

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

На правах рукопису

**КУХТЕНКО ОЛЕКСАНДР СЕРГІЙОВИЧ**

УДК 615.454.2.014.22:616.147.17-007.64

**РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ СУПОЗИТОРІЇВ  
КОМБІНОВАНОЇ ДІЇ “ПРОКТОПАНТЕЗИН” ДЛЯ  
ЛІКУВАННЯ ПРОКТОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ**

Спеціальність 15.00.01 – технологія ліків та організація фармацевтичної справи

**ДИСЕРТАЦІЯ**

на здобуття наукового ступеня  
кандидата фармацевтичних наук

Науковий керівник  
кандидат фармацевтичних наук,  
доцент Рубан Олена Анатоліївна

Харків – 2006

## ЗМІСТ

<b>ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ</b>	5
<b>ВСТУП</b>	6
<b>РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПРОКТОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ</b>	12
1.1. Проктологічні захворювання, їх етіологія та патогенез	12
1.2. Сучасні принципи терапії проктологічних захворювань	19
1.3. Біофармацевтичні вимоги до супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань	26
Висновки	32
<b>ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА</b>	33
<b>РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕНЬ</b>	33
2.1. Теоретичне обґрунтування складу супозиторіїв комбінованої дії для лікування проктологічних захворювань	33
2.2. Характеристика об'єктів дослідження	36
2.3. Методи досліджень	42
2.3.1. Фізико-хімічні методи дослідження	42
2.3.2. Біофармацевтичні методи досліджень	48
2.3.3. Фармакологічні методи досліджень	49
Висновки	52
<b>РОЗДІЛ 3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ СУПОЗИТОРІЇВ</b>	53
3.1. Експериментальне обґрунтування вибору носія та його складу	53
3.1.1. Визначення репаративної активності зразків супозиторіїв, виготовлених на різних основах	53
3.1.2. Визначення антимікробної активності зразків супозиторіїв, виготовлених на різних основах	55
3.1.3. Дослідження кінетики вивільнення діючих речовин з супозиторних основ	57

3.2. Експериментальний вибір виду та концентрації поверхнево-активної речовини у складі супозиторіїв	62
3.2.1. Дослідження впливу поверхнево-активної речовини на осмотичні властивості супозиторної основи	62
3.2.2. Дослідження впливу ПАР на антимікробну активність препарату	65
3.2.3. Дослідження впливу ПАР на біодоступність троксерутину	67
3.3. Експериментальне обґрунтування концентрації діючих речовин	70
3.3.1. Вибір концентрації декспантенолу у складі супозиторіїв на підставі фармакологічних досліджень	70
3.3.2. Вибір оптимальної концентрації троксерутину	72
3.3.3. Вибір оптимальної концентрації анестезину	73
3.3.4. Вибір оптимальної концентрації мірамістину у складі супозиторіїв	75
3.4. Розробка і обґрунтування технології виробництва супозиторіїв «Проктопантезин»	77
Висновки	89
<b>РОЗДІЛ 4 ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА РОЗРОБКА МЕТОДІВ АНАЛІЗУ СУПОЗИТОРІЇВ “ПРОКТОПАНТЕЗИН”</b>	91
4.1. Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення лікарських речовин у складі супозиторіїв	91
4.2. Дослідження органолептичних та фізико-хімічних показників супозиторіїв “Проктопантезин” та вивчення стабільності супозиторіїв у процесі зберігання	96
Висновки	102
<b>РОЗДІЛ 5 ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СУПОЗИТОРІЇВ „ПРОКТОПАНТЕЗИН”</b>	103
5.1. Дослідження фармакологічних властивостей супозиторіїв “Проктопантезин”	103
5.1.1. Протизапальна активність супозиторіїв “Проктопантезин”	103

5.1.2. Вивчення місцевоанестезуючого ефекту супозиторіїв “Проктопантезин”	104
5.1.3. Репаративна активність супозиторіїв “Проктопантезин”	105
5.2. Вплив супозиторіїв на перебіг експериментального проктиту	106
5.3. Визначення гострої токсичності супозиторіїв “Проктопантезин”	108
5.4. Вивчення хронічної токсичності супозиторіїв "Проктопантезин"	110
Висновки	115
<b>ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ</b>	116
<b>СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ</b>	118
<b>ДОДАТКИ</b>	134

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АНД – аналітична нормативна документація
- ВАТ – відкрите акціонерне товариство
- ВЕРХ – вискоєфективна рідинна хроматографія
- ВФС – временная фармакопейная стаття
- ГЛБ – гідрофільно - ліпофільний баланс
- ДНЦЛЗ – Державний науковий центр лікарських засобів
- ДФУ – Державна фармакопея України
- ЗАТ – закрите акціонерне товариство
- ЕКГ - електрокардіограма
- ЄФ – Європейська фармакопея
- МГД - моногліцерид дистильований
- М.м. – молекулярна маса
- МОЗ – Міністерство охорони здоров'я
- НПЗЗ - нестероїдні протизапальні засоби
- НТД – нормативно-технічна документація
- НФаУ – Національний фармацевтичний університет
- ОД – одиниця дії
- ПАР – поверхнево-активна речовина
- ПЕО – поліетиленоксид
- РФ – рухома фаза
- СП – спільне підприємство
- ТУ – технічні умови
- ТФС – тимчасова фармакопейна стаття
- УФ - ультрафіолет
- ФС – фармакопейна стаття
- ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок
- ф/ф– фармацевтична фабрика
- ЦНДЛ – Центральна науково-дослідна лабораторія
- ШКТ - шлунково-кишковий тракт

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Широке розповсюдження проктологічних захворювань, постійне зростання їх числа та високий ризик розвитку небезпечних ускладнень зумовлюють важливість і актуальність проблеми створення нових високоефективних лікарських препаратів для їх лікування [6, 7, 22, 150, 157, 164].

За даними літератури провідне місце серед усіх проктологічних хвороб займають такі захворювання, як: геморої – 41,4%; проктити – 33,7%; хронічні коліти – 15,0%; анальні тріщини – 10,0%; доброякісні пухлини – 7,6% [6, 7, 58, 103].

Медикаментозне лікування гострого і хронічного геморою, проктиту, а також анальної тріщини набуває все більшого значення. Цей факт пов'язаний зі значною розповсюдженістю цих захворювань у практиці колопроктолога та з небажанням хворого піддаватися хірургічному втручанню [6, 129, 152, 163]. Нажаль, зараз немає досить надійного засобу, який би забезпечував повне одужання. Асортимент препаратів вітчизняного виробництва для місцевого лікування проктологічних захворювань досить обмежений [19, 64, 66]. Лікарські засоби, що зареєстровані на території України, мають однонаправлену фармакотерапевтичну дію, яка зводиться до симптоматичної терапії, не усувають основних причин захворювання: запалення, порушення репаративних процесів, стану та функцій слизових оболонок, а лише тимчасово поліпшують самопочуття.

Розвиток проктологічних захворювань супроводжується цілою низкою патологічних явищ (запалення, дегрануляція тканини, інфікування патогенними мікроорганізмами, біль, підвищення локальної температури, ламкість судин та ін.) [48, 55, 85, 147]. Тому лікування проктологічних захворювань вимагає комплексного підходу, зокрема використання засобів, що мають в своєму складі декілька діючих речовин, які б впливали на різні чинники захворювання, потенціювали дію одна одної, та тим самим могли застосовуватися в меншій концентрації [7, 73, 107, 154].

Виходячи з наведеного слід зазначити, що проблема створення комплексного препарату для лікування проктологічних захворювань, а саме проктиту, геморою та анальної тріщини, який мав би протизапальну, репаративну, антибактеріальну, місцевоанестезуючу терапевтичні дії є важливою та актуальною. Розробка та впровадження у виробництво такого препарату дозволить підвищити ефективність лікування проктологічних захворювань та розширити асортимент вітчизняних препаратів для застосування в проктології.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету (“Хімічний синтез, виділення та аналіз нових фармакологічно активних речовин, встановлення зв'язку “структура-дія”, створення нових лікарських препаратів”, № державної реєстрації 0198U007011) та проблемної комісії “Фармація” МОЗ України.

**Мета і задачі дослідження.** Метою роботи є розробка науково обґрунтованого складу, технології та методів контролю супозиторіїв комплексної дії під умовною назвою “Проктопантезин” для застосування в проктології.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

- провести аналіз літератури з питань медикаментозного лікування проктологічних захворювань;
- теоретично та експериментально обґрунтувати підхід до розробки лікарського препарату у вигляді супозиторіїв комбінованої дії;
- провести комплексні фармако-технологічні, фізико-хімічні та біофармацевтичні дослідження з метою вибору та обґрунтування оптимального складу лікарського препарату;
- провести фармако-технологічні та біофармацевтичні дослідження розробленої лікарської форми;
- експериментально обґрунтувати та розробити раціональну технологію комбінованого препарату;
- дослідити методи визначення основних показників якості препарату,

розробити проект аналітичної нормативної документації (АНД);

- вивчити специфічну активність та нешкідливість розробленого лікарського засобу;
- визначити умови та термін зберігання;
- розробити проект технологічного промислового регламенту на виробництво супозиторіїв та провести його апробацію в умовах промислового виробництва.

*Об`єкт дослідження* – супозиторні основи, субстанції декспантенолу, троксерутину, анестезину, мірамістину, супозиторії комбінованої дії під умовною назвою “Проктопантезин”.

*Предмет дослідження* – розробка науково обґрунтованого складу та технології супозиторіїв під умовною назвою “Проктопантезин” для лікування проктитів, зовнішнього та внутрішнього геморою легкої і середньої важкості, анальної тріщини. Визначення оптимальної концентрації діючих та допоміжних речовин, дослідження фармако-технологічних та біофармацевтичних властивостей розробленого складу, розробка методик контролю якості препарату.

*Методи дослідження.* При вирішенні поставлених у роботі задач були використані загальноприйняті органолептичні, технологічні, фізико-хімічні (потенціометричне визначення рН, дослідження реологічних характеристик, спектрофотометрія), хроматографічні (рідинна та газова хроматографія), математичні (статистична обробка результатів), мікробіологічні (обґрунтування концентрації мірамістину), біофармацевтичні (вивчення осмотичної активності, вивільнення діючих речовин *in vitro*), біологічні (визначення специфічної активності та нешкідливості препарату) методи досліджень, що дозволяють об'єктивно і повно оцінити якісні і кількісні показники розробленого лікарського засобу на підставі експериментально одержаних результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше запропоновано науково-методичний підхід до створення супозиторіїв комплексної дії для застосування в проктології. Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано склад та раціональну технологію комбінованого препарату у вигляді супозито-



ріїв “Проктопантезин”, до складу якого входить декспантенол, троксерутин, анестезин та мірамістин, а як супозиторна основа використовується суміш поліетиленоксидів з додаванням поверхнево-активної речовини – твіну-80.

Вперше вивчено технологічні, фізико-хімічні, біофармацевтичні та мікробіологічні властивості розроблених супозиторіїв. Розроблені та відпрацьовані методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин препарату, визначено умови зберігання та термін придатності супозиторіїв. Досліджено вплив допоміжних речовин на технологічні властивості супозиторної основи та активність діючих компонентів препарату. Розроблено методику визначення кінетики вивільнення усіх діючих речовин лікарського засобу.

Доклінічними дослідженнями встановлено високу специфічну активність препарату, вивчено гостру і хронічну токсичність супозиторіїв. Виявлено високу репаративну, антимікробну, протизапальну та місцевоанестезуючу дію препарату.

За одержаними результатами проведених досліджень отримано патент України №75847.

**Практичне значення одержаних результатів.** На підставі комплексних біофармацевтичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних і фармакологічних досліджень розроблено оптимальний склад, технологію і методи стандартизації супозиторіїв для лікування таких проктологічних захворювань, як проктит, геморой та анальна тріщина.

Розроблено проект технологічного промислового регламенту на виробництво супозиторіїв “Проктопантезин”. Технологію виготовлення препарату апробовано в умовах промислового виробництва ЗАТ “Лекхім – Харків”.

Окремі фрагменти роботи впроваджені до навчального процесу кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від 15.05.06 р.), кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (акт впровадження від 05.12.06), кафедри біологічно активних сполук, фармації і біотехнології Національного університету “Львівська політехніка” (акт впровадження від

25.04.06 р.) та кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 05.04.06 р.)

**Особистий внесок здобувача.** Особисто здобувачем проведено аналіз і узагальнення літературних даних з досліджуваної проблеми. Проведено експериментальні дослідження з вивчення фізико-хімічних, технологічних та біофармацевтичних властивостей модельних зразків. Теоретично обґрунтовано і розроблено склад комбінованого лікарського засобу “Проктопантезин”. Вивчені фізико-хімічні властивості компонентів препарату, розроблено методики контролю якості супозиторіїв. Розроблено проекти АНД і технологічного промислового регламенту на виробництво супозиторіїв “Проктопантезин”. Наукові праці опубліковані у співавторстві з Рубан О.А., Чушовим В.І., Диким І.Л., Березняковою А.І., Грудько В.О., Філімоною Н.І., Ханіним В.А., Гейдеріх О.Г.

**Апробація результатів дисертації.** Основний зміст дисертаційної роботи доповідався на Всеукраїнському науково-практичному семінарі “Сучасний стан розробки та виробництва лікарських препаратів” (Харків, 2004), на VI з’їзді фармацевтів України (Харків, 2005), на міжрегіональній конференції “Молодь – медицині майбутнього” (Одеса, 2005), на науково-практичній конференції “Наукові основи створення лікарських засобів” (Харків, 2005), на науково-практичній конференції “Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України” (Харків, 2005), на 1-й Міжнародній науково-практичній конференції “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 2006), на міжрегіональній науково-практичній конференції “Актуальні питання фармацевтичної науки та практики” (Запоріжжя, 2006).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових робіт, у тому числі 5 статей (4 з яких в наукових фахових журналах), 6 тез доповідей, патент України.

**Обсяг та структура дисертації.** Дисертаційна роботи викладена на 134 сторінках машинопису, складається зі вступу, п’яти розділів, загальних висно-

вків, списку використаних літературних джерел та додатків. Список використаної літератури містить 175 джерел, у тому числі 35 іноземних авторів. Робота ілюстрована 24 таблицями та 19 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

# СУЧАСНІ АСПЕКТИ СТВОРЕННЯ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ПРОКТОЛОГІЧНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

### 1.1. Проктологічні захворювання, їх етіологія та патогенез

Проктологічні захворювання впродовж більш ніж чотирьох тисячоліть є одними з найбільш розповсюджених хвороб людини. Достатньо сказати, що геморой та його ускладнення є причиною більше 40% звернень до хірурга. З'явившись одного разу, геморой, проктит або анальна тріщина незмінно рецидивують і приносять багато тілесних та душевних страждань, позбавляють працездатності, знижують якість життя [7, 8, 72, 104, 121, 143, 163].

До проктологічних захворювань відносять не тільки захворювання прямої кишки, але й всієї товстої кишки, оскільки при деяких захворюваннях (наприклад неспецифічний виразковий коліт, хвороба Крона та ін.) одночасно уражаються відділи ободової та прямої кишок [104, 108, 112, 154].

Клінічні прояви захворювань товстої кишки різноманітні і не завжди досить чітко виражені. При більшості з них відзначається період прихованого перебігу, потім з'являються слабкі ознаки захворювання, які майже не фіксуються хворим і, частіше за все, виражаються «кишковим дискомфортом»: спостерігаються періодичні затримки випорожнення, неприємні відчуття внизу живота або відчуття його здуття, відчуття стороннього тіла в прямій кишці та ін. Ці початкові прояви захворювань товстої кишки згодом стають інтенсивними та постійними і супроводжуються гострими болями, важким закрепом або проносом, виділенням слизу і крові, свербінням в промежині, підвищенням температури тіла, виснаженням, інтоксикацією та ін. [8, 104, 130, 154, 163, 167].

Геморой – найпоширеніше колопроктологічне захворювання, ним страждає в середньому 12 зі 100 людей, а його частка серед хвороб прямої кишки складає близько 40% [8, 104, 108].

Гемороем страждають люди різного віку, більше мешканці міст, які ведуть малорухливий спосіб життя. В будь якому віці частіше хворіють чоловіки.

Відмічено, що у молодих пацієнтів, на відміну від літніх людей, превалює зовнішній, нерідко – тромбований геморою [9, 27, 130, 138, 142, 143].

Поява геморою є наслідком порушеної гемодинаміки та запалення в судинах гемороїдальних сплетінь, що часто супроводжується тромбозом, варикозним розширенням та склерозом вен, ускладнюється кровотечею.

До етіологічних факторів геморою традиційно відносять:

- закріп (у тому числі при незбалансованому харчуванні та нестачі рослинної клітковини і екстрактивних речовин у раціоні);
- дисфункцію прямої кишки різного генезу, яка викликає спастичний стан сфінктеру прямої кишки і необхідність частого і тривалого натужування при дефекації (наприклад, при спастичній хворобі в порожнині малого тазу, психічно-емоційних порушеннях);
- перманентне порушення венозного кровообігу в нижній частині тіла (при тривалому стоянні на ногах, малорухомому способі життя, підйомі ваги, ожирінні, бронхіальній астмі);
- зловживання алкоголем, жирними стравами, а також прийом лікарських препаратів, які порушують портосистемний кровообіг. Цей стан, який призводить до уповільнення кровотоку в портальній системі, сприяє розвитку простого геморою, котрий необхідно відрізнити від варикозного розширення вен прямої кишки, яке зустрічається більш ніж у 40% хворих з хронічною портальною гіпертензією різної етіології;
- хронічні запальні захворювання аноректальної зони і органів малого тазу: бактерійний сальпінгоофорит, простатит або цистит, які призводять до запалення судинних утворень, порушення гемодинаміки і лимфогенного розповсюдження інфекцій у гемороїдальні сплетення;
- вагітність - гострий геморою у жінок найчастіше розвивається при повторенні вагітності та в 2-3 триместрах [8, 27, 130, 138].

Етіологія геморою, на думку більшості дослідників проблеми, не вивчена в повному обсязі, і серед факторів, які теоретично можуть бути пов'язані з розвитком геморою, найбільшої уваги заслуговує дослідження спадкових (генети-

чно опосередкована некомпетентність з'єднувальної тканини судин і мезенхіми в цілому), а також соціальних і культуральних аспектів проблеми.

З часом, збільшення гемороїдальних вузлів відбувається у більшості людей, бо з віком зменшується міцність зв'язку слизової оболонки анального каналу з його стінками і тому з'являється випадіння вузлів. У тих випадках, коли помірне збільшення гемороїдальних вузлів визначається тільки при медичному огляді, скарги відсутні – такий стан вважають безсимптомним гемороєм і захворюванням не вважають [8, 27, 104, 130, 138, 150].

Дослідники пропонують декілька теорій патогенезу геморою. Можливо, описані ними механізми діють одночасно.

#### Механічна теорія.

Згідно механічної теорії, гемороїдальні вузли утворюються в наслідок дистального переміщення анальних валиків. Останні є нормальною анатомічною структурою і відіграють важливу роль у втриманні вмісту прямої кишки. Зсув анальних валиків обумовлюється фрагментацією з'єднувальнотканинних волокон, що їх фіксують.

#### Гемодинамічна теорія.

За цією теорією, розвиток геморою обумовлений гемодинамічними порушеннями. При цьому утворення гемороїдальних вузлів зв'язують зі зворотним напрямом току венозної крові, викликаним підвищенням внутрішньочеревного тиску (під час вагітності, при натужуванні і т.п.). Утворенню гемороїдальних вузлів сприяє застій венозної крові, що виникає внаслідок механічних перешкод (твердий кал, постійна присутність калу в ампулі прямої кишки) і функціональних порушень (відсутність розслаблення внутрішнього сфінктера прямої кишки під час дефекації). Крім цього, підвищення венозного тиску і розширення прямокишкових венозних сплетінь може бути пов'язане з відкриттям артеріовенозних шунтів в анальному каналі, що, в свою чергу, може викликатися різними гормональними або нервовими стимулами і поєднуватися зі спазмом прекапілярних артеріол [23, 27, 104].

Для геморою традиційно характерні два основні симптоми – кровотеча (51%) і випадіння вузлів з анального каналу (37%); а також такі симптоми як анальний зуд (9%), відчуття дискомфорту в анальному каналі (5%), виділення слизу (2%). Під маскою геморою нерідко протікають такі хвороби, як поліпи і колоректальний рак, тому, при проявах кишкового дискомфорту, а особливо при виділенні крові з прямої кишки необхідне проведення її пальцевого огляду, ректоскопії, колоно- або ірригоскопії [8, 27, 130, 138, 143, 155, 175].

В залежності від ступеня збільшення гемороїдальних вузлів і розвитку дистрофічних процесів в утримуючому фіброзно-м'язовому каркасі виділяють чотири стадії захворювання:

I стадія. Звичайно виявляється кровотечами. Гемороїдальні вузли не випадають. При ректоскопії вони визначаються вище зубцюватої лінії.

II стадія. Гемороїдальні вузли випадають при натужуванні і вправляються самостійно.

III стадія. Гемороїдальні вузли випадають і вправляються тільки ручним методом. Спочатку випадіння вузлів відбувається тільки під час дефекації, пізніше – при будь-якому підвищенні внутрішньочеревного тиску, наприклад, при підйомі ваги або кашлі.

IV стадія. Гемороїдальні вузли випадають у стані спокою і не вправляються або знову випадають відразу після вправлення. При цьому часто спостерігається їхній тромбоз, біль в області заднього проходу, а також сильні кровотечі [27, 104, 108, 112, 130, 138, 154].

Типовий симптомокомплекс хронічного протікання захворювання складається з постійних кровотеч, пов'язаних найчастіше з дефекацією і випадінням гемороїдальних вузлів із заднього проходу.

Дискомфорт і анальний зуд особливо виражені у пацієнтів із синдромом подразненої товстої кишки або при інших функціональних захворюваннях шлунково-кишкового тракту. Практично у всіх пацієнтів з виділенням слизу з анального каналу відзначені супутні захворювання прямої і ободової кишок. Отже, ці симптоми не можна назвати патогномонічними для геморою.

Тупі постійні болі, характерні для тривалого перебігу захворювання з частими загостреннями, є однією з головних причин звернення до лікаря. Основним чинником больового синдрому при хронічному геморої найчастіше є хронічна анальна тріщина [52, 130, 169].

Анальна тріщина – лінійний або еліпсоподібний дефект (виразка) слизової оболонки анального каналу. Виникає вона спонтанно. Частота виникнення анальної тріщини, коливається від 11 до 15% серед захворювань товстої кишки і складає 20-25 випадків на 1000 дорослого населення. Частіше хворіють жінки молодого і середнього віку [8, 27, 38, 130, 138].

Причини виникнення анальної тріщини різноманітні. Серед них як найбільш ймовірні розглядаються: механічні або судинні порушення, зміни периаанального епітелію (паракератоз), нейром'язові зміни анального сфінктера. Зона анального каналу має анатомічні передумови до утворення тріщин. По-перше, тут розташовані більш глибокі дистальні частини задньопрохідних пазух (крипт). По-друге, на задній стінці анального каналу сходяться сухожильні закінчення м'язів анального сфінктера. У жінок слабким місцем анального каналу є його передня частина, де сходяться вульва, піхва і фіброзний центр промежини. Тому тріщина в передній частині анального каналу зустрічається, в основному, у жінок. На бічних стінках анального каналу тріщини бувають відносно рідко.

Утворення тріщини пов'язане з судинними змінами в анальному каналі. Медіальні стінки внутрішніх гемороїдальних вузлів є стінками заднього проходу. Вони розташовані в зоні аноректальної лінії, яка найбільше піддається травмі під час дефекації. Крім того, порушення кровообігу (застій крові, тромбоз) у цій області може супроводжуватися утворенням лінійних виразок, подібних за своїм характером до варикозних виразок, що пояснює хронічний перебіг багатьох анальних тріщин при геморої. Таким чином, анальна тріщина є поліетіологічним захворюванням, що необхідно враховувати в процесі її лікування [8, 27, 104, 108, 114, 130, 138, 153].



Анальна тріщина може виникати в результаті ушкодження слизової оболонки задньопрохідного каналу при закрепах та діареї, а також в наслідок травми сторонніми предметами, що містяться у випорожненнях. Ділянка слизової оболонки в зазначених зонах скарифіцирується, а потім ущільнюється та поглиблюється, саме у такий спосіб формується тріщина – продольний дефект слизової оболонки з чіткими краями і дном. При хронічному захворюванні краї такої виразки ущільнюються, особливо в дистальній частині тріщини, де при цьому формується поліподібне, з'єднувальнотканинне потовщення – “сторожовий горбик”, а в проксимальному відділі, тобто на рівні самої зубцюватої лінії, іноді утворюється гіперпластичний анальний сосочок [104, 108, 114, 130].

Майже в 70% хворих тріщина зустрічаються одночасно з хронічними захворюваннями верхніх відділів травного тракту (гастрит, виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки, холецистит). У такого ж відсотка хворих спостерігається поєднання анальної тріщини і геморою.

Клінічна картина анальної тріщини досить характерна. Подразнення нервових закінчень слизової оболонки при тривалому існуванні тріщин викликає різкі больові відчуття і нерідко спазм сфінктера заднього проходу. Тонічний спазм цих м'язів, що настає після дефекації, може тривати по декілька годин. У цих випадках створюється порочне коло – анальна тріщина викликає різкі больові відчуття, що призводить до спазму (головним чином внутрішнього сфінктера), що, у свою чергу, перешкоджає загоєнню тріщини, обумовлюючи ішемію тканин [8, 114, 153].

Біль під час дефекації більш характерна для гострих тріщин, а після неї – для хронічних. Необхідно відзначити, що інтенсивні болі змушують хворих прагнути до рідшої дефекації. У результаті цього виникає затримка випорожнення, що сприяє розвитку закрепу. У деяких випадках при тривало існуючій анальній тріщині болі можуть бути відсутніми. Спазм сфінктера спостерігається майже в 60% хворих [27, 38, 52, 104, 108].

Запальний процес, що розвивається довкола затромбованих гемороїдальних вузлів нерідко призводить до гострого парапроктиту, що також є усклад-

ненням геморою. Тривале випадіння гемороїдальних вузлів, особливо в осіб літнього віку, призводить до недостатності анального сфінктера і неможливості втримання газів, а іноді і рідкого кишкового вмісту.

Парапроктит – запалення параректальної області (навколопрямокишкової тканини). Високовірулентна інфекція з прямої кишки по анальним залозам розповсюджується в навколопрямокишковий клітинний простір. Парапроктит викликається змішаною мікрофлорою. Частіше за все (98%) у посіві знаходять стафілококи в сполученні з кишковою паличкою [104, 114, 121, 174].

При поширеному запаленні, яке захоплює декілька задньопротидних па-зух і анальних сосочків, розвивається проктит. Проктит – запалення слизової оболонки прямої кишки. Часто проктит поєднується з запальними змінами сиг-моподібної кишки – проктосигмоїдит. На розвиток проктиту впливають різно-манітні фактори, з урахуванням яких розрізняють аліментарний проктит, який виникає внаслідок надмірного вживання гострих страв, пряностей та великих доз алкоголю; гонорейний проктит; застійний проктит, який спостерігається у осіб, що страждають на закреп, на фоні венозного застою в стінці прямої киш-ки і травматизації її слизової оболонки; променеий проктит, що є наслідком променевої терапії недоброякісних пухлин тазових органів; паразитарний про-ктит, що викликається дизентерійними амебами, стрептококами та трихомона-дами [3, 27, 89, 97, 130].

Розвитку проктиту можуть сприяти переохолодження, захворювання прямої кишки і сусідніх органів – геморою, анальна тріщина, парапроктит, про-статит, цистит та ін. Розрізняють гострий та хронічний проктит. Гострий про-являється в різних морфологічних формах: катарально-геморагічній, катараль-но-гнійній, катарально-слизовій, поліпозній, ерозивний проктит, виразковий проктит.

Хронічний проктит може протікати в гіпертрофічній, нормотрофічній та атрофічній формах. При гіпертрофічному проктиті складки слизової оболонки потовщені, при нормотрофічному мають звичайний вигляд, при атрофічному – згладжені, слизова оболонка тонша за норму. Визначається різний ступінь гі-

перемії і набряку слизової оболонки. Гострий проктит проявляється постійними болями в прямій кишці з характерними виділеннями із заднього проходу (серозними, слизистими, гнійними, геморагічними). Іноді проктит супроводжується підйомом температури тіла до 37,5 – 38,0 °С. Спостерігають слабкість або спастичний стан сфінктера заднього проходу. Хронічний проктит перебігає з болями, що періодично виникають в прямій кишці. В періоди загострення можлива зміна тону сфінктера заднього проходу (слабкість або спазм). При пальцевому дослідженні може визначатися відчуття болю в зоні запального процесу. Іноді хронічний проктит перебігає без неприємних відчуттів у хворого. Єдиною ознакою захворювання в таких випадках є лише наявність слизу в калових масах. Одним з ускладнень може бути звуження прямої кишки, яке формується при гонорейному проктиті [114, 130, 153].

Існує думка, що у багатьох випадках неспецифічний коліт починається “знизу”, з проктиту, причому клініка такого неспецифічного запалення варіює від доброякісних обмежених форм до важких, безперервних виразкових процесів [27, 148, 174].

Як відомо, проктит вважається поки-що доброякісним захворюванням, але тільки 20 % хворих від нього виліковуються, а майже у 45 % симптоми залишаються і хвороба переходить у хронічну стадію. Частота проксимального розповсюдження проктиту складає не менше 20 %.

Діагноз встановлюють на підставі анамнезу, даних огляду, ректального дослідження і ректоскопії. Для визначення ступеня і характеру запальних змін проводять цитологічне дослідження кишкового вмісту, посів калу з метою визначення складу кишкової мікрофлори, біопсію слизової оболонки.

## **1.2. Сучасні принципи терапії проктологічних захворювань**

Вибір тактики і методу лікування проктологічних захворювань в кожному конкретному випадку ґрунтується на:

- оцінці загального стану хворого, виразності болісного синдрому і ступені непрацездатності пацієнта;

- локалізації і ступені важкості захворювання;
- наявності ускладнень (защемлення або тромбоз гемороїдальних вузлів);
- планах пацієнта по лікуванню захворювання надалі [12, 24, 138].

У більшості випадків геморої протікає доброякісно, хронічно або з періодичними «невмотивованими» загостреннями, що призводять до нетривалої втрати працездатності. Однак наростання симптомів з часом спонукає лікарів до оперативного лікування геморою при першому ж зверненні хворого за медичною допомогою. З іншого боку, серед хворих поширене небажання піддаватися хірургічному втручанню з приводу геморою. Цю ситуацію ілюструють звіти медичних статистичних досліджень США [160], що свідчать про прогресуюче зменшення числа радикальних хірургічних операцій із приводу геморою. Так, число таких операцій у США знизилося з 165000 у 1982 році до 30000 у 1994. Вочевидь, серед причин зменшення кількості операцій не остання – висока сумарна вартість і травматичність операції, що змушує пацієнтів відмовлятися від радикального лікування. З іншого боку, до зменшення потреби в радикальній хірургічній допомозі в останні десятиріччя призвів розвиток методів консервативної і малоінвазивної терапії геморою, що проводиться на ранніх стадіях хвороби.

Медикаментозна терапія широко застосовується під час консервативного лікування неважкого і середньої ваги геморою, а також нерідко є методом вибору невідкладної допомоги при важкому, ускладненому геморої будь-якої локалізації у вагітних або при неприпустимості оперативного лікування з інших причин. За даними літератури, у країнах Європи і США консервативна терапія показана 20–45% пацієнтів і є ефективним та достатнім методом для лікування геморою [27, 104, 108, 114, 130, 138, 153].

Головна складова частина консервативного лікування геморою – раціональна етіопатогенетична фармакотерапія, спрямована на [27, 104, 108]:

- швидке й ефективне знеболення аноректальної зони;
- зменшення запалення і набряку уражених тканин;

- протидію мікро-, макротромбозу судин і, по можливості, розсмоктування вже виниклих тромбів;
- розслаблення внутрішнього сфінктера прямої кишки, зменшення моторики кишечника і розм'якшення калових мас для забезпечення спокою прямої кишки й ануса;
- відновлення нормальної резистентності венозних і лімфатичних судин, нормалізацію мікроциркуляції в зоні ураження.

Для швидкого знеболення аноректальної області з успіхом використовують поверхневі місцевоанестезуючі препарати: анестезин, лідокаїн, новокаїн і бупівокаїн, що можуть застосовуватися шляхом аплікацій, але частіше – у складі комбінованих мазей, гелів і супозиторіїв [96, 136, 148, 151, 164]. Найбільш активно в проктології застосовують анестезин та лідокаїн. Кожна з цих діючих речовин має свої позитивні та негативні сторони. Лідокаїн має виразніший анестезуючий ефект ніж анестезин, але його висока токсичність є застереженням для застосування у більшості хворих. Препарати системної дії: трамадол і ненаркотичні анальгетики/антипіретики призначають коротким курсом при важкому й ускладненому геморої. Призначення наркотичних анальгетиків опіатного ряду недоцільно, тому що ці препарати істотно підвищують тонус внутрішнього сфінктера прямої кишки і ускладнюють дефекацію [60, 91, 112, 138].

