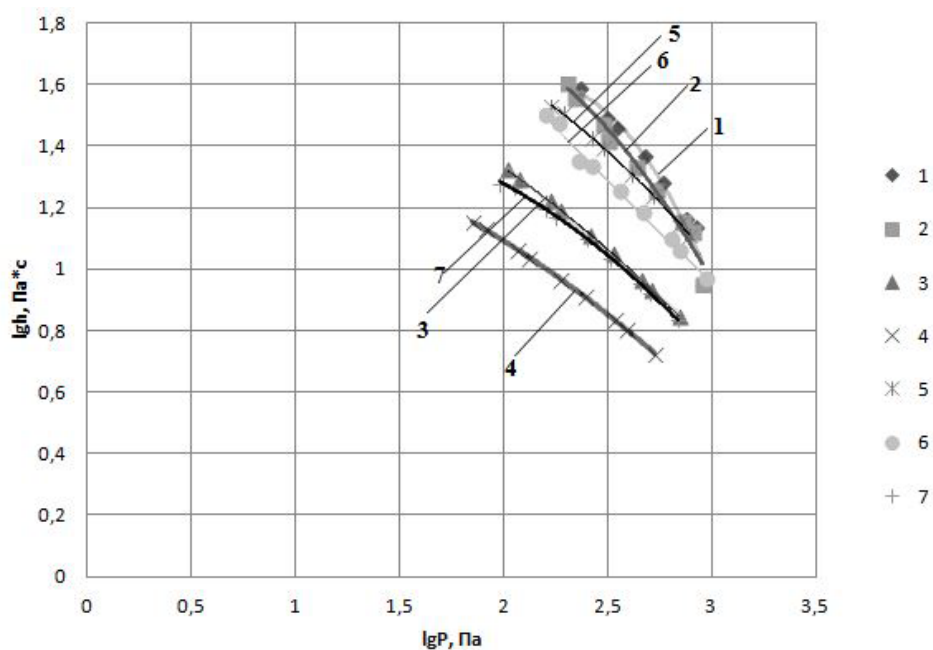


Рис. 25. Кривые течения гидрогелевых композиций с различным содержанием ПВС 45.000 и 145.000 до радиационной стерилизации (1-7% альгината натрия; 2- 0,7% ПВС 45.000, 6,3% альгината натрия; 3 -1,4% ПВС 45.000, 5,6% альгината натрия; 4 - 2,1% ПВС 45.000, 4,9% альгината натрия; 5- 0,7% ПВС 145.000, 6,3% альгината натрия; 6- 1,4% ПВС 145.000, 5,6% альгината натрия, 7- 2,1% ПВС 145.000, 4,9% альгината натрия)

Кривые течения также подтверждают, что оптимальной концентрацией ПВС в композиции на основе альгината натрия является 0,7% масс., при этом реологическое поведение таких композиций (поз.2,5 на рис.25.) незначительным образом отличается от реологического поведения композиции, содержащей только альгинат натрия (поз.1 на рис. 25.).

Главным образом нас интересовало, как будет меняться вязкость композиций с добавлением ПВС после финишной стерилизации, поскольку выбор вводимой стабилизирующей добавки основывается не только на снижении

микробной обсемененности до финишной стерилизации, но и на знания, насколько позволяет данная добавка сохранить вязкость композиции после стерилизации.

На рис. 26 показано изменение вязкости альгинатных гидрогелевых композиций с различным содержанием ПВС 45.000 и 145.000 после финишной γ -стерилизации дозой 6 кГр.

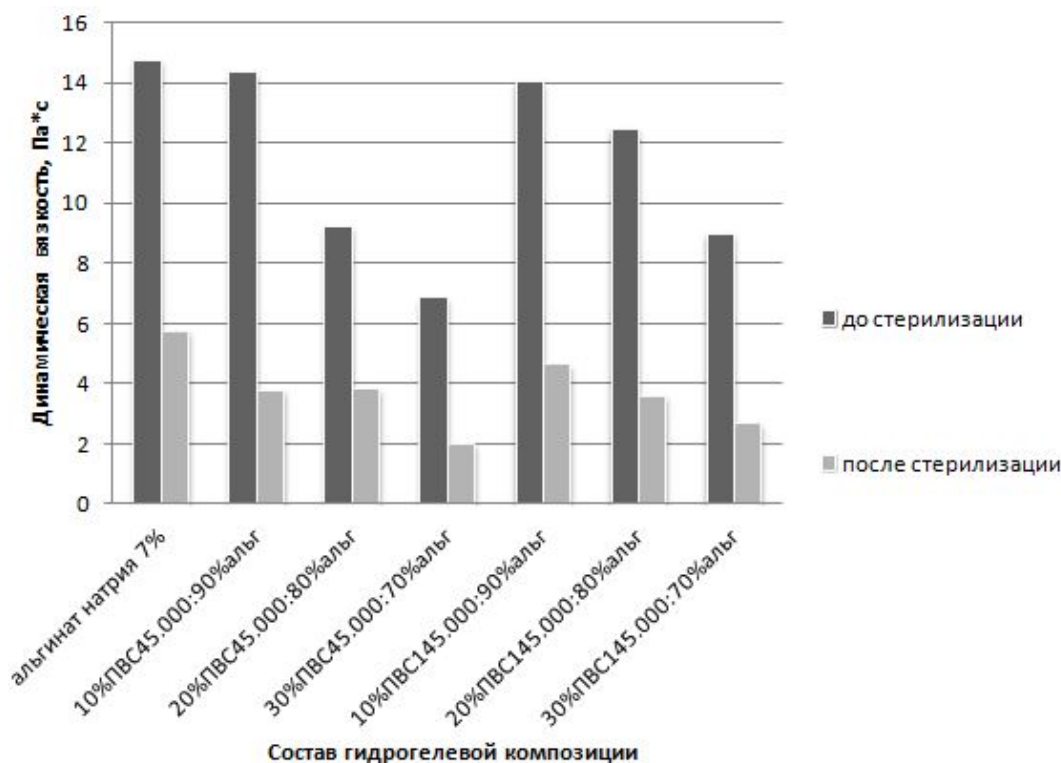


Рис. 26. Изменение вязкости гидрогелевых композиций различного состава после радиационной стерилизации

Из рис. 26 следует, что вязкость всех композиций существенно снижается после γ -стерилизации в дозе 6 кГр, хотя вязкость композиции №5, содержащей 0,7% ПВС (10% от общего содержания альгината натрия) с молекулярной массой 145.000 после стерилизации снизилась в несколько меньшей степени по сравнению с остальными композициями.

Для итоговой оценки возможности применения ПВС в качестве добавки, стабилизирующей микробиологические и реологические свойства лечебной композиции на основе альгината натрия, проводилась оценка полноты и скорости высвобождения введенного лекарственного вещества (ЛВ) из лечебной

композиции во внешнюю среду. Степень высвобождения ЛВ из лечебной композиции во внешнюю среду является ее важной характеристикой, поскольку обуславливает терапевтическую эффективность применения данного гидрогелевого материала, а именно поступление в очаг поражения строго определенной суточной дозы действующего вещества. Скорость же поступления ЛВ в очаг поражения будет в значительной степени зависеть от вязкостных свойств стерильной композиции.

В эксперименте изучались композиции с различным содержанием ПВС (табл.10, 2.2.4), скорость и степень высвобождения ЛВ из них во внешнюю среду изучали на примере диоксидина, который удобно определять спектрофотометрически. Используемая модельная среда – раствор 0,9% хлористого натрия, рН – 7,0-7,2, технологически удобный модуль ванны $M=100$.

Результаты отражают зависимость концентрации высвободившегося диоксидина из стерильных гидрогелевых композиций во внешнюю среду от времени (рис. 27).

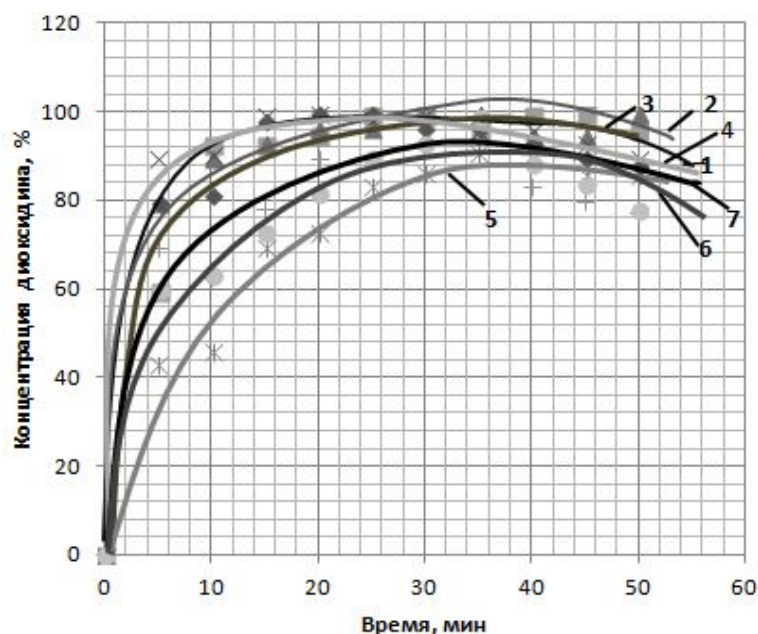


Рис.27. Кинетика высвобождения диоксидина из гидрогелевых композиций с различным содержанием ПВС 45.000 и 145.000 после радиационной стерилизации (1- 7% альгината натрия; 2- 0,7% ПВС 45.000, 6,3% альгината натрия; 3 -1,4% ПВС 45.000, 5,6% альгината натрия, 4 - 2,1% ПВС 45.000, 4,9% альгината натрия; 5- 0,7% ПВС 145.000, 6,3% альгината натрия; 6-1,4% ПВС 145.000, 5,6% альгината натрия, 7- 2,1% ПВС 145.000, 4,9% альгината натрия)

Из приведенных зависимостей видно, что скорости высвобождения диоксида из композиций с различным содержанием ПВС не отличаются в значительной степени от скорости высвобождения диоксида из альгинатной композиции без дополнительных добавок, то есть введение в композицию ПВС не оказывает существенного влияния на скорость и степень высвобождения введенного лекарственного вещества.

Таким образом установлено, что ПВС, оказывая положительное влияние на снижение инициальной обсемененности альгинатной гидрогелевой композиции, не позволяет существенно предотвратить падение вязкости после радиационной стерилизации (вязкость стерильной композиции на основе 7,0% масс. АН - 5,8 Па·с, а с введением 0,7% ПВС 145.000 - 4,7 Па·с) и не сказывается на десорбции ЛВ из нее. То есть существенный положительный эффект и оптимум между понижением микробной обсемененности альгинатной композиции и улучшением ее реологических характеристик после стерилизации с помощью введения полимерной добавки не достигнут. Исходя из этого, далее рассматривали другие способы уменьшения микробной обсемененности альгинатной композиции до стерилизации и сохранения ее вязкости после стерилизации, а именно введение стабилизирующих добавок различной природы.

3.3. Изучение влияния лекарственного вещества на микробную обсемененность гидрогелевой композиции на основе альгината натрия

Исходя из того, что гидрогелевые материалы на альгинатной основе «Колегель» содержат лекарственные вещества, следовало оценить, как влияют эти ЛВ на микробную обсемененность и реологические характеристики (до и после стерилизации) и не меняются ли свойства препаратов при стерилизации. Из ассортимента выпускаемых по маркой «Колегель» материалов анализу подвергались композиции, содержащие ЛВ димексид и диоксидин. Выбор связан с наличием у этих ЛВ антимикробных свойств (табл.2). Данные, полученные после анализа, представлены на рис.28.

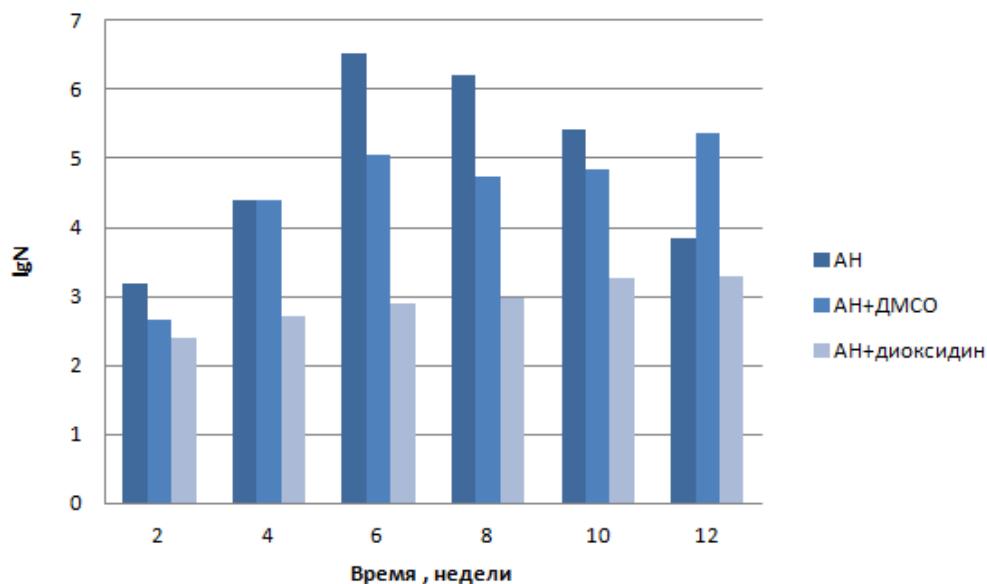


Рис. 28. Влияние диоксидина и димексида на микробную обсемененность альгинатной композиции во время хранения при 21-23 °С

Из приведенной гистограммы следует, что начальная микробная обсемененность композиции в незначительной степени снижается при введении выбранных ЛВ в разрешенных концентрациях, то есть антимикробного действия этих веществ в использованных концентрациях недостаточно для существенного снижения микробной обсемененности гидрогеля. Можно предположить, что увеличение концентрации этих лекарств снизит обсемененность, но их концентрация в гидрогеле является точно определенной и допустимой величиной, которую нельзя повышать. Следует отметить, что спектры ЛВ в УФ-области поглощения (рис.29) до и после стерилизации композиций, в которые они были введены, различаются незначительно, величина отклонения удовлетворяет требованиям технической документации ($\pm 2,0$ нм), то есть эта технологическая операция не влияет на их подлинность, соответственно не снижает их эффективность. Сказанное относится только к изученным ЛВ, при использовании других лекарств необходимо оценить влияние стерилизации на сохранение их подлинности.

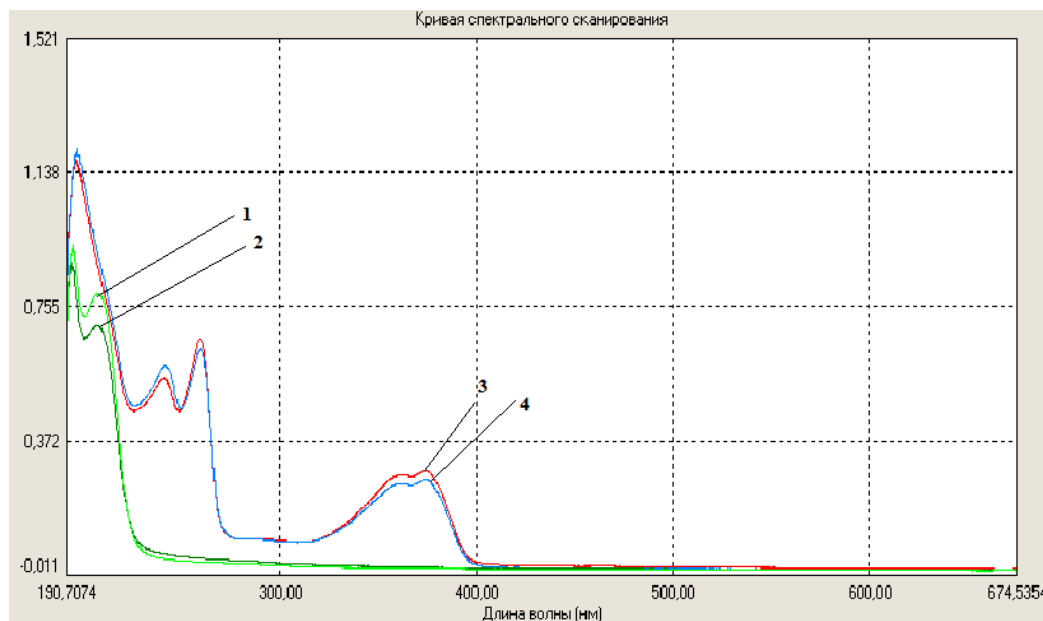


Рис. 29. Спектры лекарственных веществ в гидрогелевой композиции до и после радиационной стерилизации дозой 6кГр (1- стерильная композиция с димексидом, 2- нестерильная композиция с димексидом, 3- нестерильная композиция с диоксидином, 4 – стерильная композиция с диоксидином)

3.4. Изучение влияния введения стабилизирующих добавок в состав гидрогелевой композиции на основе альгината натрия на ее реологические и микробиологические параметры

Проведенные ранее нами эксперименты и литературные данные [29,96,97] свидетельствуют, что одним из реальных способов снижения начальной микробной обсемененности композиции является использование консервантов – стабилизирующих добавок, уменьшающих количество микроорганизмов или вовсе их уничтожающих.

Целью данной части работы являлся поиск консервантов (стабилизаторов), которые выполняли бы две функции: максимально возможно подавляли развитие микроорганизмов в композиции до стерилизации, гарантируя стерильность на протяжении всего срока хранения, и стабилизировали вязкость композиции после стерилизации.

Что касается первой задачи (снижение начальной микробной обсемененности), то ее решение связано с ранее приведенным предположением, что чем ниже начальная обсемененность, тем ниже может быть стерилизующая доза облучения и больше уверенности в достижении стерильности образцов в

течение более долгого срока хранения. Применяемый консервант (стабилизатор) должен ингибировать рост микроорганизмов в течение хранения композиции до финишной стерилизации. Это важный технологический момент. Он связан с тем, что, как говорилось ранее, стерилизация проводится не на территории производства гидрогелей, а в другом специализированном учреждении, поэтому время хранения гидрогелей от момента изготовления до стадии финишной стерилизации зависит от многих факторов (технологических, транспортных, от загрузки оборудования и т.д.) и может быть достаточно большим. Это время – максимально возможное – должно быть строго определено, иначе рост числа микроорганизмов на стадии хранения до стерилизации отрицательно скажется на качестве конечной продукции.

В своей работе, проводя поиск консервантов, способных помочь в решении поставленных задач, мы рассматривали консерванты природного происхождения и синтетические, а также серебро в наноформе, о которых говорилось в литературном обзоре. Выбор природных стабилизаторов композиции, применяемой в медицине, абсолютно оправдан и понятен.

Еще раз отметим, что мы хотим достичь не только снижения общего микробного числа композиции, но и сохранения стабильности ее свойств (главным образом, вязкостных) при стерилизации. С этих позиций мы проводили выбор стабилизаторов.

3.4.1. Использование «зеленых» стабилизаторов для альгинатных гидрогелевых композиций

В процессе подбора стабилизаторов нами также рассматривались различные «зеленые» добавки, которые исходя из литературных источников [123] обладают антимикробными и/ или антиоксидантными свойствами.

Среди веществ, которые мы выбрали, были:

- экстракт ромашки и крапивы (1% и 1%, соответственно) (используемый в производстве гемостатической композиции на производстве «Колетекс»)

- экстракт мяты 0,25%
- экстракт куркумина 0,25%
- серебро в наноформе, стабилизированное альгинатом натрия в концентрации от 1 до 5%

Растительные экстракты были выбраны нами также с той точки зрения, что проявляя антиоксидантную активность, они смогли бы сдерживать процесс падения вязкости гидрогелевых композиций при радиационной стерилизации, проявляя акцепторную активность по отношению к свободным радикалам и являясь радиопротекторами биополимерной матрицы [124].

Антиоксидантная активность растительных экстрактов обусловлена наличием в них флавоноидов, выполняющих важные функции, связанные с регуляцией роста и развития растений, действие которых заключается в способности тушить гидроксильные и супероксидные радикалы. Возможность использования флавоноидов в качестве «ловушек радикалов» связана с наличием в их химической структуре гидроксильной ($-OH$) и оксо- ($=O$) группы в ароматическом цикле или боковой цепи [125]. Показано, что с увеличением количества гидроксильных групп повышается антирадикальная активность [126], авторами данной работы проводился эксперимент, по итогам которого составлен ряд флавоноидов по уменьшению степени антиоксидантной активности: мирицетин>кверцетин>рамнетин>морин>диосметин> >апигенин>катехин.

Изначально нам необходимо было подтвердить антимикробную активность перечисленных «зеленых» добавок, используемых в приведенных концентрациях. Используя диско-диффузионный метод (методика 3.7.) определения антимикробной активности, для растительных экстрактов, получили следующие результаты, приведенные на рис. 30

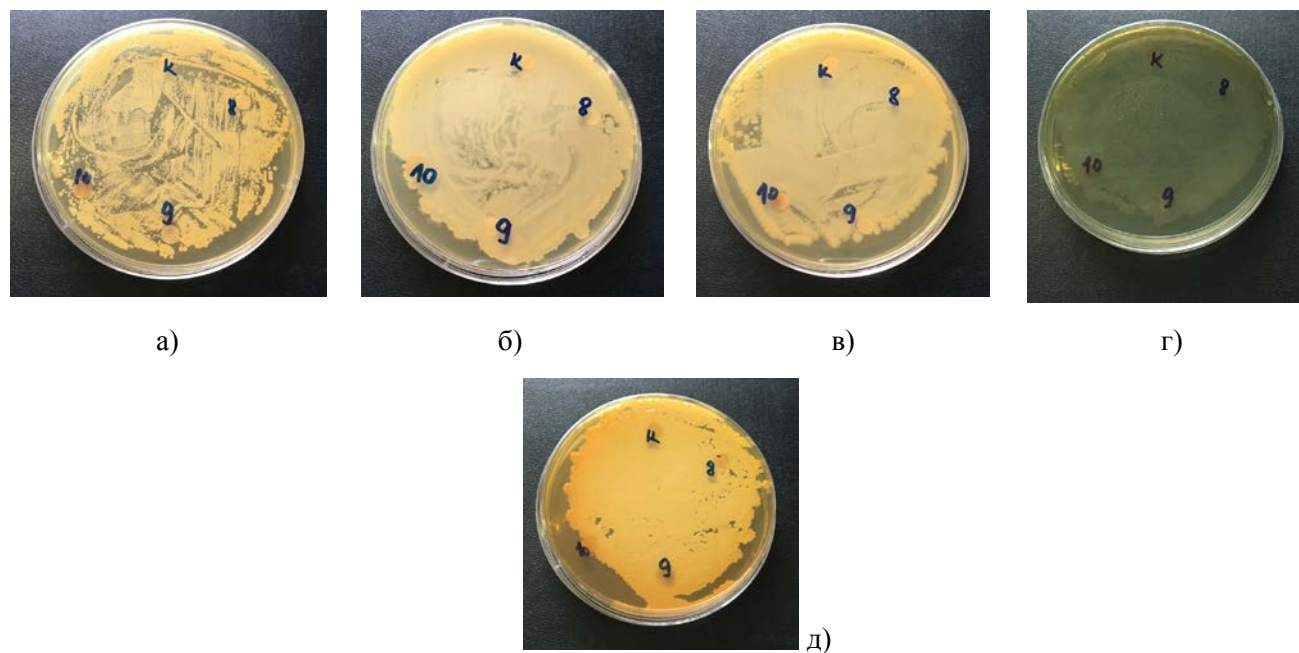


Рис. 30. Отсутствие антимикробной активности экстракт ромашки и крапивы (8), экстракт мяты 0,25% (9), экстракт куркумина 0,25% (10), К – контрольный образец гидрогеля на основе 7% АН в отношении а) –*St.aureus*, б)–*B.subtilis*, в)–*E.coli*, г)–*Ps.aureginosa*, д)–*C.albicans*.

Таким образом, установили, что ни одна из растительных добавок в составе гидрогелевой композиции на основе 7% альгината натрия не обладает достаточной выраженной антимикробной активностью, на рис. 30 видно, что зон отсутствия роста микроорганизмов в пронумерованных контрольных точках нет. Вероятно, это связано с высокой микробной обсемененностью альгината.

Данные, полученные после проверки вязкости стерильных гидрогелей с перечисленными растительными добавками, приведены в табл. 24.

Таблица 24. Вязкость гидрогелевых материалов с растительными добавками после радиационной стерилизации

Вводимая в гидрогель растительная добавка	Динамическая вязкость, η , Па · с
экстракт ромашки и крапивы (1% и 1%, соответственно)	2,27
экстракт мяты 0,25%	2,29
экстракт куркумина 0,25%	2,25
Контрольный образец без добавок	2,30

Из данных, приведенных в табл. 24, следует, что введение растительных экстрактов практически не влияет положительно на сохранение вязкости гидрогелевых композиций на основе альгината натрия после радиационной стерилизации. Можно предположить, что их антиоксидантная активность, которая должна обеспечить стабилизацию вязкости композиции, ярко выражена только при более высоких концентрациях введения в сравнении с анализируемыми нами.

Таким образом, выбранные растительные экстракты нецелесообразно использовать в качестве стабилизирующих добавок для гидрогелей на основе альгината натрия.

Нами также оценивалось антимикробное действие наноформы серебра, стабилизированной альгинатом натрия в составе гидрогелевых композиций, и динамическая вязкость полученных гидрогелевых материалов[101].

В общем виде механизм подавления одноклеточных (бактерий) и вирусов серебром представляет следующее: серебро реагирует с клеточной мембраной бактерии, которая представляет собой структуру из особых белков (пептидогликанов), соединенных аминокислотами для обеспечения механической прочности и стабильности мембраны. Серебро взаимодействует с внешними пептидогликанами, блокируя их способность передавать кислород внутрь клетки бактерии, что приводит к кислородному стрессу микроорганизма и его гибели [127].

Действие серебра специфично не по виду микроорганизма (как у антибиотиков), а по клеточной структуре. Любая клетка без химически устойчивой стенки (такое клеточное строение имеют бактерии и другие организмы без клеточной стенки, например, внеклеточные вирусы) подвержена воздействию серебра [128]. Также одной из причин противомикробного действия серебра является ингибирование транс-мембранного транспорта Na^+ и Ca^{2+} , вызываемое серебром [129,130]. Таким образом, механизм действия серебра на микробную клетку заключается в том, что оно сорбируется клеточной оболочкой,

которая выполняет защитную функцию. Клетка остается жизнеспособной, но при этом нарушаются некоторые ее функции, например деление (бактериостатический эффект). Как только на поверхности микробной клетки сорбируется серебро, оно проникает внутрь клетки и ингибирует ферменты в микробных клетках, в результате чего клетка гибнет[128].

Для оценки антимикробного действия наноформы серебра, стабилизированной альгинатом натрия в составе гидрогелевых композиций, и динамической вязкости полученных гидрогелевых материалов готовились образцы гидрогелей на основе 7% альгината натрия, в которые вводили в концентрации от 1% до 5% «гель-концентрат» - гель, приготовленный по методике, указанной в разделе 2.7. , в котором находится серебро в наноформе. Данный гель-концентрат с нано-серебром прошел токсикологические испытания и этим подтверждена возможность его применения в медицине.

