

На правах рукописи

Сардушкин Макар Владимирович

**Синтез и основные коллоидно-химические
характеристики микрокапсул рифампицина,
полученных методом простой коацервации**

02.00.11 – Коллоидная химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва – 2013

Работа выполнена на кафедре технологии химико-фармацевтических и косметических средств Российского химико-технологического университета им. Д.И. Менделеева

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Авраменко Григорий Владимирович,
заведующий кафедрой технологии химико-фармацевтических и косметических средств
Российского химико-технологического университета имени Д.И. Менделеева

Официальные оппоненты: доктор технических наук, профессор
Крупин Станислав Васильевич
профессор кафедры физической и коллоидной химии,
Казанского национального исследовательского
технологического университета

кандидат технических наук
Марченко Ольга Николаевна
ассистент отдела клинических исследований
ООО «Синерджи»

Ведущая организация: Белгородский государственный
технологический университет им. В.Г. Шухова

Защита состоится 24 декабря 2013 г. в 14:00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.204.11 в РХТУ им. Д.И. Менделеева (125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9) в кабинете гуманитарных знаний (ауд. 431).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ им. Д.И. Менделеева.

Автореферат диссертации разослан «22» ноября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
Д 212.204.11



Мурашова Н.М.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. В фармацевтической промышленности микрокапсулирование биологически активных веществ используется с целью повышения эффективности действия и снижения токсичности лекарственных средств. Проблема снижения токсических эффектов наиболее актуальна в случае применения антибактериальных препаратов, используемых в лечении заболеваний, требующих длительного курса химиотерапии. Одним из примеров длительной терапии, достигающей года и более, является лечение инфекционных заболеваний легких, в частности туберкулеза.

Среди немногочисленных препаратов первого ряда химиотерапии туберкулеза широкое распространение получил полусинтетический антибиотик рифамицинового ряда — рифампицин. Он высокоактивен в отношении *Mycobacterium tuberculosis*, подавляет ДНК-зависимую РНК-полимеразу микроорганизмов. В настоящее время рифампицин применяется перорально или парентерально, но обладает выраженной гепатотоксичностью.

Снижение длительного системного воздействия и доставка антибактериального агента непосредственно в орган-мишень – легкие, могут быть достигнуты при ингаляционном методе введения микрокапсулированных форм рифампицина, обладающих рядом специфических свойств, одним из которых является контролируемый и селективный массоперенос антибиотика через оболочку капсулы, обеспечивающий его пролонгированное действие.

Цель работы — разработка метода получения микрокапсул рифампицина, пригодных для ингаляционного применения и определение их коллоидно-химических характеристик.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- подобрать эффективные стабилизаторы (ПАВ и полимер) для получения устойчивых прямых эмульсий рифампицина и пленкообразователя;
- подобрать полимер-пленкообразователь, который способен обеспечить эффективное высвобождение активной субстанции;
- разработать методику капсулирования рифампицина и выделения полученных микрокапсул;

- установить основные коллоидно-химические характеристики микрокапсул рифампицина: распределение частиц по размерам, степень полидисперсности, и степень включения основного вещества;
- исследовать кинетику высвобождения рифампицина из микрокапсул;
- провести микробиологические испытания микрокапсул рифампицина.

Научная новизна. Подобран смешанный стабилизатор АОТ/ПВС, позволяющий получать устойчивые прямые эмульсии рифампицина и пленкообразователя в хлороформе. Определены реологические характеристики поверхностных слоев полимера-стабилизатора. Разработана методика микрокапсулирования рифампицина методом простой коацервации с использованием смешанного стабилизатора АОТ/ПВС, позволяющего получать микрокапсулы со степенью включения активного компонента 23 %. Установлены основные характеристики микрокапсул – распределение частиц по размерам, степень полидисперсности, величина ζ -потенциала, степень включения основного вещества, а также остаточное количество легколетучего растворителя (хлороформа) в капсулах. Исследована кинетика высвобождения рифампицина из полученных микрокапсул.

Практическая значимость. Разработана методика микрокапсулирования рифампицина методом простой коацервации, позволяющая получать микрокапсулы рифампицина с размером 0,9 мкм, что соответствует требованиям, предъявляемым к препаратам для ингаляционного применения. Показано, что микрокапсулы рифампицина обеспечивают пролонгированное высвобождение активного компонента в течение 20-25 суток и проявляют более эффективную пролонгированную противотуберкулезную активность по сравнению с незакапсулированным препаратом.

Личный вклад автора. На всех этапах работы автор принимал непосредственное участие в планировании и выполнении экспериментов, анализе и интерпретации результатов, формулировании выводов.

Апробация работы. Результаты работы докладывались и обсуждались на I Научно-практической конференции «Технология и анализ косметических средств и фармацевтических препаратов» (Москва, 2011), научно-практической конференции «Новые химико-фармацевтические технологии» (Москва, 2012), III Всероссийской молодежной конференции с элементами научной школы «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества» (Москва, 2012), Пятой Всероссийской

конференции (с международным участием) «Химия поверхности и нанотехнология (Санкт-Петербург – Хилово, 2012).

Публикации. По теме работы опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК, а также 4 тезиса докладов на научно-технических конференциях.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части и обсуждения результатов. Работа изложена на 111 страницах машинописного текста, содержит 57 рисунков и 15 таблиц. Список литературы представлен из 103 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность работы, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе представлен аналитический обзор литературных данных. Описаны основные принципы антибактериальной терапии инфекционных заболеваний легких, роль рифампицина (РФП), как препарата I ряда в противотуберкулезной терапии. Рассмотрены основные методы микрокапсулирования, изложена суть метода простой коацервации. Рассмотрены основные критерии выбора компонентов (пленкообразователей и стабилизаторов) для микрокапсулирования РФП. Описаны основные механизмы высвобождения РФП из микрокапсул, изложена суть некоторых методов исследования эффективности микрокапсулирования и кинетики высвобождения инкапсулированного вещества. Показаны преимущества микрокапсулированных ингаляционных форм лекарственных веществ по сравнению с другими лекарственными формами, а также рассмотрены требования, предъявляемые к препаратам для ингаляционного применения.