Протизапальна терапія в більшості випадків обмежується місцевим застосуванням швидкодіючих глюкокортикоїдів, зокрема – преднізолону. Місцеве протизапальне лікування при геморої не порушує репарації тканин і супроводжується мінімальною резорбцією і невисоким ризиком системної дії глюкокортикоїдів. Проте, необхідно пам'ятати, що місцеве лікування глюкокортикоїдами протипоказане при вірусних, грибкових та інших специфічних ураженнях прямої кишки й аноректальної області. Призначення нестероїдних протизапальних препаратів (НПЗЗ) виправдане при значному ураженні аноректальної області, але призводить до побічної дії з боку шлунково-кишкового тракту (ШКТ) [18, 54, 94, 96, 147].

В сучасній медицині для лікування проктологічних захворювань, насамперед анальної тріщини, а інколи і проктиту, призначають репаранти – речовини, які прискорюють процес загоєння ураженої слизової оболонки. Зараз як репаранти застосовуються супозиторії з метилурацилом та обліпиховою олією. Перспективним напрямком розробки ранозагоювальних препаратів слід вважати такі речовини як тіотріазолін, гіалуронова кислота та декспантенол. Ці речовини, окрім репаративної активності, мають протизапальні властивості, що є досить актуальним для лікування проктологічних захворювань. Особливу увагу, на наш погляд, слід приділити декспантенолу. Декспантенол – синтетичний аналог за будовою пантотенової кислоти, яка є водорозчинним вітаміном комплексу В і бере участь у проміжному обміні речовин: вуглеводів, білків і жирів. Його застосування актуальне при лікуванні анальної тріщини (репаративна дія), проктиту та геморою (протизапальна активність) [66, 75, 85, 129].

Для лікування геморою широко застосовують місцеводіючі засоби, що містять гепарини [40]. Крім антикоагулянтної і фібринолітичної, гепарин має протинабрякову і капіляропротекторну дію. Препарати, що містять гепарин, безумовно, є засобами вибору при гострому тромбозі гемороїдальних вузлів, однак не менш ефективні при будь-якій іншій формі геморою. У разі призначення місцеводіючих гепаринвмісних препаратів повне розсмоктування тромботичних мас відбувається не раніше ніж через 4–8 тижнів терапії. Однак протипоказанням до місцевого лікування гепарином є порушення зсідання крові [27, 104].

Тромбоз гемороїдальних вузлів, ускладнений запаленням, є показанням до застосування комбінованих препаратів, що містять знеболюючі, тромболітичні та протизапальні компоненти. Кровотеча виступає одним з основних симптомів геморою. Кровотечі, що не припиняються протягом однієї години є ознакою гострого процесу, і для його усунення можна застосовувати супозиторії, що містять адреналін. Крім цього застосовують такі місцеві гемостатичні засоби, як адроксон, беріпласт, тахикомб, спонгостан, що складаються з фібриногену і тромбіну. При введенні в анальний канал вони розсмоктовуються, утво-

рюючі фібринову плівку і блокують ділянки гемороїдальних вузлів, що кровоточать [23, 60, 68, 108].

При курсовому консервативному лікуванні геморою зараз широко перорально використовують капіляростабілізуючі та венотонізуючі засоби (біофлавоноїди – рутин, діосмін, есцин, троксерутин). Троксерутин показаний для профілактики ускладнення хронічного геморою. Він зменшує проникність і ламкість капілярів, чинить протизапальну та протинабрякову дію, застосовується при порушеннях венозного кровообігу, зміцнює судинну стінку, покращує мікроциркуляцію [9, 28, 62, 132, 144, 146].

Заради простоти і зручності використання в препаратах для місцевого лікування геморою базові терапевтичні засоби традиційно комбінують.

Не менш важливими складовими консервативного лікування геморою є: дотримання дієти з обмеженням тваринних жирів, кави і гострих приправ; заборонено вживати алкоголь; показана ретельна гігієна аноректальної області; застосування ванночок з антисептиками; корекція емоційних розладів і формування позитивної психічної установки на адекватне лікування геморою [7, 60].

Останніми роками, у зв'язку з розвитком нових технологій у медицині, з'явилися так звані малоінвазивні способи лікування геморою, цілком придатні для застосування в амбулаторних умовах. До них належать інфрачервона фотокоагуляція гемороїдальних вузлів, склеротерапія, лігування латексними кільцями, лігування гемороїдальних судин під контролем доплерометрії та ін. Але застосування цих методів досить обмежене. Протипоказанням для малоінвазивних методів лікування є тромбоз гемороїдальних вузлів, гострий і хронічний парапроктит, анальна тріщина та інші запальні захворювання анального каналу і промежини. До того ж, якщо консервативне лікування гострого і хронічного геморою може здійснюватися лікарями загальної практики, то малоінвазивні методи повинні виконуватися тільки лікарем-колопроктологом в амбулаторних умовах, або у стаціонарах. Хірургічне втручання має проводитись в спеціалізованих стаціонарах [68, 145, 158].

Радикальне хірургічне і малоінвазивне лікування геморою завжди супроводжується тим або іншим ступенем деструкції вузлів, ушкодженням (механічним або термічним) слизової оболонки прямої кишки і шкірного покриву аноректальної зони. Неминуча травматизація тканин вимагає проведення адекватної аналгезії і протизапальної терапії. З цією метою в післяопераційному періоді найчастіше призначають системні анальгетики, у тому числі наркотичні, у комбінації з НПЗЗ. Після оперативного лікування геморою не втрачає актуальності місцева протизапальна і фібринолітична терапія, оскільки вона має на меті не тільки швидку реабілітацію хворого, але і запобігає розвитку дистрофічних захворювань шкіри аноректальної області, стриктур, тріщин прямої кишки. Таким чином, фармакотерапія геморою і його ускладнень є невід'ємною частиною лікування і засобом профілактики ускладнень після оперативного втручання в область прямої кишки [38, 60, 108, 145].

Закордонними вченими доведена можливість усунення спазму анального сфінктера за допомогою препаратів, що містять нітрогліцерин. Застосовуються такі препарати, як нітролінгвал, ізомак-спрей, ізокет і нітрогліцеринова мазь. Однак використання цих препаратів обмежено через їх виражений вазодилуючий вплив і побічні ефекти, такі як слабкість та головний біль [145, 158, 162].

При лікуванні проктологічних захворювань слід звернути увагу на можливість інфекційного ускладнення [10, 27, 32]. Тривале запалення аноректальної області підвищує вірогідність інфікування слизової прямої кишки патогенною мікрофлорою, особливо після операційного втручання або у хворих на проктити. Зараз для антибактеріальної терапії широко застосовують антибіотики, але поширення резистентних штамів вимагає попередньої перевірки чутливості мікроорганізмів до їх дії [3, 14, 16, 83, 171]. В сучасній медицині як альтернативу антибіотикам широко застосовують катіонні ПАР, серед яких особливу увагу привертає мірамістин. Він ефективно запобігає інфікуванню ран, активізує процеси регенерації, не викликає місцевого подразнення і не проявляє алергізуючих властивостей, купірує ранове і перифокальне запалення, практично не абсорбується в системний кровообіг [49, 66, 90, 119, 133, 140].



Аналіз ринку лікарських засобів для лікування проктологічних захворювань показує, що номенклатура препаратів, які виробляються вітчизняними фармацевтичними підприємствами за останні роки дещо зростає. Водночас, сегмент фармацевтичного ринку, який вони займають, ще досить малий в порівнянні з аналогічною продукцією закордонних фірм-виробників. В таблиці 1.1 наведені препарати як вітчизняного, так і закордонного виробництва, що найбільш активно застосовуються для лікування проктологічних захворювань [49, 90].

Таблиця 1.1

### Асортимент супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань

Назва супозиторіїв	Виробник	Склад препарату	Фармакологічна дія	Показання
1	2	3	4	5
Супозиторії Бетіол	“Мон-фарм”, Україна	екстракту беладони 0,15 г іхтіолу 0,2 г	Болезаспокійлива протизапальна спазмолітична	Геморой, анальна тріщина
Анузол	“Лекхім”, Україна	ксероформу 0,10 г екстракту красавки 0,02 г цинку сульфату 0,05 г гліцерину 0,12 г	Антисептична, спазмолітична знеболювальна	Геморой, анальна тріщина
Супозиторії Анестезол	“Лекхім”, Україна	анестезину 0,10 г бісмуту субгалату 0,04 г цинку оксиду 0,02 г ментолу 0,004 г	Ранозагоювальна в’яжуча підсушуюча знеболювальна	Геморой, анальна тріщина
Супозиторії Нео-Анузол	“Мон-фарм”, Україна	цинку оксиду 0,2 г бісмуту нітрату осн. 0,075 г таніну 0,05 г йоду 0,005 г резорцину 0,005 г метиленового синього 0,003 г	В’яжучий засіб	Тріщини заднього проходу
Супозиторії з іхтіолом	“Ніж-фарм”, Росія	іхтіолу 0,2 г	Протизапальна місцевоанестезуюча антисептична	Проктит, анальна тріщина
Супозиторії Гепатромбін Г	“Хемо-фарм”, Сербія і Чорногорія	гепарину натрію 120 ОД преднізолону ацетату 1,675 мг полідоканолу 30,0 мг	Протизапальна місцевоанестезуюча протитромботична	Біль у ділянці анального отвору, тромбофлебіт геморойдального сплетення
Супозиторії Постеризан	“Др. Каде Ф/ф ГмбХ”, Німеччина	387,1 мг стандартизованої суспензії культури бактерій ( $6,6 \times 10^8$ E. Coli) 6,6 мг фенолу	Імунологічна репаративна протизапальна	Проктит, анальна тріщина

Продовж. таблиці 1.1

1	2	3	4	5
Супозиторії Прокто-Гливенол	“Новартіс” Консьюмер Хелс СА, Швейцарія	трибенозид – 400 мг лідокан – 40 мг	Місцевоанестезуюча протизапальна	Геморой, анальна тріщина
Супозиторії Ультра-прокт	“Шерінг АГ”, Німеччина	флуокортолону півалату 0,61 мг флуокортолону капроату 0,63 мг цинхокаїну г/х 1 мг	Протизапальна протиалергічна болезаспокійлива	Геморой, анальна тріщина
Супозиторії Прокто-зан	“Стада” Арцнай-міттель АГ	буфексамак – 250 мг бісмуту субгалат – 100 мг титану діоксид – 100 мг лідокану г/х – 10мг	Місцевоанестезуюча в’язуча протизапальна	Геморой, анальна тріщина, проктит

Як видно з даних таблиці, ринок фармацевтичних препаратів вітчизняного виробництва досить обмежений. Нажаль, проктологічні лікарські засоби вітчизняних фармацевтичних фірм практично копіюють один одного, їх фармакологічна дія обмежується лікуванням симптоматики захворювання. Навпаки, препарати імпортного виробництва мають широкий спектр дії і тому характеризуються значно більшим попитом серед хворих на проктологічні захворювання.

### **1.3. Біофармацевтичні вимоги до супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань**

Одним з головних напрямків розвитку біофармації є вибір оптимального виду і складу лікарської форми для гарантування безпечності та високої терапевтичної ефективності [11, 21, 101, 105, 128].

Зараз фармацевтичний ринок України активно насичується лікарськими засобами різних фармакологічних груп. Серед цих препаратів значне місце займають ректальні лікарські форми: супозиторії, ректальні мазі та капсули, ректальні пінні аерозолі тощо. Найбільший сегмент ринку ректальних препаратів займають супозиторії, які мають значні переваги в порівнянні з іншими лікарськими формами: зручність використання в педіатрії, геріатрії і психіатричній

практиці; простота і безболісність введення, відсутність небезпеки внесення інфекції; лікарські речовини потрапляють безпосередньо в загальний кровообіг, минаючи шлунково-кишковий тракт і печінку, що особливо важливо при вживанні препаратів, які мають гепатотоксичну дію; швидкість всмоктування багатьох лікарських речовин може бути прирівняна до швидкості при внутрішньом'язовому введенні, що є актуальним при наданні екстреної медичної допомоги; при застосуванні супозиторіїв знижується ступінь і частота алергезуючої дії препарату; ефект всмоктування не залежить від наповненості шлунково-кишкового тракту [19, 35, 55, 57, 134]. Локалізація відповідних фармакологічно активних речовин безпосередньо в ректумі дозволяє полегшити місцеві болі, прискорює загоєння розривів, тріщин і сприятливо впливає на запальні процеси, а можливість призначення у формі супозиторіїв одночасно декількох лікарських речовин із різною фармакологічною дією особливо важлива при комплексній терапії проктологічних захворювань [27, 35, 49, 100, 104].

На швидкість всмоктування лікарських засобів із супозиторіїв впливають такі фізіологічні фактори, як м'язовий тонус, стан кровообігу та товщина шару слизу на поверхні слизової оболонки прямої кишки. На забезпечення цих переваг впливає ряд фармако-технологічних факторів.

Найбільш вагомим фактором, що впливає на абсорбцію діючих речовин із супозиторіїв є природа основи, на яку приходиться до 90% від маси супозиторію. Ступінь та швидкість вивільнення діючих речовин зі складу препарату значно залежить від того, які допоміжні речовини були введені до супозиторія [18, 21, 57, 137].

Ректальні супозиторії можуть мати форму конуса, циліндра із загостреним кінцем, або іншу форму. Маса одного супозиторія має бути від 1 до 4 г. Довжина може знаходитися в межах 2,5 – 4,0 см; максимальний діаметр звичайно не перевищує 1,5 см. Маса супозиторія для дітей обмежується 0,5 – 1,5 г.

Супозиторії розглядають як дисперсні системи, що складаються із дисперсної фази, у ролі якої виступають лікарські речовини (основні компоненти) та дисперсного середовища яким є носій (основа). У залежності від властивос-

тей лікарських речовин супозиторії можуть створювати різні дисперсні системи (гомогенні або гетерогенні).

До супозиторних основ висувають такі вимоги [19, 35, 64, 106, 120, 127]:

- зберігати достатню твердість при кімнатній температурі;
- температура плавлення або розчинення має бути близькою до температури тіла;
- бути фізіологічно індиферентними; не подразнювати прямої кишки і не викликати інших небажаних реакцій;
- не перешкоджати вивільненню і терапевтичній дії лікарської речовини;
- не взаємодіяти з лікарськими речовинами, які входять до складу супозиторіїв.

Із зазначеними загальними вимогами тісно пов'язані і технологічні вимоги до основ. Отримання супозиторної основи з необхідними фізико-хімічними даними – важке завдання. Основа повинна не тільки легко і повністю вивільняти діючі речовини та забезпечувати їх всмоктування через слизову оболонку прямої кишки, але й мати ряд оптимальних реологічних характеристик (пластичність, в'язкість, твердість), певну температуру плавлення і розрідження [19, 35, 64, 73, 77, 106, 120, 127].

На інтенсивність вивільнення лікарських речовин з лікарської форми та їх всмоктування в прямій кишці істотно можуть впливати не тільки фізико-хімічні властивості носія (температура плавлення, консистенція), але і наявність активатора всмоктування (диметилсульфоксид), ПАР (емульгатор Т-2, твін-80, емульгатор №1) та ін. [1, 11, 19, 106, 127].

На сьогодні відомо понад ста речовин природного і синтетичного походження, що використовуються як супозиторні основи. Велика чисельність основ і різноманітність їх властивостей вимагає класифікації.

Основи класифікують за:

- фізико-хімічними властивостями: гомогенні ліпофільні (жири, їх сплави, продукти переробки жирів та ін.), гомогенні водорозчинні (поліетиленоксиди, желатиногліцеринові гелі, колаген і т.п.) та емульсійні основи;

- методом отримання: природні (масла, жири, віск), продукти переробки природної сировини (колаген, гідрогенізовані жири, желатиногліцеринові гелі і т.п.), синтетичні (поліетиленоксиди) [19, 35, 64, 73, 77, 120, 127].

Необхідно підкреслити, що з урахуванням механізму деформації основ в прямій кишці, умов вивільнення лікарських речовин і їх всмоктування, а також різних вимог до основ залежно від їх розчинності у воді, з практичної точки зору, найбільше значення має класифікація супозиторних основ за фізико-хімічними властивостями.

Державна фармакопея України рекомендує для використання такі ліпофільні основи: масло какао, сплави масла какао з парафіном і гідрогенізованими жирами, рослинні і тваринні гідрогенізовані жири, ланоль, твердий жир, сплави гідрогенізованих жирів з воском, твердим парафіном і інші основи, дозволені до медичного застосування [44].

Ліпофільні основи повинні відповідати таким вимогам: швидко плавитися в прямій кишці, причому температура їх плавлення не повинна перевищувати 37 °С; мати достатню твердість і невеликий інтервал між температурою плавлення і застигання, достатню в'язкість, щоб уникнути вживання загусників; бути стабільними при зберіганні; добре поглинати рідини (розчини лікарських речовин).

Як гідрофільні основи рекомендуються: желатиногліцеринові гелі, сплави поліетиленоксидів різної молекулярної маси та інші речовини, дозволені до медичного вживання. Переваги таких носіїв порівняно з гідрофобними полягають у здатності розчиняти більшість лікарських речовин; з них значно краще, ніж з гідрофобних основ вивільняються і всмоктуються діючі речовини. Біодоступність активних компонентів не залежить від температури плавлення основи і обумовлена лише швидкістю розчинення основи та їх дифузії. Крім того, синтетичні основи придатні для вживання в регіонах, де температура навколишнього середовища вища, ніж температура плавлення гідрофобних основ. З технологічних позицій перевагою поліетиленоксидних основ є

значна в'язкість, яка запобігає седиментації нерозчинних лікарських речовин [21, 36, 39, 57, 105, 106, 127, 159, 161].

Разом з тим слід відзначити, що деякі супозиторні основи мають і певні недоліки. Так желатіногліцерінова основа унаслідок малої механічної міцності частіше застосовується для приготування вагінальних супозиторіїв. Вона несумісна з кислотами, лугами і терпкими засобами; при зберіганні швидко висихає і стає сприятливим середовищем для розвитку мікроорганізмів. Окремі недоліки мають і ліпофільні основи (залежність структурно-механічних властивостей від температури довколишнього середовища, недостатня стабільність та ін.).

Останнім часом зроблені спроби використання основ, до складу яких входять як гідрофільні так і гідрофобні компоненти в певних співвідношеннях. Проте використання таких комбінованих основ ще не набуло поширення і не вийшло за межі експериментальних досліджень [19, 77, 106, 120, 127].

На сьогодні в Україні промисловий випуск супозиторіїв проводиться на двох великих: ЗАТ "Лекхім" (м. Харків), ВАТ "Монфарм" (м. Монастирище), та декількох малих підприємствах, таких як СП "Сперко" та Тернопільська ф/ф. Номенклатура препаратів, що виробляються ними дещо зросла за останні роки, але їх сегмент фармацевтичного ринку України складає незначну частину в порівнянні з продукцією закордонних фірм-виробників препаратів проктологічного застосування.

Нажаль, вітчизняні підприємства не досить інтенсивно розширюють асортимент препаратів у формі супозиторіїв. При цьому фармацевтичний ринок України все більше насичується імпортованими засобами, іноді досить сумнівної якості. Слід зазначити, що більшість лікарських препаратів закордонного виробництва мають в своєму складі до п'яти, шести оригінальних активних компонентів. Збільшення кількості діючих речовин дозволяє розширити спектр дії препарату та за рахунок синергізму зменшити дози діючих речовин, що веде, в свою чергу, до підвищення ефективності та зниження токсичності [59, 82, 162].

Забезпечення якісного лікування хворих на проктологічні захворювання вітчизняними препаратами потребує широких досліджень з розробки лікарсь-

ких засобів комбінованої дії. Наявність в Україні високого наукового фармацевтичного потенціалу (НФаУ, ДНЦЛЗ, медичні вузи країни) та досить потужного промислового сектору виробництва фармацевтичних препаратів дозволяє нам сподіватися на розширення номенклатури ректальних лікарських засобів шляхом впровадження нових наукових розробок.

## ВИСНОВКИ

1. Проктологічні захворювання є актуальною проблемою сучасної медицини, що робить доцільним розробку нових лікарських засобів комбінованої дії.
2. Аналіз літературних джерел показує, що при лікуванні проктологічних захворювань широко використовуються методи консервативної терапії, в яких супозиторії займають провідне місце.
3. Патогенез проктологічних захворювань потребує застосування препаратів комбінованої дії які проявляють репаративну, протизапальну, знеболюючу та антисептичну дію.
4. Асортимент вітчизняних супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань є незначним і складається, в основному, з препаратів однонаправленої дії.
5. Розробка ректальних супозиторіїв комбінованої дії для лікування геморою, анальної тріщини, проктиту та інших запальних захворювань прямої кишки є актуальною проблемою фармацевтичної науки.



## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### РОЗДІЛ 2

#### ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ТА МЕТОДІВ

#### ДОСЛІДЖЕНЬ

##### **2.1. Теоретичне обґрунтування складу супозиторіїв комбінованої дії для лікування проктологічних захворювань**

Метою нашої дисертаційної роботи стало створення супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань. Враховуючи складний етіопатогенез цих захворювань ми вважали за доцільне розробити препарат комбінованої дії з репаративною, протизапальною, місцевоанестезуючою та антисептичною активністю. Вибір діючих та допоміжних речовин які б ефективно впливали на перебіг захворювання став одним з першочергових питань при розробці лікарського засобу.

В зв'язку з тим, що перебіг таких захворювань як анальна тріщина та проктит супроводжується значним ураженням слизової оболонки прямої кишки та порушенням її цілостності, нами було запропоновано ввести до складу препарату речовину, яка має репаративні та протизапальні властивості – декспантенол. Він є похідним пантотенової кислоти, яка бере участь в процесі ацетилювання при глюконеогенезі, вивільненні енергії з вуглеводів, синтезі і розщепленні жирних кислот, синтезі стеринів і стероїдних гормонів, ацетилхоліну та інших речовин. Декспантенол швидко адсорбується при нанесенні на шкіру або слизові оболонки, перетворюється на пантотенову кислоту і потрапляє до резерву ендогенної пантотенової кислоти. Пантотенова кислота необхідна для нормальної функції епітелію. Підвищення потреби в ній спостерігається при ушкодженні шкірного покриву або інших тканин, а її нестачу в шкірі можна компенсувати місцевим застосуванням декспантенолу. Низька молекулярна маса декспантенолу, гідрофільність і низька полярність полегшують його проник-

нення у тканини організму. До того ж декспантенол проявляє імуномодулюючу дію (підвищує тканинну резистентність за рахунок стимуляції функціональної активності нейтрофільних гранулятів), попереджає небезпечну для слизової оболонки аномальну проліферацію і диференціацію фібробластів з утворенням гіпертрофічних і келоїдних рубців. На відміну від інших репаративних речовин, що зараз використовуються в фармації, декспантенол не має протипоказань. Це вигідно відрізняє його від метилурацилу, який протипоказан при лейкозах і злоякісних захворюваннях кісткового мозку та тіотріазоліну, який не можна призначати в період вагітності [29, 90, 129].

З даних літературного огляду видно, що порушення функціонального стану судин має велике значення у патогенезі проктологічних захворювань, в зв'язку з чим до складу супозиторіїв ми пропонуємо ввести троксерутин.

Троксерутин належить до фармакологічної групи ангіопротекторів. Як біофлавоноїд троксерутин зменшує проникність і ламкість капілярів – підвищує їх стійкість, тонізує гладеньку мускулатуру стінок венозних кровоносних судин, проявляє протизапальну та протинабрякову дію на довколовенозні тканини. Троксерутин не викликає токсичного ефекту і не змінює структури внутрішніх органів. Не проявляє ембріотоксичного, тератогенного і мутагенного ефектів. Як і у випадку з декспантенолом, перевагою троксерутину перед аналогами у своїй фармакологічній групі є майже повна відсутність побічних ефектів та протипоказань. Есцин не можна застосовувати при наявності у пацієнта захворювання нирок та в I триместрі вагітності, а вживання діосміну може призвести до появи диспепсії. Водночас, єдиним застереженням для застосування троксерутину є підвищена чутливість до цієї речовини [27, 84].

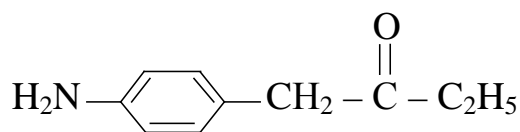
Велике значення при лікуванні геморою, проктиту та анальної тріщини має знеболення аноректальної області. Ці захворювання супроводжуються значним больовим ефектом, тому в проктології поширене застосування місцевих анестетиків. В Україні зареєстровано значну кількість анестезуючих речовин, що використовуються при виробництві лікарських засобів (прокаїну гідрохлорид, лідокаїн, бупівакаїн, тримекаїн та ін.). Для зняття больового синдрому як

місцевий анестетик ми пропонуємо використовувати анестезин (бензокаїн). Ця речовина при високих анестезуючих властивостях має низьку токсичність і цим вигідно відрізняється від інших анестетиків [91, 141].

Враховуючи численні ускладнення проктологічних захворювань супутньою інфекцією, до складу супозиторіїв нами було введено мірамістин – антибактерійну лікарську речовину, яка має також імуностимулюючі властивості. Мірамістин проявляє виражену бактерицидну і антисептичну дію відносно грампозитивних і грамнегативних бактерій у складі монокультур і мікробних асоціацій, включаючи госпітальні штами з полірезистентністю до антибіотиків. Будучи катіонним детергентом він гідрофобно взаємодіє з ліпідним бішаром мембран бактерій, проникає в цитоплазму мікроорганізмів, збільшує проникність їх клітинних стінок і індукує цитоліз. Речовина більш ефективна відносно грампозитивних бактерій (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae* та ін.), діє на збудників захворювань, що передаються статевим шляхом (*Chlamydia* spp., *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*), а також на віруси герпесу, імунодефіциту людини та ін. Виявляє протигрибкову дію на аскоміцети роду *Aspergillus* і роду *Penicillium*, дріжджові гриби (*Phodotorula rubra*, *Torulopsis gabrata* і т.д.), дерматофіти (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton schoenleini*, *Trichophyton violaceum*, *Epidermophyton Kaufman-Wolf*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis* т.д.), а також на інші патогенні грибки, наприклад, *Phityrosporium orbiculare*, у вигляді монокультур і мікробних асоціацій, включаючи грибкову мікрофлору з резистентністю до хіміотерапевтичних препаратів. Під дією мірамістину знижується стійкість бактерій і грибків до антибіотиків. Він має імуноад'ювантну дію, посилює регенеративні процеси внаслідок модуляції клітинної і місцевої гуморальної імунної відповіді. Вибір мірамістину ґрунтується також на відсутності у літературі даних про штами мікроорганізмів стійкі до його впливу. Зазначений комплекс біологічних властивостей вигідно відрізняє мірамістин від таких катіонних антисептиків як бензалконію хлорид, декаме-



**Анестезин (бензокаїн) (Anaesthesinum (Benzocaine)) – ЄФ 4 вид., с. 711.**



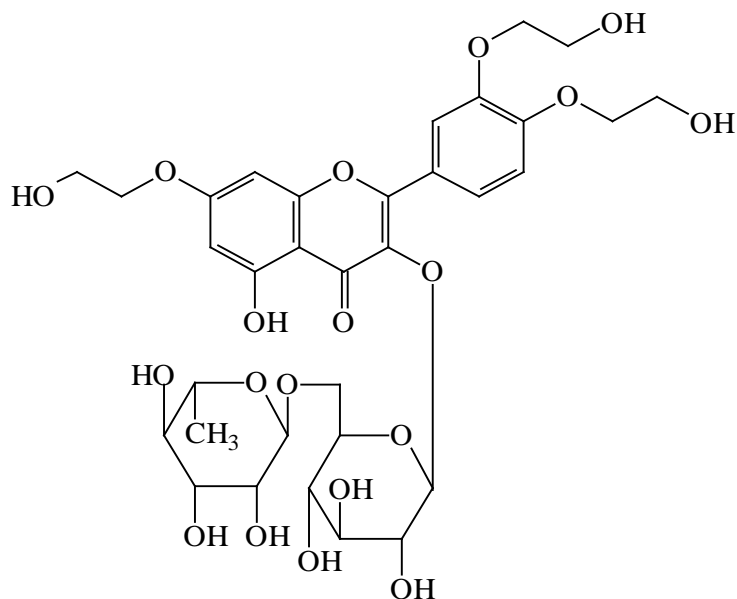
Етиловий ефір *n*-амінобензойної кислоти

$C_9H_{11}NO_2$

М.м.165,19

Білий кристалічний порошок без запаху, слабо-гіркий на смак. Викликає на язичку відчуття оніміння. Малорозчинний у воді, легко розчинний в спирті, ефірі, хлороформі. Важкорозчинний в жирних оліях та розведеній хлоридній кислоті.

**Троксерутин (Troxerutinum) – ФС 42У-1-1227-01**

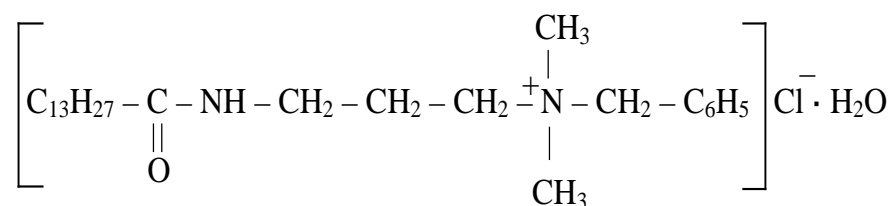


Три-7,3',4'-О-(β-гідроксиетил) рутозид

$C_{33}H_{42}O_{19}$

М.м. 742,3

Дрібнокристалічний порошок слабо-жовтого або жовтого кольору, зі слабким характерним запахом. Гігроскопічний. Легко розчинний у воді, практично не розчинний у 96% спирті і хлороформі.

**Мірамістин (Myramistinum) – ВФС 422098-91**

$\text{C}_{26}\text{H}_{47}\text{ClN}_2\text{O} \cdot \text{H}_2\text{O}$

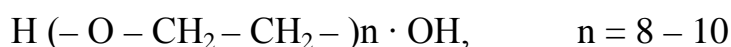
М.м. 457,1

Дрібнокристалічний порошок білого кольору, без запаху. Легко (повільно) розчинний у воді, спирті, хлороформі. рН 0,1% водного розчину 4,5–7,5 (потенціометрично).

**Твін-80 – ФС 42У-228-485-99**

Рідка речовина від лимонного до бурштинового кольору, зі слабким запахом, гірка на смак. Розчинна у воді та органічних розчинниках; синтетичний емульгатор; складний ефір олеїнової кислоти і поліоксиетильованого сорбітану. Густина від 1,060 до 1,100 г/см<sup>3</sup>; рН від 6,0 до 8,0 (5% водний розчин, потенціометрично), ГЛБ 14,5.

**Поліетиленоксид-400 (ПЕО-400, макрогол типу 400) – ДФУ, Доповнення 1, с. 393-395.**



М.м. 375 – 450

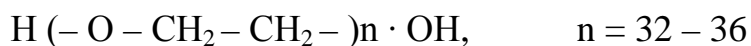
ПЕО-400 є продуктом полімеризації окису етилену або продуктом поліконденсації етиленгліколю. Застосовується як один з компонентів основи для мазей та супозиторіїв.

Безбарвна, прозора в'язка рідина зі слабким характерним запахом. Гігроскопічна. Змішується з водою, ацетоном, хлороформом, гліцерином, 95% спиртом у будь-яких співвідношеннях; з іншими поліетиленоксидами у всіх співвідношеннях (у розплаві), не змішується з ефіром.

Густина 1,11-1,14 г/см<sup>3</sup> при 25 °С.

pH 5,0-7,5 (5% водний розчин, потенціометрично).

**Поліетиленоксид – 1500 (ПЕО – 1500, макрогол типу 1500) – ДФУ,  
Доповнення 1, с. 393-395.**



М.м. 1400-1600

ПЕО – 1500 – продукт полімеризації оксиду етилену, що застосовують як один з компонентів основи для мазей та свічок.

Біла, жовтувата або сірувата воскоподібна густа маса. Легко розчинна у воді, 95% спирті; розчинна в ацетоні, метанолі, хлороформі; мало розчинна в ефірі, змішується з іншими поліетиленоксидами в усіх співвідношеннях (у розплаві), нерозчинна у жирах, рослинних та мінеральних оліях.

Температура тверднення 44 – 48 °С.

pH 4,5-7,5 (5% водний розчин, потенціометрично).

**Вітепсол Н – ВФС 42У-36-743-98**

Біла, тверда, крихка, легкоплавка при температурі тіла маса без смаку і запаху. У хімічному відношенні це суміш тригліцеридів насичених жирних кислот з 1 % моно- і дигліцеридів тих самих кислот. Температура плавлення 33,5-35,5 °С. Температура тверднення 32,5-34,5 °С; йодне число не більше 3,0; кислотне число не більше 0,2.