Таблица 25. Вязкость гидрогелевых материалов с введенной добавкой нано-частиц серебра, стабилизированных альгинатом натрия, после радиационной стерилизации

Вводимая в гидрогель растительная добавка	Динамическая вязкость, η, Па · с
Гель-концентрат с серебром в наноформе	1,85
ГК с добавлением НЧС в концентрациях от 1% до 5%	2,20-2,30
Контрольный образец без добавок	2,30

По данным, приведенным в табл. 25, можно отметить, что гель-концентрат с НЧС заметно теряет вязкость после радиационной стерилизации – в 1,2 раза по сравнению с вязкостью контрольного образца. Однако, при его введении в альгинатную гидрогелевую композицию в концентрации от 1% до 5% ее вязкость не отличается от вязкости контрольного образца.

После изучения антимикробной активности различных концентраций вводимого в альгинатную композицию геля-концентрата с НЧС получили следующие результаты, приведенные в табл. 26.

Таблица 26. Антимикробная активность НЧС, стабилизированных альгинатом натрия

Состав гидрогелевой композиции	Зона задержки роста тест-микробов, мм				
	St.aureus	B.subtilis	E.coli	Ps.aureginosa	C.albicans
Гель-концентрат с НЧС	6,5	3,0	5,5	6,0	2,5
Композиция с добавлением НЧС (от 1% до 5%):					
1%	-	-	-	-	-
2%	2,0	-	2,5	-	1,0
3%	3,5	2,0	2,5	1,5	1,0
4%	3,0	3,0	3,0	2,0	1,5
5%	4,5	2,5	3,5	2,0	1,5
Контрольный образец	-	-	-	-	-

В качестве стабилизирующей микробную обсемененность добавки необходимо использовать гель-концентрат в концентрации 4-5% .

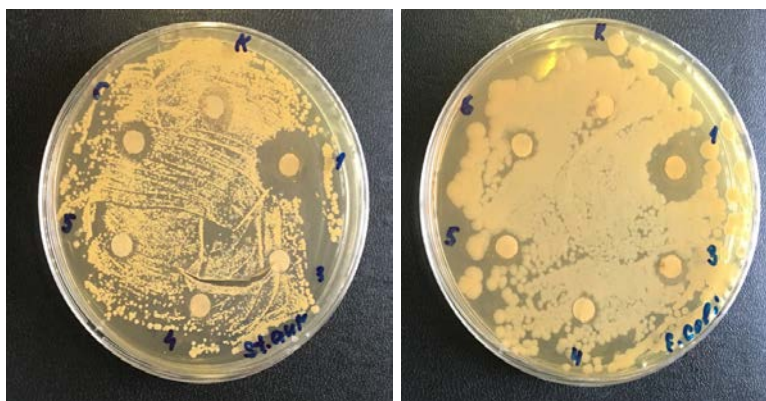


Рис. 31. Антимикробная активность НЧС в отношении золотистого стафилококка (слева) и кишечной палочки (справа)

Непосредственно «геля-концентрата» с НЧС обладает высокой антимикробной активностью, что позволило бы использовать его в качестве добавки, стабилизирующей микробиологические показатели гидрогелевых материалов до финишной стерилизации, однако его вязкость после стерилизации падает сильнее, чем альгинатной композиции без введения стабилизаторов.

Для того, чтобы скомпенсировать падение вязкости «геля-концентрата» с НЧС после радиационной стерилизации, НЧС синтезировались не в 6%-ом гидрогеле на основе альгината натрия, а в 11%-ом гидрогеле. Антимикробная активность такого геля сохраняется на прежнем уровне (зона задержки роста – 8-10 мм), а вязкость увеличивается с 1,85 Па·с до 5,3 Па·с. Но следует отметить, что такой подход нецелесообразен с точки зрения удорожания технологии получения лечебных материалов.

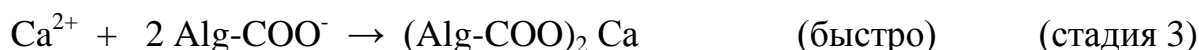
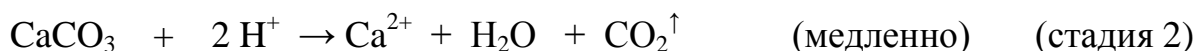
3.4.2. Изучение возможности стабилизации вязкости альгинатных гидрогелевых композиций после стерилизации с помощью ионной сшивки

Поскольку введение «зеленых» стабилизаторов в альгинатный гидрогелевый материал не позволило стабилизировать его вязкость после стерилизации одновременно со стабилизацией микробиологических характеристик материала (это возможно лишь за счет высокой антимикробной активности гель-концентрата с НЧС), мы решили оценить возможность стабилизации вязкости альгинатного гидрогеля с помощью его ионной сшивки карбонатом кальция.

Такой способ структурирования альгинатного гидрогеля подробно описан в работе [31] и используется при создании гидрогелевых матриц (дисков) с иммобилизированным лекарственным веществом, которые закладываются в полости организма с целью направленного контролируемого высвобождения лекарства в очаг поражения, например, опухоль.

В образовании поперечных ионных связей альгината натрия с кальцием участвуют только карбоксильные группы гулуонатных блоков. Для повышения технологичности процесса получения гидрогелевых матриц (заполнения блистерной формы гидрогелем до момента его сшивки) используют прием отсроченного желирования [131]. Получение структурированного материала с повышенной вязкостью реализуется следующим образом: в гидрогель на основе альгината натрия, полученный по методике, описанной в 2.2.1., вводят углекислый кальций, предварительно суспензированный в глицерине с целью

предотвращения седиментации и лучшего распределения по объему гидрогелевого материала, а также сорбиновую кислоту. Процесс перехода ионов кальция в раствор посредством взаимодействия с сорбиновой кислотой (R-COOH), описывается следующей схемой [31]:



R-COOH – слабая, труднорастворимая кислота ($K_d=1,73 \cdot 10^{-5}$, $S=0,15\text{г}/100$). Равновесие (1) смещается по мере взаимодействия протонов с углекислым кальцием. Скорость гелеобразования определяется скоростью взаимосвязанных процессов (1) и (2).

Образование сетки геля и плотность сшивки в гидрогеле определяется активной концентрацией ионов кальция, перешедших в раствор, независимо от источника этих ионов. Данный способ значительно сокращает время структурирования альгината натрия при добавлении сшивающих агентов [31].

Эта технология была модифицирована в нашей работе, а именно использовалась меньшая концентрация сшивающих агентов – кальция углекислого и сорбиновой кислоты в отличие, от заявленной в [131] – 1,7 мг/г кальция углекислого и 3,8 мг/г сорбиновой кислоты. Пониженные концентрации сшивающих агентов (№1-1,1 мг/г кальция углекислого и 2,5 мг/г сорбиновой кислоты, №2 – 0,5 мг/г кальция углекислого и 0,14 мг/г сорбиновой кислоты.) были взяты нами для того, чтобы «временно» повысить вязкость гидрогелевой композиции на основе альгината натрия за счет сшивки, чтобы затем во время радиационной стерилизации скомпенсировать ее падение, происходящее из-за радиолиза. Сшивающие агенты вводились нами как в композицию на основе альгината натрия, так и в гель-концентрат с НЧС, также имеющий низкую вязкость после финишной стерилизации (методика получения приведена в приложении А.5). Полученные композиции, предварительно структурированные

с помощью ионной сшивки (с концентрациями сшивающих агентов №1 и №2), на основе 7,0 % альгината натрия и гель-концентрат с НЧС, а также контрольный образец альгинатной гидрогелевой композиции без сшивки подвергались финишной стерилизации дозой 6 кГр. Внешний вид стерильных гидрогелей представлен на рис. 32.

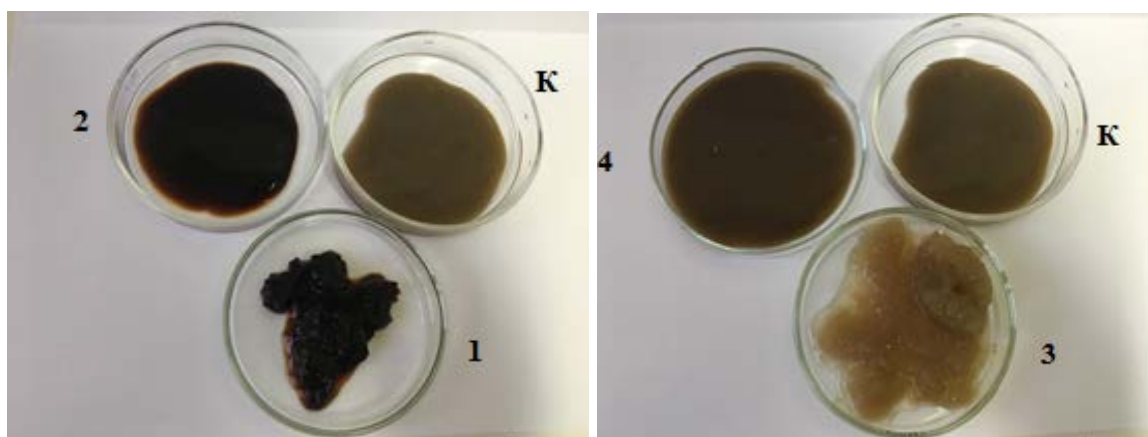


Рис.32. Гидрогели на основе альгината натрия, предварительно сшитые с помощью карбоната кальция и сорбиновой кислоты (**1**- гель-концентрат, сшитый 1,1 мг кальция углекислого и 2,5 мг сорбиновой кислоты, **2** – гель-концентрат, сшитый 0,5 мг/г кальция углекислого и 0,14 мг/г сорбиновой кислоты, **3**- гидрогель на основе 7% АН, сшитый 1,1 мг кальция углекислого и 2,5 мг сорбиновой кислоты, **4** – гидрогель на основе 7% АН, сшитый 0,5 мг/г кальция углекислого и 0,14 мг/г сорбиновой кислоты, **К** – контрольный образец гидрогелевой композиции на основе 7% АН).

Вязкость полученных композиций не представлялось возможным измерить с помощью методики, описанной в 2.3.1, поэтому оценку степени структурированности проводили визуально. Установлено, что даже в случае интенсивного перемешивания плотность сшивки неравномерна по всему объему гидрогеля. Анализируя внешний вид полученных гидрогелей (рис.33) было установлено, что использование пониженной концентрации сшивающих агентов №1 позволило получить гидрогель повышенной вязкости после стерилизации как в случае гидрогеля на основе 7% альгината натрия (3), так и в случае геля-концентрата с НЧС (1), но структура их неоднородна, присутствуют комки, характеризующие неоднородность сшивки, не позволяющие равномерно

распределить ЛВ в композиции и соблюдать его концентрацию при применении, что недопустимо для лечебного гидрогеля. Введение же более низкой концентрации сшивающих агентов №2 не оказало ожидаемого результата с точки зрения стабилизации вязкости гидрогеля на основе 7 % альгината натрия (4) и геля-концентрата с НЧС (2) после их радиационной стерилизации. Их вязкость очень низкая по сравнению с контрольным образцом (К), при извлечении из упаковки эти гидрогели растекаются по поверхности чашки Петри и не держат форму. Исходя из полученных результатов, нами был сделан вывод о невозможности использования метода ионной сшивки альгинатных гидрогелевых композиций сшивающими агентами в пониженной концентрации с целью стабилизации их вязкости после радиационной стерилизации.

Таким образом, выбранные в данной работе растительные стабилизаторы, а также структурирование с помощью ионной сшивки не позволили достичь оптимума с точки зрения одновременной стабилизации как микробиологических, так и вязкостных параметров гидрогелевой композиции на основе альгината натрия. Поэтому далее в работе рассматривалось введение с указанной выше целью синтетических стабилизирующих добавок, причем выбирались из известного ассортимента только те, которые разрешены для применения в медицине и пищевой промышленности и применение которых токсикологически безопасно.

Отметим, что далее в работе под словами «стабилизаторы» или «стабилизирующие добавки» будет подразумеваться, что данные вещества должны действовать в двух направлениях: как консерванты, обеспечивая необходимые микробиологические характеристики альгинатного гидрогеля и как вещества, позволяющие стабилизировать вязкостные характеристики данной композиции после радиационной стерилизации. Таким образом, далее будет выбираться стабилизатор для гидрогелевой композиции, позволяющий решить двухпараметрическую задачу компромиссного характера – замедлить рост

микроорганизмов в композиции до стерилизации и уменьшить последствия радиолитиза после стерилизации, тем самым сохранив вязкость композиции.

3.5. Выбор стабилизирующих синтетических добавок и оценка их влияния на микробиологические характеристики гидрогелевой композиции на основе альгината натрия

Достижение высоких показателей качества продукции – комплексная задача, поэтому изначально при выборе синтетического стабилизатора для гидрогелевой композиции нам необходимо было оценить эффективность выбранных предварительно добавок с точки зрения действия их в качестве консервантов, а именно эффективность подавления ими роста и развития микрофлоры в композиции до стадии финишной стерилизации и обеспечения ее стерильности после финишной стерилизации и во время всего гарантированного срока хранения.

Нами были подготовлены образцы гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с различными консервантами и их смесями согласно составу и методике, указанным в п. 2.2.6. В качестве контрольного образца брали альгинатную гидрогелевую композицию без добавления консерванта.

Для эксперимента нами были выбраны добавки, которые по литературным данным [36,97,98, 132-134], проявляют консервирующий эффект : это сорбат калия, бензойная кислота, их смеси, мицеллярные формы консервантов на основе органических кислот – бензойной и сорбиновой. а также консервант на основе 2-феноксизэтанол. Данные добавки разрешены в пищевой, фармацевтической промышленности и являются токсикологически безвредными в концентрациях, выбранных нами для эксперимента, что подтверждено сертификатами безопасности, а также проведенными ранее токсикологическими испытаниями (приложение В). То есть применение данных добавок для обеспечения необходимых микробиологических характеристик композиции на основе альгината натрия нами обосновано.

Соли сорбиновой и бензойной кислот (сорбат калия, бензоат натрия), наиболее действенные в недиссоциированной форме, однако имеются сведения о применении одновременно в диссоциированной и недиссоциированной форме для повышения антимикробной активности добавки [36,134]. Поэтому в нашем случае, чтобы оценить антимикробную эффективность и стабилизацию вязкости, мы использовали смесь бензойной кислоты (БК) и сорбата калия.

При выборе между консервантами сорбатом калия и бензойной кислотой, которые действуют в основном на грибную микрофлору и имеют умеренную эффективность в отношении угнетения бактериальной микрофлоры, преимущество имеет сорбат калия, поскольку бензойная кислота менее растворима, и для ее антимикробной эффективности требуется создание более кислой среды – 4.5, что неприемлемо при создании лечебных материалов. Для сорбата калия диапазон рН, в котором он наиболее эффективен как консервант, – 6,0 – 6,5 [134,135], что является наиболее подходящим в нашем случае (альгинатный гидрогель имеет рН - 6,1-7,0).

Преимущество консерванта на основе 2-феноксиэтанола (ФЭ) заключается в том, что он одинаково активен как в отношении грибной, так и бактериальной микрофлоры, и проявляет пролонгированное антимикробное (остаточное) действие, сохраняющееся в течение 4-х часов [136]. То есть биоцидное действие ФЭ проявляется в первые часы после введения его в композицию и за это время происходит уничтожение микроорганизмов. Бактерицидный эффект осуществляется за счет гидрофобного взаимодействия 2-феноксиэтанола с цитоплазматическими мембранами патогенных микроорганизмов, тем самым нарушая их проницаемость[137].

В данной диссертации мы определяли общую микробную обсемененность образцов гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с добавлением выбранных консервантов (табл. 12). При этом действие консерванта ингибировалось с помощью неспецифического инактиватора Tween 80 для того, чтобы достоверно оценить его эффективность (при подготовке пробы ГК к

посеву для последующего определения количества микроорганизмов консервант может маскировать их и результаты определения будут недостоверны, а введение инактиваторов пробу удаляет маскирующие действие консерванта). Определение общей микробной обсемененности проводили на 3 сутки хранения до финишной стерилизации при температуре 3-5°C (с учетом особенностей, касающихся организации проведения радиационной стерилизации в ООО «Колетекс»). Результаты эксперимента представлены на рис.33.

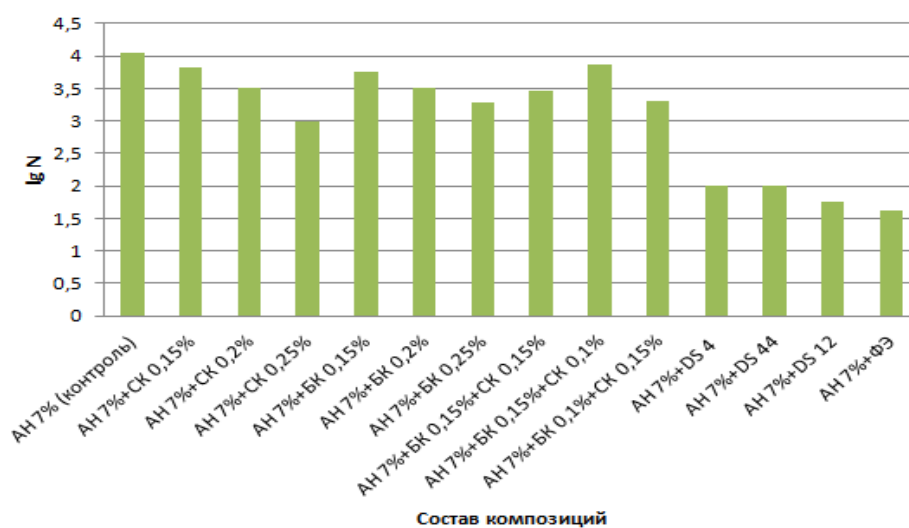


Рис. 33. Общая микробная обсемененность гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с добавлением консервантов (до финишной стерилизации)

По итогам определения общей микробной обсемененности композиций до финишной стерилизации можно сказать, что по сравнению с общей микробной обсемененностью контрольного образца все консерванты способствуют подавлению развития микрофлоры в образцах, хранившихся 3 суток до финишной стерилизации при температуре 4 °С. Наибольшую эффективность имеют консерванты в виде мицеллярных форм органических кислот: DS 4 ($1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г), DS 44 ($1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г), DS 12 ($7,1 \cdot 10^1$ КОЕ/г) и консервант на основе феноксиэтанола ($5,0 \cdot 10^1$ КОЕ/г). Следующим после них по эффективности среди группы добавок на основе БК и СК является сорбат калия в концентрации 0,25% ($1,0 \cdot 10^3$ КОЕ/г). Введение 1,00% ФЭ позволяет достичь микробной

обсемененности композиции даже меньше требуемого значения – $1,0 \cdot 10^2$ КОЕ/г, что говорит о целесообразности его дальнейшего изучения в данной работе.

Применение сорбата калия и феноксиэтанола является наиболее экономически выгодным по сравнению с консервантами в мицеллярной форме, поэтому дальнейшие исследования влияния стабилизаторов на вязкость композиции будут проводиться с этими консервантами.

3.6. Изучение влияния режима стерилизации на вязкостные характеристики гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с синтетическими консервирующими добавками

3.6.1. Оценка динамической вязкости гидрогелевых композиций с синтетическими консервирующими добавками до финишной стерилизации

Измерение вязкости анализируемых композиций (табл.12) проводили после 3 суток хранения до финишной стерилизации (с учетом особенностей технологии получения) при скорости сдвига равной 20 с^{-1} , т.к. при такой скорости можно получить достоверные сравнительные данные по вязкости всех испытуемых образцов. При других значениях скорости сдвига вязкость некоторых образцов не представлялось возможным измерить (слишком вязкие или с очень низкой вязкостью). Результаты оценки динамической вязкости исследуемых композиций представлены на рис.34.

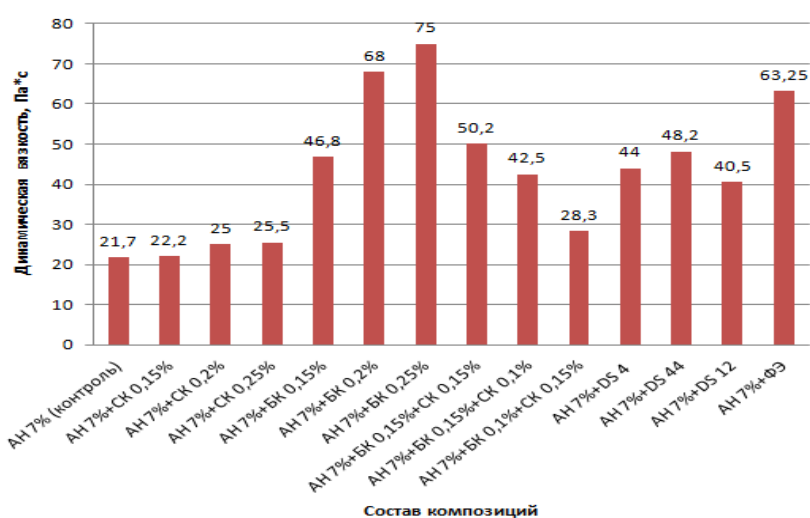


Рис.34. Динамическая вязкость гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с различными консервирующими добавками до финишной стерилизации

Из гистограммы видно, что наибольший прирост вязкости (в 3,5 раза) относительно контрольного образца имеет гидрогелевая композиция с добавлением 0,25% бензойной кислоты. При добавлении в гидрогелевую композицию смеси консервантов, что оправдано с точки зрения консервирующей способности, наиболее высокую вязкость по сравнению с контрольным образцом показала добавка 0,15% бензойной кислоты и 0,15% сорбата калия. Вязкость этой композиции по отношению к вязкости контрольного образца увеличилась в 2,3 раза. В меньшей степени повышают вязкость композиции консерванты на основе мицеллярной формы сорбиновой кислоты, бензойной кислоты и смеси этих кислот: DS 4, DS 12, DS 44 увеличивают вязкость гидрогелевой композиции по отношению к контрольному образцу приблизительно в 2 раза.

Кроме консервантов на основе органических кислот и их солей, хорошее стабилизирующее воздействие на вязкость альгинатного гидрогеля оказал феноксиэтанол в концентрации 1,00%, композиция с его добавлением имеет вязкость 3 раза больше, чем у контрольного образца.

Следует предположить, что дополнительное введение в композицию феноксиэтанола приводит к резкому повышению ее вязкости из-за образования межмолекулярных водородных связей с макромолекулами альгината натрия, что приводит к формированию дополнительной пространственной структуры, в узлах которых сосредоточены агрегаты макромолекул альгината натрия [76].

Результаты эксперимента показали, что консервирующие добавки на основе органических кислот и их смеси, а также консервант ФЭ в концентрации 1,00% способствуют увеличению динамической вязкости гидрогелевой композиции на основе альгината натрия. Таким образом, анализируя влияние изучаемых добавок на микробную обсемененность на стадии хранения до стерилизации и вязкость, можно предположить что они достигнутый эффект стабилизации положительным образом скажется на стабилизации вязкости композиции после радиационной стерилизации.

3.6.2. Оценка влияния различных стерилизующих доз на вязкость альгинатной гидрогелевой композиции со стабилизирующими добавками и без

Рассмотренные в 3.6.1. композиции подвергались финишной радиационной стерилизации в соответствии с технологическим регламентом производства (радиационная стерилизация на установке с излучателем на основе радионуклидов Co^{60}). Использовали дозу 6кГр и дополнительно 15 кГр с целью изучения возможности стерилизации при увеличенной дозе, чтобы оценить возможность стерилизации материалов более высокой дозой⁴ при наличии в их составе стабилизирующих добавок.

Предполагалось, что перспективным вариантом защиты гидрогелевой альгинатной системы, основанным на полученных результатах, является введение в полимерную матрицу таких стабилизирующих добавок, которые будут ингибировать протекание радикально-цепных процессов.

В данной работе, решая двухпараметрическую задачу, нам нужно было подобрать стабилизирующие добавки, которые одновременно с защитой биополимерной матрицы от деструкции в процессе радиационной стерилизации обеспечивали бы замедление или предотвращение роста микроорганизмов (как до, так и в процессе хранения после нее), т.е. проявляли консервирующий эффект.

На основании литературных данных [134,138] нами предположено, что стабилизирующий эффект сорбата калия (калиевой соли транс-2,4-гексадиеновой кислоты) обусловлен способностью этой органической соли, имеющей двойные связи, полимеризоваться по принципу диеновых углеводов. В рассматриваемом случае инициаторами полимеризации выступает перекись, являющаяся одним из продуктов радиолиза воды, находящейся в альгинатном гидрогеле ($H_2O \rightarrow (H\cdot + OH\cdot + e_{-aq} + H_2 + H_2O_2 + H_3O^+)$)[69]. В результате после гамма-облучения в гидрогеле на основе альгината натрия с добавлением сорбата

⁴ При смене режима установки для стерилизации, которая происходит при изменении вида стерилизуемой продукции, может происходить увеличение дозы облучения до 15 кГр

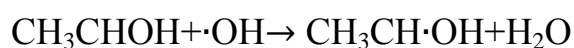
калия образуется высокомолекулярное соединение с линейной структурой, элементарным звеном которого является остаток транс-2,4-гексадиеновой кислоты с двойной связью в транс-форме $(-\text{CH}-(\text{CH}_3)-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}-(\text{COO}^-))_n$, [134], что приводит к повышению радиационной устойчивости альгинатной композиции, а именно компенсируются потери ее вязкости после финишной стерилизации.

Нашей задачей было сопоставить действие сорбата калия с действием остальных рассматриваемых добавок на основе органических кислот, а именно оценить их эффективность в отношении сохранения вязкости альгинатной композиции после радиационной стерилизации.

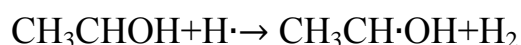
Консервант на основе феноксиэтанола также был выбран нами исходя из потенциальной возможности снизить с помощью него радиодеструкцию альгината натрия и тем самым предотвратить резкое падение вязкости композиции после стерилизации. Данная возможность обусловлена наличием в молекуле 2-феноксиэтанола гидроксильной группы $-\text{OH}$. При этом мы исходили из того, что введение акцептора $\cdot\text{OH}$ радикала (до 5 % масс.растворов спиртов) уменьшает деструкцию биополимера, поскольку данные вещества участвуют в свободно-радикальных превращениях с радикальными частицами, образующимися в процессе радиолиза и, тем самым, выводят их из реакции с биополимером[139].

Так при введении в систему этанола промежуточным продуктом радиолиза является радикал $\text{CH}_3\text{CH}\cdot\text{OH}$ [36], который образуется в следующих превращениях с продуктами радиолиза:

а) из гидроксильного радикала:



б) из атомарного водорода:



Путем вовлечения свободных радикалов в эти превращения удастся снизить степень деструкции биополимера [36,139].

