

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Кієнко Людмила Сергіївна

УДК 615.014.2:615.454.1:615.281.8:616.523

ДИСЕРТАЦІЯ

**Розробка складу та технології м'якої лікарської форми
протівірусної дії**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

Л. С. Кієнко

(підпис, ініціали та прізвище дисертанта)

Науковий керівник Гриценко Віта Іванівна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Харків – 2021

АНОТАЦІЯ

Кієнко Л. С. Розробка складу та технології м'якої лікарської форми противірусної дії. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація, промислова фармація. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2021.

У дисертаційній роботі запропоновано теоретичне та експериментальне обґрунтування складу, технології та методів контролю якості комбінованої м'якої лікарської форми противірусної дії.

На сьогодні лікування герпесвірусних захворювань є складним завданням для медицини та фармації. Хвороби, викликані вірусами герпесу, мають стійку тенденцію до поширення, що призводить до збільшення випадків інвалідизації та зростання смертності від даних захворювань.

Останнім часом зростає значення мікст-інфекцій, при яких збудники захворювання посилюють вплив один одного на організм хворого. При цьому спостерігається пригнічення реакцій клітинного імунітету, сенсibiliзація до вірусних антигенів, тривалий хронічний процес захворювання.

З огляду на етіологію і патогенез, для лікування хвороб, викликаних вірусами герпесу, доцільно застосовувати комбіновані лікарські засоби, які комплексно діють на різні ланки патологічного процесу та розширюють спектр фармакологічної дії препарату. Для терапії герпетичних уражень шкіри та слизових оболонок найбільш ефективним є застосування м'яких лікарських засобів.

Виходячи з вищенаведеного, створення комбінованого препарату у вигляді м'якої лікарської форми для лікування герпесвірусних хвороб є актуальним завданням і буде сприяти вирішенню проблеми імпортозаміщення.

У *першому розділі* досліджена проблематика існування герпесвірусних захворювань як медико-соціальної проблеми в Україні та у світі. Узагальнено дані інформаційних джерел щодо етіопатогенезу, клінічних проявів та принципів фармакотерапії захворювань, викликаних вірусом простого герпесу.

Обґрунтовано комплексне використання ацикловіру та мірамістину як активних фармацевтичних інгредієнтів при розробці комбінованого протівірусного лікарського засобу. Розглянуто біофармацевтичні аспекти створення м'якої лікарської форми протівірусної дії.

У *другому розділі* обґрунтовано загальну методологію розробки комбінованої м'якої лікарської форми для лікування захворювань, викликаних вірусами герпесу. Наведено характеристику діючих та допоміжних речовин, використаних при розробці лікарського препарату у формі мазі.

Представлено комплекс фізико-хімічних, біофармацевтичних, мікробіологічних, структурно-механічних та фармако-технологічних методів досліджень, що дозволили обрати оптимальний склад та раціональну технологію мазі.

У *третьому розділі* дисертаційної роботи розглянуто асортимент лікарських препаратів протигерпетичної дії на фармацевтичному ринку України. Проведені дослідження показали, що в структурі асортименту лікарських засобів для лікування герпесвірусних захворювань переважають таблетовані форми, які складають 70 %. Встановлено, що серед проаналізованих препаратів найбільш поширені однокомпонентні лікарські засоби, їх частка складає 94 %. Асортимент лікарських препаратів протигерпетичної дії у м'яких лікарських формах досить обмежений (8 %).

Тому розробка нової комбінованої м'якої лікарської форми для лікування захворювань, викликаних вірусами герпесу, та її впровадження у виробництво України є актуальним завданням.

За результатами вивчення розчинності активних фармацевтичних інгредієнтів встановлено, що мірамістин розчинний в гліцерині, пропіленгліколі,

етанолі 96 %, воді очищеній, ацикловір дуже мало розчинний в більшості досліджуваних розчинниках.

На підставі результатів проведених мікробіологічних досліджень обґрунтована концентрація мірамістину – 0,5 %. На основі проведених реологічних досліджень обрано мазеву основу – сплав олії вазелінової у концентрації 85,0 % та парафіну у концентрації 15,0 %. Реологічні дослідження показали, що консистентні властивості вищенаведеної основи є оптимальними, оскільки система легко піддається рушійній силі та має стабільний однорідний потік на всьому діапазоні швидкостей зсуву.

