Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**

#### **НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

###### Хохленкова Наталя Вікторівна

УДК 615.454.1:638.135:616-002.3:616-001.4

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ

МАЗІ “ПРОЛІДОКСИД”

**15.00.01 – Технологія ліків та організація фармацевтичної справи**

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

**Харків – 2004**

**Дисертацією є рукопис.**

**Робота виконана на кафедрі аптечної технології ліків Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров’я України**

Науковий керівник: **доктор фармацевтичних наук, професор**

 ЯРНИХ ТЕТЯНА ГРИГОРІВНА,

 **Національний фармацевтичний університет,**

 ***завідувачка кафедри технології ліків***

Офіційні опоненти: **доктор фармацевтичних наук, професор**

ДМИТРІЄВСЬКИЙ ДМИТРО ІВАНОВИЧ,

**Національний фармацевтичний університет,**

***завідувач кафедри заводської технології ліків***

**доктор фармацевтичних наук, доцент**

Гудзенко Олександр Павлович

**Луганське обласне виробниче підприємство „Фармація”**

***Генеральний директор***

Провідна установа: **Київська медична академія післядипломної освіти**

**ім. П.Л. Шупика МОЗ України,**

**кафедра промислової фармації**

**Захист відбудеться “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2004 року о \_\_\_\_\_\_\_ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.**

**З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул.. Блюхера, 4).**

**Автореферат розісланий “\_\_\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2004 р.**

**Вчений секретар**

**спеціалізованої вченої ради,**

д-р біол. наук, проф. Малоштан Л.М.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

***Актуальність теми.*** Створення лікарських препаратів із широким спектром антимікробної дії, які б дозволяли ефективно здійснювати диференційоване місцеве лікування ран залежно від стадії ранового процесу є важливим завданням фармації.

Мазі це найдоцільніша лікарська форма для місцевого лікування ран, тому що дозволяє вводити до складу лікарського засобу різні за природою та властивостями гідрофільні та гідрофобні біологічно-активні речовини, регулювати за рахунок мазевих основ їх вивільнення та біодоступність, впливаючи на ефективність і безпечність лікарських препаратів.

Застосуванню антибактеріальних мазей на гідрофільних основах у місцевій медикаментозній терапії гнійних ран приділяється особливе місце. До складу таких мазей як діючі речовини входять, переважно, препарати синтетичного походження. Головний недолік цих препаратів, як лікарських засобів для місцевого лікування ран і опіків, пов'язаний з виникненням у процесі лікування резистентності до антибіотиків і появою великої кількості госпітальних штамів бактерій. В даному аспекті, актуальним є проведення пошуку і створення нових лікарських препаратів на основі субстанцій природного походження, що мають достатню антимікробну і протизапальну дію з мінімальними побічними проявами.

Неослабний інтерес для практичної медицини представляють лікарські препарати на основі продуктів бджільництва, зокрема – прополісу. Це пов'язане з тим, що при наявності високої терапевтичної активності препарати прополісу практично не проявляють побічної дії на організм, мають широкий спектр антимікробної активності і не викликають появи стійких штамів мікроорганізмів.

Вітчизняною промисловістю випускається біологічно активна субстанція прополісу – фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП), що має високу антимікробну, протизапальну та репаративну активність. З огляду на вищевикладене, створення м'якої лікарської форми з ФГПП, що відповідає всім сучасним вимогам щодо препаратів для місцевого лікування ран у першій фазі ранового процесу є актуальним.

***Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами*.** Дисертаційна робота виконана відповідно до планів науково-дослідних робіт НФаУ (з 1998 до 2002 р. – „Створення нових лікарських препаратів на основі рослинної та природної сировини, зокрема продуктів бджільництва, для дорослих та дітей”, № державної реєстрації 0198U007008, з 01.01.2003 р. – „Створення складу і технології біологічно-активних речовин і лікарських засобів природного походження (крім рослинних)”, № державної реєстрації 0103U000477) та проблемної комісії «Фармація» МОЗ та АМН України.

***Мета і задачі дослідження.*** Метою даної роботи є розробка науково обґрунтованого складу, технології та методик контролю якості мазі з ФГПП, що має ранозагоючу, антимікробну, протизапальну та місцевоанестезуючу дію для застосування в терапії ран у першій фазі ранового процесу, запальних інфільтратів, опіків легкого і середнього ступеня, пролежнів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні задачі:

* проаналізувати та узагальнити сучасні літературні дані щодо терапії гнійних ран і створення лікарських препаратів для їх лікування у першій фазі ранового процесу;
* теоретично й експериментально обґрунтувати оптимальний склад мазі з ФГПП на основі комплексу технологічних, фізико-хімічних, мікробіологічних та біологічних досліджень;
* розробити й обґрунтувати технологію мазі з ФГПП;
* вивчити реологічні та інші фізико-хімічні властивості мазі;
* провести дослідження щодо визначення основних показників якості і розробки методик аналізу мазі під умовною назвою «Пролідоксид», обґрунтувати вид упаковки, умови зберігання і терміни придатності препарату, розробити проект аналітичної нормативної документації (АНД) на мазь;
* вивчити специфічну активність та нешкідливість розробленого лікарського засобу з ФГПП у формі мазі;
* провести всебічні біофармацевтичні дослідження розробленої мазі (in vitro, in vivo);
* на підставі отриманих результатів розробити проект технологічного регламенту та апробувати технологію одержання мазі «Пролідоксид» в умовах виробництва.

*Об'єкт дослідження* **–** мазь «Пролідоксид» з концентрацією ФГПП - 5%.