**Твердий жир – ДФУ 1 вид., с. 453**

Крихка воскоподібна маса білого або майже білого кольору. Плавиться з утворенням безбарвної або слабко-жовтуватої рідини. Практично не розчинна у воді, легко розчинна в ефірі, мало розчинна в етанолі. Температура плавлення не вища 37 °С, температура тверднення не нижча 30 °С, кислотне число не більше 0,3.

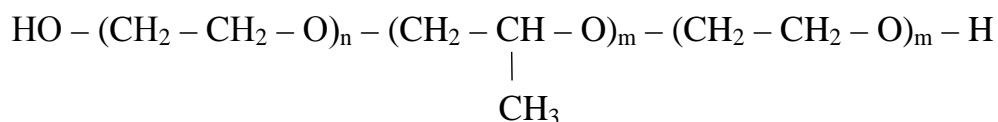
### Основа для супозиторіїв "жирова" – ФС 42-1622-81

Складається із масла какао 30%; кулінарного жиру "фритюрного" з температурою плавлення 31,0-34,0 °С 49-60%; парафіну медичного нафтового 10-21%.

### Моногліцерид дистильований (МГД) – ТУ 10-04-02-42-89

Моногліцерид вищих жирних кислот. Однорідна маса від білого до кремового кольору. Температура плавлення 64-68 °С, масова доля  $\alpha$  і  $\beta$ -моногліцеридів не менше 90%, в тому числі  $\alpha$ - моногліцеридів не менше 30 %, йодне число не більше 10,0; кислотне число не більше 5,0.

### Проксанол – 268 – ТУ У 6-00205601.087-96



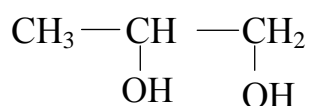
де  $m = 44 - 48$ ;

$n = 116 - 120$ .

М.м. 11000 - 14500

Воскоподібна або луската речовина від білого до кремового кольору зі слабким характерним запахом. Синтетичний блоксополімер оксиду етилену та оксиду пропілену. Легко розчинний у воді, 96% спирті, хлороформі.

### Пропіленгліколь – ВФС 42-1594-86



$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_2$

М.м. 76,10

Рідина без кольору та запаху, солодка на смак. Густина 1,036 г/см<sup>3</sup>, температура кипіння 188,2 °С.



### **Супоцир AS2 – ТУ 12404-04-01-01**

Воскоподібна маса білого кольору. Плавиться при температурі 36,5 °С. Практично не розчинна у воді, легко розчинна в ефірі, мало розчинна в етанолі. Температура тверднення не нижча 31,5 °С, кислотне число 0,25, йодне та перекисне – 2,0.

### **Емульгатор № 1 – ТФС 42-209-1043-99**

Суміш жирних високомолекулярних (C<sub>16</sub>-C<sub>21</sub>) спиртів і натрієвих солей сульфатних ефірів цих самих спиртів. Тверда жовтувата маса зі специфічним запахом, легко розчинна у жирах. Температура плавлення 50-58 °С.

### **Емульгатор Т2 – ТУ У-22.912814. 2001**

Складний ефір полімеризованого гліцерину і стеаринової кислоти. Тверда маса світло-жовтого або світло-коричневого кольору. Кислотне число не більше 8,0; температура плавлення 46-50 °С.

### **Вода очищена – ДФУ, Доповнення 1, с. 308-309**

Безбарвна, прозора рідина без запаху і смаку, рН 5,0 -7,0 (потенціометрично).

Всі використовувані допоміжні речовини задовольняли вимогам відповідної НТД. Реактиви, що використовувались при проведенні фізико-хімічних досліджень були приготовлені за методикою ДФУ 4.1.1.

## **2.3. Методи досліджень**

### **2.3.1. Фізико-хімічні методи дослідження.**

При виконанні роботи були використані сучасні фізико-хімічні, структурно-механічні, біофармацевтичні, технологічні та біологічні методи досліджень.

### **Визначення осмотичної активності**

Осмотичні властивості супозиторіїв визначали методом діалізу крізь напівпроникну мембрану.

Діалізатор складається з діалізаційної камери та внутрішнього циліндра, дном якого є напівпроникна мембрана – целофанова плівка (Черкаський завод хімічного волокна, целофан марки В-8079, товщина набряклої плівки  $45 \pm 0,4$  мкм, ступінь набрякання  $125 \pm 2,2$ , ступінь пористості  $6,25$  г/мл) [92].

Необхідну кількість супозиторіїв або супозиторної основи вміщували у випарну чашку і розплавляли на водяній бані при температурі  $45$  °С. У попередньо зважений внутрішній циліндр відважували  $10$  г розплаву, рівномірним шаром розподіляли по поверхні напівпроникної мембрани площею  $2000$  мм<sup>2</sup> і охолоджували до температури  $37 \pm 2$  °С. В діалізаційну камеру (рис. 2.1) вміщували  $70$  мл ізотонічного розчину натрію хлориду та внутрішній циліндр з досліджуваним зразком, наносили позначку рівня рідини і встановлювали камеру в термостат.

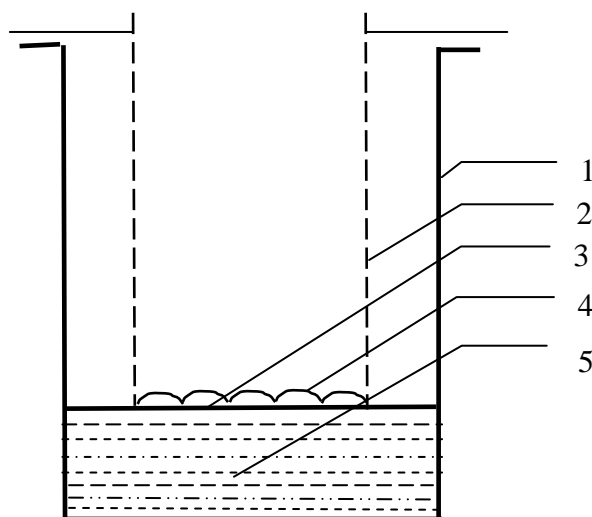


Рис. 2.1. Діалізатор:

- 1- камера для діалізу;
- 2- циліндр;
- 3- напівпроникна мембрана;
- 4- наважка супозиторіїв;
- 5- розчин.

Через рівні проміжки часу (1 год.) внутрішній циліндр виймали з діалізаційної камери, обережно, за допомогою фільтрувального паперу просушували зовнішню поверхню і визначали масу циліндра. Дослідження проводили протягом 8 годин. Після кожного зважування об'єм ізотонічного розчину в діалізаційній камері доводили до позначки. За різницею між отриманим і попереднім

результатом визначали кількість поглинутої рідини. З метою створення умов подібних до перебігу патологічного процесу прямої кишки, дослідження проводили при температурі 37 – 38 °С (температура прямої кишки людини). Температуру підтримували за допомогою термостату ТС-80М-2. Зважування проводили на терезах Т-500 М з точністю до 0,01 г.

### **Визначення величини рН водних розчинів супозиторіїв**

Величина рН є одним з показників, що характеризує фізико-хімічні властивості супозиторіїв. Від його значення залежить стабільність діючих речовин та їх біодоступність, індиферентність супозиторіїв по відношенню до живих тканин. 2,5 г супозиторної маси вносили в хімічну склянку місткістю 100 мл і розчиняли у 47,5 мл води очищеної при перемішуванні скляною паличкою протягом 10 хвилин, залишали на 10 хвилин для седиментації нерозчинних компонентів, після чого визначали величину рН одержаного водного розчину потенціометрично (ДФУ вид.1 п. 2.2.3 с.17).

### **Хроматографічне дослідження препарату**

Аналіз проводили методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29) на рідинному хроматографі Waters Alliance 2690 з УФ-детектором UV 486.

З супозиторія (маса кожного близько 2,0 г (точна наважка)) вміщували в мірну колбу ємністю 200 мл, додавали 150 мл суміші метанол-вода (50:50), обробляли протягом 10 хв. на ультразвуковій бані, охолоджували, доводили тим самим розчинником до позначки, ретельно перемішували та фільтрували крізь скляний фільтр ПОР 16 (розчин 1).

По 5 мкл розчину 1 препарату і розчину сумарного СЗ (стандартного зразка) почергово хроматографували не менше 5 разів на рідинному хроматографі в таких умовах:

- колонка розміром 250 x 4,6 мм, заповнена сорбентом з привитою фазою октадецилсилікагель, зернення 5 мкм;
- рухома фаза (РФ) Б: дегазований ацетонітрил;
- рухома фаза А: дегазований буферний розчин з рН 3,0;

- в процесі хроматографування застосовували градієнтне елюювання, програму якого представлено в таблиці 2.1.
- довжина хвилі детектування – 200 нм;
- швидкість потоку – 0,8 – 1 мл/хв;
- температура термостату колонки 30 °С.

Таблиця 2.1

## Програма градієнтного елюювання

№ з/п	Час, хв.	Потік, мл/хв.	Вміст РФ А, %	Вміст РФ Б, %	Режим елюювання
1	0	0,8	100	0	Ізократичний
2	5	0,8	100	0	Ізократичний
3	22	0,8	30	70	Лінійний градієнт
4	29	1	30	70	Ізократичний
5	30	1	100	0	Лінійний градієнт
6	35	1	100	0	Ізократичний

Вміст декспантенолу, троксерутину, анестезину та мірамістину (X), в одному супозиторії, в грамах, розраховували за формулою 2.1:

$$X = (S_i \cdot m_0 \cdot 200 \cdot P) / (S_0 \cdot 3 \cdot 100 \cdot 100) \quad (2.1)$$

де  $S_i$  - середнє значення площин піків декспантенолу, троксерутину, анестезину та мірамістину, розраховане з хроматограм розчину 1 препарату;

$S_0$  – середнє значення площин піків декспантенолу, троксерутину, анестезину та мірамістину, розраховане з хроматограм розчину сумарного СЗ;

$m_0$  – маса наважки декспантенолу, троксерутину, анестезину або мірамістину в сумарному СЗ, в грамах;

$P$  – вміст основної речовини (декспантенолу, троксерутину, анестезину або мірамістину), у зразку взятому для виготовлення сумарного СЗ.

**Приготування розчину сумарного СЗ.** 0,100 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ декспантенолу, 0,040 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ троксерутину, 0,006 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ мірамістину, 0,100 г (точна наважка) ФСЗ ДФУ анестезину вміщують в мірну колбу ємністю 100 мл, додають 50 мл метанолу та обробляють на УЗ бані протягом 10 хв., після чого доводять до позначки тим самим розчинником. Отриманий розчин перемішують і фільтрують. Розчин

зберігають в темному, прохолодному місці. Термін його придатності 7 діб.

### Визначення домішки 3-амінопропанолу

Близько 1,0 г (точна наважка) препарату вміщували в мірну колбу з притертою пробкою місткістю 100 мл, додавали 50 мл спирту метилового, обробляли протягом 10 хв. на ультразвуковій бані до повного розчинення зразка, охолоджували, додавали 0,5 мл н-бутанолу, доводили тим самим розчинником до позначки і ретельно перемішували. Отриманий розчин фільтрували крізь паперовий фільтр "синя стрічка", відкидаючи перші 5 мл фільтрату. 1 мл отриманого фільтрату вміщували в мірну колбу з притертою пробкою місткістю 25 мл, доводили до позначки спиртом метиловим та перемішували (розчин 1).

По 0,5 мкл розчину 1 та розчину С3 (стандартного зразка) почергово хроматографували на газовому хроматографі з плазмово-іонізаційним детектором, отримуючи не менш 5 хроматограм в таких умовах:

- колонка капілярна кварцева, розміром 50 м x 0,32 мм ID з нанесеним шаром нерухомої фази – FFAP, товщина шару 1,2 мкм (CP-WAX 58, CHROMPACK) або подібна, для якої виконуються вимоги тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи” [44];

- температуру термостата колонки програмують від 40 °С (затримка 2 хвилини) до 220 °С (затримка 5 хвилини), приріст температури – 10 °С/хв;
- температура блоку випаровувача – 180 °С, шкала потоку 1:5;
- температура детектора 290 °С;
- швидкість газу-носія (водень): 2 мл/хв.

Кількість 3-амінопропанолу (X) в 1 г препарату, в грамах, розраховували за формулою 2.2:

$$X = \frac{B_i \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 25}{B_0 \cdot m_i \cdot 100 \cdot 100 \cdot 25} = \frac{B_i \cdot m_0}{B_0 \cdot m_i \cdot 100} \quad (2.2)$$

де  $B_i$  – середнє значення відношення площин піків 3-амінопропанолу і н-бутанолу з хроматограм розчину 1;

$B_0$  – середнє значення відношення площин піку 3-амінопропанолу і н-бутанолу з хроматограм розчину С3;

$m_0$  – маса наважки 3-амінопропанолу в розчині СЗ, в грамах;

$m_i$  – маса наважки препарату, в грамах.

Вміст 3-амінопропанолу повинен бути не більше 0,5% від кількості декспантенолу в препараті (0,025% від маси супозиторія 2,0 г).

Результати досліджень вважають вірогідними якщо виконуються вимоги тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи”.

### **Приготування розчину СЗ.**

Близько 0,5 г (точна наважка) 3-амінопропанолу вміщували в мірну колбу з притертою пробкою місткістю 100 мл, доводили об’єм розчину метанолом до позначки і перемішували (розчин 2).

1,0 мл розчину 2 вміщували в мірну колбу з притертою пробкою місткістю 100 мл, додавали 0,5 мл н-бутанолу, доводили об’єм розчину метанолом до позначки і перемішували (розчин 3).

1,0 мл розчину 3 вміщували в мірну колбу з притертою пробкою місткістю 25 мл, доводили об’єм розчину до позначки метанолом і перемішували.

Розчин використовували свіжовиготовленим.

### **Перевірка придатності хроматографічної системи**

Результати досліджень вважають вірогідними якщо виконуються такі вимоги:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахованої по площині піку 3-амінопропанолу на хроматограмі СЗ, повинна бути не менш 5000 теоретичних тарілок;
- відносне стандартне відхилення, розраховане по площині піку 3-амінопропанолу з хроматограм розчину СЗ, повинно бути не більш 5,0%;
- коефіцієнт симетрії піку, розрахований по піку 3-амінопропанолу з хроматограм розчину СЗ, повинен бути не більш 1,8;
- ступінь розділення піків, розрахована для піків 3-амінопропанолу і н-бутанола з хроматограм розчину СЗ, повинна бути не менш 4.

### **Дослідження кінетики вивільнення діючих речовин крізь напівпроникну мембрану**

Вивільнення діючих речовин з модельних зразків супозиторіїв визначали

за ступенем їх дифузії крізь напівпроникну мембрану в буферний розчин з рН 6,6 (ДФУ 4.1.3) (рН прямої кишки при запаленні) аналогічно до методики визначення осмотичної активності [92]. Проби діалізату об'ємом 10 мл відбирали за допомогою піпетки через рівні проміжки часу (1 годину), додаючи у камеру такий же об'єм буферного розчину. Концентрацію діючих речовин у пробах діалізата визначали за відповідними аналітичними методиками.

Вивчення структурно-механічних властивостей

Структурно-механічні (реологічні) властивості супозиторної основи і зразків супозиторіїв вивчали за допомогою ротаційного віскозиметра «Реотест-2» (Німеччина) з коаксіальними циліндрами.

Виміри проводили в широкому діапазоні температур, що фіксувались лабораторним термометром з ціною поділки 0,2 °С. Термостатування зразків здійснювали за допомогою ультратермостату ТС-16А.

Наважку супозиторної маси близько 30,0 г вміщували в випарну чашку, розплавляли на водяній бані і переносили в ємність зовнішнього нерухомого циліндра. За допомогою термостату встановлювали необхідну температуру дослідження, після цього змушували обертатися внутрішній циліндр і величину моменту відраховували за відхиленням індикатора приладу, показники якого пропорційні напрузі зсуву. На кожній швидкості деформації фіксували показники віскозиметра. Дотикову напругу зсуву обчислювали за формулою 2.3:

$$\tau = z \cdot \alpha \quad (2.3)$$

де  $\tau$  - дотикова напруга зсуву,  $10^{-1}$  Па;

$z$  - константа циліндра,  $10^{-1}$  Па;

$\alpha$  - показання індикаторного приладу.

Константа циліндра зазначена в паспорті приладу. Ефективну в'язкість розраховували використовуючи отримані величини дотикової напруги зсуву, за формулою 2.4.

$$\eta = \frac{\tau}{D_R} \quad (2.4)$$

де  $\eta$  – ефективна в'язкість, Па/с;

$\tau$  – дотикова напруга зсуву,  $10^{-1}$  Па;

$D_r$  – швидкість зсуву,  $\text{с}^{-1}$ .

Прилад дозволяє вимірювати дотикову напругу зсуву в інтервалі  $1,6 - 3,0 \cdot 10^3$ , швидкості зсуву від 0,2 до  $1310 \text{ с}^{-1}$ .

### **Термогравіметричний аналіз**

Термогравіметричний аналіз проводили на дериватографі Q – 1000 системи Ф. Паулік, І. Паулік, Л. Єрдей з платино-платинородієвою термопарою при нагріванні зразків в керамічних тиглях від 18 до  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ . Швидкість нагрівання складала  $5 \text{ }^\circ\text{C}$  за хвилину. Еталоном слугував прогартований оксид алюмінію. Вага зразків складала 50 мг. Записували криві Т (зміни температури), ТГ (зміни ваги), ДТА (диференційована крива зміни теплових факторів), ДТГ (диференційована крива зміни ваги) (Доповнення 1 ДФУ, п. 2.2.34, С. 19).

### **Визначення однорідності маси супозиторіїв**

Згідно з ДФУ вид. 1, п. 2.9.5, С. 157.

### **Ступінь розчинення супозиторіїв**

Згідно з ДФУ вид. 1, п. 2.9.3, С. 153.

Для визначення ступеня розчинення супозиторіїв використовували прилад з лопаттю; швидкість обертання  $50 \text{ об/хв}$ . Як середовище для розчинення використовували 1000 мл фосфатного буферного розчину з рН 6,6, температура якого становить  $37 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Через 45 хв. концентрацію діючої речовини в розчині визначали методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29) за методикою розробленою для кількісного визначення препарату.

### **Визначення однорідності вмісту**

Згідно з Доповненням 1 до ДФУ вид. 1, п. 2.9.6., С. 71.

## **2.3.2. Біофармацевтичні методи досліджень.**

### **Вивчення антимікробної активності. Метод дифузії в агар**

Мікробіологічні дослідження проводилися на базі кафедри мікробіології НФаУ під керівництвом д. мед. н., проф. І.Л. Дикого.



Як тест-культури для проведення мікробіологічних досліджень були використані еталонні штами *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* ATCC 10261, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 7241, що належать до грампозитивних і грамнегативних бактерій.

Вивчення антимікробної дії супозиторіїв “Проктопантезин” проводили *in vitro* методом дифузії в агар у модифікації “колодязів”.

Для визначення антимікробної дії препаратів методом дифузії в агар живильне середовище розплавляли, охолоджували до температури 45 °С і контамінували суспензіями тест-культур. Мікробне навантаження розплавленого живильного середовища складало  $1 \cdot 10^7$  КУО/мл. По 20 мл контамінованого мікроорганізмами середовища виливали на чашки Петрі, і залишали до затвердіння середовища. У шарі живильного агару готували лунки за допомогою стерильного пробійника діаметром 8 мм. Випробувані зразки супозиторної маси попередньо розплавляли при температурі 45 °С вносили по 0,2 мл у лунки за допомогою стерильних одноразових шприців. Після внесення препаратів чашки Петрі витримували при кімнатній температурі протягом однієї години, а потім вміщували в термостат та інкубували протягом 18-24 годин при температурі 35 °С. Після закінчення інкубації вимірювали діаметр зони відсутності росту колоній мікроорганізмів навколо лунок з препаратом.

### **Випробування на мікробіологічну чистоту**

Вивчення мікробіологічної чистоти супозиторіїв проводили за методикою ДФУ вид.1, п. 5.1.4., С. 303.

10 г середньої проби препарату вміщували в стерильний мірний флакон, доводили об'єм до 100 мл стерильним фосфатним буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном рН 7.0, який містив 4% твіну-80 і перемішували до розчинення супозиторія. Із отриманого розчину готували розведення 1:100 в присутності нейтралізатора, проводили посів по 1 мл зразка методом двошарового висівання паралельно на дві чашки Петрі з густим живильним середовищем №1

(для визначення загального числа аеробних бактерій) і живильним середовищем №2 (для визначення загального числа грибів). По 10 мл отриманого розчину вносили в 100 мл живильного середовища №3 (для виявлення бактерій родини Enterobacteriaceae) і 100 мл середовища №8 (для виявлення *Staphylococcus aureus* і *Pseudomonas aeruginosa*) [61].

### **2.3.3. Фармакологічні методи досліджень.**

Фармакологічні дослідження та вивчення репаративної, протизапальної, анальгетичної, місцевоанестезуючої дії модельних зразків супозиторіїв проводили на базі кафедри патологічної фізіології під керівництвом д. мед. н., проф. А.І. Березнякової.

Визначення специфічних активностей та токсикологічних характеристик супозиторіїв проведено на тваринах, вирощених у віварії ЦНДЛ НФаУ.

#### **Визначення репаративної активності**

Вибір супозиторної основи, визначення оптимальної концентрації декспантенолу, аналіз репаративної активності супозиторіїв проводили використовуючи ранотензіометрію, на моделі інфікованих лінійних різаних ран у щурів. Інфіковані рани моделювали з використанням штаму *P. aeruginosa* ATCC – 27853 у дозі  $1,02 \cdot 10^8$  м.т./мл. Експеримент проводили на нелінійних щурах різної статі масою 200 – 220 гр. На вистриженій ділянці спини розміром 6 см<sup>2</sup> під барбаміловим наркозом (60 мг/кг) тваринам робили лінійний розріз довжиною 50 мм, який потім інфікували (при визначенні репаративної активності дослідних зразків, склад яких не містив мірамістин, інфікування рани не проводили). На рану на відстані 10 мм один від одного накладали шви й обробляли їх край 5% спиртовим розчином йоду. В експерименті використовували декілька груп тварин: одна – контрольна, інші – експериментальні. Щурам експериментальних груп один раз на добу наносили супозиторну масу. На 5-у добу половину тварин (по 5 із кожної групи) декапітували, вирізали поранені ділянки шкіри і проводили дослідження на міцність зрощення країв різаної рани. Для цього один край шва закріплювали в штативі, а до іншого прикріплювали затискач зі

змінним вантажем. Рівномірно збільшуючи навантаження визначали масу при якій шов розходився. Тваринам, що залишилися, ранотензіометрію проводили на 7 добу аналогічним методом. Ремонтивну активність визначали за формулою 2.5:

$$A_p = \frac{M_d \cdot 100\%}{M_k} - 100\% \quad (2.5)$$

де  $A_p$  - ремонтивна активність, %;  
 $M_d$  - міцність шва рани при розриві в дослідній групі;  
 $M_k$  - міцність шва при розриві в контрольній групі.

### **Вивчення протизапальної активності**

Вибір оптимальної концентрації троксерутину проводили з урахуванням його протизапальної активності. Протизапальну активність оцінювали за антиексудативною дією на моделі карагенінового набряку стопи у щурів [114]. Досліди проводили на білих нелінійних щурах масою 200-220 г різної статі. Тварин розподіляли на групи (по 10 щурів у кожній). За годину до введення карагеніну тваринам кожної з груп на шкіру стопи наносили по 0,5 г розм'якшених при 37 °С модельних зразків супозиторіїв з різною концентрацією діючих речовин. Тварин контрольної групи не лікували. Приріст об'єму стоп щурів визначали за допомогою онкометра через 45 хвилин після субплантарного введення 0,1 мл 1% розчину карагеніну. Антиексудативну активність розраховували за формулою 2.6.

$$A = \frac{P_k - P_d}{P_k} \cdot 100\% \quad (2.6)$$

де  $A$  - антиексудативна активність, %;  
 $P_d$  - приріст стопи у дослідній групі;  
 $P_k$  - приріст стопи у контрольній групі.

### **Статистична обробка результатів дослідження**

Статистичну обробку результатів фармако-технологічних, мікробіологічних, біофармацевтичних і мікробіологічних досліджень проводили за методикою наведеною в розділі “Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту” (Додаток 1 до ДФУ п. 5.3).

## ВИСНОВКИ

1. Виходячи з фізико-хімічних, фармако-технологічних характеристик та біологічної активності діючих і допоміжних речовин теоретично обґрунтовано склад супозиторіїв комбінованої дії для застосування в проктології.

2. Визначено коло методів досліджень необхідних для розробки оптимального складу, створення раціональної технології комбінованого препарату та перевірки його якості.

## РОЗДІЛ 3

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ СУПОЗИТОРІЇВ

#### 3.1. Експериментальне обґрунтування вибору носія та його складу

##### 3.1.1. Визначення репаративної активності зразків супозиторіїв, виготовлених на різних основах.

Ефективна дія лікарських речовин в супозиторіях залежить від багатьох факторів, але один з найбільш важливих це оптимально підібрана супозиторна основа. Супозиторна основа може як прискорювати, так і уповільнювати процеси всмоктування лікарських речовин, впливати на силу та тривалість фармакологічної дії. Вона виконує роль носія і знаходиться в контакті як з діючими речовинами так і зі слизовою оболонкою прямої кишки. Тому підбір композицій допоміжних речовин, які утворюють супозиторну основу для ректальних форм, є складним та відповідальним завданням технології ліків [11, 22, 57, 87, 127].

В зв'язку з цим, першим етапом стало дослідження репаративної активності модельних зразків супозиторіїв з декспантенолом виготовлених на різних за природою основах (табл. 3.1.).

Таблиця 3.1

Склад модельних супозиторних основ

№ зразку	Тип супозиторної основи	Допоміжні речовини, та їх вміст в основі, %
1	Гідрофобна	Твердий жир 100%
2	Гідрофобна	Жирова основа Масло какао 30% Кулінарний жир 60% Парафін медичний 10%
3	Гідрофільна	ПЕО – 1500 95% ПЕО – 400 5%
4	Гідрофільна	ПЕО – 400 55% Проксанол – 268 40% Емульгатор №1 5%
5	Гідрофобна	Вітепсол Н 100%
6	Гідрофобна	Супоцир AS2 100%

Декспантенол до складу гідрофільних супозиторних основ вводили у вигляді водного розчину, у гідрофобні основи – по типу емульсії з додаванням емульгатору 2-го роду Т2 у кількості 3%. Кількість декспантенолу у зразках становила 0,1 г. Ця концентрація обрана на підставі даних літератури як оптимальна для прояву репаративної дії [49, 66, 90, 129].

Дослідження фармакологічних властивостей зразків проводилось на базі кафедри патологічної фізіології НФаУ під керівництвом професора Березнякової А.І.

Вибір оптимальної супозиторної основи, яка б сприяла прояву репаративної активності декспантенолу в складі супозиторіїв проводили використовуючи ранотензіометрію, на моделі лінійних різаних ран у щурів (розділ 2). Експеримент проводили на 70 нелінійних щурах різної статі масою 200 – 220 г. Щурам експериментальних груп один раз на добу наносили речовину супозиторіїв з концентрацією декспантенолу 5% на різних основах (табл. 3.1). Репаративну активність визначали за формулою 2.5.

Результати експерименту наведені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

### Вплив супозиторіїв на міцність післяопераційного рубця

№ з/п	Об'єкт дослідження	5-а доба		7-а доба	
		Міцність рубця (ум. од.)	Репаративна активність (%)	Міцність рубця (ум. од.)	Репаративна активність (%)
1	Зразок №1	321,1±14,6	14,64	439,1±19,1	29,10
2	Зразок №2	360,2±16,3	28,57	538,0±20,9	58,30
3	Зразок №3	480,0±24,2	71,42	629,8±26,3	85,30
4	Зразок №4	461,9±16,8	65,00	594,9±22,1	75,00
5	Зразок №5	354,2±23,4	26,42	484,1±19,6	42,35
6	Зразок №6	327,4±10,2	16,78	451,1±21,5	32,64
7	Контрольна патологія	280,0±11,0	-	340,1±18,8	-

Примітка. n =5, p≤0,05 – відхилення показника достовірне в порівнянні з контролем.

Аналіз даних, наведених в табл. 3.2, показав, що більш виражену репаративну активність мають зразки №№ 3,4 на гідрофільних основах.

Найвищу фармакологічну дію виявляють супозиторії на поліетиленоксидній основі. Міцність рубця при застосуванні зразка №3 перевищує контрольну патологію майже в 2 рази.

Супозиторії, виготовлені на гідрофобних основах мають дуже низькі показники репаративної активності. Активність цих зразків не перевищує 60%, в той час, як показники супозиторіїв на гідрофільних основах досягають 85%. Це може бути обумовлено низьким рівнем вивільнення декспантенолу.

### **3.1.2. Визначення антимікробної активності зразків супозиторіїв, виготовлених на різних основах.**

В зв'язку з тим, що супозиторії розробляються для лікування проктологічних захворювань, які можуть бути ускладнені супутньою інфекцією, наступним етапом стало дослідження антимікробної активності зразків супозиторіїв, виготовлених на різних за природою основах до складу яких введено мірамістин в кількості 0,01 г, що відповідає концентрації 0,5% від маси супозиторія. Кількісний вміст мірамістину обрано на підставі даних літератури [3, 49, 140].

Склад модельних супозиторних основ наведений у табл. 3.1.

Дослідження антимікробних властивостей зразків проводилось на базі кафедри мікробіології НФаУ під керівництвом професора Дикого І.Л.

Визначення антимікробної активності проводили методом дифузії в агаровий гель. Методика проведення дослідження наведена в розділі 2. Результати досліджень наведені в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

#### **Результати визначення антимікробної активності зразків супозиторіїв з мірамістином**

Зразок	Діаметр зони затримки росту, (мм)*				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
1	2	3	4	5	6
1	12,21±0,12	0	0	0	0
2	16,43±0,75	0	14,74±0,48	0	11,30±0,45
3	20,84±1,40	14,35±0,50	16,22±0,71	0	0

Продовж. таблиці 3.3

1	2	3	4	5	6
4	20,13±0,67	13,52±0,76	15,41±0,36	0	0
5	12,22±0,12	12,13±0,10	0	0	0
6	16,71±0,85	11,14±0,48	0	0	0

Примітки:

1. n =5, p≤0,05 – відхилення показника достовірне в порівнянні з контролем.
2. \*0 - зона затримки росту менша 10,00 мм

Аналіз отриманих даних показує, що супозиторії з мірамістином в дозі 0,5% практично не проявляють фунгіцидної активності. Лише зразок №2 незначно затримує ріст *C. albicans*.

Всі досліджені зразки не виявили активності по відношенню до *Ps. aeruginosa*.

Супозиторії на гідрофобній основі проявили порівняно незначну антибактеріальну активність. Зразок №1 затримує ріст лише *S. aureus*, у відношенні інших видів бактерій активність відсутня. Зразок №2 дещо пригнічує ріст колоній *S. aureus* та *B. subtilis*, але виявився неактивним по відношенню до *E. coli*. Зразки №5 та №6 мали лише слабку антимікробну активність по відношенню до бактерій роду *S. aureus* та *E. Coli*, а по відношенню до *B. subtilis* виявились неактивними. Таким чином, супозиторії, виготовлені на гідрофобних основах не виявили широкого спектра і високого рівня антибактерійної дії.

Водночас, експериментальні дані свідчать, що найбільшу протимікробну активність до *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* мали супозиторії, виготовлені на гідрофільних основах – №3 та №4. Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів в дослідях з цими зразками майже в півтора рази перевершують відповідні діаметри в дослідях зі зразками на гідрофобних основах.

Таким чином, на підставі проведених досліджень встановлено, що найбільшу антимікробну активність мають зразки супозиторіїв з мірамістином на гідрофільних основах (№ 3,4) [4].



### **3.1.3. Дослідження кінетики вивільнення діючих речовин з супозиторних основ.**

Супозиторні основи відіграють головну роль в донесенні активних компонентів до чинників патологічного процесу. Вони повинні ефективно вивільняти діючі речовини та забезпечувати їх максимальну фармакологічну активність [11, 101, 106]. На цій підставі ми дослідили кінетику вивільнення троксерутину та анестезину з модельних зразків супозиторіїв методом дифузії у рідке середовище крізь напівпроникну мембрану за методикою наведеною у розділі 2.

Для проведення досліджень були виготовлені дослідні зразки супозиторіїв з вмістом троксерутину (0,04 г) та зразки з анестезином (0,1 г) на супозиторних основах №1 – 6 (табл. 3.1).

Троксерутин вводили в гідрофільні основи по типу розчину в рівній кількості води (0,04 г), а в гідрофобні – по типу емульсії у вигляді розчину троксерутину з додаванням емульгатора Т2. Анестезин розчиняли в гідрофільних основах та суспендували в гідрофобних.