З метою підтвердження доцільності введення солубілізатора для покращення розчинності ацикловіру в мазевій основі були проведені мікроскопічні дослідження впливу солубілізаторів спирту цетостеарилового та гліцерил моностеарату на розчинність ацикловіру.

В результаті проведених досліджень встановлено, що введення спирту цетостеарилового значно впливає на розчинність ацикловіру (0,05-0,07 мкм). Додавання солубілізатора гліцерил моностеарата не покращує розчинності ацикловіру (розмір частинок 0,7-1,3 мкм). Тому для подальших досліджень обрано солубілізатор спирт цетостеариловий. Встановлено, що оптимальною є концентрація солубілізатора 3,0 %.

Проведені дослідження осмотичної активності м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином довели, що розроблений препарат володіє малою осмотичною активністю (15,0 % протягом 8 год експерименту).

З метою підтвердження впливу солубілізатора спирту цетостеарилового на вивільнення ацикловіру проведені біофармацевтичні дослідження. Результати експерименту показали, що вивільнення ацикловіру зі зразка мазі з вмістом спирту цетостеарилового відбувається більш повно та інтенсивно і становить 60,0 %.

На основі проведених фізико-хімічних, мікробіологічних, біофармацевтичних, структурно-механічних та фармако-технологічних методів досліджень експериментально обґрунтовано склад мазі противірусної дії, що

містить ацикловір, мірамістин, олію вазелінову, парафін, пропіленгліколь та спирт цетостеариловий, під умовною назвою «Ацимір».

Запропоновано технологію виготовлення мазі «Ацимір» та складено технологічну схему промислового виробництва.

Розроблено проект технологічного регламенту, який апробовано у промислових умовах ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я» (акт апробації від 16.02.2021 р.).

У *четвертому розділі* запропоновано методику одночасного кількісного визначення ацикловіру та мірамістину в складі розробленого лікарського засобу з використанням методу високоефективної рідинної хроматографії. Валідаційні дослідження підтверджують специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність) і правильність запропонованої методики, що дозволяє одночасно проводити кількісне визначення та ідентифікацію досліджуваних речовин.

Показано, що на хроматограмі випробовуваного розчину час утримування основних піків активних фармацевтичних інгредієнтів співпадає з часом їх утримування розчину порівняння. Вміст ацикловіру в 1 г препарату складає від 47,5 мг до 52,5 мг, вміст мірамістину – від 4,75 мг до 5,25 мг. Складена специфікація для контролю якості препарату «Ацимір», до складу якого входять ацикловір та мірамістин.

Встановлено режим зберігання мазі – при температурі не вище 25⁰С протягом 2 років.

Для підтвердження самоконсервуючої дії мірамістину проведені дослідження антимікробної дії м'якої лікарської форми у процесі зберігання, яка практично не змінює свої антимікробні властивості.

Розроблені аналітичні методики внесено до проекту методів контролю якості для комбінованого противірусного лікарського препарату у формі мазі. Встановлено, що розроблений препарат відповідає вимогам Державної Фармакопеї України.

У *п'ятому розділі* наведено результати вивчення антигерпетичної активності діючих субстанцій *in vitro* та антигерпетичної активності мазі *in vivo*. Проведено дослідження цитотоксичних та мінімально активних концентрацій

ацикловіру, мірамістину та їх сумішей. Результати дослідження протівірусної активності діючих речовин дозволяють стверджувати, що всі субстанції ефективно інгібують репродукцію вірусу простого герпесу II типу.

Одержані результати фармакологічних досліджень з вивчення мазі «Ацимір» підтверджують протигерпетичну дію розробленого препарату на моделі генітального герпесу у мурчаків, яка вища, ніж у препарату порівняння – крему «Зовіракс» (Глаксо Оперейшнс ЮК Лімітед, Велика Британія).

За результатами проведених досліджень отримано патент України на корисну модель № 134507 від 27.05.2019 р.

Результати дисертаційних досліджень упроваджено у навчальний процес закладів вищої освіти фармацевтичного (медичного) профілю України.

Ключові слова: ацикловір, мірамістин, м'яка лікарська форма, герпесвірусні захворювання, технологія, стабільність, протівірусна активність.