*Предмет дослідження* **–** розробка науково обґрунтованого складу, технології і стандартизація комбінованої мазі «Пролідоксид» для застосування в терапії ран у першій фазі ранового процесу, запальних інфільтратів, опіків легкого і середнього ступеня, пролежнів.

*Методи дослідження.* При вирішенні поставлених у роботі задач були застосовані загальноприйняті органолептичні, технологічні, фізико-хімічні (потенціометричне визначення рН, визначення осмотичної активності, реологічних характеристик, абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій області), хроматографічні (тонкошарова хроматографія, газова хроматографія, рідинна хроматографія), мікробіологічні (обґрунтування концентрації діючої речовини (ФГПП), вивчення ефективності консервуючої дії препарату), біофармацевтичні (вивчення вивільнення діючих речовин методом in vitro та фармакокінетики мазі «Пролідоксид»), біологічні (вивчення місцево анестезуючої активності експериментальних зразків мазі, специфічної активності препарату, тощо) методи досліджень, що дозволяють об'єктивно і повно оцінювати якісні і кількісні показники розробленого лікарського засобу на підставі експериментально одержаних та статистично оброблених результатів*.*

***Наукова новизна одержаних результатів***. Вперше теоретично й експериментально обґрунтовано склад, раціональну технологію оригінального м'якого лікарського засобу, що містить вітчизняну субстанцію природного походження – ФГПП, з вираженою ранозагоючою, антимікробною, протизапальною та місцевоанестезуючою дією, призначеного для застосування в терапії ран у першій фазі ранового процесу, запальних інфільтратів, опіків легкого і середнього ступеня, пролежнів.

Вивчено фізико-хімічні, технологічні, мікробіологічні, біофармацевтичні властивості запропонованої мазі. Розроблено методики якісного та кількісного аналізу, визначено умови зберігання та термін придатності препарату.

Вперше проведено фармакокінетичні дослідження мазі «Пролідоксид» по вивченню ступеня і кінетики трансдермального всмоктування ФГПП.

Доклінічними дослідженнями доведено високу специфічну активність мазі з ФГПП, вивчено гостру і хронічну токсичність препарату.

За результатами досліджень отримано деклараційний патент України на винахід № 60849 А від 15.10.03 р.(Бюл. № 10).

***Практичне значення одержаних результатів*.** Створено і запропоновано для практичної медицини новий лікарський засіб – мазь «Пролідоксид», призначений для застосування в комплексній терапії ран у першій фазі ранового процесу, запальних інфільтратів, опіків легкого і середнього ступеня, пролежнів.

Розроблено та апробовано в умовах промислового виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»» проект аналітичної нормативної документації (акт впровадження від 09.12.2003 р.).

Розроблено проект технологічного регламенту на виробництво мазі «Пролідоксид». Технологію одержання препарату апробовано в промислових умовах ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»» (акт впровадження від 09.12.2003 р.).

Отримано дозвіл на проведення першої фази клінічних випробувань мазі (протокол засідання науково-експертної ради Державного Фармакологічного центру МОЗ України № 6 від 25.06.1998 р., база проведення досліджень – Інститут дерматології і венерології АМН України та Інститут травматології та ортопедії).

Підготовлено і видано інформаційний лист «Технологія і контроль якості мазі «Пролідоксид» в умовах аптек» (№27 від 19.02.2002 р.), який впроваджено до роботи аптек.

Фрагменти роботи впроваджено до навчального процесу кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 17.02.2004 р.), кафедр технології ліків Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького (акт впровадження від 02.03.2004 р.), Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від 12.03.2004р.) та кафедри промислової фармації Київської медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України (акт впровадження від 01.04.2004 р.).

***Особистий внесок здобувача*.** Особисто здобувачем проведено аналіз і узагальнення літературних даних з досліджуваної проблеми. Проведено експериментальні дослідження з вивчення фізико-хімічних, структурно-механічних і технологічних властивостей модельних зразків мазей. Теоретично обґрунтовано і розроблено склад та технологію нової лікарської форми з ФГПП – мазі «Пролідоксид». Вивчено фізико-хімічні властивості і розроблено методики контролю якості мазі «Пролідоксид». Узагальнено, систематизовано і статистично оброблено результати експериментальних досліджень, сформульовано висновки. Розроблено проекти АНД і технологічного регламенту на виробництво мазі «Пролідоксид».

***Апробація результатів дисертації***. Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на Всеукраїнській науково-практичній конференції “Вчені України – вітчизняній фармації” (Харків, 2000); III Міжнароднїй науково-практичній конференції “Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія” (Харків, 2003); XL Naukowa konferencja pszczelarska (Польща, Pulawy, 2003), International Scientific Conference “Pharmacy in contemporary society” (Литва, Kaunas, 2003), науково-практичній конференції з міжнародною участю „Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок” (Тернопіль, 2004).

***Публікації.*** За матеріалами дисертації опубліковано 13 наукових праць, у тому числі 7 статей у фахових наукових виданнях, 1 інформаційний лист і 4 тез доповідей. Отримано 1 патент на винахід.

***Обсяг і структура дисертації***. Дисертаційна робота викладена на 137 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), матеріалу, присвяченому теоретичному обґрунтуванню складу препарату і загальної методології досліджень (розділ 2), експериментальної частини (розділи 3-6), загальних висновків, списку використаних джерел і додатків. Робота ілюстрована 15 таблицями і 24 рисунками. Бібліографія включає 178 джерел літератури, у тому числі 46 іноземних авторів.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

***Розробка складу та технології мазі з фенольним гідрофобним препаратом прополісу***

З метою досягнення фармакотерапевтичного ефекту як основну діючу речовину в мазі використано вітчизняну субстанцію природного походження – фенольний гідрофобний препарат прополісу (ФГПП), що має антимікробну, протизапальну, репаративну, капілярозміцнюючу дію.