После радиационной стерилизации анализируемых гидрогелевых композиций с введенными стабилизирующими добавками нам необходимо было выяснить, насколько эти добавки сдерживают падение вязкости. Результаты оценки динамической вязкости стерильных композиций с добавлением синтетических консервантов представлены на рис. 35.

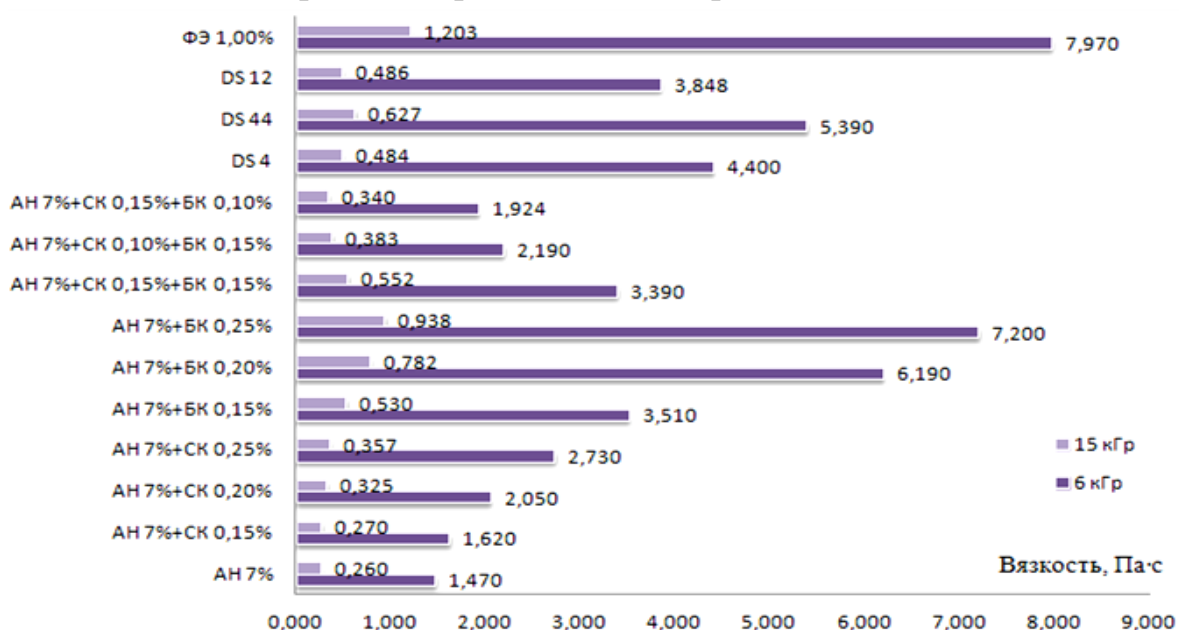


Рис. 35. Влияние финишной стерилизации на динамическую вязкость гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с различными консервирующими добавками

Исходя из полученных результатов можно отметить, что при повышении стерилизующей дозы вне зависимости от типа стерилизации (гамма-, электронная) вязкость гидрогелевой композиции на основе альгината натрия с добавлением консервантов и без резко падает. Однако консервирующие добавки и их смеси сдерживают падение вязкости композиции по сравнению с вязкостью альгинатного гидрогеля без добавления консервантов. Эффективнее всего с этим справляется 0,25% СК, мицеллярные формы сорбиновой кислоты и смеси сорбиновой и бензойной кислоты - DS 4 и DS 44 соответственно и 1,00% феноксиэтанола.

Обобщенный анализ полученных данных можно сделать из табл.27, в которой приведена информация об остаточной вязкости гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с добавлением консервантов после

финишной стерилизации относительно вязкости нестерильного альгинатного гидрогеля без добавления консервантов. Данные в табл. 27 показывают различную степень эффективности используемых добавок в отношении стабилизации вязкостных характеристик композиции.

Таблица 27. Остаточная вязкость гидрогелевых композиций на основе альгината натрия с консервирующими добавками после финишной стерилизации

Состав композиции	Динамическая вязкость, η , Па · с после гамма-стерилизации дозой	
	6 кГр	15 кГр
Альгинат натрия-7%	6,90%	1,20 %
Альгинат натрия-7% Сорбат-0,15%	7,30 %	1,19 %
Альгинат натрия-7% Сорбат-0,20%	8,20 %	1,30%
Альгинат натрия-7% Сорбат-0,25%	10,70 %	1,40%
Альгинат натрия-7% Бензойная кислота-0,15%	7,50 %	1,13%
Альгинат натрия-7% Бензойная кислота-0,20%	9,10 %	1,15%
Альгинат натрия-7% Бензойная кислота-0,25%	9,60%	1,25%
Альгинат натрия-7% Бензойная кислота-0,15% Сорбат-0,15%	6,76 %	1,10%
Альгинат натрия-7% Бензойная кислота-0,15% Сорбат-0,10%	5,15 %	0,90 %
Альгинат натрия-7% Бензойная кислота-0,10% Сорбат-0,15%	6,80 %	1,20 %

Продолжение табл.27

DS/4	10,00%	1,10 %
DS/44	11,20 %	1,30 %
DC/12	9,50%	1,20%
ФЭ 1,00%	12,60%	1,90%

Анализ приведенных данных показал, что введение в гидрогелевые композиции на основе альгината натрия сорбата калия в концентрации от 0,15% до 0,25 % (максимально разрешенная концентрация) позволяет сохранить вязкость после стерилизации дозой 6 кГр до 10,70%, причем с повышением концентрации увеличивается и остаточная вязкость. Введение бензойной кислоты сказывается на остаточной вязкости меньше, чем введение СК. Остаточная вязкость композиции с ее добавлением - 9,60%. Смеси БК и СК в различных соотношениях не увеличили значение остаточной вязкости по сравнению с применением непосредственно БК и СК. Среди мицеллярных форм органических кислот наиболее высокую остаточную вязкость композиции позволила достичь добавка DS/44, содержащая 4,00 % бензойной и 4,00% сорбиновой кислоты в мицеллярной форме. Самое высокое значение остаточной вязкости отмечено у композиции с добавлением 1 % ФЭ – 12,60%. Следует предположить, что увеличение его концентрации вплоть до максимально разрешенной по токсикологическим параметрам 2,00% позволит в большей степени стабилизировать вязкость композиции после стерилизации дозой 6 кГр, а возможно и дозой 15 кГр, что технологически очень выгодно с целью повышения надежности финишной стерилизации.

При стерилизации дозой 15 кГр все рассматриваемые добавки в меньшей мере стабилизируют вязкость, однако стоит отметить, что наиболее эффективными при такой стерилизующей дозе добавками являются 0,25% СК, DS/44, содержащая 4,00% бензойной и 4,00% сорбиновой кислоты, и 1,00% ФЭ.

Из наиболее эффективных целесообразно оставить для дальнейшего рассмотрения 0,25% СК и 1,00% ФЭ. Поскольку введение DS/44 увеличивает себестоимость продукции в 2 раза, так как этот импортный продукт является очень дорогим и вопрос его применения требует дополнительной оценки его эффективности при снижении микрофлоры.

Таким образом, выбор оптимальной рецептуры и концентрации вводимых стабилизаторов гидрогелевой композиции с введенными стабилизирующими добавками (сорбатом калия и феноксиэтанолом) основывается на сравнительном анализе их основных технологических параметров - вязкость композиции, ее общая микробная обсемененность до финишной стерилизации и стерильность после финишной стерилизации с точки зрения их стабильности в течение желаемого срока годности, чему и будет посвящен следующий раздел. Необходимо отметить, что этот выбор может быть сделан только при наличии методики определения изменения выбранных параметров при хранении в течение различного времени.

3.7. Использование метода «ускоренного старения» при прогнозировании срока годности лечебной гидрогелевой композиции

3.7.1. Разработка методики «ускоренного старения» гидрогелевых⁵ композиций. Выбор анализируемых технологических параметров, критических при «старении»

Одной из задач данной работы являлась разработка методики, позволяющей в ускоренном режиме оценить влияние дополнительных компонентов (стабилизаторов, полимеров) на качество и срок годности лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия.

В настоящий момент при производстве гидрогелевых лечебных материалов такие исследования проводятся в реальном времени – архивные образцы каждого

⁵ Автор работы выражает благодарность за помощь в постановке эксперимента к.ф.-м.н., доценту Ловецкому К.П. и магистрантке Салтыковой М.В. кафедры прикладной информатики и теории вероятностей РУДН

наименования гидрогелевых лечебных материалов закладываются на ответственное хранения при температуре (4 ± 1) °С. После этого регулярно сначала через год, потом через 2 года проверяется оценка нормативных показателей в соответствии с программой периодических испытаний, в том числе и стерильность гидрогелей. Данная методика является трудоемкой и неэффективной из-за длительности исследования, не позволяющей быстро оценить эффективность вводимых компонентов, целесообразность изменений технологии и принимать решения оперативно в реальном времени. Это послужило причиной разработки нами новой ускоренной методики.

За основу разрабатываемой методики нами был взят метод «ускоренного старения», описанный в Государственной фармакопее. Изучаемыми (закладываемыми) в методику технологическими параметрами, как и ранее в эксперименте, являлись обсемененность композиции в течение хранения до стерилизации и вязкость после стерилизации. Кроме того композиции в течение экспериментального хранения проверяли по показателю «стерильность» до момента, когда композиция перестанет выдерживать требование по данному показателю (отсутствие микроорганизмов).

В соответствии с [140], температура, при которой проводится эксперимент ($t_{\text{эксп.}}$), должна отличаться от реальной температуры хранения ($t_{\text{хр.}}$) минимум на 10 °С.

Для изучаемых в данной работе лечебных гидрогелевых композиций $t_{\text{хр.}}$ должна быть не выше (4 ± 1) °С, что было экспериментально подтверждено ранее (п.3.2.1.). Температура проведения эксперимента ($t_{\text{эксп.}}$) в рамках методики ускоренного старения составила (25 ± 2) °С. При такой температуре хранения гидрогелевой композиции можно определять ее микробную обсемененность и проверять стерильность (то есть те технологические показатели, которые оцениваются нами в данной работе), поскольку при данной температуре может развиваться и грибная и бактериальная микрофлора. Тогда время эксперимента высчитывается в соответствии с табл.28 [140].

Таблица 28. Расчет времени экспериментального хранения в зависимости от температуры хранения [140]

Срок годности в реальном времени	$(t_{\text{эксп.}} - t_{\text{хр.}}), ^\circ\text{C}$	Срок экспериментального хранения, сут.
2 года	10	292
	15	182
	20	116
	25	74
	30	47
	35	30

Основываясь на данных, приведенных в табл. 28, время эксперимента по ускоренному старению гидрогелевых композиций должно составлять 116 суток (3 месяца и 25 суток) - это будет соответствовать 2 годам хранения в реальных условиях.

Для того чтобы сократить время эксперимента, необходимо было поднимать экспериментальную температуру хранения, что не позволило бы произвести достоверный количественный учет микроорганизмов, а также проверить стерильность композиций. Кроме того, как уже отмечалось ранее, температура не может быть увеличена до 35-40 $^\circ\text{C}$, поскольку это приведет к ухудшению структурно-механических свойств гидрогелевой композиции и не позволит достоверно определить ее вязкость – еще один контролируемый показатель в течение «ускоренного старения композиций».

Подводя итог приведенной выше информации, подчеркнем, что для проведения эксперимента в рамках «ускоренного старения» гидрогелевых композиций с помощью климатической камеры была обеспечена температуре хранения образцов композиций $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$. На первом этапе на хранение при данной температуре закладывались нестерильные образцы (для оценки их обсемененности во время экспериментального хранения). Значения обсемененности анализируемых композиций фиксировались с периодичностью 1 раз в 7 дней на протяжении эксперимента.

По мере поступления экспериментальных данных мы фиксировали, на каком этапе для каждой изучаемой композиции изменяются нормируемые показатели (микробная обсемененность композиций до стерилизации и

динамическая вязкость после стерилизации), чтобы с помощью построения математической модели экстраполировать время изменения характеристик композиции на срок хранения в реальных условиях.

Введенная в композицию добавка должна стабилизировать микробиологические характеристики, а именно понижать микробную обсемененность композиции до стерилизации и обеспечивать биоцидное действие в отношении выживших после стерилизации микроорганизмов (такая вероятность может быть), таким образом гарантируя стерильность готовой композиции, тем самым обеспечивая необходимый срок годности готовой продукции и, кроме того, сохраняя вязкость композиции после радиационной стерилизации.

Как уже было отмечено, сегодня в соответствии с требованиями (пожеланиями) врачей выпускаются два вида лечебных гидрогелевых композиций, которые имеют существенное различие в реологических свойствах: композиция на основе 7% масс. альгината натрия и композиция на основе 2% масс. альгината натрия с дополнительным введением 1% масс. гиалуроната натрия. Последняя композиция, в составе которой присутствует гиалуронат натрия, имеет более низкую вязкость по сравнению с 7% альгинатным гидрогелем. Она нашла свое применение для лечения заболеваний урологической сферы, а именно циститов различной этиологии, уретритов и т.п. Пониженная вязкость является необходимостью для использования данной композиции, поскольку обеспечивает возможность ее быстрого введения пациенту через приспособления с узким каналом (шприцы, катетеры и т.д.). Кроме того доказано, что низкая вязкость гидрогеля с гиалуронатом натрия способствует его равномерному распределению на стенках мочевого пузыря [141]. Гиалуронат натрия в этой композиции выполняет протекторную функцию - его собственная биологическая активность, а именно сродство этого природного полисахарида к гликозаминогликановому слою стенки мочевого пузыря, обусловленная особенностью его химической структуры, способствует регенерации поврежденных тканей, так как замедляется развитие воспаления из-за отсутствия возможности микроорганизмов

прикрепится к поврежденной поверхности стенки мочевого пузыря. Пролонгация действия низковязкого лечебного материала достигается за счет наличия в его составе альгината натрия, поскольку непосредственно гиалуронатный гидрогель пониженной вязкости очень быстро удаляется из мочевого пузыря, что препятствует достижению необходимого терапевтического действия, и, как следствие, снижает эффективность лечения [141].

На данный момент срок годности низковязкого гидрогеля с гиалуронатом натрия, также как и для высоковязкого, составляет 1 год, что затрудняет реализацию и применение данного типа продукции в аптечных сетях и клиниках. Такой малый срок годности обусловлен низким уровнем надежности радиационной стерилизации дозой 6 кГр и, соответственно, большей вероятностью присутствия в отстерилизованной продукции живых микроорганизмов, которые со временем могут снова начать развиваться. При разработке способа увеличения срока годности гидрогелевой композиции с гиалуронатом натрия преимущественно нужно стремиться обеспечить ее стерильность на протяжении всего необходимого срока годности (2 года). Вязкостные же характеристики в силу специфики применения данной композиции в меньшей степени зависят от особенности технологии производства, то есть их ухудшение (снижение) при стерилизации менее заметно и в меньшей степени снижает качество конечного продукта. Поэтому вязкость композиции с гиалуронатом натрия значительно легче стабилизировать после стерилизации в течение всего срока хранения.

В эксперименте по «ускоренному старению» изучались образцы высоковязких лечебных композиций, наиболее часто применяемых в терапевтической практике. их вязкость не должна быть ниже 15,0 Па·с в соответствии с технологическим регламентом производства и областью применения, а также низковязкие лечебные композиции, применяемые в основном в урологической сфере, поскольку применение высоковязких гидрогелей отрицательно сказывается на процедуре их введения в полость

мочевого пузыря пациента; вязкость низковязких композиций в соответствии с технологическим регламентом не должна быть ниже 1,5 Па·с.

Исходя из сказанного выше, для проведения эксперимента по «ускоренному старению» гидрогелевых композиций были взяты 2 группы образцов: традиционно используемая гидрогелевая композиция на основе 7% альгината натрия (высоковязкая композиция), гидрогелевая композиция на основе 2% альгината натрия и 1% гиалуроната натрия (низковязкая композиция, применяемая в урологии).

Каждая группа гидрогелевых композиций тестировалась по методике «ускоренного старения» как без включения действующих веществ (лекарств – диоксида 0,90% масс., димексида 10,00% масс., консервантов – сорбата калия 0,25% масс., феноксиэтанола 1,00% масс.), то есть в качестве контрольного образца, так и с включением в состав перечисленных добавок. Таким образом, оценивали эффективность действия наиболее часто применяемых лекарственных веществ (диоксидин, димексид (ДМСО)), обладающих антимикробным действием в их терапевтической дозе, в сравнении с действием консервантов (сорбата калия, феноксиэтанола) в ранее определенной экспериментально концентрации на микробную обсемененность 2 групп гидрогелевых композиций.

Необходимо еще раз отметить, что обсемененность в течение экспериментального хранения, определялась в нестерильных композициях, это делалось с целью оценки антимикробного эффекта от введения перечисленных выше добавок.

Данные, полученные в течение 12 недель хранения образцов лечебной ГК в условиях «ускоренного старения», отражены на рис. 36.

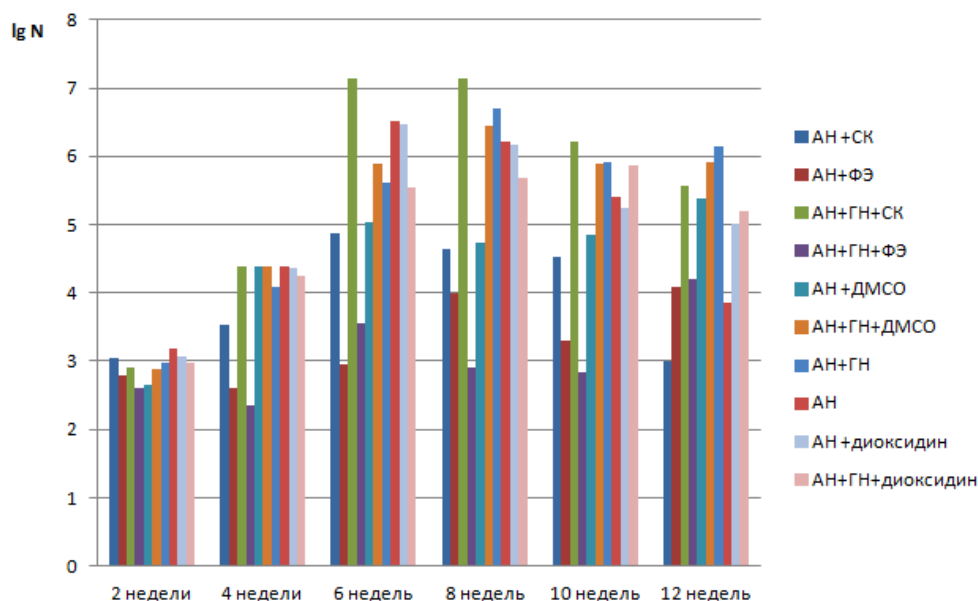


Рис.36. Рост микрофлоры в образцах нестерильных гидрогелевых композиции в течение 12 недель хранения при $t=(25\pm 2)^\circ\text{C}$

Исходя из гистограммы на рис. 36 можно отметить, что обсемененность всех образцов повышается в течение хранения при температуре $(25\pm 2)^\circ\text{C}$, но в разной степени. Число микроорганизмов меняется волнообразно в пределах одного-двух логарифмических порядков. Такие скачки обсемененности композиций, по нашему мнению, основанному на литературных данных [96], могут быть связаны с уменьшением в анализируемой системе (гидрогеле) одного вида питательных веществ, следовательно, приводящим к гибели одной популяции микроорганизмов и одновременному увеличению вида других питательных веществ, что ведет к развитию других микроорганизмов. Чтобы спрогнозировать количество микроорганизмов, которое будет присутствовать в композиции через более длительный срок хранения, необходимо математически смоделировать процесс роста популяций микроорганизмов, чему и будет посвящен данный раздел диссертации.

Рассмотрим подробнее изменение обсемененности в двух рассматриваемых группах композиций: высоковязких на основе 7 % альгината натрия (рис. 37 а) и низковязких на основе 2% альгината натрия и 1% гиалуроната натрия (рис. 38 б). Проанализируем влияние лекарственных веществ - диоксидина и лидокаина, а

также предварительно выбранных стабилизирующих добавок – 0,25% СК и 1,00% ФЭ.

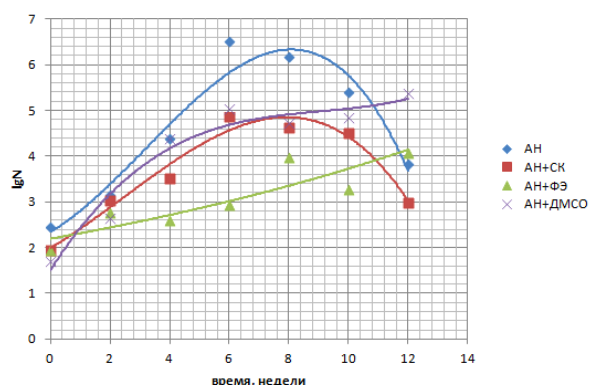


Рис.37 а. Изменение микробной обсемененности образцов гидрогелевых композиций в образцах нестерильных альгинатных гидрогелей в течение 12 недель хранения при $t=(25\pm 2)$ °C в зависимости от стабилизирующей добавки

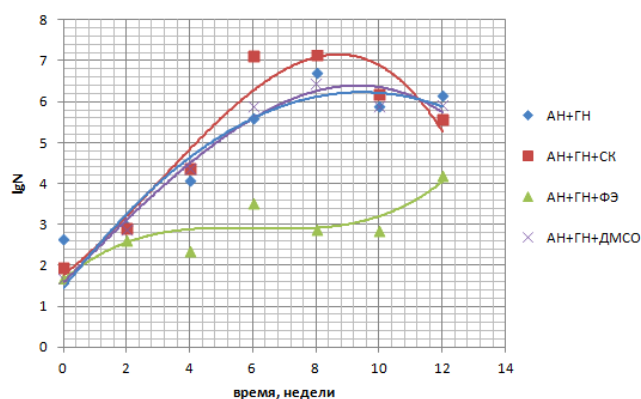


Рис.37 б. Изменение микробной обсемененности образцов гидрогелевых композиций в образцах нестерильных альгинатных гидрогелей с добавлением гиалуроната натрия в течение 12 недель хранения при $t=(25\pm 2)$ °C в зависимости от стабилизирующей добавки

Из зависимостей обсемененности композиций от времени их хранения, представленных на рисунке 37а, можно сказать, что эффективнее всего в качестве антимикробной добавки для композиции на основе альгината натрия использовать консервант феноксиэтанол, следующим за ним по эффективности замедления роста микроорганизмов в композиции является 0,25% СК. Лекарственные вещества с антимикробными свойствами (диоксидин и димексид), рассматриваемые нами и используемые в гелях «Колегель», практически не влияют на степень развития микроорганизмов в композиции в течение ее хранения. По рис. 37а видно, что профиль изменения микробной

обсемененности композиций с ЛВ в незначительной степени отличается от профиля изменения микробной обсемененности контрольного образца.

Из видов зависимостей обсемененности композиций от времени их хранения, представленных на рисунке 37 б, следует, что на протяжении 12 недель общая обсемененность всех альгинатных композиций с гиалуронатом натрия возрастает. Однако более сильную консервирующую способность в гидрогелевом материале с гиалуронатом натрия проявляет феноксиэтанол в концентрации 1,00 %. В низковязкой композиции 0,25% СК замедляет микробный рост значительно хуже, чем в высоковязкой.

Таким образом установлено, что более эффективными добавками, стабилизирующими микробную обсемененность низко- и высоковязких гидрогелевых композиций в течение исследуемого времени, является сорбат калия (0,25%) и феноксиэтанол (1,00%). Поэтому дальнейшие исследования, связанные с увеличением срока годности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия, мы проводили с этими добавками. Композицию на основе альгината натрия 7% решено использовать в качестве контрольного образца.

Для проведения следующего этапа эксперимента в рамках «ускоренного старения» гидрогелевых композиций, на хранение при температуре (25 ± 2) °С закладывались нестерильные образцы композиций с выбранными добавками (СК и ФЭ), а также контрольный образец без добавок (для оценки их обсемененности во время экспериментального хранения) и образцы такого же состава, но прошедшие радиационную стерилизацию дозой 6кГр (для оценки вязкости и стерильности во время экспериментального хранения). Значения анализируемых параметров фиксировались с периодичностью 1 раз в 7 дней на протяжении всего экспериментального хранения.

3.7.2. Выбор математической модели для расчета срока годности гидрогелевых композиций

Как уже было сказано ранее, для прогнозирования количества микроорганизмов в композиции в течение хранения необходимо математически

описать процесс роста микроорганизмов в анализируемой композиции. Математическое моделирование процесса роста жизнеспособных микроорганизмов в рассматриваемых нестерильных композициях может помочь подобрать оптимальные условия хранения, а также оценить воздействие на присутствующую микрофлору вводимых в состав композиции добавок.

Классические модели роста микроорганизмов предполагают, что при постоянных физических условиях ожидаемое число микроорганизмов $x(t)$ в популяции в момент времени t может быть описано с помощью дифференциального уравнения первого порядка [142]

$$\frac{dx}{dt} = \dot{x} = \mu(x)x \quad (6)$$

с начальным условием $x(0) = x_0$ максимальной плотностью популяции x_{\max} . В этом уравнении функция $\mu(x)$ является специфическим показателем скорости роста популяции микроорганизмов, которая зависит от численности популяции и обладает следующими свойствами:

$$\mu(x) : [0; x_{\max}] \rightarrow R \quad (7)$$

$$\mu(x) \text{ непрерывно дифференцируема на } (0; x_{\max}) \quad (8)$$

$$\mu(x_0) > 0 \text{ и } \mu(x_{\max}) = 0 \quad (9)$$

$$\frac{d\mu(x)}{dx} \text{ строго отрицательна на } (0; x_{\max}) \quad (10)$$

Два последних условия выражают тот факт, что, во-первых, независимо от величины популяции в начальный момент времени, численность ее увеличивается со скоростью $\mu(x)$. Во-вторых, чем больше численность популяции, тем меньше скорость ее роста [142]. Окончательно рост популяции останавливается при достижении максимальной численности, когда $\mu(x_{\max}) = 0$. При этих условиях

решение дифференциального уравнения (6) существует, является монотонно возрастающим и стремится к x_{\max} при $t \rightarrow \infty$.

В реальных ситуациях гораздо полезнее перейти к рассмотрению логарифма численности растущей популяции, когда основной функцией, описывающей изменение численности, является $y = \ln x(t)$. Соответственно нужно обозначать $y_0 = \ln x_0$ и $y_{\max} = \ln x_{\max}$. В этих обозначениях удельный темп роста описывается наклоном кривой $y(t)$ и описываемая модель принимает вид:

$$\frac{dy}{dt} = \dot{y} = \mu(e^y), y(0) = y_0 \quad (11)$$

При изучении роста микроорганизмов предполагается, что при делении две жизнеспособные дочерние клетки заменяют материнскую клетку и что время очередного деления клеток не зависит от числа предыдущих поколений[142]. Выражается это в том, что приведенное выше уравнение автономно; то есть время явно не появляется в правой части дифференциального уравнения. При заданных ограничениях (7) - (10) уравнение (11) графически можно представить в плоскости (\dot{y}, y) (шкала логарифмическая), таким образом получив кривую роста микроорганизмов, которая условно делится на три участка (рис.39)[142,143].