Для кількісного визначення троксерутину та анестезину в діалізаті застосовано спектрофотометричний метод в ультрафіолетовій ділянці спектру [13, 42, 73, 74]. Як середовище для діалізу використовували буферний розчин з рН 6,6. Слабко-кисле, майже нейтральне середовище вибране на тій підставі, що при запаленні в прямій кишці рН знижується з 7,4 до 6,3-6,5.

З метою розробки методу визначення концентрації діючих речовин в діалізаті нами було досліджено їх адсорбційний спектр в фосфатному буфері з рН 6,6 в межах від 220 до 400 нм. Спектр троксерутину складається з двох смуг поглинання з максимумами при 254 і 350 нм, з яких широкий високоінтенсивний максимум при 350 нм може бути використаний як аналітична смуга поглинання (рис.3.1).

Анестезин має максимум поглинання при 285 нм. Перевірка підпорядкування світлопоглинання розчину троксерутину в фосфатному буфері з рН 6,6 закону Бугера – Ламберта – Бера показала лінійну залежність оптичної

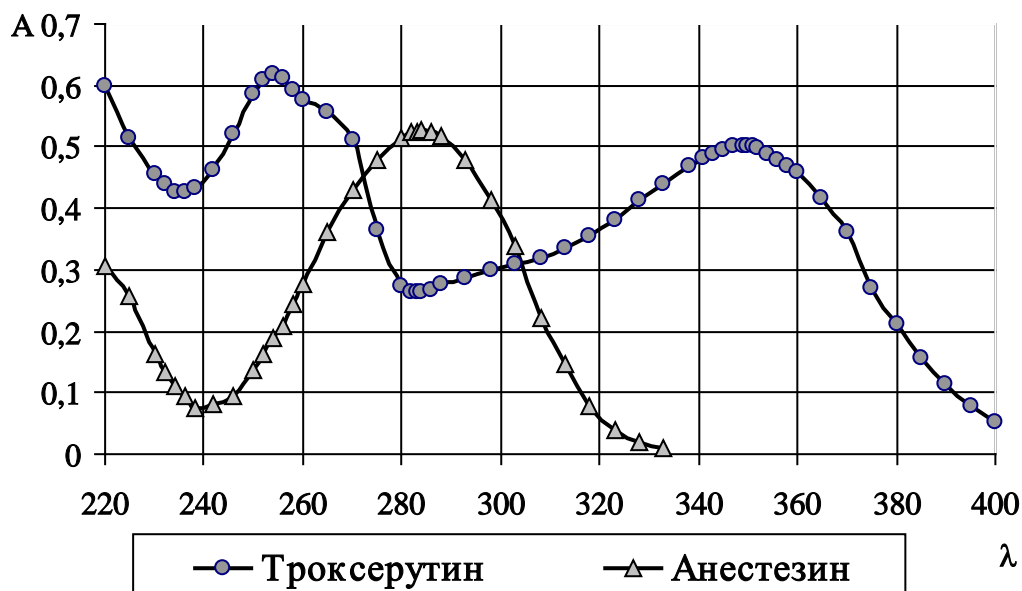


Рис. 3.1. УФ-спектр поглинання розчину троксерутину та анестезину в буферному розчині з рН 6,6.

густини від концентрації розчину в межах від  $1 \cdot 10^{-5}$  до  $3,5 \cdot 10^{-5}$  г/мл (рис. 3.2). В цих же межах питомий показник поглинання є практично постійним і дорівнює  $244,28 \pm 2$ .

Градувальний графік для анестезину лінійний в межах  $2 \cdot 10^{-6} - 9 \cdot 10^{-6}$  г/мл (рис. 3.3). Питомий показник поглинання є постійним і дорівнює  $203,45 \pm 3,20$  (рис. 3.3).

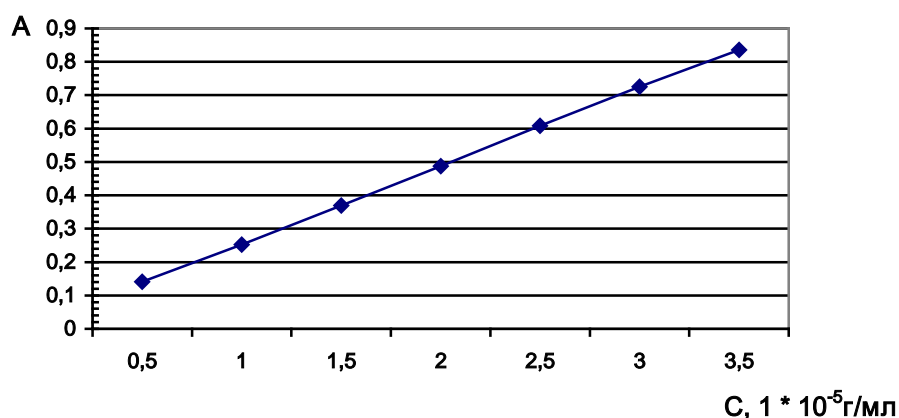


Рис. 3.2. Градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчинів троксерутину в буферному розчині при рН 6,6.

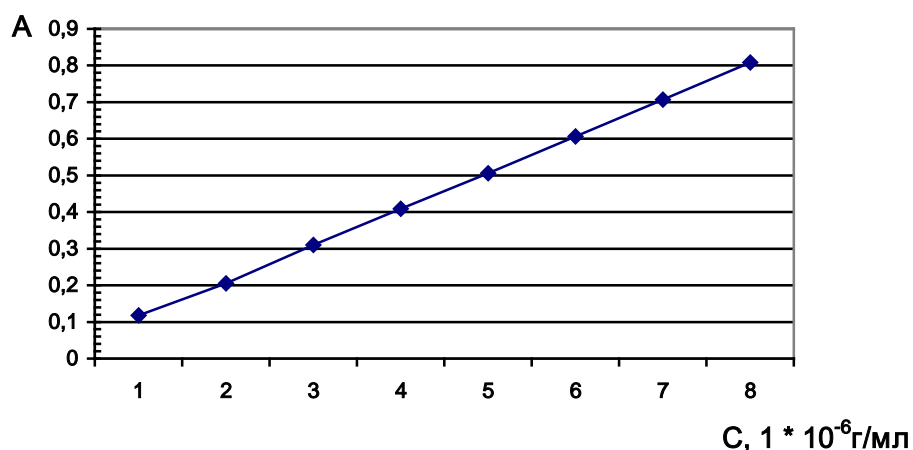


Рис. 3.3. Градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації розчинів анестезину в буферному розчині при рН 6,6.

Концентрацію отриманих при діалізі розчинів (г) визначали за градувальним графіком або розраховували, використовуючи дані оптичних густин стандартних розчинів, отриманих при побудові градувального графіка:

$$A/A_{ст} = C/C_{ст};$$

$$\text{звідки } C = (A \cdot C_{ст} \cdot b) / A,$$

- де A - оптична густина досліджуваного розчину;  
 $A_{ст}$  - оптична густина стандартного розчину;  
 $C_{ст}$  - концентрація стандартного розчину, г/мл;  
 b – розведення.

При розрахунку загальної кількості речовини, що перейшла у розчин, враховували її кількість, яка містилась у відібраних раніше пробах.

Для кожного зразка супозиторіїв проводили не менше 6 визначень, які піддавали статистичній обробці [44, 45]. Динаміку вивільнення речовин з дослідних зразків наведено на рис. 3.4 та 3.5.

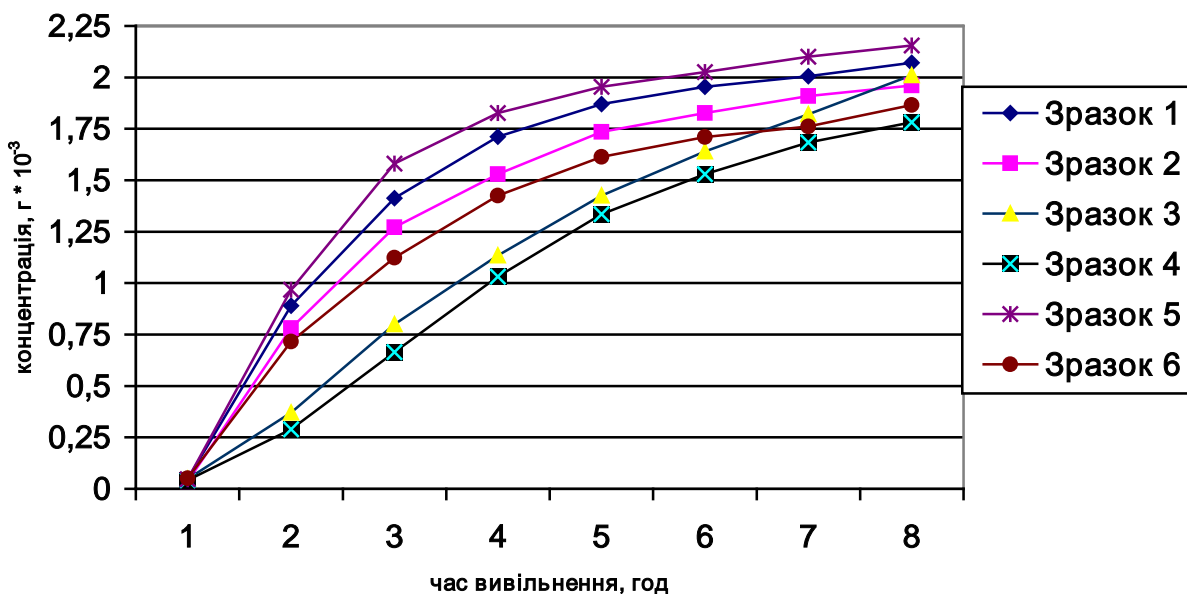


Рис. 3.4. Динаміка вивільнення троксерутину з дослідних зразків.

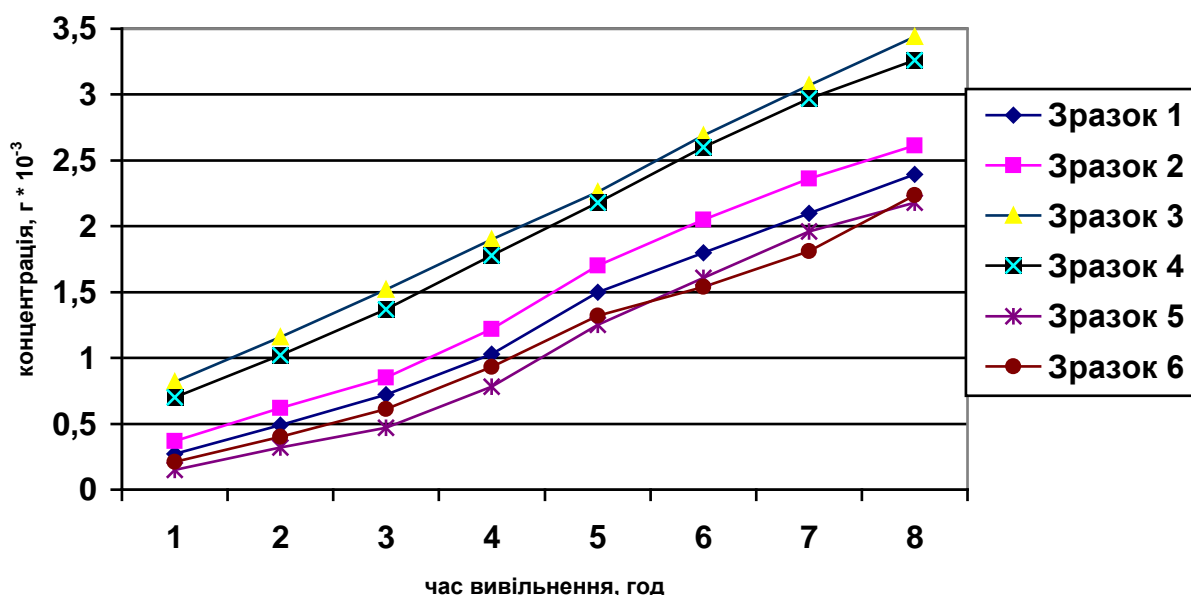


Рис. 3.5. Динаміка вивільнення анестезину з дослідних зразків.

Як видно з даних, наведених на рис. 3.4 та 3.5, концентрація діючих речовин в діалізаті з часом збільшується, але вивільнення суттєво залежить від природи супозиторної основи.

Найбільша концентрація троксерутину в діалізаті спостерігається при дослідженні зразків на гідрофобних основах, це зразок №5 на вітепсолі та №1 на твердому жирі. З цих зразків у буферний розчин через 8 годин досліджень перейшло відповідно  $2,155 \cdot 10^{-3}$  та  $2,071 \cdot 10^{-3}$  г троксерутину, що становить

1,71% та 1,035% від його загальної кількості у наважці. Але збільшення концентрації троксерутину в діалізаті, отриманому з цих зразків, відбувається не пропорційно. Вже на четверту годину експерименту зі зразків №1 і №5 у розчин перейшло майже 86% від всього вивільненого за час дослідження троксерутину, надалі процес діалізу майже спинився. Теж саме відбувається при вивільненні троксерутину зі зразків №2 та №6, але з меншою інтенсивністю.

Водночас, аналізуючи кінетику вивільнення речовини зі зразків на гідрофільних основах слід відзначити постійне зростання концентрації троксерутину впродовж всіх 8 годин. Кращий процес вивільнення спостерігається зі зразка №3 – через 8 годин кількість троксерутину в діалізаті становить  $2,01 \cdot 10^{-3}$  (1,005%) від його кількості у наважці.

В зв'язку з тим, що троксерутин введений до складу препарату як протизапальна речовина, що повинна діяти максимально довго, для оптимального фармакологічного ефекту найбільш доцільною супозиторною основою є поліетиленоксидна, яка поступово вивільняє троксерутин, і тим самим пролонгує його дію.

Процес вивільнення анестезину, як видно з рисунку 3.5 відбувається також нерівномірно зі зразків на різних основах. В перші години експерименту підвищення концентрації анестезину в діалізаті в дослідках зі зразками на гідрофобних основах відбувалось дуже низькими темпами. Після 3-4 годин процесу діалізу його вивільнення з цих зразків пришвидшилося, але через 8 годин концентрація анестезину в діалізаті в дослідках з гідрофобними зразками була в 1,3 рази менша за концентрацію діючої речовини в дослідках з гідрофільними зразками ( $2,61 \cdot 10^{-3}$  г зі зразка №2 проти  $3,44 \cdot 10^{-3}$  г зі зразка №3). Слід відзначити, що вивільнення анестезину з гідрофільних супозиторних основ відбувається пропорційно протягом всього часу експерименту. Графік залежності концентрація анестезину – час майже прямолінійний.

Однією з головних вимог до супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань є швидка та пролонгована анестезія зон запальних процесів прямої

кишки [27, 60, 104]. На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що застосування анестезину у складі супозиторіїв на гідрофільній основі дозволить забезпечити швидке, ефективне та тривале знеболення. Саме тому враховуючи дані рис. 3.5 найбільш доречним при розробці супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань є використання поліетиленоксидної основи.

Таким чином, на підставі проведених фармакологічних, мікробіологічних та біофармацевтичних досліджень для подальшого вивчення нами обрана гідрофільна поліетиленоксидна основа зі співвідношенням ПЕО-1500 до ПЕО-400 як 95 до 5. Використання цієї основи дозволить надати супозиторіям ще одну фармакологічну дію – завдяки своїм осмотичним властивостям поліетиленоксидна основа має м'який проносний ефект, що так необхідно при лікуванні проктологічних захворювань [73, 74].

## **3.2. Експериментальний вибір виду та концентрації поверхнево-активної речовини у складі супозиторіїв**

### **3.2.1. Дослідження впливу поверхнево-активної речовини на осмотичні властивості супозиторної основи.**

До недоліків поліетиленоксидної основи відносять високу осмотичну активність, що може призвести до дегідратації клітин при контакті основи зі слизовою оболонкою і тим самим погіршити стан хворого [22, 46, 47, 79, 95, 127]. Як відомо, осмотичну активність гідрофільної основи можна знизити додаванням поверхнево-активних речовин (ПАР). Механізм зниження осмотичної активності обумовлений здатністю гідрофільної частини ПАР утворювати водневі зв'язки з активними центрами ПЕО, а своїм довгим ліпофільним “хвостом” екранувати частину його гідроксильних груп, тим самим перекриваючи доступ до них молекул води, змінюючи осмотичні, реологічні та деякі інші фізичні властивості супозиторної основи [1, 34, 48, 79].

Тому метою нашої роботи став вибір виду і кількості ПАР, необхідної для зниження осмотичної активності супозиторної основи.

Для вибору ПАР досліджувалися зразки супозиторних основ з додаванням таких речовин, як твін - 80, емульгатори №1, МГД і Т2. Кожна з

ПАР використовувалась в кількості 3% від маси супозиторної основи. Співвідношення ПЕО-1500 до ПЕО-400 в основі становило 95:5. Склад зразків наведений в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

## Склад дослідних зразків

Склад	Вміст, %				
	1	2	3	4	5
ПЕО – 1500	92,15	92,15	92,15	92,15	95,00
ПЕО – 400	4,85	4,85	4,85	4,85	5,00
Емульгатор №1	3,00	-	-	-	-
Емульгатор Т2	-	3,00	-	-	-
Твін-80	-	-	3,00	-	-
Емульгатор МГД	-	-	-	3,00	-

Для обґрунтування вибору ПАР нами вивчено осмотичні властивості дослідних зразків за допомогою методу діалізу крізь напівпроникну мембрану, з наступним визначенням маси зразка гравіметричним методом через рівні проміжки часу (розділ 2). Результати експерименту (рис. 3.6) довели, що най-меншу осмотичну активність має зразок № 3, до складу якого введено твін-80.

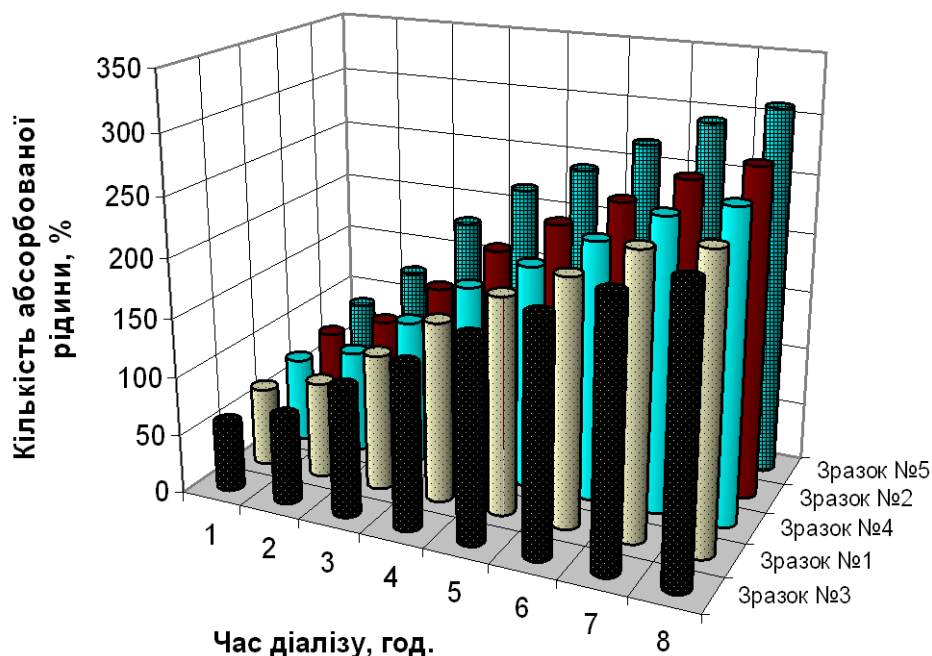


Рис. 3.6. Залежність кількості абсорбованої рідини від часу діалізу дослідних зразків.

Кількість абсорбованої з ним в досліді рідини складала 237,5% за 8 годин експерименту. Порівняння зі зразками №№ 1,2,4,5 де кількість абсорбованої рідини досягала 250-310% (зразки з додаванням емульгаторів №1, Т2, МГД та без ПАР), дозволяє зробити висновок, що додавання твіну-80 є найбільш доцільним при розробці поліетиленоксидної супозиторної основи.

Наступним завданням став вибір оптимальної концентрації твіну-80, необхідної для зниження осмотичної активності супозиторної маси. Для цього було виготовлено 3 групи дослідних зразків з додаванням в поліетиленоксидну основу різної концентрації твіну-80 від 1 до 3% та 3 дослідних групи зразків з введенням до складу супозиторної основи крім ПАР діючих речовин (троксерутину, декспантенолу, мірамістину та анестезину). Введення діючих речовин дозволяє при проведенні досліджень виявити їх вплив на осмотичну активність супозиторної маси (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

#### Склад дослідних зразків

Речовини	Вміст, %					
	Зразок №1	Зразок №2	Зразок №3	Зразок №4	Зразок №5	Зразок №6
Декспантенол	-	-	-	5,00	5,00	5,00
Анестезин	-	-	-	5,00	5,00	5,00
Троксерутин	-	-	-	2,00	2,00	2,00
Мірамістин	-	-	-	0,50	0,50	0,50
ПЕО-400	4,95	4,90	4,85	4,23	4,18	4,13
ПЕО-1500	94,05	93,10	92,15	80,47	79,52	78,57
Твін-80	1,00	2,00	3,00	1,00	2,00	3,00
Вода	-	-	-	2,00	2,00	2,00

Як видно з отриманих даних (рис. 3.7), відбувається суттєве зниження осмотичної активності основи при підвищенні концентрації твіну-80 від 1% до 3%. Подальше підвищення його концентрації понад 3% недоцільне, оскільки призводить до втрати супозиторіями механічної міцності.



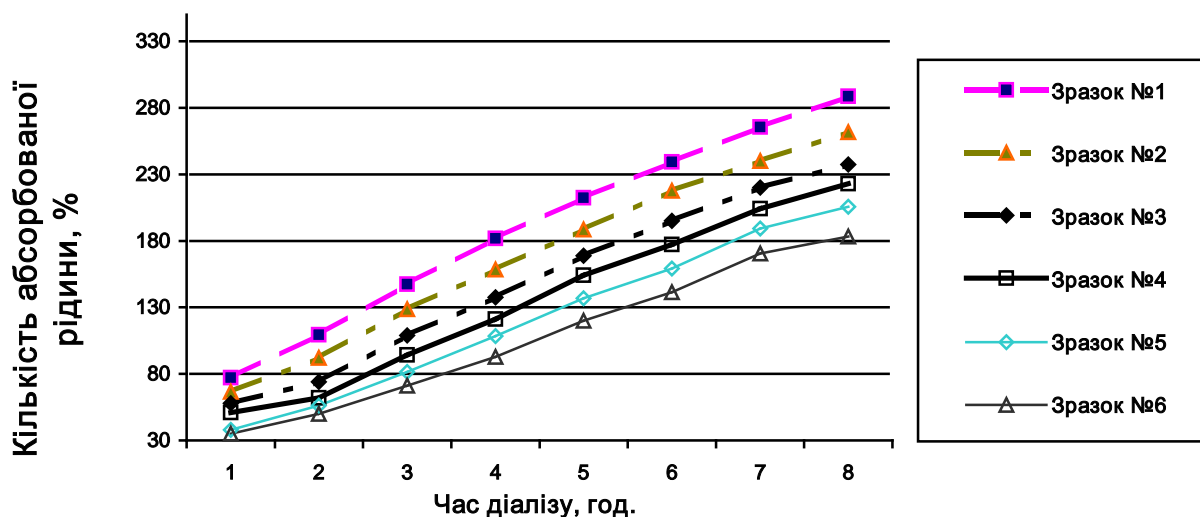


Рис. 3.7. Залежність кількості абсорбованої рідини від часу діалізу зразків з різним вмістом твіну-80.

Введення діючих речовин до складу супозиторної основи також знижує її осмотичні властивості. Заміна частини поліетиленоксидів на діючі речовини, які мають значно меншу осмотичну активність і введення 2% води при збереженні маси супозиторія 2,0 г знижує осмотичну дію на 50-60%.

Отже, для ефективного зниження осмотичної активності супозиторіїв на гідрофільній поліетиленоксидній основі найбільш доцільним є застосування твіну-80 в кількості 3% від супозиторної маси. При такому співвідношенні компонентів кількість абсорбованої води дорівнює 180% від маси супозиторія, що дозволяє стверджувати про задовільну осмотичну активність, яка не призведе до порушення гідратаційного шару слизової оболонки прямої кишки [79, 127, 128].

### 3.2.2. Дослідження впливу ПАР на антимікробну активність препарату.

Як відомо ПАР здатні підсилювати або знижувати біодоступність більшості діючих речовин [1, 21, 22]. Наступним етапом досліджень стало вивчення впливу цих речовин на антибактеріальну активність мірамістину в складі супозиторіїв.

Для цього нами були виготовлені дослідні зразки препарату з 0,01 г (0,5%) мірамістину, до складу яких були введені різні ПАР в кількості 3% від маси супозиторія. Склад дослідних зразків наведений в таблиці 3.6.

Таблиця 3.6

### Склад дослідних зразків, г

Інгредієнти*	Зразок №1	Зразок №2	Зразок №3	Зразок №4	Зразок №5
Мірамістин	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
ПЕО-400	0,100	0,097	0,097	0,097	0,097
ПЕО-1500	1,890	1,833	1,833	1,833	1,833
Емульгатор №1	–	0,060	–	–	–
Емульгатор Т2	–	–	0,060	–	–
Твін-80	–	–	–	0,060	–
Емульгатор МГД	–	–	–	–	0,060

Примітка. \* Склад наведений на 1 супозиторій масою 2,00 г.

Визначення антимікробної активності зразків проводили методом дифузії в агаровий гель (розділ 2). Результати досліджень наведені в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

### Антибактеріальна активність дослідних зразків

№ з/п	Діаметри зон затримки росту, мм *				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Зразок №1	20,81±1,41	14,13±0,54	16,26±0,77	0	0
Зразок №2	21,62±1,11	0	16,01±0,68	0	0
Зразок №3	18,23±0,91	16,19±0,28	15,02±0,56	0	0
Зразок №4	25,67±1,30	20,53±1,04	22,84±1,14	0	20,01±0,84
Зразок №5	17,16±0,80	13,40±0,75	15,17±0,65	0	0

Примітки:

1.  $n=5$ ,  $p \leq 0,05$  – відхилення показника достовірне в порівнянні з контролем.
2. \*0 - зона затримки росту менша 10,00 мм.

Як видно з наведених даних, серед досліджених зразків мінімальну антибактеріальну активність проявив зразок №2 до складу якого був введений емульгатор №1. Зразки №3, №5 та №1 з емульгаторами Т2, МГД та без вмісту ПАР проявили помірну протимікробну активність.

Найбільший діаметр зон затримки росту мікроорганізмів спостерігався в дослідах з супозиторіями, до складу яких входить твін-80. Зразок №4 виявився

високоактивним по відношенню до тест-штамів бактерій *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* та навіть грибів *C. albicans*, на розвиток яких інші зразки не впливали.

Таким чином, на підставі проведених досліджень встановлено, що найбільшу антимікробну дію мають зразки супозиторіїв з мірамістином при додаванні до їх складу твіну-80.

### 3.2.3. Дослідження впливу ПАР на біодоступність троксерутину.

Вплив ПАР на вивільнення діючих речовин досліджено методом діалізу крізь напівпроникну мембрану. Тривалість дослідження складала 8 годин. Як середовище для діалізу використовували фосфатний буферний розчин з рН=6,6. Кількісне визначення троксерутину в діалізаті проводили спектрофотометричним методом (розділ 2) [13, 92].

Були виготовлені дослідні зразки супозиторіїв, що включали супозиторну основу, троксерутин та ПАР. В один зі зразків окрім троксерутину було також введено усі діючі речовини препарату.

Склад дослідних зразків наведено в табл. 3.8.

Таблиця 3.8

Склад дослідних зразків\*, г

Інгредієнти	1	2	3	4	5
Троксерутин	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
ПЕО-400	0,096	0,093	0,093	0,093	0,082
ПЕО-1500	1,824	1,767	1,767	1,767	1,568
Вода	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Емульгатор №1		0,060			
Емульгатор Т2			0,060		
Твін-80				0,060	0,060
Декспантенол					0,100
Анестезин					0,100
Мірамістин					0,010

Примітка.\* Склад наведений на 1 супозиторій масою 2,00 г.

В зв'язку з тим, що троксерутин не розчиняється в поліетиленоксидах, до складу супозиторіїв, як розчинник троксерутину введено воду в кількості рівній концентрації троксерутину – 2%.

Під час дослідження зразка з анестезином, декспантенолом і мірамістином встановлено, що зазначені речовини не заважають кількісному визначенню троксерутину в діалізаті, оскільки мірамістин не дифундує крізь напівпроникну мембрану, декспантенол та досліджені ПАР не мають інтенсивного поглинання в УФ та видимій ділянках спектру, а смуга поглинання анестезину повністю закінчується при 332 нм і не заважає визначенню троксерутину при 350 нм (рис. 3.1).

Концентрацію отриманих при діалізі розчинів (г/мл) визначали за градувальним графіком (рис. 3.2).

При розрахунку загальної кількості троксерутину, що перейшов у розчин, враховували його кількість, яка містилась у відібраних раніше пробах.

Динаміку вивільнення троксерутину з дослідних зразків наведено на рис. 3.8. Графіки вказують на залежність кількості троксерутину, що перейшов у розчин від тривалості дослідження.

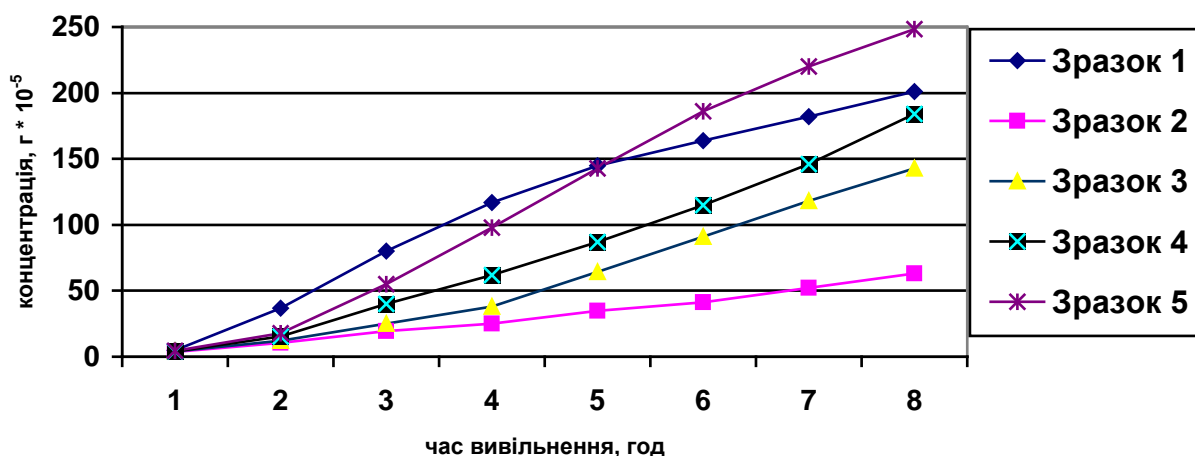


Рис. 3.8. Динаміка вивільнення троксерутину з дослідних зразків.

Аналіз отриманих даних свідчить, що загальна кількість троксерутину, яка перейшла у розчин, невелика: від 0,63 до  $2,48 \cdot 10^{-3}$  г, що складає 1,6 – 6,3 %

від його кількості у наважці. Цей факт можна пояснити тим, що ступінь вивільнення зворотньо пропорційний товщині шару препарату на мембрані. У розчин переходить тільки речовина, що міститься в прилеглих до мембрани шарах маси, подальше вивільнення затримується низькою швидкістю дифузії троксерутину з верхніх шарів.

Найменша кількість троксерутину вивільняється з основи, в яку було додано емульгатор №1 (зразок № 2), вивільнення з цього зразка відбувається дуже повільно і через 8 годин досягає лише  $0,60 \cdot 10^{-3}$  г. Вищі показники вивільнення має зразок з додаванням емульгатора Т2, зростання концентрації троксерутину в діалізаті відбувається інтенсивніше ніж у зразка №2, але значно повільніше в порівнянні зі зразками №4, №5 та №6.

Результати експерименту свідчать, що зразок № 1, який в своєму складі не мав ПАР показує досить високі значення концентрації троксерутину у діалізаті. Інтенсивне вивільнення відбувається в перші 5 годин досліджу, а надалі динаміка поступово знижується.

Дослідний зразок з твіном-80 (зразок №4) дає дещо меншу концентрацію троксерутину в діалізаті ніж зразок №1 без ПАР, але має найвищу динаміку вивільнення серед зразків до складу яких входить ПАР. Введення в супозиторії всіх діючих речовин значно підсилює вивільнення троксерутину (зразок №5), його кількість в діалізаті в цьому досліді перевищує показники зразка №1 і становить  $2,5 \cdot 10^{-3}$  г через 8 годин.