Список публікацій здобувача

Статті (Scopus/web of science)

1. Hrytsenko VI, Kienko LS, Bobrytska LA, Rybalko SL, Starosila DB. Study of anti-herpetic activity of a soft dosage form with acyclovir and miramistin. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12 (06). P. 397–404. (Особистий внесок – планування експерименту, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

Статті у фахових виданнях

2. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження активних фармацевтичних інгредієнтів у складі м'якої лікарської форми протівірусної дії. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2 (59). С. 27–31. (Особистий внесок – участь у плануванні та виконанні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Hrytsenko V. I., Kienko L. S., Bobrytska L. O. The study of the antimicrobial activity of a soft dosage form with the antiviral effect. *Clinical pharmacy*.

2019. Vol. 2 (23). P. 25–28. (Особистий внесок – участь у проведенні експерименту, обробці результатів та підготовці статті).

4. Lydmila Kienko, Vita Hrytsenko, Larysa Iakovlieva, Larysa Bobrytska. Marketing analysis of the assortment of drugs for the treatment of herpes viral diseases at the pharmaceutical market of Ukraine. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 3 (27). P. 70–76. (Особистий внесок – узагальнення та аналіз літературних джерел, підготовка статті).

5. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Назарова О. С. Розробка і валідація методики кількісного визначення ацикловіру та мірамістину у складі м'якої лікарської форми. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2020. № 4 (64). С. 10–17. (Особистий внесок – участь у проведенні експерименту, аналіз, узагальнення експериментальних даних, оформлення та підготовка статті до друку).

6. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Злагода В. С. Методологічні аспекти створення м'якої лікарської форми противірусної дії. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2021. № 1 (65). С. 21–26. (Особистий внесок – оформлення та підготовка статті до друку).

Патенти

7. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Шпичак О. С., Германюк Т. А., Назарова О. С. Фармацевтична композиція м'якої лікарської форми з противірусною дією : пат. 134507 України на корисну модель: МПК А61Р 31/04. № u 201811079 ; заявл. 09.11.18 ; опубл. 27.05.19, Бюл. № 10. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, обробка первинної інформації, розробка фармацевтичної композиції, систематизація отриманих результатів, формулювання винаходу, участь у підготовці матеріалів для оформлення патентної заявки).

Тези доповідей конференцій

8. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Перспективи створення лікарських препаратів для лікування вірусних захворювань. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів:*

матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль: ТДМУ, 2018. С. 197.

9. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. До питання створення м'яких лікарських засобів протівірусної дії. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція*: тези доповідей I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 77.

10. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження розчинності ацикловіру та мірамістину з метою створення комбінованого лікарського засобу протівірусної дії. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 178.

11. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Аналіз асортименту лікарських засобів для лікування герпесвірусних захворювань, представлених на фармацевтичному ринку України. *Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнародної наук.-практ. конф., присвяченої пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 93–94.

12. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження антимікробної активності фармацевтичної композиції з ацикловіром та мірамістином у вигляді м'якої лікарської форми протівірусної дії. *Мікробіологія, вірусологія та імунологія в сучасній клінічній і лабораторній медицині*: матеріали наук.-практ. дистанційної конф., присвяченої пам'яті відомого вченого-мікробіолога, д. мед. наук, проф. І. Л. Дикого, м. Харків, 19 берез. 2020 р. Х. : НФаУ, 2020. С. 28.

13. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження реологічних властивостей мазевих основ для вибору оптимального складу мазі протівірусної дії. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VIII наук.-практ. конф. з

міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 80.

14. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Розробка методик контролю якості мазі з ацикловіром та мірамістином. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 26 листоп. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 225–226.

15. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фармакологічне вивчення м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином для лікування герпесвірусних захворювань. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 83.

ANNOTATION

Kienko L. S. Development of composition and technology of the soft dosage form with the antiviral effect. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in specialty 226 – Pharmacy, industrial pharmacy. – National University of Pharmacy Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021.

In the dissertation work the theoretical and experimental substantiation of composition, technology and methods of quality control of the combined soft dosage form with the antiviral effect is offered.

In recent years the treatment of herpesviral diseases is a difficult task for medicine and pharmacy. Diseases caused by herpes viruses have a steady tendency to spread, leading to an increase in disability and an increase in mortality from these diseases.

Recently, the importance of mixed infections, in which pathogens increase each other influence on the patient's body. At the same time suppression of reactions of cellular immunity, sensitization to viral antigens, long chronic process of a disease is observed.