Во второй главе приведены характеристики исходных веществ и материалов, а также методики определения физико-химических и коллоидно-химических свойств исследуемых систем. Молекулярную массу высокомолекулярных соединений определяли методом капиллярной вискозиметрии. Межфазное натяжение на границе жидкость-жидкость определяли методом объема-веса капли. Электрофоретическая подвижность частиц определялась методом макроэлектрофореза. Измерение реологических характеристик межфазного слоя проводили с помощью ротационного поверхностного реометра «Physica MCR-301». Определение концентрации РФП в

растворах осуществлялось спектрофотометрическим методом при помощи спектрофотометра «UNICO 1201» на аналитической длине волны 475 нм.

Размеры капель эмульсий и размеры микрокапсул измеряли методом динамического рассеяния света с использованием прибора «ANALYSETTE 22 NanoТес», а также при помощи оптической и электронной микроскопии. Оценка остаточного содержания органического растворителя в микрокапсулированных формах РФП проводилась на газовом хроматографе «ЛХМ-80». Изучение противотуберкулезной активности образцов микрокапсул проводилась в условиях *in vitro* методом абсолютных концентраций.

В третьей главе изложены основные результаты, полученные в ходе работы.

Процесс инкапсулирования РФП включает две стадии. На первой была получена прямая эмульсия с дисперсной фазой, представленной раствором инкапсулируемого РФП и пленкообразователя в хлороформе. В качестве дисперсионной среды был использован водный раствор стабилизатора. Второй стадией являлось удаление из системы под вакуумом хлороформа с последующим выделением центрифугированием микрокапсул и их сушкой на воздухе при нормальных условиях. В качестве пленкообразователя первоначально был выбран синтетический полимер – полилактидгликолид (ПЛГА) с молекулярной массой 7200 Да и соотношением мономеров 50/50. ПЛГА нетоксичен, и продукты его биоразложения являются естественными метаболитами живых систем; в качестве стабилизатора эмульсии использовался поливиниловый спирт (ПВС) с молекулярной массой 11000 Да.

Исследование зависимости эффективности микрокапсулирования РФП от концентрации ПВС при постоянном соотношении РФП/ПЛГА, равном 1/10, (**рисунок 1**), показало, что с повышением концентрации ПВС эффективность микрокапсулирования снижается. Стабильные результаты инкапсулирования РФП были получены в области концентраций ПВС от 0,8 до 1,4 мг/мл. В дальнейших исследованиях использовался ПВС с концентрацией 1 мг/мл. Изменение величины pH дисперсионной среды в диапазоне 3-11 существенно не влияло на эффективность капсулирования. Капсулы, полученные таким способом, имели правильную сферическую форму (**рисунок 2а**). Среднечисленный радиус частиц \bar{r}_n составил 0,78 мкм, коэффициент полидисперсности системы (П) 0,78. Средний радиус полученных микрокапсул соответствовал требованиям, предъявляемым к микрокапсулам,

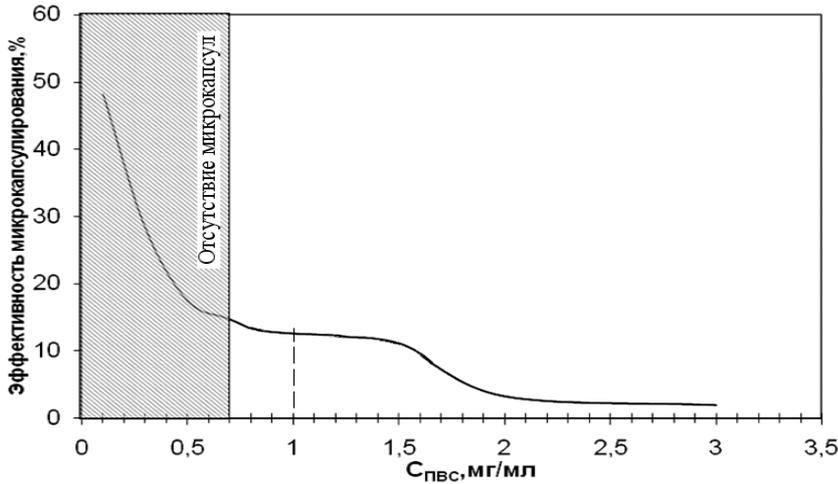


Рис. 1. Эффективность микрокапсулирования РФП в зависимости от концентрации ПВС

предназначенным для ингаляционного применения (рисунок 3). Известно, что оптимальные размеры частиц аэрозолей должны находиться в интервале 0,5-5 мкм, из них частицы с размером до 2 мкм способны достичь поверхности альвеол (структурная единица

легких). Частицы большего размера задерживаются в ингаляторе и верхних дыхательных путях, а частицы меньше 0,5 мкм, не успевая осесть за фазу вдоха, выводятся с выдохом.

Однако, при использовании ПЛГА в качестве материала оболочки абсолютные значения эффективности микрокапсулирования низки. Повышение эффективности инкапсулирования возможно при замене сополимера ПЛГА на полилактид (ПЛА), что описано в литературе. Поэтому в дальнейших исследованиях в качестве материала оболочки мы использовали ПЛА.

Важной характеристикой, влияющей как на эффективность капсулирования, так и на высвобождение инкапсулированного вещества, является прочность оболочки микрокапсул, которая, в первую очередь, зависит от компонента, находящегося на поверхности микрокапсул. Таким компонентом является ПВС. Прочность может быть охарактеризована с помощью реологических исследований (измерения межфазной вязкости).

На рисунке 4 представлены кривые эффективной вязкости межфазного слоя на границе хлороформ/водный раствор стабилизатора (ПВС). Эти результаты позволяют сделать вывод, что формирующийся межфазный слой на границе жидкость/жидкость ведет себя, как структурированная система. Прочность межфазного слоя характеризуется пределом текучести. Зависимость изменения прочности межфазного слоя водного раствора ПВС 0,1% во времени на границе с хлороформом представлена на рисунке 5.