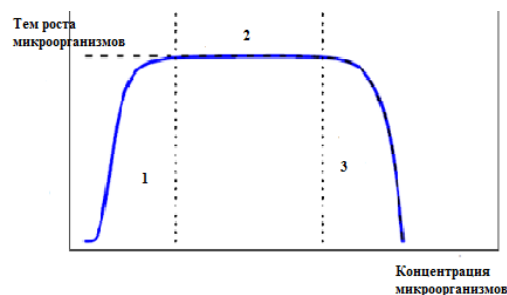


Рис.39. Вид кривой роста в логарифмических координатах с указанием трех фаз: 1- индукционная фаза (lag phase) - 1. клетки все еще приспосабливаются к их новой среде обитания, 2- экспоненциальная фаза (exponential phase) – увеличения количества клеток микроорганизмов и, как следствие, замедление темпа их роста, 3- стационарная (transition to stationary phase) фаза – остановка роста микроорганизмов[139]

Эта же зависимость может быть представлена в других координатах, и часто называется сигмоидальной моделью, которая показывает увеличение количество микроорганизмов (логарифмический показатель) во времени (рис.40.) [142].

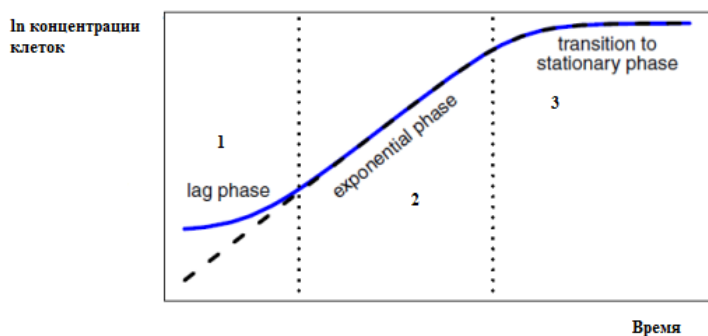


Рис.40. Сигмоидальный вид кривой роста микроорганизмов [142]

С точки зрения прогнозирования поведения популяции микроорганизмов в какой-либо системе в течение времени необходимо как можно точнее математически описать начальный период их роста, то есть индукционную фазу, для чего оценивается ее продолжительность (λ). Затем используются классические подходы для моделирования количества микроорганизмов, $x(t)$, они включают уже только экспоненциальную и стационарную фазы (черная пунктирная линия) в логарифмическом масштабе [143].

Классически используют два основных параметра для характеристики кривой роста бактерий: продолжительность индукционной фазы (λ) и максимальная удельная скорость роста (μ_{\max}). Оба параметра должны быть точно оценены в различных областях [143].

3.7.3. Описание роста микроорганизмов в гидрогелевой композиции с помощью модели Бараньи-Робертса

На основании литературных данных [143], для описания роста микроорганизмов, присутствующих в гидрогелевой композиции, нами была применена 4-параметрическая модель Бараньи и Робертса, которая описывает и экспоненциальное запаздание и экспоненциальный переход (начальный период

роста) к стационарному режиму роста бактерий (стабилизация роста микроорганизмов). Это самая наиболее адекватная модель, потому что она наилучшим образом подходит для большинства наборов данных и потому что она дает достаточно точные оценки λ [143].

Считая, что концентрация бактерий в момент времени t задается выражением $x(t)$, эта модель описывается формулой:

$$y(t) = \ln x(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln \left(1 + \frac{e^{\mu_{\max} A(t)} - 1}{e^{y_{\max} - y_0}} \right), \quad (12)$$

$$A(t) = t - \frac{h_0}{\mu_{\max}} + \frac{\ln(1 - e^{-\mu_{\max} t} + e^{-(\mu_{\max} t - h_0)})}{\mu_{\max}} \quad (13)$$

где $y_0 = \ln x(0)$ и $y_{\max} = \ln x_{\max}$ - для максимальной концентрации бактерий x_{\max} . Величина μ_{\max} соответствует максимальной скорости роста, $h_0 = \lambda \mu_{\max}$, где λ определяет величину запаздывания [143].

Описанная выше математическая модель Бараньи-Робертса являлась основой программы ShelfLife⁶ (приложение Б.1), которая использовалась нами для описания роста микроорганизмов в нестерильных образцах гидрогелевых композиций с введением стабилизаторов и без.

В программе ShelfLife нами были обработаны данные по обсемененности трех образцов гидрогелевых композиций: на основе альгината натрия (7%), на основе альгината натрия (7%) и феноксиэтанола (1%), на основе альгината натрия (7%) и сорбата калия (0,25%) за период 10 недель «ускоренного старения» при температуре хранения 25 °С (приложение Б.2). Исходные данные по обсемененности каждого образца (АН 7% - $3 \cdot 10^2$ КОЕ/г, АН 7%+ФЭ 1% - $< 1 \cdot 10^2$

⁶ Автор выражает большую благодарность к.ф.-м.н., доценту кафедры прикладной информатики и теории вероятностей РУДН Ловецкому К.П. за оказанную помощь в математическом описании процессов старения гидрогелевых композиций и за предоставление программного обеспечения, рассчитывающего срок годности лечебных композиций

КОЕ/г, АН 7%+СК 0,25% - $< 1 \cdot 10^2$ КОЕ/г) являлись значением x_0 для каждого из исследуемых образцов гидрогелевых композиций. В итоге с помощью обработки экспериментальных данных в программе ShelfLife нами получены следующие зависимости (рис.41 а,б,в). Отметим, что для проведения расчетов все исходные данные (концентрация микроорганизмов) переведены в логарифмический масштаб: $x \rightarrow \ln(x)$, а не в $x \rightarrow \log_{10}(x)$, который использовался нами в работе ранее (рис.22,23).

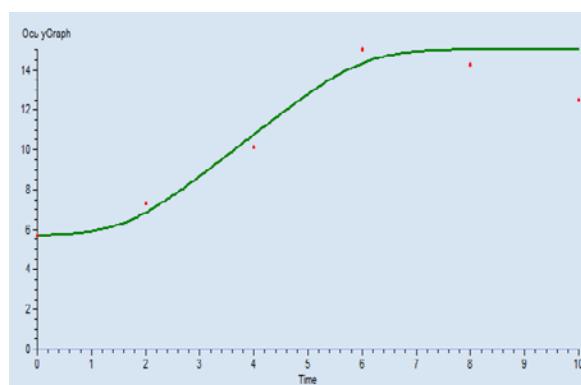


Рис.41 а. Кривая роста микроорганизмов АН по модели Бараньи и Робертса

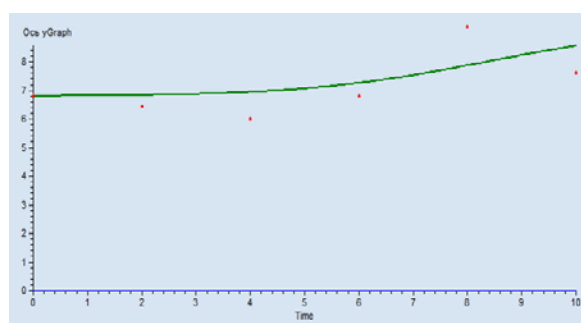


Рис.41 б. Кривая роста микроорганизмов АН+ФЭ по модели Бараньи и Робертса

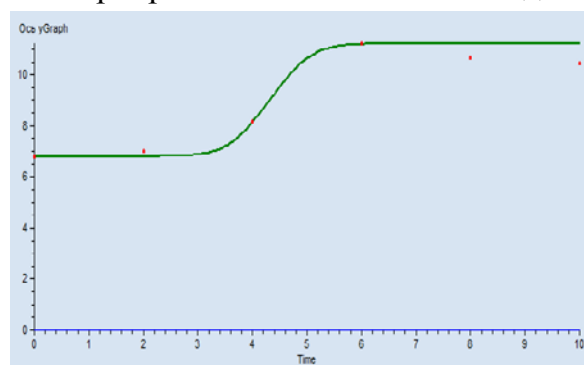


Рис.41 в. Кривая роста микроорганизмов АН+СК по модели Бараньи и Робертса

На рис. 41 (а – в) приведены кривые, аппроксимирующие полученные после обработки данных точки – натуральные логарифмы исходных данных по концентрации микроорганизмов. Параметры математической модели определялись с помощью нелинейного метода наименьших квадратов.

Нужно отметить, что полученные кривые роста микроорганизмов (рис. 41а-41в) в различных образцах (приложение Б.2) по модели Бараньи и Робертса хорошо описывают данные только в фазе задержки и в экспоненциальной фазе (начальный период роста). В стационарной же фазе модель работает менее точно, поскольку не может учесть процессов, происходящих в системе, и причин, из-за которых они идут (например, уменьшение количества питательных средств для микроорганизмов). Для того чтобы скорректировать данную математическую модель с учетом этого замечания, необходимо было ввести в уравнения (12) дополнительные коэффициенты. Такое изменение модели Бараньи и Робертса позволит учесть ограниченность внешних ресурсов популяции (питательные вещества, кислород) в рассматриваемой системе (гидрогелевой композиции).

3.7.3.1. Создание скорректированной модели роста микроорганизмов, учитывающей истощение ресурсов для их развития

Вследствие внутривидовой конкуренции микроорганизмов при ограниченных количествах питательных веществ, их размножение с ростом плотности их популяции падает, а смертность растет. Скорость роста популяции микроорганизмов после достижения ею максимального значения снижается также, как и плотность (численность) популяции [144].

В модели Бараньи и Робертса учитывались лишь те факторы, которые хорошо описывают плотность популяции микроорганизмов до достижения максимальной плотности. Предполагалось при этом, что по достижении максимума популяция переходит в стационарный режим – рождаемость и смертность в популяции микроорганизмов уравниваются и численность ее становится постоянной [143]. Однако экспериментальные данные свидетельствуют, что после достижения максимума численность популяции

микроорганизмов начинает медленно нелинейно снижаться [143]. Учет этого явления в математической модели возможен с помощью введения дополнительного слагаемого в уравнение (14) [145].

Модель роста популяции тогда принимает вид:

$$\text{Если } t < T_{\max}, \text{ то } y(t) = \ln x(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln \left(1 + \frac{e^{\mu_{\max} A(t)} - 1}{e^{y_{\max} - y_0}} \right), \quad (14)$$

$$\begin{aligned} \text{Если } t > T_{\max}, \text{ то } y(t) = \ln x(t) = y_0 + \mu_{\max} A(t) - \ln \left(1 + \frac{e^{\mu_{\max} A(t)} - 1}{e^{y_{\max} - y_0}} \right) + \\ + B \exp \left(-\frac{C}{(t - t_{\max})^2} \right), \end{aligned} \quad (14')$$

Скорректированная модель дополнительно может учитывать, например, недостаток питания для микроорганизмов из окружающей среды (гидрогеля), который учитывает дополнительный коэффициент.

В используемой нами скорректированной модели Бараньи и Робертса были введены два новых неизвестных коэффициента – B и C , описывающие влияние ограниченности ресурсов (то есть количества питательных веществ и условий для нормального развития) на размер популяции микроорганизмов.

Коэффициент B описывает эффективность воздействия консерванта на угнетение роста микроорганизмов в течение срока хранения, а коэффициент C учитывает уменьшение питательных веществ, необходимых для развития популяции микроорганизмов в течение этого срока.

Обработав экспериментальные данные (приложение Б.2) с помощью скорректированной модели Бараньи и Робертса для нестерильных образцов гидрогелевых композиций на основе альгината натрия (7%), на основе альгината натрия (7%) и феноксиэтанола (1%), на основе альгината натрия (7%) и сорбата калия (0,25%) мы получили кривые роста микроорганизмов, на которых

стационарный участок максимально приближен к экспериментальным данным (рис. 42 а,б).

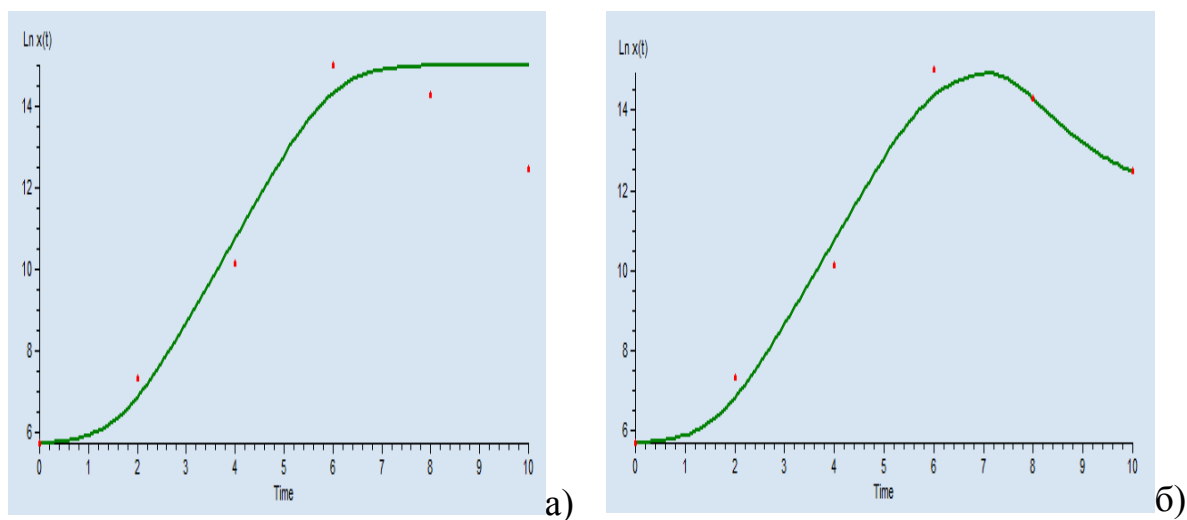


Рис.42. Кривые роста микроорганизмов в образце ГК на основе АН 7%, полученные по традиционной модели Бараньи-Робертса (а) и по скорректированной модели Бараньи-Робертса (б)

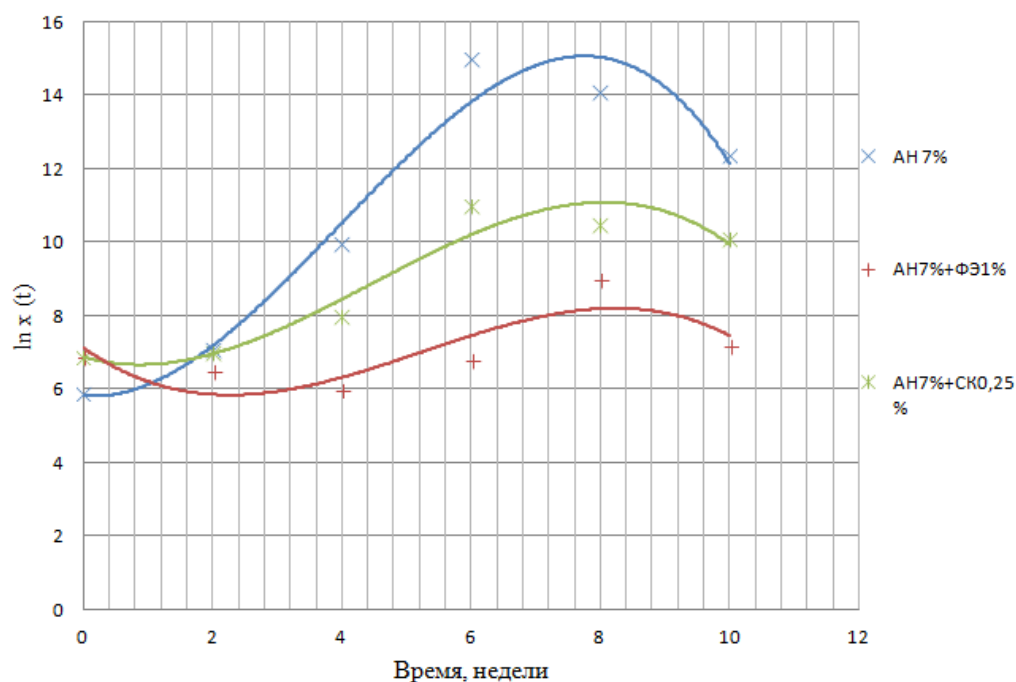


Рис.43. Кривые роста микроорганизмов в ГК в процессе их хранения при 25 °С

По итогам сравнения кривых роста микроорганизмов (рис. 43) можно отметить, что в приведенных нестерильных образцах гидрогелей в течение двух

недель хранения при температуре 25 °С темп роста микроорганизмов не переходит из индукционной фазы в экспоненциальную. Этот процесс медленнее всего происходит в гидрогеле с добавлением 1,0% феноксиэтанола. Это подтверждается также скоростью роста микроорганизмов в анализируемых образцах, которая характеризуется тангенсом угла наклона касательных к кривым роста. Для кривой роста микроорганизмов в образце с ФЭ тангенс угла наклона касательной равен 0,49 – самое низкое значение, для кривой роста микроорганизмов в образце с СК тангенс угла наклона касательной равен 0,91 – среднее значение, а для кривой роста микроорганизмов в контрольном образце гидрогелевой композиции на основе альгината натрия без добавления стабилизаторов тангенс угла наклона касательной равен 1,83 - самое высокое значение.

Таким образом, получено еще одно подтверждение целесообразности использования добавок феноксиэтанола и сорбата калия с целью стабилизации микробиологических характеристик композиции на основе альгината натрия.

3.7.4. Математическое моделирование процесса изменения вязкости композиций в течение хранения после радиационной стерилизации

Еще одним технологическим параметром, анализируемым нами в процессе ускоренного старения альгинатных гидрогелевых композиций с добавлением 0,25% СК и 1,00% ФЭ и без, являлась вязкость композиции и характер ее изменения после стерилизации и в течение экспериментального хранения. Для изучения влияния сорбата калия и феноксиэтанола на вязкость гидрогелевой композиции на основе альгината натрия после ее стерилизации дозой 6 кГр в процессе хранения, брали за основу математическую модель, представляющую собой уравнения Аррениуса (15), в которое введен дополнительный коэффициент [143]. В нашем случае дополнительный коэффициент B характеризует изменение вязкости гидрогелевой композиции в процессе хранения и равен отношению

вязкости композиции в определенный момент хранения к изначальному значению вязкости исследуемой композиции.

$$C = C_0 - t \times A \times e^{\frac{E_A}{R \times T} + B} \quad (15),$$

$k = A \cdot e^{\frac{-E_A}{RT} + B}$ – константа деградации препарата;

A – амплитудный коэффициент (предэкспоненциальный коэффициент),

t – время экспериментального хранения;

E_A – энергия активации процесса старения ГК,

T – температура хранения, K ,

B – доля потери вязкости ГК в течение хранения,

R – универсальная газовая постоянная

($8,314 \text{ Дж}/(\text{моль} \cdot \text{К})$).

C – рассчитываемый срок годности ГК,

C_0 – срок годности в реальном времени

Уравнение (13) также являлось основой программного обеспечения, с помощью которого обрабатывались экспериментальные данные по определению вязкости гидрогелевых композиций, подвергавшихся «ускоренному старению». Нами анализировались композиции на основе альгината натрия (7%), на основе альгината натрия (7%) и феноксэтанола (1%), на основе альгината натрия (7%) и сорбата калия (0,25%), которые предварительно были отстерилизованы при дозе 6 кГр. Таким образом, устанавливалась эффективность вводимых в композицию добавок с точки зрения стабилизации ее вязкостных свойств после радиационной стерилизации в процессе экспериментального хранения. Обработав в программе полученные данные по вязкости стерильных гидрогелевых композиций (приложение Б.3) во время «ускоренного хранения», нами были получены следующие зависимости изменения вязкости гидрогелей во времени (рис. 44,45):

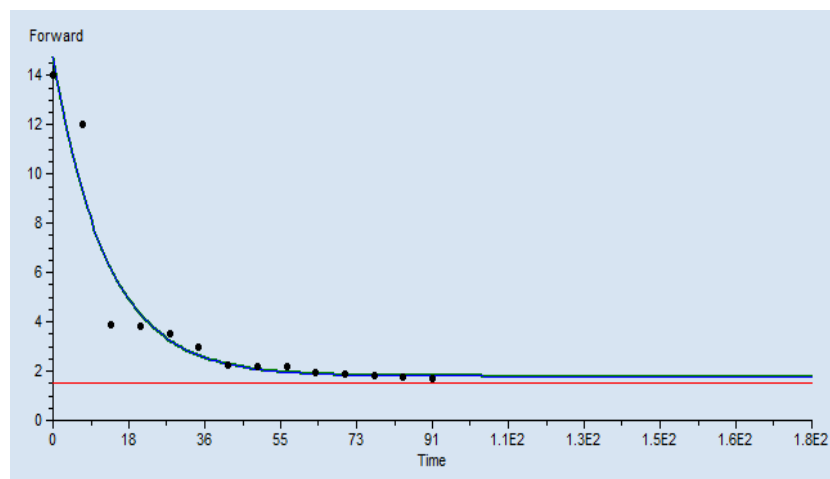


Рис.44. Зависимость изменения вязкости во времени стерильной ГК на основе АН 7%+СК

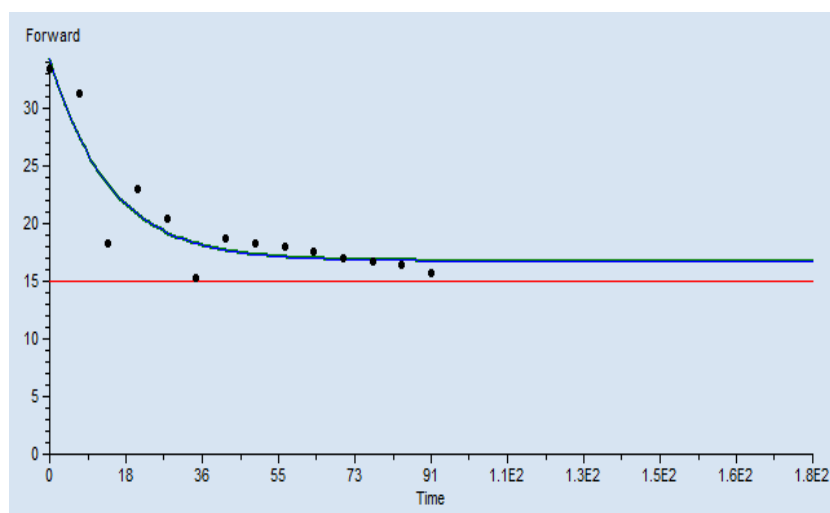


Рис.45. Зависимость изменения вязкости во времени стерильной ГК на основе АН 7%+ФЭ

По рис. 44, 45 видно, что даже при наличии в гидрогелевой композиции предварительно выбранных стабилизаторов вязкость падает в течение хранения. Это связано прежде всего с тем, что образующиеся первичные продукты радиолиза воды, имеющие радикальную природу, взаимодействуют с полисахаридом как во время стерилизации, так и после нее, что приводит к деструктуризации альгинатного гидрогеля. Кроме того, можно предположить, что микроорганизмы, которые присутствовали в композиции до момента финишной стерилизации, также частично понизили вязкость гидрогелевой

композиции на основе альгината натрия вследствие ферментативного гидролиза гликозидных связей полисахарида.

Из полученных зависимостей (рис. 44,45) видно, что вязкость гидрогелевой композиции с добавлением сорбата калия после стерилизации не опускается ниже 1,5 Па·с в течение 174 суток (максимальное значение на оси времени 180 суток). При пересчете данного времени в соответствии с табл. 28, установили, что данный срок соответствует 3 годам хранения в реальном времени [140]. Вязкость гидрогелевой композиции с добавлением феноксиэтанола после стерилизации не опускается ниже 15 Па·с в течение 174 суток, что соответствует 3 годам хранения в реальном времени. Исходя из этого можно сделать вывод, что для низковязких лечебных композиций можно использовать в качестве стабилизирующей добавки сорбат калия в концентрации 0,25%, а для высоковязких – консервант феноксиэтанол в концентрации 1%, это позволит обеспечить срок годности таких композиций 3 года.

Важно отметить, что параллельно с мониторингом вязкости гидрогелевых композиций с сорбатов калия и феноксиэтанолом, а также контрольного образца гидрогелевой композиции без добавок в процессе ускоренного старения проводился мониторинг их стерильности. Данный показатель необходимо было анализировать в процессе «ускоренного старения» гидрогелевых композиций, поскольку наряду с вязкостью именно этим показателем лимитируется срок годности получаемой продукции. Для того, чтобы готовая продукция после финишной стерилизации отвечала требованиям этого показателя (отсутствие жизнеспособных микроорганизмов) в течение необходимого срока годности в состав композиции были введены стабилизаторы, проявляющие консервирующую способность. Результаты оценки стерильности представлены в табл. 29.

Таблица 29. Оценка стерильности гидрогелевых композиций на основе АН в процессе «ускоренного старения»

Срок контроля стерильности, в неделях	Результат оценки стерильности : «+» -стерильно, «-» -нестерильно		
	АН+0,25% СК	АН+1,0% ФЭ	Контроль (без добавок)
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	+	+	+
5	+	+	+
6	+	+	+
7	+	+	+
8	+	+	+
9	+	+	+
10	+	+	+
11	+	+	+
12	+	+	+
13	+	+	+
14	+	+	+
15	+	+	-
16	+	+	-
17	+	+	-
18	-	-	-

По итогам проверки стерильности образцов гидрогелей с феноксиэтанолом и сорбатом калия, а также контрольного образца (гидрогель без добавок) установлено, что на 116 сутки хранения гидрогелевых композиций с дополнительными добавками при $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ они выдерживают требования по

данному показателю. При пересчете на срок хранения в реальном времени (табл. 28), т.е. при 5°C, это составляет 2 года, в то время как композиция на основе альгината натрия отвечала требованию стерильности только в течение 98 суток наблюдения, что в пересчете на реальное время хранения составляет 1 год и 8 месяцев.

Необходимо отметить, что основной целью настоящей работы было продление срока годности лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия, которого мы достигали за счет одновременной стабилизации микробиологических характеристик данной композиции для обеспечения ее гарантированной стерильности после радиационной стерилизации дозой 6 кГр и вязкостных характеристик этой композиции после радиационной стерилизации. Кроме того, одной из вытекающих из этой цели задач являлся поиск единственной стабилизирующей добавки, работающей одновременно в этих двух направлениях. Такая задача в ходе исследовательской работы была решена, причем предложены два разных стабилизатора – для низковязкой композиции, применяемой в урологической практике, и для высоковязкой композиции, что является целесообразным с экономической точки зрения.

Несмотря на то, что с помощью стабилизаторов феноксиэтанола и сорбата калия подтверждена возможность сохранения вязкости альгинатной гидрогелевой композиции в течение 3 лет, срок ее годности может быть продлен с 1 года до 2 лет, поскольку стерильность композиции стабилизируется данными добавками только в течение этого периода.