Given the etiology and pathogenesis, for the treatment of diseases caused by herpes viruses, it is advisable to use combination drugs that have a complex effect on various parts of the pathological process and expand the spectrum of pharmacological effect of the drug. Soft dosage forms are the most effective treatment for herpes lesions of the skin and mucous membranes.

Based on the above, the creation of the combined soft dosage form for the treatment of herpesviral diseases is an urgent task and will help solve the problem of import substitution.

In *the first section* it has been shown the existence of herpesviral diseases as a medical and social problem in Ukraine and in the world. The data of information sources on etiopathogenesis, clinical manifestations and principles of pharmacotherapy of diseases caused by herpes simplex virus are summarized.

The complex use of aciclovir and miramistin as an active pharmaceutical ingredients in the creating of the combined antiviral drug is substantiated. Biopharmaceutical aspects of creating the soft dosage form with the antiviral effect are considered.

In *the second section* the general methodology of creating the combined soft dosage form for the treatment of diseases caused by herpes viruses has been substantiated. The characteristics of active and auxiliary substances used in the creating of the drug in the form of ointment are given.

Complex of physicochemical, biopharmaceutical, microbiological, structural-mechanical and pharmaco-technological research methods, which allowed to choose the optimal composition and rational technology of the ointment is presented.

In *the third section* of the dissertation work the range of drugs with antiherpetic effect at the pharmaceutical market of Ukraine has been shown. Studies have been shown that the structure of the range of drugs for the treatment of herpesviral diseases is dominated by tablet forms, which account for 70 %. It was found that among the analyzed drugs the most common are mono-preparations, their share is 94 %. The range of antiherpetic drugs in the soft dosage forms is quite limited (8 %).

Therefore, the creating of the new combined soft dosage form for the treatment of diseases caused by herpes viruses and its introduction into the production of Ukraine is an urgent task.

According to the results of studying the solubility of active pharmaceutical ingredients, it was found that miramistin is soluble in glycerin, propylene glycol, ethanol 96 %, purified water, aciclovir is very insoluble in most of the studied solvents.

Based on the results of microbiological studies, the concentration of miramistin is 0,5 %. Based on the conducted rheological studies, the ointment base was selected – alloy of vaseline oil at a concentration of 85,0 % and paraffin at a concentration of

15,0 %. Rheological studies have been shown that the consistency properties of the above base are optimal because the system is easily propelled and has stable uniform flow over the entire range of shear rates.

In order to confirm the feasibility of introducing solubilizer to improve the solubility of aciclovir in the ointment base, microscopic studies the effect of solubilizers of cetostearyl alcohol and glyceryl monostearate on the solubility of aciclovir were performed.

As a result of the conducted researches it was established that introduction of cetostearyl alcohol significantly affects on the particle size of aciclovir (0,05-0,07 μm). The addition of solubilizer glyceryl monostearate doesn't improve the solubility of aciclovir (particle size 0,7-1,3 μm). Therefore, solubilizer cetostearyl alcohol was chosen for further research. It has been found that the optimal solubilizer concentration is 3,0 %.

Studies of the osmotic activity of the soft dosage form with aciclovir and miramistin showed that the developed drug has low osmotic activity (15,0 % during 8 hours of the experiment).

Biopharmaceutical studies were performed to confirm the effect of solubilizer cetostearyl alcohol on aciclovir release. The results of the experiment has been shown that the release of aciclovir from a sample of ointment containing cetostearyl alcohol is more complete and intense (60,0 %).

On the basis of physicochemical, microbiological, biopharmaceutical, structural-mechanical and pharmaco-technological research methods, the composition of antiviral ointment containing aciclovir, miramistin, vaseline oil, paraffin, propylene glycol and cetostearyl alcohol, «Acymir» under the conditional name has been developed.

The technology of making ointment «Acymir» is proposed and the technological scheme of industrial production is made.

A draft technological regulation has been developed, which has been tested in the industrial conditions of LLC «KEYS OF HEALTH» (approbation act from 16.02.2021).

In *the fourth section* proposes a method for the simultaneous quantification of aciclovir and miramistin in the developed drug using the method of high performance

liquid chromatography. Validation studies confirm the specificity, linearity, precision (convergence) and accuracy of the method proposed, which allows simultaneous quantification and identification of test substances.

