МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КАЛЮЖНАЯ ОЛЬГА СЕРГІЇВНА

УДК 615.014.2:615.454.2:579.864

РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ СУПОЗИТОРІЇВ З ПРОБІОТИКАМИ

15.00.01 – технологія ліків та організація фармацевтичної справи

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2010

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі біотехнології Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров'я України.

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
СТРЕЛЬНИКОВ ЛЕОНІД СЕМЕНОВИЧ,
Національний фармацевтичний університет,
завідувач кафедри біотехнології.

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор
ГЛАДУХ ЄВГЕНІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ,
Національний фармацевтичний університет,
професор кафедри промислової фармації;

кандидат фармацевтичних наук,
старший науковий співробітник
КОЗЛОВА НЕЛЛІ ГЕОРГІЇВНА,
Державне підприємство «Державний науковий центр лікарських засобів» МОЗ України, м. Харків,
провідний науковий співробітник
сектору супозиторних лікарських форм.

Захист дисертації відбудеться « » лютого 2010 року о 00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.02 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Із дисертацією можна ознайомитися в бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий « » січня 2010 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради,
доктор фармацевтичних наук, професор Д.І. Дмитрієвський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Незважаючи на постійне вдосконалення методів мікробної діагностики та розробку нових протимікробних препаратів, частота інфекційно-запальних хвороб репродуктивної системи жінки залишається стабільно високою без тенденції до зниження. За даними сучасної літератури, ця група захворювань займає головне місце у структурі гінекологічної патології (близько 60 %). Ця ситуація пояснюється, перш за все, недостатністю уваги причинам порушень фізіологічної мікрофлори піхвового біотопу, що відіграють ключову роль у розвитку патологічних процесів. Дані факти обумовлюють важливість і актуальність проблеми створення нових високоефективних лікарських засобів для лікування та профілактики захворювань урогенітального тракту жінки.

Еволюційно сформовані мікробні популяції піхвового біотопу відіграють важливу роль у захисті сечостатевої системи від умовно-патогенної мікрофлори та специфічних патогенів і підтримці репродуктивної функції, що тісно пов'язана зі здоров'ям людської популяції у цілому. Але за останні десятиріччя зросло, найчастіше масове та неадекватне, застосування протимікробних препаратів, що до цих пір залишаються основними терапевтичними засобами у боротьбі з урогенітальними інфекціями. Негативна дія антибіотиків і сульфаніламідних препаратів на мікрофлору людського організму у цілому й на вагінальну мікроекосистему зокрема є загальновідомим фактом. Їх широке використання призвело до виникнення ряду небажаних наслідків, головними з яких є формування у мікроорганізмів стійкості до цих препаратів, поява перехресної антибіотикорезистентності, а також якісні та кількісні зміни мікрофлори урогенітального тракту, що є характерними для розвитку дисбіозів.

Тому лікування дисбіотичних порушень, пов'язаних із розвитком інфекційно-запальних захворювань, вимагає комплексного підходу, зокрема використання лікарських засобів, що мають у своєму складі декілька діючих компонентів, які б нормалізували мікрофлору урогенітального тракту та пригнічували умовно-патогенну та патогенну флору, потенціюючи дію один одного, та, тим самим, позитивно впливали на репродуктивну функцію сечостатевої системи жінки.

Виходячи із наведеного, слід зазначити, що проблема створення комплексного препарату для відновлення вагінальної мікрофлори та одночасного запобігання або лікування урогенітальних інфекцій є важливою та актуальною. Розробка та впровадження у виробництво такого препарату дозволить підвищити ефективність лікування гінекологічних захворювань і розширити асортимент вітчизняних препаратів для застосування в акушерсько-гінекологічній практиці.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету («Створення складу і технології одержання біологічно активних речовин та лікарських засобів природного

походження (крім рослинних)», № державної реєстрації 0103U000477) та проблемної комісії «Фармація» МОЗ і АМН України.

Мета та задачі дослідження. Метою роботи є розробка науково обґрунтованого складу, технології та методів контролю пробіотичного лікарського засобу у формі супозиторіїв для застосування в акушерсько-гінекологічній практиці для профілактики та лікування дисбіотичних порушень, пов'язаних із розвитком інфекційно-запальних захворювань.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести аналіз літератури з питань медикаментозного лікування інфекційно-запальних захворювань урогенітального тракту жінок;
- довести перспективність використання в акушерсько-гінекологічній практиці промислових пробіотичних штамів лакто- та біфідобактерій і кислоти молочної;
- теоретично й експериментально обґрунтувати підхід до розробки лікарського препарату у формі супозиторіїв;
- провести комплексні фізико-хімічні, фармако-технологічні, біофармацевтичні та мікробіологічні дослідження з метою вибору й обґрунтування оптимального носія супозиторіїв і поверхнево-активних речовин (ПАР);
- експериментально обґрунтувати технологічні параметри ведення процесу та розробити раціональну технологічну схему виробництва супозиторіїв;
- розробити методики визначення основних показників якості препарату, провести фізико-хімічні, фармако-технологічні, мікробіологічні та біологічні дослідження розробленого лікарського засобу, розробити проект аналітичної нормативної документації (АНД);
- вивчити специфічну активність і біологічну нешкідливість розробленого лікарського засобу;
- визначити умови та термін зберігання препарату;
- розробити проект технологічного промислового регламенту на виготовлення супозиторіїв і провести його апробацію в умовах промислового виробництва.

Об'єкт дослідження – пробіотичні культури лакто- та біфідобактерій, кислота молочна, гідрофобні супозиторні основи, супозиторії під умовною назвою «Пробіоваг».

Предмет дослідження – розробка науково обґрунтованого складу та технології супозиторіїв під умовною назвою «Пробіоваг», визначення оптимальної концентрації діючих і допоміжних компонентів, їх сумісності, дослідження фізичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, мікробіологічних і біологічних властивостей розробленого препарату, розробка методик контролю його якості.

Методи дослідження. При вирішенні поставлених у роботі задач було використано загальноприйняті методи дослідження:

- фізичні, фізико-хімічні та фармако-технологічні (визначення орга-

нолептичних показників, однорідності дозованих одиниць, температури плавлення, часу повної деформації, стійкості до руйнування, розпадання, структурно-механічних властивостей супозиторіїв, кількісного вмісту кислоти молочної в одному супозиторії);

- біофармацевтичні (вплив допоміжних речовин і лікарської форми на біодоступність препарату);
- мікробіологічні (вивчення властивостей клітин пробіотичних культур, визначення кількісного вмісту лакто- та біфідобактерій в одному супозиторії, вивчення протимікробної активності кислоти молочної, визначення мікробіологічної чистоти препарату);
- біологічні (вивчення біологічної нешкідливості препарату);
- математичні (статистична обробка результатів).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше запропоновано науково-методичний підхід до створення супозиторіїв із пробіотичними культурами лакто- та біфідобактерій і кислотою молочною. Вперше теоретично й експериментально обґрунтовано склад і раціональну технологію препарату у вигляді супозиторіїв під умовною назвою «Пробіоваг», до складу якого входять пробіотичні культури промислових штамів лакто- та біфідобактерій, кислота молочна, що посилює пробіотичні властивості мікробних клітин, а як супозиторна основа використовується твердий жир із додаванням в якості ПАР твіну-80.

Досліджено властивості пробіотичних культур, підібране їх оптимальне співвідношення, доказано можливість спільного використання штамів молочнокислих бактерій (МКБ) із кислотою молочною та їх взаємну потенціюючу дію.

Вивчено фізичні, фізико-хімічні, фармако-технологічні, мікробіологічні та біологічні властивості розроблених супозиторіїв. Розроблено та відпрацьовано методики ідентифікації та кількісного визначення активних компонентів препарату, визначено умови зберігання та термін придатності супозиторіїв.

На підставі результатів мікробіологічних досліджень доведено доцільність застосування вагінальних супозиторіїв «Пробіоваг» для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів. Біологічними дослідженнями доведено біологічну нешкідливість препарату.

Наукову новизну одержаних результатів підтверджено заявкою на корисну модель «Лікувально-профілактичний засіб у формі супозиторіїв для фармакокорекції вагінальних дисбіозів» № u 2009 08191 від 03.08.2009 р.

Практичне значення одержаних результатів. На підставі комплексних фізико-хімічних, фармако-технологічних, біофармацевтичних, мікробіологічних, біологічних досліджень розроблено оптимальний склад, технологію та методи стандартизації супозиторіїв для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів різної етіології.

Розроблено проект технологічного промислового регламенту на вироб-

ництво супозиторіїв із пробіотичними культурами та кислотою молочною. Технологію виготовлення препарату апробовано в умовах промислового виробництва ЗАТ «Лекхім-Харків», м. Харків (акт впровадження від 14.04.2009 р.).