Враховуючи медико-біологічні вимоги, щодо препаратів для застосування в терапії ран у першій фазі ранового процесу, як основу-носій нами обрана композиція, що являє собою сплав двох поліетиленоксидів (ПЕО) – ПЕО-400 і ПЕО-1500 у співвідношенні 80:20. Вибір основи також обумовлено її фізико-хімічними та дегідратуючими властивостями, а також розчинністю в ній діючих речовин.

Одним з факторів, здатним значно впливати на лікувальну дію препарату, є концентрація діючих речовин у лікарській формі. Оптимальну концентрацію ФГПП в мазі встановлювали за результатами мікробіологічного скрининга модельних зразків мазі з різним вмістом ФГПП від 1 до 10 % методом дифузії в агар засіяного різними штамами мікроорганізмів. Антимікробну активність оцінювали по зонах затримки росту мікроорганізмів.

Результати експерименту наведені в таблиці 1, з якої видно, що зі збільшенням концентрації ФГПП від 1% до 5% спостерігається різкий зріст зони інгібіції досліджуваних тест-культур. Подальше збільшення вмісту ФГПП у мазі не приводить до істотного збільшення антимікробної активності.

Таблиця 1

**Антимікробна активність модельних зразків мазей**

**на гідрофільній основі з різною концентрацією ФГПП**

|  |  |
| --- | --- |
| **Концентра-ція ФГПП, %** | **Діаметр зон інгібіції мікроорганізмів, мм** |
| Bac. cereusАТСС 10702  | Ps. аeruginosaATCC 9027 | Staph. аureusATCC 6538 Р |
| **1%** | 14,7±0,2 | 15,5±0,2 | 14,3±0,1 |
| **3%** | 17,2± 0,2 | 19,7±0,2 | 17,2±0,1 |
| **5%** | 19,3±0,2 | 23,9±0,2 | 19,1±0,1 |
| **8%** | 20,0±0,2 | 24,6±0,2 | 20,1±0,1 |
| **10%** | 20,2±0,2 | 24,8±0,2 | 20,2±0,1 |

Таким чином, результати вивчення антимікробної активності досліджуваних зразків показали, що найбільш оптимальна концентрація ФГПП у мазі складає 5%.

Серед головних задач місцевого лікування ран і опіків проблема пригнічення больового синдрому займає важливе місце. Порівняльний аналіз місцевоанестезуючих засобів дозволив нам використати лідокаїну гідрохлорид для включення до складу розроблювальної мазі. Тому наступним етапом наших досліджень був вибір оптимальної концентрації лідокаїну гідрохлориду в мазі. Ступінь місцевоанестезуючої активності модельних зразків мазі з концентрацією лідокаїну гідрохлориду від 1 до 15% оцінювали по тривалості і часу настання анестезії біологічним методом. Результати експерименту, що представлені в таблиці 2 показали, що всі зразки мазі виявляють місцевоанестезуючу активність.

З підвищенням концентрації лідокаїну гідрохлориду час настання анестезії скорочувався, а тривалість збільшувалася. Однак, підвищення вмісту лідокаїну гідрохлориду від 5 до 15 %, впливає на місцевоанестезуючий ефект незначно. На підставі цього раціональною концентрацією лідокаїну гідрохлориду в мазі є 5%.

Таблиця 2

**Вплив концентрації лідокаїну гідрохлориду на місцевоанестезуючу активність модельних зразків мазі**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Концентрація, %** | **Час настання анестезії, хв.** | **Тривалість анестезії, хв.** |
|  1 | 25 ±1,6 | 20 ±1,6 |
|  2 | 15 ±1,5 | 45 ±1,5 |
|  5 | 10 ±1,8 | 70 ±1,3 |
| 10 |  8 ±1,9 | 75 ±1,9 |
| 15 |  7 ±1,5 | 75 ±1,5 |

З метою запобігання зростанню мікробного забруднення в процесі зберігання або використання м'які лікарські засоби повинні мати ефективну консервуючу дію. Для вирішення питання про введення антимікробних консервантів до складу мазі наступним етапом наших досліджень було вивчення ефективної консервуючої дії мазі з 5% вмістом ФГПП та концентрацією лідокаїну гідрохлориду – 5%.

Для цього був використаний мікробіологічний метод, описаний у ДФУ, 1 вид. Мікробіологічні дослідження виконані разом зі співробітниками кафедри мікробіології НФаУ під керівництвом професора І.Л. Дикого. Критерієм оцінки ефективності консервуючої дії стало зниження числа життєздатних клітин мікроорганізмів у препараті за певний період часу після його контамінації.

Проведені експериментальні дослідження, що представлені в таблиці 3, показали, що в препараті після контамінації спостерігається швидка загибель бактерій. У вихідному висіві і при наступних висівах життєздатні клітин P. аeruginosa не були виявлені. Логарифм зниження числа життєздатних клітин S. aureus у вихідному висіві склав 1,0; через 2 доби – 2,18, і при наступних висівах життєздатні клітини S. aureus не були виявлені. Логарифм зниження числа життєздатних клітин C. albicans у вихідному висіві склав 0,43; через 28 діб – 1,49.

Логарифм зниження числа життєздатних клітин A. niger у вихідному висіві склав 0,39; через 28 діб – 1,37.

Таким чином, наявність у складі досліджуваної мазі ФГПП, а також ПЕО-400 забезпечило необхідну антимікробну консервуючу дію, що дозволило не включати до складу мазі додатковий антимікробний консервант.