It has been shown that on the chromatogram of the test solution retention time of the main peaks of the active pharmaceutical ingredients coincides with retention time of the reference solution. The content of aciclovir in 1 g of the drug is from 47,5 mg to 52,5 mg, the content of miramistin—from 4,75 mg to 5,25 mg. A specification for quality control of the drug «Acymir» has been developed, which includes aciclovir and miramistin.

The mode of storage of ointment have been defined – at temperature no higher than 25 °C within 2 years.

To confirm the self-preserving effect of miramistin of the antimicrobial action the soft dosage form during storage have been performed, which practically doesn't change its antimicrobial properties.

The developed analytical methods are included in the project of quality control methods for the combined antiviral drug in form of ointment. It has been found that developed drug meets the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

In *the fifth section* the results of the study of antiherpetic activity of active substances *in vitro* and antiherpetic activity of ointments *in vivo* are presented. A study of cytotoxic and minimally active concentrations of aciclovir, miramistin and their mixtures has been performed. The results of the study of the antiviral activity of active substances suggest that all substances effectively inhibit reproduction of herpes simplex virus type II.

The results of pharmacological studies of ointment «Acymir» confirm the antiherpetic effect of the developed drug on the model of genital herpes in guinea pigs, which is higher than the comparison drug – cream «Zovirax» (Glaxo Operations UK Limited, UK).

According to the results of the conducted research, Patent of Ukraine for utility model No.134507 dated 27.05.2019 was obtained.

The results of dissertation research have been introduced into the educational process of Ukrainian higher education institutions of pharmaceutical (medical) profile.

Key words: aciclovir, miramistin, soft dosage form, herpesviral diseases, technology, stability, antiviral activity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	17
ВСТУП	18
РОЗДІЛ 1 АКТУАЛЬНІСТЬ СТВОРЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ГЕРПЕСВІРУСНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ (огляд літератури)	24
1.1 Медико-соціальні аспекти герпесвірусних захворювань	24
1.2 Герпесвірусна хвороба: характеристика, етіопатогенез, клінічні прояви	25
1.3 Загальні принципи та особливості фармакотерапії герпесвірусних захворювань	33
1.4 Актуальність використання ацикловіру та мірамістину для лікування хвороб, викликаних вірусами герпесу	38
1.5 Біофармацевтичні аспекти створення м'якої лікарської форми для лікування герпесвірусних захворювань	41
Висновки до розділу 1	44
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ДОСЛІДЖЕНЬ. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ	46
2.1 Методологічні підходи до створення комбінованої м'якої лікарської форми противірусної дії	46
2.2 Об'єкти досліджень	48
2.3 Методи досліджень	52
Висновки до розділу 2	61
РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ З АЦИКЛОВІРОМ ТА МІРАМІСТИНОМ	63
3.1 Маркетингові дослідження ринку препаратів протигерпетичної дії	63
3.2 Визначення розчинності активних фармацевтичних інгредієнтів	68

	16
3.3 Вивчення структурно-механічних властивостей зразків мазевих основ	72
3.4 Визначення концентрації мірамістину у складі м'якої лікарської форми	78
3.5 Обґрунтування вибору солюбілізатора у складі мазі протівірусної дії	79
3.6 Вивчення осмотичної активності мазі з ацикловіром та мірамістином	86
3.7 Біофармацевтичні дослідження м'якої лікарської форми	89
3.8 Розробка технології мазі з ацикловіром та мірамістином	90
3.9 Дослідження мікробіологічної чистоти мазі «Ацимір»	95
Висновки до розділу 3	97
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА МЕТОДИК КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ТА ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ПРЕПАРАТУ	101
4.1 Забезпечення якості фармацевтичної розробки м'якої лікарської форми	101
4.2 Валідація методики кількісного визначення м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином	106
Висновки до розділу 4	116
РОЗДІЛ 5 УЗАГАЛЬНЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МАЗІ	118
5.1 Вивчення антигерпетичної активності діючих речовин	118
5.2 Вивчення антигерпетичної активності м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином <i>in vivo</i>	121
Висновки до розділу 5	122
ВИСНОВКИ	124
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	126
ДОДАТКИ	143

