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

Міністерство охорони здоров’я України

Львівський державний медичний університет

ім. Данила Галицького

Макогонська Оксана Олегівна

 УДК: 615.28.012:619

**Опрацювання складу, технології та дослідження**

**лікарських форм з альбендазолом**

**для застосування у ветеринарній медицині**

15.00.01 - технологія ліків та організація фармацевтичної справи

А в т о р е ф е р а т

дисертації на здобуття наукового ступеня

 кандидата фармацевтичних наук

Львів - 2002

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі технології ліків з курсом промислової фармації Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького Міністерства охорони здоров’я України

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

**Калинюк Тимофій Григорович**

 Львівський державний медичний університет

 ім. Данила Галицького, завідувач кафедри технології

 ліків з курсом промислової фармації

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

 **Дмитрієвський Дмитро Іванович**

Національна фармацевтична академія України,

 завідувач кафедри організації та економіки фармації

 доктор фармацевтичних наук, професор

 **Головкін В’ячеслав Олександрович**

Запорізький державний медичний університет,

 завідувач кафедри технології ліків

Провідна організація: Київська медична академія післядипломної освіти

 ім. П.Л. Шупика, кафедра технології ліків і клінічної

 фармації

 Захист відбудеться 4 жовтня 2002 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 35. 600. 02 у Львівському державному медичному університеті ім. Данила Галицького за адресою: 79000, МСП, м. Львів, вул. Пекарська, 69.

 З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці університету (79000, м. Львів, вул. Січових Стрільців, 6).

 Автореферат розісланий 3 вересня 2002 р.

 Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 35. 600. 02,

 доцент Г.Д. Гасюк

Загальна характеристика роботи

**Актуальність теми.** Одним з найважливіших завдань ветеринарної фармації для забезпечення ефективного функціонування ринку ветеринарних препаратів є розвиток наукових досліджень у галузі створення нових високоефективних засобів. Серед таких засобів особливої уваги заслуговують антигельмінтики, оскільки своєчасні та ефективні профілактика і лікування гельмінтозів тварин є обов’язковими для зменшення економічних збитків у галузі тваринництва.

Гельмінтози свійських і промислових тварин є одним із значних факторів, що негативно впливають на ефективність тваринництва. Господарства, в яких вони зареєстровані, зазнають великих збитків - до 35% і більше. Відомо понад 2000 видів гельмінтів. Паразитуючи в організмі тварин, вони викликають порушення обміну речовин, пригнічення процесів окислення, послаблення дихання в тканинах, знижують імунологічну реактивність незалежно від виду збудника і типу міграції. Крім економічного, слід враховувати і соціальний аспект проблеми гельмінтозів. У тварин паразитує 67 видів гельмінтів, які є небезпечними і для здоров’я людини.

Асортимент вітчизняних високоефективних малотоксичних та економічно вигідних антигельмінтиків є невеликим, тому актуальним є здіснення робіт з пошуку нових засобів та удосконалення вже існуючих антигельмінтиків, зокрема вміщуючих альбендазол. Альбендазол (5-пропілтіо-2-метилкарбаміно-бензімідазол) ресинтезований працівниками Національного університету “Львівська політехніка” із застосуванням екологічно безпечних речовин. Опрацювання складу, технології та дослідження лікарських форм на основі ресинтезованого альбендазолу є актуальним для ветеринарної та фармацевтичної науки і практики.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом проблеми "Фармація" МОЗ України і є фрагментом комплексної науково-дослідної роботи Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького (№ держреєстрації 0197V000589, шифр теми ІМ.10.00.0001.96).

**Мета та завдання дослідження.** Метою роботи було опрацювання складу, технології та дослідження лікарських форм з альбендазолом для застосування у ветеринарній практиці.

Для досягнення цієї мети були поставлені наступні завдання:

* вивчити стан забезпечення ветеринарної медицини ветпрепаратами і перспективи створення вітчизняних антигельмінтних засобів;
* опрацювати методики якісного та кількісного аналізу 5-пропілтіо-2-метилкарбамінобензімідазолу;
* вивчити вплив допоміжних речовин на властивості суспензії та гранул з альбендазолом, встановити їх оптимальний склад та розробити раціональні технології суспензії і гранул з альбендазолом, а також скласти технологічні схеми їх виробництва;
* розробити методики стандартизації суспензії та гранул з альбендазолом;
* вивчити стабільність та встановити терміни придатності лікарських форм;
* визначити токсичність суспензії та гранул з альбендазолом;
* дослідити ефективність запропонованих ветеринарних препаратів;

- скласти нормативно-технічну документацію на "Альбендазолу суспензію 2,5%" та "Альбендазолу гранули 10%".

*Об’єкт дослідження* - 5-пропілтіо-2-метилкарбамінобензімідазол (альбендазол), суспензія та гранули з альбендазолом.

*Предмет дослідження* - стан реєстрації ветеринарних препаратів в Україні, якісний та кількісний аналіз альбендазолу; склад, технологія і стандартизація суспензії та гранул з альбендазолом.

*Методи дослідження* - бібліографічні, технологічні, хімічні, фізико-хімічні, мікробіологічні, біологічні, статистичні, математичне планування експерименту.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Узагальнено інформаційний матеріал, що висвітлює різні аспекти ветеринарної фармації.

Запропоновані оптимальні склади, технології та методики аналізу суспензії та гранул, що містять альбендазол як діючу речовину. Встановлено терміни придатності розроблених засобів.

Складено проекти та затверджено нормативно-технічну документацію на "Альбендазолу суспензію 2,5%" та "Альбендазолу гранули 10%" для застосування у ветеринарній практиці.