Зниження динаміки вивільнення троксерутину зі зразків, що містять ПАР в перші години експерименту можна пояснити утворенням водневих зв'язків між активними центрами емульгаторів та оксиетильними групами троксерутину. Ліпофільний "хвіст" ПАР перешкоджає транспорту діючої речовини через напівпроникну мембрану. З часом молекули води, проникаючи в шар препарату, розривають ці зв'язки, звільняють троксерутин і транспортують його в буферний розчин.

Графіки вивільнення зі зразків з додаванням ПАР, насамперед №№ 4,5 поступово зростають впродовж всього часу експерименту, що свідчить про пролонговане вивільнення троксерутину з супозиторної основи при наявності

емульгатора. Тим самим, ми можемо стверджувати, що введення ПАР не тільки знизить осмотичну активність супозиторіїв, але й дозволить пролонгувати дію троксерутину в складі супозиторіїв та уникнути різких перепадів концентрації діючої речовини [67].

Таким чином, на підставі проведених мікробіологічних та біофармацевтичних досліджень до складу препарату як ПАР введено твін-80 в кількості 3% від маси супозиторія. Його застосування дозволить знизити осмотичну активність лікарського засобу, підсилити антибактеріальну дію мірамістину та підвищити терапевтичний ефект троксерутину.

### **3.3. Експериментальне обґрунтування концентрації діючих речовин**

#### **3.3.1. Вибір концентрації декспантенолу у складі супозиторіїв на підставі фармакологічних досліджень.**

Дослідження активності репаративних засобів передбачає вивчення здатності препарату посилювати процес репарації. Вибір оптимальної концентрації декспантенолу в дослідних зразках, склад яких наведений у таблиці 3.9 (зразки 1-6 містили в своєму складі крім декспантенолу мірамістин, анестезин та троксерутин), проводили використовуючи ранотензіометрію, на моделі інфікованих лінійних різаних ран у щурів (розділ 2). Ця модель дозволяє за короткий строк оцінити вплив засобу на швидкість формування і дозрівання грануляційної тканини [17, 65, 69, 93].

Експеримент проводили на 80 нелінійних щурах різної статі масою 200 – 220 гр. В експерименті використовували 8 груп тварин : одна – контрольна, сім – експериментальні. Концентрацію декспантенолу в зразках варіювали в діапазоні від 0 до 0,2 г на супозиторії масою 2,00 г. Репаративну активність розраховували за формулою 2.5.

Результати експерименту наведені в табл. 3.9.

**Вплив супозиторіїв на міцність післяопераційного рубця інфікованих ран**

№ з/п	Об'єкт дослідження	5-а доба		7-а доба	
		Міцність рубця (ум. од.)	Репаративна активність (%)	Міцність рубця (ум. од.)	Репаративна активність (%)
1	Зразок з декспантенолом 0,02 г	212,5±14,6	18,1	439,0±19,1	29,1
2	Зразок з декспантенолом 0,05 г	250,5±16,3	39,2	538,0±20,9	58,3
3	Зразок з декспантенолом 0,10 г	312,6±24,2	73,3	630,4±26,3	85,3
4	Зразок з декспантенолом 0,14 г	313,7±23,4	74,4	631,5±25,7	85,7
5	Зразок з декспантенолом 0,20 г	311,9±26,7	73,1	628,7±24,9	84,9
6	Зразок без декспантенолу	182,4±10,2	1,2	348,5±19,0	2,5
7	Зразок з декспантенолом 0,02 г без інших діючих речовин	203,8±11,5	13,2	409,4±19,2	20,4
8	Контрольна патологія	180,4±11,0	-	340,2±18,8	-

Примітка.  $p < 0,05$  відносно контролю.

Аналіз даних, наведених в таблиці 3.9 показав, що зростання репаративної активності відбувається поступово зі збільшенням дози декспантенолу в препараті від 0 до 0,1 г. При концентрації діючої речовини 0,1 г репаративна активність набуває максимального значення і на 5 добу досліджень на 73,3% перевищує контроль. Подальше збільшення концентрації репаранта не призводить до суттєвого підвищення репаративної активності (лише на 1,1% для дози 0,14 г). Така залежність спостерігається і на 7 добу досліджу.

Результати експерименту також свідчать, що анестезин, троксерутин та мірамістин підсилюють репаративну активність декспантенолу (зразки №1 та №7). Аплікації супозиторіїв, що містять всі діючі речовини підвищують міцність післяопераційного рубця інфікованої рани в середньому на 5 – 9% в порівнянні зі зразком, що містить лише декспантенол.

Таким чином, за результатами скринінгових досліджень вирішено вводити декспантенол до складу супозиторіїв в дозі 0,1 г.

### 3.3.2. Вибір оптимальної концентрації троксерутину.

Вибір оптимальної концентрації троксерутину проводили з урахуванням його протизапальної активності, оціненої за антиексудативною дією, яку було вивчено на моделі карагенінового набряку стопи щурів (розділ 2). Досліди проводили на 80 білих нелінійних щурах масою 200-205 г різної статі. Тварин розподіляли на 8 груп (по 10 щурів). Кожній групі тварин (окрім контрольній) наносили на шкіру стопи розм'якшені зразки супозиторіїв з різним вмістом троксерутину (табл. 3.10). Антиексудативну активність розраховували за формулою 2.6.

Таблиця 3.10

Склад дослідних зразків, г

Інгредієнти*	Зразок №1	Зразок №2	Зразок №3	Зразок №4	Зразок №5	Зразок №6	Зразок №7
Троксерутин	0,010	0,020	0,030	0,040	0,050	–	0,040
Анестезин	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	–
Декспантенол	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	–
Мірамістин	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	–
ПЕО-400	0,086	0,085	0,084	0,083	0,082	0,087	0,093
ПЕО-1500	1,624	1,605	1,586	1,567	1,548	1,643	1,767
Твін-80	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
Вода	0,010	0,020	0,030	0,040	0,050	–	0,040

Примітка.\* Склад наведений на 1 супозиторій масою 2,00 г.

Отримані результати наведені на рис. 3.9 та 3.10.

Аналіз експериментальних даних показав, що всі досліджені супозиторії виявляють певну антиексудативну активність. Дослідний зразок, який не містить троксерутину проявляє антиексудативну активність на рівні 8,1% в



порівнянні з контролем. Додавання троксерутину призводить до поступового збільшення антиексудативної активності. Максимальний ефект (21,8%) проявив зразок №4, який окрім всіх діючих речовин містить троксерутин в дозі 0,04 г на супозиторій масою 2,0 г. Подальше збільшення дози троксерутину не призводить до підвищення антиексудативного ефекту. Аналіз активності зразків №4, №6, та №7 показує, що антиексудативний ефект зразка №4 зумовлений сумою ефектів троксерутину та інших діючих речовин.

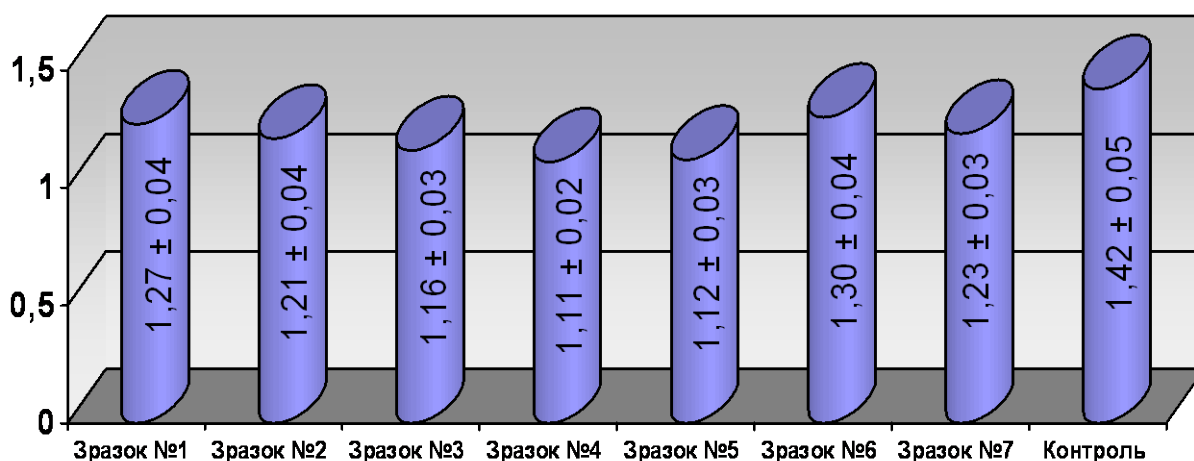


Рис. 3.9. Приріст об'єму стопи після введення карагеніну (ум. од.).

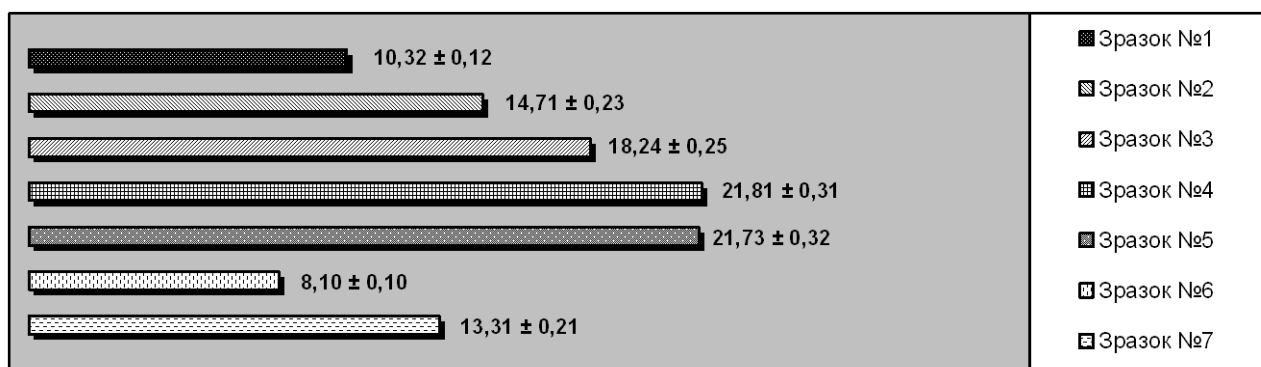


Рис. 3.10 Антиексудативна активність дослідних зразків.

На підставі отриманих даних можна зробити висновок, що оптимальною дозою троксерутину на супозиторій масою 2,0 г є 0,04 г.

### 3.3.3. Вибір оптимальної концентрації анестезину.

Вибір оптимальної концентрації анестезину здійснювали на моделі анестезії ока кроля [54, 81]. Дослід проводили на 25 кролях-самцях.

Тварин розподілили на 5 груп по 5 кролів у кожній. Усім тваринам закладали за нижню повіку по 0,1 г розм'якшеної при 37,0 °С маси супозиторіїв. Склад дослідних зразків супозиторіїв, що використовувались під час дослідження наведено в таблиці 3.11.

Таблиця 3.11

### Склад дослідних зразків, г

Інгредієнти*	Зразок №1	Зразок №2	Зразок №3	Зразок №4	Зразок №5
Анестезин	0,020	0,060	0,100	0,140	0,200
Троксерутин	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Декспантенол	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Мірамістин	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
ПЕО-400	0,087	0,085	0,083	0,081	0,078
ПЕО-1500	1,643	1,605	1,567	1,529	1,472
Твін-80	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
Вода	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040

Примітка.\* Склад наведений на 1 супозиторій масою 2,00 г.

Подразнювали кон'юнктиву, проводячи кінським волосом по поверхні ока від зовнішнього кута в напрямку зіниці, що викликало примружування ока. Швидкість появи місцевої анестезії визначали за часом від закладання досліджуваного зразка до зникнення реакції при подразненні ока. Тривалість дії анестезуючої речовини визначали за часом відновлення реакції ока на подразнення.

Отримані результати наведено в таблиці 3.12.

Таблиця 3.12

### Вплив супозиторіїв на анестезію ока кролів

з/п	Об'єкт дослідження	Швидкість появи місцевої анестезії, сек.	Тривалість анестезії, сек.
1	Зразок №1	180±10	180±10
2	Зразок №2	140±10	240±10
3	Зразок №3	120±10	280±10
4	Зразок №4	115±10	290±10
5	Зразок №5	110±10	300±20

Примітка.  $p < 0,05$  відносно контролю.

Аналіз даних, наведених у табл. 3.11, показав, що оптимальною дозою анестезину в супозиторії є 0,10 г (зразок №3), бо подальше збільшення його вмісту швидкості появи анестезії та її тривалості значно не підвищує.

### 3.3.4. Вибір оптимальної концентрації мірамістину у складі супозиторіїв.

Для визначення оптимальної концентрації мірамістину в препараті досліджено антимікробну активність модельних зразків супозиторіїв на поліетиленоксидній основі з додаванням твіну-80.

Нами було виготовлено 7 серій зразків препарату масою 2,0 г з різною кількістю мірамістину в супозиторіях (від 0,001 до 0,014 г). Склад дослідних зразків супозиторіїв, що використовувались під час дослідження наведено в таблиці 3.11.

Таблиця 3.11

Склад дослідних зразків\*, г

Інгредієнти	Зразок №1	Зразок №2	Зразок №3	Зразок №4	Зразок №5	Зразок №6	Зразок №7
Мірамістин	0,001	0,002	0,004	0,006	0,010	0,014	0,010
Троксерутин	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	-
Декспантенол	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	-
Анестезин	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	-
ПЕО-400	0,083	0,083	0,083	0,083	0,082	0,082	0,097
ПЕО-1500	1,576	1,575	1,573	1,571	1,568	1,564	1,833
Твін-80	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060	0,060
Вода	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	-

Примітка.\* Склад наведений на 1 супозиторій масою 2,00 г.

Дослідження проводили методом дифузії в агаровий гель (розділ 2). Результати проведених досліджень наведені на рис. 3.11.

Аналіз отриманих результатів свідчить, що антибактеріальна активність препарату залежить від концентрації мірамістину. Підвищення антибактеріальної активності супозиторіїв відбувається при збільшенні дози мірамістину до 0,006 г. Подальше підвищення його концентрації не сприяє суттєвому зростанню протимікробної активності, але може негативно вплинути на вартість лікарського засобу.

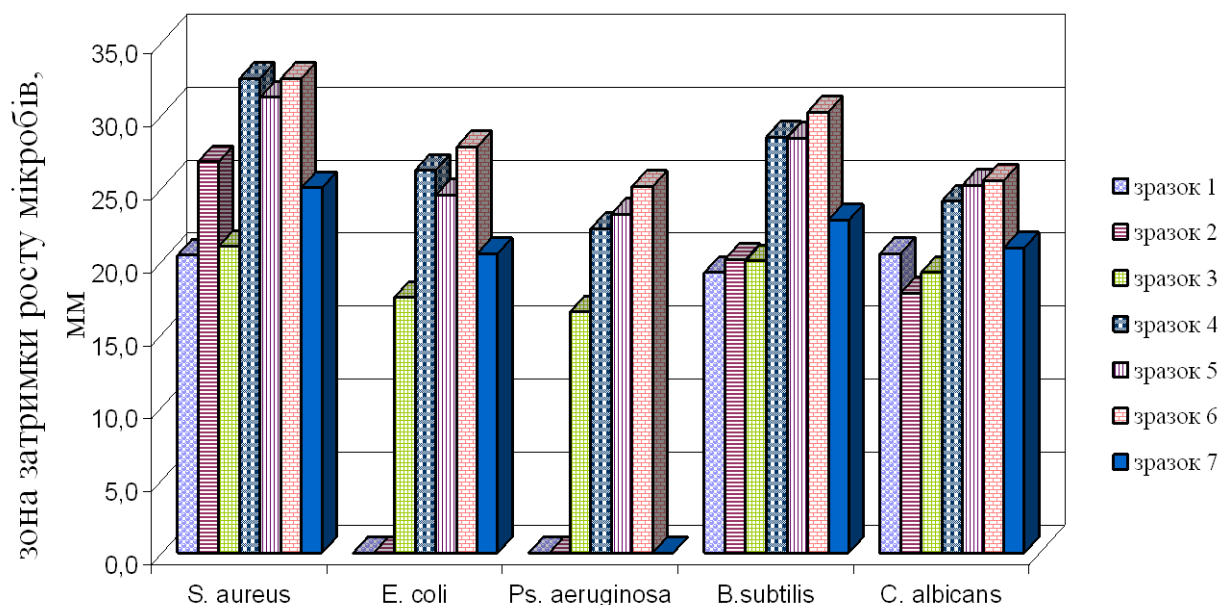


Рис. 3.11. Порівняльна характеристика антимікробних властивостей досліджуваних зразків супозиторіїв.

Введення усіх діючих речовин до складу супозиторіїв значно підвищує антибактеріальні властивості препарату, в зв'язку з чим можна стверджувати про потенціювання дії мірамістину (зразки №5 та №7).

Таким чином, на підставі проведених досліджень пропонується склад супозиторіїв під умовною назвою «Проктопантезин»:

декспантенол	0,100 г
анестезин	0,100 г
мірамістин	0,006 г
троксерутин	0,040 г
вода	0,040 г
твін 80	0,060 г
поліетиленоксид 400	0,083 г
поліетиленоксид 1500	до отримання супозиторія масою 2,0 г.

### **3.4. Розробка і обґрунтування технології виробництва супозиторіїв “Проктопантезин”**

Терапевтична ефективність, якість та стабільність препарату знаходяться у прямій залежності від технології його виготовлення. Тому при створенні нових лікарських препаратів розробці технології приділяють особливу увагу [98, 99, 105, 128].

До основних стадій одержання супозиторіїв згідно з вимогами GMP належать: приготування супозиторної основи, введення до її складу діючих речовин, гомогенізація, розлив супозиторної маси у форми, маркування, пакування та відвантаження.

У зв'язку з тим, що одним з основних технологічних факторів є температурний режим виробництва супозиторіїв, для визначення оптимальної технології виготовлення препарату нами проведено дослідження температури розкладання усіх речовин, що входять до його складу [33]. Ці дані дозволяють визначити температурні режими приготування супозиторної маси та введення діючих речовин до основи без небезпеки руйнування структури субстанції та зміни фармакологічного ефекту супозиторіїв.

Дослідження проведено за допомогою термогравіметричного аналізу речовин: мірамістину, декспантенолу, анестезину, троксерутину, твіну-80, основи та суміші всіх діючих речовин з основою в рівних частинах з метою визначення відповідності теплових ефектів окремих речовин тепловому ефекту суміші (методика наведена у розділі 2).

Деріватограми зразків наведені на рис. 3.12.-3.15.

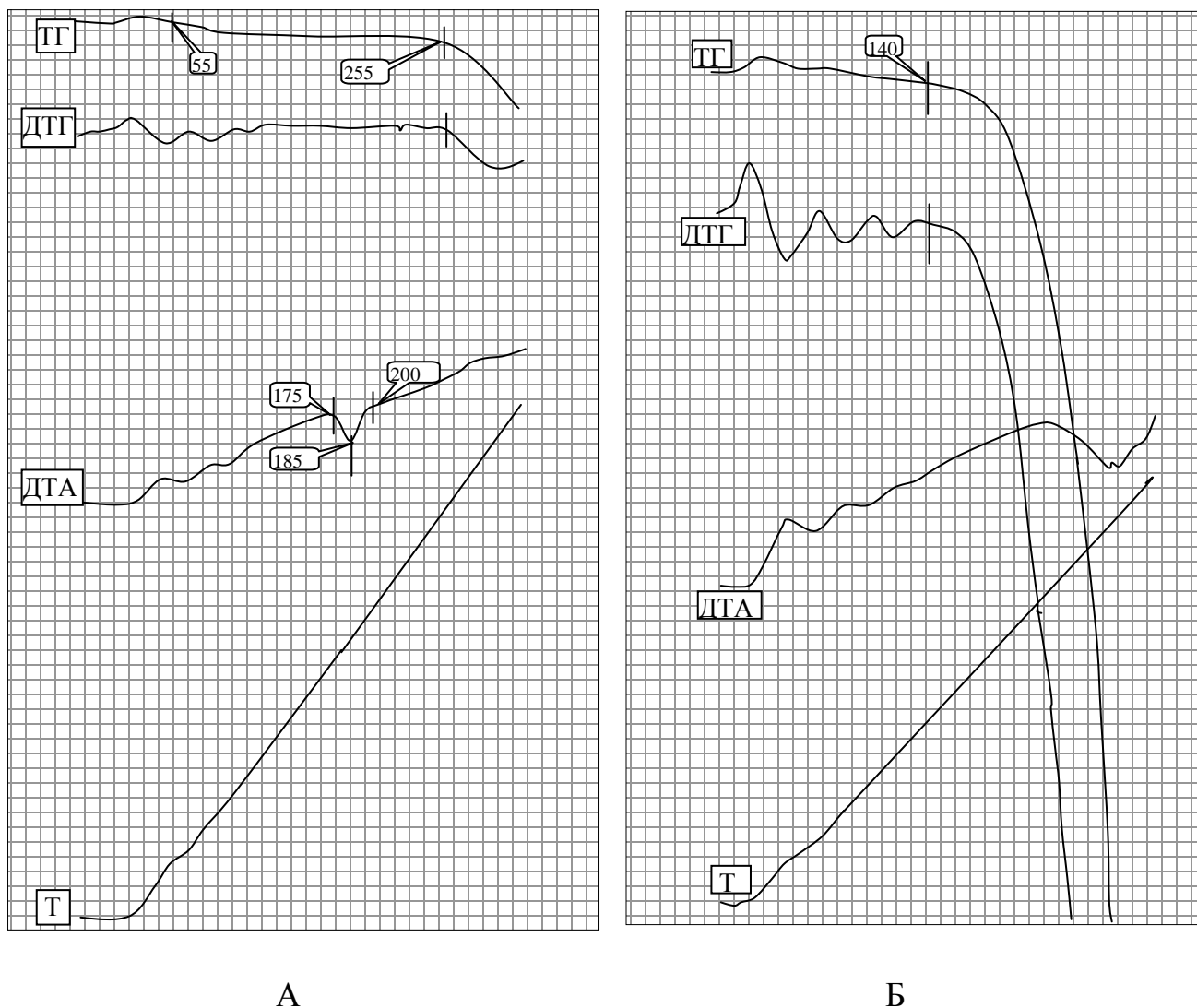


Рис. 3.12. Дериватограми троксерутину (А) та декспантенолу (Б).

За даними рисунку 3.12 (крива ТГ), відзначаємо, що троксерутин (А) характеризується достатньою термостійкістю – термічне розкладання зразка починається при температурі 255 °С.

Згідно дериватограми при нагріванні декспантенолу (Б) відбувається поступова втрата маси, обумовлена випаровуванням води. Різка зміна маси зразка відбувається після температури 140 °С, що може бути пов'язане з закипанням або руйнуванням декспантенолу.

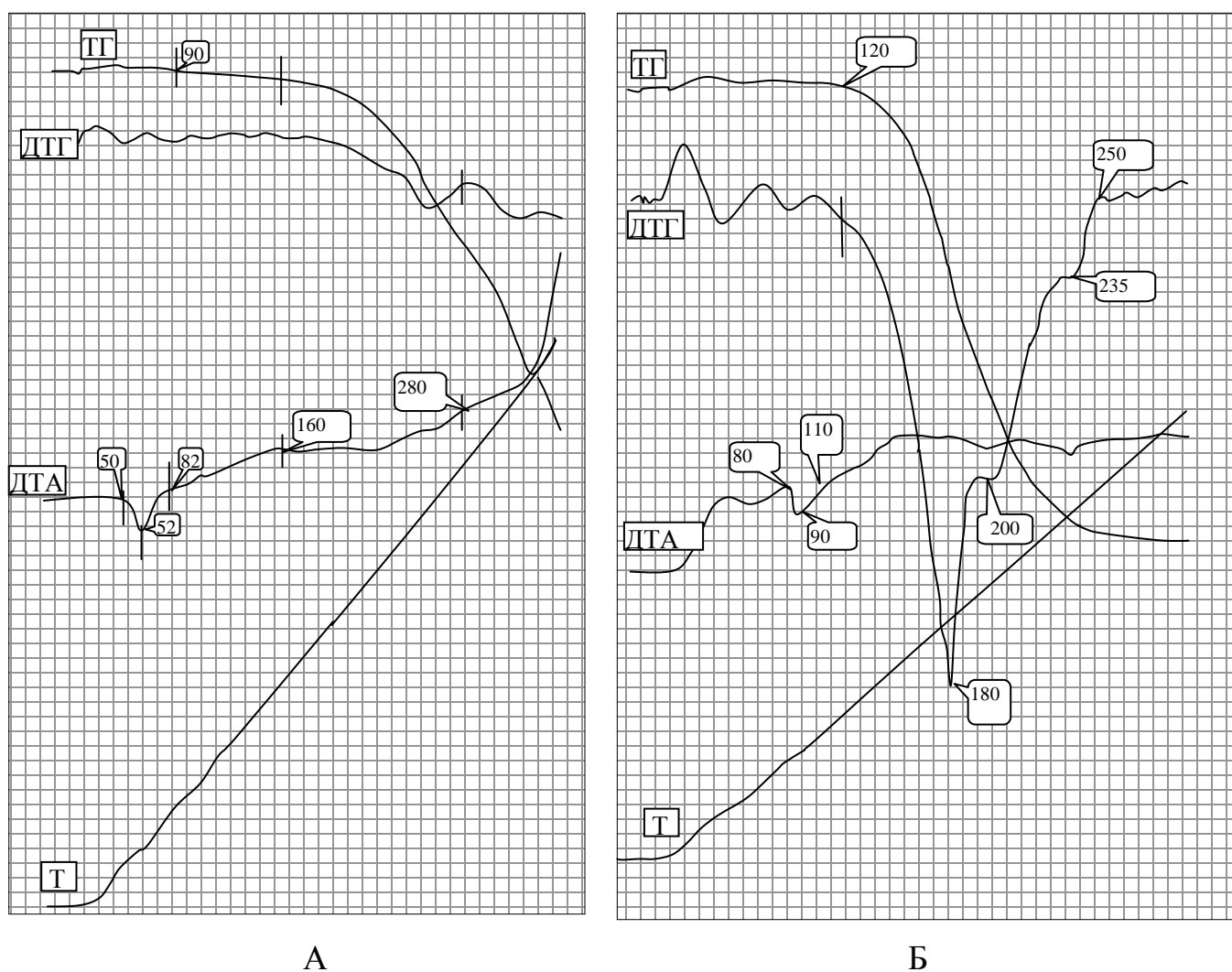


Рис. 3.13. Дериватограми мірамістину (А) та анестезину (Б).

Дериватограма мірамістину (рис. 3.13, А) показує, що в межах 50 – 82 °С відбувається плавлення зразка, а його маса при цьому не змінюється. В межах 90–160 °С відбувається поступове незначне зменшення маси ( $\approx 1,3\%$ ), яке пояснюється втратою гігроскопічної вологи. Після 160-190 °С відбувається значне зменшення маси зразка, яке можна пояснити його термоокислювальною деструкцією.

Аналізуючи дані дериватограми анестезину (рисунок 3.13, Б) можна зробити висновок, що при 90 °С відбувається плавлення зразка, а вже після 120 °С починається значна втрата маси, обумовлена розкладанням речовини.

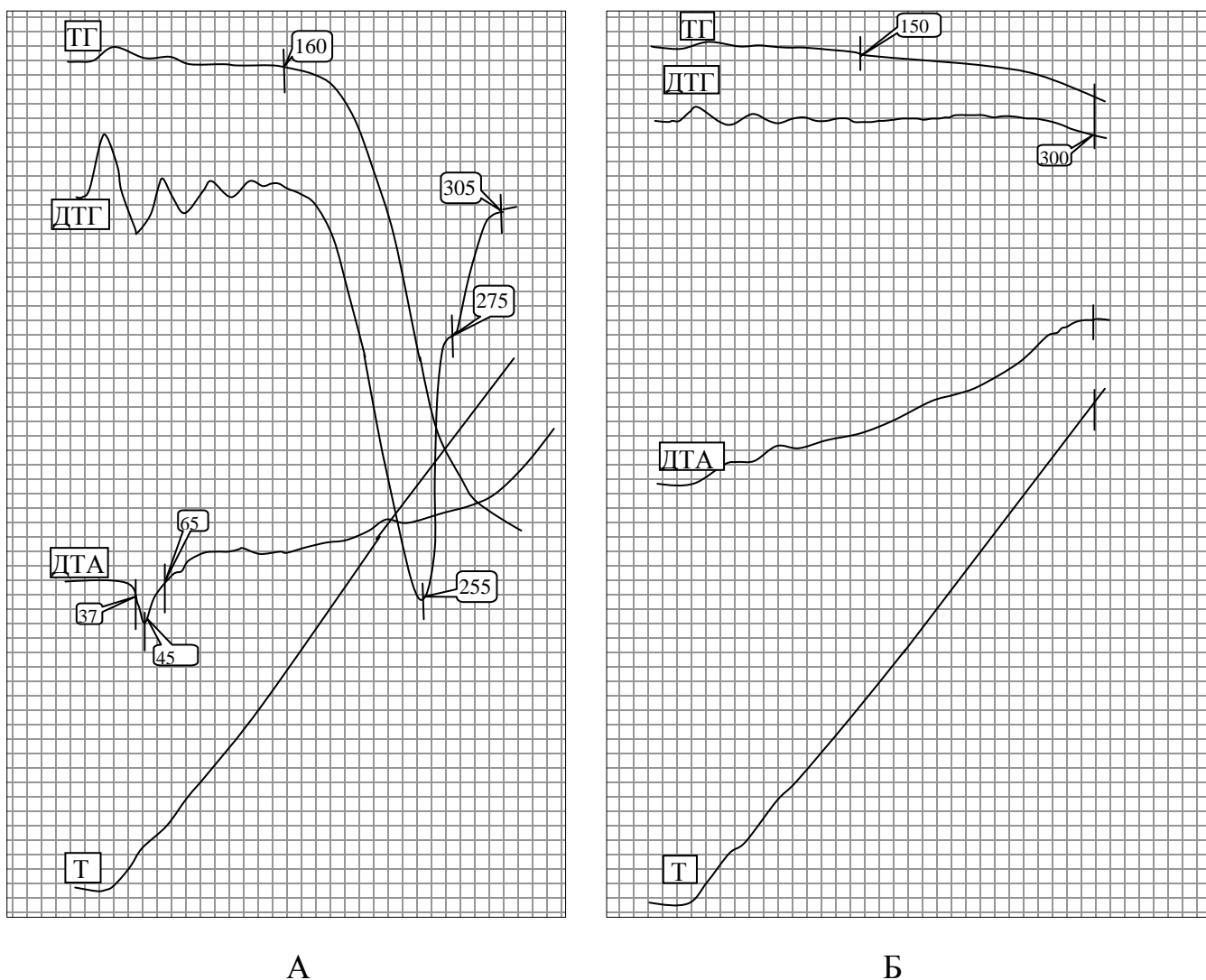


Рис. 3.14. Дериватограма основи (А) та твіну-80 (Б).

Згідно з даними рисунка 3.14 (А) критичною температурою для поліетиленоксидної основи є 160 °С. Саме після досягнення цієї температури відбувається руйнування молекул ПЕО.

Термограма твіну-80 (Б) не має значних теплових ефектів. Процес поступової втрати маси починається при температурі близько 150 °С і повільно розвивається до 300 °С.



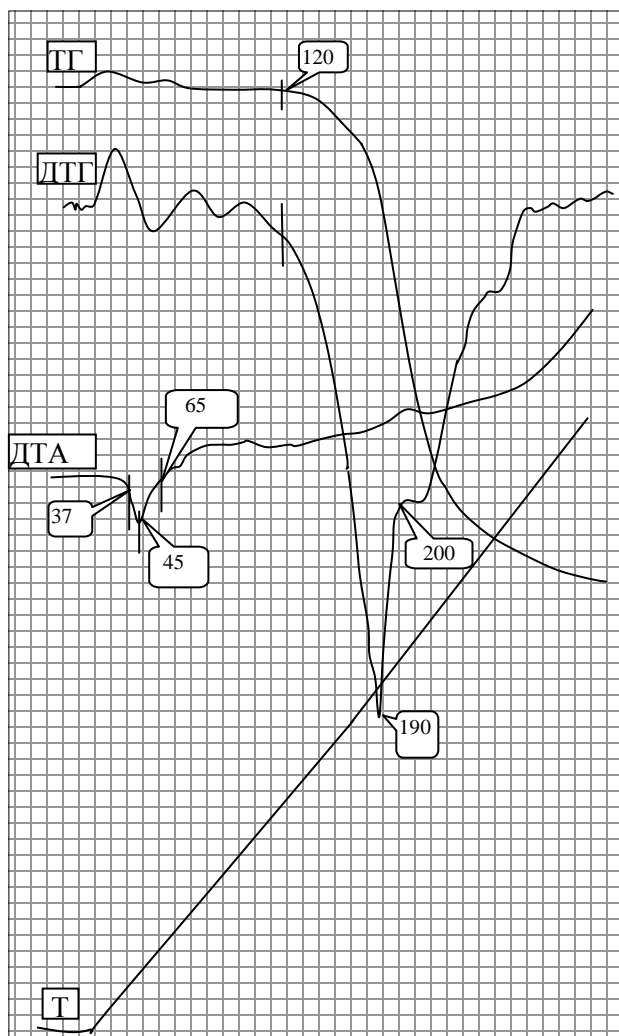


Рис. 3.15. Дериватограма супозиторіїв.

