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

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

# ЗЕЙДО ФІРАС МАЗЕН

УДК 615. 281.8:615.322:615.454].014.2:615.074/.076

**ОПРАЦЮВАННЯ СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ВАГІНАЛЬНИХ СУПОЗИТОРІЇВ ПРОТИВІРУСНОЇ ДІЇ З ПРОТЕФЛАЗІДОМ**

15.00.01 – технологія ліків та організація фармацевтичної справи

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата фармацевтичних наук

Львів – 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрах технології ліків і біофармації та клінічної лабораторної діагностики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького Міністерства охорони здоров’я України

|  |  |
| --- | --- |
| **Науковий керівник:** | доктор фармацевтичних наук, професор  **Калинюк Тимофій Григорович**  Львівський національний медичний  університет імені Данила Галицького,  кафедра технології ліків і біофармації,  завідувач кафедри. |
| **Офіційні опоненти**: | доктор фармацевтичних наук, професор  **Грошовий Тарас Андрійович**  Тернопільський державний медичний  університет імені І.Я. Горбачевського,  кафедра фармацевтичних дисциплін,  завідувач кафедри; |
|  | кандидат фармацевтичних наук, доцент  **Попович Валерій Павлович**  Національний медичний університет  імені О.О. Богомольця,  кафедра аптечної та промислової  технології ліків,  доцент кафедри. |

Захист відбудеться “\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2008 року о \_\_\_ год. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35.600.02 у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького за адресою: 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (79000,   
м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

Автореферат розісланий “\_\_\_” \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2008 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_Гасюк Г.Д.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** На даний час спостерігається широке розповсюдження вірусів, причому значно збільшується захворюваність герпетичною інфекцією. Герпетична інфекція є однією з найбільш розповсюджених форм вірусних хвороб на планеті [Т.С.Брезжинова, Т.И.Юрлова,1996; В.М.Гранитов, 2001; Russel Waddel, 2002]. Для даних вірусів характерна персистенція їх в клітинах господаря та інтеграція в геном клітини. Вони мають здатність викликати гостру, персистентну або латентну форму вірусної інфекції. У паравертебральних сенсорних гангліях віруси можуть зберігатись у латентній формі протягом тривалого часу і при несприятливих для організму періодах можуть дисемінувати в органи-мішені (органи урогенітальної системи та інші) [Т.М.Грінкевич, 2005; P.W. Annunziato et all., 1996]. Проблема лікування вірусних захворювань і створення ефективних лікарських засобів є однією із актуальних у сучасній медицині та фармації.

Вітчизняною промисловістю випускається противірусний препарат Протефлазід, який дозволений до медичного застосування наказом МОЗ України за № 30 від 31.01.2002 р. В аптечну мережу даний препарат надходить тільки у вигляді крапель, однак використання Протефлазіду у вигляді крапель не завжди ефективно вирішує проблему лікування вірусних захворювань, тому актуальним є опрацювання складу та технології нових ефективних засобів з Протефлазідом для місцевого застосування.

Перспективною лікарською формою для місцевого застосування є супозиторії, які займають значне місце в номенклатурі сучасних лікарських форм [И.В. Алексеева, 2003; Л.І.Щебликіна, 2003; V.Allen Loyd, 2007]. Перспективність цієї лікарської форми стає більш очевидною, якщо врахувати, що деякі лікарські речовини, прийняті всередину, інактивуються травними соками, травмують шлунково-кишковий тракт і печінку. У ряді випадків лікарські речовини, введені у вигляді супозиторіїв, надходять у кров швидше, ніж при підшкірному введенні, і проявляють терапевтичний ефект у менших дозах, причому супозиторії можуть мати не тільки місцеву, а й резорбтивну дію. На фармацевтичному ринку України асортимент супозиторіїв з противірусною дією обмежений, тому опрацювання вітчизняного противірусного засобу у формі супозиторіїв є доцільним і актуальним.

Важливою проблемою імунофармакології є дослідження препаратів з імунотропною дією для вияснення спрямованості їх коригуючого ефекту, а також для розуміння виникаючих факторів міжклітинної кооперації під дією досліджуваних лікарських засобів [Ю.В.Вахитова, 2002]. Найбільш інформативним із доступних функціональних тестів є визначення здатності лімфоїдних клітин відповідати проліферацією на дію мітогенних лектинів і досліджуваних лікарських засобів [В.Й.Фесенкова, 2003; R.Stoika, 2002].

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**  Дисер-таційна робота виконана згідно з планом проблеми „Фармація” МОЗ України і є фрагментом комплексних науково-дослідних робіт Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (шифр теми ІН 10.06.0001.01, номер державної реєстрації 0101U009227 та шифр теми ІН 21.00.002.05, номер державної реєстрації 0105 U007868).

**Мета і задачі дослідження.** Метою роботи була розробка науково обгрунтованого складу, технології та методик контролю якості вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом, а також вивчення можливості використання культури клітин крові для дослідження імунної активності розчинних лікарських засобів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

* вивчити асортимент лікарських засобів противірусної дії, зареєстрованих в Україні;
* проаналізувати дані літератури щодо застосування Протефлазіду як лікарського засобу;
* обґрунтувати вибір лікарської форми для Протефлазіду;
* розробити оптимальний склад та технологію супозиторіїв з Протефлазідом;
* встановити основні показники якості супозиторіїв з Протефлазідом, обґрунтувати терміни та умови їх зберігання;
* розробити проект технологічної інструкції на виготовлення супозиторіїв з Протефлазідом та апробувати його в умовах аптеки;
* розробити технологічну і апаратурну схеми виробництва супозиторіїв з Протефлазідом та аналітичну нормативну документацію на запропонований лікарський засіб;
* вивчити деякі імунокоригуючі властивості Протефлазіду на культурі клітин людського організму і порівняти досліджувані властивості Протефлазіду з властивостями загальноприйнятого адаптогена – екстракту елеутерокока.

*Об’єкт дослідження* – лікарський засіб з Протефлазідом у вигляді вагінальних супозиторіїв; культура клітин крові людського організму.

*Предмет дослідження -* розробка науково обґрунтованого складу і технології супозиторіїв для вагінального застосування на основі рослинного екстракта Протефлазід, призначених для лікування вірусних захворювань урогенітальної системи; показники якості та безпеки; імунофармакологічні дослідження Протефлазіду.