**Практичне значення одержаних результатів:**

* затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства агропромислового комплексу України та зареєстровані Державним комітетом України по стандартизації, метрології та сертифікації ТУ У 40.207101.042-2000 на субстанцію "Альбендазол", ТУ У 46.15.494-2000 "Альбендазолу суспензія 2,5%", ТУ У 46.15.495-2000 "Альбендазолу гранули 10%";
* затверджені Державним департаментом ветеринарної медицини Міністерства агропромислового комплексу України настанови по застосуванню "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%";
* результати дисертаційної роботи впроваджені у навчальний процес кафедри технології ліків з курсом промислової фармації фармацевтичного факультету Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького при створенні навчальної програми для елективного курсу “Основи ветеринарної фармації та біофармацевтичні аспекти технології засобів захисту тварин” (акт впровадження від "11" травня 2000 р.);
* результати дисертаційної роботи впроваджені у навчальний процес кафедри аптечної технології ліків Національної фармацевтичної академії України (акт впровадження від "7" червня 2000 р.).

**Особистий внесок здобувача:**

* проведено інформаційний пошук та аналіз даних літератури;
* підтверджено чистоту та ідентичність ресинтезованого альбендазолу;
* опрацьовано методики ідентифікації та кількісного визначення 5-пропіл-тіо-2-метилкарбамінобензімідазолу у субстанції та у лікарських формах;
* розроблено склад та технологію "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%";
* досліджено стабільність лікарських форм;
* складено технічні умови на субстанцію альбендазолу, а також технічні умови та настанови по застосуванню "Альбендазолу суспензії 2,5%", а також "Альбендазолу гранул 10%" у ветеринарній медицині.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи були представлені на Всеукраїнській конференції молодих науковців “Інформаційні технології в науці та освіті” (Черкаси, 1997); Міжнародній конференції PhD студентів (Мішкольц, Угорщина, 1997); Міжнародній конференції “Теорія і практика створення лікарських препаратів” (Харків, 1998); IV Європейському конгресі з фармацевтичних дисциплін (Мілан, Італія, 1998); V Національному з'їзді фармацевтів України (Харків, 1999); Світовому конгресі з фармації та фармацевтичних наук (Барселона, Іспанія, 1999); засіданні кафедри технології ліків з курсом промислової фармації Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького (Львів, 2002).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 13 робіт, у тому числі 4 статті - у фахових наукових виданнях, 9 робіт - у журналах, матеріалах і тезах конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається із вступу, п’яти розділів, загальних висновків, списку літератури та сімнадцяти додатків (66 с.). Загальний обсяг дисертації 195 сторінок. Робота ілюстрована 32 таблицями (29 с.) і 22 рисунками (10 с.).

Перелік використаної літератури включає 159 джерел, з них кирилицею - 105 та латиною - 54.

**Основний зміст дисертаційної роботи**

У **вступі** обгрунтовані вибір теми та її актуальність, сформульовані мета та завдання досліджень, відзначені наукова новизна та практичне значення отриманих результатів.

У **першому розділі** проведено огляд нормативних документів та літератури, які висвітлюють шляхи реалізації питань, що стосуються створення, стандартизації, виробництва та контролю ветеринарних препаратів, забезпечення їх якості, ефективності і нешкідливості у ЄС, США та Україні. Визначені основні завдання ветеринарної фармації. Важливим завданням ветеринарної фармації є створення безпечних для тварин, людей і довкілля препаратів, що містять антигельмінтні речовини, оскільки за специфікою захворювань тварин такі засоби часто застосовують у ветеринарній фармакотерапії.

У **другому розділі** обгрунтований вибір об’єктів та методів досліджень.

Альбендазол(5-пропілтіо-2-метилкарбамінобензімідазол) − синтетичний препарат з групи бензімідазолів, який має широкий спектр дії при гельмінтозах. Субстанція практично нерозчинна у воді, розчинна у неполярних розчинниках. Описаний спектр ПМР сполуки підтверджує структуру та чистоту альбендазолу. Структура субстанції підтверджена також даними ІЧ-спектроскопії. ІЧ-спектроскопічні дослідження лікарських форм, створених на основі даної субстанції, вказують на співпадіння характеристичних смуг поглинання у чистій субстанції і у лікарських формах. Наявність у складі гранул полівінілпіролідону частково зміщує смуги поглинання екзоциклічного та ендоциклічного зв’язків групи =NH.

Для якісного аналізу альбендазолу опрацювали методику ідентифікації методом тонкошарової хроматографії (чутливість 0,5 мкг). Як систему розчинників запропонували суміш ацетону і бензолу (1:1).

Кількісне визначення проводили методами неводного титрування (відносна похибка 1,71%), потенціометричного титрування (відносна похибка 2,05%), УФ-спектрофотометрії (відносна похибка 0,71 %) та високоефективної рідинної хроматографії.

У **третьому розділі** проведено аналіз стану світового та західноєвропейського ринків ветеринарних препаратів. Ведучим регіоном з продажу ветпрепаратів є Європа (29,9% світового продажу), значними є частки ринку Північної Америки (28,6%), Близького Сходу (18,8%) та Латинської Америки (11,8%). Великий обсяг ринку препаратів для ветеринарії є у США (найбільший національний ринок), Франції та Японії. Ведучими ринками Європи є Франція, Німеччина, Великобританія, Іспанія та Італія.

Більшу частину світового ринку, яка постійно зростає, складають фармакотерапевтичні засоби, значною є частка кормових добавок і найменшою - біологічних засобів. Збільшення частки фармакотерапевтичних препаратів зумовлене засобами для лікування та контролю паразитарних захворювань та антибактеріальними засобами.

Препарати для великої рогатої худоби, овець та кіз традиційно домінували на світовому ринку. Від усіх засобів захисту тварин вони складають 60%. Проте з початку 90-их років ринок продуктів для свійської птиці та домашніх тварин почав зростати.

Суттєві відмінності структури регіональних ринків зумовлені кліматичними особливостями, розподілом популяцій худоби, видами тваринницьких господарств.

Завдяки співробітництву з іншими державами розширюється асортимент ветеринарних препаратів, які надходять в Україну.