Окремі фрагменти роботи впроваджено у навчальний процес кафедри технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології Національного університету «Львівська політехніка» (акт впровадження від 27.05.08 р.), кафедри біотехнології мікробного синтезу Національного університету харчових технологій (акт впровадження від 18.12.08 р.), кафедри промислової фармації Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 13.05.09 р.), кафедри фармацевтичних дисциплін Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського (акт впровадження від 24.05.09 р.), кафедри технології органічних речовин і фармацевтичних препаратів ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет» (акт впровадження від 01.06.09 р.).

Особистий внесок здобувача. Особисто здобувачем проведено аналіз та узагальнення даних літератури із досліджуваної проблеми. Проведено експериментальні дослідження з вивчення фізичних, фізико-хімічних, фармакотехнологічних, біофармацевтичних і мікробіологічних властивостей модельних зразків супозиторіїв із пробіотиками. Теоретично обґрунтовано та розроблено склад лікарського засобу. Вивчено властивості пробіотичних культур, визначено кількісний вміст лакто- та біфідобактерій і кислоти молочної у розробленій лікарській формі, розроблено методики контролю якості супозиторіїв. Розроблено проекти АНД і технологічного промислового регламенту на виробництво супозиторіїв із пробіотичними культурами та кислотою молочною.

Наукові праці опубліковано у співавторстві зі Стрельниковим Л.С., Стрілець О.П., Кабачним Г.І., Щербак О.В. Особистий внесок автора наведено за текстом дисертаційної роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на: Міжвузівській студентській науковій конференції «Наукові основи створення лікарських засобів» (Харків, 2005), Міжвузівській студентській науковій конференції «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (Харків, 2006), IV Міжнародній медико-фармацевтичній конференції студентів та молодих вчених (Чернівці, 2007), II Міжнародній науковій конференції молодих вчених-медиків (Курськ, 2008), Всеукраїнському конгресі «Сьогодення та майбутнє фармації» (Харків, 2008), Національній науково-технічній конференції з міжнародною участю «Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук та фармацевтичних препаратів» (Львів, 2008), IV Міжнародній науково-практичній конференції (Дніпропетровськ, 2008), 5 З'їзді товариства біотехнологів Росії ім. Ю.А. Овчиникова (Москва, 2008), Всеросійській науково-практичній конференції (Курськ, 2009), Міжнародній науково-практичній конференції (Казахстан, Шимкент, 2009).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 15 наукових робіт, у тому числі 6 статей (5 з яких у наукових фахових журналах), 9 тез доповідей.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 155 сторінках машинопису, складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Список використаної літератури містить 186 джерел, у тому числі 37 – іноземних авторів. Робота ілюстрована 31 таблицею та 18 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі наведено актуальність теми, сформульовано мету та основні завдання досліджень, відзначено наукову новизну і практичне значення отриманих результатів.

У першому розділі «Супозиторії із пробіотиками – перспективний напрямок профілактики та лікування вагінальних дисбіозів» проаналізовано та узагальнено дані сучасних джерел літератури щодо напрямків лікування дисбіотичних порушень, пов'язаних із розвитком інфекційно-запальних захворювань, і наявності на ринку України ефективних лікарських засобів для відновлення вагінальної мікрофлори й одночасного запобігання або лікування урогенітальних інфекцій. Обґрунтовано доцільність розробки та впровадження у виробництво вагінальних супозиторіїв із пробіотиками.

У другому розділі «Обґрунтування загальної концепції та методів дослідження» наведено загальну методологію проведення досліджень, надано характеристику діючих і допоміжних компонентів.

При розробці супозиторіїв для застосування в акушерсько-гінекологічній практиці як основні діючі компоненти були використані пробіотичні культури лакто- та біфідобактерій, що є основами вітчизняних пробіотичних препаратів «Лактобактерин сухий» та «Біфідумбактерин сухий», відповідно. Подальші дослідження обумовили введення до складу препарату додатково компонента для зниження лужності вагінального середовища та перешкоджання росту дріжджеподібних грибів – кислоти молочної. Як супозиторні основи були застосовані твердий жир, вітепсол W 35, супоцир NAS 50 із додаванням ПАР, що широко використовуються у фармацевтичній промисловості.

Обґрунтовано вибір методик для проведення фізичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, біофармацевтичних, мікробіологічних, біологічних досліджень щодо визначення оптимального складу, технології та стандартизації супозиторіїв із пробіотиками.

У третьому розділі «Експериментальне обґрунтування складу та розробка технології супозиторіїв» представлено результати з розробки складу та технології супозиторіїв із пробіотиками для застосування в акушерсько-гінекологічній практиці.

Для доказу можливості використання промислових пробіотичних культур лакто- та біфідобактерій в акушерсько-гінекологічній практиці було ви-

вчено їх властивості, а саме: антагоністичні властивості до бактерій і грибів, що є основними збудниками вагінальних захворювань; антибіотикорезистентність до протимікробних та протигрибкових препаратів, що використовуються у комплексній терапії бактеріальних, грибкових, трихомонадних, хламідійних і різних змішаних урогенітальних інфекцій; здатність до адгезії до клітин епітелію макроорганізму. Результати визначення антагоністичної активності й адгезивних властивостей пробіотичних культур наведено в табл. 1 та 2.

Таблиця 1

Антагоністична активність лакто- та біфідобактерій, визначена методом перпендикулярних штрихів

Тест-штам	Лактобактерії	Біфідобактерії
	Зона затримки росту тест-штамів, (M±m) мм	
E. coli ATCC 25922	21,8±0,5	9,2±1,5
S. aureus ATCC 25923	25,6±0,6	11,8±0,5
B. subtilis ATCC 6633	17,8±0,5	9,0±0,8
Pr. vulgaris ATCC 6896	16,4±0,9	8,8±0,5
Ps. aeruginosa ATCC 27853	20,8±0,5	10,8±0,5
C. albicans ATCC 885-653	36,4±0,6	-

Примітки:

«-» – зона затримки росту менше 0,5 мм;

n = 5; P = 95 %; (M±m) – довірчий інтервал.

Таблиця 2

Показники адгезії лакто- та біфідобактерій

Об'єкт дослідження	Показники адгезії, (M±m)		
	СПА, клітин	К, % еритроцитів	ІАМ, кл./ер.
Лактобактерії	2,69±0,10	74,86±0,25	3,59±0,14
Біфідобактерії	3,01±0,14	81,60±0,28	3,69±0,18

Примітки:

СПА – середній показник адгезії – середня кількість мікроорганізмів, що прикріпилася до одного еритроцита при підрахунку не менше 25 еритроцитів, враховуючи не більше 5 еритроцитів в одному полі зору;

К – коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі – відсоток еритроцитів, що мають на своїй поверхні адгезовані мікроорганізми;

ІАМ – індекс адгезивності мікроорганізму – середня кількість мікробних клітин на одному еритроциті;

n = 5; P = 95 %; (M±m) – довірчий інтервал.

Результати досліджень свідчать про високі антагоністичні властивості досліджуваних пробіотичних культур до всіх випробуваних тест-штамів, що є основними збудниками бактеріальних, грибкових і різних змішаних урогенітальних інфекцій; резистентність до полієнових антибіотиків та імідазольних похідних і малочутливість до аміноглікозидів, що є основними препаратами вибору при етіотропній терапії анаеробної вагінальної інфекції. Крім цього, показники адгезії, що вивчали на еритроцитах крові людини, як уні-

версальної моделі епітеліальних клітин, становили СПА>2, ІАМ>2,5, що свідчить про середньоадгезивні властивості досліджуваних штамів і можливість їхнього конкурування за екологічні ніші з умовно-патогенними мікроорганізмами. Дані результати доводять перспективність використання вітчизняних промислових пробіотичних культур лакто- та біфідобактерій в акушерсько-гінекологічній практиці.

Відомим є факт, що комбінація різних культур у складі одного препарату дозволяє підвищити їх пробіотичні властивості та розширити спектр їхньої дії. Тому наступним етапом наших досліджень був підбір оптимального співвідношення культур лакто- та біфідобактерій у складі препарату за результатами вивчення антагоністичних властивостей, як основного критерію відбору пробіотичних штамів.

Антагоністичну активність штамів лакто- та біфідобактерій та їх змішаної культури у співвідношеннях 1:1, 1:2, 1:4, 2:1, 4:1 вивчали методом перпендикулярних штрихів. Результати досліджень наведено в табл. 3.