*Методи дослідження.*Для вирішення поставлених у роботі завдань застосовувались загальноприйняті органолептичні, фізико-хімічні, технологічні (вивчення температури топлення, розпадання, розчинення тощо), біофармацевтичні (метод „агарових циліндрів”, метод „агарових пластинок”), мікробіологічні та біологічні (вивчення мікробіологічної чистоти, місцевоподразнюючої дії) методи досліджень, а також реакція бласттрансформації лімфоцитів (БТЛ) з використанням фітогемаглютиніну (ФГА), як активатора трансформації; імунофлюоресцентне визначення фенотипу клітин після бласттрансформації за допомогою моноклональних антитіл; електрофорез на ацетатцелюлозі сироваток крові донорів, лейкоцити яких потім використовувались для БТЛ (паралельно електрофорез культуральної рідини після БТЛ); визначення імуноглобулінів (Ig A, Ig M, Ig G) сироваток крові і культуральної рідини після БТЛ; імуноферментне визначення концентрації гама-інтерферону, 1β-інтерлейкіну в сироватках крові та культуральній рідині після БТЛ.

Статистичний аналіз одержаних результатів проводили за допомогою комп'ютерного пакету "Statistica" 5.0.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Запропоновано оптимальний склад і технологію вагінальних супозиторіїв противірусної дії з Протефлазідом (одержано деклараційний патент на корисну модель "Супозиторій противірусний" А 61К9/02 від 17.01.2005р.). Опрацьовані методики ідентифікації та визначення кількісного вмісту діючих речовин, що ввійшли до проекту аналітичної нормативної документації.

Вперше запропоновано вивчення імунокоригуючих властивостей Протефлазіду на культурі клітин людського організму з наступним фенотипуванням трансформованих клітин імунофлюоресцентним методом за допомогою моноклональних антитіл та дослідженням культуральної рідини (після бласттрансформації). Проведено оригінальне порівняння імунокоригуючих властивостей Протефлазіду та екстракта елеутерокока на лімфоцити людини. Протефлазід, перебуваючи в контакті з лейкоцитами і білками протягом 3 днів, не денатурує білки та імуноглобуліни, а також не активує В-лімфоцити до продукції імуноглобулінів. Протефлазід має виражений імунокоригуючий вплив на лімфоцити людини, знижуючи апоптозозалежність лімфоцитів, активізуючи продукцію гама-інтерферону і є супресором прозапального цитокіна (1в – інтерлейкіну).

**Практичне значення одержаних результатів.** Створено новий оригінальний лікарський засіб з Протефлазідом у вигляді супозиторіїв для вагінального застосування. Запропоновано застосування супозиторіїв з Протефлазідом як засобу для лікування вірусних захворювань урогенітальної системи. Розроблено проект аналітичної нормативної документації (АНД) на вагінальні супозиторії з Протефлазідом.

Розроблено технологічну інструкцію та апробовано технологію супозиторіїв в умовах аптек (акти про апробацію від 12.09.2007, 2.10.2007).

Запропонована модель дослідження імунної активності розчинних лікарських засобів на основі реакції бласттрансформації лейкоцитів людини під впливом фітогемаглютиніну з наступним фенотипуванням трансформованих лімфоцитів моноклональними антитілами та дослідженням культуральної рідини на наявність цитокінів.

Проведено порівняльне імунофармакологічне дослідження Протефлазіду та екстракту елеутерокока на культурі клітин людського організму.

Фрагменти роботи впроваджено у навчальний процес кафедри фармації Івано-Франківського державного медичного університету, кафедри технології ліків Одеського державного медичного університету і кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (акти впровадження від 15.10.2007, 5.10.2007 і 15.02.2008 відповідно).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є особистою завершеною науковою роботою здобувача. У комплексному дослідженні з опрацювання нового засобу для вагінального застосування дисертантом особисто: проведено аналіз даних літератури з метою вивчення сучасного стану лікування вірусних захворювань; досліджено асортимент противірусних засобів системної та місцевої дії та доведено необхідність опрацювання ефективних та безпечних противірусних засобів для місцевого застосування; теоретично обгрунтовано найбільш доцільну лікарську форму для нового противірусного засобу місцевої дії; підібрано діючі і допоміжні речовини для вагінальних супозиторіїв; розроблено технологію вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом; вивчено фізико-хімічні та фармако-технологічні показники вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом; розроблено методики ідентифікації та кількісного вмісту основних діючих речовин у супозиторіях, які увійшли до проекту АНД; вивчено стабільність вагінальних супозиторіїв у процесі зберігання; розроблено технологічну інструкцію на виробництво вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом в умовах аптек; підготовлено і проведено реакції бласттрансформації та досліджено клітини та культуральну рідину після БТЛ; узагальнено результати експериментальних досліджень з вивчення імунофармакологічних властивостей Протефлазіду.

Персональний внесок у всіх опублікованих наукових працях зі співавторами вказується за текстом дисертації.

**Апробація результатів дисертації.** Основні теоретичні і практичні результати дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на ІХ Міжнародному конгресі з клінічної патології “Фізіологія і патологія імунної системи” (Бангкок, Таїланд, 2004 р.), ХІ Всесвітньому конгресі по імунопатології і алергії (Росія, Москва, 2004 р.), Х конгресі світової федерації Українських лікарських товариств (Чернівці, 2004 р.), на VІІІ з'їзді Всеукраїнського лікарського товариства (Івано-Франківськ, 2005 р.), науково-практичній конференції обласного товариства клінічної лабораторної діагностики (Львів, 2005 р.), на конференції молодих вчених Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (Львів, 2006 р.).

**Публікації.** Основні положення дисертації опубліковані у 9 наукових працях, у тому числі 4 статтях (з яких 2 - у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України для публікації результатів дисертаційних досліджень та 2 - в журналах загальнотерапевтичного профілю), 4 тезах, 1 патенті України.

**Обсяг і структура дисертації.** Загальний обсяг дисертаційної роботи - 138 сторінок. Дисертація складається з вступу, огляду літератури (розділ 1), об’єктів і методів дослідження (розділ 2), експериментальної частини (розділи 3-4), загальних висновків, списку літератури (185 літературних джерел, у тому числі 40 іноземних) та 8 додатків (27 сторінок). Дисертація ілюстрована 25 таблицями (17 с.) та 21 рисунком.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

У **вступі** сформульовано актуальність теми, мету і задачі дослідження, відзначено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів.