Таким образом, с помощью разработанной методики ускоренного старения лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия и математического моделирования процесса роста микроорганизмов в композиции до стерилизации и процесса изменения вязкости после стерилизации, было подтверждена целесообразность применения в качестве стабилизатора низковязких композиций для урологической сферы сорбата калия, а для высоковязких – феноксиэтанола, что позволяет увеличить гарантированный срок

годности данных лечебных материалов. На основании подтверждения применения стабилизаторов сорбата калия и феноксиэтанола для обеспечения срока годности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия, нам необходимо было разработать технологические режимы получения гидрогелей в зависимости от специфики их применения, а именно выбрать возможный диапазон концентраций стабилизатора и оценить возможность стерилизации большей стерилизующей дозой. Этому посвящаются следующие главы работы.

3.8. Сравнительный анализ влияния феноксиэтанола в различных концентрациях на изменение вязкости гидрогелевой композиции после радиационной стерилизации

В ходе проведения эксперимента по ускоренному старению образцов гидрогелевых композиций была подтверждена целесообразность применения 0,25% СК и 1,00% ФЭ как в качестве добавок, стабилизирующих микробиологические характеристики гидрогелевых композиций на основе альгината натрия в процессе их хранения до финишной стерилизации и обеспечивающих стерильность в течение всего срока годности 2 года, так и стабилизирующих вязкость гидрогелевых композиций после финишной стерилизации. Было установлено, что СК (0,25%) наиболее эффективен при стабилизации свойств низковязких гидрогелевых композиций (1,5-2,0 Па·с), используемых, например, в урологической практике, а ФЭ (1,00% масс.) хорошо стабилизирует свойства высоковязких гидрогелевых композиций (6,0-15,0 Па·с).

Как было сказано ранее, в данной работе для достижения поставленной цели – увеличения срока годности лечебной композиции - мы предполагали, что чем выше стерилизующая доза, тем больше надежность финишной стерилизации и, соответственно, тем больше будет гарантируемый срок годности лечебной гидрогелевой композиции. Однако увеличение стерилизующей дозы может привести к изменению физико-механических свойств гидрогелевой композиции, что отрицательным образом скажется на ее потребительских качествах. Кроме того, технически повышение дозы стерилизации лимитировано возможностями

стерилизующей установки: шаг повышения дозы – около 9 кГр. Поэтому мы ограничились лишь однократным увеличением дозы стерилизации с 6 до 15 кГр и при этом оценивали зависимость вязкости гидрогелевых композиций от концентрации вводимого ФЭ, чтобы изучить возможность их стерилизации повышенной стерилизующей дозой 15 кГр.

Для эксперимента нами были взяты гидрогелевые композиции на основе 7,00% масс. альгината натрия с дополнительно введенным ФЭ в концентрациях 0,50%, 1,00%, 1,50%, 2,00%, а также с 0,25% СК; в качестве контрольного образца использовалась композиция на основе 7,00% альгината натрия без дополнительных добавок. Вязкость всех гидрогелевых композиций была измерена до финишной стерилизации, после стерилизации дозой 6 кГр и дозой 15 кГр. Результаты эксперимента приведены на рис.46а), б). Отметим, что вязкость композиции, представленная в технической документации (технические условия и производственный регламент на изделие) является параметром, строго выверенным с помощью технических испытаний и многократно проведенных клиническими исследованиями службами Минздрава.

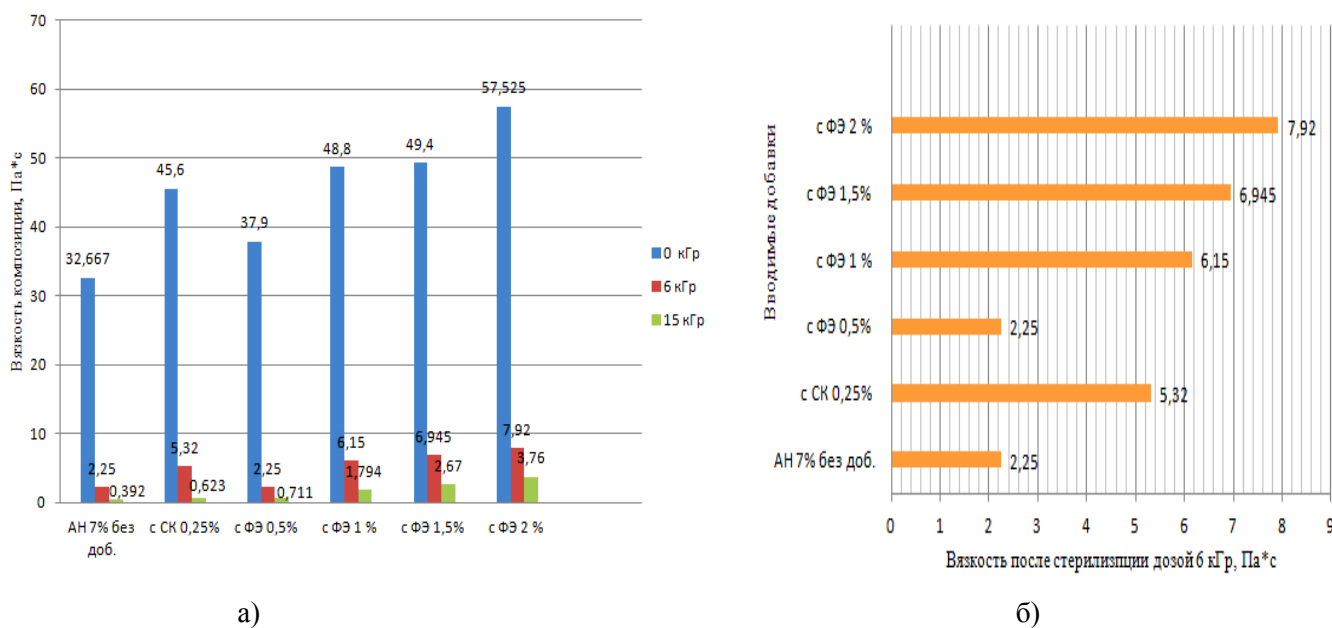


Рис.46. Влияние введения различных концентраций ФЭ в композицию на основе альгината натрия на ее вязкость после радиационной стерилизации а) дозой 6 кГр и 15 кГр б) 6 кГр

Из полученных данных (рис. 46 а, б) следует, что проведение радиационной стерилизации как дозой 6 кГр, так и 15 и кГр, очень сильно снижает вязкость гидрогелевого материала. Это снижение напрямую зависит от стерилизующей дозы. Однако, дополнительное введение в гидрогелевую композицию ФЭ в концентрации от 1 до 2% позволяет достичь такой вязкости гидрогеля, которая удовлетворяет требованиям технической документации (не ниже 6,0 Па·с) при стерилизации дозой 6кГр. При этом показано, что при введении в композицию 0,25 % СК такого эффекта не достигается. При повышении дозы стерилизации до 15 кГр стабилизирующей способности всех рассматриваемых добавок недостаточно.

Из зависимости, приведенной на рис. 47, следует, что увеличение вводимой в гидрогелевую композицию концентрации ФЭ пропорционально увеличивает ее вязкость, однако стоит ограничиться вводимой концентрацией 1,5-2,0% , поскольку, согласно данным сертификата о безопасности этой добавки, максимальная концентрация ФЭ, не причиняющая вред здоровью потребителя, составляет 2%.

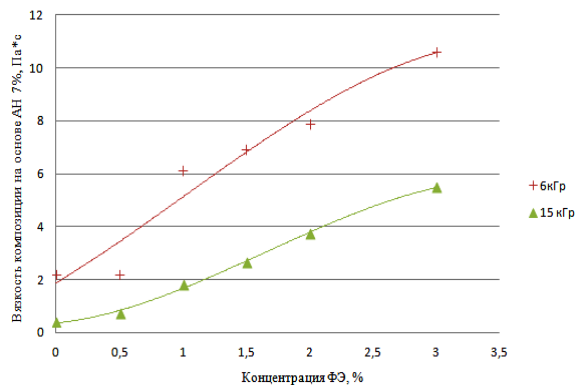


Рис.47. Зависимость вязкости гидрогелевой композиции на основе альгината натрия от концентрации ФЭ

3.9. Влияние различных спиртов на реологические свойства высоковязкой гидрогелевой композиции после радиационной стерилизации

Как уже было отмечено ранее, в основе предотвращения падения вязкости гидрогелевой композиции на основе альгината натрия после радиационной стерилизации лежит принцип радиозащиты гидрогеля, который основан на дополнительном введении веществ, обладающих акцепторной активностью по

отношению к свободным радикалам: $\dot{R} + \text{In}-\text{H} \longrightarrow \text{RH} + \text{In}\dot{\text{H}}$. Исходя из этого, степень радиационной устойчивости гидрогеля полисахарида может быть повышена путем введения в систему веществ-радиопротекторов, обладающих способностью поглощать свободные радикалы [139]. Поэтому для предотвращения разрушения структуры биополимерных изделий после радиационной стерилизации в их состав вводят специальные добавки (радиопротекторы).

На основании литературных данных известно, что соединения, содержащие спиртовые группы, могут быть использованы в качестве радиопротекторов, что связано с их акцепторной активностью в отношении свободных радикалов, образующихся в результате радиолиза воды в составе гидрогеля. В качестве таких радиопротекторов нами были выбраны ПЭГ 3000, этанол, глицерин[36].

Радиопротекторную активность данных добавок мы оценивали по их способности стабилизировать вязкость гидрогелевой композиции после радиационной стерилизации. В эксперименте нами сравнивалось стабилизирующее действие в отношении вязкости гидрогеля после гамма-стерилизации дозой 6 кГр уже предварительно выбранной добавки – феноксиэтанола - со стабилизирующим действием полиэтиленгликоля 3000, глицерина и этанола. Результаты эксперимента иллюстрирует гистограмма на рис. 48.

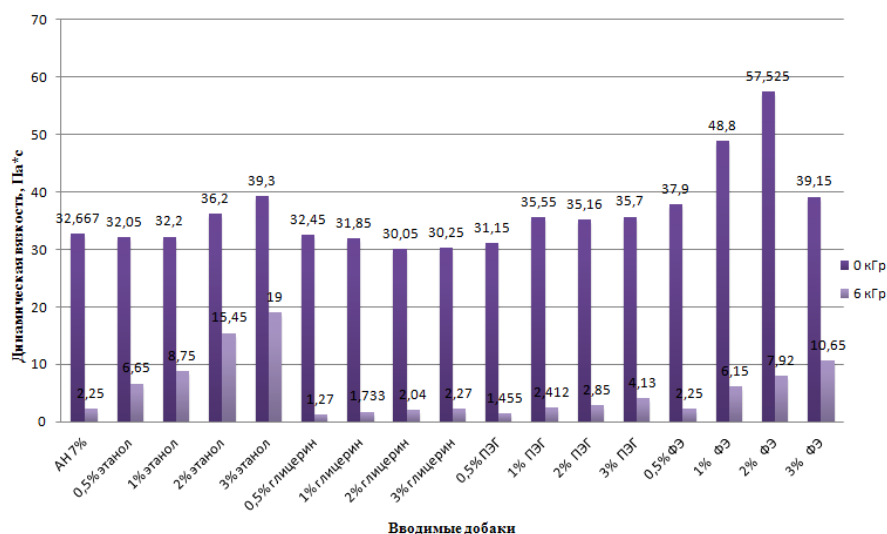


Рис . 48. Влияние добавки (этанол, глицерин, ПЭГ, ФЭ) на вязкость гидрогелевой композиции на основе альгината натрия после радиационной стерилизации дозой 6 кГр

Из данных на рис.48 следует, что после радиационной стерилизации дозой 6 кГр наиболее выраженный эффект стабилизации вязкости гидрогелевой композиции начинает наблюдаться с концентрации вводимых добавок 2% масс. Так, вязкость композиции на основе 7 % АН с дополнительным введением 2% этанола выше вязкости контрольного образца (гидрогеля на основе 7% АН без добавок) в 7 раз, вязкость гидрогеля с дополнительным введением 2% ПЭГ 3000 выше вязкости контрольного образца в 1,5 раза, вязкость гидрогеля с дополнительным введением 2% ФЭ – в 3,5 раза. Дополнительное введение в гидрогелевую композицию на основе 7% альгината натрия глицерина не привело к стабилизации ее вязкости после финишной стерилизации.

Необходимо отметить, что такое резкое увеличение вязкости композиции при дополнительном введении этанола может быть связано с тем, что этот одноатомный спирт ухудшает термодинамическое качество растворителя по отношению к полимеру, что приводит к возрастанию степени ассоциации макромолекул в растворе, так как контакты полимер–полимер становятся более вероятными, чем контакты полимер-растворитель[76].

Кривые течения, представленные на рис.49 также подтверждают эффективность стабилизации вязкости с помощью добавок этанола, феноксиэтанола и полиэтиленгликоля в концентрации 2 %. Согласно [147], при увеличении напряжения сдвига происходит разрушение структуры гидрогеля, что обусловлено разрывом контактов между макромолекулами, начинается течение композиции и это приводит к уменьшению величины ее эффективной вязкости. Из кривых течения на рис. 49 следует, что при повышении сдвигового напряжения меньше всего разрушается структура гидрогелей с добавками этанола и феноксиэтанола, о чем свидетельствует больший угловой коэффициент кривых течения композиций с данными добавками (5,458 – для композиции с этанолом, 4,097- для композиции с феноксиэтанолом). Угловой коэффициент кривой течения композиции с дополнительно введенным ПЭГ

практически не отличается от углового коэффициента кривой течения альгинатной гидрогелевой композиции без добавок (1,722).

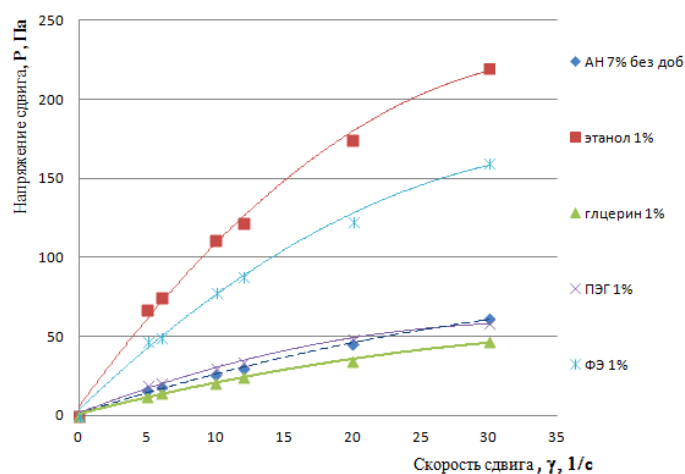


Рис. 49 Кривые течения гидрогелевых композиций с дополнительно введенными стабилизаторами после радиационной стерилизации дозой 6 кГр

Несмотря на хороший показатель вязкости гидрогеля после радиационной стерилизации с дополнительно введенным этанолом (2- 3%), от использования данной добавки мы решили отказаться, поскольку применение этанола недостаточно удобно в технологическом плане (горючесть, летучесть, токсичность и т.д.).

Использование ПЭГ, применение которого разрешено в фармацевтике и в пищевой промышленности [108], в качестве дополнительной добавки к альгинатной гидрогелевой композиции стабилизирующей ее вязкость малоэффективно по сравнению с ФЭ (рис.48,49). Но стоит также отметить, что ПЭГ часто вводят в рецептуру лекарственных форм и косметических средств как пластификатор и влагоудерживающий компонент в количестве 1-3% масс. поэтому в данной работе такое свойство ПЭГ полезно использовать с целью предотвращения высыхания слоя лечебного гидрогелевого материала на поверхности кожи и повышения его атравматичности. Таким образом, этот технологический подход оправдан для линии лечебных материалов на основе альгината натрия, используемых при ожогах.

Поэтому далее нами была изучена возможность совместного применения ФЭ и ПЭГ. Идея заключалась в попытке объединить консервирующую

способность ФЭ и влагоудерживающую способность ПЭГ, а также их эффективность при стабилизации вязкости гидрогелевой композиции после стерилизации, при этом попытаться снизить используемые концентрации добавок, основываясь на возможности достижения синергетического эффекта. Для эксперимента нами были взяты гидрогелевые композиции на основе 7,0% альгината натрия с дополнительным введением от 0,5% до 2,0% ФЭ и ПЭГ в различных соотношениях. Вязкости данных композиций сравнивались нами после стерилизации дозой 6 кГр. Результаты приведены на рис. 50.

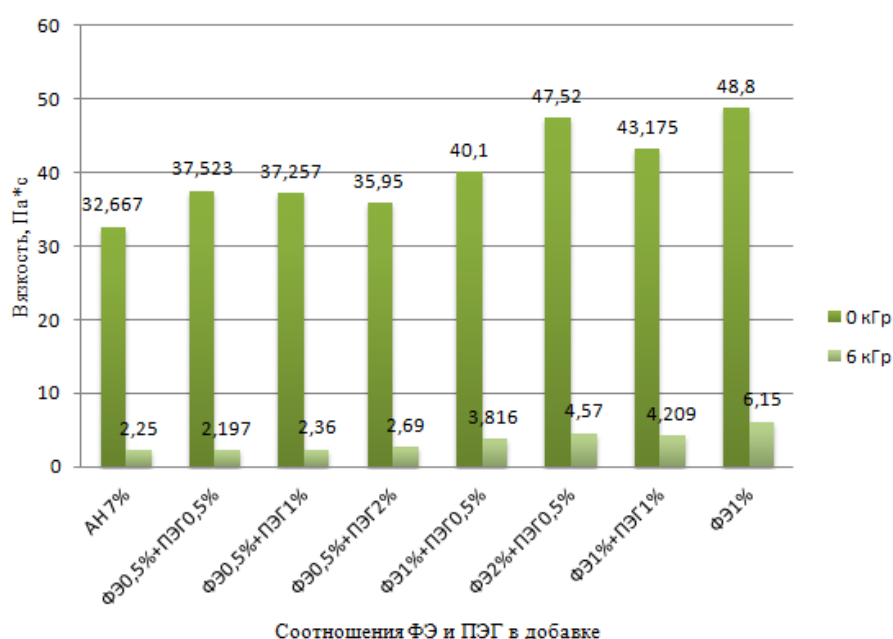


Рис. 50. Выбор соотношения концентраций ФЭ и ПЭГ в добавке к гидрогелевой композиции на основе альгината натрия

Из гистограммы на рис. 50 видно, что наиболее высокую вязкость после радиационной стерилизации дозой 6 кГр имеет композиция с дополнительно введенной смесью 2,0%ФЭ и 0,5% ПЭГ (4,570 Па·с), следующее значение вязкости после стерилизации – 4,209 Па·с - имеет композиция с дополнительно введенной смесью 1,0% ФЭ и 1,0% ПЭГ. И то и другое значение близко к значению вязкости композиции с дополнительной добавкой 1,0% ФЭ (6,150 Па·с).

Таким образом, ожидаемого синергетического эффекта от использования смеси ФЭ и ПЭГ с точки зрения стабилизации вязкости гидрогелевой композиции не достигнуто, поскольку вязкость композиции с введением только ФЭ больше вязкости композиции с введением смеси ФЭ и ПЭГ в среднем 1,5 раза, однако

наличие в композиции ПЭГ позволит улучшить потребительские характеристики лечебной гидрогелевой композиции, а именно уменьшить степень высыхания слоя гидрогелевого материала на коже пациента. Выбирая между смесью из 2% ФЭ и 0,5% ПЭГ и смесью из 1,0%ФЭ и 1,0% ПЭГ целесообразнее остановиться на последнем варианте, поскольку концентрация ФЭ в ней ниже максимально допустимой (2,0%) и, следовательно, степень безопасности применения композиции с такой добавкой меньше. Также такой вариант более экономически выгоден при небольшой разнице в вязкости композиции после стерилизации при введении смеси 2,0 % ФЭ и 0,5% ПЭГ и смеси из 1,0%ФЭ и 1,0% ПЭГ (4,57 Па·с и 4,209 Па·с соответственно).

Таким образом, добавка ПЭГ является многофункциональной: с одной стороны она сдерживает падение вязкости после стерилизации, а с другой – улучшает потребительские качества лечебной композиции, а именно снижает высыхаемость, что было подтверждено нами в следующем эксперименте.

Для этого эксперимента брали образцы стерильных гидрогелевых композиций на основе 7,0 % альгината натрия с дополнительным введением ФЭ 1,0%, ПЭГ 1,0% и ФЭ 1,0%, ПЭГ 3,0% и контрольный образец альгинатного гидрогеля без введения дополнительных добавок (табл.30). Высыхаемость определяли по методике, описанной в 2.4. Результаты представлены в табл. 30 и на рис. 51.

Таблица 30. Убыль в массе при высыхании гидрогелевых композиций

Время, сут.	Убыль в массе, %			
	ФЭ 1,0%	ПЭГ 1,0%+ ФЭ 1,0%	ПЭГ 3,0%	Контроль АН без добавок
1	4,72	5,94	2,19	7,21
2	16,96	15,27	4,54	15,77
3	23,97	26,57	13,56	34,32
4	42,14	31,33	20,69	46,38
5	48,70	43,27	36,18	66,78
10	95,17	94,29	85,08	96,10
15	95,26	94,40	91,69	96,26
20	95,27	94,43	91,72	96,36

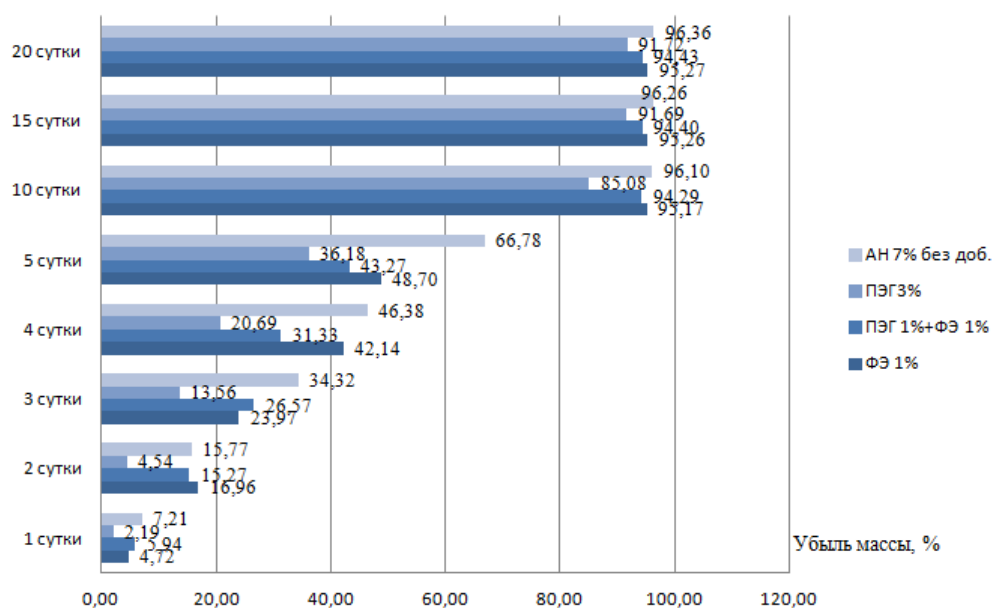


Рис.51. Убыль в массе при высыхании гидрогелевых композиций

Анализируя результаты, можно сказать, что введение в гидрогелевую композицию ПЭГ в выбранной нами концентрации 1,0 % одновременно с добавлением 1,0 % ФЭ позволяет незначительно уменьшить высыхаемость гидрогелевой композиции на 0,8% по сравнению с композицией с добавлением только 1,0% ФЭ и практически на 2,0% по сравнению с контрольным образцом. Введение же в композицию 3,0% ПЭГ в среднем позволяет снизить высыхаемость гидрогелевых композиций на основе альгината натрия на 3,5%.

Наряду с высыхаемостью нами также оценивалась адгезивность перечисленных выше композиций на основе альгината натрия. Данный показатель оценивался в соответствии с описанной методикой (2.5.) для того, чтобы сравнить атравматичность аппликаций с лечебными композициями в зависимости от введенных в них стабилизаторов, то есть насколько легко возможно удалить аппликацию с лечебным гидрогелем с кожи пациента, не травмируя ее. Адгезивность (липкость) гидрогеля в зависимости от введенных стабилизаторов оценивали по силе отрыва зонда прибора от гидрогеля. Результаты данного эксперимента приведены в табл. 26.

Таблица 31. Адгезивность гидрогелевых композиций в зависимости от введенных стабилизаторов

Адгезивность , г			
ФЭ 1,0%	ПЭГ 1,0%+ ФЭ 1,0%	ПЭГ 3,0%	Контроль АН без добавок
122,7	108,4	106,7	154,5

Из приведенных данных видно, что ПЭГ вносит существенный вклад в снижение адгезивности (липкости) композиции – в среднем в 1,1 раза меньше по сравнению с гидрогелем с добавлением 1,0% ФЭ и в 1,5 раза меньше по сравнению с контрольным образцом. Исходя из данного анализа адгезивности, можно сделать вывод о целесообразности дополнительного введения ПЭГ в концентрации 1,0-3,0% в лечебные композиции, которые используются при лечении длительно незаживающих ран, обеспечивая тем самым атравматичность используемых аппликаций.

Однако следует отметить, что введение в композицию только ПЭГ не позволит в нужной степени обеспечить микробиологические характеристики композиции до стерилизации в той же мере, как и ФЭ, кроме того введение в композицию ПЭГ более 1,0% экономически не целесообразно. Поэтому мы считаем, что для уменьшения высыхаемости технологически обоснованным является введение смеси 1,0% ФЭ и 1,0% ПЭГ.

3.10. Исследование вязкости композиций, используемых для урологического применения

Для урологического применения выпускаются лечебные гидрогели на основе альгината натрия с пониженной вязкостью, поскольку в данной терапии из-за повышенной чувствительности мочеиспускательного канала пациента при введении гидрогеля в полость мочевого пузыря применение высоковязких композиций затруднено, кроме того, наиболее удобный способ введения гидрогеля в этом случае посредством шприца. После радиационной стерилизации дозой 6кГр вязкость таких композиций должна составлять от 1,5 до 2,0 Па·с.

После перестановки режимов облучения стерилизующего оборудования, которое происходит на предприятии, осуществляющем данную стадию производства лечебных гидрогелевых композиций, при переходе с одного вида продукции на другой, доза стерилизации 6 кГр в ряде случаев может быть превышено максимально до 15 кГр. При этом наиболее критичным с точки зрения снижения качества является большая потеря вязкости, и наиболее сильное снижение вязкости (на 90% и более) наблюдается в случае низковязких гидрогелевых композиций (для урологического применения). Поэтому нами была изучена возможность сохранения вязкости данных лечебных материалов после стерилизации более высокой стерилизующей дозой (15 кГр).

Для того чтобы сохранить вязкость после облучения такой дозой на нужном для применения уровне, рассматривали повышение концентрации альгината натрия с 1,5% до 4,0% и вводили добавки, применение которых с целью сохранения вязкости после радиационной стерилизации обосновано ранее проведенными экспериментами. Отметим, что концентрация гиалуроната натрия в составе данной лечебной композиции не изменялась и была равна 1,0%, в этом эксперименте нами учитывалось изменение концентрации только альгината натрия.