Найбiльше ветпрепаратів ввозять в Україну з Нiмеччини. Зокрема зареєстрованi i надходять препарати фiрм Bayer AG, BASF, LAH, ani Medica West. Високоефективними є iмунопрепарати та антибiотики голландської фiрми Intervet International B.V. Фірма Sanofi (Франція) пропонує протипаразитарнi препарати та антибiотики. У номенклатурi американських фiрм переважають вакцини та антибiотики. Швейцарськi фiрми виробляють протипаразитарнi препарати та вiтамiни Ровiмiкс.

Зареєстровані імпортні ветеринарні препарати виробляються у різних лікарських формах. Найпоширенішими лікарськими формами протимікробних засобів є ін’єкційні розчини та порошки для внутрішнього застосування. Антипаразитарні засоби застосовують зовнішньо у вигляді розчинів для купання, аерозолів та нашийників, а також - пероральних форм та ін’єкційних розчинів.

Серед зареєстрованих в Україні ветпрепаратів переважають протимікробні (34,07%) препарати, що співпадає з тенденціями світового ринку засобів захисту тварин. На другому місці - вітамінні та мінеральні засоби (27,59%), далі біологічні засоби (17,96%) та протипаразитарні препарати (15,18%).

 Вагому частину серед зареєстрованих ветеринарних препаратів в Україні складають антигельмінтики. Аналіз їх номенклатури показав доцільність створення вітчизняних засобів з альбендазолом.

У **четвертому розділі** представлені результати досліджень з обгрунтування складів та технологій лікарських форм з альбендазолом.

Зважаючи на фізико-хімічні та фармакокінетичні параметри (практична нерозчинність у воді, низька біодоступність, висока адсорбційна здатність, швидкий метаболізм в печінці до сульфоксиду і сульфону), відповідною лікарською формою альбендазолу є пероральна суспензія. 2,5% концентрація діючої речовини вибрана з врахуванням загально прийнятого дозування альбендазолу для тварин. Суспензія альбендазолу 2,5% у воді без додавання допоміжних речовин є седиментаційно нестійкою. Практично відразу проходить повне відділення твердої фази у вигляді осаду, рідина над яким залишається прозорою. Таким чином, для запобігання агрегації і сповільнення осідання частинок дисперсної фази до складу суспензії альбендазолу необхідно вводити стабілізатори (згущувачі і поверхнево-активні речовини). Швидкість седиментації суспензії залежить від різниці густин дисперсної фази і дисперсійного середовища, а також від в’язкості останнього. Чим меншою є різниця густин і вищою в’язкість дисперсійного середовища, тим стабільнішою є суспензія. Як стабілізатори ми використовували метилцелюлозу, полівініловий спирт, полівінілпіролідон, гліцерин, гліцирам, бентоніт, аеросил.

Стабільність суспензій оцінювали, порівнюючи седиментаційну стійкість та ресуспендованість. Ресуспендованість порівнювали на основі кількості струшувань, необхідних для повного відновлення однорідності суспензії (час зберігання − 1, 2, 7, 14, 30, 90 діб).

Лікарські форми з бентонітом, гліцирамом мали вищу швидкість седиментації; суспензії, які вміщували метилцелюлозу (речовину значно збільшуючу в’язкість дисперсної системи), відстоюються повільно. Ресуспендованість суспензій знижували 5% розчин метилцелюлози, полівініловий спирт, бентоніт; дуже важко ресуспендувались суспензії, у яких поєднували 5% розчин метилцелюлози і гліцерин, а також 5% розчин метилцелюлози і полівініловий спирт. Нестабільними були суспензії з аеросилом. На основі проведених досліджень як стабілізатори суспензії було обрано твін-80 та полівінілпіролідон.

Наступним етапом дослідження був вибір консерванту для запобігання проліферації або обмеження мікробної контамінації під час зберігання та застосування препарату. Ефективність консервантів оцінювали мікробіологічно, використовуючи тестові мікроорганізми: Esherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Zygosaccharomyces rouxii та нитчастий гриб Aspergillus niger.

Дослідження проводилися при безпосередньому контакті мікроорганізмів та лікарської форми (метод прямого посіву) та методом дифузії в агар. Вивчали шість прописів 2,5% суспензії альбендазолу з різними консервантами (бензиловий спирт 1%, бензиловий спирт 2%, кислота сорбінатна 0,2%, кислота бензоатна 0,1%, кислота бензоатна 0,15%, кислота бензоатна 0,2%) і один склад без консервантів, інші інгредієнти суспензій були однаковими у всіх досліджуваних зразках.

Ефективність консерванту є адекватною, якщо спостерігається значне зменшення або немає підвищення кількості мікроорганізмів у “щепленому” препараті при відповідній температурі за час спостереження. Відсутність росту мікроорганізмів на згаданих вище середовищах для тестування свідчить про антимікробну дію консервантів.

Антимікробну діюконсервантів вивчали на агарових пластинках з відповідними для тест-мікроорганізмів поживними субстратами. На посіяніпоживні середовища у лунки вносили зразки суспензії з різними консервантами. Після інкубації в термостаті (при відповідних для кожного виду тест-мікроорганізму умовах та термінах)здійснювали облік антимікробної дії, визначаючи зони затримки росту тест-мікроорганізмів (результати наведені у табл. 1).

Таблиця 1

Результати дослідження антимікробної дії консервантів методом дифузії в агар

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| КонсервантМікроорганізм | Бензиловий спирт 1% | Бензиловий спирт 2% | Кислота сорбінатна 0,2% | Кислота бензоатна 0,1% | Кислота бензоатна 0,15% | Кислота бензоатна 0,2% |
| Staphylococcus aureus | ++ | ++ | +++++ | ++++ | +++++ | +++++ |
| Esherichia coli | ++ | ++ | ++ | + | ++ | + |
| Pseudomonas aeruginosa | − | ++ | ++ | − | + | − |
| Candida albicans | − | + | + | ++ | ++++ | +++++ |
| Zygosaccharomyces rouxii | + | − | + | +++++ | ++ | ++ |
| Aspergillus niger | +++++ | +++++ | ++++ | +++++ | ++ | ++++ |

Зона затримки росту (середнє арифметичне з 5 вимірів): “−” − нижче 11 мм

 “+” − від 11 до 12 мм

 “++” − від12 до 13 мм

 “+++” − від 13 до 14 мм

 “++++” − від 14 до 15 мм

 “+++++” − понад 15 мм

Досліди з вивчення антимікробної активності консервантів показали, що всі вони проявляють активність в дослідних середовищах і в різній мірі пригнічують розмноження тест-мікроорганізмів.