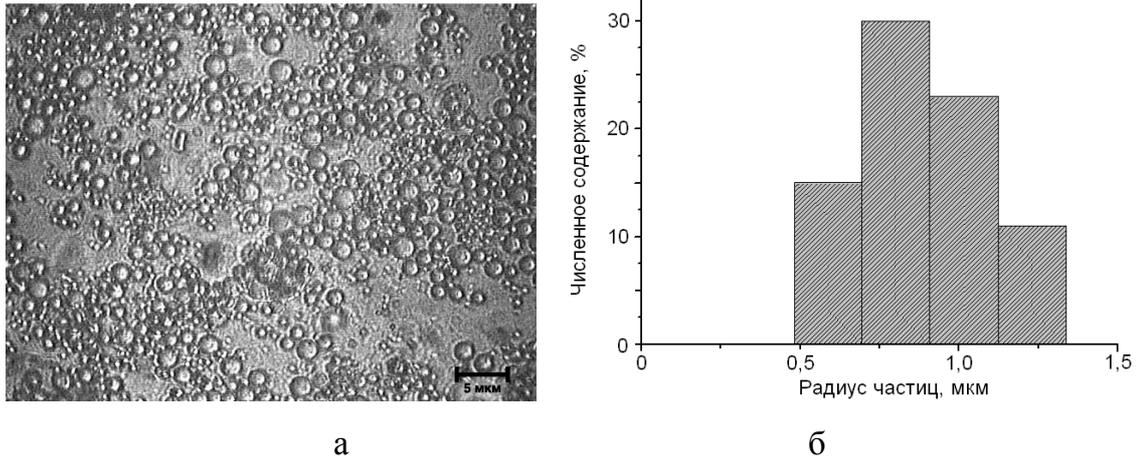


Рис. 2. Дисперсность капсул РФП с ПЛГА-оболочкой, стабилизированных ПВС: а — микрофотография; б — гистограмма численного распределения

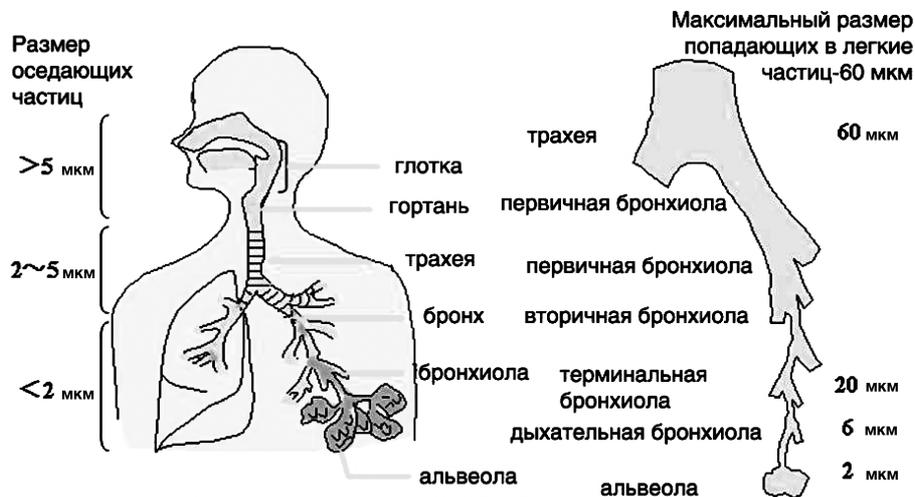


Рис. 3. Распределение вдыхаемых частиц в легких человека в зависимости от их диаметра (Tomoda K., Makino K., 2007)

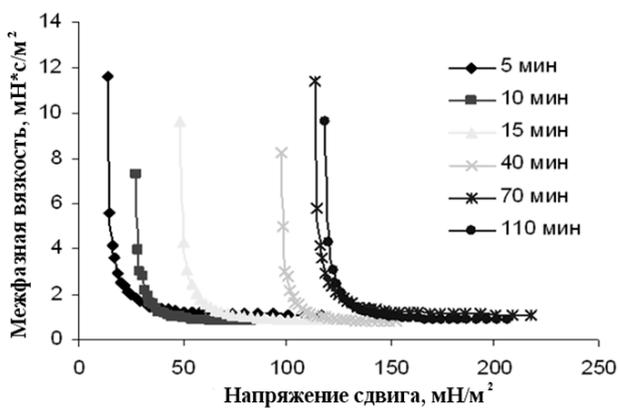


Рис. 4. Зависимость межфазной вязкости от напряжения сдвига на границе хлороформ/водный раствор ПВС 0,1% в зависимости от времени формирования межфазного слоя

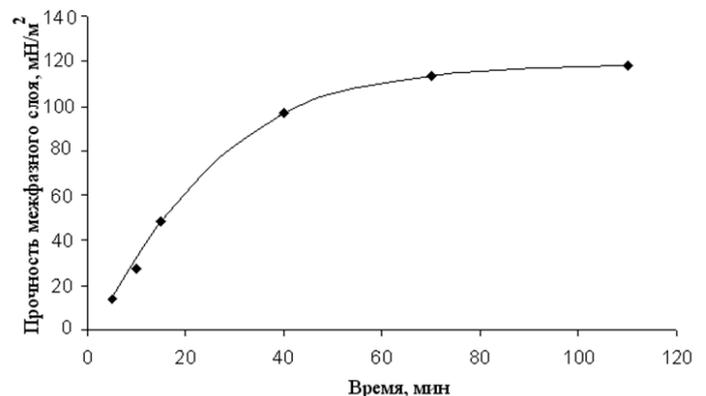


Рис. 5. Изменение прочности межфазного слоя водного раствора ПВС 0,1% на границе с хлороформом во времени

Прочность межфазного слоя нарастает во времени и достигает максимальных значений при 100-120 мин. Временная зависимость межфазной прочности для ПВС обусловлена замедленной диффузией адсорбирующихся макромолекул и медленной ориентацией их на границе раздела фаз. На основании полученных данных время упаривания хлороформа из систем было увеличено до полутора часов.

Полученные микрокапсулы РФП с оболочкой из ПЛА представляли собой сферические частицы с достаточно высокой степенью полидисперсности, но средний радиус микрочастиц не превышал допустимых значений для ингаляционного применения (рисунок 6).