Таблиця 3

Антагоністична активність лакто- та біфідобактерій у різних співвідношеннях, визначена методом перпендикулярних штрихів

Співвідношення лакто- та біфідобактерій	Зона затримки росту тест-культур, (M±m) мм					
	E. coli	*S. aureus*	*B. subtilis*	*P. vulgaris*	*P. aeruginosa*	*C. albicans*
1:1	23,0±0,8	27,6±0,6	22,4±0,9	18,4±0,9	22,2±0,5	40,8±0,5
1:2	21,4±0,9*	25,6±0,6*	21,0±0,8*	14,2±0,5*	20,6±0,6*	39,8±0,9*
1:4	19,6±0,6*,**	24,8±0,5*,**	18,4±0,6*,**	13,0±0,8*,**	18,8±0,5*,**	35,8±0,5*,**
2:1	22,4±0,6**-***	26,4±0,9*,***	21,8±0,5**,***	18,2±0,9**,***	20,8±0,5*,***	40,2±0,5*,***
4:1	22,8±0,9**,***	28,6±0,9*-****	23,4±0,6*-****	20,6±0,9*-****	22,2±0,5**-****	41,8±0,5*-****
Контроль						
Лактобактерії	21,8±0,5*,***,*****	25,6±0,6*,***,*****	17,8±0,5*,**,****,*****	16,4±0,9*-*****	20,8±0,5*,***,*****	36,4±0,6*,**,****,*****
Біфідобактерії	9,2±1,5*-******	11,8±0,5*-******	9,0±0,8*-******	8,8±0,5*-******	10,8±0,5*-******	-

Примітки:

* – відхилення вірогідне відносно співвідношення 1:1, p<0,05;

** – відхилення вірогідне відносно співвідношення 1:2, p<0,05;

*** – відхилення вірогідне відносно співвідношення 1:4, p<0,05;

**** – відхилення вірогідне відносно співвідношення 2:1, p<0,05;

***** – відхилення вірогідне відносно співвідношення 4:1, p<0,05;

****** – відхилення вірогідне відносно контролю, p<0,05;

«-» – відсутність зон затримки росту тест-культур, або зона затримки росту менше 0,5 мм;

n = 5; (M±m) – довірчий інтервал.

У результаті досліджень з'ясовано, що лактобактерії у монокультурі виявляють більш виражений антагонізм ніж біфідобактерії. При цьому, у змішаній культурі зони затримки росту збільшились у порівнянні з контрольними монокультурами.

При співвідношеннях 1:2, 1:4, 2:1 спостерігається тенденція до зменшення зон затримки росту референс-штамів у порівнянні зі співвідношенням 1:1. Співвідношення 4:1 є менш раціональним у порівнянні зі співвідношенням 1:1 із точки зору використання у лікарській формі.

Таким чином, змішана культура лакто- та біфідобактерій у співвідношенні 1:1 найбільш оптимальна для введення до складу вагінального пробіотичного препарату, що розробляється, тому для створення лікарської форми ми використовували саме це співвідношення.

При вагінальному дисбіозі pH зсувається у лужний бік, що знижує пробіотичну активність лакто- та біфідобактерій, крім цього, місцеве застосування лактовмістних препаратів призводить до ризику росту грибів роду *Candida*, що є збудниками ряду урогенітальних інфекцій, тому необхідно було підібрати компонент, що знизив би лужність середовища та якимось чином перешкоджав росту дріжджеподібних грибів. В якості такої речовини нами було запропоновано ввести до складу препарату кислоту молочну 80 %, що за даними літератури виявляє протигрибкові та деякі протибактеріальні властивості. Слід відмітити, що кислота молочна є метаболітом обміну речовин макроорганізму та може розглядатися як біологічно безпечний продукт, чим вигідно відрізняється від інших протимікробних речовин.

Концентрацію кислоти молочної у препараті визначали за її протибактеріальною та протигрибковою активністю по відношенню до референтних штамів тест-культур методом дифузії в агар із додаванням до лунок кислоти молочної від 0,005 г до 0,12 г. Спектр концентрацій було обрано на підставі даних літератури та практики екстемпорального приготування лікарських форм із кислотою молочною, що використовують в акушерсько-гінекологічній практиці. Результати експерименту наведено в табл. 4.

Таблиця 4

Протибактеріальна та протигрибкова активність кислоти молочної

Тест-штам	Діаметри зон затримки росту, (M±m) мм					
	Вміст кислоти молочної, г					
	0,005	0,01	0,02	0,05	0,10	0,12
E. coli	17,1±0,1	38,8±0,4	38,9±0,1	39,4±0,1	47,0±0,9	47,1±0,1
S. aureus	18,2±0,3	30,6±0,2	31,0±0,2	32,2±0,3	36,3±0,6	36,3±0,8
B. subtilis	18,6±0,2	34,3±0,9	34,5±0,3	34,9±0,3	41,1±0,7	41,1±0,1
Pr. vulgaris	17,0±0,1	29,2±0,8	31,0±0,2	32,3±0,4	33,6±0,5	33,6±0,2
Ps. aeruginosa	15,8±0,2	28,9±0,5	29,1±0,6	30,7±0,4	33,1±0,3	33,2±0,3
C.albicans	11,2±0,7	20,9±0,9	20,9±0,2	21,4±0,8	24,5±0,8	24,5±0,4

Примітки:

n =5; $p<0,05$ – відхилення показника достовірне; (M±m) – довірчий інтервал.

Результати досліджень показали, що при збільшенні вмісту кислоти молочної від 0,005 г до 0,01 г діаметри зон затримки росту тест-штамів збі-

льшуються майже у 2 рази, а при подальшому збільшенні вмісту до 0,05 г суттєво значущих відмінностей не спостерігається. Найвищі показники протибактеріальної та протигрибкової активності спостерігаються при вмісті кислоти молочної 0,1 г, подальше збільшення вмісту кислоти молочної недоцільно.

За даними літератури достатня для виявлення терапевтичного ефекту кількість клітин пробіотичної культури становить $1 \cdot 10^7$ КУО, цю концентрацію ми використовували у подальших дослідженнях. Визначення життєздатності клітин лакто- та біфідобактерій у співвідношенні 1:1 загальною кількістю $2 \cdot 10^7$ КУО за наявності 0,01 г та 0,01 г кислоти молочної проводили методом двократних серійних розведень із послідуючим висіванням на густе живильне середовище MRS в анаеробних умовах.

Результати досліджень показали, що вміст 0,1 г кислоти молочної виявляє бактеріостатичну дію по відношенню до пробіотичних культур, а вміст 0,01 г не впливає на життєздатність пробіотичних клітин. Дані результати свідчать, що вміст кислоти молочної в лікарській формі має становити 0,01 г.

Незважаючи на те, що введення 0,01 г кислоти молочної не знижує кількості клітин лакто- та біфідобактерій, необхідно було дослідити її вплив на показники антагоністичної активності й адгезії. Вплив кислоти молочної на антагоністичні властивості лакто- та біфідобактерій наведено в табл. 5.

Таблиця 5

Антагоністична активність моно- та змішаної культур лакто- та біфідобактерій після культивування із кислотою молочною, визначена методом перпендикулярних штрихів

Досліджувана культура	Зона затримки росту тест-культур, (M±m) мм					
	E. coli	*S. aureus*	*B. subtilis*	*P. vulgaris*	*P. aeruginosa*	*C. albicans*
Лактобактерії + кислота молочна	21,6±0,8	26,8±0,5	18,6±0,6*	16,6±0,8	20,6±0,8	38,4±0,8*
Біфідобактерії + кислота молочна	9,8±0,5	11,4±0,8	9,2±0,5	9,4±0,8*	10,2±0,5	-
Лакто- + біфідобактерії (1:1) + кислота молочна	23,2±0,5	26,6±0,8*	23,8±0,5*	18,4±0,8	21,4±0,8*	43,8±0,5*
Контроль						
Лактобактерії	21,8±0,5	25,6±0,6	17,8±0,5	16,4±0,9	20,8±0,5	36,4±0,6
Біфідобактерії	9,2±1,5	11,8±0,5	9,0±0,8	8,8±0,5	10,8±0,5	-
Лакто- + біфідобактерії (1:1)	23,0±0,8	27,6±0,6	22,4±0,9	18,4±0,9	22,2±0,5	40,8±0,5

Примітки:

* – відхилення вірогідні відносно відповідного контролю, $p<0,05$;

«-» – відсутність зон затримки росту тест-культур або зони затримки росту менше 0,5 мм;

n = 5; (M±m) – довірчий інтервал.

Результати досліджень свідчать про збереження достатнього рівня антагоністичних властивостей моно- та змішаної культур лакто- та біфідобактерій при культивуванні їх із кислотою молочною.

Порівняння показників адгезії лакто- та біфідобактерій в моно- та змішаній культурах при культивуванні без кислоти молочної (табл. 2) та при культивуванні з кислотою молочною (табл. 6) показало незначну зміну адгезивних властивостей досліджуваних штамів за різних умов культивування при збереженні ступеня адгезивності кожної пробіотичної культури на властивому йому рівні.