Проведені дослідження показали доцільність використання бензоатної кислоти, як консерванту, для приготування 2,5% суспензії альбендазолу.

Зважаючи на фізико-хімічні властивості альбендазолу та допоміжних речовин запропонована технологія та опрацьована технологічна схема "Альбендазолу суспензії 2,5%" (рис 1).

 Оскільки застосування альбендазолу у формі суспензії є ускладнене для деяких видів тварин, а також з метою спрощення домішування до корму, ми розробили склад та технологію гранул з альбендазолом. Застосування альбендазолу у формі гранул забезпечує вищу точність дозування у порівнянні з порошком, як лікарською формою, усуває пилючість субстанції, спрощує введення тваринам, дозволяє пролонгувати контакт діючої речовини і паразита.

З метою врахування взаємодії факторів, скорочення кількості дослідів при опрацюванні складу і технології гранул з альбендазолом та економії лікарських та допоміжних речовин ми використали математичний метод планування експерименту - план дисперсійного аналізу.

Для встановлення впливу природи допоміжних речовин на якість гранул на першому етапі вивчали якісні фактори, перелік яких наведений у табл. 2.

Таблиця 2

Фактори та їх рівні, що вивчались при опрацюванні складу гранул

|  |  |
| --- | --- |
| Фактори | Рівні факторів |
| A - наповнювачі(структуроутворюючі речовини) | а1 - лактозаа­­­2 - цукора­3 - крохмаль картопляний+лактоза (1:1)а4 - крохмаль картопляний+цукор (1:1) |
| В - зв’язуючі речовини | b1 - 15%розчин полівінілпіролідону b2 - цукровий сиропb3 - 3% крохмальний клейстерb4 - 3% розчин метилцелюлози |
| С - розпушуючі речовини | с1 - аеросилс2 - крохмаль картопляний с3 - бентоніт с4 - крохмаль картопляний+натрію альгінат (1:1) |

Для вивчення трьох факторів, що змінювались на однаковому числі рівнів використовували латинський квадрат 4х4. Таким чином, отримали 16 складів гранул з різною комбінацією допоміжних речовин.

Гранули готували з використанням методу вологого гранулювання. Змішували подрібнені і просіяні наповнювач (80 частин), альбендазол (10 частин) і розпушуючу речовину (10 частин). Одержану суміш зволожували розчином зв'язуючої речовини до необхідної консистенції. Вологу масу протирали через сито №3 (діаметр отворів 3 мм), гранулят висушували при температурі 60°С. Повторне гранулювання (регранулювання) проводили через сито №3.

Для кожного складу були визначені наступні показники: міцність на стирання (y1), гранулометричний склад (y2), час розпадання (y3). Для того, щоб оцінити і зменшити помилку експерименту, досліди були реалізовані у двох повторностях.

Був проведений дисперсійний аналіз експериментальних даних з визначення міцності гранул на стирання, гранулометричного складу та часу розпадання гранул. Результати дисперсійного аналізу показали, що на міцність гранул на стирання, гранулометричний склад та час розпадання гранул статистично значимо впливають всі три фактори та res.

Порівняння середніх значень для кожного з факторів за допомогою рангового критерію Дункана не дає однакового ряду переваг при різних відгуках, тому доцільним є визначення узагальнюючої функції бажаності і вибір композиції для подальшого вивчення на основі значення узагальнюючого показника.

На підставі дисперсійного аналізу експериментальних даних, які отримали за допомогою функції бажаності, можна зробити висновок, що всі три фактори та res статистично значущі: С > В > res > А. Порівняння середніх значень рівнів для фактора С дає наступний ряд переваг с2 > с4> с3 > с1; для фактора В: b1 > b2 > b3  > b4; для фактора А : а2 > а1 > а4 > а3. Кращим поєднанням рівнів факторів є а2b1с2. Така композиція зустрічається в матриці плану експерименту, для якої y1 (міцність на стирання) - 97,18% та 96,88%, y2 (гранулометричний склад) - 94,50% та 93,30%, y3 (час розпадання) - 2,4 хв. та 2,5 хв. Значення узагальнюючої функції бажаності для цього складу є найвищим - 0,87 та 0,82. Обрана комбінація рівнів підлягала детальнішому вивченню.

Для встановлення оптимального складу гранул необхідним є підбір концентрації і кількості розчину зв’язуючої речовини та кількості розпушувача, оскільки ці фактори суттєво впливають на якість готової лікарської форми. Тому на наступному етапі досліджень вивчали перелічені фактори (табл. 3).

 Таблиця 3

Фактори та їх рівні, які вивчались при опрацюванні оптимального складу гранул

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Фактори | Інтервал варіювання  | Рівні факторів |
| Нижня зоряна точка"- α" | Нижній" - " | Основний" 0 " | Верхній" +" | Верхня зоряна точка"+ α" |
| х1 - кількість крохмалю, %  | 5 | 1,59 | 5 | 10 | 15 | 18,41 |
| х2 - концентрація розчину полівінлпіролідону, % | 10 | 8,3 | 10 | 12,5 | 15 | 16,7 |
| х3 - кількість розчину полівінлпіролідону, % | 10 | 8,3 | 10 | 12,5 | 15 | 16,7 |

Для дослідження вибрали симетричний ротабельний композиційний план для вивчення трьох факторів із 8 дослідами у ядрі, 6 - у центрі плану і загальною кількістю дослідів -20.