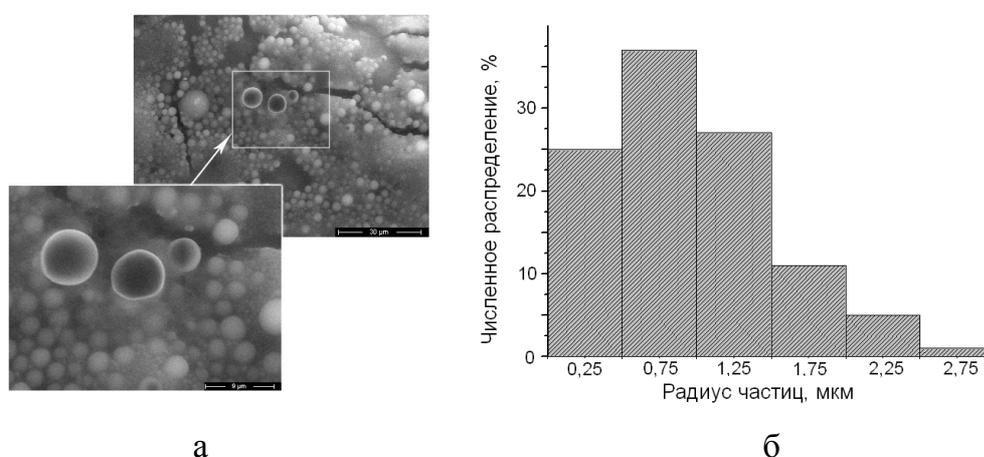


Рис. 6. Дисперсность капсул РФП с ПЛА-оболочкой, стабилизированных ПВС: а — микрофотография; б — гистограмма численного распределения

Для оценки влияния содержания пленкообразователя на характеристики микрокапсул и эффективность микрокапсулирования, кроме систем с соотношением активный компонент/пленкообразователь, равном 1/10, были исследованы системы с содержанием ПЛА в 4 раза больше (соотношение 1/40). Соответствие размеров микрокапсул, допустимых для ингаляционного введения, было подтверждено методом динамического рассеяния света (рисунок 7).

Поскольку в фармацевтической промышленности на разных технологических стадиях часто используется ультразвук, была проведена оценка устойчивости частиц к такому воздействию. Под действием ультразвукового поля линейный размер капель и частиц практически не изменялся, что свидетельствует об устойчивости системы в ультразвуковом поле.

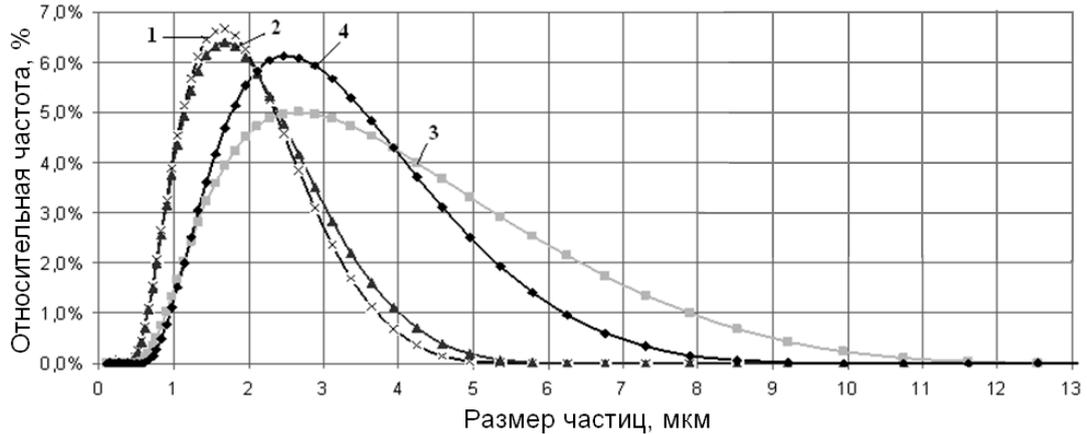


Рис. 7. Дифференциальные кривые массового распределения частиц по размерам: 1, 2 – системы с соотношением активный компонент/пленкообразователь 1/10; 3, 4 – системы с соотношением активный компонент/пленкообразователь 1/40; 1, 3 – системы до удаления хлороформа; 2, 4 – после упаривания хлороформа

Для оценки влияния молекулярной массы полимера на эффективность микрокапсулирования были синтезированы образцы ПЛА с молекулярными массами 5200, 9100 и 30500 Да. В **таблице 1** приведены сравнительные данные эффективности микрокапсулирования РФП для ПЛА с различной молекулярной массой и с разным соотношении активный компонент/пленкообразователь. Прямым методом определялось количество РФП, завлеченного в капсулы; косвенным — количество не завлеченного РФП, оставшегося в дисперсионной среде после выделения микрокапсул центрифугированием. Полученные результаты свидетельствуют, что эффективность микрокапсулирования выше в системах с соотношением активный компонент/пленкообразователь 1/40, чем в системах с меньшим содержанием ПЛА.

При увеличении молекулярной массы полилактида эффективность микрокапсулирования также существенно возрастала. Полученные результаты можно объяснить тем, что, чем больше концентрация и чем выше молекулярная масса пленкообразователя, тем больше вязкость масляной фазы и, как следствие, меньше скорость диффузии молекул РФП из масляной фазы (раствор РФП и ПЛА в хлороформе) в дисперсионную среду. Минимальная степень включения наблюдалась в системах для ПЛА с молекулярной массой 5200 Да, поэтому данный полимер в дальнейшем не использовался.

Максимальный процент включения РФП составил всего 17 % в системах для ПЛА с молекулярной массой, равной 30500 Да. Дальнейшее увеличение

молекулярной массы пленкообразователя нецелесообразно, поскольку это может привести к уменьшению скорости высвобождения инкапсулируемого вещества. Учитывая возможность влияния на степень включения не только характеристик пленкообразователя, но и природу стабилизатора, для увеличения эффективности микрокапсулирования мы заменили ПВС на анионное поверхностно-активное вещество — ди-2-этилгексилсульфосукцинат натрия (АОТ), поскольку он широко используется в качестве стабилизатора прямых эмульсий медицинского и биологического назначения.