Таблиця 3

**Ефективність консервуючої дії мазі з 5% ФГПП та 5% лідокаїну гідрохлориду**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Експози-ція** | **Вимоги ДФУ** | **Число мікроорганізмів, КУО/мл** |
| **Критерій А** | **Критерій В** |
| Число бактерій КУО/мл | Число грибівКУО/мл | Число бактерій КУО/мл | Число грибів КУО/мл | S. aureusATCC 6538 | P. aeru-ginosa ATCC 9027 | C. аlbi-cans АТСC 885-653 | A. niger АТСС 16404 |
| Вихідне на-вантаження | 1×106 | 1×105 | 1×106 | 1×105 | 1,56×106 | 1,35×106 | 3,19×105 | 2,57×105 |
| Вихідний висів | – | – | – | – | 1,54×105 | НВ | 1,19×105 | 1,04×105 |
| 2 доби | 1×104 | – | – | – | 1,03×104 | НВ | 6,50×104 | 5,20х104 |
| 7 діб | 1×103 | – | – | – | НВ | НВ | 3,70×104 | 4,85×104 |
| 14 діб | – | 1×103 | 1×103 | 1×104 | НВ | НВ | 3,04×104 | 1,80×104 |
| 28 діб | НЗ | НЗ | НЗ | НЗ | НВ | НВ | 1,03×104 | 1,10×104 |

Примітки:  НВ – життєздатні клітини тест-мікроорганізмів не виявлені;

 НЗ – не спостерігається збільшення числа життєздатних клітин тест-мікроорга-нізмів.

Для оцінки реологічних параметрів модельних зразків мазей вимірювали граничну напругу зсуву (τr) при різних швидкостях зсуву (Dr) і будували реограми плину. За результатами досліджень встановлено, що реологічні характеристики мазі із вмістом ФГПП – 5% та лідокаїну гідрохлориду – 5% на поліетиленоксидній основі входять у межі реологічного оптимуму для гідрофільних мазей. Мазь має в’язко-пластичні та тиксотропні властивості.

Температурний режим одержання, умови зберігання мазі також впливають на її консистентні властивості. Тому для вивчення впливу температури на реологічні властивості мазі проводили виміри напруги зсуву при температурах від 20 °С до 40 °С. Ступінь температурного впливу оцінювали по побудованих реограмах плину, що представлені на рис. 1.

Як видно з рис. 1, з підвищенням температури зменшується ефективна в'язкість мазі. Крім зниження ефективної в'язкості підвищення температури призводить до зменшення відстані між висхідними і спадними кривими плину, тобто до зменшення „петлі гістерезісу”, що свідчить про зменшення тиксотропних властивостей і більш сильне руйнування структури.

0

20

40

60

80

100

120

140

160

0

100

200

300

400

500

600

700

5

4

3

2

1

**Dr, c-1**

**τr,Па**

Рис. 1 Реограми плину мазі із вмістом 5% ФГПП та 5% лідокаїну гідрохлориду при температурах: 1 – 40 °С, 2 – 35°С ; 3 – 30 °С; 4 – 25 °С; 5 – 20 °С.

Одним з важливих факторів, що визначає специфічну активність мазі для лікування гнійних ран у першій фазі ранового процесу є осмотична активність препарату. Осмотичні властивості розроблювальної мазі вивчали методом діалізу через напівпроникну мембрану. Про ступінь дегідратуючої дії робили висновки за результатами визначення маси поглинутої води через рівні проміжки часу. Як препарат порівняння використовували мазь «Левосин» на гідрофільній основі. Отримані дані наведені на рис. 2.

0

50

100

150

200

250

300

350

400

0

0,5

1

2

3

4

5

6

24

**Час, год**

**∆m H2O, %**

Ряд 1

Ряд 2

Рис. 2. Кінетика абсорбції води маззю «Левосин» (ряд 1) і маззю з 5% ФГПП та 5% лідокаїну гідрохлориду (ряд 2)

Загальна маса абсорбованої води досліджуваною маззю і маззю «Левосин» складає 340 % і 360 % відповідно. Це дозволило зробити висновок, що обраний склад мазі забезпечує рівень осмотичної дії, необхідний для мазей, що застосовуються в терапії ран у першій фазі ранового процесу.

Наступним етапом роботи було вивчення кінетики вивільнення ФГПП із поліетиленоксидної основи. Ступінь дифузії ФГПП із досліджуваних зразків мазі визначали в дослідах in vitro методом дифузії в агаровий гель. Кінетику вивільнення оцінювали за діаметром забарвленої зони, що утворюється при взаємодії фенольних сполук ФГПП із розчином заліза (III) хлориду, введеного в агаровий гель. Препаратом порівняння була мазь «Пропоцеум». Результати досліджень представлені на рис. 3.

 23 24

Рис. 3. Залежність діаметру забарвленої зони від часу:

ряд 1 – мазь з 5% ФГПП на гідрофільній основі;

ряд 2 – мазь «Пропоцеум» на емульсійній основі.

Як видно з отриманих даних, вивільнення фенольних сполук ФГПП з гідрофільної основи у 1,5 рази перевищує вивільнення фенольних сполук з мазі «Пропоцеум» на емульсійній основі.

Таким чином, на підставі результатів проведених фізико-хімічних, технологічних, мікробіологічних і біологічних досліджень обґрунтовано оптимальний склад мазі на гідрофільній основі під умовною назвою «Пролідоксид» (г):

|  |  |
| --- | --- |
| Фенольного гідрофобного препарату прополісу | – 5,0  |
| Лідокаїну гідрохлориду  | – 5,0  |
| Поліетиленоксиду – 400 | – 72,0  |
| Поліетиленоксиду – 1500 | – 18,0  |

По класифікації м'яких лікарських засобів, що наведена в ДФУ, 1 вид., створена лікарська форма є гідрофільною маззю.

