

УДК 619:615

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2022.3.77

ТЕСТИРОВАНИЕ СПОСОБОВ НАНЕСЕНИЯ БИОСТИМУЛЯТОРА ИЗ ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА ОСНОВУ ИЗ ПЛЕНКООБРАЗУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Шулунова А.Н. -к. б. н., доцент, Федота Н.В. -к. б. н., доцент, Квочко А.Н. -д. б. н., профессор, профессор РАН, Горохова М.М. студент
ФГБОУ ВО "Ставропольский государственный аграрный университет" Ставрополь

Ключевые слова: биостимулятор, глазные лекарственные пленки, пленкообразующие вещества, роговица, глазное яблоко, кератопатии, кератит. **Keywords:** biostimulator, eye medicinal films, film-forming substances, cornea, eyeball, keratopathy, keratitis.



РЕФЕРАТ

Важным этапом в изготовлении глазных лекарственных пленок является способ нанесения активного вещества на основу из пленкообразователя. В результате анализа имеющихся методик необходимо подобрать такой метод, при котором пролонгированное действие лекарственных веществ останется прежним, а молекулярная структура активного компонента не изменится. Ряд исследователей предлагает добавлять активный компонент в пленкообразователь непосредственно перед изготовлением пленок. Некоторые разработчики наносят действующие вещества на уже готовую основу. Исходя из вышесказанного нами была поставлена цель – провести тестирование способов нанесения биостимулятора из ткани мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра на основу из пленкообразующих веществ. В качестве лабораторных моделей для тестирования способов нанесения активного вещества на пленкообразующую основу нами были выбраны поливиниловый спирт в соотношении 1/15 с дистиллированной водой и желатин в соотношении с дистиллированной водой 1/7. Для подготовки активного вещества к его внесению в пленкообразователь, в биостимулятор из ткани головного мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра микропипеткой добавляли раствора NaCl и аккуратно, но тщательно перемешивали. Для определения скорости растворения, полученных в результате эксперимента глазных лекарственных пленок, полученные образцы помещали на поверхность роговицы лабораторных животных. В качестве подопытных животных были выбраны 10 кроликов породы великан и две беспородные собаки. В результате исследования нами было установлено, что предпочтительным способом нанесения биостимулятора из ткани головного мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра на основу из пленкообразующих веществ (поливиниловый спирт и желатин) является внесение действующего вещества в пленкообразователь непосредственно перед изготовлением пленок. Формы на основе желатина полностью растворились в глазах у подопытных за 45 минут, из поливинилового спирта – за 95 минут.

ВВЕДЕНИЕ

При изготовлении глазных лекарственных пленок очень важно уделить должное внимание способу нанесения действующего вещества на основу из пленкообразователя. Необходимо помнить, что основным положительным эффектом при применении глазных лекарственных пленок в терапии заболеваний глаз является пролонгированное действие лекарственных веществ в пораженном органе. Именно это качество глазных лекарственных пленок помогает им существенно выделяться среди аналогов (глазные капли, мази, суспензии). Поэтому способ нанесения действующих веществ не должен влиять на молекулярную структуру активного компонента и соответствовать технологическим критериям [4, 5, 6, 9].

Ряд исследователей предлагает добавлять действующее вещество в пленкообразователь непосредственно перед изготовлением пленок [1, 2, 7, 10]. Такой способ очень удобен и легок в исполнении, однако стоит учитывать температуру плавления пленкообразователя. Поливиниловый спирт плавится при температуре $+80...+90^{\circ}\text{C}$, а желатин – $+65...+75^{\circ}\text{C}$. Поэтому при добавлении активного вещества, в состав которого входит белок, температура пленкообразователя должна быть не выше $+39...+40^{\circ}\text{C}$, чтобы не допустить денатурацию.

Габдрахманова А. Ф. и соавторы (2020) рекомендуют помещать поливиниловый спирт в герметично закрывающуюся емкость и заливать заранее приготовленным водным раствором активного вещества. Ромащенко А.Д. и соавторы (1996) предлагают наносить на основу из пленкообразователя действующие вещества послойно, чередуя их между собой [3, 8].

Исходя из вышесказанного нами была поставлена цель – провести тестирование способов нанесения биостимулятора из ткани мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра на основу из пленкообразующих веществ.