Выбор концентрации АОТ, необходимой для стабилизации, проводили на основании измерения величин межфазного натяжения на границе хлороформ/вода, варьируя концентрацию ПАВ. Чем ниже эта величина, тем стабильнее эмульсия. Оказалось, что в присутствии 0,1 % масс. АОТ в водной фазе межфазное

натяжение снижается до минимального значения, равного 10 мН/м, что вполне достаточно для получения устойчивой эмульсии (**рисунок 8**). Помимо величины межфазного натяжения, агрегативная устойчивость эмульсии, стабилизированной АОТ, обеспечивается и электростатическим фактором устойчивости, т.е. формированием двойного электрического слоя (ДЭС) на поверхности капель вследствие адсорбции ПАВ. Одной из количественных характеристик ДЭС является величина ζ -потенциала. Чем выше величина последнего, тем устойчивее эмульсия. На **рисунке 9** показана зависимость ζ -потенциала частиц от концентрации АОТ. Полученные данные согласуются с результатами измерения межфазного натяжения: именно при концентрации АОТ, равной 0,1 % масс., заканчивается процесс адсорбции ПАВ, и величина ζ -потенциала достигает максимального значения, а значение межфазного натяжения – минимального.

Таблица 1. Расчетные значения эффективности микрокапсулирования, полученные прямым и косвенным методами				
Полимер	Эффективность микрокапсулирования, %			
	Прямой метод		Косвенный метод	
	РФП/ПЛА 1/10	РФП/ПЛА 1/40	РФП/ПЛА 1/10	РФП/ПЛА 1/40
ПЛА 30500 Да	6,0	17,0	6,5	17,3
ПЛА 9100 Да	2,7	9,8	2,9	10,1
ПЛА 5200 Да	0,9	6,9	-	7,5

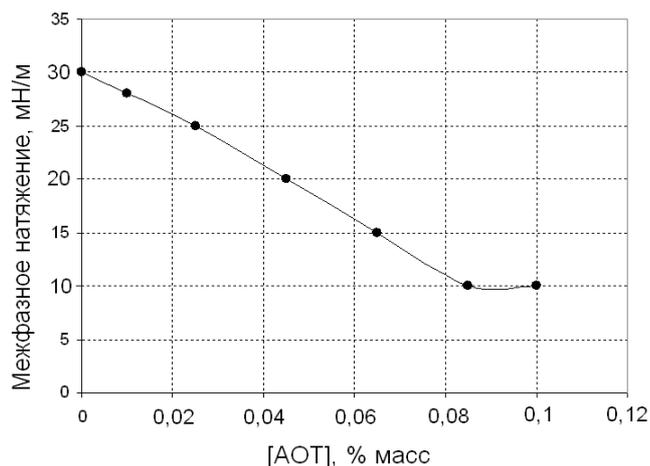


Рис. 8. Изотерма межфазного натяжения на границе хлороформ-вода в присутствии АОТ

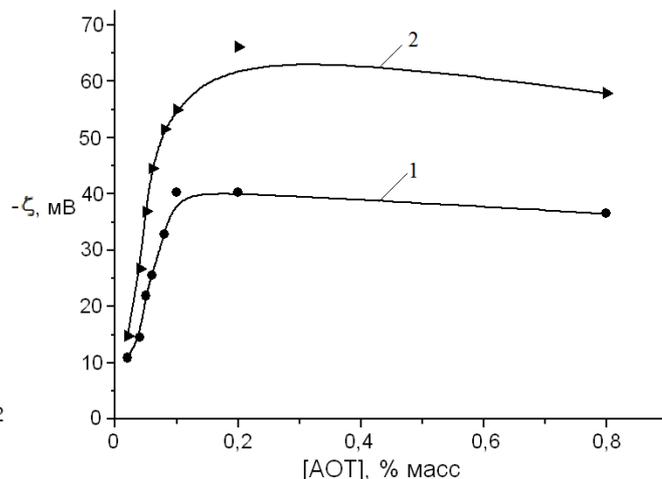
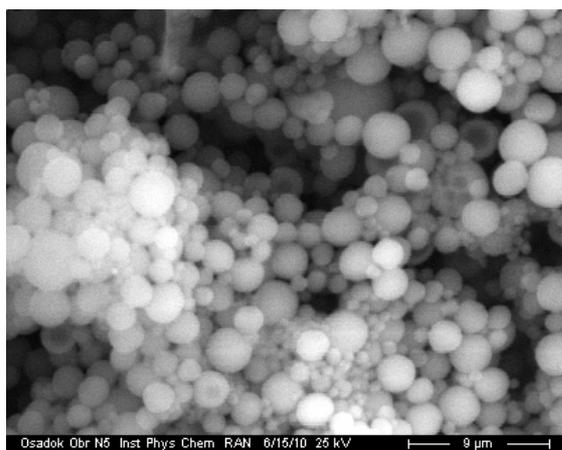


Рис. 9. Зависимость величины ζ -потенциала микрокапсул от концентрации АОТ: 1 — ПЛА с молекулярной массой 30500 Да; 2 — ПЛА с молекулярной массой 9100 Да

При использовании ПЛА с молекулярной массой 9100 Да максимальная величина ζ -потенциала составляет $-(60-62)$ мВ и снижается до -40 мВ для полимера с молекулярной массой 30500 Да. Несмотря на то, что размеры полученных микрокапсул позволяли использовать их для ингаляционного введения, эффективность микрокапсулирования в системах, стабилизированных АОТ, составляла не более 6% (для систем с ПЛА с молекулярной массой 30500 Да). Такая низкая эффективность не может считаться удовлетворительной, поэтому для ее повышения мы использовали смесь стабилизаторов, АОТ/ПВС, поскольку известно, что подобные смеси обладают синергетическим эффектом. Необходимое соотношение АОТ/ПВС выбирали, измеряя межфазное натяжение в системе хлороформ/вода, и параллельно контролируя степень включения РФП в капсулы. Ни большой избыток АОТ, ни большой избыток ПВС не приводил к удовлетворительным результатам. Однако, при соотношении АОТ/ПВС, равном 1/1 [0,05% (масс.) АОТ/0,05% (масс.) ПВС], эффективность капсулирования составила 23%, т.е. практически в 4 раза выше ранее установленной величины для чистого АОТ. Значение межфазного натяжения лежало в пределах 4-5 мН/м (рисунок 10), что обеспечивало высокую агрегативную устойчивость эмульсии.