При розробці раціональної технології препарату проаналізовано вплив на якість мазі наступних факторів:

* послідовності введення діючих речовин;
* температурного режиму;
* часу перемішування;
* частоти обертання мішалки реактора та інших параметрів.

У ході розробки технології мазі «Пролідоксид» у промислових умовах були проаналізовані всі аспекти її успішного виробництва: забезпечення якості препарату, виконання принципів GMP, захист персоналу від впливу небезпечних і шкідливих факторів, захист навколишнього природного середовища. Технологічна схема виробництва представлена на рис. 4.

Нами були проведені експериментальні дослідження з вивчення показників пожежовибухонебезпеки компонентів мазі (температура самозапалювання, температура спалаху, максимальний тиск вибуху). Встановлено, що всі інгредієнти мазі є горючими речовинами, тому нами були розроблені та введені в технологічний регламент заходи по безпечному веденню технологічного процесу.

***Розробка методик аналізу і вивчення властивостей мазі «Пролідоксид»***

З метою стандартизації мазі «Пролідоксид» нами вивчено її органолептичні, фізико-хімічні властивості, обґрунтовано вибір оптимального комплексу показників контролю якості, розроблено методики аналізу.

Для ідентифікації ФГПП у мазі використано відомі кольорові реакції та розроблену нами методику визначення фенольних сполук методом тонкошарової хроматографії.

Запропоновано ідентифікацію лідокаїну гідрохлориду, як і його кількісне визначення в мазі «Пролідоксид», проводити методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області: спектр поглинання водного розчину лідокаїну гідрохлориду в області від 250 до 300 нм має максимум поглинання при довжині хвилі (262+2) нм.

Для кількісного визначення фенольних сполук ФГПП у мазі також використано метод абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області. Спектр поглинання спиртового розчину препарату в області від 250 до 300 нм має максимум поглинання при довжині хвилі (290+2) нм (рис. 5). Відносна помилка складає +1,3 %

Для кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду в мазі запропоновано метод газової хроматографії. Відносна помилка визначення складає +1 %.

**Виготовлення мазі**

**“Пролідоксид”**

## Стадія 1

Виготовлення основи мазі

Реактор-гомогенізатор

## Стадія 2

Виготовлення мазі

Реактор-гомогенізатор

ПЕО-1500

ПЕО-400

ФГПП

Лідокаїну г/хл

Температура, режим роботи мішалки, час змішування, однорідність, рН

Температурний режим, повнота розплавлення, режим роботи мішалки

## Стадія 3

Охолодження мазі

Реактор-гомогенізатор

Температура, режим роботи мішалки, час охолодження

## Стадія 4

Вивантаження

Повнота вивантаження, контроль проміжного продукту

# Пакування мазі

***Контроль у процесі виробництва***

*Сировина, проміжні продукти і матеріали*

## Стадія 5

Фасування мазі в туби

Тубонаповнювальний автомат

Нерозфасована мазь зі стадії 4

Точність дозування, продуктивність автомату, правильність відбитку (но-мер серії, термін придат-ності)

## Стадія 6

Пакування туб у пачки

## Стадія 7

Пакування пачок у коробки

# Готова продукція

Листки-вкладиші, пачки, туби з маззю

Комплектність, правиль-ність друку (номер серії, термін придатності)

Кількість пачок у коробці, правильність друку

Пачки з тубами, коробки, групові етикетки

Контроль готової продукції

Рис.4. Блок - схема виробництва мазі «Пролідоксид»

3

1

2

0.8

**Оптична густина, D**

0.6

0.4

0.2

0

350

300

250

450

400

**Довжина хвилі, нм**

Рис. 5 Спектри поглинання:

1 – спиртового розчину мазі «Пролідоксид»;

2 – спиртового розчину ФГПП;

3 – розчину стандартного зразку калію біхромату.

Для оцінки споживчих властивостей мазі «Пролідоксид» (здатність до намазування) вивчено її реологічні характеристики при швидкостях зсуву 125 – 275 с-1 і температурі 34 ºС (температура шкіряного покрову). Обмежені реограми плину мазі представлені на рис. 6.

0

50

100

150

200

250

300

350

0

50

100

150

200

250

300

**τ**

**r**

**, Па**

**Dr, с-1**

Рис. 6. Обмежена реограма плину мазі «Пролідоксид» при температурі 34 ºС (восьмикутник – зона реологічного оптимуму намазування)

Як видно з рис. 6, розроблений препарат має задовільну здатність до намазування, про що свідчить розташування кривої плину в межах реологічного оптимуму намазування.

На підставі проведених досліджень розроблено проект АНД на мазь «Пролідоксид». Показники якості мазі „Пролідоксид” та їх допустимі межі наведено в таблиці 4.

Встановлено стабільність мазі “Пролідоксид” у процесі зберігання в тубах алюмінієвих при температурі 8–15 °С (холодне або прохолодне місце) протягом 2 років 3 місяців.