Спочатку був реалізований повний факторний експеримент типу 23 (табл. 4, досліди 1-8). За результатами експерименту було одержано рівняння регресії, у якому статистично значимими були коефіцієнти. У зв’язку з цим виникла необхідність побудови рівняння другого порядку, враховуючи ефекти взаємодії, і добудови матриці експерименту, в умовах якого фактори вивчалися у верхній та нижній зоряних точках (табл. 4, досліди 9-14). Дисперсію визначали за результатами дослідів, реалізованих у центрі плану експерименту (табл. 4, досліди 15-20).

Таблиця 4

Матриця планування експерименту за симетричним композиційним рота-бельним уніформ-планом другого порядку і результати дослідження гранул

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Номер досліду | х1 | х2 | х3 | Y1, міцність на стирання, % | Y2, грануло-метричний склад, % | Y3, час розпадання, хв. |
| 1 | + | + | + | 99,24 | 100 | 4 |
| 2 | - | + | + | 95,24 | 89,81 | 10,5 |
| 3 | + | - | + | 99,75 | 100 | 4,5 |
| 4 | - | - | + | 94,71 | 77,43 | 9,5 |
| 5 | + | + | - | 93,93 | 71,7 | 2,5 |
| 6 | - | + | - | 95,32 | 69,42 | 3,5 |
| 7 | + | - | - | 95,68 | 85,8 | 2,5 |
| 8 | - | - | - | 94,93 | 68,24 | 3,5 |
| 9 | +1,682 | 0 | 0 | 94,18 | 80,55 | 2,5 |
| 10 | -1,682 | 0 | 0 | 89,76 | 52,36 | 8,5 |
| 11 | 0 | +1,682 | 0 | 99,88 | 98,14 | 4,5 |
| 12 | 0 | -1,682 | 0 | 99,57 | 94,38 | 3,5 |
| 13 | 0 | 0 | +1,682 | 98,41 | 100 | 6,5 |
| 14 | 0 | 0 | -1,682 | 95,26 | 65,11 | 1,5 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 98,09 | 96,25 | 3,5 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 98,02 | 96,25 | 3,5 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 99,26 | 98,57 | 3 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 98,87 | 97,04 | 3,5 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 98,05 | 96,98 | 3,5 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 97,9 | 94,87 | 3 |

 Взаємозв’язок між вивченими факторами та міцністю гранул до стирання описується рівнянням: y1=98,30+1,16x1-0,06x2+1,05x3-0,4x1x2+1,21x1x3+0,17x2x3-2,24x12+0,5x22-0,52x32. У рівнянні статистично незначимими є коефіцієнти b2, b12 та b23.

Залежність "фактори - гранулометричний склад" описується рівнянням:

y2=96,54+7,32x1+0,42x2+9,57x3-3,46x1x2+1,62x1x3+3,16x2x3-10,26x12+0,28x22-4,57x32, у якому статистично незначимими є коефіцієнти b2 та b22.

Вплив вивчених факторів на час розпадання гранул описується рівнянням:

y3=3,31-1,73x1+0,16x2+1,82x3-0,19x1x2-1,19x1x3+0,06x2x3+0,87x12+0,34x22+0,34x32, у якому статистично незначимими є коефіцієнти b2 та b23.

Оскільки у всіх рівняннях регресії є статистично значимі коефіцієнти парних взаємодій і квадратичні коефіцієнти, ми перейшли до побудови графічних однофакторних залежностей “фактор (х) – параметр оптимізації (у)”. Аналіз оптимальних комбінації рівнів факторів за впливом на міцність гранул на стирання, гранулометричний склад та час розпадання дозволив запропону-вати оптимальний склад та технологічну схему виробництва "Альбендазолу гранул 10%" (рис.2).

 У **п’ятому розділі** представлено результати проведеної роботи зі стандартизації та дослідження лікарських форм з альбендазолом.

З метою стандартизації лікарських форм ми опрацювали методики оцінки якості, що включають визначення фізико-хімічних показників, тотожності та кількісного вмісту діючої речовини у "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранулах 10%". Тотожність альбендазолу встановлювали методом УФ-спектрофотометрії та методом тонкошарової хроматографії. Для визначення кількісного вмісту альбендазолу у суспензії і гранулах опрацьована методика УФ-спектрофотометрії. Опрацьовані методики стандартизації лікарських форм (ідентичність та кількісне визначення діючої речовини, значення рН; густина та відносна в’язкість (для суспензії); час розпадання, гранулометричний склад та міцність на стирання (для гранул) є об’єктивними та відзначаються доброю репродуктивністю результатів. Таким чином, за фізико-хімічними показниками "Альбендазолусуспензія 2,5%" повинна відповідати характеристикам і значенням, що наведені в табл. 5, а "Альбендазолу гранули 10%" - в табл. 6.

Таблиця 5

Показники якості "Альбендазолусуспензії 2,5%"

|  |  |
| --- | --- |
| Назва показника | Значення |
| Значення рН | 3,5 - 5,5 |
| Значення густини, г/см3 | 0,99 - 1,03 |
| Відносна в'язкість | 1,2 - 1,4 |
| Ідентичність | Позитивна |
| Масова частка альбендазолу, % | 2,25 - 2,75 |

Таблиця 6

Показники якості "Альбендазолу гранул 10%"

|  |  |
| --- | --- |
| Назва показника | Значення |
| Гранулометричний склад, % | розміром 3мм не менше 95% |
| Час розпадання (хв.) | 4 - 6 |
| Ідентичність | Позитивна |
| Масова частка альбендазолу , % | 9,0 - 11,0 |

Мікробіологічна чистота лікарських форм значною мірою визначає їх якість та стабільність. Мікробіологічні дослідження "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%"проведені на кафедрі мікробіології Львівського державного медичного університету ім. Данила Галицького. Визначення мікробіологічної контамінації "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%" показало, що посіви, обліковані через 48 годин для встановлення бактеріального та через 52 години для виявлення мікозного забруднення не дали позитивних результатів, тобто посіви виявилися стерильними. Враховуючи, що для посіву брали 1 мл препарату розведеного 1:10, можна стверджувати, що на 1 г досліджуваного засобу є менше 10 мікроорганізмів, утворюючих колонії (бактерій або грибів).Аналогічні результати були отримані при обліку посівів через 5 діб інкубації в термостаті.