При проведении исследования нами

были обозначены следующие задачи: 1. Выбор подходящих по технологическим характеристикам способов нанесения активного вещества на основу из пленкообразователя (поливиниловый спирт и желатин). 2. Тестирование способов нанесения биостимулятора из ткани головного мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра на основу из пленкообразующих веществ (поливиниловый спирт и желатин). 3. Определение скорости растворения полученной глазной лекарственной пленки в конъюнктивальном мешке у животного.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили в научно-диагностическом и лечебном ветеринарном центре и на кафедре физиологии, хирургии и акушерства ФГБОУ ВО "Ставропольский государственный аграрный университет". Работа проведена при финансировании "Фонда содействия инновациям" в 2021 году после победы в конкурсе "Инновационные идеи молодежи Ставропольского края - развитию экономике России".

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для подготовки к нанесению на пленкообразующую основу активного вещества в две чашки Петри поместили по 0,1 г биостимулятора из ткани головного мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра и микропипеткой добавили по 0,5 мл раствора NaCl и аккуратно, но тщательно перемешали (рис. 1).

Для тестирования нанесения активного вещества на основу из пленкообразователя мы приготовили в двух пробирках раствор поливинилового спирта и дистиллированной воды в соотношении 1/15 и раствор желатина и дистиллированной воды в соотношении 1/7, предварительно термостатировав их на твердотельном термостате (Biosan BioTDB-100) при температуре $80-85^{\circ}\text{C}$ и 70°C . Из полученных пленкообразующих веществ микропипеткой (Thermo Scientific) изготовили основу для глазных лекарственных пленок [4].

Затем готовую основу для глазной лекарственной пленки из поливинилового



Рис. 1. Подготовка биостимулятора из ткани головного мозга крупного рогатого скота

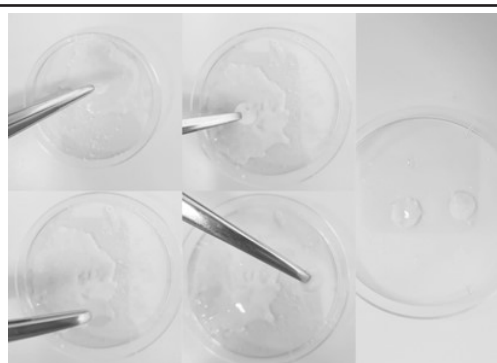


Рис. 2. Нанесение действующего вещества на пленку

спирта захватывали пинцетом с ленты и вносили в подготовленный раствор действующего вещества (рис. 2).

Для тестирования второго способа внесения действующего вещества в пленкообразующее вещество мы подготовили в двух пробирках раствор поливинилового спирта и дистиллированной воды в соотношении 1/15 и раствор желатина и дистиллированной воды в соотношении 1/7, предварительно термостатировав их на твердотельном термостате при температуре $+80...+85^{\circ}\text{C}$ и $+70^{\circ}\text{C}$ соответственно [4].

Для подготовки активного вещества к внесению в раствор пленкообразующего вещества в две пробирки поместили по 0,1 г биостимулятора из ткани головного мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра и микропипеткой добавили по 0,3 мл раствора NaCl и также аккуратно, но тщательно перемешали. Затем раствор поливинилового спирта и желатина остудили до $+39^{\circ}\text{C}$.

После этого микропипеткой в одну пробирку с подготовленным раствором биостимулятора внесли 1,3 мл раствора поливинилового спирта, перемешали и микропипеткой сделали пленки и поставили их для сушки на твердотельный термостат при температуре $+39^{\circ}\text{C}$ (рис. 3).

Для определения скорости растворения полученной глазной лекарственной пленки помещали полученные образцы на поверхность роговицы лабораторных жи-

вотных. В качестве подопытных животных были выбраны 10 кроликов породы великан и две беспородные собаки. Пред началом эксперимента животному фиксировали голову и, придерживая верхнее и нижнее веко пальцами, пинцетом размещали глазные лекарственные пленки на основе желатина и поливинилового спирта в центральной части роговицы. Лекарственные формы на основе желатина заложили в конъюнктивальный мешок пяти кроликам и одной собаке, на основе поливинилового спирта – пяти кроликам и одной собаке соответственно (рис. 4).