Таблиця 4

**Показники якості мазі „Пролідоксид” та їх допустимі межі**

|  |  |
| --- | --- |
| **Назва показника якості** | **Характеристика та допустимі межі показника якості** |
| **Опис** | Мазь темно-коричневого кольору, однорідної консистенції, зі специфічним запахом.  |
| **Ідентифікація:**фенольні сполуки ФГПП,**лідокаїну гідрохлорид,****хлорид-іон,****поліетиленоксиди** | **А** Реакція з 5 % розчином заліза (ІІІ) хлориду; з'являється буро-зелене забарвлення **В** Реакція з порошком магнію та кислотою хлористоводневою концентрованою; забарвлення розчину від жовто-оранжевого до червоного **С** Реакція з розчином свинцю ацетату; утворюється осад жовтого кольору**D** Ультрафіолетовий спектр поглинання випробуваного розчину в області від 250 до 300 нм повинен мати максимум при довжині хвилі (262 + 2) нм **E** Реакція з кислотою азотною розведеною і розчином срібла нітрату; утворюється білий осад, що розчиняється при додаванні розчину аміаку концентрованого **F** Реакція з розчином калію фероцианіду; утворюється осад зеленуватого кольору |
| рН | Від 4,0 до 6,0 (потенціометрично; ДФУ, 1 вид., 2.2.3 ) |
| **Однорідність** | Мазь повинна бути однорідною  |
| **Маса вмісту упаковки** | Від 14,4 до 15,6 або від 28,8 до 31,2 г |
| **Мікробіологічна чистота**  | У препараті допускається загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 102 мікроорганізмів (бактерій і грибів сумарно) в 1 г. Не допускається наявність Staphylococcus aureus в 1 г, Pseudomonas aeruginosa, ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій в 1 г . |
| **Кількісне визна-чення:****фенольні сполуки ФГПП;****Лідокаїну г\хл** | від 0,0225 до 0,0275 г в 1 г (абсорбційна спектрофотометрія в УФ-області)від 0,045 до 0,055 г в 1 г (абсорбційна спектрофотометрія в УФ-області, газова хроматографія) |

***Фармакокінетичні дослідження мазі «Пролідоксид»***

Фармакокінетичні дослідження проведено на базі лабораторії експериментальної фармакокінетики, біоеквівалентності та токсікокінетики ДП „Державний науковий центр лікарських засобів” під керівництвом зав. лабораторією к.біол.н. Лібіної В.В.

Для оцінки ступеня і кінетики трансдермального всмоктування ФГПП проведені дослідження мазі при нашкірному нанесенні кроликам без ушкодження шкірного покриву (далі – норма) і при експериментальній патології. Фармакокінетичні характеристики оцінювали за показниками концентрацій в плазмі крові однієї з основних діючих речовин ФГПП – кверцетину.

 Для аналітичного визначення концентрацій кверцетину в плазмі використано метод рідинної хроматографії з попередньою рідиннофазною екстракцією і концентруванням компоненту, що тестується. Типова хроматограма плазми, що містить кверцетин, представлена на рис. 7.



Рис. 7. Типова хроматограма плазми крові кролика, яка містить кверцетин:

1 – ендогенні речовини плазми; 2 – кверцетин (tR=10,5 хв.); 3 – кемп-ферол (tR=16,0 хв.).

Розраховано системні константи фармакокінетики, що характеризують ступінь і швидкість всмоктування ФГПП у кров, динаміку його розподілу в тканини і виведення з організму при нашкірних аплікаціях мазі «Пролідоксид» тваринам в нормі і при експериментальній патології. При патології, пов'язаній з порушенням цілісності шкірного покриву, ступінь і швидкість трансдермального всмоктування значно вище, ніж у нормі.

Фармакокінетичні криві, що відображають динамічну зміну рівня діючої речовини наведені на рис. 8.

0

1

2

3

4

5

6

0.2

0.4

0.6

0.8

1.0

1.2

1.4

1.6

1.8

2.0

**Час,год**

**Концентрація, мкг/мл**

Рис. 8. Фармакокінетичні криві кверцетину в плазмі крові кроликів після нашкірного нанесення мазі «Пролідоксид»:

• – норма (тварини без порушення цілісності шкірного покриву);

**ο** - патологія (тварини зі скарифікацією епідермісу).

Встановлено, що мазь „Пролідоксид” при нашкірному нанесенні швидко проникає крізь усі шари шкіри в системний кровообіг. При цьому за рахунок допоміжних речовин мазі всмоктування носить тривалий, підтримуючий характер, що забезпечує задовільний розподіл препарату в тканини і тривалу циркуляцію діючих речовин у крові.

Біологічні дослідження мазі «Пролідоксид»

Біологічні дослідження мазі «Пролідоксид» проводилися на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом д. фарм. н., проф. Л.В. Яковлевої. З метою вивчення протизапальної активності мазі була використана модель термічного запалення лапи у мишей. При вивченні ранозагоючої дії мазі „Пролідоксид” використовували модель опікових ран. За результатами досліджень встановлено, що мазь «Пролідоксид» має виражену протизапальну і ранозагоючу активність. Препарат не має алергізуючою та місцевоподразнюючою дії, при тривалому застосуванні не проявляє шкіро-резорбтивної дії на функції життєвоважливих органів і систем.

**ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ**

1. Теоретично та експериментально доведено доцільність створення мазі на основі вітчизняної субстанції природного походження – ФГПП, для лікування гнійних ран у першій фазі ранового процесу, запальних інфільтратів, опіків легкого і середнього ступеня, пролежнів.
2. На підставі проведених фізико-хімічних, технологічних, біофармацевтичних і біологічних досліджень розроблено оптимальний склад нового оригінального препарату – мазі «Пролідоксид», що містить (%): ФГПП – 5; лідокаїну гідрохлорид – 5; ПЕО-400 – 72; ПЕО-1500 – 18.
3. За результатами мікробіологічного скринінгу обґрунтовано оптимальну концентрацію ФГПП в мазі –5%. На підставі проведеного вивчення ефективності консервуючої дії мазі, доведено недоцільність введення консервантів до складу препарату.
4. Розроблено технологію мазі «Пролідоксид». Обґрунтовано температурний режим, порядок та спосіб введення діючих речовин до основи мазі.
5. Вивчено органолептичні, фізико-хімічні властивості мазі. З метою стандартизації мазі «Пролідоксид» обґрунтовано комплекс показників контролю якості мазі. Розроблено методики кількісного визначення діючих речовин методами абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області (ФГПП, лідокаїну гідрохлорид) та методом газової хроматографії (лідокаїну гідрохлорид). Встановлено термін придатності мазі протягом 2-х років при зберіганні в алюмінієвих тубах у прохолодному місці.
6. Розроблено проекти АНД та технологічного регламенту на виробництво мазі «Пролідоксид». Технологію одержання мазі апробовано в умовах ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»».
7. Фармакокінетичними дослідженнями виявлено, що при нашкірному нанесенні тваринам мазь «Пролідоксид» проявляє як місцеву, так і загальнорезорбтивну дію; всмоктування ФГПП носить тривалий, підтримуючий характер, що забезпечує гарний розподіл препарату в тканини і тривалу циркуляцію діючих речовин у крові.
8. При проведенні комплексу фармакологічних досліджень встановлено виражену протизапальну, ранозагоючу, антимікробну та місцевоанестезуючу активність мазі «Пролідоксид». Нешкідливість препарату підтверджено результатами вивчення алергізуючої, місцевоподразнюючої дії, гострої та хронічної токсичності.
9. Отримано дозвіл на проведення клінічних випробувань мазі «Пролідоксид» в якості препарату для лікування гнійних ран у першій фазі ранового процесу, запальних інфільтратів, опіків легкого і середнього ступеня, пролежнів.
10. Фрагменти роботи впроваджено до роботи аптек та навчального процесу ряду вищих медичних та фармацевтичних закладів України. За одержаними результатами отримано патент на винахід № 60849А від 15.10.03.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Розробка та дослідження мазі з фенольним гідрофобним препаратом прополісу /С.О. Тихонова, Н.В. Хохленкова, Т.Г. Ярних, В.М. Чушенко //Вісник фармації. – 2000. – № 2 (22). – С. 26-26. (*Особистий внесок –* експериментальна частина, статистична обробка результатів, оформлення статті).
2. Хохленкова Н.В., Ярных Т.Г., Чушенко В.Н. Исследования мази с фенольным гидрофобным препаратом прополиса // Фармаком. – 2003. - № 3. – С. 75-78. (*Особистий внесок –* експериментальна частина, статистична обробка результатів, оформлення статті).
3. Хохленкова Н.В., Ярних Т.Г., Чушенко В.М. Стандартизація мазі «Пролідоксид» //Вісник фармації. – 2003. - № 2 (34). – С. 50-52. (*Особистий внесок –* планування і проведення експерименту, статистична обробка результатів, оформлення статті).
4. Хохленкова Н.В., Дикий И.Л., Ярных Т.Г.Изучение эффективности консервирующего действия мази «Пролидоксид» // Вісник фармації. – 2004. - № 1(37). – С. 36-38. (*Особистий внесок –* планування експерименту, виготовлення модельних зразків, аналіз отриманих результатів, оформлення статті).
5. Хохленкова Н.В., Либина В.В., Резниченко А.А. Фармакокинетическое исследование мази «Пролидоксид»// Фармаком. – 2004. – № 1. – С. 84-89. (*Особистий внесок –* планування експерименту, виготовлення модельних зразків, аналіз отриманих результатів, оформлення статті).
6. Хохленкова Н.В., Ярних Т.Г., Зубченко Т.М. Розробка промислової технології мазі “Пролідоксид” // Фармацевтичний журнал. – 2004. – № 2.– С. 76-81. (*Особистий внесок –* планування і проведення експерименту, аналіз отриманих результатів, оформлення статті).
7. Ярних Т.Г., Хохленкова Н.В.. Технологія і контроль якості мазі “Пролідоксид” в умовах аптеки// Інформаційний лист. МОЗ України, – Київ: Укрмедпатентінформ. – 2003. – 4 с.
8. Пат. 60849, Україна, МКІ А61ДО9/06, А61ДО35/64. Мазь “Пролідоксид” для місцевого лікування ран та опіків / О.І. Тихонов, В.П. Черних, Т.Г. Ярних, Л.В. Яковлєва, С.С. Кальф-Каліф, О.В. Ткачова, Н.В. Хохленкова – № 2003032036; заявл. 07.03.03; опубл. 15.10.03. – Бюл. № 10 (*Особистий внесок* – визначено комплекс показників якості, розроблені та валідовані методики, які включені до АНД).
9. Тихонов О.І., Ярних Т.Г., Хохленкова Н.В. Використання фенольного гідрофобного препаратові прополісу в технології мазі “Пролідоксид” //Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції “Вчені України – вітчизняній фармації”. – Х.: Вид-во НФаУ.– 2000.– С. 116.
10. Ярных Т.Г., Хохленкова Н.В. Стандартизация мази «Пролидоксид»// Тези доповідей III Міжнародної науково-практичної конференції “Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія”. Ч.I. – Х.: Вид-во НФаУ – 2003 р. – С. 369.
11. Prospects of creating of soft medications on the basis of phenolic hydrophobic propolis drug/ T.G. Yarnykh, O.V. Lukienko, N.V. Khokhlenkova, G.R. Kozyr // XL Nаuкоwа Коnfеrеnсjа рszсzеlаrsка. – Pulawy.– 2003. – Р.138.
12. Tikhonov A.I., Yarnykh T.G., Khokhlenkova N.V. Research of ointment with phenolic hydrophobic рropolis preparation // International Scientific Conference “Pharmacy in contemporary society”. – Kaunas. – 2003. – P. 93-97.
13. Хохленкова Н.В., Лукієнко О.В., Ярних Т.Г. Розробка м’яких лікарських засобів на основі фенольного гідрофобного препарату прополісу // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю „Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономіка лікарських засобів та біологічно активних добавок”. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004.– С. 228-230.