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;
ВПГ – вірус простого герпесу;
ГІ – герпесвірусна інфекція;
ГЛБ – гідрофільно-ліпофільний баланс;
ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота;
ДФУ – Державна Фармакопея України;
ІЛД – індекс лікувальної дії;
ЛЗ – лікарський засіб;
ЛП – лікарський препарат;
ЛФ – лікарська форма;
МС – механічна стабільність;
МКЯ – методики контролю якості;
МЛЗ – м'який лікарський засіб;
МЛФ – м'яка лікарська форма;
НТД – нормативно-технічна документація;
НФаУ – Національний фармацевтичний університет;
ПГ – пропіленгліколь;
СЗ – стандартний зразок;
СЦС – спирт цетостеариловий;
ТН – торгове найменування;
ЦПД – цитопатогенна дія;
СС₅₀ – цитотоксична концентрація;
ЕС₅₀ – ефективна концентрація

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Лікування захворювань, викликаних вірусами простого герпесу (ВПГ), є однією з актуальних проблем сучасної медицини і фармації. За результатами наукових досліджень 80-90 % населення земної кулі є серопозитивними на ВПГ.

Відомо, що герпесвірусні інфекції (ГІ) зазвичай супроводжуються приєднанням грибкової або бактеріальної інфекції. Саме тому серед шляхів розширення спектру фармакотерапевтичної дії препарату є застосування субстанцій, які проявляють протигрибкові та антибактеріальні властивості. Актуальними для створення протівірусних ліків є синтетичні субстанції, зокрема «золотий стандарт» лікування ГІ – ацикловір. Для розширення спектру фармакологічної дії нагальним є додавання речовини, що виявляє антимікробну дію, зокрема мірамістину. На фармацевтичному ринку України комбіновані лікарські засоби (ЛЗ) для фармакотерапії герпесвірусних захворювань майже відсутні, що зумовлює необхідність їх розроблення.

Найбільш прийнятними для лікування герпесу шкіри та слизових оболонок є м'які лікарські форми. Вони ефективно діють в осередку розвитку патологічного процесу, дуже популярні серед пацієнтів і лікарів.

Отже, враховуючи вищенаведене, актуальним завданням є створення нового ЛЗ комбінованої дії у вигляді м'якої лікарської форми (МЛФ) для лікування герпесвірусних інфекцій.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана відповідно до планів проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету (НФаУ) «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (№ державної реєстрації 0114U000945). Тему дисертаційної роботи затверджено на засіданні проблемної комісії «Фармація» НФаУ МОЗ України (протокол № 103 від 25.10.2017 р.), редакційну

зміну теми дисертаційної роботи затверджено на засіданні проблемної комісії «Фармація» НФаУ МОЗ України (протокол № 104 від 24.10.2018 р.).

Мета і завдання дослідження

Метою роботи є розробка складу, технології та методів контролю якості (МКЯ) м'якого лікарського засобу (МЛЗ) з ацикловіром та мірамістином для лікування захворювань, викликаних вірусом герпесу.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

- проаналізувати дані літератури з питань етіології, патогенезу та основних принципів лікування герпесвірусних захворювань;
- провести маркетингове дослідження фармацевтичного ринку України щодо забезпечення ЛЗ для лікування герпесвірусних захворювань;
- запропонувати методологічні підходи до розробки МЛФ для лікування герпесвірусних захворювань;
- обґрунтувати вибір активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) і допоміжних речовин для створення МЛФ;
- провести фізико-хімічні, мікробіологічні, структурно-механічні та фармако-технологічні дослідження МЛФ;
- розробити склад та технологію МЛФ з ацикловіром та мірамістином;
- узагальнити результати вивчення фармакологічної активності мазі;
- розробити специфічні методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин;
- дослідити вплив умов зберігання на стабільність розробленого ЛЗ;
- розробити проекти нормативних документів на запропонований лікарський препарат (ЛП) «Ацимір».

Об'єкти дослідження: ацикловір, мірамістин, допоміжні речовини, мазеві основи, мазь з ацикловіром та мірамістином.

Предмет дослідження: експериментальне обґрунтування складу, технології та показників якості нового ЛЗ у формі мазі із використанням органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, біофармацевтичних, мікробіологічних

та фармакологічних методів дослідження, а також розробка проектів нормативно-технічної документації (НТД).