У зв’язку з тим, що посіви виявилися стерильними, ми не мали змоги ідентифікувати мікроорганізми. Отже, у зразках не виявлено ознак фекального (Esherichia coli, Pseudomonas aeruginosa), мануального (Staphylococcus aureus) та мікозного (Candida albicans, Zygosaccharomyces rouxii, Aspergillus niger) забруднення. Відсутність росту через 5 діб свідчить про відсутність у зразках спороутворюючих аеробних мікроорганізмів.

Було також вивчено вплив умов зберігання на фізико-хімічні властивості суспензії та гранул з альбендазолом. Кількісний вміст альбендазолу та фізико-хімічні показники залишаються протягом 24 місяців (термін зберігання) практично незмінними, що свідчить про стабільність "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%" і дозволяє рекомендувати термін придатності - 2 роки.

Токсикологічні дослідження та виробниче випробування препаратів "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%" при шлунково-кишкових нематодозах та фасціольозах тварин були проведені на базі Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок.

Встановлено, що при внутрішньошлунковому введенні за класифікацією небезпеки речовин препарат “Альбендазолу суспензія 2,5%” належить до IV класу токсичності, тобто до малотоксичних препаратів, де ЛД50 43560 (28760-58388) мг/кг, а препарат “Альбендазолу гранули 10%” – до ІІІ класу токсичності, тобто до помірно шкідливих препаратів, де ЛД50 = 3444,4 (2703 – 4185,8) мг/кг. Із перерахунку на діючу речовину, дані препарати належать до ІІІ класу токсичності.

в и с н о в к и

1. Антигельмінтні препарати групи бензімідазолу широко використо-вуються для терапії та профілактики гельмінтозів у більшості країн світу. На основі проведеного аналізу реєстрації ветеринарних препаратів в Україні встановлено актуальність опрацювання вітчизняних антигельмінтних засобів на основі альбендазолу - синтетичної речовини з групи бензімідазолів, що має широкий спектр дії проти більшості гельмінтозів тварин.
2. За допомогою ПМР- та ІЧ-спектрів сполуки встановлено ідентичність і чистоту альбендазолу. Опрацьовано методики ідентифікації альбендазолу методами тонкошарової хроматографії та УФ-спектрофотометрії. Модифіковано фармакопейну методику кількісного визначення альбендазолу у субстанції методом неводного титрування (відносна похибка - 1,71%), опрацьовано методики кількісного визначення у субстанції методом потенціометричного титрування (відносна похибка 2,05%) та визначення як у субстанції, так і у лікарських формах методом УФ-спектрофотометрії (відносна похибка 0,71 %). Опрацьовані методики ідентифікації та кількісного визначення альбендазолу методом високоефективної рідинної хроматографії. Відносна похибка аналізу альбендазолу не перевищує 2,05%.
3. На основі технологічних та мікробіологічних досліджень розроблено оптимальні склади та раціональні технології "Альбендазолу суспензії 2,5%", а також "Альбендазолу гранул 10%". Для обгрунтування складу гранул з альбендазолом проводили технологічні дослідження з використанням плану дисперсійного аналізу та симетричного ротабельного композиційного плану для вивчення трьох факторів з метою врахування взаємодії факторів і скорочення кількості дослідів.
4. Для стандартизації розроблених лікарських форм і встановлення терміну їх придатності опрацьовані методики контролю якості суспензії та гранул за наступними показниками: ідентичність (методи тонкошарової хроматографії та УФ-спектрофотометрії), кількісне визначення (метод УФ-спектрофотометрії), значення рН; густина та відносна в’язкість (для суспензії); час розпадання, гранулометричний склад та міцність на стирання (для гранул).
5. Вивчено вплив зберігання на фізико-хімічні властивості суспензії та гранул з альбендазолом. Показники якості залишаються практично незмінними протягом 24 місяців (термін зберігання), що свідчить про стабільність "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%" і дозволяє встановити дворічний термін придатності.
6. На основі токсикологічних досліджень встановлено, що засіб захисту тварин “Альбендазолу суспензія 2,5%” належить до малотоксичних препаратів, а “Альбендазолу гранули 10%” – до помірно шкідливих препаратів.
7. Встановлено високу терапевтичну ефективність “Альбендазолу суспензії 2,5%” при нематодозах та трематодозах овець і ВРХ та “Альбендазолу гранул 10%” при нематодозах овець, ВРХ, свиней; при трематодозах овець та ВРХ і цестодозах собак.

9. За результатами проведених досліджень підготовлено нормативно-технічну документацію на опрацьовані ветеринарні препарати. Складені та затверджені ТУ У 40.207101.042-2000 на субстанцію "Альбендазол", ТУ У 46.15.494-2000 на "Альбендазолу суспензію 2,5%", Настанова по застосуванню препарату "Альбендазолу суспензія 2,%" у ветеринарній медицині, ТУ У 46.15.495-2000 на "Альбендазолу гранули 10%", Настанова по застосуванню препарату "Альбендазолу гранули 10%" у ветеринарній медицині.