На **рисунке 11** представлены микрофотография микрокапсул и гистограмма распределения частиц по размерам в присутствии смешанного стабилизатора. В случае применения системы АОТ/ПВС возрастает не только эффективность капсулирования, но и снижается полидисперсность капсул (**рисунок 11б**), что более удобно для их практического применения в качестве ингаляционных форм.



а

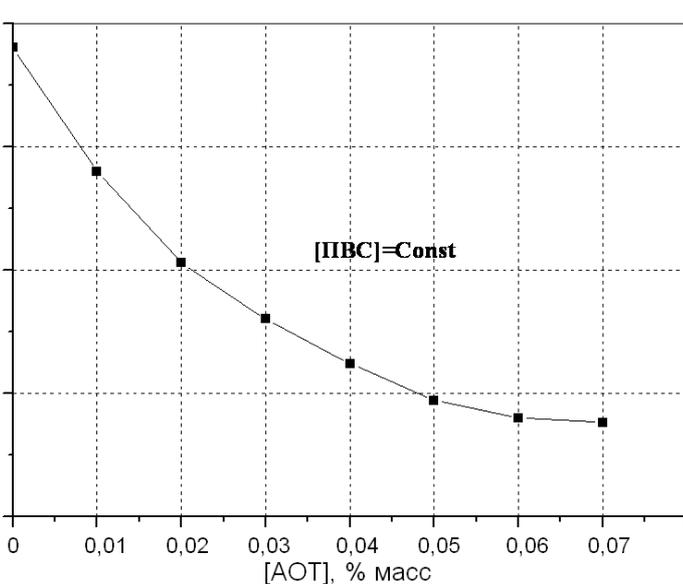
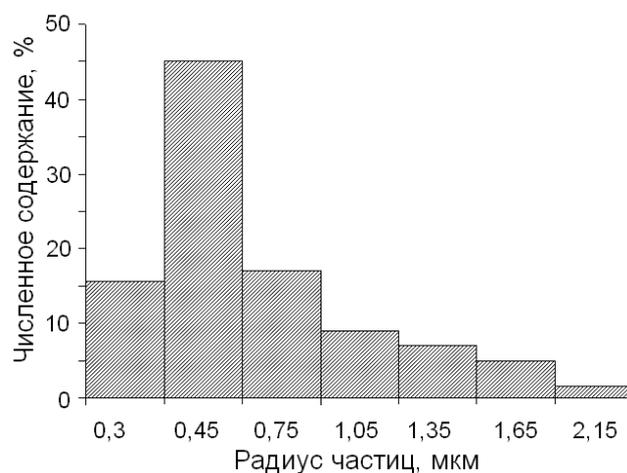


Рис. 10. Изотерма межфазного натяжения на границе хлороформ/вода в присутствии АОТ при постоянной концентрации ПВС (0,05% масс.)



б

Рис. 11. Морфология капсул рифампицина, стабилизированных системой АОТ/ПВС (1/1): а — микрофотография; б — гистограмма численного распределения, полученная по данным рисунка 11 а

Далее были исследованы кинетика высвобождения активного компонента из микрокапсул с оболочками из ПЛА с разной молекулярной массой, а также влияние рН среды на этот процесс.

В качестве среды высвобождения использовался физиологический раствор с рН 6,7 (**рисунок 12**).

Объективно, кинетика высвобождения РФП из микрокапсул с оболочкой из ПЛА с молекулярной массой 30500 Да характеризуется значительно меньшими количествами высвобожденного РФП по сравнению с микрокапсулами из ПЛА с молекулярной массой 9100 Да. На основании полученных данных для дальнейшего исследования были выбраны микрокапсулы с оболочкой из ПЛА с молекулярной массой равной 9100 Да.

Далее, варьируя значения рН, мы моделировали различные среды организма, приближая условия

эксперимента к реальным физиологическим. Моделирование альвеолярной среды легких достигалось

использованием буферных растворов, имитирующих вариант гидролиза фагоцитированной макрофагом микрочастицы: фосфатного буферного раствора с величиной рН 7,4 и цитратного с рН 4,0, что соответствует рН среды фагосомы и фаголизосомы, соответственно. Для моделирования гидролиза микрокапсулы на поверхности альвеолы (не фагоцитированной) использовался физиологический раствор. По данным, представленным на **рисунке 13**, видно, что значение рН раствора влияет на количество РФП, высвобождающегося из микрочастиц, что можно объяснить особенностями гидролиза ПЛА и различной растворимостью РФП в средах с различными значениями рН. Существенное снижение высвободившегося активного компонента в цитратный буферный раствор связано с понижением растворимости РФП в кислых средах.

Для оценки динамики высвобождения РФП в зависимости от времени были построены кривые суточного высвобождения РФП (**рисунки 14, 15**).

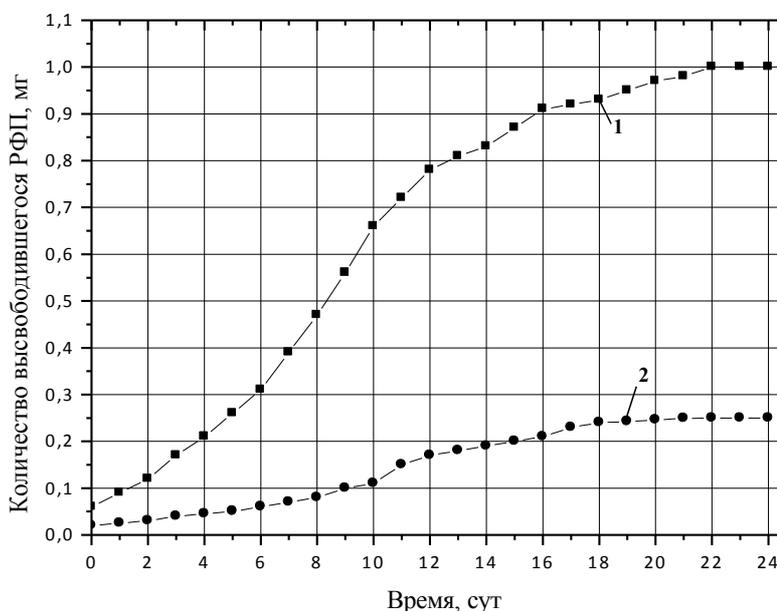


Рис. 12. Кинетика высвобождения РФП (РФП/ПЛА 1/40): 1 — молекулярная масса ПЛА 9100 Да; 2 — молекулярная масса ПЛА 30500 Да