Дослідний зразок (рис 3.15) розплавляється при температурі 45 °С. Після 95 °С починається поступова втрата маси, яка може бути зумовлена випаровуванням води, що входить до складу препарату і надалі підсилена розкладом анестезину та інших речовин. Процес термоокислювальної деструкції починається при температурі 120 °С і з постійною швидкістю розвивається до температури 230 °С.

При аналізі дериватограм діючих, допоміжних речовин та супозиторіїв “Проктопантезин” встановлено, що найменшу температуру розкладу має анестезин – 120 °С, тому виробництво супозиторіїв “Проктопантезин” можна вести при стандартних температурах ведення техпроцесу виготовлення супозиторіїв (до 80 °С). Дериватограма супозиторіїв показала повну ідентичність теплових ефектів ефектам окремих речовин, що свідчить про

відсутність взаємодії між компонентами і доводить, що супозиторії є механічною сумішшю вихідних інгредієнтів лікарського засобу.

Структурно-механічні або реологічні властивості є одними з найважливіших характеристик в'язко-дисперсних систем до яких належить супозиторна маса. Вивчення цих властивостей має важливе значення для оптимізації технологічного процесу. Визначивши тип течії і залежність в'язкості супозиторної маси від температури ми зможемо підібрати ефективний температурний режим ведення процесу, провести розрахунки обладнання (потужність приводів перемішуючих пристроїв, тиск в формувальному автоматі і т.п.) [19, 57, 87, 106, 117, 120].

Визначення оптимальної температури ведення технологічного процесу виробництва супозиторної основи та введення діючих речовин в основу здійснено шляхом дослідження реологічних властивостей [6, 76]. Методика проведення дослідів наведена в 2 розділі.

Вивчення залежності структурної в'язкості супозиторної основи від температури показало, що при підвищенні температури з 45 до 55 °С значення структурної в'язкості при градієнті швидкості зсуву  $27 \text{ c}^{-1}$  зменшується приблизно у 8 разів (рис 3.16).

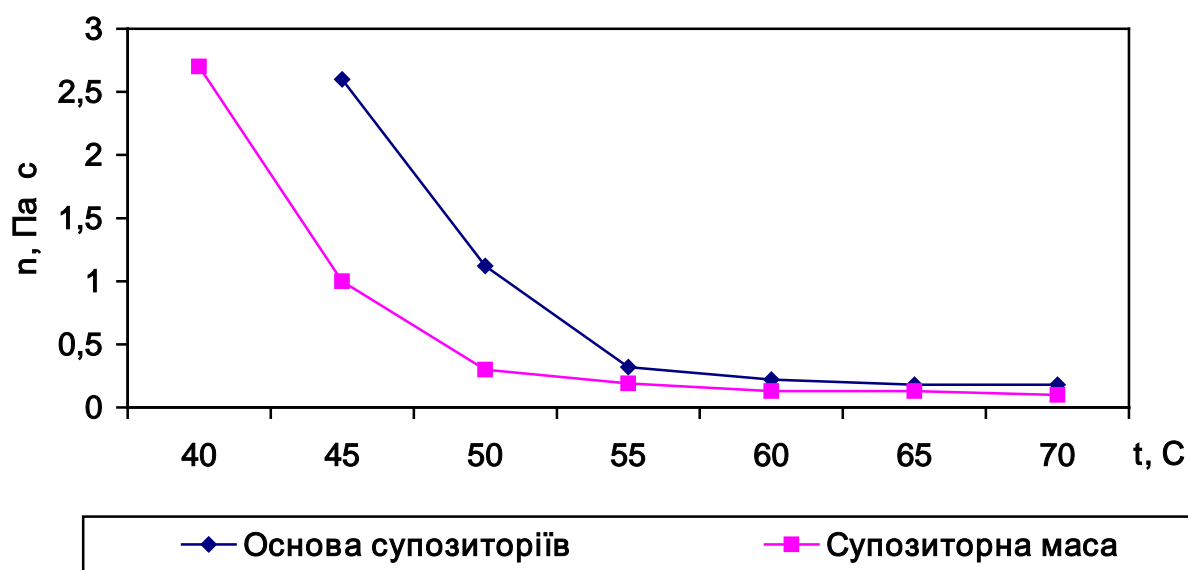


Рис. 3.16. Залежність структурної в'язкості супозиторної маси та основи супозиторіїв від температури при градієнті швидкості зсуву  $27 \text{ c}^{-1}$ .

При підвищенні температури більше 60 °С в'язкість супозиторної основи практично не змінюється.

Введення діючих речовин значно впливає на структурну в'язкість супозиторної маси [37]. Як видно з рис. 3.16 в'язкість системи при підвищенні температури з 40 до 50 °С зменшується в 9 разів і дорівнює значенню структурної в'язкості супозиторної основи при температурі 55 °С. Зниження показників в'язкості супозиторної маси перед основою може бути обумовлене наявністю в її складі декспантенолу, твіну-80 та води, яка вводиться до складу препарату як розчинник троксерутину. Ці речовини розріджують супозиторну масу знижуючи її структурну в'язкість [88].

Отримані результати дозволяють нам обрати оптимальний температурний режим виготовлення супозиторіїв. З технологічної точки зору необґрунтоване підвищення температури може збільшити затрати на виробництво препарату, а з іншого боку, низька температура приготування супозиторіїв може призвести до неоднорідності та розшарування супозиторної маси. Таким чином, на тій підставі, що при підвищенні температури понад 60 °С в'язкість супозиторної основи майже не змінюється, а при температурі нижчій за 55 °С структурно-механічні показники значно збільшуються, температура приготування основи, та передачі її по системі трубопроводів повинна бути 55-60 °С. Процес розчинення діючих речовин в основі, гомогенізація та розлив супозиторіїв у форми повинен проводитися при температурі 50-55 °С. Саме в цьому діапазоні температур супозиторна маса має достатню текучість, здатну забезпечити однорідність дозування та рівномірний розподіл діючих речовин в препараті.

При створенні нового лікарського препарату особливу увагу приділяють розробці технології його виготовлення.

Процес отримання супозиторіїв складається із сукупності послідовно здійснюваних стадій. В першу чергу проводиться санітарна підготовка виробництва, що включає в себе операції підготовки персоналу, обладнання, робочої зони та повітря до процесу приготування препарату [78, 98, 105]. Технологічна та апаратурна схеми виробництва наведені на рис. 3.17 та 3.18.

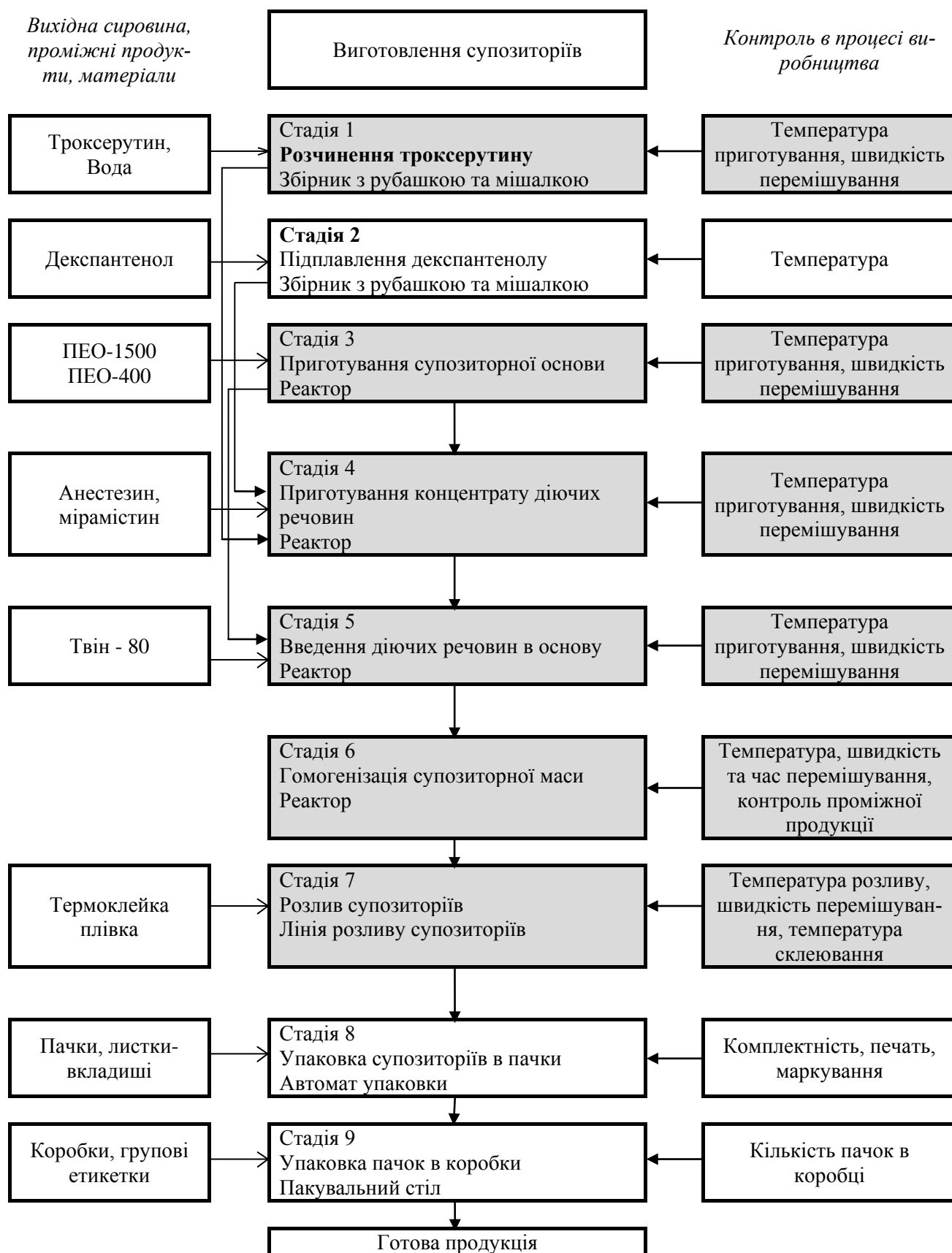
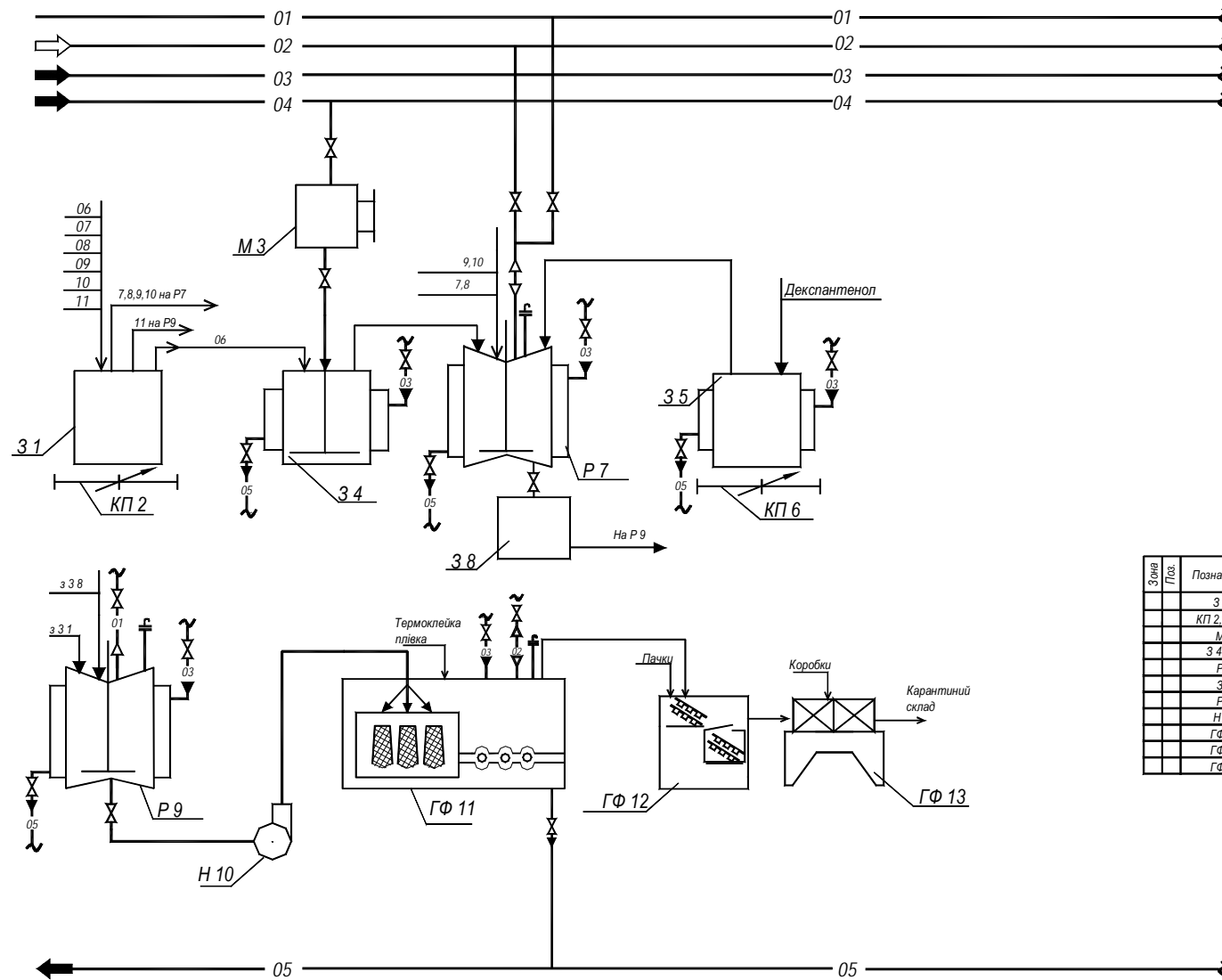


Рис. 3.17. Технологічна блок-схема виробництва супозиторіїв “Проктопантезин”.



Таблиця умовних позначень

Умове позначення		Найменування
Буквене	Графічне	
	01	Вакуум
	02	Стиснуте повітря
	03	Вода гаряча водопровідна
	04	Вода очищена
	05	Вода оборотна
	06	Троксерутин
	07	Мірамістин
	08	Анестезин
	09	ПЕО-400
	10	ПЕО-1500
	11	Тейн-80
		Вентиль

Перелік елементів схеми

Зміна	Поз.	Позначення	Найменування	Кіл.	Примітка
		З 1	Збірник	1	
		КП 2, КП 6	Ваги	2	
		М 3	Мірник	1	
		З 4, З 5	Збірник з рубашкою та мішалкою	2	
		Р 7	Реактор	1	
		З 8	Молерівська бочка	1	
		Р 9	Реактор	1	
		Н 10	Насос	1	
		ГФ 11	Лінія розливу супозиторіїв	1	
		ГФ 12	Автомат упаковки супозиторіїв в пакети	1	
		ГФ 13	Пакувальний стіл	1	

Рис. 3.18. Апаратурна схема виробництва супозиторіїв «Проктопантезин».

### **Стадія 1 Розчинення троксерутину**

Відважену кількість троксерутину вручну передають в термозбірник з мішалкою (З 4). За допомогою мірника М 3 відмірюють необхідну кількість води очищеної. Суміш підігривають до температури 60 °С та перемішують до повного розчинення троксерутину. Отриманий розчин троксерутину передають на стадію 4.

### **Стадія 2 Підплавлення декспантенолу**

В зв'язку зі значною в'язкістю речовини, що ускладнює процес передачі декспантенолу з операції підготовки (зважування), субстанцію піддають нагріванню до температури 60 °С.

Декспантенол зі складу в бутлях поміщають в термозбірник. Термозбірник розміщують на електронних вагах (КП 6). Подаючи гарячу воду в рубашку термозбірника підігривають декспантенол до температури 60 °С. Після того, як речовина набула необхідну в'язкість, декспантенол виливають в реактор Р 7. За різницею повних та пустих бутлів знаходять масу декспантенолу завантаженого в реактор.

### **Стадія 3 Приготування супозиторної основи**

Необхідну кількість ПЕО-400 та ПЕО-1500 завантажують в реактор (Р7). В рубашку реактора подають гарячу воду і при перемішуванні підігривають суміш до 60 °С. Процес ведуть до повного розплавлення ПЕО-1500. 80% отриманої маси передають за допомогою мюлерівської бочки до реакторного гомогенізатора Р 9. Супозиторну основу, що залишилася в реакторі (Р7) використовують для виготовлення концентрату діючих речовин.

### **Стадія 4 Виготовлення концентрату діючих речовин**

В реактор Р 7 до основи вводять декспантенол зі стадії 2, розчин троксерутину зі стадії 1 та відважені на вагах КП 2 анестезин та мірамістин. Отриману суміш підігривають до температури 55 °С та перемішують до повного розчинення компонентів. Концентрат діючих речовин за допомогою мюлерівської бочки передають до реактора Р 9 на стадію 5.

### **Стадія 5 Введення діючих речовин в основу**

В супозиторну основу зі стадії 3 при температурі 55 °С вводять концентрат діючих речовин зі стадії 4 та твін-80. Перемішують до отримання однорідної маси.

### **Стадія 6 Гомогенізація супозиторної маси**

Суміш в реакторі Р 9 гомогенізують протягом 10 хв. при температурі 55 °С під вакуумом. Після отримання однорідної маси з рівномірним вмістом діючих речовин в усіх шарах маси по системі трубопроводів за допомогою насосу Н10 передають супозиторну масу на стадію виготовлення супозиторіїв.

### **Стадія 7 Розлив супозиторіїв**

Виливання супозиторіїв здійснюють на автоматі ГФ 11. Встановлюють температуру нагрівання дозуючого насоса 55 °С та дозу розливу супозиторної маси.

З бункеру автомату через дозуючий насос розрахована доза супозиторної маси автоматично надходить у відформовані чарунки. При цьому рівень маси не повинен перевищувати обмежувальну риску.

Під час роботи автоматичної лінії періодично (3 рази протягом однієї зміни) контролюють масу супозиторіїв. Маса одного супозиторія повинна бути від 1,9 до 2,1 г.

Контурна стрічка із заповненими супозиторною масою чарунками охолоджується в холодильній камері автомату при температурі 10-16 °С до повного затвердіння протягом 20 хв.

Надалі послідовно виконують такі операції як термозварювання верхнього краю контурної упаковки, нанесення номеру серії продукції та розрізання контурної стрічки із супозиторіями №5.

Після проходження процесу відбраковки супозиторії передають на наступну стадію.

Супозиторії відбраковують при наявності таких дефектів:

- недостатня наповненість чарунки супозиторія;
- наявність бруду на поверхні контурної упаковки;
- порушення герметичності упаковки;

- деформована поверхня плівки.

Некондиційні упаковки відносять до витрат. Кондиційні супозиторії збирають в збірник, прикріплюють етикетку з назвою кінцевої продукції, номером серії, датою виготовлення, кількістю та передають на стадію 8.

### **Стадія 8 Упаковка супозиторіїв в пачки**

Супозиторії “Проктопантезин” пакують в марковані відповідно аналітично-нормативної документації пачки по 10 штук. В кожну пачку вкладають листівку-вкладиш. Перевіряють комплектність та відповідність друку на пачках.

### **Стадія 9 Пакування пачок в коробки.**

Пачки пакують в групову упаковку на пакувальному столі ГФ 13. В кожну коробку вкладають листівку-вкладиш. Перевіряють маркування на груповій етикетці.

Готова продукція.

Із серії готової продукції, сформованої з одного технологічного завантаження, відбирають середню пробу для аналізу за всіма показниками.

Після підтвердження відповідності серії препарату АНД готовий лікарський засіб разом із сертифікатом якості передають на склад готової продукції, де вона повинна зберігатися в сухому, захищеному від світла місці при температурі 8,0 – 15,0 °С до відвантаження споживачу.



## ВИСНОВКИ

1. Проведено науково-дослідну роботу з розробки оптимального складу та технології виготовлення супозиторіїв комбінованої дії для лікування таких проктологічних захворювань як геморої, анальна тріщина та проктит.

2. За результатами фармакологічних, мікробіологічних та біофармацевтичних досліджень як оптимальну супозиторну основу обрано поліетиленоксидну зі співвідношенням ПЕО-400 до ПЕО-1500 як 5 до 95.

3. На підставі досліджень осмотичної активності супозиторної основи, антимікробних властивостей препарату і біодоступності троксерутину експериментально обґрунтовано введення до складу супозиторіїв 3% твіну-80.

4. За результатами фармакологічних досліджень на моделі інфікованих лінійних різаних ран у щурів обрано дозу декспантенолу в складі препарату – 0,10 г.

5. Дослідженням антиексудативної активності препарату на моделі карагенинового набряку стопи у щурів встановлено оптимальний вміст троксерутину у складі супозиторіїв – 0,04 г.

6. На моделі анестезії ока кроля обрано оптимальну концентрацію анестезину – 0,10 г на супозиторій масою 2,0 г.

7. На підставі мікробіологічних досліджень встановлено ефективну дозу мірамістину в препараті – 0,006 г.

8. За допомогою термогравіметричного аналізу доведено термічну стабільність компонентів та готового препарату до температури 90 °С. Відсутність додаткових термічних ефектів на деріватограмі супозиторіїв в порівнянні з деріватограмами окремих компонентів доводить відсутність хімічної взаємодії між ними.

9. Визначення залежності структурно-механічних показників основи та супозиторної маси від температури дозволило обрати оптимальний температурний режим ведення технологічного процесу отримання супозиторіїв.

10. На підставі проведених досліджень розроблено оптимальний склад та технологію виробництва супозиторіїв під умовною назвою „Проктопантезин” для лікування проктологічних захворювань.

## РОЗДІЛ 4

### ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА РОЗРОБКА МЕТОДІВ АНАЛІЗУ СУПОЗИТОРІЇВ “ПРОКТОПАНТЕЗИН”

#### 4.1. Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення лікарських речовин у складі супозиторіїв

Впровадження у виробництво нового лікарського засобу потребує розробки на нього АНД. Згідно з ДФУ ректальні супозиторії на гідрофільній основі повинні контролюватися за такими показниками: опис, ідентифікація, середня маса і однорідність маси, однорідність вмісту (для мірамістину або троксерутину, як речовин з вмістом 2% і менше від середньої маси супозиторія), розчинення, супровідні домішки, мікробіологічна чистота та кількісне визначення.

Для визначення типу основи препарату 1 супозиторій вміщують в колбу місткістю 50 мл, додають 15 мл води і розчиняють при нагріванні на водяній бані та перемішуванні. Повне розчинення супозиторія з утворенням каламутного розчину (анестезин не розчиняється у воді) і відсутність на його поверхні крапель жиру свідчить про гідрофільність аналізуємої супозиторної основи.

Для визначення поліетиленоксидів, які виконують роль супозиторної основи в складі препарату пропонується наступна реакція:

1 супозиторій вміщують в хімічний стакан місткістю 50 мл, додають 25 мл води та при нагріванні і перемішуванні розчиняють. Отриманий розчин фільтрують крізь паперовий фільтр, відкидаючи перші 5 мл фільтрату. 5 мл отриманого розчину вміщують в пробірку, додають 1 мл кислоти хлороводневої і 1 мл розчину калію фероціаніду – утворюється зелений осад.

Для ідентифікації діючих речовин супозиторіїв “Проктопантезин” запропоновані такі реакції:

Ідентифікація мірамістину:

1) до розчину 0,5 г супозиторної маси в 2 мл 0,01М розчину NaOH додають 1 мл кислоти азотної розведеної. Розчин дає характерну **реакцію на хлориди** (ДФУ, с. 73) – утворюється біла каламуть.

2) 0,5 г супозиторної маси розчиняють в 5 мл 0,01 М розчину натрію тетраборату (ДФУ 2.2.3), додають 5 крапель розчину бромтимолового синього, 2 мл хлороформу та інтенсивно струшують. Після розшарування хлороформний шар забарвлюється в інтенсивний жовтий колір.

Ідентифікація троксерутину:

1) Як похідне рутину троксерутин дає **реакцію утворення халкону**. 0,2 г супозиторіїв «Проктопантезин» розчиняють при перемішуванні в 2 мл води і додають 1 мл розчину натрію гідроксиду – з'являється інтенсивне жовте забарвлення.

2) Як флаванол троксерутин дає **реакцію ціанінової проби**. 1 г препарату розчиняють при перемішуванні в 3 мл води, додають 1 мл концентрованої хлороводневої кислоти – з'являється інтенсивне жовте забарвлення (вочевидь за рахунок утворення троксерутином оксонієвої солі). До одержаного розчину додають 0,05 г магнієвого порошку і перемішують – з'являється піна, яка поступово забарвлюється в рожевий колір; в міру відстоювання розчин набуває червоно-помаранчевого кольору.

Ідентифікація анестезину:

1) **Реакція на первинну ароматичну аміногрупу**. 1 супозиторій масою 2,0 г розчиняють в 10 мл води при нагріванні на водяній бані до повного розчинення з утворенням каламутного розчину (розчин 1). До 1 мл розчину 1 додають 0,5 мл розведеної хлороводневої кислоти, 2 – 3 краплі натрію нітриту та перемішують. Отриманий розчин додають по краплі до 2 мл лужного розчину  $\beta$  – нафтолу. Утворюється червоне забарвлення, яке при подальшому додаванні розчину переходить в червоно-помаранчевий осад.

2) **Йодоформна проба**. Залишок розчину 1 фільтрують через паперовий фільтр. Фільтр промивають 3 мл води. Залишок на фільтрі розчиняють в 2 мл

30% розчину натрію гідроксиду і додають 3-5 крапель 0,05 М розчину йоду. З'являється жовте забарвлення і специфічний запах йодоформу.

Ідентифікація декспантенолу:

Ідентифікацію декспантенолу проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29). На хроматограмі, отриманій при кількісному визначенні декспантенолу, час утримання піку, який відповідає декспантенолу має збігатися з часом утримання піку на хроматограмі розчину ФСЗ декспантенолу.

Кількісне визначення компонентів препарату проводили застосовуючи метод рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29) [80]. Методика дослідження наведена в розділі 2.

Вміст діючих речовин в перерахунку на середню масу супозиторія має бути в таких межах: для декспантенолу 0,085 – 0,115 г, троксерутину 0,034 – 0,046 г, анестезину 0,085 – 0,115 г, мірамістину 0,0051-0,0069 г. Результати аналізу є достовірними, якщо виконуються вимоги тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи” [44, 45, 156].

#### ***Перевірка придатності хроматографічної системи.***

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком кожної з діючих речовин має бути не менше 1000 теоретичних тарілок (ДФУ 2.2.29; с. 47);
- відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піків кожної з діючих речовин має бути не більше 2% (ДФУ 2.2.29; с. 47);
- коефіцієнт симетрії кожного з піків речовин, що аналізуються має бути не менше 0,8 і не більше 2,0.

Коефіцієнт симетрії (Т) розраховують за формулою – 4.1.

$$T = \frac{b_{0,05}}{2A}; \quad (4.1)$$

де  $b_{0,05}$  – ширина піку на висоті 5% від базової лінії, мм;

A – відстань від початку піка на висоті 5% від базової лінії до перпендикуляру, проведеного з його вершини, мм.

Якщо вимоги тесту “Перевірка придатності хроматографічної системи” не виконуються, допускається коригування складу рухомої фази, шляхом зміни співвідношення метанолу і води.

Хроматограма розчину супозиторіїв наведена на рис. 4.1.

Для визначення відносного часу утримання компонентів препарату, що досліджується застосовано метод добавок [44, 45].

До розчину сумарного СЗ по черзі додавали надлишок кожного з компонентів, що аналізуються та хроматографували отримані розчини в наведених вище умовах. Збільшення висоти піків на хроматограмах цих розчинів дозволило встановити відносний час утримання та порядок виходу діючих речовин препарату. При вказаних умовах хроматографування відносний час утримання для мірамістину, анестезину, троксерутину і декспантенолу склав 1:0,7:0,6:0,4 відповідно.

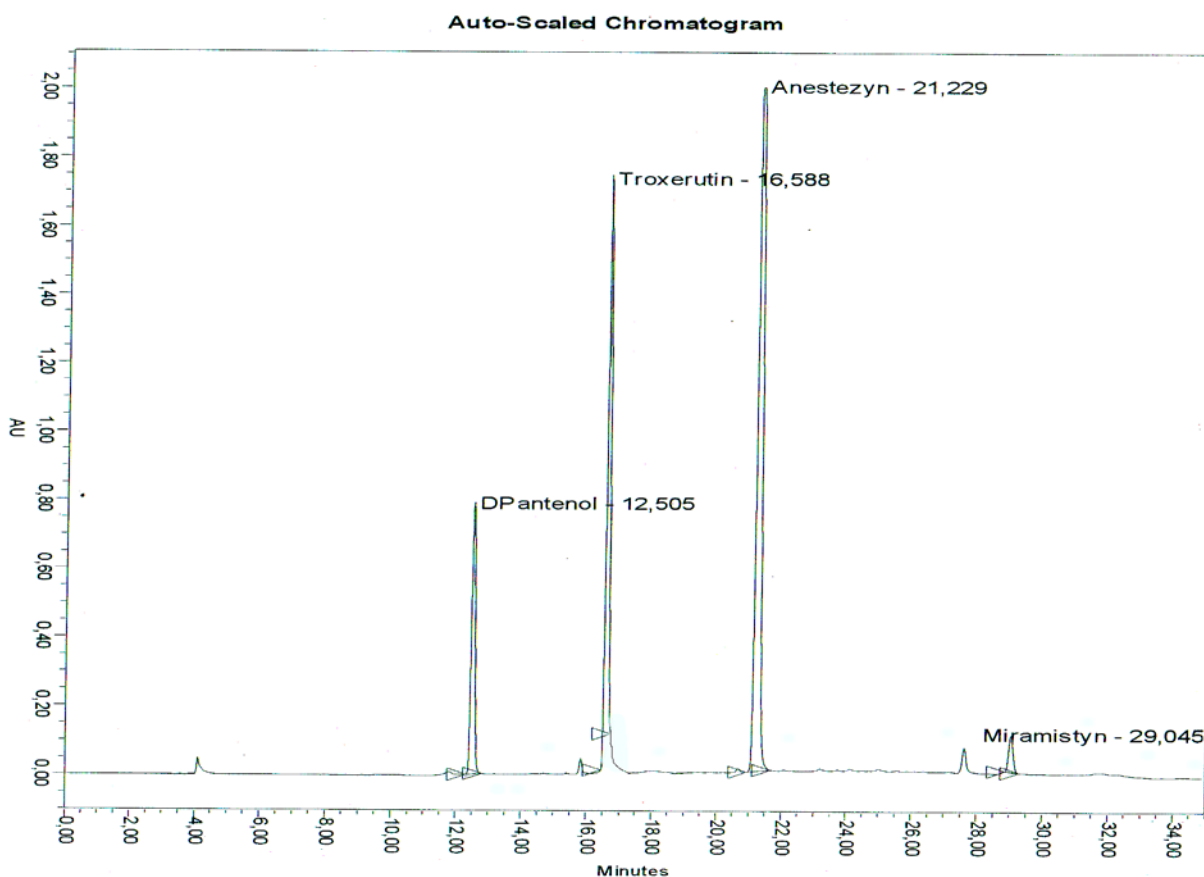


Рис. 4.1. Хроматограма сумарного СЗ.

Проведені дослідження показали, що поліетиленоксидна основа не впливає на час виходу піків аналізуємих компонентів [80].

З отриманих даних розраховували концентрацію діючих речовин в препараті за формулою 2.1. Дослідження кожного зі зразків проводили по п'ять разів. Результати проведених розрахунків наведені в таблиці 4.1.

Відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піків кожного зі зразків не перевищує 2,0%, що відповідає вимогам до величини RSD для паралельних вимірів методом ВЕРХ [44].

Таблиця 4.1

### Метрологічні характеристики методу аналізу, n =5

Речовина	$X_{cp}$ , г	$S^2$	$S_{cp}$	P	t(P, v)	Вірогідний інтервал	$\epsilon$ , %
Анестезин	0,1002	$1,72 \cdot 10^{-6}$	$5,860 \cdot 10^{-4}$	0,95	2,78	$0,10018 \pm 0,00163$	1,6262
Декспантенол	0,101322	$8,69 \cdot 10^{-7}$	$4,168 \cdot 10^{-4}$	0,95	2,78	$0,101322 \pm 0,00116$	1,1437
Троксерутин	$4,019 \cdot 10^{-2}$	$3,45 \cdot 10^{-7}$	$2,625 \cdot 10^{-4}$	0,95	2,78	$0,040188 \pm 0,00073$	1,8159
Мірамістин	$6,019 \cdot 10^{-3}$	$0,8 \cdot 10^{-8}$	$3,987 \cdot 10^{-5}$	0,95	2,78	$0,006019 \pm 0,00011$	1,8412

де  $X_{cp}$  – середній арифметичний результат;

$S^2$  – дисперсія;

$S_{cp}$  – стандартне відхилення середнього результату;

P – довірча ймовірність;

t(P, v) – табличне значення критерію Ст'юдента;

$\epsilon$ , % – відносна похибка окремої варіанти.