**У першому розділі** розглянуто сучасний стан лікування вірусних захворювань; описано хіміко-біологічні і фармакологічні властивості нового рослинного препарату противірусної дії Протефлазід та його застосування в медицині; розглянуто основні переваги лікарських засобів у формі супозиторіїв і наведено результати вивчення арсеналу препаратів противірусної дії.

В Україні зареєстровано 113 лікарських препаратів для системного лікування вірусних захворювань і 14 препаратів для місцевого застосування у вигляді різних лікарських форм. Розподіл противірусних лікарських препаратів для системного застосування за видом лікарських форм наведено на рис.1.

Рис.1.Розподіл противірусних лікарських препаратів

для системного лікування за видом лікарських форм:

1 – таблетки; 2 - капсули; 3 - рідкі лікарські форми; 4 - порошки для приготування розчинів для перорального застосування та для інфузій; 5 – розчини для ін’єкцій.

Із усієї сукупності асортименту противірусних лікарських препаратів для системного застосування домінують таблетки (55,7%), на другому місці – капсули (25,7%); менше противірусних препаратів у рідких лікарських формах (розчини для перорального застосування, сиропи, краплі, суспензії - 8,8%). Порошки для приготування розчинів для інфузій і розчинів для перорального застосування становлять 6,2%, розчини для ін’єкцій - 3,6%.

Асортимент противірусних засобів для місцевого застосування обмежений, причому на фармацевтичному ринку представлені тільки дерматологічні противірусні засоби у формі мазей та кремів. В Україні випускаються лише три засоби противірусної дії для місцевого застосування у формі мазей. Результати проведеного аналізу показали, що на фармацевтичному ринку зовсім відсутні засоби для ректального і вагінального застосування.

Протефлазід - лікарський засіб, одержаний з трави Щучника дернистого (Deschampsia caespitosa) та трави Очеретника наземного (Calamagrostis epigeios). Основними біологічно ак­тивними речовинами Протефлазіду є флавоноїдні глікозиди, що за хімічною структурою подібні до кверцетину та рутину. Протефлазід за механізмом дії належить як до віростатиків, так і до інтерфероногенів, він також сприяє підвищенню загального рівня імунного статусу організму, тобто діє як своєрідний адаптоген.

Узагальнено дані літератури щодо біофармацевтичної оцінки супозиторіїв, показано переваги даної лікарської форми для місцевого лікування урогенітальних інфекцій.

Важливою проблемою імунофармакології є дослідження препаратів з імунотропною дією для вияснення спрямованості їх коригуючого ефекту, а також для розуміння виникаючих факторів міжклітинної кооперації під дією досліджуваних препаратів. Найбільш інформативним із доступних функціональних тестів є визначення здатності лімфоїдних клітин відповідати проліферацією на дію мітогенних лектинів і досліджуваних лікарських засобів.

**У другому розділі** описані характеристики діючих та допоміжних речовин. Як об’єкт досліджень при розробці лікарського засобу для місцевої терапії вірусних захворювань урогенітальної системи обрано рослинний препарат Протефлазід. Для одержання лікарського засобу для вагінального застосування використовували допоміжні речовини: масло какао, вітепсол, твердий жир, поліетиленоксиди (ПЕО 400, ПЕО 1500, ПЕО 4000).

У процесі виконання роботи застосовували хімічні, фізико-хімічні, мікробіологічні, біофармацевтичні, імунофармакологічні та біологічні методи досліджень.

Ідентифікацію флавоноїдів у Протефлазіді та супозиторіях з Протефлазідом проводили за допомогою якісних реакцій, хроматографії в тонкому шарі сорбенту, УФ-спектрів поглинання. Кількісний вміст суми флавоноїдів (у перерахунку на рутин) у Протефлазіді і супозиторіях з Протефлазідом визначали за розробленими нами методиками спектрофотометрії в УФ-області.

Статистичну обробку результатів проводили згідно з вимогами ДФ України, доп.1 (С. 187) і за допомогою комп'ютерного пакету "Statistica" 5.0.

Дослідження показників якості супозиторіїв з Протефлазідом (органолептичні характеристики, середня маса, однорідність маси, однорідність вмісту, розпадання, розчинення, ідентифікація та кількісний вміст флавоноїдів, мікробіологічна чистота) проводили за методиками ДФ України.

Для дослідження вивільнення флавоноїдів із супозиторіїв використовували метод дифузії в агар і метод дифузії в акцепторний розчин. Дослідження мікробіологічної чистоти проводили методом мембранної фільтрації. Місцевоподразнюючу дію супозиторіїв вивчали на безпородних білих щурах-самках відповідно до вимог методичних вказівок для постановки досліджень з вивчення подразнюючих властивостей і обгрунтування гранично-допустимих концентрацій вибірково діючих подразнюючих речовин.

Імунологічні дослідження проведені нами на основі реакції бласттрансформації лейкоцитів людини під впливом фітогемаглютиніну з наступним фенотипуванням трансформованих лімфоцитів моноклональними антитілами та дослідженням культуральної рідини на наявність цитокінів.

**У третьому розділі** наведені результати теоретичних та експериментальних досліджень з вибору оптимальної концентрації Протефлазіду і кількості допоміжних речовин (основи супозиторіїв), розробки раціональної технології супозиторіїв з Протефлазідом, методів їх аналізу, а також результати фармако-технологічних досліджень супозиторіїв з Протефлазідом.

Для приготування супозиторіїв використовували супозиторні основи двох типів: які розплавляються (гідрофобні - вітепсол Н-15; масло какао; твердий жир) та розчинні в слизу (гідрофільні – сплави поліетиленоксидів: ПЕО 400, ПЕО 1500, ПЕО 4000 у різних співвідно-шеннях) ( табл.1).