Оценивали изменение вязкости композиции на основе 1,5% альгината натрия со стабилизирующими добавками после стерилизации дозой 6 кГр. Изменение вязкости гидрогеля на основе 1,5% альгината натрия после 15 кГр не представлялось возможным определить технически, поскольку она очень мала. Вязкость композиции на основе 4,0 % альгината натрия после стерилизации дозой 6 кГр в рамках данного эксперимента определять было нецелесообразно, так как повышение концентрации альгината натрия целесообразно только в случае увеличения дозы стерилизации (15 кГр) для компенсации падения вязкости при стерилизации увеличенной дозой. Полученные результаты приведены в табл. 32 и на гистограмме (рис.52).

Таблица 32. Изменение вязкости гидрогелевой композиции для урологического применения с дополнительными добавками после радиационной стерилизации

Вводимые добавки	1,5% АН		4 % АН	
	Доза стерилизации			
	0 кГр	6 кГр	0 кГр	15 кГр
0,15% СК	11,613	2,316	21,491	0,956
1%ФЭ	17,470	3,883	31,286	1,686
0,5% ПЭГ	12,700	2,240	25,467	1,511
0,5% ПЭГ+0,5%ФЭ	16,900	2,597	28,764	1,604
без добавок	9,561	1,547	19,417	0,328

Данные в табл.32 иллюстрируют тот факт, что увеличение концентрации альгината натрия в гидрогелевой композиции с 1,5% до 4,0% приводит к прямопропорциональному увеличению ее начальной вязкости - с 9,561 Па·с до 19,417 Па·с (приблизительно в 2 раза). В то же время повышение стерилизующей дозы с 6 до 15 кГр (в таком же соотношении) вызывает непрямопропорциональное снижение вязкости композиции после стерилизации (с 1,547 Па·с до 0,328 Па·с).

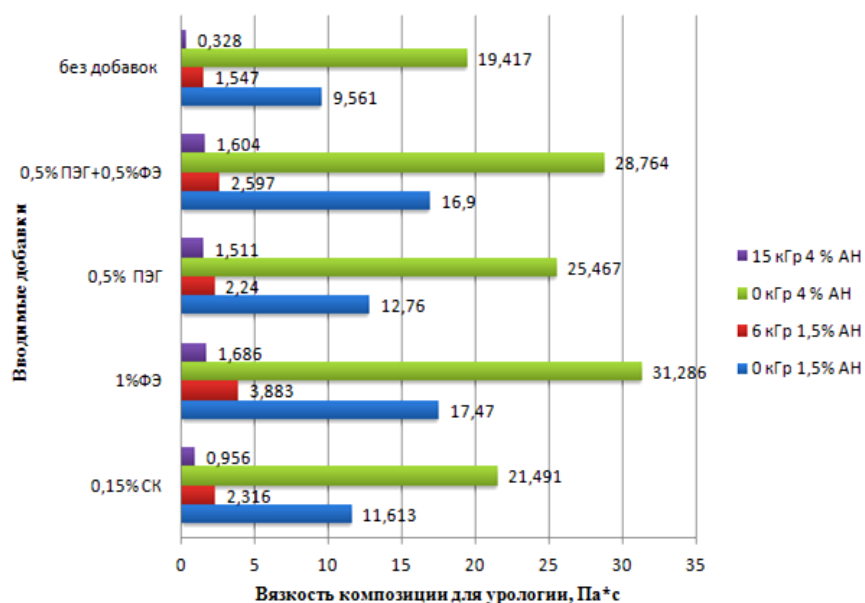


Рис.52. Изменение вязкости композиции для урологического применения в зависимости от стерилизующей дозы и дополнительно введенных добавок

Введение стабилизатора 0,15% СК⁷ в урологические композиции (на основе 1,5 и 4,0% АН) не оказывают существенного влияния на их вязкость после стерилизации, а введение таких добавок как 1,0% ФЭ, 0,5% ПЭГ, а также их смеси в соотношении 0,5%:0,5% соответственно позволяет в большей степени стабилизировать вязкость композиции после стерилизации.

Так, по сравнению с вязкостью композиции на основе 1,5% АН без добавок после стерилизации дозой 6кГр, вязкость такой же композиции после стерилизации данной дозой с дополнительным введением 1.0 % ФЭ выше в 2,5 раза, с дополнительным введением 0,5% ПЭГ – выше в 1,5 раза, а с дополнительным введением смеси 0,5% ФЭ и 0,5% ПЭГ – выше приблизительно в 2 раза. По сравнению с вязкостью композиции на основе 4,0 % АН без добавок после стерилизации дозой 15 кГр, вязкость такой же композиции после стерилизации данной дозой с дополнительным введением 1.0 % ФЭ выше в 5 раз, с дополнительным введением 0,5% ПЭГ – выше в 4,5 раза, с дополнительным введением смеси 0,5% ФЭ и 0,5% ПЭГ – выше в 5 раз.

При этом стоит отметить, что при введении данных добавок в композицию, содержащую 1,5% АН и стерилизуемую дозой 6 кГр, ее вязкость после стерилизации имеет значения, затрудняющие ее извлечение из упаковки (шприца). В то же время, при введении этого ряда стабилизаторов в композицию на основе 4 % АН и стерилизуемую дозой 15 кГр, вязкость такой композиции после стерилизации имеет удовлетворительное значение (близкое к значению вязкости контрольного образца композиции на основе 1,5% АН после стерилизации при 6кГр).

Таким образом, введение в гидрогелевую композицию стабилизаторов – ФЭ, ПЭГ или их смеси - наряду с увеличением концентрации альгината натрия с 1.5% до 4,0 % позволяет повысить стерилизующую дозу с 6 кГр до 15 кГр для

⁷ данная концентрация сорбата калия (а не экспериментально обоснованная нами ранее 0,25%) выбрана из рекомендаций медиков и соображений токсикологической безопасности: 0,15% СК оказывает меньшее местнораздражающее действие по сравнению с 0,25% СК, что стоит учитывать при введении его в полость мочевого пузыря.

обеспечения надежности финишной стерилизации, достигая при этом нужных вязкостных свойств гидрогеля. Из выбранных стабилизаторов, а именно: 1,0% ФЭ, 0,5% ПЭГ, смесь 0,5% ПЭГ и 0,5%ФЭ – наиболее экономически-выгодной и токсикологически безопасной является смесь 0,5% ПЭГ и 0,5% ФЭ.

Таким образом, поставленная в данной работе цель – увеличение срока годности лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия (с 1 года до 2 лет) – решалась с помощью различных технологических приемов, в основе которых лежал принцип понижения микробной обсемененности гидрогелевой композиции наряду с сохранением ее вязкости после стерилизации. Понижение микробной обсемененности гидрогелевой композиции на основе легко обсеменяемого альгината натрия до финишной радиационной стерилизации опосредованно позволяет увеличить эффективность и надежность этой технологической стадии и при этом позволяет использовать малую стерилизующую дозу 6кГр, поскольку, чем ниже обсемененность (бионагрузка) композиции до стадии стерилизации, тем проще достигнуть при дозе 6 кГр необходимый уровень стерильности. В то же время использование малой дозы облучения позволяет избежать резкого падения вязкости композиции после стерилизации, которое происходит из-за радиолиза. Однако следует отметить, что даже при использовании малой стерилизующей дозы 6кГр наблюдается деструкция гидрогелевой композиции на основе альгината натрия, что осложняет увеличение ее срока годности.

Обозначенные выше особенности технологии получения лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия привели нас к необходимости решения ряда задач. Нами осуществлялись выбор оптимальной температуры хранения гидрогелевой композиции, при которой замедляется развитие контаминирующей композицию микрофлоры, оценка влияния на микробиологические и вязкостные характеристики композиции ее УЗ-обработки, предварительной радиационной обработки альгината натрия (сырья для композиции), а также изучение возможности частичной замены альгината натрия

на менее контаминированный биополимер. Перечисленные подходы к стабилизации основных характеристик альгинатной гидрогелевой композиции (микробная обсемененность, вязкость) не дали нужных результатов, после чего нами научно обосновывалась и детально исследовалась возможность введения в состав гидрогелевой композиции добавок, которые позволили бы стабилизировать и микробную обсемененность композиции до стерилизации, и ее вязкость после стерилизации, а также обеспечить стерильность композиции в течение увеличенного срока годности – 2 лет.

Скрининг возможных добавок, обладающих антимикробным действием, которые разрешены для применения в пищевой и фармацевтической промышленности, позволил отдать предпочтение сорбату калия и феноксиэтанолу. Исходя из анализа литературных данных, было установлено, что механизм стабилизации вязкости альгинатной гидрогелевой композиции после радиационной стерилизации с помощью сорбата калия объясняется его способностью к образованию, за счет наличия в молекуле сопряженных двойных связей, высокомолекулярного соединения по механизму радиационной полимеризации, инициирующим агентом которой является перекисные соединения, получаемые в процессе радиолитического распада воды в гидрогелевой композиции. В результате это приводит к устойчивости стерильной альгинатной гидрогелевой композиции к радиационной деструкции вследствие наличия в ней высокомолекулярного соединения с линейной структурой, образованного сорбатов калия.

Возможность стабилизации вязкости гидрогеля на основе альгината натрия после радиационной стерилизации с помощью феноксиэтанола обусловлена наличием в его структуре гидроксильной группы –ОН: введение акцептора ·ОН радикала уменьшает деструкцию биополимера, так как данные вещества участвуют в свободно-радикальных превращениях с радикальными частицами, образующимися в процессе радиолитического распада и, тем самым, выводят их из реакции с альгинатом натрия.

Для оценки влияния исследуемых стабилизаторов на срок годности альгинатной гидрогелевой композиции потребовалась разработка ускоренной методики его определения, для чего нами была модифицирована «методика ускоренного старения» с учетом специфики исследуемых материалов и использовано программное обеспечение, позволяющее обрабатывать получаемые экспериментальные данные.

Последовательное решение поставленных задач позволило выбрать стабилизирующие добавки, которые одновременно влияют как на микробную обсемененность композиции и, как следствие, на ее стерильность, так и на вязкость после радиационной стерилизации и обеспечивает срок годности лечебной гидрогелевой композиции 2 года.

Подводя итоги данного исследования, рассмотрим сводную табл. 33, в которой приведена информация об эффективности различных стабилизирующих добавок, вводимых в состав лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия. Показано, что такая стабилизирующая добавка выбрана отдельно для высоковязкой альгинатной гидрогелевой композиции (феноксизтанол в концентрации 1,00% мас.) и отдельно для низковязкой композиции, применяемой в урологической сфере (сорбат калия в концентрации 0,25% мас.), такое разделение экономически целесообразно. Также в ходе работы научно обосновано и экспериментально подтверждено введение в альгинатную гидрогелевую композицию ПЭГ с м.м. 3000 в концентрации 1,00% мас. одновременно с введением 1,00% феноксизтанола для уменьшения ее высыхаемости.

Таблица 33. Эффективность действия стабилизирующих добавок в составе гидрогелевой композиции на основе альгината натрия

Стабилизирующая добавка	Тип композиции	Оказываемый эффект	Стабилизация микробной обсемененности до стерилизации	Стабилизация вязкости после стерилизации	Влияние на стоимость
СК	низковязк.	срок годности 2 года	+	+	-
ФЭ	высоковязк.	срок годности 2 года	+	+	-
ПЭГ	высоковязк.	атравматичн.	-	+/-	+/-
ФЭ+ПЭГ	низковязк.	возможность стерилизации при 15кГр, срок годности 2 года	+	+	+/-

Кроме того, в работе научно обоснована возможность стерилизации при 15кГр низковязких гидрогелевых композиций для урологической сферы применения, для этого в состав данной композиции необходимо вводить смесь 0,50% ПЭГ и 0,50% ФЭ наряду с увеличением концентрации альгината натрия с 1.50% до 4,00 %. Такое технологическое решение может стать необходимым с точки зрения гарантии качества продукции, например, при смене стерилизующей организации или изменении технологического регламента процесса радиационной стерилизации.

Нами разработан и отвалидирован процесс стерилизации лечебных композиций на альгинатной гидрогелевой основе, проведены их токсикологические испытания и внесены соответствующие изменения в техническую документацию на данные медицинские изделия (извещение об изменении №4 ТУ 9393-013-26943035-2003, приложение Г).

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что для увеличения срока годности лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия до 2 лет необходимо воздействовать одновременно на два существующих фактора: уменьшать микробную обсемененность гидрогелевой композиции до финишной радиационной стерилизации и предотвращать резкое снижение вязкости гидрогеля после радиационной стерилизации дозой 6 кГр, обеспечивая ее значение на необходимом уровне в соответствии с технической документацией и медицинскими требованиями (1,5-2,0 Па·с - для низковязких гидрогелевых композиций, используемых в урологической практике, 6,0-15,0 Па·с – для высоковязких гидрогелевых композиций).
2. Проведенные микроскопические исследования показали, что основной вклад в микробную обсемененность нестерильной гидрогелевой композиции вносит бактериальная микрофлора, при этом снижение температуры хранения композиции до финишной стерилизации с $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$ до $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ позволяет замедлить развитие и рост микроорганизмов в ней и может использоваться как дополнительный способ стабилизации ее микробной обсемененности.
3. С целью снижения микробной обсемененности альгинатной гидрогелевой композиции исследована возможность предварительной обработки альгината натрия, используемого для ее получения, ультразвуком и радиационным облучением. Показано, что данные технологические подходы не позволяют достигнуть желаемых результатов: значение микробной обсемененности существенно не снижается, при этом значительно усложняется технология получения гидрогелевой композиции, а предварительное радиационное облучение значительно снижает впоследствии ее вязкость.
4. Изучена возможность частичной замены в составе гидрогелевой композиции природного полисахарида альгината натрия на биосовместимые синтетические полимеры, которые менее подвержены микробной обсемененности (КМЦ, ПВП, ПВС). Установлено, что введение ПВС (м.м. 145 000) в количестве

0,7% (10,0% от общего содержания альгината натрия в композиции) позволяет понизить общую микробную обсемененность композиции до финишной стерилизации ($<1 \cdot 10^1$ КОЕ/г), но при этом не позволяет существенно предотвратить падение вязкости после радиационной стерилизации.

5. Произведен скрининг природных и синтетических вспомогательных веществ (добавок), токсикологически безопасных и разрешенных в фармацевтической и пищевой промышленности, для их последующего введения в альгинатную гидрогелевую композицию с целью одновременной стабилизации как ее микробной обсемененности до финишной стерилизации, так и стабилизации вязкости композиции после финишной стерилизации на нужном уровне.

6. Показано, что введение природных вспомогательных веществ (экстракты ромашки и крапивы, куркумина, мяты) не позволяют стабилизировать микробную обсемененность нестерильной и вязкость стерильной альгинатной композиции. Определено, что добавка серебра в форме наночастиц, стабилизированных альгинатом натрия, имея наибольшую эффективность при угнетении роста бактериальной микрофлоры, не оказывает стабилизирующего действия на вязкость стерильной композиции.

7. Установлено, что введение в гидрогелевую композицию синтетических добавок – сорбата калия и феноксиэтанола позволяет достигнуть одновременной стабилизации как микробной обсемененности нестерильной композиции, так и вязкости стерильной композиции на нужном уровне, определена оптимальная концентрация введения данных добавок: 0,25% масс. сорбата калия и 1,00% масс. феноксиэтанола.

8. С целью определения срока годности лечебной гидрогелевой композиции на основе альгината натрия в ускоренном режиме выбрана оптимальная температура экспериментального хранения, моделирующая условия старения гидрогелевой композиции в течение 116 суток, что соответствует 2 годам хранения в реальном времени, а также произведена оценка изменения основных

технологических показателей качества композиции (обсемененность до стерилизации и вязкость после стерилизации) в процессе экспериментального хранения.

9. На основании математического моделирования процессов старения лечебной альгинатной гидрогелевой композиции во время экспериментального хранения в соответствии разработанной ускоренной методикой определения ее срока годности определено, что введение 0,25% сорбата калия в низковязкую гидрогелевую композицию, применяемую в урологической сфере, позволяет продлить этот срок до 2 лет; для продления срока годности высоковязкой альгинатной гидрогелевой композиции до 2 лет необходимо введение 1,00% феноксиэтанола.

10. Экспериментально установлено и технологически обосновано введение в состав композиции 1,00 мас. % ПЭГ (м.м.3000) наряду со стабилизирующей добавкой (феноксиэтанол), с целью повышения атравматичности высоковязких лечебных гидрогелевых материалов и уменьшения их высыхаемости при нанесении на пораженный участок кожи. Показано, что при необходимости стерилизации низковязкой гидрогелевой композиции увеличенной дозой (15кГр) с целью стабилизации вязкости на необходимом уровне (1,5-2,0 Па·с) требуется повысить концентрацию альгината натрия с 1,50% до 2,00% масс. при дополнительном введении в состав смеси 0,50% ПЭГ и 0,50% ФЭ.

11. Проведены токсикологические испытания гидрогелевых композиций с дополнительно введенными стабилизаторами, подтверждающие безопасность их применения, и внесены соответствующие изменения в техническую документацию, регламентирующую производство и реализацию данных медицинских изделий.

Список сокращений и условных обозначений

ГК	гидрогелевая композиция
АН	альгинат натрия
ГлК	гиалуроновая кислота
ЛВ	лекарственное вещество
УФ	ультрафиолетовое излучение
γ-стерилизация	гамма-стерилизация
ЭЛ-стерилизация	электронно-лучевая стерилизация
КОЕ	колониеобразующие единицы
УС	уровень стерильности
ОМЧ	общее микробное число
мм	молекулярная масса
БК	бензойная кислота
ДМСО	димексид
ПВС	поливиниловый спирт
ПВП	поли-N- винилпирролидон
КМЦ	карбоксиметилцеллюлоза
ПЭГ	полиэтиленгликоль
ГН	гиалуронат натрия
СК	сорбат калия
ФЭ	2-феноксиэтанол
НЧС	наночастицы серебра
УЗ	ультразвук

Список литературы

1. Тасекеев М.С., Еремеева Л.М. Производство биополимеров как один из путей решения проблем экологии и АПК. Аналитический обзор / Национальный центр научно-технической информации. Алматы, 2009. 200 с.
2. Пророкова Н.П. Проблемы биоразлагаемых полимеров // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX). 2013. № 1. С. 47-54.
3. Глухих В. В., Шкуро А. Е., Гуда Т. А., Стоянов О. В. Получение, свойства и применение биоразлагаемых древесно-полимерных композитов (обзор) // Вестник Казанского технологического университета. 2012. Т. 15, № 9. С. 75-82.
4. Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю) (с изменениями на 10ноября 2015 года) [Электронный ресурс]: утв. решением комис. тамож. союза от 28 мая 2010 г. № 299. // Консорциум Кодекс: электрон. фонд правовой и норматив.-техн. документации. URL: <http://docs.cntd.ru/document/902249109> (дата обращения: 08.08.2017)
5. Олтаржевская Н. Д. Теоретические основы и технология получения текстильных медицинских материалов с заданными свойствами: дис. ... д-ра техн. наук. СПб., 1994. 366 с.
6. Липатов В.А., Ершов М.П., Сотников К.А., Ушанов А.А., Новикова Н. В. Современные тенденции применения локальных аппликационных кровоостанавливающих средств // Innova. 2016. №2 (3). С. 64-69.
7. Sayani Chattopadhyay, Ronald T. Raines. Collagen-Based Biomaterials for Wound Healing // Biopolymers. 2014. Vol. 101, № 8. P. 821–833.
8. Кильдеева Н.Р., Вихорева Г.А., Гальбрайт Л.С., Миронов А.В., Бонарцева Г.А., Перминов П.А., Ромашова А.Н. Получение биodeградируемых пористых пленок для использования в качестве раневых покрытий // Прикладная биохимия и микробиология. 2006. Т. 42, № 6. С. 716-720.
9. Кильдеева Н.Р., Бабак В.Г., Вихорева Г.А., Агеев Е.П., Голуб М.А. Новый подход к созданию материалов с контролируемым выделением лекарственного вещества // Вестник Московского Университета. Серия 2, Химия. 2000. Т. 41, № 6. С. 423-425.
10. Белоконь М. А. Использование сшивающих реагентов ковалентного или ионного типа для получения материалов медико-биологического назначения на основе гидрогелей хитозана: дис. ... канд. техн. наук. М., 2017. 152 с.
11. Шуланова Ж.Ж. Перспективы применения в хирургии биополимерных матриц на основе гиалуроновой кислоты // Медицинский вестник Башкортостана. 2016. № 1(61). С. 135-138.

12. Харькова Н.А. Экспериментальная оценка свойств перевязочных средств «Колетекс-АДЛ» и «Колегель_АДЛ-Ч-Диск» для применения в послеоперационном лечении ЛОР-органов // *Фундаментальные исследования*. 2015. № 12, Ч. 5. С. 964-968.
13. Vroman I., Tighzert L. Biodegradable Polymers // *Materials*. 2009. Vol. 2, № 2. P. 307-344.
14. Валуев Л.И., Валуева Т.А., Валуев И.Л., Платэ Н.А., Полимерные системы для контролируемого выделения биологически активных соединений / Л.И. Валуев [и др.] // *Успехи биологической химии*. 2003. Т.43. С. 307-309.
15. Хромов Г.Л., Старунова Л.Н., Майчук Ю.Ф., Давыдов А.Б., Кондратьева Т.С. Первоначальная оценка пролонгирующих свойств биоразстворимых полимеров для глазных лекарственных пленок // *Химико-фармацевтический журнал*. 1974. № 6. С. 24-29.
16. Попков А.В. Биосовместимые имплантаты в травматологии и ортопедии (обзор литературы) // *Гений ортопедии*. 2014. № 3. С. 94-99.
17. Штильман М.И. Биоматериалы - важное направление биомедицинских технологий // *Вестник Российского государственного медицинского университета*. 2016. № 5. С. 4-15.
18. Назаренок Г. И., Сугорова И. Ю., Глянцев С. П. Рана. Повязка. Больной. М.: Медицина, 2002. 472 с.
19. ГОСТ ИСО 11137-1-2011. Стерилизация медицинской продукции. Радиационная стерилизация. Часть 1. Требования к разработке, валидации. и текущему контролю процесса стерилизации медицинских изделий. М.: Стандартинформ, 2012. V, 29 с.
20. Карпунин И.И., Кузьмич В.В., Балабанова Т.Ф. Классификация биологически разлагаемых полимеров // *Наука и техника*. 2015. № 5. С. 53-59.
21. Myllarinen P., Partanen R., Seppala P. Forssell P. Effect of glycerol on behaviour of amylose and amylopectin films // *Carbohydrate Polymers*. 2002. Vol. 50, № 4. P. 355-361.
22. Абрамов И.Н., Аким Э.Л. Изменение наноструктуры целлюлозы древесины лиственницы в процессе сушки // *Международная научная конференция и VIII Всероссийская олимпиада молодых ученых «Наноструктурные, волокнистые и композиционные материалы»: тез. докл. СПб., 2012. С. 32.*
23. Кузнецов А.Г., Махотина Л.Г. Использование биополимера арабиногалактана при производстве целлюлозных композиционных материалов // *Международная научная конференция и VIII Всероссийская олимпиада молодых*

ученых «Наноструктурные, волокнистые и композиционные материалы»: тез. докл. СПб., 2012. С. 52.

24. Биомедицинский потенциал разрушаемых полигидроксиалканоатов: экспериментально-клинические исследования / Т.Г. Волова [и др.]; ин-т биофизики Сиб. Отд-ния РАН [и др.]. Красноярск: Версо, 2014. 329 с.

25. Ficek K., Filipek J., Wpjcichowski P., Kopec K., Stodolak-Zych E. A bioresorbable polylactide implant used in bone cyst filling // Journal of Materials Science: Materials in Medicine. 2016. Vol. 27, № 2. P. 1-8.

26. Хлыстова Т.С. Технология получения лечебных депо-материалов на текстильной и гидрогелевой основе с использованием печатных композиций из смеси биополимеров - полисахаридов: дис. ... канд. техн. наук. М., 2015. 180 с.

27. Хауг А. Альгиновая кислота // Методы химии углеводов: пер. с англ. / под ред. Н. К. Кочеткова. М.: Мир, 1967. С. 317-321.

28. Биосовместимые материалы: учебное пособие / И. И. Агапов [и др.]; под ред. В. И. Севостьянова, М. П. Кирпичникова. М.: МИА, 2011. 544 с.

29. Направленная доставка лекарственных препаратов при лечении онкологических больных / под ред. Бойко А. В. [и др.]. М.: СИМК, 2013. 194 с.

30. Быркина Т.С., Олтаржевская Н.Д., Колаева А.В. Способы обеспечения стерильности лечебных материалов направленного действия «Колегель» // VIII Международная научная конференция «Кинетика и механизм кристаллизации. Кристаллизация как форма самоорганизации вещества»: тез. докл. Иваново, 2014. С. 271-272.

31. Гусев И.В., Разработка высокоструктурированных гидрогелевых депо-материалов для направленной доставки лекарственных препаратов: дис. ... канд. техн. наук. М., 2015. 182 с.

32. Волова Т.Г. Современные биоматериалы: мировые тренды, место и роль микробных полигидроксиалканоатов // Журнал Сибирского федерального университета. Серия: Биология. 2014. Т. 7, № 2. С. 103-133.

33. Белозерская Г.Г., Макаров В.А., Жидков Е.А., Малыхина Е.С. Гемостатические средства местного действия (Обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2006. Т. 40, № 7. С. 9-15.

34. Адамян А., Кашперский П., Макаров В.А. Местные гемостатические средства из природных биополимеров // Хирургия. 1994. № 2. С. 47-51.

35. Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Савилова Л.Б. Перевязочные материалы с пролонгированным лечебным действием // Российский химический журнал. Т. XLVI, № 1. С. 133-141.