Таблиця 6

Показники адгезії моно- та змішаної культур лакто- та біфідобактерій при культивуванні із кислотою молочною

Об'єкт дослідження	Показники адгезії, (M±m)		
	СПА, клітин	К, % еритроцитів	ІАМ, кл./ер.
Лактобактерії	2,81±0,05	74,86±0,20	3,75±0,16
Біфідобактерії	2,97±0,10	81,52±0,43	3,64±0,29
Змішана культура	2,78±0,05	72,78±0,85	3,82±0,18

Примітки:
n = 5; P = 95 %; (M±m) – довірчий інтервал.

Таким чином, на підставі комплексу мікробіологічних досліджень було обрано оптимальні концентрації пробіотичних культур та кислоти молочної, що становили: кількість лакто- та біфідобактерій у співвідношенні 1:1 – $2 \cdot 10^7$ КУО та кислоти молочної 80 % – 0,01 г на одну дозу.

Наступним етапом досліджень був вибір супозиторної основи та ПАР, в якості яких використовували твердий жир, вітепсол, супоцир і твін-80, емульгатор Т-2, емульгатор № 1, цетостеариловий спирт, ланолін безводний. Враховуючи специфіку створення лікарської форми із живими клітинами, спочатку необхідно було вивчити життєздатність лакто- та біфідобактерій із допоміжними речовинами. Для цього готували зразки супозиторіїв такого складу: відповідна основа + пробіотичні культури та відповідна основа + відповідна ПАР + пробіотична культура та методом серійних розведень із послідуючим висіванням на густе живильне середовище визначали кількість колоній, що виросли на чашках і обчислювали кількість мікроорганізмів, яка має бути не менше $2 \cdot 10^7$ клітин. Результати досліджень показали, що у всіх супозиторіях, крім зразків із цетостеариловим спиртом, кількість живих клітин лакто- та біфідобактерій відповідала розробленому складу.

При вивченні впливу концентрації ПАР на їх здатність емульгувати 0,01 г кислоти молочної у гідрофобній супозиторній основі спостерігалось утворення стабільної емульсії вже при додаванні 1 % відповідного емульгатора. Тому до модельних зразків, склад яких наведено у табл. 7 та які досліджувались за фізико-хімічними, фармако-технологічними, біофармацевтич-

ними, мікробіологічними властивостями, вводили ПАР у концентрації 1 %. Результати вивчення фізичних і фармако-технологічних властивостей модельних зразків супозиторіїв показали, що всі зразки відповідали вимогам ДФУ.

Таблиця 7

Склад модельних зразків супозиторіїв

№ зразка	Вміст в одному супозиторії, г								
	Пробіотична біомаса	Кислота молочна 80 %	Твін-80	Емульгатор Т-2	Емульгатор № 1	Ланолін безводний	Твердий жир	Супоцир	Вітепсол
№ 1	0,0603	0,01					До 3,0		
№ 2	0,0603	0,01						До 3,0	
№ 3	0,0603	0,01							До 3,0
№ 4	0,0603	0,01	0,03				До 3,0		
№ 5	0,0603	0,01		0,03			До 3,0		
№ 6	0,0603	0,01			0,03		До 3,0		
№ 7	0,0603	0,01				0,03	До 3,0		
№ 8	0,0603	0,01	0,03					До 3,0	
№ 9	0,0603	0,01		0,03				До 3,0	
№ 10	0,0603	0,01			0,03			До 3,0	
№ 11	0,0603	0,01				0,03		До 3,0	
№ 12	0,0603	0,01	0,03						До 3,0
№ 13	0,0603	0,01		0,03					До 3,0
№ 14	0,0603	0,01			0,03				До 3,0
№ 15	0,0603	0,01				0,03			До 3,0

Вивчення кінетики вивільнення кислоти молочної із модельних зразків *in vitro* проводили методом «агарових пластинок», що ґрунтується на дифузії діючої речовини в агаровий гель та зміні забарвлення відповідних зон внаслідок її взаємодії з реактивом 2,6-дихлорфеноліндофенолятом натрію.

Результати біофармацевтичних досліджень показали, що кінетика вивільнення кислоти молочної із досліджуваних основ відрізняється. Так, через 1 год від початку дослідження дифузія кислоти молочної із твердого жиру, супоциру, вітепсолу незначна. Із часом дифузія діючої речовини зростає. Найменше вивільнення кислоти молочної характерне для вітепсолу. На останню годину проведення дослідження дифузія із твердого жиру та супоциру приблизно однакова. Результати біофармацевтичних досліджень зразків супозиторіїв із додаванням ПАР наведено на рис. 1-3.

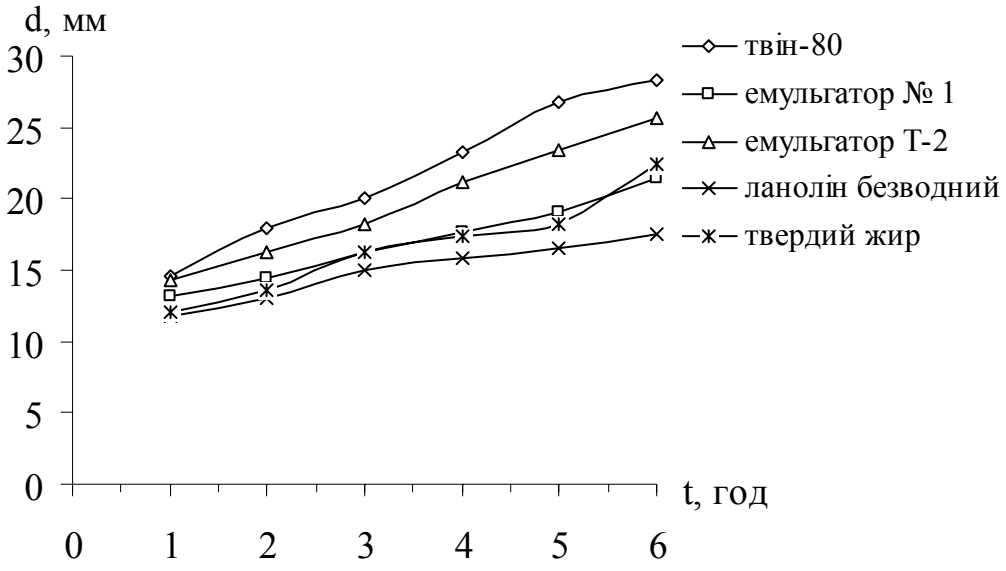

Рис. 1 **Вплив ПАР на вивільнення кислоти молочної із супозиторіїв на основі твердого жиру**

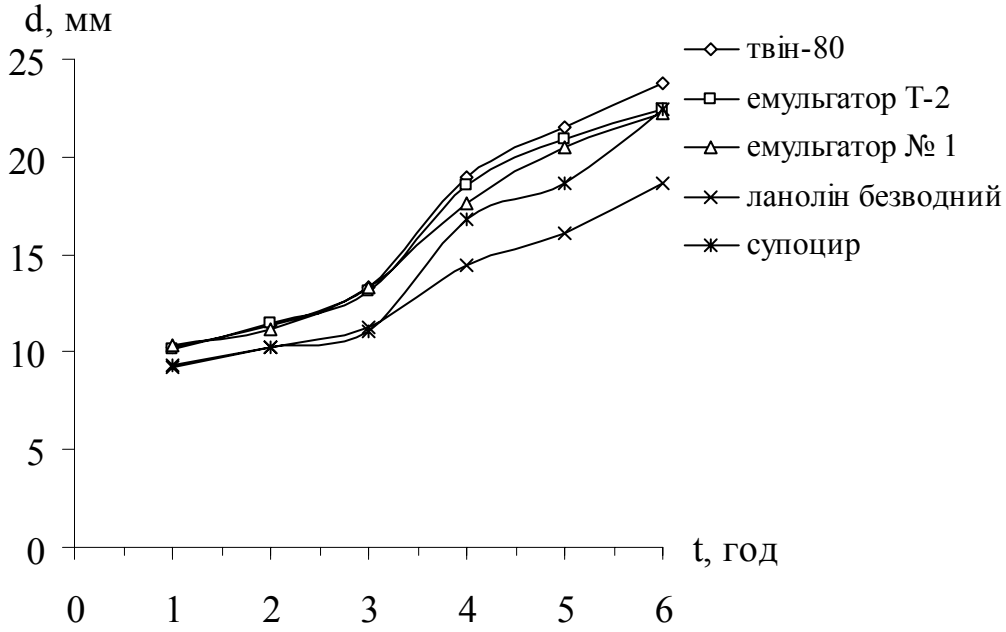

Рис. 2 **Вплив ПАР на вивільнення кислоти молочної із супозиторіїв на основі супоциру**

Результати, наведені на рис. 1-3, показали, що на інтенсивність вивільнення кислоти молочної із супозиторіїв впливає вид супозиторної основи та ПАР. Достатній рівень вивільнення кислоти молочної виявляють зразки № 8 та № 9 із супоциру та додаванням твіну-80 та емульгатора Т-2, відповідно, але, слід відмітити, що найбільш повне та рівномірне вивільнення кислоти молочної спостерігається зі зразків із твердого жиру, а додавання твіну-80 або емульгатора Т-2 посилює її дифузію.