Динамика высвобождения РФП из микрокапсул с оболочкой из ПЛА с молекулярной массой 30500 Да отличается от таковой в системах с полимером, молекулярная масса которого составляет 9100 Да. В случае ПЛА с большей молекулярной массой за 1-ые сутки наблюдается максимальное количество высвободившегося активного компонента, что связано, по-видимому, с его адсорбцией на внешней поверхности микрокапсул. Таким образом, в качестве материала оболочки микрокапсул предпочтительнее использовать ПЛА с молекулярной массой 9100 Да. В этом случае обеспечивается пролонгированное высвобождение РФП в течение 20-25 суток, причем максимум высвобождения приходится на период 7-14 суток как в физиологический, так и в фосфатный буферный растворы. Для микрокапсул с оболочкой из ПЛА с молекулярной массой 30500 Да профиль кривых высвобождения аналогичен, но характеризуется меньшим количеством высвобождаемого РФП.

Так как в процессе синтеза микрокапсул использовался органический растворитель – хлороформ, необходимо было определить его остаточное содержание в конечном продукте. Согласно ГФ XII, хлороформ относится ко второму классу токсичности, и его допустимое предельное содержание составляет 60 ppm.

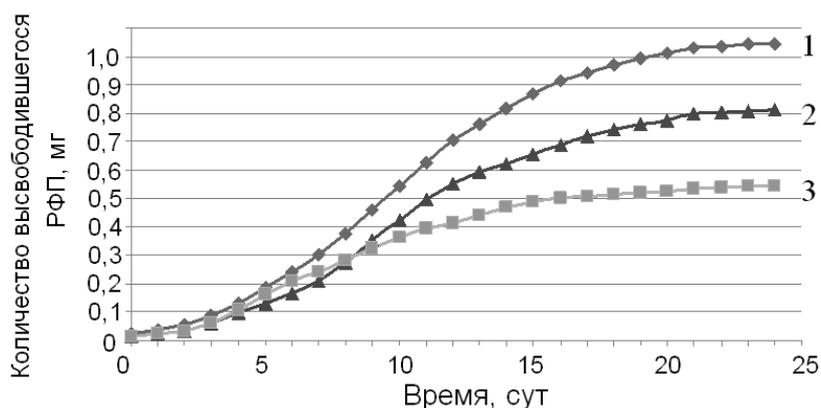


Рис. 13. Кинетика высвобождения РФП (РФП/ПЛА 1/10, ПЛА с молекулярной массой 9100 Да): 1 — физиологический раствор (рН 6,7); 2 — фосфатный буферный раствор (рН 7,4); 3 — цитратный буферный раствор (рН 4,0)

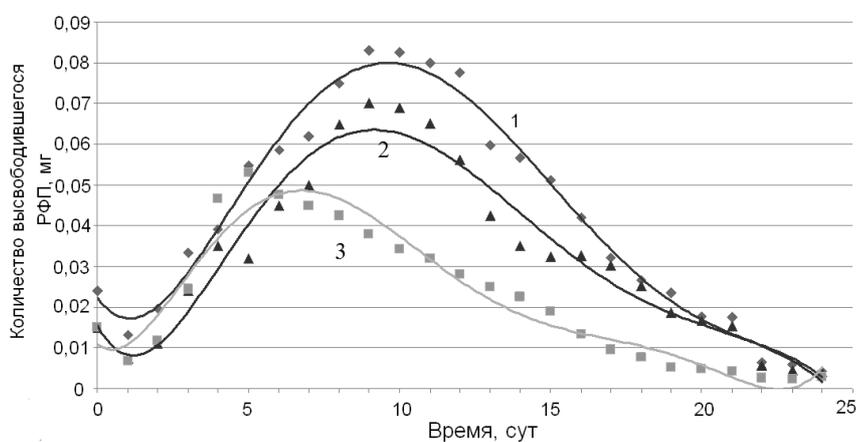


Рис. 14. Суточное высвобождение РФП из микрокапсул ПЛА с молекулярной массой 9100 Да: 1 — физиологический раствор (рН 6,7); 2 — фосфатный буферный раствор (рН 7,4); 3 — цитратный буферный раствор (рН 4,0)

Определение содержания хлороформа в микрокапсулах проводилось методом газовой хроматографии. Микрокапсулы подвергались термическому разложению в специальной ячейке и образовавшиеся газы направлялись на хроматографическую колонку. В качестве стандарта использовался раствор хлороформа в четыреххлористом углероде. Было установлено, что содержание хлороформа в микрокапсулах с оболочкой из ПЛА с молекулярной массой 9100 Да не превышает 46 ± 2 ppm, что ниже допустимого значения.

В заключительной части работы были проведены микробиологические испытания микрокапсулированной формы РФП в сравнении с субстанцией активного компонента*. Изучение эффективности образцов

микрокапсул проводилось в условиях *in vitro* методом абсолютных концентраций. В качестве микробиологического материала использовался штамм *Mycobacterium tuberculosis*. В результате исследования (таблица 2) наибольшую эффективность показали микрокапсулированные формы РФП по сравнению с незакапсулированной