36. Валуева, М. И. Технология получения текстильных и гидрогелевых депо-материалов с радиопротекторными свойствами: дис. ... канд. техн. наук. Иваново, 2014. 242 с.
37. Гальбрайт, Л. С. Хитин и хитозан: строение, свойства, применение // Соровский образовательный журнал. 2001. Т. 7, № 1. С. 51–56.
38. Hoemann C., Sun J., Le'gare A. Tissue engineering of cartilage using an injectable and adhesive chitosan-based cell delivery vehicle // Osteoarthritis Cartilage. 2005. Vol. 13, № 4. P. 318-329.
39. Новикова С.П., Бокерия Л.А., Бокерия О.Л., Салохединова Р.Р., Николашина Л.Н. Полимерные биodeградируемые пленочные композиции и изделия на их основе для сердечно-сосудистой хирургии // Бюллетень НЦССХ им. А.Н. Бакулева РАМН Сердечно-сосудистые заболевания. 2015. Т.16, № S3. С. 182-183.
40. Севостьянов М.А., Насакина Е.О., Баикин А.С., Леонов А.В., Сергиенко К.В. Кинетика высвобождения в водных растворах антибиотика линкомицина из биodeградируемых биополимерных мембран медицинского применения на основе хитозана высокой плотности // Успехи современного естествознания. 2016. №12/2. С. 286-291
41. Никитенкова В.Н., Хлыстова Т.С. Влияние технологических факторов на реологические свойства биополимерных композиций на основе полисахаридов // Технологии 21 века в пищевой, перерабатывающей и легкой промышленности. 2011. № 5. С. 57-67.
42. Collins M.N., Birkinshaw C. Hyaluronic acid based scaffolds for tissue engineering - a review // Carbohydrate Polymers 2013. Vol. 92, № 2. P. 1262-1279.
43. Stern R., Frost G.I., Shuster S., Shuster V., Hall J. Hyaluronic acid and skin // Cosm & Toiletries. 1998. Vol. 113. P. 43-48.
44. Сигаева Н.Н., Колесов С.В., Назаров П.В., Вильданова Р.Р. Химическая модификация гиалуроновой кислоты и ее применение в медицине // Вестник Башкирского университета. 2012. Т. 17, № 3. С. 1220-1241.
45. Гусев И.В., Хлыстова Т.С., Олтаржевская Н.Д. Полимерные депо-материалы для направленного подведения лекарственных препаратов // Вестник молодых ученых Санкт-Петербургского государственного университета технологии и дизайна. Вып. 1: Естественные и технические науки. 2012. С. 59-61.
46. Быркина Т.С., Олтаржевская Н.Д., Колаева А.В. Снижение исходной микробной обсемененности альгината натрия // Российский биотерапевтический журнал. 2015. Т. 14, №1. С. 92.

47. Промышленная технология лекарств [Электронный ресурс]: электрон. учебник / В.И. Чуешов [и др.]. Харьков, 2010. URL: <http://ztl.nuph.edu.ua/html/medication/content.html> (дата обращения: 08.08.2017)
48. McDonnell G., Sheard D. A practical guide to decontamination in healthcare. Oxford, UK: John Wiley & Sons, 2012. 460 p.
49. Hai Bang Lee, Khang G., Jin Ho Lee. Polymeric biomaterials // Biomaterials: principles and applications / ed.: J.B. Park, J.D. Bronzino. Boca Raton [et.al.]: CRC Press, 2003. P. 55-78.
50. Setlow P. Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals // Journal Applied Microbiology. 2006. Vol. 101, № 3. P. 514-525.
51. Characterisation and design of tissue scaffolds / ed. P. Tomlins. 1st. ed. Sawston: Woodhead Publishing, 2015. 294 p.
52. Павелек З, Монинец И. GMP и чистые помещения: курс VS07-XL-A-SK01, 27-28 окт. 2004 г., Vilnius, Lithuania. Brussels: G.M. Project, 2004. 138 p.
53. Zheng Dai, Jennifer Ronholm, Yiping Tian ,Benu Sethi , Xudong Cao. Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications // Journal of Tissue Engineering. 2016. Vol. 7. P. 1–13.
54. Жуковский В. А. Научное обоснование и разработка технологии волокнистых хирургических материалов со специальными свойствами: дис. ... д-ра. техн. наук. СПб., 2013. 288 с.
55. Жуковский В. А. Полимерные эндопротезы для герниопластики. СПб.: Эскулап, 2011. 98 с.
56. Жуковский В.А. Проблемы и перспективы разработки и производства хирургических шовных материалов // Химические волокна. 2008. № 3. С. 31-37.
57. Marreco P.R., P. da Lus Moreira, Genari S.C., Moraes A.M. Effects of different sterilization methods on the morphology, mechanical properties, and cytotoxicity of chitosan membranes used as wound dressings // Journal of Biomedical Materials Research. Part B: Applied Biomaterials. 2004. Vol. 71. P. 268-277.
58. Калашников В.В., Гордеев А.В., Павлов Е.П., Бушманов А.Ю. Разработка и применение метода радиационной стерилизации в федеральном медицинском биофизическом центре им. А. И. Бурназяна // Саратовский научно-медицинский журнал. 2014. № 4. С. 844-849.
59. Гунар О.В. Микрофлора лекарственных средств и различные аспекты ее изучения (обзор) // Химико-фармацевтический журнал. 2011. Т. 45, № 2. С. 31-40.
60. ГОСТ ISO 13485-2011 Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Системные требования для целей регулирования . М.: Стандартинформ, 2013. IV, 50 с.

61. Голынкин В.А., Кочеровец В.И., Габидова А.Э. Фармацевтическая микробиология. 2-е изд. М.: Арнебия, 2015. 240 с.
62. Салманов А.Г., Вернер О.М. Стерилизация изделий медицинского назначения (монография). Киев; Харьков: ФОП Панов А.М., 2015. 412 с.
63. ГОСТ ИСО 11137-2-2011. Стерилизация медицинской продукции. Радиационная стерилизация. Часть 2. Установление стерилизующей дозы. М.: Стандартиформ, 2013. VI, 50 с.
64. Калашников В.В., Наумова Л.А., Рабинкова Е.В., Шишкова О.В. Стерильность изделий медицинского назначения, прошедших облучение и в ФМБЦ им. А.И. Бурназяна в 2007-2009 гг. / В. В. Калашников [и др.] // Медицинская радиология и радиационная безопасность. 2012. № 5. С. 66–71.
65. Маленко О.Э., Коротаяева А.И., Белов А.А., Фенин А.А. Влияние гамма-облучения в стерилизующей дозе на иммобилизованные препараты ферментов гепатопанкреаса краба // Успехи в химии и химической технологии. 2014. Т. 28, № 5(154). Р. 42-45.
66. Коротаяева А.И., Легонькова О.А., Винокурова Т.И., Давыдова Л.И., Богущ В.Г. Исследование влияния способов стерилизации на свойства биodeградируемых гидрогелей медицинского назначения на основе рекомбинантных белков паутины // Биотехнология: состояние и перспективы развития: VIII Моск. междунар. конгр. и XIII междунар. Специализир. Выставка «Мир биотехнологии – 2015», 17-20 марта 2015 г.: материалы. М., 2015. С. 240-241.
67. Валуева М.И., Максимова Ю.С., Олтаржевская Н.Д., Фенин А.А. Исследование влияния радиационной гамма-стерилизации на гидрогели альгината натрия //Актуальные проблемы химии высоких энергий: материалы 5-й Всерос. конф. М., 2012. С. 131-134.
68. Федорова А.В., Саталина А.В., Фенин А.А., Антропова И.Г., Олтаржевская Н.Д. Деструкция лекарственных веществ при радиационной стерилизации // Бутлеровские сообщения. 2014. Т. 38, № 4. С. 134-139.
69. Baldock C., De Deene Y., Doran S., Ibbott G .Polymer gel dosimetry // Physics in Medicine & Biology. 2010. Vol. 55, № 5. Р. 1–63.
70. Пикаев А.К., Кабачки С.А., Макаров И.Е. Импульсный радиолиз и его применение. М.: Атомиздат, 1980. 268 с.
71. Хабаров В.Н., Бойков П.Я., Селянин М.А. Гиалуроновая кислота: свойства, применение в биологии и медицине. М.: Практическая медицина, 2012. 224 с.
72. Быркина Т.С. , Олтаржевская Н.Д., Колаева А.В. Способы стабилизации микробиологических и реологических показателей лечебных депо-материалов

«Колегель» // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX-2016): XIX Междунар. науч.-практ. форум, 23-27 мая 2016 г.: сб. материалов. Иваново, 2016. Ч. 2. С. 51-61.

73. Суворова А.А., Фенин А.А. Радиопротекторная активность флавоноидов в присутствии ионов металлов и комплексообразователей // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: сборник / отв. ред. Н.В. Загоскина, Е.Б. Бурлакова. М., 2010. С. 88-94.

74. Суворова А.А., Фенин А.А. Влияние ионов металлов на радиопротекторную активность флавоноидов по отношению к дрожжевым клеткам // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докл. VII Междунар. симп., 19-23 окт. 2009 г. М., 2009. С. 251-252.

75. Ревина А.А., Зайцев П.М. Физико-химические исследования биологически активных соединений фенольной природы // Фенольные соединения: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы докл. VII Междунар. симп., 19-23 окт. 2009 г. М., 2009. С. 232-234.

76. Базунова М.В., Аллаяров И.Р., Шарафутдинова Л.А., Кулиш Е.И., Заиков Г.Е. Биосовместимые гелеобразные полимерные формы лекарственных средств на основе растворов хитозана в присутствии спиртов // Вестник Казанского технологического университета. 2016. Т. 19, № 22. С. 18-21.

77. ОФС.1.1.0009.15 Сроки годности лекарственных средств [Электронный ресурс]. Фармакопей.рф: сайт. [2016]. URL: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0009-15-sroki-godnosti-lekarstvennyh-sredstv/ofs-1-1-0009-15-sroki-godnosti-lekarstvennyh-sredstv/> (дата обращения: 08.08.2017)

78. Низамова Д.Е. Особенности транспортировки скоропортящихся грузов // Логистические системы в глобальной экономике. 2016. № 6. С. 501-505.

79. Классы грузов и особенности их перевозки [Электронный ресурс] // Диспетчер грузоперевозок: онлайн журн. URL: <http://dispatcher-gruzoperevozok.info/klassy-gruzov-i-osobennosti-ix-perevozki> (дата обращения: 08.08.2017)

80. Артемьев А.И. Новый полимерный материал для упаковки лекарственных средств // Фармация. 5005. № 1. С. 41-44.

81. Невская Е.В., Костюченко М.Н., Шлеленко Л.А., Тюрина О.Е., Смирнов С.О. Современные способы повышения хранимости хлебобулочных изделий // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. 2015. № 1. С. 338-342.

82. Петров А.Н. Тенденции, перспективы и научные предложения производства продуктов длительного хранения // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК - продукты здорового питания. 2013. № 1. С. 53-56.
83. Быркина Т.С., Колаева А.В., Олтаржевская Н.Д. Способы стабилизации микробиологических и реологических показателей лечебных депо-материалов «Колегель» // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX-2016): XIX Междунар. науч.-практ. форум: сб. материалов. Иваново, 2016. Ч. 2. С. 51-61.
84. Шубенкова Е.Г. Исследование стабильности ультрадисперсных эмульсионных систем // Ультрадисперсные порошки, наноструктуры, материалы. VII Ставеровские чтения: тр. Всерос. науч.-техн. конф. с междунар. участием, 22-23 окт. 2015 г. Красноярск, 2015. С. 106-107.
85. Срок годности пищевых продуктов. Расчет и испытание / под ред.: Р.Стеле; пер. с англ. В. Широкова; под общ. ред. Ю.Г. Базарновой. СПб.: Профессия, 2008. 479 с. (Научные основы и технологии)
86. Anthony J Fontana A.J. Understanding water activity for reduced microbial testing using USP method // Pharmaceutical Microbiology Forum Newsletter. 2006. Vol. 12. № 10. P. 2-11.
87. Ишевский А. Л., Сорокин В. И. Экспресс оценка сроков хранения пищевых продуктов // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2012. №1. С. 30.
88. Алтунина Е.О., Петрова Л.А. Современные способы управления порчей пищевых продуктов // Научные записки ОрелГИЭТ. 2010. № 1. С. 496-499.
89. Ростовская Н.С., Плетнёва И.В., Симонян А.В. Манина Д.А. Разработка состава эмульсионной мази «Эльтон» // Фармация. 2011. № 5. С. 38-40.
90. Сотникова Ю.С., Субчева Е.Н. Композиционные пленки на основе гуара, наполненные нанокристаллическими полисахаридами // Успехи в химии и химической технологии. 2016. Т. 30, № 10(179). С. 94-96.
91. Пантюхин А.В., Степанова Э.Ф., Петров А.Ю. Современные аспекты использования природных поверхностно активных веществ в фармацевтической технологии // Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация. 2012. Т. 17, № 4. С. 228-233.
92. Кривченкова М.В., Клышинская Е.В., Ильиных М.А., Бутова С.Н. Растительные флавоноиды как функциональные добавки в косметических и пищевых продуктах // Вестник РАЕН. 2012. № 3. С. 47-51.
93. Масленников П.В., Чупахина Г.Н., Скрыпник Л.Н., Федуряев П.В., Селедцов В.И. Экологический анализ активности накопления биофлавоноидов в

- лекарственных растениях // Вестник Балтийского федерального университета им. И. Канта. Серия: Естественные и медицинские науки. 2014. №7. С. 110-120.
94. Roden K. Preservatives in personal care products // *Microbiology Australia*. 2010. № 4. P. 195-197.
95. Сахно О.Н., Трифонова Т.А. Экология микроорганизмов: учеб. пособие. В 3 ч. Ч. 2. Владимир: Изд-во Владим. ун-та, 2009. 47 с.
96. Шлегель Г. Общая микробиология: пер. с нем.; под ред. Е.Н. Кондратьевой. М.: Мир, 1987. 566 с.
97. Беликов О.Е., Пучкова Т.В. Консерванты в косметике и средствах гигиены. М.: Кафедра, 2003. - 245 с. (Ex professo: Косметические ингредиенты).
98. Люк Э., Ягер М. Консерванты в пищевой промышленности: свойства и применение: пер. с нем. СПб.: ГИОРД, 1998. 255 с.
99. Пророкова Н.П., Вавилова С.Ю., Кузнецов О.Ю., Базаров Ю.М. Антимикробное действие металлсодержащих наночастиц. Бицидные свойства полипропиленовых нитей, модифицированных с использованием металлсодержащих наночастиц // Физика волокнистых материалов: структура, свойства, наукоемкие технологии и материалы (SMARTEX-2015): XVIII Междунар. науч.-практ. форум, 26-29 мая 2015 г.: сб. материалов. Иваново, 2015. С. 80-83.
100. Пророкова Н.П., Вавилова С.Ю., Бузник В.М. Композитные полипропиленовые нити с высокими барьерными антимикробными свойствами // Полимерные композиционные материалы нового поколения для гражданских отраслей промышленности [Электронный ресурс]: материалы конф., 11 сент. 2015 г. / Всерос. науч.-исслед. ин-т авиац. Материалов. М., 2015. - 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).
101. Быркина Т.С., Гафурова Д.Р., Олтаржевская Н.Д., Кричевский Г.Е. Снижение микробной обсемененности композиции на основе альгината натрия // Известия высших учебных заведений. Технология текстильной промышленности. 2017. № 1. С. 341-345.
102. Родионов П.П., Одегова Г.В., Бурмистров В.А., Блажитко Е.М., Богданчикова Н.Е. Лекарственные препараты серебра на органических и неорганических носителях [Электронный ресурс] // Бесплатная интернет библиотека: различ. док. URL: <http://doc.knigi-x.ru/22ekonomika/344452-1-lekarstvennie-preparati-serebra-organicheskikh-neorganicheskikh-nositelyah-rodionov1-odegova2-burmistrov3-blagitko4-bog.php>. (дата обращения: 08.08.2017).

103. Kim H.J., Lee H.C., Oh J.S., Shin B.A., Oh C.S. Polyelectrolyte complex composed of chitosan and sodium alginate for wound dressing application // Journal of biomaterials science, polymer edition. 1999. Vol. 10, № 5. P. 543-556.
104. Лечебный материал и способ его получения: пат. 2627609 Рос. Федерация. / Кричевский Г.Е., Гафурова Д.Р., Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Щедрина М.А.; заявитель и патентообладатель ООО «НПО Текстильпрогресс ИА», ООО «Колетекс»; заявл. 17.10.2016; опубл. 09.08.2017, Бюл. № 22.
105. Способ лечения местнораспространенного рака молочной железы с опухолевыми изъязвлениями кожи : пат. 2626914 Рос. Федерация. / Маслюкова Е.А., Корицова Л.И., Корицов О.В, Кричевский Г.Е., Гафурова Д.Р., Олтаржевская Н.Д.; заявитель и патентообладатель ООО «Колетекс»; заявл. 17.10.2016; опубл. 02.08.2017, Бюл. № 22.
106. Машковский, М.Д. Лекарственные средства: пособие для врачей. 16-е изд., перераб. и испр. и доп. М.: Новая волна: Изд. Умеренков, 2010. – 1216 с.
107. Гоноцкий В.А., Олесюк С.В., Гоноцкая В.А., Городная Н.А. Обоснование барьерной технологии производства рубленых полуфабрикатов из мяса кур // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. 2015. № 1. С. 123-126.
108. Семкина О.А., Джавахян М.А., Левчук Т.А. Вспомогательные вещества, используемые в технологии лекарственных форм (мазей, гелей, линиментов, кремов) // Химико-фармацевтический журнал. 2005. Т. 39, № 9. С. 45-48.
109. Методы исследования в текстильной химии: справочник / под ред. Г.Е. Кричевского. М. : Легпромбытиздат, 1993. 401 с.
110. ОФС.1.2.4.0002.15 Микробиологическая чистота [Электронный ресурс] // Фармакопедия.рф: сайт [2016]. URL: <http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0002-15-mikrobiologicheskaya-chistota/> (дата обращения: 08.08.2017)
111. Градова Н.Б, Бабусенко Е.С., Горнова И.Б. Лабораторный практикум по общей микробиологии. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ДеЛи принт, 2004. 144 с.
112. ОФС.1.2.4.0003.15 Стерильность: взамен ГФ XII ОФС 42-0066-07 [Электронный ресурс] // Фармакопедия.рф: сайт [2016]. URL: <http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-4-0003-15-sterilnost> (дата обращения: 08.08.2017)
113. Гунар О.В., Каламова Н.И., Евтушенко Н.С. Определение антимикробного действия лекарственных веществ – практические подходы // Фармация. 2002. № 2. С. 4-7.
114. Млечко Е.А. Исследование антибактериальных свойств эфирного масла шалфея эфиопского (*Salvia Aethiopsis* L.) // Аргіорі. Серия: Естественные и технические науки. 2014. № 6. С. 27.

115. Федотова А.А. Разработка и исследование вагинальных гелей с сорбентами и с оксиметилурацилом: дис. ... канд. фармацевт. наук. М., 2011. 180 с.
116. Василяк Л.М. Применение ультразвука в системах для обеззараживания воды // Электронная обработка материалов. 2010. №5(265). С.106-111.
117. Перевалов В.Д., Рвачев А.П. Ультразвуковая обработка воды // VIII Международный форум "Мир чистой воды – 2006", VIII Международная конференция " Вода, напитки, соки, технологии и оборудование": Москва, 26-29 сент. 2006 г.: сб. материалов конф. М., 2006. С. 91-93.
118. Mason T.J., Joyce E., Phull S.S., Lorimer J.P. Potential uses of ultrasound in the biological decontamination of water // Ultrasonics Sonochemistry. 2003. Vol. 10, № 6. P. 319-324.
119. Основы физики и техники ультразвука: учеб. пособие для вузов / Б.А. Агранат [и др.]. М.: Высш. шк., 1987. 352 с.
120. Эльпинер И.Е. Ультразвук. Физико-химическое и биологическое действие. М.: Физматлит, 1963. 420 с.
121. Шляхто Е. В. Инновационные нанотехнологии в медицине и биологии // Инновации. 2008. № 6. С. 54-59.
122. Винник Ю.С., Маркелова Н. М., Тюрюмин В.С. Современные методы лечения гнойных ран // Сибирское медицинское обозрение . 2013. № 1. С. 18-24.
123. Кричевский, Г. Е. Возрождение природных красителей: монография. М.: Паблит, 2017. 565 с.
124. Бурлакова Е.Б, Храпова Н.Г. Природные антиоксиданты и синтетические ингибиторы радикальных процессов // Биоантиоксиданты в лучевом поражении и злокачественном росте / Е.Б. Бурлаков [и др.]; АН СССР, Ин-т хим. физики. М., 1975. С. 45.
125. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. М.: Изд-во Ин-та биомед. химии, 1995. 271 с.
126. Hussain S., Cillard J., Cillard P. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids // Phytochemistry. 1987. Vol. 26, № 9. P. 2489-2491.
127. Букина Ю.А., Сергеева Е.А. Антибактериальные свойства и механизм бактерицидного действия наночастиц и ионов серебра // Вестник Казанского технологического университета. 2012. № 14. С.170-172.
128. Савадян Э.Ш., Мельникова В.М., Беликова Г.П. Современные тенденции использования серебросодержащих антисептиков // Антибиотики и химиотерапия. 1989. № 11. С. 874-878.
129. Shahverdy A.R., Fakhimi A., Minaian S. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against Staphylococcus

aureus and Escherichia coli // Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine. 2007. Vol. 3, № 2. P. 168-171.

130. Abramson J.J., Trimm J.L., Weden L., Salama L. Heavy metals induce rapid calcium release from sarcoplasmic reticulum vesicles isolated from skeletal muscle // Proceedings of the National Academy of Sciences. 1983. Vol. 80, № 6. P. 1526-1530.

131. Способ получения стерильной саможелирующей альгинатной системы: пат. 2535035 Рос. Федерация / Олтаржевская Н.Д., Коровина М.А., Гусев И.В., Липатова И.М., Морыганов А.П., Юсова А.А.; заявитель и патентообладатель ООО «Колетекс»; ФГБУ ИХР им. Г.Ф. Крестова РАН; заявл. 11.09.13; опубл. 10.12.14.

132. Булдаков А.С. Пищевые добавки: справочник. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ДеЛи принт, 2001. 435 с.

133. Семенец О. Сорбиновая кислота // Мясное дело. 2009. № 6. С. 19-23.

134. Рацук М.Е. Исследование возможности использования полимера сорбиновой кислоты для сохранения пищевых продуктов // Вестник Херсонского национального технического университета. Технология легкой и пищевой промышленности. 2015. №1 (52). С. 117-122.

135. Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия. СПб.: ГИОРД, 2003. 688 с.

136. Волкова С.В. Новое дезинфицирующее средство «Амидин Плюс» на основе этилового средства производства ЗАО «Петроспирт» // Поликлиника. 2010. № 1. С. 90-91.

137. А.А. Тимофеев, А.В. Дакал, Местное лечение одонтогенных флегмон у наркозависимых больных [Электронный ресурс] // Стоматология: современная стоматология и зубное протезирование: электрон. журн. URL: http://www.stomatology.org.ua/modules/myarticles/article_storyid_68.html (дата обращения: 09.08.2017)

138. Савинов А.Г. Ушакова В.Н. Изучение процесса радиационной сополимеризации акрилоилморфина с непредельными карбоновыми кислотами // Высокомолекулярные соединения. Серия А. 2003. Т. 45. № 5. С.832-835.

139. Смирнов С.А., Юдин И.В. Механизмы образования непредельных продуктов радиолитического распада полигидроксильных соединений / С.А. Смирнов, И.В. Юдин // Актуальные проблемы химии высоких энергий: IV Всерос. конф. (с приглашением специалистов стран СНГ), 2-3 нояб. 2009 г.: материалы конф. М., 2009. С. 87.

140. ОФС.1.1.0009.15 Сроки годности лекарственных средств: взамен ОФС 42-0075-07ГФ XII, ч.1 [Электронный ресурс] // Фармакопей.рф: сайт [2016]. URL:

<http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0009-15-sroki-godnosti-lekarstvennyh-sredstv> (дата обращения: 09.08.2017)

141. Олтаржевская Н.Д., Швец В.И., Коровина М.А., Липатова И.М., Хлыстова Т.С. Выбор состава биополимерной лечебной депо-композиции для использования в различных областях медицины // Биотехнология. 2016. № 1. С. 43-52.
142. Rickett L.M., Pullen N., Hartley M., Zipfel C., Kamoun S. Incorporating prior knowledge improves detection of differences in bacterial growth rate // BMC Systems Biology. 2015. Vol. 9, № 1. P. 1-12.
143. Baranyi J., Roberts T.A., McClure P. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth // Food Microbiology. 1993. № 10. P. 43–59.
144. Baty F., Delignette-Muller M.-L., Cedex O. Estimating the bacterial lag time: which model, which precision? // International Journal of Food Microbiology. 2004. Vol. 91. P. 261-277.
145. Baranyi J., Roberts T. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food // International Journal of Food Microbiology. 1994. Vol. 23. P. 277-294.
146. Naveršnik K., Jurečič R. Humidity-corrected Arrhenius equation: the reference condition approach // International Journal of Pharmaceutics. 2016. Vol. 500. P. 360-365.
147. Максанова, Л.А., Аюрова О.Ж. Полимерные соединения и их применение: учеб. пособие / Вост.-Сиб. гос. технол. ун-т. Улан-Уде: Изд-во ВСГТУ, 2005. 344 с.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А. Изложение вспомогательных методик проведения экспериментов

А1. Методика расчета ошибки эксперимента

Выявление промахов или грубых отклонений проводили, определяя размах варьирования – разницу между двумя крайними значениями полученных результатов – максимальным x_{\max} и минимальным x_{\min} . Далее вычисляли Q-критерий:

$$Q = \frac{x_2 - x_1}{x_{\max} - x_{\min}} \quad (\text{A.1})$$

где x_1 – подозрительно выделяющееся значение;

x_2 – значение, ближайшее по величине к подозрительному.

Вычисленную величину сопоставляли с табличным значением. Значение $Q > Q_{\text{табл}}$ при данном числе определений n и выбранной доверительной вероятности P свидетельствовало о наличии грубого промаха. В аналитической практике доверительную вероятность – соответствие экспериментального результата истинной величине – как правило, принимают равной 95 % (0,95).

В рамках проведения статистической обработки определяли ряд метрологических характеристик.

Среднее арифметическое \bar{x} – при большом числе определений наиболее соответствует истинному значению:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (\text{A.2})$$

Стандартное отклонение S – характеризует рассеяние результатов относительно среднего:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (\text{A.3})$$

Относительное стандартное отклонение:

$$S_r = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (\text{A.4})$$

Стандартное отклонение и относительное стандартное отклонение характеризуют воспроизводимость метода, которым были получены результаты.

Стандартное отклонение среднего $S_{\bar{x}}$:

$$S_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n \cdot (n-1)}} \quad (\text{A.5})$$

Доверительный интервал – интервал, в котором с заданной доверительной вероятностью P находится истинное значение определяемой величины:

$$\bar{x} \pm \Delta x = \bar{x} \pm t_{p,n} \cdot S_{\bar{x}} = \bar{x} \mp \frac{t_{p,n} \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (\text{A.6})$$

где $t_{p,n}$ – коэффициент Стьюдента для заданных P и n (табличное значение).

Относительная погрешность среднего результата:

$$\delta_{\bar{x}}(\%) = \frac{\Delta x}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (\text{A.7})$$

A2. Методика приготовления физиологического раствора, используемого в качестве модельной среды в спектрофотометрическом анализе

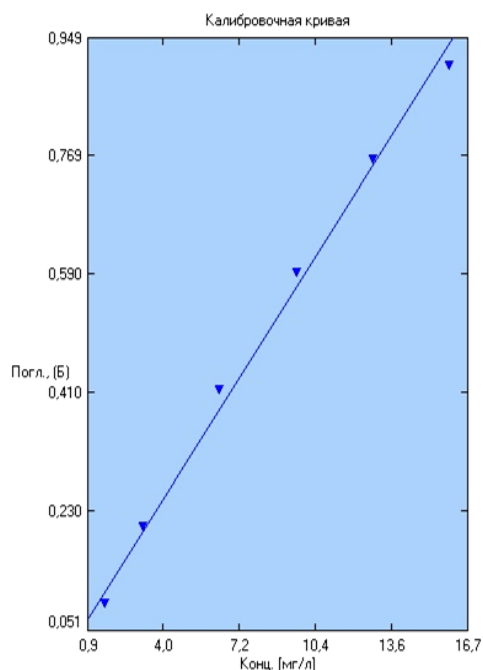
В качестве модельной среды при спектрофотометрическом определении количества десорбированных лекарственных веществ из гидрогелевой композиции использовали физиологический раствор.