**Список опублікованих праць за темою дисертації:**

1. Макогонська О.О., Калинюк Т.Г., Косенко Ю.М. Аналіз ринку засобів захисту тварин // Фарм. журн. - 1999. - №1. - С. 23-26. (Особистий внесок здобувача: проаналізовані стан світового та західноєвропейського ринків ветеринарних препаратів та номенклатура ветпрепаратів, зареєстрованих в Україні.)
2. Калинюк Т.Г., Макогонська О.О., Коцюмбас І.Я. Ветеринарна фармація на сучасному етапі // Вісник фармації. - 1999. - №2 (20). - С. 170-172. (Особистий внесок здобувача: визначені основні завдання ветеринарної фармації, висвітлені шляхи реалізації питань, що стосуються створення, стандартизації, виробництва та контролю засобів захисту тварин, забезпечення їх якості, ефективності і нешкідливості, у ЄС, США та Україні.)
3. Макогонська О.О., Калинюк Т.Г., Петрус В.С. Обгрунтування складу 2,5% пероральної суспензії альбендазолу на основі технологічних і мікробіологічних досліджень // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. Вип. 4. - Запоріжжя. - 1999. - С. 57-60. (Особистий внесок здобувача: проведено мікробіологічні дослідження та обгрунтовано введення консерванту при опрацюванні складу та технології суспензії з альбендазолом.)
4. Макогонська О.О. Опрацювання складу та технології “Альбендазолу гранул 10%” для лікування гельмінтозів тварин // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики. Вип.VI. - Запоріжжя. - 2000. - С. 85-88. (Особистий внесок здобувача: проведено технологічні дослідження з опрацювання технології гранул з альбендазолом з використанням методів математичного планування експерименту.)
5. Дослідження нових лікарських форм антигельмінтиків з альбендазолом / Р. Хом’як, Ж. Періг, Н. Кружель, І. Патерега, О. Тішин, І. Царик, Т. Калинюк, О. Макогонська, В. Лубинець // Ветеринарна медицина України. - 2001. - № 2. - С. 14-15. (Особистий внесок здобувача: опрацьовані склад, технологія та методи аналізу суспензії та гранул з альбендазолом.)
6. Макогонська О., Калинюк Т. Лікарська форма альбендазолу для лікування гельмінтозів// Матеріали міжнародної конференції “Теорія і практика створення лікарських препаратів” - Харків. - 1998. - С. 159-162. (Особистий внесок здобувача: обгрунтовано вибір стабілізаторів при опрацюванні технології суспензії з альбендазолом та проведено якісний та кількісний аналіз діючої речовини.)
7. Макогонська О.О. Засоби захисту тварин // Аптека Галицька. - 1999. - № 6. - С. 17-18. (Особистий внесок здобувача: висвітлено основні аспекти виробництва, дистрибуції та застосування ветеринарних препаратів.)
8. Критерії нешкідливості продуктів і сировини тваринного походження / М.В. Косенко, Ю.М. Косенко, О.С. Везденко, О.О. Макогонська // Матеріали V національного з'їзду фармацевтів України “Досягнення сучасної фармації та перспективи розвитку у новому тисячоліттті” - Харків. - 1999. - С. 383-384. (Особистий внесок здобувача: визначене поняття нешкідливості ветеринарних препаратів, представлено критерії нешкідливості, які регламентуються нормативними документами ЄС.)
9. Макогонська О., Калинюк Т. Інформаційне забезпечення з ветеринарної фармації у мережі Internet // Інформаційні технології в науці та освіті. - Черкаси. - 1997. - С. 119-125. (Особистий внесок здобувача: представлено основні сторінки мережі Інтернет, які є корисними при пошуку інформації з ветеринарної фармації.)
10. Makohonska O., Kalynyuk T. The pharmaceutical market of animal drugs // International conference of PhD students, Conference Proceeding. - Hungary, Miskolc, 1997. - P. 58-59. (Особистий внесок здобувача: проаналізовано номенклатуру ветеринарних препаратів, які зареєстровані в Україні.)
11. The development of formulated preparation with albendazole / O. Makohonska, T. Kalynyuk, L. Zarooma, Y. Kosenko, V. Lubinec’ // Fourth European Congress of Pharmaceutical Sciences. - Italy. - Milan. - September 11-13, 1998. - Journal of Pharmaceutical Sciences. Supplement. - P. 68. (Особистий внесок здобувача: проведено технологічні та фізико-хімічні дослідження суспензії з альбендазолом.)
12. The investigation of solid preparation with albendazole / O. Мakohonska, T. Kalynyuk, L. Zarooma, I. Kocyumbas, R. Chomyak // World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 59th International Congress of FIP. - Barcelona. - September 5-10, 1999. - P. 39. (Особистий внесок здобувача: проведено технологічні та фізико-хімічні дослідження гранул з альбендазолом.)
13. N. Herbolka, O. Makohonska The development of granules for treatment of helminthiassis // 2nd International conference of PhD students: Section proceeding. - Hungary, Miskolc, 1999. - P. 47. (Особистий внесок здобувача: обгрунтовано вибір допоміжних речовин при опрацюванні складу гранул з альбендазолом з використанням методу мате-матичного планування експерименту латинський квадрат 4х4.)

Макогонська О. О. Опрацювання складу, технології та дослідження лікарських форм з альбендазолом для застосування у ветеринарній медицині. - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.01 - технологія ліків та організація фармацевтичної справи. - Львівський державний медичний університет ім. Данила Галицького, Львів, 2002.

В дисертаційній роботі представлено аналіз ринку засобів захисту тварин, динаміку реєстрації нових препаратів для застосування у ветеринарній практиці. Дисертація містить результати експериментальних досліджень щодо підтвердження структури 5-пропілтіо-2-метилкарбамінобензімідазолу, якісного та кількісного аналізу сполуки. Наведені результати досліджень з обгрунтування складу та технології "Альбендазолу суспензії 2,5%" та "Альбендазолу гранул 10%" для лікування гельмінтозів тварин. Опрацьовано методики стандартизації та встановлено термін придатності лікарських форм на основі їх досліджень в процесі зберігання. Подано результати визначення гострої токсичності та терапевтичної ефективності створених засобів при нематодозах, трематодозах та цестодозах тварин.

Ключові слова: ветеринарні препарати, альбендазол, антигельмінтні препарати, суспензія, гранули, технологія, аналіз, стандартизація, гостра токсичність, терапевтична ефективність.

Макогонская О.О. Разработка состава, технологии и исследование лекарственных форм с альбендазолом для применения в ветеринарной медицине. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.01 - технология лекарств и организация фармацевтического дела. - Львовский государственный медицинский университет им. Данила Галицкого, Львов, 2002.