*Таблиця 1*

**Склад супозиторних основ**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва компонента | Кількість компонентів в основі, (г) | | | | | | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |  |  | 7 |
| Вітепсол Н-15 | 100,0 |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Масло какао |  | 100,0 |  |  |  |  |  |  |  |
| Твердий жир |  |  | 100,0 |  |  |  |  |  |  |
| ПЕО 400 |  |  |  | 20,0 | 5,0 | 10,0 | 30,0 |  | 30,0 |
| ПЕО 1500 |  |  |  | 80,0 | 95,0 | 80,0 | 70,0 |  | 70,0 |
| ПЕО 4000 |  |  |  |  |  | 10,0 |  |  |  |

На вказаних основах були виготовлені супозиторії методом виливання. Супозиторії на гідрофобних основах і основі 7, не відповідали вимогам ДФ України за зовнішнім виглядом (були неоднорідними і крихкими). Для подальших досліджень використовували гідрофільні основи. Із трьох гідрофільних основ за результатами біофармацевтичних досліджень (рис.2,3) як найбільш оптимальну вибрано основу 4 - сплав ПЕО 400 і ПЕО 1500 у співвідношенні 2:8.

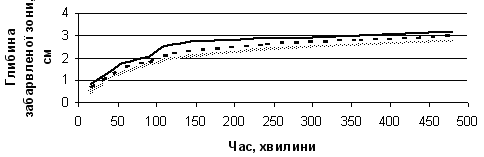


Рис.2. Динаміка вивільнення флавоноїдів із супозиторіїв:

 супозиторії на основі 4 ;  супозиторії на основі 5;  супозиторії на основі 6

При вивченні розчинення супозиторіїв з Протефлазідом встановлено, що супозиторії відповідають вимогам тесту розчинення супозиторіїв (за 45 хвилин вивільнялось не менше 75% діючох речовини), і більш повне вивільнення флавоноїдів спостерігалось із супозиторіїв, виготовлених на поліетиленоксидній основі 4 (рис.3).

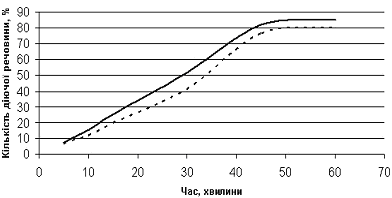


Рис. 3.Розчинення супозиторіїв з Протефлазідом в залежності від часу:

 супозиторії на основі 4;  супозиторії на основі 6

У результаті проведених досліджень нами запропоновано наступний *склад супозиторіїв*:

Протефлазіду 0,5 мл

Поліетиленоксидної основи

достатню кількість до одержання супозиторію масою 4,0 г.

Нами розроблена технологія вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом в аптечних та промислових умовах. При опрацюванні технології підбирали оптимальний спосіб введення Протефлазіду в супозиторну основу та контролювали фармако-технологічні властивості одержаних супозиторіїв. Протефлазід вводили в основу різними способами:

1. Зішували з розплавленою поліетиленоксидною основою.
2. Змішували з розплавленим ПЕО 1500, нагрівали протягом 10 хвилин при температурі 40-50°С, додавали ПЕО 400.
3. Нагрівали при температурі 40-50°С до повного видалення етанолу і змішували з розплавленою поліетиленоксидною основою.

За зовнішнім виглядом і кількісним вмістом флавоноїдів відповідали вимогам АНД тільки супозиторії, виготовлені за третім способом.

У процесі розробки технології супозиторіїв було обгрунтовано температурний режим введення Протефлазіду у супозиторії і швидкість перемішування супозиторної маси.

Нами розроблена технологічна схема виробництва супозиторіїв згідно з Настановою 42-01-2003 “Лікарські засоби. Технологічний процес. Документація”, яка наведена на рис. 4.

Стадія 6

Охолодження супозиторіїв, запайка, різка, відбраківка

Маса супозиторна

Температура, режим перемішування, гомогенність, контроль проміжної продукції

Стадія 1

Підготовка Протефлазіду

Температурний режим, повнота розплавлення

**Підготовка виробництва**

Вихідна сировина, проміжна продукція та матеріали

Контроль у процесі виробництва

**Виготовлення супозиторіїв з протефлазидом**

Температура випаровування, режим перемішування

Протефлазід

Стадія 3

Введення концентрату Протефлазіду в основу

Концентрат зі стадії 1, основа зі стадії 2

Стадія 2

Приготування основи

ПЕО 400,   
ПЕО 1500

**Склад готової продукції**

Контроль готової продукції за показниками АНД

**Дозування та пакування супозиторіїв**

Стадія 4

Підготовка контурних чарунок

Стадія 5

Наповнення чарунок супозиторною масою

Плівка ПВХ

Чарунки із супозиторіями

Стадія 7

Пакування та маркування супозиторіїв

Пачки, чарунки із супозиторіями

Температура нагріву і якість зварювання штампів

Точність дозування автомата, температура

Температура та час охолодження, температура запайки, чіткість нанесення друку

Комплектність, точність друку (номер серії, термін придатності)

Стадія 8

Пакування пачок у коробки

Пачки із супозиторіями, коробки, групові етикетки

Кількість пачок у коробці, чіткість друку

**Карантинний склад**

Мікробіологічна чистота

Стадія 6

Охолодження супозиторіїв, запайка, різка, відбракування

Маса супозиторна

Температура, режим перемішування, гомогенність, контроль проміжної продукції

Стадія 1 Приготування концентрату Протефлазіду

Температурний режим, повнота розплавлення

**Підготовка виробництва**

Вихідна сировина, проміжна продукція та матеріали

Контроль у процесі виробництва

**Виготовлення супозиторіїв з Протефлазідом**

Температура випаровування, режим перемішування

Протефлазід

Стадія 3

Введення концентрату Протефлазіду в основу

Концентрат зі стадії 1, основа зі стадії 2

Стадія 2

Приготування основи

ПЕО 400,   
ПЕО 1500

**Склад готової продукції**

Контроль готової продукції за показниками АНД

**Дозування та пакування супозиторіїв**

Стадія 4

Підготовка контурних чарунок

Стадія 5

Наповнення чарунок супозиторною масою

Плівка ПВХ

Чарунки із супозиторіями

Стадія 7

Пакування та маркування супозиторіїв

Пачки, чарунки із супозиторіями

Температура нагріву і якість зварювання штампів

Точність дозування автомата, температура

Температура та час охолодження, температура запайки, чіткість нанесення друку

Комплектність, точність друку (номер серії, термін придатності)

Стадія 8

Пакування пачок у коробки

Пачки із супозиторіями, коробки, групові етикетки

Кількість пачок у коробці, чіткість друку

**Карантинний склад**

Мікробіологічна чистота

Рис.4. Технологічна схема виробництва супозиторіїв з Протефлазідом

Розроблено методи ідентифікації основних діючих речовин у супозиторіях з Протефлазідом – флавоноїдів і фенолокислот (табл.2)