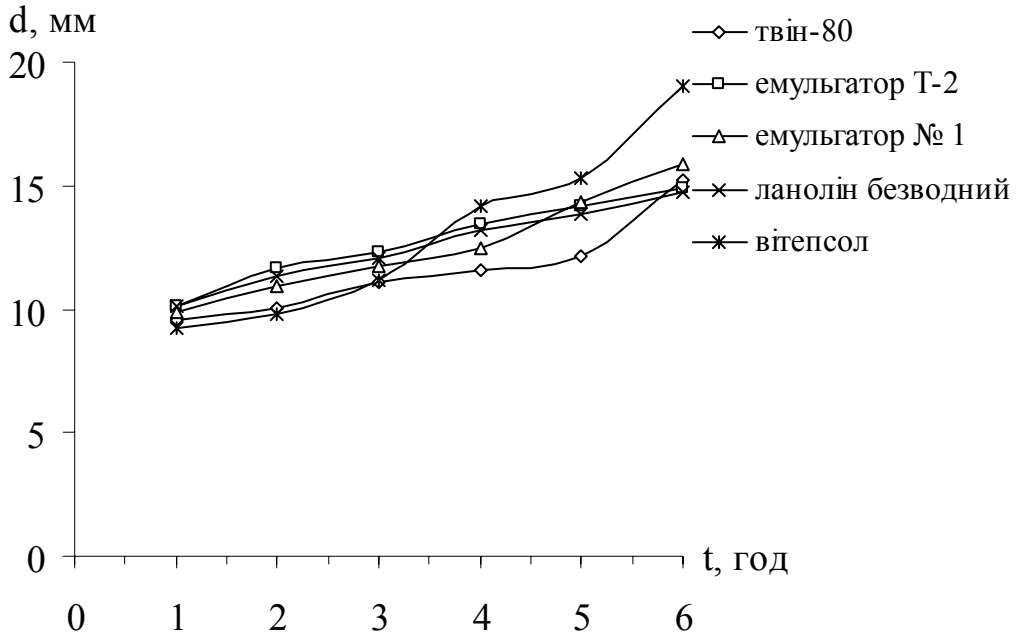

Рис. 3 **Вплив ПАР на вивільнення кислоти молочної із супозиторіїв на основі вітепсолу**

Надалі вивчали структурно-механічні властивості вибраних зразків на ротаційному віскозиметрі «Брукфільд HB DV-II PRO» із коаксіальними циліндрами, використовуючи шпіндель S21 (рис. 4-7).

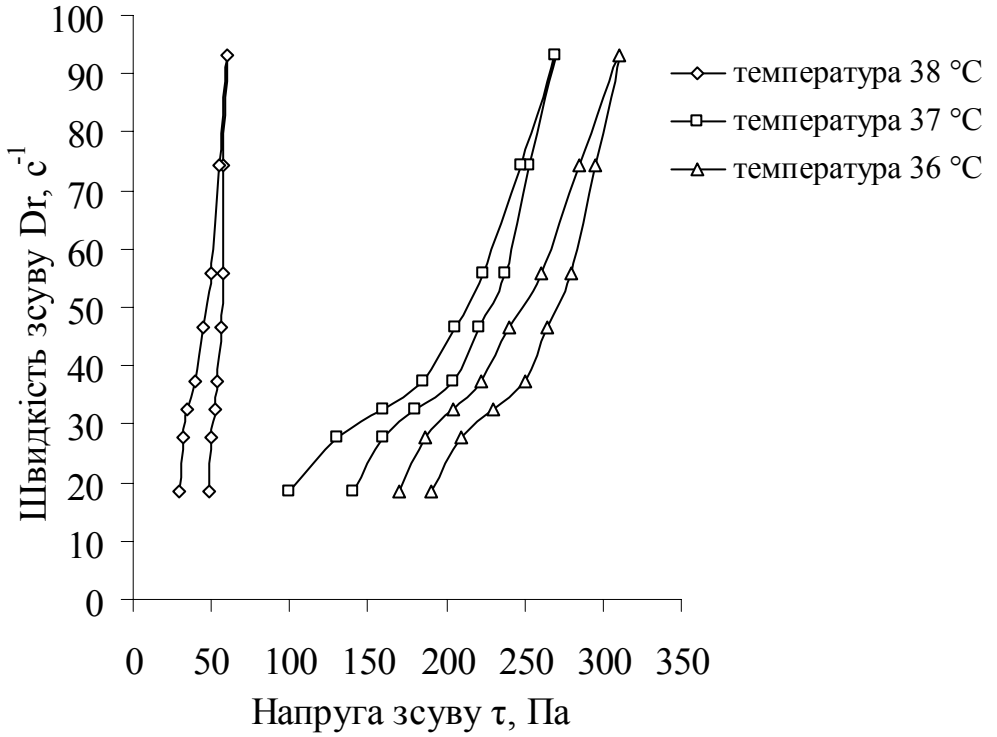

Рис. 4 **Реограми супозиторіїв на основі супоциру із додаванням твіну-80 при різних температурах**

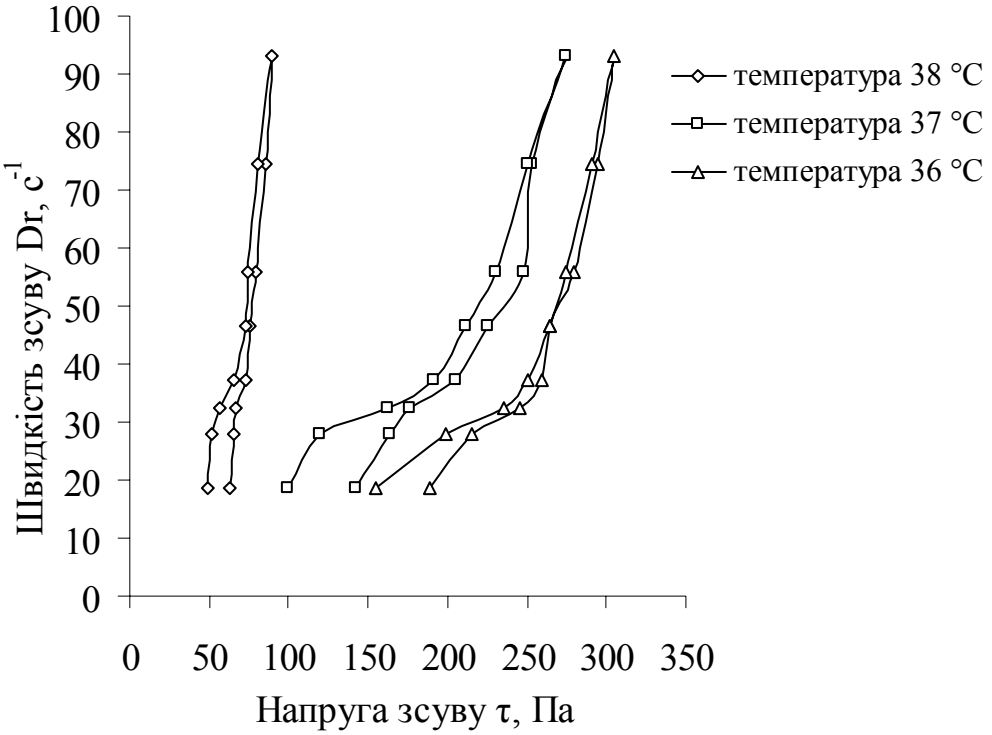

Рис. 5 **Реограми супозиторіїв на основі супоциру із додаванням емульгатора Т-2 при різних температурах**

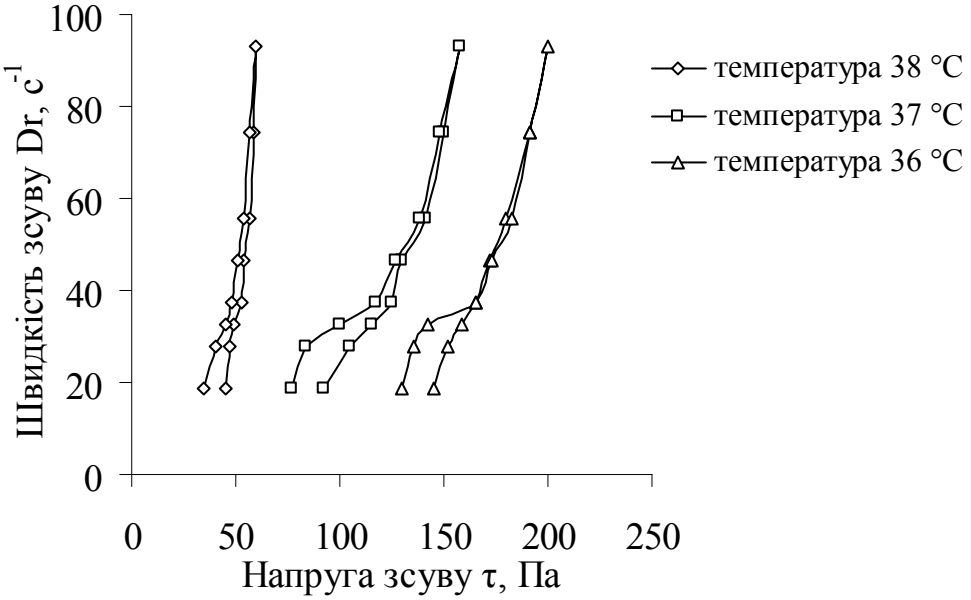

Рис. 6 **Реограми супозиторіїв на основі твердого жиру із додаванням емульгатора Т-2 при різних температурах**

Результати реологічних досліджень показали, що залежності швидкості зсуву від напруги зсуву є нелінійними, що свідчить про неньютонівський тип течії супозиторних систем. Висхідні та низхідні криві утворюють петлі гістерезису, наявність та площа яких свідчать про тиксотропність досліджуваних зразків. Реограми, одержані при різних температурах, показали, що чим вище температура, тим менша площа петлі гістерезису.