При выборе способов нанесения действующего вещества на основу из пленкообразователя мы пришли к выводу, что по технологическим характеристикам наиболее доступными являются два способа добавления активного вещества: непосредственно в пленкообразователь (поливиниловый спирт и желатин) до формирования глазной лекарственной пленки и послойное нанесение действующего вещества на основу из пленкообразователя (поливиниловый спирт и желатин).

Основа глазной лекарственной пленки из поливинилового спирта моментально потеряла правильную округлую форму, стала мутной, мягкой и прилипла к пинцету. Основа глазной лекарственной пленки из желатина после внесения в подготовленный раствор биостимулятора также потеряла форму, стала мутной и

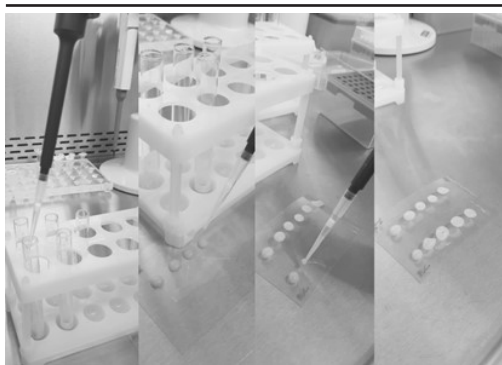


Рис. 3. Внесение биостимулятора из ткани головного мозга крупного рогатого скота в растворы пленкообразующих веществ

мягкой. Обе основы глазных лекарственных пленок при таком способе нанесения на них активного вещества потеряли форму и свои физические качества. Дальнейшее их использование при лечении поражения переднего отрезка глаза не представляется возможным.

В ходе тестирования второго способа внесения активного вещества в раствор пленкообразователя оказался наиболее эффективным. Пленки, основой которых являлся желатин, не растеклись, получились правильной формы, не мутные, без разрывов, трещин и эластичные. Однако стоит отметить, что трудности возникали при наборе получившегося раствора в микропипетку, так как желатин быстро застывает и на его поверхности образуется пленка. Поэтому пробирка с раствором желатина и активного вещества постоянно должна находиться в твердотельном термостате. Пленки на основе из раствора поливинилового спирта получились правильной формы, без разрывов и трещин, эластичные, но желтого цвета и слегка мутные.

После помещения в конъюнктивальный мешок глазные лекарственные пленки на основе желатина через пять минут начали терять форму и через 20 минут после начала эксперимента оказались в области третьего века. Стоит отметить, что у всех пяти кроликов и одной собаки данные лекарственные формы полностью



Рис. 4. Помещение глазных лекарственных пленок на поверхность роговицы подопытных животных

растворились за 45 минут, аллергических реакций, раздражения и признаков воспаления выявлено не было.

Глазные лекарственные пленки на основе поливинилового спирта после помещения в конъюнктивальный мешок не потеряли форму, но через 20 минут сместились в область третьего века. У всех лабораторных животных, участвующих в эксперименте, лекарственные формы на основе поливинилового спирта полностью растворились через 95 минут. Аллергических и воспалительных реакций, а также признаков раздражения выявлено не было.

ВЫВОДЫ

1. Оптимальными способами нанесения активного компонента на основу из пленкообразователя (поливиниловый спирт и желатин) явились: добавление действующего вещества в пленкообразователь непосредственно перед изготовлением пленок и помещение готовой основы из пленкообразователя в заранее приготовленный раствор активного вещества.

2. Предпочтительным способом нанесения биостимулятора из ткани головного мозга крупного рогатого скота с добавлением наночастиц серебра на основу из пленкообразующих веществ (поливиниловый спирт и желатин) является внесение действующего вещества в пленкообразователь непосредственно перед изготовлением пленок.

3. Глазные лекарственные пленки на основе желатина через пять минут после начала эксперимента начали терять форму, а через 20 минут пленки из обоих пленкообразователей оказались в области третьего века. Стоит отметить, что аллергических и воспалительных реакций, а также признаков раздражения у всех принимающих участие в эксперименте животных выявлено не было. Формы на основе желатина полностью растворились в глазах у подопытных за 45 минут, из поливинилового спирта – за 95 минут.