*Таблиця 2*

**Якісні реакції Протефлазіду і супозиторіїв з Протефлазідом**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Реакції  ідентифікації | Об’єкт дослідження | |
| Протефлазід | Супозиторії з Протефлазідом |
| *Флавоноїди*  1. З алюмінію хлоридом  2. Хроматогра-фічний метод на пластинках Silufol | Жовто-зелене забарвлення  На хроматограмі дослід-жуваних розчинів з’явля-ються плями жовтого кольору на рівні плям на хроматограмах розчинів СЗРС рутину і кверцетину. | Жовто-зелене забарвлення  На хроматограмі дослід-жуваних розчинів з’явля-ються плями жовтого кольору на рівні плям на хроматограмах розчинів СЗРС рутину і кверцетину |
| *Фенолокислоти*  Хроматографіч-ний метод на хроматографіч-ному папері марки “Filtrak FN-1” | З’являються жовті плями на синьому фоні, сині плями на білому фоні та рожеві плями на блакитному фоні, що свідчить про наявність карбонових кислот | З’являються жовті плями на синьому фоні, сині плями на білому фоні та рожеві плями на блакитному фоні, що свідчить про наявність карбонових кислот |

Кількісний вміст флавоноїдів у перерахунку на рутин визначали розробленим нами спектрофотометричним методом при довжині хвилі л = 405 нм. За даними статистичної обробки результатів кількісного аналізу відносна похибка визначення флавоноїдів не перевищує ± 5,4 %.

При стандартизації вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом вивчали показники якості та незмінність цих показників у процесі зберігання згідно з вимогами ДФ України: опис, однорідність маси, однорідність вмісту, ідентифікація, кількісне визначення, розпадання, розчинення, мікробіологічна чистота. Всі показники відповідають вимогам ДФУ, встановленим для вагінальних супозиторіїв (табл.3).

За допомогою періодичного контролю (з інтервалом у 6 місяців) встановлено незмінність показників якості вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом протягом двох років зберігання.

*Таблиця3*

**Фізико-хімічні показники супозиторіїв з Протефлазідом**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники якості | Вимоги АНД | Результати дослідження |
| 1 | 2 | 3 |
| Опис | Вагінальні супозиторії кульковидної форми світло-зеленого кольору без запаху | Вагінальні супози-торії кульковидної форми світло-зелено-го кольору без запаху |
| Середня маса | Від 3,8 до 4,2 | 3,96±0,05 |
| Однорідність маси | ±5% від середньої маси вагінаьного супозиторія, тільки 2 вагінальних супозиторії з 20 можуть вийти за ці межі, але не перевищувати ±10% | Відповідає вимогам ДФУ |
| Однорідність вмісту | Вміст діючих речовин у кожному з 10 вагінальних супозиторіїв по­винен бути від 85,0% до 115 %, від вказаного в розділі "Склад на один супозиторій", а відносне стандартне відхилення не повинне перевищувати 6,0%. Вміст дію­чих речовин у кожному з 30 вагі­нальних супозиторіїв повинен бути від 75, 0 до 115 %, від вказа­ного у розділі "Склад на один супозиторій", і тільки в одному з 30 супозиторіїв вміст кожної з дію­чих речовин може перевищувати ± 15 % від вказаного в розділі "Склад на один су позиторій", але не більше ± 25 %, а відносне стан­дартне відхилення для 30 супози­торіїв не повинне перевищувати 7,8 % | Відповідає вимогам ДФУ |
| Розпадання | Не більше 60 хвилин | Відповідає вимогам ДФУ |
| Розчинення | Не менше 75% діючої речовини і не більше 115% за 45 хв | Відповідає вимогам ДФУ |
| Ідентифікація | | |
| *Флавоноїди* | 1. Реакція з алюмінію хлоридом  2. Хроматографічний метод | Результат позитивний |
| *Карбонові кислоти* | Хроматографічний метод | Результат позитивний |
| Кількісне визначення | Флавоноїдів (у перерахунку на рутин) не менше 0,0122% | 0,0129±0,0007% |
| *Закінчення табл.3* | | |
| 1 | 2 | 3 |
| Мікробіоло-гічна чистота | У 1 г препарату допускається на­явність не більше 100 бактерій і грибів (сумарно). Не допускається наявність ентеробактерій і деяких інших грам-негативних бактерій у 1 г. Не допус­ка-ється наявність Рseudomonas аеruginosa у 1 г. Не допускається наявність Staphy-lococcus aureus у 1 г | Відповідає вимогам ДФУ |

**У четвертому розділі** наведені результати імунофармакологічних та біологічних досліджень.

Імунофармакологічні дослідження проводили на кафедрі клінічної лабораторної діагностики ЛНМУ імені Данила Галицького. Консультативну допомогу на всіх етапах проведення цих досліджень надавав д.мед.н., проф. Б.Д.Луцик, за що автор висловлює щиру подяку.

Вивчення впливу Протефлазіду на лімфоцити проводили з тією частиною донорів, які мали лімфоцити з високою проліферативною активністю при культивуванні їх з фітогемаглютиніном (ФГА). Рецепторну характеристику лімфоцитів після БТЛ наведено у табл.4.

Результати досліджень свідчать, що у всіх серіях бласттрансформація лімфоцитів проходить за рахунок Т-хелперів. У процесі БТЛ на клітинах зберігаються маркери до нейтрофілів та до В-лімфоцитів. При порівнянні між апоптозозалежними лімфоцитами (CD 95) у трьох серіях дослідів різниця була істотною, критерій Стьюдента (t=3,7) й істотність різниці (Р < 0,004).

Різниця при порівнянні між В-лімфоцитами (СД-19), нейтрофілами (СД-16), Т-хелперами (СД-4) та Т-супресорами (СД-8) у всіх серіях дослідів не істотна. Протефлазід має виражений імуномодулюючий вплив на лімфоцити людини, знижуючи апоптозозалежність лімфоцитів. У процесі БТЛ з ФГА, Протефлазідом та екстрактом елеутерокока залишаються функціонально активними імунні синапси на лімфоцитах до моноклональних антитіл (СД-16, 19, 95).