Методи дослідження

Для вирішення поставлених у роботі завдань були використані наступні методи дослідження: органолептичні (зовнішній вигляд, колір, однорідність); фізико-хімічні (розчинність, визначення рН, реологічні параметри, осмотична активність, термо- і колоїдна стабільність, ідентифікація й кількісне визначення діючих речовин – методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ)); біофармацевтичні (вивільнення ацикловіру *in vitro*); мікробіологічні (дослідження антимікробної активності, вивчення мікробіологічної чистоти); фармакологічні (протівірусна активність). Статистичну обробку одержаних результатів досліджень проводили згідно з вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ).

Наукова новизна отриманих результатів

Уперше на підставі фізико-хімічних, біофармацевтичних, мікробіологічних та фармакологічних досліджень обґрунтовано склад та розроблено технологію ЛЗ для лікування герпесвірусних захворювань у формі мазі з ацикловіром і мірамістином. Запропоновано методики ідентифікації і кількісного визначення АФІ у складі препарату, які включено до проекту МКЯ. Встановлено основні показники якості розробленого препарату. Визначено оптимальні умови зберігання і термін придатності препарату. Доведено, що протівірусна активність МЛФ з ацикловіром та мірамістином вища, ніж засобу порівняння – крему «Зовіракс». Новизна досліджень підтверджена патентом України на корисну модель № 134507 «Фармацевтична композиція м'якої лікарської форми з протівірусною дією».

Практичне значення отриманих результатів

Розроблено новий комбінований ЛП під умовною назвою «Ацимір» у формі мазі. Технологію розробленого ЛЗ апробовано у промислових умовах на базі ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я» (акт від 16.02.2021 р.). Розроблено проекти МКЯ і технологічного регламенту на виробництво мазі під умовною назвою «Ацимір».

Фрагменти роботи упроваджено в освітньо-науковий процес: кафедри технології ліків НФаУ (акт впровадження від 02.03.2021 р.), кафедри фармації Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (акт впровадження від 06.04.2021 р.).

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійно завершеною науковою працею. Безпосередньо автором проведено інформаційний пошук та узагальнено дані літературних джерел із досліджуваної проблеми. На підставі теоретичних даних та експериментальних досліджень особисто автором розроблено склад, технологію та проект МКЯ мазі під умовною назвою «Ацимір».

Результати експериментальних досліджень та висновки статистично оброблено і систематизовано.

Персональний внесок дисертанта в усіх опублікованих працях зі співавторами (В. І. Гриценко, Л. О. Бобрицькою, С. Л. Рибалко, Д. Б. Старосилою, О. С. Назаровою, О. С. Шпичаком, Т. А. Германюк, Л. В. Яковлевою) вказано за текстом дисертації.

Співавторами наукових праць дисертанта захищено такі дисертації: Гриценко В. І. «Наукове обґрунтування складу та технології лікарських препаратів для лікування захворювань передміхурової залози», Харків, 2015 р.; Бобрицька Л. О. «Науково-практичне обґрунтування технології твердих лікарських форм антимікробної та противірусної дії», Харків, 2014 р.; Рибалко С. Л. «Динаміка утворення інтерферону та дія екзогенного і ендогенного інтерферону на респіраторну вірусну інфекцію», Одеса, 1972 р.; Старосила Д. Б. «Властивості нових сполук з рослинних флавоноїдів та механізми їх антивірусної дії», Київ, 2014 р.; Назарова О. С. «Обґрунтування і стандартизація складу та технології комбінованих препаратів на гелевій основі протизапальної та венотонічної дії», Харків, 2005 р.; Шпичак О. С. «Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу і розробка технології лікарських апіпрепаратів для застосування у спортивній медицині», Харків, 2016 р.; Германюк Т. А. «Хронические неинфекционные заболевания в популяции

Казахстана: преждевременная смертность, инвалидизирующие последствия, метаболические основы профилактики», Новосибирск, 2000 р.; Яковлева Л. В. «Пошук і вивчення нових нестероїдних протизапальних засобів – похідних дикарбонових кислот», Харків, 1992 р.

Визначення цілей, шляхів їх реалізації, обговорення результатів отриманих даних проведено разом із науковим керівником.