В зв'язку з тим, що для аналізу багатокомпонентного препарату застосований градієнтний метод елюювання, який дозволяє змінювати ступінь розділення речовин, що аналізуються, шляхом зміни співвідношення фаз А та Б, запропонована методика є універсальною і дозволяє проводити визначення на різних хроматографічних колонках та аналітичних системах.

#### 4.2. Дослідження органолептичних та фізико-хімічних показників супозиторіїв “Проктопантезин” та вивчення стабільності супозиторіїв у процесі зберігання

Препарат являє собою супозиторії торпедовидної форми, світло-жовтого або жовтого кольору, без запаху. На поперечному зрізі не повинно бути будь-яких крапель, але можлива наявність повітряного стрижня.

Проведені дослідження з визначення однорідності маси супозиторіїв показали відхилення 2,81%, що є допустимим згідно вимог ДФУ.

Однорідність вмісту діючих речовин, що містяться в складі препарату в незначній кількості ( $\leq 2\%$  від маси супозиторія) визначали методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.2.29). Аналізовані супозиторії витримують вимоги Доповнення 1 до ДФУ 2.9.6.

Визначення ступеня розчинення супозиторіїв проводили за методикою ДФУ 2.9.3 (розділ 2). Для випробування брали шість супозиторіїв та визначали ступінь розчинення анестезину. Вибір саме анестезину як контрольної речовини зумовлений його меншою розчинністю у воді в порівнянні з іншими діючими речовинами.

Результати дослідження фізико-хімічних показників супозиторіїв представлені в таблиці 4.3:

Таблиця 4.3

##### Фізико-хімічні та фармако-технологічні показники

Об'єкт дослідження	Компоненти, що визначались	Однорідність вмісту, %	Ступінь розчинення, %
Супозиторії “Проктопантезин”	Троксерутин	92,2 ± 3,8	-
	Мірамістин	98,3 ± 8,5	-
	Анестезин	-	81,65±5,61

Згідно з отриманими даними супозиторії “Проктопантезин” витримали випробування на однорідність вмісту троксерутину та мірамістину. В жодному з 15 проаналізованих супозиторіїв вміст діючих речовин в препараті не вийшов



за межі 85 – 115 %. Середнє значення вмісту троксерутину та мірамістину склало 92,2% і 98,3% відповідно.

Ступінь розчинення супозиторіїв також відповідає вимогам ДФУ. За 45 хв. досліду в розчин перейшло в середньому 81,65% анестезину. Жоден зі зразків не вийшов по показниках вивільнення анестезину за межі 75 – 115%, що наводяться ДФУ як гранично допустимі. Таким чином ми можемо стверджувати про відповідність розчинності супозиторіїв вимогам ДФУ [30, 44, 45].

Одним з головних показників якості препарату є стабільність його фізико-хімічних, фармакологічних та споживчих властивостей. Термін придатності препарату залежить від багатьох факторів. Погіршення будь-якого з показників якості під час зберігання супозиторіїв говорить про негативні процеси в складі препарату. Ці процеси можуть призвести до зниження терапевтичної ефективності і появи побічних ефектів лікарського засобу [57, 106].

З метою вивчення стабільності супозиторіїв “Проктопантезин” у процесі зберігання та для експериментального визначення терміну їх придатності нами були виготовлені декілька серій препарату у полівінілхлоридній плівці та закладені на зберігання.

Супозиторії, виготовлені для визначення терміну придатності зберігали при двох температурних режимах 15,0-25,0 °С (кімнатна температура) та 8,0-15,0 °С (прохолодне місце) впродовж 24 місяців. Через кожні 6 місяців перевіряли відповідність зразків вимогам проекту АНД на препарат [44, 118]. Крім визначення органолептичних показників, ідентифікації, кількісного визначення діючих речовин та перевірки на мікробіологічну чистоту особливу увагу приділяли визначенню специфічної домішки декспантенолу – 3 - амінопропанолу.

Визначення 3-амінопропанолу проводили методом газової хроматографії за методикою наведеною в розділі 2. 3-амінопропанол є домішкою декспантенолу і підвищення його в складі препарату може свідчити про

руйнування хімічної структури декспантенолу, а з тим і про зміну терапевтичного ефекту супозиторіїв.

Вміст домішки 3-амінопропанолу не повинний перевищувати 0,5 % від кількості введеного в склад препарату декспантенолу.

Випробовування на мікробіологічну чистоту проводили відповідно до методики наведеної у 2 розділі. Категорія препарату 2 [26].

Результати аналізу супозиторіїв, які були закладені на вивчення терміну придатності наведені в таблицях 4.4 – 4.6.

Згідно з приведеними даними супозиторії “Проктопантезин” відповідають вимогам ДФУ за всіма показниками впродовж 24 місяців зберігання. Температура зберігання супозиторіїв суттєво не впливає на їх якість. Кількісний вміст діючих речовин, значення ступеня розчинення та зовнішній вигляд супозиторіїв майже не змінюється протягом всього часу зберігання при обох температурах та відповідають вимогам ДФУ. Лише за такими фізико-хімічними показниками як кількість 3-амінопропанолу та рН водного розчину препарату, супозиторії, що витримувались при температурі 15,0-25,0 °С дещо поступаються супозиторіям які зберігалися при температурі 8,0-15,0 °С.



**Результати періодичного контролю мікробіологічної чистоти  
супозиторіїв «Проктопантезин» в процесі зберігання**

Термін зберігання, міс.	Кількість колонієутворюючих одиниць в 1 г		Наявність бактерій родин Enterobacteriaceae, Ps. aeruginosa, St. aureus
	бактерій	грибів	
<b>Зразки, що зберігалися у прохолодному місці</b>			
Початок	<10	<10	Відсутні
6	<10	<10	Відсутні
12	<10	<10	Відсутні
18	<10	<10	Відсутні
24	<10	<10	Відсутні
<b>Зразки, що зберігалися при кімнатній температурі</b>			
Початок	<10	<10	Відсутні
6	<10	<10	Відсутні
12	<10	<10	Відсутні
18	<10	<10	Відсутні
24	<10	<10	Відсутні

Таблиця 4.6

**Результати визначення антимікробної активності супозиторіїв  
«Проктопантезин»**

Тест-мікроорганізми	Діаметр зони затримки росту, мм	
	Супозиторії свіжовиготовлені	Супозиторії після 24місяців зберігання
E. coli	26,21±1,20	24,85±1,11
Ps. aeruginosa	22,23±1,12	21,62±1,02
S. aureus	32,54±1,44	31,56±1,33
B. subtilis	28,52±1,32	28,42±1,24
C. albicans	24,18±1,14	23,13±1,15

Примітка. n=6, P=0,95

Антимікробна активність супозиторіїв не змінюється (табл. 4.4). За ступенем мікробної контамінації препарат відповідає вимогам ДФУ для препаратів місцевого призначення. В препараті не виявлені бактерії родин *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Загальна кількість бактерій в 1 г препарату не перевищила 10, грибів - 25.

Таким чином, проведені дослідження вказують на те, що супозиторії залишаються стабільними протягом 24 місяців зберігання, оптимальною температурою зберігання можна вважати 8,0-15,0 °С. На підставі наведених даних встановлений орієнтовний термін придатності препарату – 2 роки.

## ВИСНОВКИ

1. Запропоновані реакції визначення типу і складу супозиторної основи та методики якісного і кількісного аналізу мірамістину, анестезину, троксерутину та декспантенолу у складі супозиторіїв.

2. З метою оцінки якості супозиторіїв вивчено їх органолептичні і фізико-хімічні властивості. Одержані результати були враховані при розробці проекту АНД.

3. Експериментально доведена стабільність препарату на протязі 24 місяців зберігання. На підставі отриманих результатів розроблено рекомендації щодо вибору температури зберігання.

4. Мікробіологічними дослідженнями встановлено, що розроблені супозиторії за показниками мікробної чистоти відповідають вимогам Державної Фармакопеї України, а їх антимікробна активність на протязі всього періоду зберігання практично не змінюється.

## РОЗДІЛ 5

### ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СУПОЗИТОРІЇВ „ПРОКТОПАНТЕЗИН”

В комплексному вивченні розробленого лікарського препарату важливе місце займають експериментальні дослідження, що включають у себе визначення його специфічної активності, а також біологічної нешкідливості. Проведення таких досліджень дозволяє визначити спектр фармакологічної дії препарату та виявити можливі негативні наслідки його застосування.

Вивчення біологічних властивостей супозиторіїв під умовною назвою «Проктопантезин» проведено під керівництвом д.ф.н., проф. А.І. Березнякової.

#### **5.1. Дослідження фармакологічних властивостей супозиторіїв “Проктопантезин”**

##### **5.1.1. Протизапальна активність супозиторіїв “Проктопантезин”.**

В зв'язку з тим, що запальні процеси супроводжують всі проктологічні захворювання, оцінка протизапальної активності супозиторіїв “Проктопантезин” є одним з головних завдань фармакологічних досліджень.

Визначення протизапальної активності препарату здійснювали за його антиексудативною дією, яку було вивчено на моделі карагенінового набряку стопи щурів [93]. Досліди проводили на 40 білих нелінійних щурах масою 200-210 г різної статі. Тварин розподіляли на 4 групи (по 10 щурів у кожній). За годину до введення карагеніну тваринам першої групи на шкіру стопи наносили 0,5 г розм'якшеного при 37 °С засобу „Проктопантезин”, 2 групі – 0,5 г засобу „Проктозан”, 3 групі – 0,5 г засобу “Постеризан” (табл. 1.1); тварин 4 групи не лікували (контрольна група). Приріст об'єму стоп щурів та антиексудативну активність визначали за методикою наведеною в розділі 2.

Результати дослідження наведені в табл. 5.1:

### Результати визначення антиексудативної активності

Об'єкт дослідження	Приріст об'єму стопи після введення карагеніну (ум.од.)	Активність (%)
Супозиторії "Проктопантезин"	1,01±0,06	28,9
Супозиторії „Проктозан”	0,90±0,08	36,4
Супозиторії "Постеризан"	1,09±0,05	23,2
Контрольна патологія	1,42±0,13	–

Примітка.  $p < 0,05$  відносно контролю.

Аналіз даних таблиці 5.1 свідчить, що засіб „Проктопантезин” за результатами експерименту виявив дещо вищу антиексудативну активність ніж “Постеризан” (28,9% проти 23,2%), яка, проте, поступається показникам супозиторіїв “Проктозан”. Цей факт можна пояснити тим, що протизапальна дія “Проктопантезину” зумовлена сумою ефектів ангіопротектора троксерутину і репаранта декспантенолу, і тому його активність, як і активність “Постеризану” поступається фармакологічній дії препаратів порівняння, що містять в своєму складі типові НПЗЗ. Але слід відзначити, що на відміну від “Проктозану” та інших супозиторіїв, що містять НПЗЗ (табл. 1.1) “Проктопантезин” не буде мати характерних побічних ефектів притаманних цій фармакологічній групі.

#### 5.1.2. Вивчення місцевоанестезуючого ефекту супозиторіїв “Проктопантезин”.

Дослідження місцевоанестезуючого ефекту проводили на моделі анестезії ока кроля. Дослід проводили на 10 кролях-самцях. Як препарат порівняння використовували супозиторії „Проктозан”.

Тварин розподілили на 2 групи по 5 кролів у кожній. Тваринам 1-ої групи закладали за нижню повіку по 0,1 г розм'якшеної при 37,0°C маси супозиторіїв „Проктопантезин”. Тваринам 2-ої групи закладали таку ж кількість речовини супозиторіїв „Проктозан”. Через 30 сек після початку експерименту подразнювали кон'юнктиву, проводячи кінським волосом по поверхні ока від зовнішнього кута в напрямку зіниці, що викликало примружування ока. Подразнення повторювали через кожні 10 сек. Швидкість появи місцевої анестезії визначали за



часом від закладання досліджуваного зразка до зникнення реакції при подразненні ока. Тривалість дії анестезуючої речовини визначали за часом відновлення реакції ока на подразнення.

Отримані результати наведені в табл. 5.2.

Таблиця 5.2

### Вплив супозиторіїв на анестезію ока кроля

Об'єкт дослідження	Швидкість появи місцевої анестезії, сек.	Тривалість анестезії, сек.
Супозиторії „Проктопантезин”	120±10	310±20
Супозиторії „Проктозан”	140±10	260±20

Примітка:  $p < 0,05$  відносно контролю.

Аналіз даних, наведених у табл. 5.2, показав, що при використанні препарату „Проктопантезин” відзначається більш швидкий і тривалий місцево-анестезуючий ефект, ніж при використанні препарату „Проктозан”.

#### 5.1.3. Репаративна активність супозиторіїв “Проктопантезин”.

Репаративну активність супозиторіїв вивчали, використовуючи ранотензіометрію, на моделі інфікованих лінійних різаних ран у щурів [110, 125] згідно методики наведеної в 2 розділі. Експеримент проводили на 30 нелінійних щурах різної статі масою 200 – 220 г. В експерименті використовували 3 групи тварин: дві – експериментальні, одна – контрольна. Щурам експериментальних груп один раз на добу на ділянку різаної рани наносили розм'якшену масу супозиторіїв “Проктопантезин” (група №1) або “Проктозан” (група №2). На 5-у добу 15 тварин (по 5 із кожної групи) декапітували, вирізали поранені ділянки шкіри і проводили дослідження на міцність зрощення країв різаної рани. Решті 15 тваринам ранотензіометрію проводили на 7 добу аналогічним методом. Репаративну активність розраховували за формулою 2.5.

Результати експерименту наведені в табл. 5.3:

**Вплив супозиторіїв на міцність післяопераційного рубця інфікованих ран**

Об'єкт дослідження	5-а доба		7-а доба	
	Міцність рубця (ум. од.)	Репаративна активність (%)	Міцність рубця (ум. од.)	Репаративна активність (%)
„Проктопантезин”	325,3±9,3	80,7	640,3±14,3	88,3
„Проктозан”	312,1±7,2	73,4	599,9±12,4	76,4
Контрольна патологія	180,0±11,0	–	340,1±18,8	–

Примітка.  $p < 0,05$  відносно контролю.

Згідно даних, наведених в табл. 5.3, аплікації „Проктопантезину” підвищують міцність післяопераційного рубця інфікованої рани в середньому на 87%. За репаративною активністю „Проктопантезин” перевищує препарат порівняння „Проктозан” у середньому на 8-9%.

**5.2. Вплив супозиторіїв на перебіг експериментального проктиту**

Феноловий проктит викликали за А.М. Ногаллером і Г.А. Трубніковим [92]. Експеримент проводили на нелінійних щурах масою  $180 \pm 20$  г, яких утримували за стандартних умов віварію при сталій температурі та вологості повітря з вільним доступом до води та їжі. Усі маніпуляції, що спричиняють біль, проводили під гексеналовим наркозом (60 мг/кг підшкірно). Тварини були розподілені на 4 групи (по 10 тварин у кожній): перша – інтактний контроль; друга – контроль з проктитом без лікування; третя – дослідна група, яка отримувала ректально супозиторії „Проктопантезин”; четверта – дослідна група, яка ректально отримувала препарат порівняння „Проктозан”.

В ранкові години натщесерце щурам скляною паличкою подразнювали анус для рефлекторного випорожнення кишечника. Після чого через металевий зонд в пряму кишку на глибину 1,5 см вводили 5% розчин фенолу з розрахунку 0,2 мл на 100 г маси тварини. Фенол вводили чотирма порціями за 5 діб. Інтервал між 1 і 2, 3 і 4 введеннями становив 24 год; між 2 та 3 – 48 годин. Частота введення і концентрація розчину фенолу емпірично підібрані таким чином, щоб викликати запалення та появу виразок на поверхні слизової оболонки прямої

кишки і, за можливістю, звести до мінімуму загальнотоксичну дію хімічного агента. На 6 добу на поверхні слизової оболонки прямої кишки у тварин розвинувся набряк, гіперемія, крововиливи, широкі ділянки некрозу. Лікування тварин починали через 24 години після останнього введення фенолу і проводили протягом 3<sup>ох</sup> діб.

Критеріями виразності клінічного перебігу проктиту слугували: загальний стан тварин; ректальна температура; динаміка маси тіла; морфологічний склад периферичної крові; швидкість зсідання еритроцитів; макроскопічні зміни слизової прямої кишки. На 4<sup>ту</sup> добу лікування тварин декапітували і порівнювали ступінь ураження прямої кишки лікованих і контрольних тварин. Враховували площу некрозу слизової оболонки прямої кишки (мм<sup>2</sup>), стан оболонки прямої кишки в балах, довжину ураженої ділянки прямої кишки від довжини всієї прямої кишки у відсотках, кількість крапкових крововиливів. Для оцінки інтенсивності патологічного процесу і впливу досліджуваних препаратів, описуючи морфологічні зміни проводили також напівкількісну оцінку деяких ознак запалення у балах за трьома параметрами: набряк, гіперемія, крововиливи. Бали присуджували залежно від виразності ознак: 0 балів - ознака відсутня; 1 бал - ознака виражена незначною мірою; 2 бали - ознака виражена помірно; 3 бали - ознака різко виражена. Потім визначали суму балів за трьома вказаними параметрами. Шматочки слизової оболонки прямої кишки фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну, зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином за методом Ван Гізона [92]. Гематологічні показники вивчали за загальноприйнятими методами [44, 141]. Отримані дані пройшли статистичну обробку [45].

Результати дослідження показали, що у тварин контрольної групи після ініціювання проктиту зростали як місцеві, так і загальні ознаки запалення. Місцево реакція на введення фенолу проявилася сильним набряком, багатьма крововиливами, широким некрозом і гіперемією ділянки прямої кишки. Проктит, викликаний фенолом, характеризувався різкою гіперемією періанальної ділянки, кров'янистими виділеннями з анусу. Тварини були мляві, апетит знижений. Під час досліду спостерігалось зменшення маси тіла тварин і підвищення

ректальної температури на 1-2 °С порівняно з тваринами інтактною групи. Ці зміни супроводжувалися лейкоцитозом, що підтверджує тяжкий перебіг захворювання. Отримані нами результати узгоджуються з даними інших дослідників, які займалися лікуванням проктиту в експерименті та клініці [43, 53, 168].

Застосування досліджуваних препаратів послабляло клінічні симптоми захворювання, що виявлялося вже на 2 добу спостереження. Це підтверджувалося, насамперед, показниками динаміки маси тіла: тварини, яких лікували препаратами порівняння, швидше відновлювали втрачену вагу, ніж контрольні тварини. Про покращення їх стану свідчили показники ректальної температури та позитивна динаміка гематологічних показників. Разом з цим, за період спостереження повної нормалізації гематологічних показників не спостерігалось.

Під час дослідження зразків слизової оболонки прямої кишки експериментальних та контрольних груп щурів була виявлена суттєва різниця їх морфологічного стану. Так, площа некрозу слизової оболонки у щурів лікованих супозиторіями "Проктопантезин" була у 2,7 рази, а при застосуванні супозиторіїв "Проктозан" та в 2 рази меншою ніж в контрольній групі. Також значно меншою стала кількість крапкових крововиливів і довжина ураженої ділянки слизової оболонки.

На підставі проведених досліджень можна стверджувати, що і "Проктозан" і "Проктопантезин" проявили достатньо виражену протизапальну і регенераторну активність. Однак, супозиторії "Проктопантезин" є більш ефективними в порівнянні з супозиторіями "Проктозан".

Таким чином, результати клінічних, гематологічних і макроскопічних досліджень, одержані при лікуванні фенолового проктиту у щурів супозиторіями "Проктопантезин", свідчать про виражену фармакотерапевтичну дію досліджуваного препарату яка дещо перевищує дію його аналога – "Проктозана".

### **5.3. Визначення гострої токсичності супозиторіїв "Проктопантезин"**

Гостру токсичність супозиторіїв "Проктопантезин", вивчали при ректальному введенні на білих безпородних щурах обох статей масою  $180 \pm 20$  г. Супозиторії в рівномірно зростаючих дозах діючих речовин: 1500, 2500 і 3500 мг/кг,

вводили групам тварин дробово 6-14 порціями протягом дня з інтервалом в 45 хв. Після введення супозиторіїв в анус вставляли скляну пробку для запобігання витікання з прямої кишки розрідженої супозиторної маси [58, 63, 71, 126].

Про ступінь токсичності препарату судили по зміні загального стану тварин: зовнішній вигляд, поведінкова реакція, вегетативна реакція, частота дихання, стан рефлекторної діяльності, споживання їжі, збільшення маси тіла. Нагляд за тваринами вели протягом 14 діб. Результати вивчення гострої токсичності супозиторіїв "Проктопантезин" представлені в таблиці 5.4.

Таблиця 5.4

**Результати дослідження гострої токсичності супозиторіїв  
"Проктопантезин" при ректальному введенні**

№ з/п	Доза діючих речовин, мг/кг	Число тварин в групі	Кількість загиблих тварин
1	1500	6	0
2	2500	6	0
3	3500	6	0

Результати проведеного експерименту показали, що при введенні препарату щурам у всіх досліджуваних дозах тварини залишилися живі, при цьому проявів токсичного ефекту не спостерігалось: тварини були жваві, мали нормальний апетит, шерсть була гладенькою, рефлекторна збудливість не була порушувалася.

Враховуючи труднощі при введенні великих доз препарату дослідження були зупинені на дозі 3500 мг/кг.

Отже,  $LD_{50}$  супозиторіїв "Проктопантезин" для щурів при ректальному введенні знаходиться за межами дози 3500 мг/кг діючих речовин. Оскільки, при ректальному шляху введення лікарські речовини всмоктуються з поверхні слизової оболонки прямої кишки і через нижні гемороїдальні вени потрапляють в системний кровообіг, такий шлях введення по швидкості всмоктування в кров прирівнюється до внутрішньочеревинного. Згідно класифікації К.К. Сидорова [116], досліджуваний препарат при ректальному введенні є відносно нешкідливим ( $LD_{50} > 3000$  мг/кг).

#### 5.4. Вивчення хронічної токсичності супозиторіїв "Проктопантезин"

Хронічну токсичність супозиторіїв "Проктопантезин" вивчали відповідно до методичних рекомендацій [17, 92, 111, 116] з метою оцінки ступеня ушкоджувальної дії препарату при його тривалому вживанні, а також для виявлення найчутливіших органів і систем.

Експеримент з оцінки резорбтивної дії і перевірки наявності проявів токсичності супозиторіїв "Проктопантезин" проводили на білих безпородних щурах, з урахуванням можливих статевих відмінностей реакції. До початку експерименту проводили рандомізовану вибірку експериментальних груп в популяції тварин та фіксували усереднені показники початкового стану їх організмів. Дослідження проводили на 52-х щурах: 26-ти самцях і 26-ти самках. Для експерименту сформували 8 груп: чотири (2 групи по 6 та 2 групи по 7 тварин) одержували досліджуваний препарат, а чотири аналогічні групи були контрольними. Тваринам експериментальних груп препарат вводили ректально один раз на добу в умовнотерапевтичній дозі. Тварини контрольних груп так само одержували супозиторії-плацебо. Тривалість досліджень токсичних ефектів лікарського препарату обумовлена вимогами Фармкомітету і термінами передбачуваного вживання в клініці (30 днів), та склала 1 і 4 місяці.

В процесі вивчення загальнотоксичної дії супозиторіїв на організм в хронічному експерименті оцінювали ступінь ушкоджувальної дії препарату на слизову прямої кишки при ректальному введенні, а також виявляли найчутливіші до препарату органи і системи.

Резорбтивну дію препарату оцінювали по зміні показників периферичної крові, функціонального стану печінки і нирок, коефіцієнтів маси внутрішніх органів, стану центральної нервової і серцево-судинної систем. Всі показники, що вивчалися, досліджували в динаміці: до початку експерименту, через 1 і 4 місяці від початку введення супозиторіїв "Проктопантезин".

Після закінчення періоду досліджень тварин декапітували, їх внутрішні органи (печінку, нирки, серце, легені, селезінку, надниркові, яєчка і, враховуючи специфіку препарату, ділянку прямої кишки) піддавали макроскопічному і

гістологічному дослідженню [25] зі звичайним способом забарвлення препаратів гематоксилін-єозином за методом Ван Гізона.

Весь фактичний матеріал оброблений методами варіаційної статистики [45].

Результати проведеного тестування, дозволили виявити тенденцію до зниження рухової активності у щурів-самців після 1-го місяця введення препарату, що не відбилося на сумарному показнику і не проявилось на більш пізньому терміні дослідження. У щурів-самок виявлена слабка седативна реакція, що проявилася в достовірному зменшенні орієнтовно-дослідницької активності після 4-го місяця експерименту і зниженні інтегрального показника рухової активності. Вказані відхилення свідчать про статеві відмінності в чутливості до тривалого введення препарату.

Для оцінки стану загальнотрофічних процесів в організмі тварин в динаміці досліджували такі інформативні показники, як приріст маси тіла і відносна маса внутрішніх органів [31]. Аналіз динаміки маси тіла протягом 1-го і 4-х місяців експерименту показав, що в експериментальних і контрольних групах маса тіла тварин достовірно збільшувалася в однакових пропорціях по відношенню до початкових даних, що вказує на відсутність токсичного впливу супозиторіїв "Проктопантезин" на трофічні процеси у вивченій дозі.

Дослідження вагових коефіцієнтів внутрішніх органів (печінки, надниркових залоз, селезінки) після тривалої резорбтивної дії супозиторіїв "Проктопантезин", показало, що їх відхилення знаходяться в діапазоні фізіологічних коливань цих показників.

Для оцінки можливого токсичного впливу супозиторіїв "Проктопантезин" на периферичну кров проводили повний клінічний аналіз крові, досліджуючи в динаміці такі гематологічні показники, як: лейкоцитарна формула, загальний гемоглобін, кількість лейкоцитів, еритроцитів [92].

Результати досліджень вказують на деякі статеві відмінності в чутливості до дії супозиторіїв. Після 4-х місяців вживання супозиторіїв "Проктопантезин" у самців відзначено достовірне підвищення рівня гемоглобіну, а на обох термі-

нах дослідження - кількісного вмісту еритроцитів. Вказані відхилення не носять патологічного характеру, оскільки не викликають напруги функції основного органу кровотворення - селезінки.

Як відомо, при ректальному шляху введення лікарські речовини, міняючи воротну вену печінки, потрапляють в системний кровообіг через нижні гемороїдальні вени, тому прямого гепатотропного впливу препарат не має. Але, враховуючи можливу загальнорезорбтивну дію ректальних супозиторіїв, доцільно вивчити реакцію печінки на тривале введення препарату.

Вивчення гепатотоксичності при тривалій ректальній дії супозиторіїв здійснювали з використанням поширеного в клінічній практиці набору функціональних тестів, що дозволяють судити про здатність печінки синтезувати білки, її активність у сфері синтезу чинників гемокоагуляції, а також окремих показників синтезу ферментів.

Для оцінки функціонального стану печінки застосовували комплекс білкових проб, що включає визначення загального білка сироватки біуретовим методом і білкових фракцій методом електрофоретичного розділення на плівках з ацетатцелюлози. Показники білкової фракції важливі для діагностики запального процесу печінки [31, 103, 109].

З метою поглибленої характеристики активності синтетичних процесів в печінці враховували час зсідання крові як інтегральний показник гемокоагуляції, вміст фібріногену і протромбіновий час. Здатність печінки синтезувати ферменти оцінювали за активністю аланін- і аспаратамінотрансферази, церулоплазміну [31, 56].

Для визначення стану монооксигеназної системи печінки використовували медикаментозний сон [92]. Зміна тривалості медикаментозного сну може вказувати на зміну активності мікосомальних оксигеназ [31]. Результати цієї проби в поєднанні з коефіцієнтом маси печінки свідчать про рівень детоксикувальної функції печінки [103].

Комплекс проведених досліджень показав у тварин обох статей в різні періоди експерименту зміни тривалості медикаментозного сну, які знаходяться



в межах динаміки показників в контрольних групах. Крім того, у самок відзначено достовірне зниження показника активності аспартатамінотрансферази через 1 місяць дослідження, а у самців рівня церулоплазміну через 4 місяці експерименту. Проте, дані зміни носять епізодичний характер і відображають варіабельність норми та не є результатом впливу препарату.

Аналіз показників білкового обміну експериментальних тварин свідчить про відсутність негативної дії супозиторіїв "Проктопантезин". Встановлене збільшення рівня  $\gamma$ -глобулінів на 1-й місяць дослідження у тварин обох статей, зумовлено біологічною активністю компонентів "Проктопантезину", таких як мірамістин і декспантенол, які є неспецифічними стимуляторами імунологічної реактивності.

Результати дослідження реакції вуглеводного і ліпідного обмінів на тривалі введення супозиторіїв "Проктопантезин" свідчать про відсутність токсичного впливу препарату у вивченій дозі.

Вивчення можливого гепатотоксичного ефекту нової лікарської форми, дозволило встановити, що супозиторії "Проктопантезин" при ректальному введенні не мають ушкоджувальної дії на печінку.

Для оцінки можливого несприятливого впливу супозиторіїв "Проктопантезин" на нирки була використана уніфікована методична схема, що передбачає визначення в динаміці відносної густини сечі, показників, що характеризують стан виділення солей (хлориди сироватки крові і сечі) та азоту (рівень сечовини і креатиніну в крові та сечі) [123]. Отримані результати показують, що зафіксовані в процесі 1-го і 4-х місяців дослідження окремі зміни функціонального стану нирок носять суто епізодичний характер і не можуть розглядатися як ознаки порушення функції нирок. Це твердження стосується зростання діурезу у щурів-самців при введенні супозиторіїв протягом 1-го місяця, і підвищення рівня вмісту креатиніну в сечі у самців на 4 місяці дослідження.

Вказані одиничні відхилення вкладаються в межі фізіологічної норми і не викликають напруги функції органів, що свідчить про відсутність токсичного впливу на функціональний стан нирок.

Функціональний стан серця і судин оцінювали за допомогою показників ЕКГ [122]. Електрокардіографічне дослідження було проведено на щурах після 1-го і 4-х місяців дії супозиторіїв. Як свідчать отримані дані, вживання препарату протягом 1-го місяця супроводжувалося у щурів-самок збільшенням частоти серцевих скорочень та у щурів обох статей – збільшенням викиду систоли. Після введення "Проктопантезину" протягом 4-х місяців у щурів-самок відзначено збільшення амплітуди зубця R. Вказані статистично значущі відхилення знаходяться в межах фізіологічних коливань і не є результатом токсичного впливу препарату на функціональний стан серцево-судинної системи, що підтверджують дані вагового коефіцієнта серця.

Таким чином, функціональні зміни в діяльності перерахованих органів при тривалому вживанні супозиторіїв "Проктопантезин" не носять системного характеру та компенсуються за рахунок адаптаційних можливостей органів зі збереженням їх функціональних резервів.

## ВИСНОВКИ

1. Дослідження на моделі карагенинового набряку у щурів дозволили встановити, що супозиторії "Проктопантезин" проявляють виражений антиексудативний ефект.
2. На моделі анестезії ока кроля доведено високу місцевоанестезуючу активність супозиторіїв "Проктопантезин".
3. Результати клінічних, гематологічних і макроскопічних досліджень, одержані при лікуванні фенолового проктиту у щурів супозиторіями "Проктопантезин", свідчать про виражену фармакотерапевтичну дію досліджуваного препарату яка дещо перевищує дію його аналога – "Проктозана".
4. Вивчення гострої токсичності супозиторіїв "Проктопантезин" показало, що досліджуваний препарат при ректальному введенні щурам належить до відносно нешкідливих ( $LD_{50} > 3000$  мг/кг).
5. Результати вивчення хронічної токсичності при ректальному введенні препарату щурам в умовнотерапевтичній дозі свідчать про відсутність будь-якого токсичного впливу супозиторіїв "Проктопантезин" на життєво важливі органи і системи піддослідних тварин.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Теоретично та експериментально обґрунтовано підхід до розробки лікарського препарату комбінованої дії в формі супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань.

2. На підставі біофармацевтичних, фізико-хімічних, мікробіологічних, технологічних та фармакологічних досліджень розроблено супозиторії комбінованої дії з декспантенолом, мірамістином, анестезином та троксерутином. Обґрунтовано склад супозиторної основи – сплав поліетиленоксидів зі співвідношенням ПЕО-400 до ПЕО-1500 як 5 до 95.

3. Дослідженнями осмотичної активності супозиторної основи, антимікробних властивостей препарату і біодоступності троксерутину обґрунтовано введення твіну-80 в кількості 3 % від маси супозиторія.