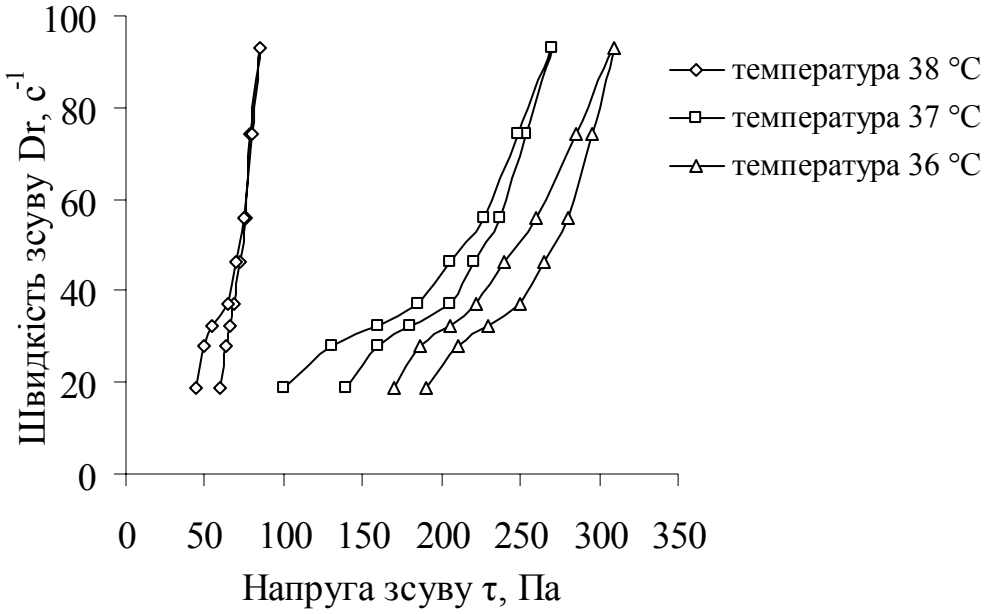

Рис. 7 **Реограми супозиторіїв на основі твердого жиру із додаванням твіну-80 при різних температурах**

Як бачимо з результатів реологічних досліджень зразки із супоциру із додаванням ПАР характеризуються більшою в'язкістю при порівнянні із відповідними зразками із твердого жиру, а при температурі 36 °С плинність зразка зменшується настільки, що маса практично твердне, що може призвести до труднощів при її дозуванні. При порівнянні реограм для зразків із твердого жиру із додаванням емульгаторів можна помітити, що показники в'язкості супозиторіїв із використанням в якості ПАР емульгатора Т-2 більші у всьому діапазоні температур, ніж для зразків із твіном-80, що доводить перевагу використання композиції із твердого жиру та твіну-80.

Таким чином, на підставі комплексу фізико-хімічних, фармакотехнологічних, біофармацевтичних, структурно-механічних, мікробіологічних досліджень було підібрано оптимальний склад супозиторіїв під умовною назвою «Пробіоваг»:

Біомаси біфідобактерій (із титром не менше $1 \cdot 10^7$ КУО)	0,06 г
Біомаси лактобактерій (із титром не менше $1 \cdot 10^7$ КУО)	0,0003 г
Кислоти молочної 80 %	0,01 г
Твіну-80	0,03 г
Твердого жиру	до отримання супозиторія масою 3,0 г.

Наступним етапом наших досліджень був вибір оптимальних параметрів ведення технологічного процесу на основі структурно-механічних і фармако-технологічних показників супозиторіїв «Пробіоваг».

Дослідження залежності структурної в'язкості від градієнта швидкості зсуву для супозиторіїв «Пробіоваг» показало, що в'язкість супозиторної маси зменшується зі зростанням градієнта швидкості зсуву при всіх температурах,

та для всіх значень швидкості зсуву збільшується при зниженні температури від 38 °С до 36 °С, але є достатньою для ведення технологічного процесу.

На етапі вибору параметрів температури та часу ведення технологічного процесу вивчали їх вплив на стійкість супозиторіїв до руйнування. Випробовування на стійкість супозиторіїв до руйнування проводили на приладі SBT фірми «Erweka» за методикою ДФУ шляхом вимірювання маси, що необхідна для їх руйнування роздавлюванням.

Таблиця 8

Вплив температури дозування, температури та часу охолодження на стійкість супозиторіїв «Пробіоваг» до руйнування

Технологічний параметр	Стійкість супозиторіїв до руйнування, г
Температура дозування:	
36 °С	4800
37 °С	5000
38 °С	5000
Температура охолодження:	
8 °С	4800
10 °С	5000
12 °С	5000
14 °С	4900
16 °С	4800
18 °С	4700
Час охолодження:	
5 хв.	4500
10 хв.	4700
15 хв.	4900
20 хв.	5000
25 хв.	4600
30 хв.	4500

За даними, що наведено в табл. 8, та попередніми реологічними дослідженнями оптимальними параметрами ведення процесу є: температура дозування (37-38) °С, температура охолодження – (10-14) °С, час охолодження – (15 –20) хв.

На підставі проведених досліджень складено технологічну та апаратурну схеми виробництва супозиторіїв «Пробіоваг», а також розроблено технологічний регламент. Технологію апробовано в умовах промислового виробництва на ЗАТ «Лекхім-Харків». Технологічну схему наведено на рис. 8.

У четвертому розділі «Розробка методів аналізу та вивчення мікробіологічних і біологічних властивостей супозиторіїв «Пробіоваг»» наведено результати досліджень фізичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, мікробіологічних, біологічних властивостей супозиторіїв, дані з розробки методик контролю якості, досліджень стабільності та результати визначення гострої токсичності препарату.