Білковий спектр сироватки крові та культуральної рідини після БТЛ досліджували для вивчення можливого впливу Протефлазіду на білки плазми крові. Протефлазід та екстракт елеутерокока, перебуваючи в контакті з лейкоцитами і білками упродовж 3-х днів у застосованих концентраціях, не денатурують білки (зберігаються їх ізоелектрична точка і молекулярна маса, що забезпечує їх електрофоретичне розділення).

Нами вивчено вплив Протефлазіду на В-лімфоцити (при дослідженні in vitro) при визначенні імуноглобулінів сироватки крові донорів і культуральної рідини після БТЛ. ФГА, Протефлазід та екстракт елеутерокока, перебуваючи в контакті з лейкоцитами протягом 3-х днів у застосованих концентраціях, не активують В-лімфоцити до продукції імуноглобулінів.

*Таблиця 4*

**Рецепторна характеристика лімфоцитів після реакції БТЛ**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва показника | Клітини до БТЛ  M ± m  **S** | (а) кліти-ни з ФГА  Ma ± m  **S**  n - 12 | (b) клітини з ФГА і Проте-флазі дом  M b ± m  **S**  t (a-b) n - 12 | (c) клітини з ФГА і елеу-терококом  Mc ± m  **S**  t(a-c) n - 12 |
| CD-4 маркер хелперів | 32,3 ± 0,9  S = 4,8 | 48,5 ± 1,9  S = 6,5 | 51,9 ± 1,8  S = 6,5  t (a-b) = 1,1  P > 0,2 | 45,6 ± 1,6  S = 5,8  t (a-c) = 0,9  P > 0,3 |
| CD-8 маркер супресорів | 26,1 ± 0,2  S = 3,7 | 15,7 ± 1,6  S = 5,5 | 16,4 ± 2,1  S = 7,3  t (a-b) = -0,45  P > 0,6 | 15,6 ± 1,4  S = 4,8  t (a-c) = 0,05  P > 0,9 |
| CD-16 маркер  нейтрофілів | 19,4 ± 0,9  S = 5,1 | 20,6 ± 1,9  S = 6,7 | 15,6 ± 2,1  S = 7,1  t (a-b) = 1,87  P > 0,08 | 22,5 ± 1,8  S = 6,5  t(a-c)=-0,7  P > 0,5 |
| CD-19 маркер  В-лімфоцитів | 22,3 ± 0,81  S = 4,6 | 26,7 ± 1,6  S = 5,6 | 23,2 ± 2,6  S = 9,1  t (a-b) = 1,2  P >0,2 | 23,8 ± 2,2  S = 4,4  t (a-b) = 0,9  P > 0,3 |
| CD-95 маркер апоптозу  клітин | 9,7 ± 0,5  S = 1,3 | 16,1 ± 1,7  S = 5,9 | 9,3 ± 0,5( \*\*\*)  S = 1,8  t (a-b) = 3,7  P < 0,004 | 13,4 ± 1,2  S = 4,4  t(a-c)= 1,54  P > 0,1 |

Цитокіни (г-інтерферон та 1β-інтерлейкін) у сироватці крові донорів і культуральних рідинах після бласттрансформації лімфоцитів з ФГА, Протефлазідом та екстрактом елеутерокока вивчали для визначення функціональної активності лімфоцитів. В утворенні г-інтерферону приймають участь Т-хелпери. Більшість клітин людського організму можуть продукувати 1β-інтерлейкін, але для цього вони повинні бути активовані.

На даний час активно вивчається значення цього інтерлейкіну для ендокринної системи, фібробластів, епітеліальних клітин, остеокластів, клітин головного мозку, гепатоцитів та інших систем. Результати дослідження наведено в табл.5.

*Таблиця 5*

**Гама-інтерферон і інтерлейкін-1β у сироватці крові і культуральних рідинах після бласттрансформації лімфоцитів**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва показника | У сироватці  крові (а)  M ± m  S a | У культуральних рідинах | | |
| 1 (b)  M ± m  S b  S d  t (a-b) | 2 (с)  M ± m  S c  t (b-c) | 3 (d)  M ± m  t (b-d) |
| г-інтерферон | 57,2 ± 8,2  S - 28,4 | 2772,6±23,8  82,6  t – 113,6  P < 0,001 | 2446,5 ± 69,2  239,6  t – 4,8  P < 0,001 | 2420,1 ± 59,6  206,4  t – 5,2  P< 0,001 |
| 1β-інтерлейкін | 84,0 ± 4,7  S -16,4 | 742,3 ± 10,4  65,2  t –31,3  P< 0,001 | 275,8 ± 10,4  36,1  t – 19,6  P< 0,001 | 332,7 ± 8,7  30,2  t – 19,5  P< 0,001 |

1 (b) –БТЛ під впливом ФГА; 2 (с) – БТЛ під впливом ФГА і Протефлазіду;

3 (d) – БТЛ під впливом ФГА та екстракту елеутерокока

Під впливом ФГА, Протефлазіду та екстракту елеутерокока значно зростає концентрація г-інтерферону (різниця істотна). При порівнянні концентрації γ-інтерферону у культуральних рідинах з Протефлазідом та екстрактом елеутерокока не було істотної різниці: t – 0,27, P> 0,7. Протефлазід виступає в ролі супресора продукції прозапального цитокіна (1в-інтерлейкіну) лімфоцитами (при порівнянні з ФГА, різниця достовірна).

Результати проведених досліджень показали, щоПротефлазід стимулює продукцію г-інтерферону лімфоцитами  людського організму in vitro в процесі БТЛ. На фоні ФГА (in vitro в процесі БТЛ) Протефлазід   виступає інгібітором прозапального цитокіна 1в-інтерлейкіну.

Протигерпетичну активність супозиторіїв з Протефлазідом вивчали на моделі генітальної герпетичної інфекції морських свинок у порівнянні з Протефлазідом. Встановлено, що супозиторії з Протефлазідом, як і Протефлазід, мають протигерпетичну активність.

Дослідження місцевоподразнюючої дії супозиторіїв з Протефлазідом проводили на базі Центральної науково-дослідної лабораторії та лабораторії промислової токсикології ЛНМУ імені Данила Галицького (зав.лабораторії д.мед.н., проф. Б.П.Кузьмінов). Встановлено, що супозиторії з Протефлазідом не виявляють місцевоподразнюючої дії на слизову оболонку піхви дослідних тварин.

