

## ТЕОРЕТИЧНЕ ОБГРУНТУВАННЯ УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ОЧНИХ КРАПЕЛЬ ПРОПОЛІСУ

Тихонов О.І.<sup>1</sup>, Ярних Т.Г.<sup>1</sup>, Шпичак О.С.<sup>2</sup>, Коношевич Л.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Національний фармацевтичний університет, м. Харків*

<sup>2</sup>*Інститут підвищення кваліфікації спеціалістів фармації*

*Національного фармацевтичного університету, м. Харків*

Дана робота присвячена теоретичному обґрунтуванню удосконалення складу та технології очних крапель прополісу для лікування комбінованих уражень органу зору травмо-токсико-хімічної етіології, що складає до 50 % від усіх захворювань на сьогоднішній день.

Наведено результати аналізу вивчення фармацевтичного ринку України офтальмологічних лікарських засобів, загальна кількість яких становить 227 торгових найменувань за анатомо-терапевтичною хімічною класифікацією. Встановлено, що найбільший сегмент належить протиглаукомним препаратам та міотичним засобам – група S01E (32 %). Друге місце посідають протимікробні лікарські засоби – група S01A (17 %), третє – інші лікарські засоби, які входять до групи S01X, доля яких становить 15 %.

Розгляд зареєстрованих препаратів за країною походження показав, що найбільшу кількість торгових назв офтальмологічних ліків вироблено в Україні (40 %), друге місце посідають ліки вироблені у Німеччині та у Бельгії (по 11%), третє – у Польщі (9 %). Серед 15-ти вітчизняних виробників найбільша кількість виробляється заводом «Фармак» (38 %), 21 % становлять препарати Дослідного заводу «ДНЦЛЗ», 8 % – Фармацевтичною фірмою «Дарниця», по 6 % – «Ніко», «ФЗ Біофарма» та «Стіролбіофарм». Інші 9 виробників, серед яких «Київський вітамінний завод», «Червона зірка», «Фітофарм», «Лубнифарм», «Тернофарм» та ін., сумарно займають частку 15 %.

Переважає більшість препаратів, які застосовуються в офтальмології, випускаються у вигляді очних крапель, частка яких становить 86 %. Крім того, у групі присутні очні мазі та гелі (сумарна доля 9 %), та інші лікарські форми, серед яких таблетки, порошки, емульсії та розчини для ін'єкцій.

Проведений аналіз також показав, що до складу препаратів, що застосовують в офтальмології входять 52 діючі речовини та комбіновані лікарські засоби, які становлять лише 17 % від загальної їх кількості.

Для детального аналізу обрано групи, які є найбільш подібними за дією до створюваних препаратів, що на момент дослідження становило 117 найменувань, де найбільшу частку серед цих ліків становлять препарати груп S01A «Протимікробні препарати» та S01X «Інші офтальмологічні засоби», які займають відповідно 27 і 41 % у продажах у грошовому вираженні, та відповідно 37 і 36 % у натуральному вираженні.

Проаналізувавши показання до застосування препаратів, які використовуються в офтальмології, з обраних нами груп, ми виділили ті з них, які мають такі ж самі показання до застосування, що і розроблювані нами очні краплі, а саме – травмо-токсико-хімічні ураження очей. Такий аналіз необхідний

для визначення цінових характеристик прямих конкурентів розроблюваного нами препарату. Усі препарати-конкуренти відносяться до групи S01X A – «Інші офтальмологічні засоби».

Обґрунтовано вибір методик, що використані для випробувань фізико-хімічних, мікробіологічних і фармакологічних досліджень, а також умови їх проведення та статистичну обробку результатів.

Наведено результати експериментальних досліджень з обґрунтування складу і технології виготовлення в аптечних та виробництва в промислових умовах очних крапель «Прополіс». Вибір діючих речовин у складі розроблюваного препарату проводили на підставі даних сучасних літературних джерел та організаційно-економічного обґрунтування удосконалення технології отримання водного витягу прополісу при порівнянні застосування двох способів. Один з них полягає у послідовній багаторазовій обробці прополісу-сирцю петролейним ефіром, хлороформом, абсолютним спиртом. Далі, спиртові витягнення упарюються у вакуумі, а одержаний залишок розчиняється у безводному ацетоні. Згодом додається вода очищена, водно-ацетонові розчини упарюються та багаторазово обробляються етилацетатом, зневоднюються, розводяться хлороформом і вже потім петролейним ефіром осаджується цільовий продукт. Цей спосіб захищений Авторським свідоцтвом Радянського Союзу № 484871.