Физиологический раствор представляет собой 0,9 % изотонический раствор хлорида натрия (NaCl) в воде, который моделирует кровь человека.

Навеску 9,0 г хлорида натрия количественно переносили в мерную колбу объемом 1000 мл, растворяли в дистиллированной воде и доводили объем до метки тем же растворителем.

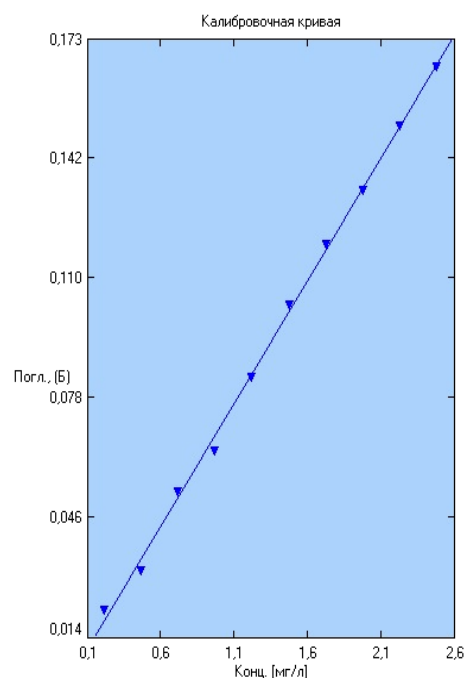
A3. Методика построения калибровочных графиков

В мерную колбу объемом 1000 мл помещали расчетное количество ЛП (диоксилина, лидокаина) и добавляли физиологический раствор до метки, получая, таким образом, базовый раствор. Из базового раствора методом разбавления получали стандартные растворы для калибровки. Для этого пипеткой отбирали различные объемы базового раствора и помещали их в мерные колбы объемом 100 мл, доводили или физиологическим раствором до метки. Калибровки используемых в работе ЛВ с указанием коэффициента корреляции (r^2) и характеристической длины волны ЛВ представлены на рис. А.1.



1) лидокаин (в физиологическом растворе)

$$r^2=0,9978, 196 \text{ нм}$$



2) диосин (в физиологическом растворе)

$$r^2=0,9978, 374 \text{ нм}$$

Рис. А.1. Калибровочные графики лекарственных препаратов.

А4. Методики приготовления питательных сред и вспомогательных растворов

А4.1. Методика приготовления среды для выращивания и подсчета общего числа бактерий

В данной работе для выращивания и подсчета общего числа бактерий использовалась питательная среда №1 ГРМ сухая (табл.9.2.).

40,5 г среды размешивали в 1 л воды дистиллированной, кипятили 2 мин. до полного расплавления агара, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, разливали в стерильные флаконы и стерилизовали автоклавированием при 121°C 15 мин. Готовая среда должна иметь рН $7,3 \pm 0,1$. Среду охлаждали до температуры 45-50°C, разливали по 20 мл в стерильные чашки Петри и после застывания подсушивали в течение 40 мин.

Хранили при температуре 4 – 10 °С.

А4.2. Методика приготовления среды для выращивания и подсчета общего числа дрожжей и грибов

Для выращивания грибов использовалась питательная среда №2 ГРМ (Сабуро), сухая, табл. 9.2.

73,0 г среды размешивали в 1 л дистиллированной воды, кипятили 2 мин. до полного расплавления агара, фильтровали через ватно-марлевый фильтр, разливали в стерильные флаконы и стерилизовали автоклавированием при 121°C 15 мин. Готовая среда должна иметь рН $5,8 \pm 0,2$. Среду охлаждали до температуры 45-50°C, разливали по 20 мл в стерильные чашки Петри и после застывания подсушивали в течение 40 мин.

Хранили при температуре 4 – 10 °С.

А4.3. Методика приготовления тиогликолевой среды

Тиогликолевая питательная среда (табл. 9.2.) использовалась для испытания на стерильность гидрогелевых композиций на основе альгината натрия для выделения бактерий.

30,0 г сухой среды размешивали в 1 л дистиллированной воды, кипятили 2 мин, в случае необходимости добавляли в горячую среду 0,5 г тиогликолята натрия, фильтровали через бумажный фильтр, разливали по 10 мл в пробирки и стерилизовали автоклавированием при 121°C 15 мин. Готовая среда должна иметь рН $7,0 \pm 0,2$.

Хранили при температуре 4 – 10 °С

А4.4. Методика приготовления бульона Сабуро

Бульон Сабуро использовали при испытании на стерильность гидрогелевых композиций на основе альгината натрия для выделения дрожжей и грибов.

50,0 г сухой среды тщательно размешивали в 1 л дистиллированной воды, доводили рН до $5,6 \pm 0,2$, кипятили 1 мин, профильтровывали, разливали по 10 мл в пробирки и стерилизовали автоклавированием при 121°C 15 мин.

Хранили при температуре 4 – 10 °С

А4.5. Методика приготовления стерильного фосфатного буферного раствора

Для подготовки проб образцов при количественном учете микроорганизмов, а также для приготовления серии разведений использовали фосфатный буферный раствор [110].

1,0 г пептона ферментативного, 4,3 г хлористого натрия, 7,2 г фосфорнокислого двузамещенного натрия и 3,6 г фосфорнокислого однозамещенного калия растворяют при нагревании в 1000 см³ дистиллированной воды, фильтруют через бумажный фильтр, устанавливают рН=7,0 и разливают в стеклянные флаконы по 400 см³, стерилизуют 15 мин при температуре (121±1)°С.

Хранят при температуре 4 – 10 °С.

При микробиологическом анализе образцов, содержащих консервирующие добавки, в питательные среды и буферный раствор перед стерилизацией добавляют твин-80 в количестве 0,3% масс.

А5. Методики приготовления ионно сшитых гидрогелевых композиций на основе альгината натрия

Состав рассматриваемых в 3.4.2. гидрогелей, сшитых с помощью кальция углекислого и сорбиновой кислоты приведен в табл. А.5.1. Ионной сшивке подвергались ГК на основе 7% масс. АН (2.2.1.), а также гель-концентрат с НЧС, приготовленный по методике, описанной в 2.2.7. В качестве образцов сравнения брали композиции без добавления сшивающих агентов.

Таблица А.5.1. Состав ионно сшитых гидрогелевых композиций

№	Количество компонентов, г
1	Гель-концентрат с НЧС – 100,00; кальция углекислого -0,11; сорбиновой кислоты -0,25; глицерин - 3,00.
2	Гель-концентрат с НЧС – 100,00; кальция углекислого -0,05; сорбиновой кислоты -0,02; глицерин - 3,00.
3	ГК на основе 7% масс. АН – 100,00; кальция углекислого -0,11; сорбиновой кислоты - 0,25; глицерин - 3,00.
4	ГК на основе 7% масс. АН – 100,00; кальция углекислого -0,05; сорбиновой кислоты - 0,02; глицерин - 3,00.

К необходимому количеству гидрогелевой композиции, указанному в табл. А.5.1., прибавляют сначала указанную массу сорбиновой кислоты, после чего тщательно перемешивают, а затем добавляют предварительно приготовленную смесь из указанного количества глицерина и кальция углекислого. Полученную композицию перемешивают до гомогенной консистенции и оставляют при комнатной температуре до видимого загустевания, которое говорит о прошедшем процессе ионной сшивки.

Приложение Б. Экспериментальные данные для расчета срока годности гидрогелевой композиции на основе альгината натрия

Б1. Краткое описание программного обеспечения ShelfLife для обработки данных по обсемененности композиции и по вязкости

Программа ShelfLife имеет две вкладки: «Ввод данных» и «Расчет», интерфейс которых представлен на рис. Б.1.

В правой части находится панель, содержащая кнопки выбора режимов работы с данными: «Load from base file» и «Save to base file». Нажатие кнопки «Load from base file» позволяет перейти в режим загрузки экспериментальных данных по обсемененности или по вязкости в программу для дальнейшей их обработки. Нажатие кнопки «Save to base file» переводит работу программы в режим сохранения рассчитанных параметров в соответствии с выбранными моделями. Кнопки «AddRoot», «AddChild», «Delete Node» – служебные кнопки для редактирования данных в случае необходимости.

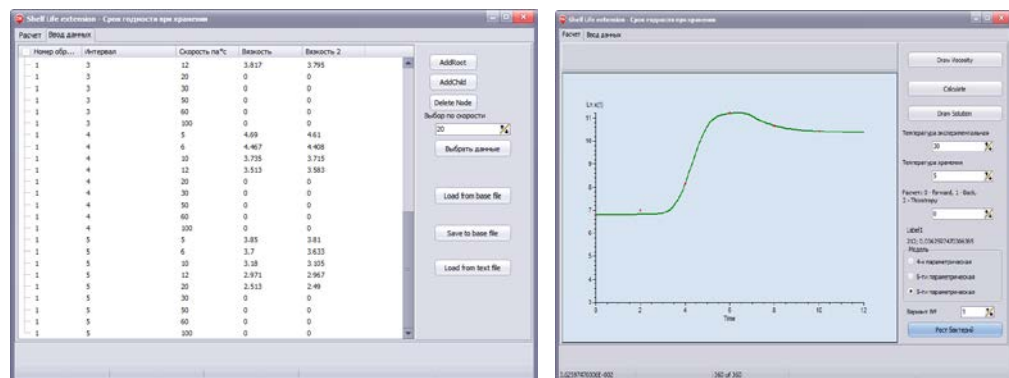


Рис.Б.1. Общий вид программы ShelfLife: интерфейс вкладки «ввод данных» (слева), интерфейс вкладки «расчет» (справа) при обработке данных по микробной обсемененности

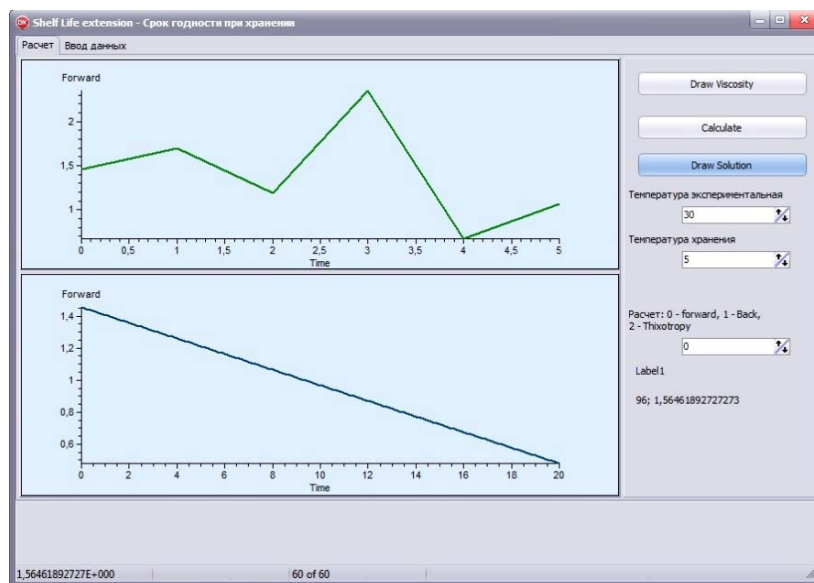


Рис.Б.2. Интерфейс программы «Shelf Life» при прогнозировании вязкости гидрогелей в течение хранения

В правой части находится панель с кнопками «Draw Viscosity» – нарисовать кривую изменения вязкости, «Calculate» – вычислить неизвестные коэффициенты уравнения Аррениуса, «Draw Solution» – нарисовать график решения по результатам обработки данных как по вязкости, так и по обсемененности. Ниже расположено редактируемое поле «Температура экспериментальная», в котором задается величина температуры, при которой проводился эксперимент. Рассчитать неизвестные параметры модели можно по двум возможным типам измерения экспериментальных данных: 0 – forward (измерения при растущей скорости сдвига), 1 – Back (измерения вязкости при убывающей скорости сдвига, например, когда нужно оценить тиксотропность ГК). В поле «Label_1» во время расчета демонстрируется количество итераций и достигнутая величина невязки (ошибки аппроксимации экспериментальных данных). Кроме того необходимо выбрать модель, по которой будут строиться кривые либо изменения вязкости (уравнения Аррениуса), либо роста микроорганизмов (кнопка «Рост бактерий» строит их на панели изображений).

Б2. Экспериментальные данные по микробной обсемененности изучаемых гидрогелевых композиций

Значения приводятся в КОЕ на 1 г композиции						
№	Состав	2 недели	4 недели	6 недель	8 недель	10 недель
1	АН	1500	24700	3310000	1600000	260000
2	АН+ФЭ	620	410	890	10000	2000
3	АН+СК	1090	3450	74000	42900	33600

Логарифмические значения (обсемененность считают, взяв логарифм от абсолютного значения)						
№	Состав	2 недели	4 недели	6 недель	8 недель	10 недель
1	АН	3,176091	4,392697	6,519828	6,20412	5,414973
2	АН+ФЭ	2,792392	2,612784	2,94939	4	3,30103
3	АН+СК	3,037426	3,537819	4,869232	4,632457	4,526339

Б3. Экспериментальные данные по вязкости изучаемых гидрогелевых композиций

Данные по вязкости стерильных композиций:									
Исходные данные:									
скорость сдвига	3			2			1		
с ⁻¹	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d
5	20,2	16,8	1,202381	52,8	44,2	1,19457	2,62	2,25	1,164444
6	19,667	15,333	1,282658	48,333	40	1,208325	2,383	2,117	1,12565
10	16	12,5	1,28	37,2	35,8	1,039106	1,915	1,765	1,084986
12	14	11,583	1,208668	33,417	30	1,1139	1,8	1,654	1,088271
20	11,45	9,35	1,224599	26,5	23,2	1,142241	1,455	1,393	1,044508
30	9,1	8,033	1,132827	21,367	19,1	1,118691	1,243	1,217	1,021364
50	7	6,34	1,104101	16,38	15,04	1,089096	0,989	0,99	0,99899
60	6,333	5,9	1,07339	14,5	13,833	1,048218	0	0	0
100	4,95	4,95	1	0	0	0	0	0	0


1 неделя									
скорость сдвига	3			2			1		
c^{-1}	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d
5	15,8	15	1,053333	50,8	37,2	1,365591	2,05	2	1,025
6	15,3	13,3	1,150376	47,83	34,83	1,373241	1,983	1,95	1,016923
10	12,9	11,3	1,141593	39,3	27,3	1,43956	1,867	1,83	1,020219
12	12	10,25	1,170732	31,33	25,083	1,249053	1,83	1,815	1,008264
20	9,8	8,5	1,152941	24	20,05	1,197007	1,7	1,683	1,010101
30	8,067	7,3	1,105068	19,63	16,7	1,175449	1,65	1,643	1,00426
50	6,5	6,62	0,981873	14,9	13,14	1,133942	1,4	1,39	1,007194
60	5,82	5,63	1,033748	13,25	11,98	1,10601	0	0	0
100	4,62	4,57	1,010941	9,71	9,76	0,994877	0	0	0
2 неделя									
скорость сдвига	3			2			1		
c^{-1}	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d
5	5,26	5,16	1,01938	26,8	21,6	1,240741	1,87	1,79	1,044693
6	4,958	4,908	1,010187	25,33	20,167	1,256012	1,725	1,692	1,019504
10	4,21	4,075	1,033129	20,6	17,1	1,204678	1,475	1,46	1,010274
12	3,862	3,867	0,998707	18,25	15	1,216667	1,396	1,367	1,021214
20	0	0	0	14,85	12,45	1,192771	1,195	1,178	1,014431
30	0	0	0	12,22	10,667	1,145589	1,037	1,05	0,987619
50	0	0	0	9,3	8,5	1,094118	0,896	0,9	0,995556
60	0	0	0	8,383	7,8	1,074744	0	0	0
100	0	0	0	6,56	6,5	1,009231	0	0	0
3 неделя									
скорость сдвига	3			2			1		

c^{-1}	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d
5	5,41	5,387	1,00427	32,8	26,6	1,233083	3,4	3,2	1,0625
6	5,008	4,97	1,007646	32,133	24,83	1,29412	3,333	3	1,111
10	1,19	4,08	0,291667	25,12	21,2	1,184906	2,9	2,7	1,074074
12	3,817	3,795	1,005797	23	19,05	1,207349	2,667	2,5	1,0668
20	0	0	0	18,6	15,1	1,231788	2,35	2,25	1,044444
30	0	0	0	15,1	13,2	1,143939	2,03	1,93	1,051813
50	0	0	0	11,48	10,4	1,103846	1,76	1,7	1,035294
60	0	0	0	10,15	9,617	1,055423	1,7	1,617	1,05133
100	0	0	0	8,08	7,93	1,018916	1,41	1,43	0,986014
4 неделя									
скорость сдвига	3			2			1		
c^{-1}	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d
5	4,69	4,61	1,017354	20,4	18	1,133333	0,95	0,91	1,043956
6	4,467	4,408	1,013385	19,667	16,667	1,179996	0,891	0,866	1,028868
10	3,735	3,715	1,005384	15,9	14,1	1,12766	0,8	0,765	1,045752
12	3,513	3,583	0,980463	15,417	14	1,101214	0,762	0,741	1,02834
20	0	0	0	12,05	11,3	1,066372	0,672	0,65	1,033846
30	0	0	0	10,667	9,767	1,092147	0,605	0,585	1,034188
50	0	0	0	8,28	7,94	1,042821	0,53	0,524	1,01145
60	0	0	0	7,617	7,383	1,031694	0,504	0,499	1,01002
100	0	0	0	6,16	6,17	0,998379	0,437	0,443	0,986456
5 неделя									
скорость сдвига	3			2			1		
c^{-1}	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d	вяз1	вяз2	d
5	3,85	3,81	1,010499	22,6	17,8	1,269663	1,72	1,47	1,170068
6	3,7	3,633	1,018442	20	16,5	1,212121	1,575	1,417	1,111503

10	3,18	3,105	1,024155	16	14,4	1,111111	1,295	1,225	1,057143
12	2,971	2,967	1,001348	15,25	13,417	1,136618	1,246	1,2	1,038333
20	2,513	2,49	1,009237	12,3	11,35	1,0837	1,063	1,033	1,029042
30	0	0	0	10,767	9,667	1,113789	0,945	0,931	1,015038
50	0	0	0	8,16	7,88	1,035533	0,82	0,809	1,013597
60	0	0	0	7,6	7,3	1,041096	0,778	0,772	1,007772
100	0	0	0	6,06	6,09	0,995074	0	0	0

Приложение В. Токсикологические заключения (справочное)

ИСПЫТАТЕЛЬНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ
ФГБУ ФНЦ ФХМ ФМБА России
АТТЕСТАТ № RA.RU.21MI25 от 17.09.2016
119436, РОССИЯ, город Москва,
ул. Пироговская М., 1А

" УТВЕРЖДАЮ "
Заместитель руководителя
Испытательной лаборатории
медицинских изделий
ФГБУ ФНЦ ФХМ ФМБА России
Кандидат Медицинских наук

К. Мартынов
29 января 2018 г.

Результаты исследования и протокол действительны только на представленные и испытанные образцы ©

ПРОТОКОЛ № 35Д-18 от 29 января 2018 г.

Токсикологических испытаний, местнораздражающего действия
и гемолитической активности медицинских изделий (материалов), устанавливающих
их биологическую безопасность.

Наименование изделия (материала):

Салфетки гидрогелевые с альгинатом натрия, диоксидом и лидокаином стерильные
«Колетекс-АДЛ» по ТУ 9393-013-26943035-2003

Наименование фирмы изготовителя:

ООО «Колетекс», 115093 г. Москва, ул. Павловская, д.21, и/п 4-6. Место производства:
ООО «Колетекс», 109029, г.Москва, ул.Средняя Калитниковская, д.28, стр.2,
Россия

Материалы:

Материалы: см. приложение. Образцы: «Колетекс-АДЛ» 100г, партия 01, годен до 01.2020

Испытания проведены в соответствии с:

Стандарты серии ГОСТ Р ИСО 10993 и ГОСТ ISO 10993
"Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий" (см.
приложение)
"Сборник руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническому
исследованию полимерных материалов и изделий на их основе медицинского
назначения", МЗ СССР, 1987
ГОСТ 31214-2016 "Изделия медицинские. Требования к образцам и документации,
представляемым на токсикологические, санитарно-химические исследования, испытания
на стерильность и пирогенность"
ГН 2.3.3.972-00 "ПДК химических веществ выделяющихся из материалов,
контактирующих с пищевыми продуктами"
МУ 1.1.017-95 Биотестирование продукции из полимерных и других материалов,
Ув. ГСЭН 20.12.95
ГОСТ Р 52770-2016 "Изделия медицинские. Требования безопасности.
Методы санитарно-химических и токсикологических испытаний"
ГОСТ EN 556-1-2011 "Стерилизация медицинских изделий. Требования к медицинским изделиям
категории стерильные. Часть 1. Требования к медицинским изделиям, подлежащим физической
стерилизации".

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Салфетки гидрогелевые с альгинатом натрия, диоксидом и лидокаином стерильные
«Колетекс-АДЛ» по ТУ 9393-013-26943035-2003

Изготовитель:

ООО «Колетекс», 115093 г. Москва, ул. Павловская, д.21, и/п 4-6. Место производства: ООО
«Колетекс», 109029, г.Москва, ул.Средняя Калитниковская, д.28, стр.2,
Россия

и е т о к с и ч и м, соответствует требованиям нормативной документации

Исполнители испытаний:

Научный сотрудник _____

И.В. Артемкина



ИСПЫТАТЕЛЬНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ
МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ
ФГБУ ФНЦ ФХМ ФМБА России
АТТЕСТАТ № RA.RU.21MI25 от 17.09.2015

119435, РОССИЯ, город Москва,
ул. Пироговская М., 1А

" УТВЕРЖДАЮ "

Заместитель руководителя
Испытательной лаборатории
медицинских изделий
ФГБУ ФНЦ ФХМ ФМБА России
Кандидат медицинских наук


А. К. Мартынов
29 января 2018 г.

Результаты исследования и протокол действительны только на представленный к испытанию образец. §

ПРОТОКОЛ № 34Д-18 от 29 января 2018 г.

Токсикологических испытаний, местнораздражающего действия
и гемолитической активности медицинских изделий (материалов), устанавливающих
их биологическую безопасность.

Наименование изделия (материала):

Материалы гидрогелевые на основе альгината натрия с дериватом
(дезоксирибонуклеатом натрия) стерильные «Колетекс-гель-ДНК» по ТУ 9393-016-
26943035-2006

Наименование фирмы изготовителя:

ООО «Колетекс», 115093 г. Москва, ул. Павловская, д.21, в/п 4-6. Место производства:
ООО «Колетекс», 109029, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, д.28, стр.2,
Россия

Материалы:

Материалы: см. приложение. Образцы: «Колетекс-гель- ДНК» 20г. Партия 01, годен до
01.2020

Испытания проведены в соответствии с:

- Стандарты серии ГОСТ Р ИСО 10993 и ГОСТ ISO 10993
- "Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий" (см. приложение)
- "Сборник руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническому исследованию полимерных материалов и изделий на их основе медицинского назначения", МЗ СССР, 1987
- ГОСТ 31214-2016 "Изделия медицинские. Требования к образцам и документации, представляемым на токсикологические, санитарно-химические исследования, испытания на стерильность и пирогенность"
- ГН 2.3.3.972-00 "ПДК химических веществ выделяющихся из материалов, контактирующих с пищевыми продуктами"
- МУ 1.1.037-95 Биотестирование продукции из полимерных и других материалов, Утв. ГСЭН 20.12.95
- ГОСТ Р 52770-2016 "Изделия медицинские. Требования безопасности. Методы санитарно-химических и токсикологических испытаний"
- ГОСТ EN 556-1-2011 "Стерилизация медицинских изделий. Требования к медицинским изделиям категории стерильные. Часть 1. Требования к медицинским изделиям, подлежащим финишной стерилизации".

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Материалы гидрогелевые на основе альгината натрия с дериватом (дезоксирибонуклеатом натрия) стерильные «Колетекс-гель-ДНК» по ТУ 9393-016-26943035-2006

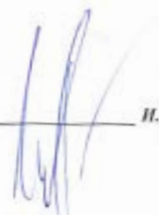
Изготовитель:

ООО «Колетекс», 115093 г. Москва, ул. Павловская, д.21, в/п 4-6. Место производства: ООО
«Колетекс», 109029, г. Москва, ул. Средняя Калитниковская, д.28, стр.2,
Россия

и е т о к с и ч и , с о о т в е т с т в у ю т т р е б о в а н и я м н о р м а т и в н о й д о к у м е н т а ц и и

Исполнители испытаний:

Научный сотрудник


И.В. Артемкина

**Приложение Г. Изменения в технической документации
(справочное)**

Изм. № вкл.	Изм. в дате	Взам. Инв. №	Изм. № дубл.	Изм. в дату
-------------	-------------	--------------	--------------	-------------

ОКП 93 9373

«СОГЛАСОВАНО»
Врио генерального директора
ФГУ «ВНИИИМТ»
Росаэронадзора
Н.М. Илюков
«13» 10. 2016 г.



«УТВЕРЖДАЮ»
Генеральный директор
ООО «НПО Текстильпрогресс ИА»
Г.Е. Кричевский
«14» 10. 2016 г.



ИЗВЕЩЕНИЕ № 4

Об изменении
ТУ 9393-013-26943035-2003

**САЛФЕТКИ С АЛГИНАТОМ НАТРИЯ, ДИОКСИДИНОМ И
ЛИДОКАИНОМ «КОЛТЕКС-АДЛ»**

2016

ОРИГИНАЛ

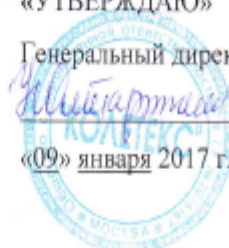
ООО «КОЛТЕКС»

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ООО «Колтекс»

 Олтаржевская Н. Д.

«09» января 2017 г.

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕГЛАМЕНТ**

на производство медицинского изделия

«Салфетки с альгинатом натрия, диоксином и лидокаином, стерильные
«Колтекс-АДЛ»» (ТУ 9393-013-26943035-2003)

ТР 13-26943035-2017

(взамен ТР 13-26943035-2003)

«СОГЛАСОВАНО»

Заместитель генерального директора

Начальник отдела сертификации

Главный инженер производства

Главный технолог производства



Коровина М. А.



Быркина Т.С.



Савельев К. А.



Мкртчян М.В.