**ВИСНОВКИ**

1. На основі вивчення асортименту противірусних лікарських засобів встановлено, що на фармацевтичному ринку України широко представлені засоби для системного лікування вірусних захворювань, проте номенклатура противірусних засобів для місцевого застосування недостатня, зовсім відсутні засоби для ректального і вагінального застосування.
2. Теоретично обґрунтовано актуальність розробки противірусного засобу у формі вагінальних супозиторіїв для місцевого лікування герпес-вірусних захворювань урогенітальної системи. У результаті пошуку ефективних противірусних засобів в Україні встановлено, що перспективним засобом є Протефлазід - препарат, який за механізмом дії належить як до віростатиків (пригнічує ДНК-полімеразу у клітинах, інфікованих вірусами герпесу, ВІЛ), так і до інтерфероногенів (збільшує продукцію ендогенного альфа- і гама-інтерферону), а також сприяє підвищенню загального рівня імунного статусу організму, тобто діє як своєрідний адаптоген.
3. На основі проведених технологічних, фізико-хімічних, біофармацевтичних та біологічних досліджень вперше запропоновано склад і розроблено технологію вагінальних супозиторіїв з Протефлазідом. Як оптимальну основу для супозиторіїв з Протефлазідом запропоновано суміш поліетиленоксидів 400 і 1500 у співвідношенні 2:8.
4. Проведено оцінку якості запропонованих супозиторіїв з Протефлазідом згідно з вимогами ДФ України. Розроблено спектрофотометричний метод стандартизації Протефлазіду і супозиторіїв з Протефлазідом за сумою флавоноїдів у перерахунку на рутин (як основних діючих речовин Протефлазіду). Відносні похибки методу становлять ± 3,12 % і ± 5,40 % відповідно.
5. Вивчено стабільність запропонованих супозиторіїв при зберіганні при кімнатній температурі (18±2°С) і в умовах холодильника (4±1°С). Встановлено, що при зберіганні супозиторії з Протефлазідом є стабільними, що підтверджується наступними показниками: зовнішній вигляд, середня маса, однорідність маси, однорідність вмісту, час розчинення, ідентифікація та кількісний вміст флавоноїдів, мікробіологічна чистота. На підставі проведених експериментальних досліджень встановлено термін зберігання супозиторіїв (не менше 2-х років). Доведено відсутність взаємодії між компонентами супозиторіїв за допомогою хроматографічного методу у тонкому шарі сорбенту на пластинках Silufol.
6. Запропонована модель дослідження противірусної активності лікарських речовин на основі реакції бласттрансформації лейкоцитів людини під впливом фітогемаглютиніну з наступним фенотипуванням трансформованих лімфоцитів моноклональними антитілами та дослідженням культуральної рідини на наявність цитокінів. Імунофлюоресцентний метод за допомогою моноклональних антитіл та дослідженням культуральної рідини (після бласттрансформації) можна застосовувати для вивчення імунної активності противірусних засобів.
7. Імунофармакологічні дослідження Протефлазіду, вперше проведені на культурі клітин людини, показали, що Протефлазід є активатором продукції гама-інтерферону, виступає інгібітором прозапального цитокіна і знижує апоптозозалежність лімфоцитів.
8. У результаті біологічних досліджень доказано протигерпетичну активність розроблених супозиторіїв з Протефлазідом, доведено відсутність місцевоподразнюючої дії супозиторіїв на слизову оболонку піхви дослідних тварин.
9. Розроблено технологічну і апаратурну схеми виробництва, інструкцію щодо виготовлення супозиторіїв з Протефлазідом в умовах аптек, проект аналітичної нормативної документації на запропонований лікарський засіб, проект технологічного регламенту на виробництво супозиторіїв з Протефлазідом.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Імунокоригуючий вплив Протефлазіду на лейкоцити донорів / Ф.Зейдо, Б.Д.Луцик, Т. М.Федоришин, Л. Є. Лаповець,О. О.Ястремська // Фармац. журнал. – 2006. – № 2. – С.90-93 (Особистий внесок дисертанта: літературний пошук, участь у експериментальній частині досліджень, аналіз результатів і підготовка статті до друку).

2. Зейдо Фірас, Луцик Б.Д., Лозюк Л.В. Супозиторії з Протефлазідом (клініко-фармацевтичні аспекти) // Фармац. журнал. – 2006. – № 4. - С.70 –73 (Особистий внесок: розробка складу і технології супозиторіїв, аналіз матеріалу, підготовка статті).

3. Деклараційний патент на корисну модель UA 4337 7 А61 К9 /02, затв. 17.01.2005, Бюл № 1. Супозиторій противірусний / Л.В.Лозюк, Б.Д.Луцик, Ф.Зейдо (Особистий внесок: патентний пошук, розробка оптимального складу супозиторіїв, оформлення матеріалів патенту).

4. Супозиторії з ізатізоном на основі поліетиленгліколю з противірус-ною активністю (клініко-фармацевтичні аспекти) / Ф.Зейдо, Б. Д.Луцик, Л. В.Лозюк, Р. М. Лозюк // Acta Medica (Львівський медичний часопис). – 2005. – т. Х1,  № 1. – С.67-69 (Особистий внесок: інформаційний пошук, виготовлення супозиторіїв, підготовка статті).

5. Застосування препарату "Протефлазід" у лікуванні вірусних ендо-цервіцитів, ерозій шийки матки / Б.Д.Луцик, С.О.Кравець, В.А. Філіпський, Ф. Зейдо // Медицина залізничного транспорту України. – 2003. – № 4. – С. 57-59 (Особистий внесок: інформаційний пошук, аналіз результатів і підготовка матеріалу до публікації).

6. Зейдо Фирас, Луцик Б. Д., Сорокивська С. А. Протефлазид в комплексном лечении вирусных инфекций // International Journal on Immuno rehabilitation. Выпуск “Физиология и патология иммунной системы”. – 2004. – Т. 6. – № 1. – С. 108-109 (Особистий внесок: участь у дослідженнях, аналіз результатів і підготовка матеріалу до публікації).

7. Зейдо Фирас, Луцик Б. Д. Исследование Протефлазида на культуре клеток человеческого организма. // Аллергология и иммунология. – 2004. – Т. 5.- № 1. - С. 91-92 (Особистий внесок: участь у дослідженнях, підготовка матеріалу до публікації).