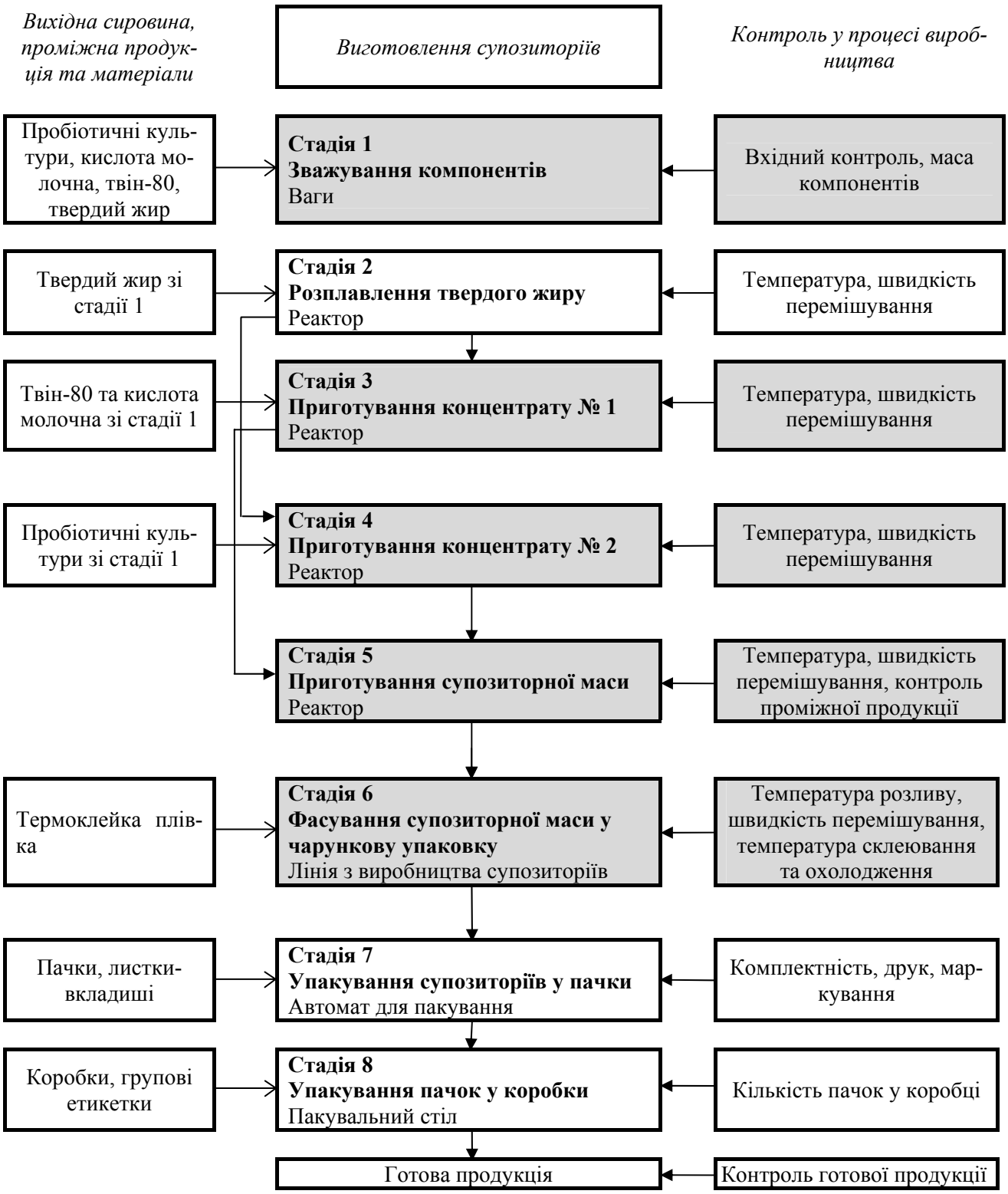

Рис. 8 **Технологічна схема виробництва супозиторіїв «Пробіоваг»**

Для ідентифікації кислоти молочної у препараті використовували хімічну кольорову реакцію із розчином тіофену. Ідентифікацію мікроорганізмів лакто- та біфідобактерій видів *L. fermentum* або *L. plantarum* та *B. bifidum* проводили морфологічно та мікроскопічно: при вивченні росту мікроорганізмів на живильних середовищах та за забарвленням за методом Грама. Кількісний вміст кислоти молочної встановлювали методом зворотної алкаліметрії, використовуючи в якості індикатора фенолфталеїн. Надлишок лугу від-

титровували кислотою хлористоводневою. Кількість життєздатних клітин лакто- та біфідобактерій визначали методом серійних розведень із послідуючим висіванням на густе живильне середовище.

Результати періодичної оцінки показників якості вагінальних супозиторіїв «Пробіоваг» у процесі зберігання показали, що препарат є стабільним протягом 12 міс при температурі від 8 °С до 15 °С.

Специфічну активність розробленого препарату досліджували *in vitro* у зв'язку із невідповідністю піхвової нормофлори тварин людській та невідтворюваністю вагінальних дисбіотичних порушень на лабораторних тваринах. Специфічна активність препарату «Пробіоваг» визначається за спільними антагоністичними властивостями штамів лакто- та біфідобактерій із кислотою молочною. В якості контролю використовували культури лакто- та біфідобактерій, що складають основу препаратів порівняння «Лактобактерин» та «Біфідумбактерин» у формі супозиторіїв. Методом спільного культивування тест-штаму та пробіотичного штаму визначали титр, за який приймали найбільше розведення посівного матеріалу, із якого висівається тест-культура. Порівняння результатів дослідження антагоністичної активності показало, що за наявності кислоти молочної антагоністична дія пробіотичних культур посилюється.

Протимікробну активність супозиторіїв «Пробіоваг», що базувалася на дифузії кислоти молочної зі зразка препарату, досліджували методом «колодязів». В якості контролю використовували кислоту молочну, що застосовують в акушерсько-гінекологічній практиці для зрощування піхви при бактеріальному вагінозі, неспецифічному кольпіті та інших зсувах піхвової мікрофлори, в кількості, що відповідає її вмісту в досліджуваному зразку супозиторія. За протимікробною активністю «Пробіоваг» не поступається контролю.

На базі Лабораторії біохімічної фармакології ДП «ДНЦЛЗ» проведено дослідження гострої токсичності супозиторіїв «Пробіоваг», в результаті яких з'ясовано, що при вагінальному введені препарат є практично нетоксичним.

Одержані в ході експериментального вивчення дані є підставою для подальшого клінічного вивчення і впровадженні вагінальних супозиторіїв із пробіотиками у медичну практику, що дозволить розширити асортимент препаратів для застосування в акушерсько-гінекологічній практиці.

Загальні висновки

1. На підставі комплексних експериментальних досліджень вперше розроблено оригінальний фармацевтичний засіб у формі вагінальних супозиторіїв із пробіотичними культурами лакто- та біфідобактерій та кислотою молочною в якості компонента, що підвищує активність пробіотичних культур.

2. Проведено фізико-хімічні, фармако-технологічні, біофармацевтичні та мікробіологічні дослідження пробіотичних мікроорганізмів – лакто- та біфідобактерій, гідрофобних супозиторних основ – супоциру, твердого жиру та

вітепсолу і супозиторіїв на цих основах, що дозволило обґрунтувати оптимальний носій для супозиторіїв твердий жир. Вивчено різні види ПАР та підібрано оптимальну допоміжну речовину, що забезпечує найкраще вивільнення кислоти молочної та клітин мікроорганізмів, – твін-80.

3. Із метою стандартизації розробленого препарату запропоновано методики аналізу, що полягають у проведенні випробувань щодо опису, ідентифікації, температури плавлення, часу повної деформації, мікробіологічної чистоти, кількісного визначення. Для кількісного визначення вмісту кислоти молочної було використано метод зворотної алкаліметрії, а для клітин мікроорганізмів – метод розведення із послідуючим висіванням на густе живильне середовище. Запропоновані методики дозволяють вичерпно оцінити якість розробленого препарату.

4. На підставі мікробіологічних досліджень доведено доцільність застосування вагінальних супозиторіїв «Пробіоваг» для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів.

5. За результатами проведених досліджень стандартизовано у відповідній аналітичній (АНД) та технологічній (технологічний промисловий регламент) документаціях склад та технологію вагінальних супозиторіїв «Пробіоваг». Апробація технології розроблених супозиторіїв підтвердила її відтворюваність і надійність в умовах промислового виробництва на ЗАТ «Лекхім-Харків».

6. Проведено дослідження з визначення стабільності та терміну придатності супозиторіїв «Пробіоваг». Встановлено, що препарат залишається стабільним протягом 1 року при зберіганні у контурно-чарункових упаковках при температурі від 8 ºС до 15 ºС.

7. Фрагменти роботи впроваджено у навчальний процес ряду вузів України III та IV рівнів акредитації.

8. Наукову новизну одержаних результатів захищено заявкою на корисну модель «Лікувально-профілактичний засіб у формі супозиторіїв для фармакокорекції вагінальних дисбіозів».

Список опублікованих праць за темою дисертації

1. Калюжная О. С. До питання розробки лікарських засобів із нормобіотиками. Вивчення антагоністичної активності лактобактерій / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець // Фармаком. – 2008. – № 1. – С. 46-49. (*Особистий внесок:* планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, оформлення статті).

2. Калюжная О. С. Вивчення антибіотикорезистентності пробіотичних штамів до антибіотиків та протигрибкових препаратів / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець // Запорожский мед. журн. – 2008. – № 5. – С. 120-122. (*Особистий внесок:* планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, оформлення статті).

3. Калюжная О. С. Мікробіологічне обґрунтування створення пробіотичного препарату для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець // Фармаком. – 2009. – № 1. – С. 55-60. (*Особистий внесок:* планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, оформлення статті).

4. Разработка суппозиториев для профилактики и лечения вагинальных дисбиозов / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрилец, Г. И. Кабачный // Фармация Казахстана: интеграция науки, образования и производства : междунар. науч.-практ. конф., 15-16 мая 2009 г. – Шимкент, 2009. – С. 46-48. (*Особистий внесок:* планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, оформлення статті).

5. Розробка складу і технології супозиторіїв для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець, Г. І. Кабачний // Запорожский мед. журн. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 86-89. (*Особистий внесок:* розробка складу та технології супозиторіїв, оформлення статті).

6. Вивчення структурно-механічних властивостей супозиторіїв для профілактики та лікування вагінальних дисбіозів. / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець, Г. І. Кабачний // Фармаком. – 2009. – № 3. – С. 24-27. (*Особистий внесок:* підготовка зразків супозиторіїв, проведення експерименту, оформлення статті).