Другий спосіб одержання біологічно-активних сполук водного витягу прополісу включає заморожування прополісу-сирцю, його подрібнення до порошкоподібного стану, обробка водою підвищеної температури, при одночасному підвищенні температури суміші з наступним охолодженням і фільтруванням. На даний спосіб нами було одержано Патент України № 112261.

Порівняння вартості допоміжних речовин, які застосовуються у процесі отримання біологічно-активних поліфенольних сполук зі 100 г прополісу двома способами, дало можливість обрати Спосіб 2 (з використанням зміни екстрагенту та температурних режимів). Це підтверджується собівартістю однієї одиниці кінцевої продукції, виготовленої з використанням субстанції, отриманої за Способом 2, яка склала лише 3,81 грн., а із застосуванням Способу 1 – 79,6 грн., або у майже 21 раз дорожче.

Проведено порівняльну характеристику показників якості порошку фенольного гідрофільного препарату прополісу (ФГПП) і готового розчину водного витягу прополісу, за результатами якого розроблено Специфікацію СПЦ-СР-95 «Водний витяг прополісу», версія 02, та апробовано і затверджено в умовах «Фармацевтичної компанії «Здоров'я», м. Харків.

Оптимальну концентрацію фенольних сполук у запропонованій лікарській формі визначали за фізико-хімічними властивостями розчинів водного витягу прополісу (рН, поверхневий натяг, показник заломлення, питома електропровідність, оптичну густину), результати яких в подальшому були застосовані для визначення критичної концентрації міцелоутворення (ККМ) досліджуваних водних розчинів.

За результати вимірювання поверхневого натягу встановлено, що комплекс фенольних сполук, які входять до складу водного витягу прополісу, мають високу адсорбційну здатність.

Вивчення залежності фізико-хімічних показників від концентрації водного витягу прополісу показало, що зі збільшенням концентрації суми фенольних сполук спостерігається прямо пропорційне збільшення питомої електропровідності, показника заломлення та рН розчинів, а значення поверхневого натягу істотно знижується. Одержані дані були застосовані для визначення критичної концентрації міцелоутворення (ККМ).

Наявність різких зламів на кривих  $n_D^{20} = f(-\lg w_{\text{ФСП}})$ ,  $\sigma = f(-\lg w_{\text{ФСП}})$  в інтервалі концентрацій від 0,45 до 0,55 % зв'язана із зміною стану компонентів системи. На підставі отриманих даних можна зробити висновок, що у розчинах прополісу відбувається процес міцелоутворення фенольних сполук в межах від 0,45 до 0,55 %.

Одержані експериментальні дані добре узгоджуються із фазовою теорією міцелоутворення, згідно із якою вважається, що при міцелоутворенні виникає нова фаза із граничною дисперсністю. ККМ водних розчинів прополісу була використана нами як гранична при розробці складу та технології очних крапель «Прополіс».

Для розробки складу очних крапель «Прополіс» було одержано водний розчин прополісу з оптимальними значеннями рН середовища від 3,5 до 5,0. Але цей розчин не був стійкий в процесі зберігання, у флаконах через 6 місяців з'являлась завись, появу якої можна пояснити тим, що можлива присутність у розчині гідрофобних сполук, які не розчинні у воді. Тому надалі для збільшення розчинності і забезпечення стабільності лікарської форми у вигляді очних крапель нами досліджувалась можливість використання неводних розчинників для стабілізації розчину.

Для вирішення вказаної проблеми було досліджено зразки розчинів очних крапель прополісу з додаванням поліетиленгліколю 400 (ПЕГ-400), як розчинника для гідрофобних сполук водного витягу прополісу та найбільш фізіологічно прийняттого розчинника для очей у концентрації від 2 до 6 %. В результаті досліджень було обрано концентрацію ПЕГ-400 на рівні 4 %, яка забезпечує стабільність розчину очних крапель прополісу на протязі 24 місяців.

Важливим показником оцінки комфортності очних крапель є показник «осмолярність». Однак, точний теоретичний розрахунок осмолярності розчинів, що містять речовини з великою молекулярною масою, комплексних сумарних екстрактів і висококонцентрованих розчинів, неможливий. Тому нами експериментально була визначена осмолярність водного розчину витягу прополісу за зниженням температури замерзання розчину (фармакопейний метод), яка становила 20,80 мосмоль/кг та перерахована осмолярність (19,86 мосмоль/л). На основі цих даних була встановлена необхідність введення до складу очних крапель 0,5 % натрію хлориду для підвищення осмолярності розчину до 286 мосмоль/л, тобто практично як осмолярність слізної рідини (300 мосмоль/кг), що є оптимальною.