4. За результатами фармакологічних досліджень встановлено оптимальні концентрації декспантенолу, троксерутину та анестезину у складі супозиторіїв – 0,10 г, 0,04 г та 0,10 г відповідно.

5. Мікробіологічними дослідженнями встановлено ефективну концентрацію мірамістину в складі супозиторіїв – 0,006 г. Виявлено синергізм дії мірамістину з іншими діючими речовинами препарату.

6. На підставі проведених термогравіметричних та реологічних досліджень розроблено раціональну технологію виготовлення препарату, а саме - температура приготування основи, та передачі її по системі трубопроводів повинна бути 55-60 °С, процес розчинення діючих речовин в основі, гомогенізація та розлив супозиторіїв у форми повинен проводитися при температурі 50-55 °С.

7. Розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення компонентів препарату, експериментально доведено його стабільність впродовж 24 місяців зберігання. За результатами досліджень розроблено проект аналітичної нормативної документації, яка підготовлена до представлення в Державний фармакологічний центр МОЗ України.

8. Біологічними дослідженнями виявлено високу протизапальну, репаративну, місцевоанестезуючу та антибактеріальну активність супозиторіїв “Прокто-

пантезин”. При дослідженні гострої та хронічної токсичності доведено, що препарат є практично нетоксичним.

9. За результатами досліджень складений технологічний промисловий регламент на виробництво лікарського засобу “Проктопантезин” та проведено його апробацію в умовах ЗАТ «Лекхім-Харків».

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абрамзон А.А. Поверхностно-активные вещества. – Л.: Химия, 1981. – 304 с.
2. Автиндилов Г.Г. Введение в количественную патологическую морфологию. – М.: Медицина, 1980. – 216 с.
3. Антисептики у профілактиці і лікуванні інфекцій / За ред. Г.К. Палія. – К.: Здоров'я, 1997. – 201 с.
4. Антисептичні властивості супозиторіїв проктологічного призначення / О.С. Кухтенко, І.Л. Дикий, Н.І. Філімонова, О.Г. Гейдеріх, О.А. Рубан // Запорізький медичний журнал. – 2006. - №3. – С. 25-29.
5. Апоян К.А., Мелконян М.С. К методике изучения противовоспалительных средств местного действия // Экспериментальная и клиническая медицина. – 1986. – №5. – С. 32-36.
6. Аркуша А.А. Исследование структурно-механических свойств мазей с целью определения оптимума концентраций: Дис... канд. фармац. наук: 15.00.01. – Х., 1982. – 184 с.
7. Артюхов А.С. Современные проблемы медицинской и социальной реабилитации проктологических больных. – М., 1981. – С. 2–12.
8. Ашкурков М.Г. Диагностика и распространенность проктологических заболеваний // Доктор. – 1997. – № 1. – С. 64–67.
9. Баркаган З.С. Очерки антитромботической фармакопрофилактики и терапии. – М.: Ньюдимед, 2000. – 141 с.
10. Безуглая Е.П., Белов С.Г., Гунько В.Г. Теория и практика местного лечения гнойных ран / Под ред. Б.М. Даценко. – К: Здоров'я, 1995. – 384 с.
11. Безуглая Е.П., Фадейкина А.Г., Лысокобылка А.А. Исследование высвобождения некоторых лекарственных веществ из различных основ для мазей и суппозиториев // Фармаком. – 1999. – № 1. – С. 26-29.
12. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. – Москва, 1963. – С. 81-106.

13. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. – Л.: Химия, 1986. – 200 с.
14. Беспалько Н.Н., Горячий В.В., Чинченко Е.И. Методические аспекты преподавания общей хирургии, актуальные проблемы гнойной хирургии // К вопросу лечения гнойных ран.: Матер. респ. учеб.-метод. науч. конф. – Одесса, 1993. – С. 64-65.
15. Богачин О.Г., Светличная Н.В. Анализ рынка нестероидных противовоспалительных средств и анальгетиков – антипиретиков в Украине // Провизор. – 1999 – №5. – С.18-19.
16. Бриан Л.Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам. – М.: Медицина, 1984. – 340 с.
17. Буркацкая Е.Н., Бейер В.Ф. Методические рекомендации по использованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях. – Киев, 1980. – 47 с.
18. Вивчення впливу фармацевтичних факторів на вивільнення фенольного гідрофобного препарату прополісу із супозиторіїв / О.І. Тихонов, Т.Г. Ярних, В.К. Яковенко, Л.І. Вишневська // Вісник фармації. – 2004. – №2(38). – С. 33 – 36.
19. Вивчення реологічних властивостей супозиторіїв з амінокапроною кислотою / І.М. Довга, Н.Г. Козлова, О.Е. Замараєва, Я.Ю. Романова // Фармаком. – 2004. – №2. – С. 53-58.
20. Виробництво м'яких лікарських форм в Україні / М.О.Ляпунов, О.П. Безугла та ін. // Ліки України. – 1997. – №2. – С.22-25.
21. Влияние вспомогательных веществ на биодоступность лекарственных препаратов / А.И. Тенцова, Г.С. Тиколева, А.П. Гарбузова и др. // Состояние и перспективы разработки, производства и использования вспомогательных веществ для приготовления лекарственных средств: Тез. докл. – Х., 1982. – С. 31-33.
22. Влияние химической природы носителя на биологическую доступность мазей с веществами противомикробного спектра действия / В.Г. Гунько,

- И.М. Перцев, Б.М. Даценко, С.И. Белов // Фармац. журн. – 1991. – №3. – С.62-67.
23. Вовк Е.И. Рациональная фармакотерапия – фактор успешного лечения геморроя // РМЖ. – 2002. – Т.10, № 2. – С. 73-77.
24. Волков В.А. Лечение ран в акушерстве и гинекологии. – Вильнюс, 1996. – 150 с.
25. Волкова О.В., Елецкий Ю.К. Основы гистологии с гистологической техникой. – М, 1982. – 304с.
26. Вопросы и методы определения микробной загрязненности нестерильных лекарственных средств / Г.Я. Кивман, Ю.Ф. Крылов, К.А. Каграманова, Т.А. Шуб // Хим. - фармац. журн. – 1989. – Т.17, №4. – С. 477-486.
27. Генри М., Свош М. Колопроктология и тазовое дно. – М.: Медицина, 1988. – 117с.
28. Генык С.Н., Емельянов С.Ю. Проблемы лечения и профилактики острых венозных эмболических тромбозов // Хирургия. – 1996. – №2. – С. 138 – 140.
29. Георги Д. Арнаудов. Лекарственная терапия. – София, 1976. – 774 с.
30. Георгиевский П.В., Гризодуб А.И., Пиотровская А.Г. О применении тестов «Распадаемость» и «Растворимость» для контроля качества твердых дозированных лекарственных средств // Фармаком. – 1994. – № 5-6. – С. 28-42.
31. Гижларян М.С. Исследование функций печени методом «гексеналового сна» // Фармакология и токсикология. – 1976. – №3. – С.13-14.
32. Гинекология / Л.Н.Василевская, В.И.Грищенко, Н.В.Кобзева и др. – М.: Медицина, 1985. – 432 с.
33. Гладух Є.В., Тиманюк В.О. Термографічний аналіз таблеток альтану // Медична хімія. – 2003. – Т.5, №1. – С. 86 - 88.
34. Глузман М.Х, Башура Г.С., Цагарейшвили Г.В. Поверхностно-активные вещества и их применение в фармации. – Тбилиси: Мецниереба, 1972. – 202 с.



35. Головкин В.А., Пешехонова Л.Л., Лукаш Е.П. Лекарственные средства для ректального введения: Обзор литературы // Врачеб. дело. – 1983. – № 11. – С. 50–51.
36. Государственная Фармакопея СССР. Вып 1. Общие методы анализа. – 11-е изд. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
37. Государственный научный центр лекарственных средств (ГНЦЛС) Госкоммедбиопрот. Технология и стандартизация лекарств: Сб. науч. тр. – Х.: ООО «РИРЕГ», 1996. – 784 с.
38. Гребенев А.Л., Мягкова Л.П. Болезни кишечника (современные достижения в диагностике и терапии).– М.: Медицина, 1994. – 337 с.
39. Грецкий В.М., Тенцова А.И. Полимеры в фармации. – М., 1985. – 256 с.
40. Грицюк А.И. Клиническое применение гепарина. – К.: Здоровье, 1981. – 207 с.
41. Грошовый Т.А. Применение методов планирования эксперимента для оптимизации технологии лекарственных форм // Фармация. – 1986. – Т.3, № 6. – С. 48-53.
42. Грудько В.А., Загорій Г.В., Чуешов В.І. Розробка методики кількісного визначення троксерутину в мазі для лікування варикозної хвороби нижніх кінцівок // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики: Зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2004. – Вип.12, Т.3. – С.37-42.
43. Дацун И.Г., Мельман Е.Л. Роль гломусных шунтов аноректальных кавернозных телец в механизме развития геморроя // Архив патологии. – 1992. – Т. 54(8), – С. 28-31.
44. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр. – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – 556 с.
45. Державна Фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001. – Дополнения 1. – 2004. – 520 с.
46. Дмитриевский Д.И. Создание комбинированных лекарственных форм с заданными фармакотерапевтическими свойствами на основе

- водорастворимых полимеров: Автореф. дис. д-ра фармац. наук. – Харьков, 1985. – 34 с.
47. Дмитрієвський Д.І., Передерій Є.О., Малоштан Л.М. Розробка складу та дослідження вагінальних супозиторіїв з глюкорибіном // Вісник фармації. – 2005. – №3(43). – С. 24 - 27.
48. Допоміжні речовини та їх застосування в технології лікарських форм: Довідковий посібник / Ф. Жогло, В. Возняк, В. Попович, Я. Богдан. - Львів: Львівський держ. мед. ун-т, 1996. – 95 с.
49. Дроговоз С.М. Фармакология в схемах и таблицах: Учебное пособие. – Х., 2001. – 123 с.
50. Дроговоз С.М., Страшний В.В. Фармакологія на допомогу лікарю, провізору та студенту: Підручник-довідник. – Х., 2002. – 408 с.
51. Дроговоз С.М., Черпак Л.Н. Современные НПВС на фармацевтическом рынке Украины // Провизор. – 1998. – № 3. – С. 51.
52. Дульцев Ю.В. Лечение недостаточности анального сфинктера: Дис. д-ра. мед. наук. – М., 1981. – 321 с.
53. Ена Я.М., Виноградова Г.Н., Светальская Л.А. Определение содержания фибриногена в плазме крови // Лабораторное дело. – 1986. – №8. – С. 31 – 34.
54. Западнюк М.П., Западнюк В.И., Захария Е.А. Лабораторные животные. Использование в эксперименте. – Киев: Высш. шк., 1983. – 878 с.
55. Иванов В.И. Лекарственные средства в народной медицине. – М.: Воениздат, 1992. – 448 с.
56. Иммунологические методы / Под ред. Х. Фримеля. – М.: Медицина, 1987. – 472 с.
57. Исследования в области создания суппозиторных основ и новой номенклатуры суппозиториев разной направленности действия / Н.Г. Козлова, И.Н. Долгая, Е.Е. Замараева и др. // Фармаком. – 1994. – №1-3. – С. 15-21.

58. Ишимова О.Г. Тучные клетки соединительной ткани и базофилы крови в диагностике аллергии немедленного типа // Проблемы иммунологической реактивности и аллергии. – М.: Медицина, 1971. – С. 186.
59. К вопросу о стандартизации мягких лекарственных средств / Н.А. Ляпунов, Н.П. Хованская, Е.П. Безуглая, Н.В. Долейко // Фармаком. – 1999. – №2. – С. 36-41.
60. Капуллер Л.Л., Ривкин В.Л. Геморрой: патогенез, клиника, лечение. – М. Медицина, 1976. – 276 с.
61. Кивман Г.Я., Крылов Ю.Ф., Каграманова К.А. Вопросы и методы определения микробной загрязненности нестерильных лекарственных средств: Обзор // Хим.-фармац. журн. – 1983. – Т. 17, №6. – С. 477.
62. Кириенко А.И., Кошкин В.М. Консервативное лечение тромбоза поверхностных вен нижних конечностей // Терапевтический архив. – 1995. – Т. 67, №4. – С. 53-55.
63. Киркин Б.В., Румянцев В.Г., Дубинин А.В. Короткоцепочечные и омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты в лечении язвенных колитов // Горячие точки в гастроэнтерологии: Тр. 23 конф., Смоленск – М., 1995. – С. 111-115.
64. Кирюхин Ю.Н., Заславская Р.Г., Драник Л.И. Влияние натуральных и синтетических вспомогательных веществ на реологические свойства мазевых основ // Фармация. – 1984. – Т.33, №6. – С. 15-17.
65. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 366 с.
66. Компендиум – лекарственные препараты 2005 / Под. ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: Морион, 2005. – 1920 с.
67. Константинова Г.Д., Зубарев А.Д., Градусов Е.Г. Флебология. – М.: Изд. дом Видар. – М., 2000. – 154 с.
68. Коплатадзе А.М., Бондарев Ю.А., Комолое М.А. Хирургические методы лечения больных острым тромбозом геморроидальных узлов // Вести хирургии. – 1989. – Т 11, – С. 140 - 143 с.

69. Кост Е.А. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования. – Москва, 1975. – 436 с.
70. Крылов Ю.Д., Кивман Г.Л. Биологический контроль безопасности лекарственных средств. – М.: Медицина, 1985. – 144 с.
71. Кудряшов Б.А. Биологические проблемы регуляции жидкого состояния крови в клинической практике. – Л.: Медгиз, 1963. – 196 с.
72. Кухтенко А.С, Рубан Е.А. Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов для лечения проктологических заболеваний // Перспективи створення в Україні лікарських препаратів різної спрямованості дії.: Тез. доп. Всеукр. наук.-практ. семінару – Х.: НФаУ, 2004. – С.129-132.
73. Кухтенко О.С., Грудько В.О., Рубан О.А. Дослідження біодоступності троксерутину у складі супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань // Актуальні питання фармацевтичної та медичної практики: Зб. наук. ст. – Запоріжжя, 2006. – Вип. 12. – Т. 2. – С. 325 – 330.
74. Кухтенко О.С., Грудько В.О., Рубан О.А. Кінетика вивільнення троксерутину з супозиторіїв в залежності від емульгатора // Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: Тез. доп. 1-ї Міжнар. наук.-практ. конф. – Тернопіль, 2006. – С.59.
75. Кухтенко О.С., Деркач М.В., Степанчук Н.М. Розробка нового препарату для лікування геморою та його ускладнень // Молодь – медицині майбутнього: Тез. доп. міжнарод. наук. конф. - Одеса, 2005. – С.95.
76. Кухтенко О.С., Рубан О.А., Чуєшов В.І. Вивчення структурно-механічних властивостей супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: Тез. доп. міжнарод. конф. – Х.: НФаУ, 2005. – С.243-244.
77. Кухтенко О.С., Рубан О.А., Чуєшов В.І. Обґрунтування складу основи супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань // Вісник фармації. – 2005. – №3 (43). – С. 38-41.

78. Кухтенко О.С., Рубан О.А., Чуєшов В.І. Розробка технології отримання супозиторіїв «Проктопантезин» // Український вісник психоневрології. – 2006. – Т. 14, вип. 2 (47) – С. 71-73.
79. Кухтенко О.С., Рубан О.А., Шевченко І.М. Дослідження осмотичної активності супозиторних основ // Досягнення та перспективи розвитку фармацевтичної галузі України: Тез. доп. міжнар. конф. – Х.: НФаУ, 2005. – С. 244-245.
80. Кухтенко О.С., Ханін В.А., Грудько В.О. Розробка кількісного аналізу діючих речовин супозиторіїв “Проктопантезин” // Фармацевтичний журнал – 2006 – №6 – С. 65-68.
81. Лабораторные методы исследования в клинике: Справ. / В.В. Меншиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др.; Под ред. В.В. Меншикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 179 - 180.
82. Лепяхин В.К., Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С. Клиническая фармакология с международной номенклатурой лекарств. – М.: Изд. Университета Дружбы народов, 1988. – 444 с.
83. Лившиц М.Я., Брусина Е.Б. Госпитальные инфекции: проблема и пути решения // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1992. – № 1. – С. 22 - 24.
84. Листопад А.В. Современные антитромботические препараты на фармацевтическом рынке Украины // Провизор. – 1999. – №18. – С. 47 - 52.
85. Лікарські препарати України. 1999-2000 / Кол. авторів. – У трьох томах. – Том 1. – А-К. – Х.: Прапор, 1999. – 510 с.
86. Лоуренс Д.Р., Бенин П.Н. Клиническая фармакология: В 2-х т, Т.2. / Пер. с англ. – М.: Медицина, 1993. – 672 с.
87. Лысокобылка А.А., Безуглая Е.П., Ляпунов Н.А. Создание мягких лекарственных средств на различных основах. Сообщ. 3. Влияние воды и эмульгаторов на реологические свойства водорастворимых мазевых основ // Фармаком. – 2001. – № 4. – С. 1-7.

88. Маркіанова В.В., Донець Т.Ю., Кухтенко О.С. Вивчення реологічних властивостей супозиторіїв // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: Тез. доп. міжвуз. студ. наук. конф. – Х.: НФаУ, 2006. – С. 138.
89. Машкиллейсон А.Л., Кутин С.А., Абрамова Е.И. Кожные и венерические болезни. – М.: Медицина, 1986. – 387 с.
90. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Пособие по фармакотерапии для врачей: В 2-х т. – Вильнюс, 1994. – Т. 1. – 543 с.; Т. 2. – 527 с.
91. Машковский М.Д. Лекарственные средства: В 2-х т.- 13-е изд. – Х.: Торсинг, 1997. – Т.1. – 560 с.; Т.2. – 592с.
92. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран / Б.М. Даценко, Н.Ф. Калиниченко, В.К. Лепяхин и др. – М., 1989. – 45 с.
93. Методические рекомендации по экспериментальному (доклиническому) изучению нестероидных противовоспалительных веществ // ФК МЗ СССР. – М., 1983. – С.6 - 7.
94. Монахов К.Н., Панов А.В., Соколовский Е.В. Применение препаратов глюкокортикостероидных гормонов в дерматологии // Журнал дерматовенерологии и косметологии. – 1997. – № 1. – С. 63 - 68.
95. Муравьев И.А., Маринина Т.Ф., Савченко Л.Н. Влияние полиэтиленоксидных основ на высвобождение противовоспалительных, химиотерапевтических и гормональных препаратов из мягких лекарственных форм // Синтетические и биологические полимеры в фармации: Науч. тр. – М., 1990. – Т.28. – С.80 - 83.
96. Мусиенко Н.М. Разработка состава и технологии комбинированной мази и суппозиторий с противовоспалительными лекарственными средствами: Дис... канд. фармацевт. наук: 15.00.01. – Х., 1986. – 184 с.
97. Навашин С.М., Фоминс И.П. Рациональная антибиотикотерапия: Справ. – М.: Медицина, 1982. – 495 с.

98. Надлежащая производственная практика лекарственных средств / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского, Е.П. Безуглой. – К.: Морион, 1999. – 896 с.
99. Надлежащая производственная практика лекарственных средств. Активные фармацевтические ингредиенты. Готовые лекарственные средства. Руководство по качеству / Под ред. Н.А. Ляпунова, В.А. Загория, В.П. Георгиевского. – К.: Морион, 2001. – 472 с.
100. Особенности изучения безвредности мазей и суппозиториях / Я.И. Хаджай, Т.В. Оболенцева, А.В. Николаева и др. // Фармация. – 1993. – №1. – С. 22-26.
101. Особливості фармакокінетики і біологічна доступність мебетизолу і парацетамолу для ректальних лікарських форм / І.О. Пухальська, В.О. Головкин, В.О. Борищук та ін. // Фармац. журн. – 1993. – №5. – С.70 - 72.
102. Патент №75847, Україна, МПК (2006) А61К31/195, 9/02, 31/21, 31/5415 Фармацевтична композиція у вигляді супозиторіїв для лікування проктологічних захворювань / О.С. Кухтенко, О.А. Рубан, В.І. Чуєшов та ін., заявл. 04.01.2005, опубл. 15.05.2006. Бюл. №5.
103. Подымова С.Д. Современная лабораторная диагностика заболеваний печени // Клинич. медицина. – 1981. – Т.59. – №4. – С.104-109.
104. Практична колопроктологія / В. М. Масляк, М. П. Павловський, Ю.С. Лозинський, І. М. Варивода. – Львів: Світ, 1993. – 140 с.
105. Промислова технологія ліків / В.І. Чуєшов, М.Ю. Чернов, Л.М. Хохлова, Л.І. Богуславська та ін.: Підруч. У 2-х т., Т.2. – Х.: Основа; Видавництво УкрФА, 1999. – 704 с.
106. Работы ГНЦЛС по созданию, внедрению и стандартизации мягких лекарственных средств и суппозиториях / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая, Н.Г. Козлова и др. // Фармаком. – 1999. – №3/4. – С.61-64.
107. Рейзис А.В. Госпитальные инфекции в современной медицине. – М.: Медицина, 1993. – 288 с.
108. Ривкин В.Л., Капуллер Л.Л. Геморрой. – М.: Медицина, 1994. – 175 с.

109. Розанова В.Д. Детоксикация гексенала и индукция этого процесса у крыс, развивающихся при стрессовых воздействиях // Фармакология и токсикология. – 1982. – №4. – С.126 - 127.
110. Руководящие методические материалы по экспериментальному и клиническому изучению новых лекарственных средств / Ф.П. Тринус, В.М. Клебанов, Б.М. Кондратюк и др. – М., 1986. – Ч.6. – С. 51 - 66.
111. Рыболовлев Ю.П., Сидляров Д.П., Афонин Н.И. Токсикологические аспекты безопасности ГЛФ. – Москва, 1980. – С. 92.
112. Рыжих А.Н. Атлас операций на прямой и толстой кишках. – М.: Медицина, 1968. – С. 106 - 122.
113. Саркисов Д.С., Ремезов П.И. Воспроизведение болезней человека в эксперименте. – М.: Медицина, 1960. – 370с.
114. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной патологии. – М., 2000. – 133 с.
115. Сигидин Я.А., Шварц Г.Я. Лекарственная терапия воспалительного процесса. – М., 1988. – С. 199-203.
116. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47 - 57.
117. Создание мягких лекарственных средств на различных основах. Сообщ. 1. Исследование реологических свойств мазей на водорастворимых основах / Н.А. Ляпунов, Е.П. Безуглая, А.Г. Фадейкина, А.А. Лысокобылка // Фармаком. – 1999. – № 6. – С. 10 - 16.
118. Соллогуб Л.В., Шмулович В.Г. Влияние природы основы, вида упаковки и условий хранения на стабильность суппозиторий с эуфиллином // Науч. тр. ВНИИФ. – 1990. – Т.28. – С. 114 - 118.
119. Справочник ВИДАЛЬ. Лекарственные препараты в России: Справ. / Под ред. Н.Б.Николаева, Б.Р.Альперовича, В.Н.Созинова. – М.: АстраФармСервис, 1997. – 1504 с.



120. Структура дисперсных систем и свойства мягких лекарственных средств / Н.А. Ляпунов, В.П. Георгиевский, Е.П. Безуглая и др. // Наукові основи розробки лікарських препаратів: Матеріали наук. сесії Відділення хімії НАН України. – Харків: Основа, 1998. – С. 427 - 432.
121. Султанов Г.А. Острый парапроктит. – Баку, 1991. – 325 с.
122. Сумароков А.Б., Михайлов А.А. Клиническая электрокардиология. – М.: Медицина, 1975. – 224 с.
123. Тихонов В.Н. К оценке изменений массы внутренних органов животных в токсико-гигиенических исследованиях // Гигиена и санитария. – 1981. – №37. – С. 58 - 59.
124. Трахтенберг И.М., Тимофеевская Л.А., Квятковская И.Я. Методы изучения действия химических и биологических загрязнителей. – Рига: Зинатне, 1987. – 172 с.
125. Тринус Ф.П., Клебанов Б.М., Мохорт Н.А. Методы скрининга и фармакологическое изучение противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ: Методические рекомендации. – К., 1974. – 125 с.
126. Трубицкая Г.П. Конъюнктивальная проба в эксперименте на морских свинках. Актуальные вопросы аллергологии и иммунологии. – Ташкент, 1978. – С. 79 - 83.
127. Фармацевтические и биологические аспекты мазей / И.М. Перцев, А.М. Котенко, О.В. Чуешов, Е.Л. Халеева – Харьков: Издательство НФаУ, “Золотые страницы”, 2003. – 288 с.
128. Фармацевтические и медико-биологические аспекты лекарств: В 2-х т., Т.2. И.М. Перцев, И.А. Зупанец, Л.Д. Шевченко и др. / Под ред. И.М. Перцева, И.А. Зупанца. – Х.: Изд-во НФАУ, 1999. – 431 с.
129. Фарминдекс. Лекарственные препараты 1997: Справ. / Под ред. В.Н. Коваленко, А.П. Викторова. – К.: НЛП Морион, 1997. – 1030 с.
130. Федоров В. Д., Дульцев Ю. В. Проктология. – М.: Медицина, 1984. – 965 с.

131. Федоров В. Д., Левитан М. Х. Современные принципы диагностики заболеваний прямой кишки // Клинич. медицина. – 1980. – № 3. – С. 8 - 12.
132. Ферстрате М., Фермилен Ж. Тромбозы: Пер. с франц. – М.: Медицина, 1986. – 336 с.
133. Фесенко В.П., Кривошеин Ю.С., Могилястый А.А. Изучение иммуномодулирующих свойств мирамистина при местном лечении экспериментальных гнойных ран // Вестник научных исследований. – 1995. – №2. – С. 32 - 40.
134. Хаджай Я.И., Оболенцева Т.В., Николаева А.В. Особенности изучения безвредности мазей и суппозиториев // Фармация. – 1993. – № 1. – С. 22-26.
135. Хаджай Я.И., Щербакова Н.Д. К вопросу о методах изучения алергизирующего действия лекарственных форм // Фармакология и токсикология. – 1978. – №33. – С. 369 - 377.
136. Цибуляк В.Н., Цибуляк Г.Н. Травма, боль, анестезия. – М.: Медицина, 1994. – 224 с.
137. Чекман И.С. Биохимическая фармакодинамика. – Киев: Здоров'я, 1991. – 200 с.
138. Чиркин А.А., Окоров, А.Н., Гончарик И.И. Диагностический справочник терапевта. – Минск: Беларусь. – 1992. – 668с.
139. Шумская Н.И., Карамзина Н.Н. К оценке функционального состояния почек у крыс при отравлении промышленными веществами // Сб. Токсикология новых промышленных химических веществ. – Л.: Медицина, 1966. – Т.8. – С.14 - 27.
140. Экспериментальное исследование антибактериальных и фунгицидных препаратов: мази и аэрозоля мирамистина / Н.А. Ляпунов, В.В. Минухин, Е.П. Безуглая и др. – Х.: ХМИ, 1993. – 92 с.
141. Abcarion H., Alexander-Williams J., Chritiansen J. Benign anorectal disease definition characterition and analisis of treatment // Amer. Gastroenterol. – 1994. – Vol. 89, №8. – P. 182 - 190.

142. Agnelli G., Piovella F., Buoncristiani P. Enoxaparin plus compared with compression stocking alone in the prevention of venous thromboembolism after elective neurosurgery // *New Engl. J. Med.* – 1988. – Vol. 339, №5. – P. 80-85.
143. Antihæmorrhoidal therapy / S. Ardizzone, C.M. Petrillo, C.M. Antonacci, G. Bianchi Porro. // *Aliment Pharmacol Ther.* – 1996. – Vol. 10, №12. – P. 957-960.
144. Belcaro G., Nicolaides A., Stansby G. The venous clinic. – ICP. – 1998. – Vol. 6, №3. – 192 p.
145. Bergan J.J. Advances in evaluation and treatment of chronic venous insufficiency // *Angiology and Vascular Surgery.* – 1995. – Vol. 7 – № 3. – P. 59-80.
146. Bick R.L. Hematology: Clinical and Laboratory Practice.- St. Louis: Mosby, 1993. – P. 1603-1631.
147. Bigby M., Stern R. Cutaneous reactions to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. A review // *J. of the American Academy of Dermatology.* – 1985. – Vol. 12, №5. – P. 866-876.
148. Bjorck S., Dahlstrom A., Johansson L. Treatment of the mucosa with local anaesthetics in ulcerative colitis // *Agents Actions.* – 1992. – Vol. 2, №14. – P. 60-75.
149. Bleday R. Treatment of hæmorrhoids and coitis // *Dis. Colon. Rectum.* – 1992. – Vol. 35. №5. – P. 477-481.
150. Brody T., Larner J., Minneman K. Human Pharmacology. Molecular to Clinic. – Boston: Mosby, 1998. – 1001 p.
151. Brune K., Zauz R. In Pharmacology of inflammation. – Amsterdam, New York, Oxford: Mosby, 1985. – P. 413-419.
152. Callam M. J. Epidemiology of varicose veins // *Br. J. Surgery.* – 1994. – № 81. – P. 167-173.
153. Colit and hæmorrhoid / F. Casellas, E. Vaquero, J.R. Armengol, J.R. Malagelada // *Hepato-Gastroenterology.* – 1999. – Vol. 46, №28. – P. 2343-2346.
154. Connann M. Anus (S)- rectum surgery. USA, Philadelphia, Hæmorrhoids, 1994. P. 54-115.

155. Danillson A., Lofberg R., Person T. A steroid enema budesonide, lacking systemic effect for the treatment of distal ulcerative colitis or proctitis// Scand. J. Gastroenterology. – 1992. – Vol. 27, № 1.– P. 9-12.
156. European Pharmacopeia. – 4 ed. –Strasburg: Council of Europe, 2002. – 2416 p.
157. Faubion W.A. Jr., Loftus E.V. Jr., Harmsen W.S. The natural history of corticosteroid therapy for inflammatory bowel disease: a population-based study // Gastroenterology. – 2001. – Vol. 121, №6. – P. 255-260.
158. Frieri G., Pimpo M.T., Palumbo G.C. Practical proctology // Alimentary Pharmacology & Therapeutics – 1999. – Vol. 13, №11. – P. 1413-1417.
159. Garbassi F. NMR studies boost polymer insights // Polym. News. – 1993. – Vol. 2. №6. – P. 175-176.
160. Gionchetti P., Rizzello F., Venturi A. Comparison of oral with rectal mesalazine in the treatment of ulcerative proctitis // Dis Colon Rectum. – 1998. – Vol. 41, №9. – P. 93-97.
161. Graham N.B., Meneili M.E. Hidrogels for controlled drug deliverill bio-materials // Ind. J.Pharm. Sci. – 1984. – Vol.5, № 3. – P. 27-36.
162. Guy R.H., Hadgraft J. Prediction of drug disposition kinetiks in skin plasma following topical administration // J. Pharm. Sci. – 1984. – Vol. 73, №7. – P.883-887.
163. Hunt T., Gruning J. E. Public Relations Techniques. – New York. : Harcourt Brace-College Publishers, 1994. – 418 p.
164. Lane D.A., Bjork I., Lindahl U. Heparin and Related Polysaccharides. – New York: Plemim Press, 1992. – P. 199-204.
165. Mizuchima Y. Recent advances in non-steroid anti-inflammatory drugs // Drugs Exp. and Clin. Res.-1987. – Vol.13, №11. – P. 689-694.
166. Neiger A. Atlas of practical proctology. – Toronto: Harcourt Brace-College Publishers, 1990. – P. 29-74.
167. Orlay G. Office proctology. – Sydney: Australasian Medical Publishing Company, 1987 – P. 11-52.

168. Parente L., Mugridge K.G. Immunopharmacology of the Gastrointestinal System: The Handbook on Immunopharmacology. – London: Academic Press, 1993 – P. 169-184.
169. Robinson R.J., Iqbal S.J., Wolfe R. Proctology in practice // Alimentary Pharmacology & Therapeutics. – 1998. – Vol. 12, №3 – P. 213-217.
170. Sakagami M. Practical proctology // Clinical Pharmacokinetics. – 2004. – Vol. 43, №8. – P. 1254.
171. Spocner D.F. Microbiological criteria for non sterile pharmaceuticals // Manufact.Chemist. – 1985. – Vol.56, №5. – P.71-75.
172. The influence of therapy rectal diseases / L. Benda, H. Dittrich, P. Ferenzi, H. Frank, F. Wewalka // Wien Klin Wschr. - 1996. Vol. 3, №6. — P. 678-683.
173. The United States Pharmacopeia 23 d ed – US Pharmacopoeial Convention, Inc. – 1995. – 2391 p.
174. Thomson W.H.F. The nature of haemorrhoids // Br. J. Surg. – 1975. – Vol. 62, №7. – P. 542-552.
175. Treatment of hemorrhoids / J.P. Wright, T.A. Winter, S.Candy, I. Marks // Diseases and Sciences. – 1999. – Vol. 44, № 9. – P. 1899-1901.

## **ДОДАТКИ**