8. Зейдо Фірас, Луцик Б. Д. Дослідження Протефлазіду на культурі клітин людського організму // Тези доповідей Х конгресу світової федерації Українських лікарських товариств. – Чернівці-Київ-Чикаго, 2004. – С. 518 - 519 (Особистий внесок: участь у дослідженнях, підготовка тез до публікації).

9. Зейдо Фірас, Луцик Б. Д., Лаповець Л. Є. Дослідження імуномодулюючого впливу Протефлазіду на лейкоцити здорових донорів // Українські медичні вісті (Науково-практичний часопис Всеукраїнського лікарського товариства). - Київ. – 2005. – Т. 6 (1-2). – С.205-206 (Особистий внесок: участь у дослідженнях, оформлення матеріалів і підготовка до публікації).

**АНОТАЦІЯ**

**Зейдо Фірас Мазен. Опрацювання складу, технології та дослідження вагінальних супозиторіїв противірусної дії з Протефлазідом. –** Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 – технологія ліків та організація фармацевтичної справи. – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Львів, 2008.

Дисертацію присвячено розробці складу, технології та дослідженню лікарського засобу у формі супозиторіїв для лікування вірусних інфекцій урогенітальної системи. Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано склад і раціональну технологію супозиторіїв на гідрофільній основі, діючими речовинами яких є рослинний екстракт Протефлазід.

Проведено дослідження показників якості запропонованого лікарського засобу, розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин, вивчено стабільність опрацьованих супозиторіїв у процесі зберігання.

В результаті імунофармакологічних досліджень встановлено, що Протефлазід має виражений імуномодулюючий вплив на лімфоцити людини, знижуючи апоптозозалежність лімфоцитів. На фоні фітогемаглютиніну (in vitro в процесі бласттрансформації) Протефлазід виступає інгібітором прозапального цитокіна 1в-інтерлейкіну.

***Ключові слова***: Протефлазід, вагінальні супозиторії, противірусна активність, бласттрансформація.

**АННОТАЦИЯ**

**Зейдо Фирас Мазен. Разработка состава, технологии и исследование вагинальных суппозиториев противовирусного действия с Протефлазидом. –** Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.01 – технология лекарств и организация фармацевтического дела. – Львовский национальный медицинский университет имени Данила Галицкого, Львов, 2008.

Впервые проведено комплексное исследование с целью создания противовирусного средства для местного применения – вагинальных суппозиториев с Протефлазидом – жидким экстрактом из растений Deschampsia caespitosa L. и Calamagrostis epigeios L. Основные биологически ак­тивные вещества Протефлазида - флавоноидные гликозиды, которые по химической структуре идентичны кверцетину и рутину. Флавоноидные гликозиды способны подавлять вирусспецифические ферменты тимидинкиназу и ДНК - полимеразу в вирусинфицированных клетках. Это приводит к снижению способности или к полному блокированию репликации вирусных белков и, как следствие, препятствует размножению вирусов.

Выбор оптимальной основы был произведен в результате технологических и биофармацевтических исследований с использованием основ гидрофобного и гидрофильного характера. Из семи изученных основ как оптимальная основа для суппозиториев с Протефлазидом выбрана полиэтиленоксидная основа (сплав ПЭО 400 и ПЭО 1500 в соотношении 2:8). Теоретически и экспериментально обосновано количество Протефлазида в суппозиториях.

В процессе разработки рациональной технологии суппозиториев с Протефлазидом были изучены такие параметры, как порядок смешивания компонентов, температурный режим, отсутствие взаимодействия между компонентами суппозиториев.

Разработаны технологическая и аппаратурная схемы производства суппозиториев с Протефлазидом.

Предложены методики качественного и количественного анализа основных действующих веществ в Протефлазиде и суппозиториях с Протефлазидом. Идентификацию флавоноидов проводили по реакции с алюминия хлоридом и хроматографическим методом, определение фенолокислот – хроматографическим методом.

Для количественного определения флавоноидов (в перерасчете на рутин) предложена методика спектрофотометрического определения при длине волны л=405 нм. Относительная ошибка метода не превышает ±5,4 %.

При стандартизации вагинальных суппозиториев с Протефлазидом изучали показатели качества и стабильность этих показателей в процессе хранения согласно требованиям ГФ Украины: описание, однородность массы, однородность содержания, идентификация, количественное определение, распадание, растворение, микробиологическая чистота. В результате периодического контроля (с интервалом в 6 месяцев) установлена стабильность показателей качества вагинальных суппозиториев на протяжении 2-х лет хранения при комнатной температуре (18±2°С) и в условиях холодильника (4±1°С).

Суппозитории с Протефлазидом проявляют выраженную антивирусную активность и не оказывают местнораздражающего действия.

Результаты иммунофармакологических исследований показали, что Протефлазид имеет выраженное иммуномодулирующее влияние на Т- лимфоциты человека, снижая апоптозозависимость лимфоцитов. На фоне фитогемаглютинина (in vitro в процессе бласттрансформации) Протефлазид является ингибитором провоспалительного цитокина 1в-интерлейкина.

***Ключевые слова***: Протефлазид, вагинальные суппозитории, антивирусная активность, бласттрасформация.

**SUMMARY**

**Zidou Feras Mazen. Elaboration of composition, technology and investigation of vaginal suppositories with antiviral activity containing proteflazid. - A typescript**

Thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences in specialty 15.00.01 "Technology of drugs and organization of pharmaceutical business".- Danylo Halytsky Lviv National Medical University Ministry of Public Health of Ukraine, Lviv, 2008.

The thesis concerns on the elaboration of composition, technology and investigation of suppositories for the treatment of viral infections of urogenital system. For the first time theoretical of background, experimental composition and rational technology for the production of suppositories on hydrophylic base containing plant extract Proteflazid has been proposed. Quality control of the proposed preparation has been accomplished, methods of identification and quantitative analysis of active ingredients has been elaborated, and stability of developed suppositories during storage has been studied. Based on the results of immuno-pharmacological investigations, which revealed decreased apoptozodependancy of human lymphocytes, strong immunocorrective activity of Proteflazid was demonstrated. In vitro investigations of blast-transformation in the presence of phytohemagglutinin proved that Proteflazid acts as inhibitor of pro-inflammatory cytokine 1-B-interleukin.

**Key words**: Proteflazid, vaginal suppositories, antiviral activity, blast-transformation.

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