7. Калюжная О. С. Анализ лекарственных форм интравагинальных препаратов эубиотиков / О. С. Калюжная, Е. В. Щербак, Л. С. Стрельников // Наукові основи створення лікарських засобів : тез. доп. Міжвуз. студ. наук. конф., м. Харів, 14-15 квіт. 2005 р. – Х., 2005. – С. 212.

8. Калюжная О. С. Преимущества использования суппозиториев эубиотиков при лечении вагинальных дисбиозов / О. С. Калюжная, Е. В. Щербак, Л. С. Стрельников // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : тез. доп. Міжвуз. студ. наук. конф., м. Харків, 27 квіт. 2006 р. – Х., 2006. – С. 220.

9. Калюжная О. С. Преимущества использования суппозиториев с эубиотиками в гинекологии / О. С. Калюжная, О. П. Стрилец // «ХИСТ» Всеукраїнський медичний журнал молодих вчених : тез. доп. IV Міжнар. мед.-фармац. конф. студ. та мол. вчених.– Чернівці, 2007. – С. 55-56.

10. Калюжная О. С. Изучение антагонистической активности лактобактерий / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрилец // II Междунар. науч. конф. молодых ученых-медиков : сб. тр., г. Курск, 21-22 февр. 2008 г. – Курск, 2008. – С. 264-266.

11. Калюжная О. С. Вивчення чутливості лактобактерій до антимікробних препаратів / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець // Сьогодення та майбутнє фармації : тез. доп. Всеукр. конгр., м. Харків, 16-19 квіт. 2008 р. – Х., 2008. – С. 266.

12. Калюжная О. С. Вивчення чутливості штамів лактобактерій, що складають основу деяких пробіотиків, до антибіотиків та протигрибкових препаратів / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець // Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно активних сполук та фармацевтичних препаратів : тез. доп. Нац. наук.-техн. конф. з міжнар. участю, м. Львів, 15-18 жовт. 2008 р. – Львів, 2008. – С. 224.
13. Калюжная О. С. Вивчення бактеріоцинсинтезуючих властивостей пробіотичних штамів / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрілець // Біотехнологія. Наука. Освіта. Практика : тез. доп. IV Міжнар. наук.-практ. конф., м. Дніпропетровськ, 11-13 листоп. 2008 р. – Дніпропетровськ, 2008. – С. 26-27.
14. Развитие фармацевтической биотехнологии в Национальном фармацевтическом университете / Л. С. Стрельников, О. П. Стрилец, М. Н. Ткач, О. С. Калюжная, О. А. Ерещенко // Пятый съезд Общества биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова : материалы съезда, г. Москва, 2-4 декаб. 2008 г. – М, 2008. – С. 162-163.
15. Создание комплексного пробиотического препарата / О. С. Калюжная, Л. С. Стрельников, О. П. Стрилец, Г. И. Кабачный // Биотехнология. Биомедицинская инженерия и технология современных социальных практик : сб. тр. Всерос. науч.-практ. конф., г. Курск, 23-24 апр. 2009 г. – Курск, 2009. – С. 41-43.

Калюжная О.С. Розробка складу та технології супозиторіїв з пробіотиками. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук зі спеціальності 15.00.01. – «Технологія ліків та організація фармацевтичної справи». – Національний фармацевтичний університет, Харків, 2010.

Розроблено науково-методичний підхід до створення супозиторіїв для профілактики та лікування дисбіозів, пов’язаних із розвитком інфекційно-запальних захворювань. Теоретично й експериментально обґрунтовано склад препарату у вигляді супозиторіїв «Пробіоваг», який містить пробіотичну біомасу лакто- та біфідобактерій, кислоту молочну 80 %, як супозиторну основу – твердий жир, як ПАР – твін-80.

На підставі комплексних фізико-хімічних, фармако-технологічних, біофармацевтичних і мікробіологічних досліджень розроблено оптимальну технологію та методи стандартизації супозиторіїв. Досліджено стабільність супозиторіїв під час зберігання.

Проведено мікробіологічні та біологічні дослідження розроблених супозиторіїв «Пробіоваг», якими доведено специфічну активність і безпечність препарату.

Ключові слова: супозиторії, вагінальні дисбіози, інфекційно-запальні захворювання, пробіотичні культури, кислота молочна 80 %, супозиторна основа, ПАР, технологія.

Калюжная О.С. Разработка состава и технологии суппозиториев с пробиотиками. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 15.00.01. – «Технология лекарств и организация фармацевтического дела». – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2010.

Разработан научно-методический подход к созданию суппозиториев для лечения вагинальных дисбиозов, связаных с инфекционно-воспалительными заболеваниями. Теоретически и экспериментально обоснован состав препарата в виде суппозиториев «Пробиоваг», содержащий пробиотическую биомассу лакто- и бифидобактерий, кислоту молочную 80 %, как суппозиторную основу – твердый жир, как ПАВ – твин-80.

Для доказательства возможности использования промышленных пробиотических культур лакто- и бифидобактерий в акушерско-гинекологической практике были изучены их свойства, а именно: антагонизм по отношению к бактериям и грибам, являющихся основными возбудителями вагинальных заболеваний; антибиотикорезистентность к противомикробным и противогрибковым препаратам, используемым в комплексной терапии бактериальных, грибковых, трихомонадных, хламидийных и разных смешанных урогенитальных инфекциях; способность к адгезии к клеткам влагалищного эпителия. Результаты исследования доказали перспективность использования отечественных производственных пробиотических культур лакто- и бифидобактерий в акушерско-гинекологической практике.

В ходе микробиологических исследований показано, что комбинация различных пробиотических культур в составе одного препарата позволяет повысить их пробиотические свойства и расширить спектр активности. Подбор оптимального соотношения культур лакто- и бифидобактерий в составе препарата осуществляли по результатам изучения антагонистических свойств, как основного критерия отбора пробиотических штаммов. Результаты исследования показали, что смешанная культура лакто- и бифидобактерий в соотношении 1:1 является наиболее оптимальной для введения в состав вагинального препарата. Проведенные микробиологические исследования позволили определить оптимальную концентрацию действующих веществ: смесь лакто- и бифидобактерий в соотношении 1:1 общим количеством не менее $2 \cdot 10^7$ КОЕ/мл, кислоты молочной 80 % – 0,01 г.

С целью определения оптимальной суппозиторной основы препарата были проведены физико-химические, фармако-технологические, биофармацевтические и микробиологические исследования, которые показали, что наиболее оптимальной основой является твердый жир. Результаты биофармацевтических исследований показали, что на интенсивность высвобождения кислоты молочной из суппозиториев влияет вид суппозиторной основы и ПАВ. Для полного высвобождения действующих компонентов из суппозиторной основы в состав основы вводили ПАВ – твин-80 в концентрации 1 %.

С целью разработки оптимальной технологии получения препарата нами были проведены реологические исследования. Анализ полученных реограмм показал, что ведение технологического процесса при температурах (36-38) °С позволяет получить суппозитории необходимого качества. Исследование влияния температуры дозирования, температуры и времени охлаждения на устойчивость суппозиториев к разрушению позволило выбрать оптимальные технологические параметры: время охлаждения – 20 мин, температура охлаждения – (10-14) °С. Разработанная схема производства суппозиториев положена в основу проекта технологического регламента.

Разработаны методики качественного и количественного анализа действующих веществ суппозиториев, которые введены в проект АНД. Для количественного определения содержания кислоты молочной использовали метод обратной алкалиметрии, для клеток микроорганизмов – метод разведения с последующим высевом на плотную питательную среду. Предложенные методики позволяют исчерпывающе оценить качество разработанного препарата.

Проведен контроль качества суппозиториев и доказана их стабильность при хранении в течении 1 года при температуре от 8 °С до 15 °С.

Ключевые слова: суппозитории, вагинальные дисбиозы, инфекционно-воспалительные заболевания, пробиотические культуры, кислота молочная 80 %, суппозиторная основа, ПАВ, технология.

Kalyuzhnaya O.S. Composition and formulation of the suppositories with probiotics. – Manuscript.

The thesis for the Candidate of Pharmacy Degree in speciality 15.00.01. – «Technology of Drugs and Organization of Pharmaceutical business». – National University of Pharmacy, Kharkiv, 2010.

Scientific-methodical approach for suppositories creation of action prophylaxis and treatments of vaginal dysbiosis has been developed. The composition of a preparation in form of suppositories «Probiovagum» has been theoretically and experimentally grounded, which contains the probiotic biomass lacto- and bifidobakterea, lactic acid 80 %, as suppositories base – a solid fat, as surfactant – twin-80.

On the basis of complex physical-chemical, pharmaco-technological, biopharmaceutical and microbiological studies, optimal technology and suppositories standardization methods have been developed. The stability of the suppositories during the process of its storing has been studied.

Specific activity and harmlessness of preparation have been proved.

Key words: suppositories, prophylaxis and treatments of vaginal dysbiosis, bifidobacteria, lactobacteria, lactic acid 80 %, suppositories basis, surfactant, technology.