За результатами проведеного експерименту було розроблено склад очних крапель «Прополіс», до якого входять: водний витяг прополісу, ПЕГ-400 і натрію хлорид.

При дослідженні хімічної сумісності розчину очних крапель з матеріалами мембранних фільтрів застосовували фільтруючі мембрани з розмірами пор 0,22, 0,45, мікрметрів (мкм), які були виготовлені з різних матеріалів – капрону, нейлону, та поліефірсульфону. Після фільтрації досліджуваній розчин аналізувався за такими показниками: прозорість, ступінь забарвлення, рН і кількісний вміст діючої речовини. Отримані дані дозволили зробити висновок про сумісність розчину очних крапель прополісу з матеріалами фільтрів із капрону, нейлону і поліефірсульфону. Крім того, матеріал цих типів фільтрів за робочим діапазоном рН відповідає досліджуваному розчину, витримує термічну стерилізацію і є добре сумісним з діючою речовиною.

Для вибору оптимальних параметрів процесу фільтрації проведена фільтрація розчину з використанням досліджуваних фільтруючих мембран з розмірами пор 0,45 мікрметрів (мкм) (попередня фільтрація) і 0,22 (мкм) (остаточна фільтрація). Результати досліджень свідчать про те, що процес фільтрації рекомендується проводити під тиском інертного газу азоту (0,06 міліпаскаль (МПа), що забезпечував оптимальну тривалість фільтрації та отримання якісного проміжного продукту, що відповідав вимогам на відсутність механічних включень і стерильності.

Також досліджувалися способи та режими стерилізації. Застосовувався фармакопейний режим (120 °С – 15 хв.), температурний режим – 100 °С – 30 хв. та стерилізаційна фільтрація, яка виявилася найбільш оптимальною.

На підставі проведених комплексних фізико-хімічних досліджень було розроблено технологічну схему виробництва очних крапель «Прополіс». Удосконалена технологія виробництва очних крапель «Прополіс» дозволяє отримати стандартизовану стерильну рідину полівалентної фармакологічної активності і стабільної в процесі зберігання при температурі  $25 \pm 2$  °С, яка відповідає вимогам ДФУ.

Доведено стабільність очних крапель «Прополіс» в процесі їх зберігання та використання, як у скляних флаконах із кришкою-крапельницею, так і у полімерних.

Результати випробувань вивчення світлостабільності очних крапель «Прополіс» свідчать про те, що під впливом світла у розчинах, які зберігались в первинному пакуванні, утворювалась завись без істотної зміни рН і кількісного вмісту діючих речовин. Однак, при зберіганні ЛЗ у торговій упаковці, якість препарату не змінювалась, що вказує на необхідність захисту ЛЗ від світла при зберіганні.

З метою встановлення ступеня стабільності якісного складу фенольних сполук водного витягу прополісу проводили їх кількісне визначення процесом сорбції алюмінію оксидом та контролем – методом хроматографії на папері.

Ідентифікацію фенольних сполук проводили також методом УФ-спектроскопії в межах від 220 нанометрів (нм) до 320 (нм). Встановлено

максимум при довжині хвилі ( $290 \pm 2$ ) нм, що свідчить про наявність фенольних сполук у досліджуваному препараті.

За результатами проведених фізико-хімічних досліджень розроблено проект МКЯ на очні краплі «Прополіс» (0,5 % розчин по 5 мл у скляних флаконах, упаковка разом з кришкою-крапельницею в пачці з картону), який впроваджено в умовах Дослідного заводу «ДНЦЛЗ».

Вивчення антибактеріальної активності досліджуваного препарату, очних крапель «Прополіс», проводили методом дифузії в агар на базі Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України під керівництвом завідувача лабораторії біохімії та біотехнології к.б.н., с.н.с. Тетяни Павлівни Осолодченко.

За результатами даного експерименту усі зразки проявляли антибактеріальні властивості відносно грампозитивних та грамнегативних мікроорганізмів та мікроорганізмів роду *Candida albicans*.

Фармакологічними дослідженнями очних крапель «Прополіс», які проводились на базі Центральної науково-дослідної лабораторії НФаУ, під керівництвом к. фарм. н., ст.н.с. Олени Юріївни Кошової, було встановлено специфічну активність та біологічну нешкідливість розроблених очних крапель.

На підставі проведених комплексних фізико-хімічних, мікробіологічних та фармакологічних досліджень теоретично обґрунтовано та удосконалено технологію одержання очних крапель «Прополіс» для лікування травмо-токсико-хімічних уражень органів зору та розроблено їх склад.

Результати технологічних та фізико-хімічних досліджень впроваджено в науково-дослідну роботу та навчальний процес споріднених вищих навчальних закладів України.