**Хохленкова Н.В. Розробка технології та дослідження мазі “Пролідоксид”.** – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук зі спеціальності 15.00.01 – технологія ліків та організація фармацевтичної справи. – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2004.

Дисертація присвячена створенню нового лікарського засобу у формі мазі на основі субстанції природного походження – фенольного гідрофобного препарату прополісу.

На підставі результатів фізико-хімічних, технологічних, біофармацевтичних та біологічних досліджень розроблено оптимальний склад та раціональну технологію мазі «Пролідоксид». Обрано комплекс показників контролю якості та розроблено методики аналізу мазі. Вивчено властивості мазі “Пролідоксид” та її стабільність у процесі зберігання.

Проведено фармакокінетичні дослідження. Біологічними дослідженнями встановлено специфічну активність та нешкідливість мазі “Пролідоксид”. Препарат пропонується для використання у терапії ран у першій фазі ранового процесу, опіків легкого та середнього ступеню, запальних інфільтратів.

*Ключові слова*: фенольний гідрофобний препарат прополісу, гідрофільна основа, мазь, технологія.

**Хохленкова Н.В. Разработка технологии и исследование мази “Пролидоксид”.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2004.

Диссертация посвящена разработке нового лекарственного средства в форме мази на основе субстанции природного происхождения – фенольного гидрофобного препарата прополиса (ФГПП) для использования в комплексной терапии гнойных ран в первой фазе ранового процесса. С целью подавления болевого синдрома в состав мази для лечения данной патологии в качестве местного анестетика включен лидокаина гидрохлорид.

В качестве основы-носителя при разработке мази выбрана композиция, состоящая из ПЭО-400 и ПЭО-1500 в соотношении 80:20. Выбор основы обусловлен ее физико-химическими и дегидратирующими свойствами, а также растворимостью в ней действующих веществ.

Оптимальную концентрацию ФГПП в мази устанавливали по результатам микробиологического скрининга модельных образцов мази с различным содержанием ФГПП. По результатам исследований выбрана оптимальная концентрация ФГПП – 5%.

Биологическими исследованиями установлена оптимальная концентрация лидокаина гидрохлорида в мази – 5%.

Микробиологическими исследованиями изучена эффективность антимикробного консервирующего действия мази «Пролидоксид». В результате исследований доказана нецелесообразность введения в состав мази дополнительных антимикробных консервантов.

По результатам физико-химических исследований установлено, что реологические характеристики препарата входят в реологический оптимум для гидрофильных мазей. Мазь обладает пластично-вязкими и тиксотропными свойствами.

Экспериментально установлено, что гидрофильная основа разработанной мази обеспечивает выраженное осмотическое действие, необходимое для мягких лекарственных средств, предназначенных для лечения ран в первой фазе ранового процесса, и способствует высвобождению действующих веществ из мази.

При разработке рациональной технологии препарата проанализировано влияние на качество мази следующих факторов: последовательности введения действующих веществ; температурного режима; времени перемешивания; частоты вращения мешалки реактора и других параметров. Разработан проект технологического регламента. Технология мази апробирована в условиях производства на базе ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье»».

На основе разработанных методик качественного и количественного анализа мази «Пролидоксид» составлен проект АНД, в соответствии с которым проведено изучение стабильности мази в процессе хранения. Установлен срок годности мази в течение 2-х лет при хранении в тубах алюминиевых в прохладном месте.

Проведенные фармакокинетические исследования показали, что мазь «Пролидоксид» оказывает как местное, так и общерезорбтивное действие, всасывание ФГПП носит продолжительный, поддерживающий характер.

В результате биологических исследований мази «Пролидоксид» установлено выраженное противовоспалительное, ранозаживляющее, антимикробное действие препарата. Безвредность препарата подтверждена результатами изучения аллергизирующего, местнораздражающего действия, острой и хронической токсичности.

Получено разрешение на проведение клинических испытаний мази «Пролидоксид» в качестве ранозаживляющего препарата для лечения гнойных ран в первой фазе ранового процесса, воспалительных инфильтратов, ожогов легкой и средней степени, пролежней.

По результатам исследований получен декларационный патент Украины на изобретение № 60849А от 15.10.03.

*Ключевые слова*: фенольный гидрофобный препарат прополиса, гидрофильная основа, мазь, технология.

**Khokhlenkova N.V Development technology and research of ointment "Prolidoxyd".** – a Manuscript.

The thesis in a scientific degree of the candidate of pharmaceutical sciences on a speciality 15.00.01 – Drug technology and Pharmacy organization. - National pharmaceutical university, Kharkiv, 2004.

The thesis is devoted to creation of a new medicinal preparation in the form of ointment on the basis of substance of a natural origin – phenol-hydrophobic propolis preparation (PHPP).

Based on physical-chemical, technological, biopharmaceutical and biological researches results the optimum composition and rational technology of ointment "Prolidoxyd" have been developed. Complex of quality parameters has been chosen and methods of the analysis of ointment have been developed. The ointment "Prolidoxyd" properties and its stability during a storage have been studied.

Pharmacokinetic researches of "Prolidoxyd" ointment have been carried out. By biological researches a specific activity and harmlessness of "Prolidoxyd" ointment have been established. The drug developed is offered for local treatment of purulent wounds in I phase of wound process, burns of mild and mean degree, inflammatory infiltrates.

*Key words*: phenol-hydrophobic propolis preparation, ointment, technology.

Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>