TESTING METHODS FOR APPLICATION OF A BIOSTIMULATOR FROM CATTLE BRAIN TISSUE ON THE BASIS FROM FILM-FORMING SUBSTANCES

Shulunova A.N. Candidate of Biological Sciences, assistant professor, Fedota N.V. Candidate of Veterinary Sciences, assistant professor, Kvochko A.N. Doctor of Biological Sciences, professor, Gorohova student M.M. Stavropol State Agrarian University

ABSTRACT

An important step in the manufacture of ophthalmic medicinal films is the method of applying the active substance to the base of the film former. As a result of the analysis of available methods, it is necessary to choose a method in which the prolonged action of medicinal substances remains the same, and the molecular structure of the active component does not change. A number of researchers suggest adding an active component to a film former immediately before film production. Some developers apply active ingredients to a ready-made base. Based on the foregoing, we set a goal - to test methods for applying a biostimulator from the brain tissue of cattle with the addition of silver nanoparticles to a base of film-forming substances. As laboratory models for testing the methods of applying the active substance to the film-forming base, we chose polyvinyl alcohol in a ratio of 1/15 with distilled water and gelatin in a ratio of 1/7 with distilled water. To prepare the active substance for its introduction into the film-forming agent, NaCl solution was added with a micropipette to the biostimulator from the brain tissue of cattle with the addition of silver nanoparti-

cles and gently but thoroughly mixed. To determine the dissolution rate of the eye medicinal films obtained as a result of the experiment, the obtained samples were placed on the surface of the cornea of laboratory animals. 10 giant rabbits and two outbred dogs were chosen as experimental animals. As a result of the study, we found that the preferred method for applying a biostimulator from the brain tissue of cattle with the addition of silver nanoparticles to the base of film-forming substances (polyvinyl alcohol and gelatin) is the introduction of the active substance into the film-forming agent immediately before the production of films. Forms based on gelatin completely dissolved in the eyes of the subjects in 45 minutes, from polyvinyl alcohol - in 95 minutes.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Азнабаев М.Т., Азаматова Г.А. Глазные лекарственные пленки с левофлоксацином в профилактике и лечении экспериментального бактериального эндофтальмита // Вестник Оренбургского государственного университета. 2011. № 14 (133). С. 24-26.
2. Васильева Е.В., Стекольников А.А. Прогрессирующая атрофия сетчатки у русских той-терьеров / Е.В. Васильева, А.А. Стекольников // Ветеринария. 2019. № 3. С. 50-52.
3. Габдрахманова А.Ф., Курбанов С.А., Мещерякова С.А., Кильдияров Ф.Х. Глазная лекарственная пленка с метилурацилом, обладающая ранозаживляющим эффектом. Патент на изобретение 2740924 С1, 21.01.2021. Заявка № 2020119996 от 09.06.2020.
4. Горохова М.М. Лабораторные испытания пленкообразующих веществ для изготовления глазных лекарственных пленок / М.М. Горохова, А.Н. Шулунова, Н.В. Федота, А.Н. Квочко // Международный вестник ветеринарии. 2022. №2. С. 53-58.
5. Горохова М.М. Этиология и патогенез язвы роговицы у животных // Сборник студенческих научных трудов по материалам 86-й научно-практической конференции "Молодые аграрии Ставрополя". Ставрополь, 2021. С. 48-51.
6. Горохова М.М., Квочко А.Н., Шулунова

А.Н., Федота Н.В. Обзор лекарственных препаратов для лечения конъюнктивитов у собак и кошек // Тенденции развития ветеринарной хирургии. материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ. Витебск, 2021. С. 35-37.

7.Прудникова Е.В. Офтальмология. Специальные методы исследования у животных / Е.В. Прудникова, А.А. Стекольников, М.А. Нарусбаева, Е.В. Титова // Методические указания. Санкт-Петербург, 2021. 31 с.

8.Ромашенко А.Д. Глазная лекарственная пленка и способ ее изготовления. Патент

на изобретение RU 2056819 C1, 27.03.1996. Заявка № 92001988/14 от 22.10.1992.

9.Федота Н.В., Шулунова А.Н., Квочко А.Н. Анализ распространенности заболеваний органа зрения у собак и кошек в г. Ставрополе // Тенденции развития ветеринарной хирургии. материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 95-летию кафедры общей, частной и оперативной хирургии УО ВГАВМ. Витебск, 2021. С. 136-137.

10.Шикова Ю.В., Лиходед В.А., Браженко А.В., Ишмакова З.Р., Гирфанов И.Ф. Разработка состава и технологии глазных лекарственных пленок с экстрактом алоэ // Фармация и фармакология. 2016. Т. 4. № 4. С. 48-54.