В диссертационной работе представлен анализ рынка ветеринарных препаратов, динамика регистрации новых препаратов для применения в ветеринарной практике.

Диссертация содержит результаты экспериментальных исследований относительно подтверждения структуры 5-пропилтио-2-метилкарбамино-бензимидазола, качественного и количественного анализа соединения. Спектр ПМР состава подтверждает структуру и чистоту альбендазола. Также структура субстанции подтверждена данными ИЧ-спектроскопии. Для качественного анализа альбендазола разработана методика идентификации методом тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии. Количественное определение проведено методами неводного и потенциометрического титрования, а также УФ-спектрофотометрии (относительная погрешность методов 1,71%, 2,05% и 0,71 % соответственно).

Приведены результаты исследований по обоснованию состава и технологии "Альбендазола суспензии 2,5%" и "Альбендазола гранул 10%" для лечения гельминтозов животных.

Суспензия альбендазола 2,5% в воде без добавления вспомогательных веществ является седиментационно-нестойкой. При исследовании устойчивости готовили 2,5% суспензию альбендазола с различными вспомогательными веществами, в состав вводили загуститель и поверхностно-активные вещества. Стабильность суспензий оценивали на основании седиментационной устойчивости и ресуспендирования. Лекарственные формы с бентонитом, глицирамом имели большую скорость седиментации; суспензии, которые содержали метилцеллюлозу (вещество значительно увеличивающее вязкость дисперсной системы), отстаиваются медленно. Ресуспендирование суспензий снижали 5% раствор метилцеллюлозы, поливиниловый спирт, бентонит, очень трудно ресуспендировались суспензии, в которых совмещали 5% раствор метилцеллюлозы и глицерин, а также 5% раствор метилцеллюлозы и поливиниловый спирт. Нестабильными были суспензии с аэросилом.

Следующим этапом исследования был выбор консерванта для предотвращения пролиферации или ограничения микробной контаминации во время хранения и применения препарата. Эффективность консервантов оценивали микробиологически, используя тестовые микроорганизмы: Esherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Zygosaccharomyces rouxii и нитчатый гриб Aspergillus niger. Исследования проводили при непосредственном контакте микроорганизма и лекарственной формы (метод прямого посева) и методом диффузии в агар. Изучали шесть прописей 2,5% суспензии альбендазола с различными консервантами (бензиловый спирт 1%, бензиловый спирт 2%, кислота сорбинатная 0,2%, кислота бензоатная 0,1%, кислота бензоатная 0,15%, кислота бензоатная 0,2%).

Проведенные исследования показали целесообразность использования твина-80 и поливинилпиролидона, как стабилизаторов, и бензоатной кислоты, как консерванта, для приготовления 2,5% суспензии альбендазола.

Применение альбендазола в форме гранул обеспечивает более высокую точность дозирования по сравнению с порошком, как лекарственной формой, устраняет распыляемость субстанции, упрощает введение животным, позволяет пролонгировать контакт действующего вещества и паразита.

С целью повышения эффективности многофакторного эксперимента и сокращения количества опытов при разработке состава и технологии гранул с альбендазолом использован план дисперсионного анализа. Изучали влияние на качество гранул наполнителей (лактоза, сахар, крахмал картофельный+лактоза (1:1), крахмал картофельный+сахар (1:1); связывающих веществ (поливинилпиролидон, сахар, крахмал картофельный, метилцеллюлоза) и разрыхлителей (аэросил, крахмал картофельный, бентонит, крахмал картофельный+натрия альгинат (1:1). Соответственно плану эксперимента исследованы композиции с различной комбинацией вспомогательных веществ. Для каждой композиции определяли прочность на истирание, гранулометрический состав и время распадания. На основе дисперсионного анализа была выбрана комбинация вспомогательных веществ, которая подлежала более детальному изучению с целью установления количества разрыхлителя, концентрации и количества раствора связывающего вещества.

Разработаны методики оценки качества предложенных препаратов за следующими показателями: идентичность (методы тонкослойной хроматографии и УФ-спектрофотометрии), количественное определение (метод УФ-спектрофотометрии), значение рН; плотность и относительная вязкость (для суспензии); время распадания, гранулометрический состав и прочность на истирание (для гранул). Установлен строк пригодности лекарственных форм на основе их исследований в процессе хранения.

В результате определения острой токсичности установлено, что при внутрижелудочном введении согласно классификации опасности веществ, препарат “Альбендазола суспензия 2,5%” относится к IV классу токсичности, то есть к малотоксичным препаратам, а препарат “Альбендазола гранулы 10%” - к ІІІ классу токсичности, то есть к умеренно вредным препаратам.

Была проведена производственная апробация препаратов при желудочно-кишечных нематодозах, фасциольозах и цестодозах животных.

Ключевые слова: ветеринарные препараты, альбендазол, антгельминтные препараты, суспензия, гранулы, технология, анализ, стандартизация, острая токсичность, терапевтическая эффективность.

Makohonska O.O. The working out of composition and technology and studies of pharmaceutical forms with albendazole for usage in veterinary medicine. - Manuscript.

The thesis of the Master Degree of Pharmacy in speciality 15.00.01 - drugs technology and organization of pharmacy business. - Danylo Halytskiy Lviv State Medical University, Lviv, 2002.

The analysis of animal health products market and the dynamic of new product registration are established in the dissertation. The thesis contains the results of experimental research on structure confirmation of 5-propylthio-2-methylcarbaminobenzimidazole, quality and quantity analysis of compound. The study results of substantiation of composition and technology of "Albendazole suspension 2,5%" and "Albendazole granules 10%" are presented for treatment of helminthiasis of animal. The methods of standardization are working out and the term of use is determined according to their research during storage. There are presented the results of acute toxicity determination and therapeutic efficacy of products for nematodosis, cestodosis, trematodis of animals.

Key words: animal health products, albendazole, anthelmintics, suspension, granules, technology, analysis, standardization, acute toxicity, therapeutic afficacy.

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