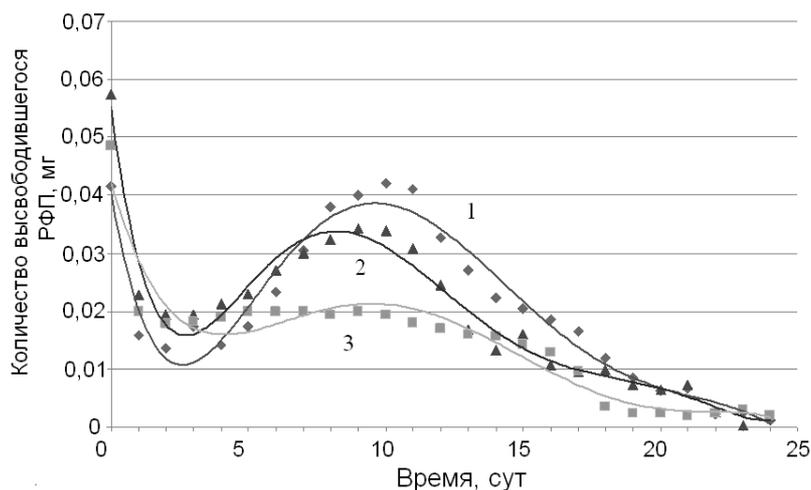


Рис. 15. Суточное высвобождение РФП из микрокапсул ПЛА с молекулярной массой 30500 Да: 1 — физиологический раствор (pH 6,7); 2 — фосфатный буферный раствор (pH 7,4); 3 — цитратный буферный раствор (pH 4,0)

Таблица 2.			
Зависимость величины КОЕ <i>M. tuberculosis</i> штамм H37RV от концентрации препаратов			
Образец	Аликвоты растворов препаратов до конечных концентраций		
	250 мкг/мл	50 мкг/мл	10 мкг/мл
Незакапсулированная субстанция РФП	$1,6(\pm 0,2) \times 10^5$	$9,0(\pm 0,1) \times 10^2$	$0,7(\pm 0,1) \times 10^5$
Микрокапсулы РФП с ПЛА 9100 Да	$1,0(\pm 0,3) \times 10^5$	$3,3(\pm 0,2) \times 10^2$	$0,1(\pm 0,2) \times 10^5$
Микрокапсулы РФП с ПЛА 30500 Да	$2,0(\pm 0,1) \times 10^5$	$5,7(\pm 0,2) \times 10^2$	$9,3(\pm 0,2) \times 10^4$
Контроль	$1,1(\pm 0,2) \times 10^5$	$1,1(\pm 0,2) \times 10^5$	$1,1(\pm 0,2) \times 10^5$

* Испытания проводились на базе ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболенск

субстанцией, что связано с пролонгированным высвобождением РФП из микрокапсул в течение всего времени проведения эксперимента. Лучший результат показали микрокапсулированные формы РФП с оболочкой из ПЛА с молекулярной массой полимера 9100 Да, что подтверждает ранее установленные особенности высвобождения РФП в зависимости от молекулярной массы пленкообразователя.

Выводы

1. Разработана методика микрокапсулирования рифампицина методом простой коацервации, позволяющая получать микрокапсулы рифампицина с размером 0,9 мкм, что соответствует требованиям, предъявляемым к препаратам для ингаляционного применения.

2. Подобран стабилизатор прямых эмульсий РФП и пленкообразующего материала, представляющий собой смесь АОТ/ПВС в соотношении 1/1, который позволяет получать микрокапсулы со степенью включения РФП 23 %.

3. Установлено, что при использовании ПВС на поверхности капсул рифампицина формируются адсорбционные слои полимера, максимальная прочность которых достигается в течение 120 мин, что позволяет определить продолжительность процесса инкапсулирования.

4. Установлено, что скорость высвобождения и количество высвобождаемого РФП зависит от величины рН среды и молекулярной массы полимера оболочки. Микрокапсулы ПЛА обеспечивают пролонгированное высвобождение РФП в физиологический и в фосфатный буферный растворы в течение 20-25 суток, причем максимум высвобождения приходится на период 7-14 суток. В качестве материала оболочки микрокапсул предпочтительнее использовать ПЛА с молекулярной массой 9100 Да.

5. Установлено, что разработанная методика позволяет получать микрокапсулы РФП с остаточным содержанием хлороформа на уровне 46 ± 2 ppm, что соответствует требованиям Государственной фармакопее.

6. Установлено, что микрокапсулированные формы РФП обладают более высокой пролонгированной микробиологической активностью в отношении *M. tuberculosis* по сравнению с субстанцией активного компонента. Лучший результат показали микрокапсулированные формы РФП с оболочкой из ПЛА с молекулярной массой полимера 9100 Да (акт испытаний микробиологической активности прилагается).

Основное содержание диссертации изложено в работах:

1. Сардушкин М.В., Ходькова Ю.В., Киенская К.И., Авраменко Г.В. Изучение эффективности микрокапсулирования и кинетики высвобождения рифампицина из микрокапсул с полилактидгликолидной оболочкой // Химическая технология. 2010. № 4. С. 233-238.
2. Сардушкин М.В., Киенская К.И., Авраменко Г.В. Подбор стабилизатора и отработка основных стадий капсулирования рифампицина // Бутлеровские сообщения. 2012. Т. 32. № 11. С. 64-68.
3. Сардушкин М.В., Киенская К.И., Ильюшенко Е.В., Авраменко Г.В. Получение микрокапсул рифампицина с полилактидной оболочкой // Журнал прикладной химии. 2013. Т. 86. № 5. С. 835-839.
4. Сардушкин М.В., Киенская К.И., Авраменко Г.В. Получение и свойства микрочастиц рифампицина с полилактидной оболочкой // I Научно-практическая конференция «Технология и анализ косметических средств и фармацевтических препаратов». Москва, 2011. — С. 37.
5. Сардушкин М.В., Ускова С.А., Киенская К.И., Авраменко Г.В. Влияние стабилизатора на эффективность микрокапсулирования рифампицина // Научно-практическая конференция «Новые химико-фармацевтические технологии». Москва, 2012. — С. 225.
6. Сардушкин М.В., Киенская К.И., Авраменко Г.В. Получение микрокапсулированных форм рифампицина // Пятая Всероссийская конференция (с международным участием) «Химия поверхности и нанотехнология». Санкт-Петербург – Хилово, 2012. — С. 263.
7. Сардушкин М.В., Киенская К.И., Авраменко Г.В., Инкапсулирование рифампицина при помощи аэрозоля ОТ (АОТ) и поливинилового спирта // III Всероссийской молодёжной конференции с элементами научной школы «Функциональные наноматериалы и высокочистые вещества». Москва, 2012. — С. 513.