Апробація матеріалів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2018); I науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018); IV Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2019); науково-практичній дистанційній конференції, присвяченій пам'яті відомого вченого-мікробіолога, доктора медичних наук, професора І. Л. Дикого «Мікробіологія, вірусологія та імунологія в сучасній клінічній і лабораторній медицині» (Харків, 2020); Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова «Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці» (Харків, 2020); XII науково-практичній інтернет-конференції «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 2020); V Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2020); VIII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2020); I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 2021).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 156 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, 4 розділів експериментальної частини, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків. Обсяг основного тексту – 115 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 15 таблицями та 32 рисунками. Список використаних джерел містить 160 найменувань, з них 122 кирилицею та 38 латиницею.

РОЗДІЛ 1

АКТУАЛЬНІСТЬ СТВОРЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ГЕРПЕСВІРУСНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ (Огляд літератури)

1.1 Медико-соціальні аспекти герпесвірусних захворювань

ГП належать до найбільш поширених хвороб, викликаних вірусами, та є однією з провідних медико-соціальних «глобальних проблем» усіх країн світу [39].

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), близько 90 % населення планети інфіковані одним або декількома типами вірусу герпесу та тільки 10 % мають клінічні симптоми [71, 87]. Щорічно кількість хворих на герпес зростає, а смертність займає друге місце (15,8 %) після грипу (35,8 %); рецидиви герпесу спостерігаються у 20 % пацієнтів [79]. У 2018 році у Міннеаполісі на національній конференції з профілактики інфекцій, які передаються статевим шляхом, були опубліковані дані про те, що летальність при ГП у новонароджених становить 30 %. В країнах СНД кожного року кількість хворих на герпесвірусні хвороби досягає майже 20 мільйонів осіб на рік [96].

Встановлення кількості нових випадків захворювання на герпес в Україні залишається доволі складним завданням. Це пов'язано з відсутністю обов'язкової реєстрації пацієнтів. Згідно зі статистикою, кількість хворих на ГП в Україні становить 120-200 осіб на 10 тисяч населення. Найбільш поширені віруси I-го та II-типів [24].

Медико-соціальна загроза даного захворювання обумовлена декількома факторами. По-перше, ГП досить часто мають латентну клінічну картину. По-друге, завдяки імуносупресивній дії герпесвірусів, відбувається збій імунної системи організму, що може привести до різноманітних ускладнень та хронічного перебігу захворювання. По-третє, для ГП характерна довічна персистенція вірусу в клітинах «хазяїна».

Проблема герпесвірусних захворювань пов'язана також з частими рецидивами, що в цілому призводить до зниження якості життя пацієнтів та постійного дискомфорту (психологічні та емоційні реакції) [27, 81].

Таким чином, інфекції, спричинені вірусом герпесу, є важливою медико-соціальною проблемою у зв'язку з ростом захворюваності та смертності від даної патології пацієнтів різного віку.

1.2 Герпесвірусна хвороба: характеристика, етіопатогенез, клінічні прояви

Термін «герпес» має давньогрецьке походження та у перекладі означає «той, який стелеться, повзе». Так цю хворобу назвав 2400 років тому Гіппократ. Симптоми герпесу вперше описані римським лікарем Геродотом у V столітті до н.е. В 1736 році лікар короля Людовика XV Ж. Астрюк у книзі «*De morbis venereis*» описав генітальний герпес.

Вірусну природу герпесу на основі експериментальних досліджень довели у 1912 році німецькі вчені Грютер та Левенштейн. Вони змоделювали герпетичний кератит у кролів при нанесенні на рогівку ока вмісту пухирців, отриманого від хворого простим герпесом. Першу культуру ВПГ *in vitro* було отримано у 1920 році. Класифікацію герпесвірусів запропонував С. Andrews у 1954 році.

ВПГ належать до родини *Herpesviridae*. На сьогодні відкрито близько 100 представників сімейства вірусів герпесу, з яких 8 типів є патогенними для людини [53]. Залежно від типу клітин, залучених в інфекційний процес, характеру реплікації вірусів, структури їх генома, герпесвіруси ділять на три підродини: α , β і γ (табл. 1.1).

Згідно з сучасними уявленнями вірус герпесу має сферичну форму та складається з ікосаедричного капсиду, всередині якого знаходиться лінійна дволанцюгова дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК), зовнішньої ліпопротеїнової оболонки, білків. Крім того, віріон містить спермін, спермідин, ліпіди, ліпопротеїди, глікопротеїди. Віруси герпесу містять пептиди (антиапоптичні

білки), які здатні блокувати апоптоз клітин, та сприяють зберіганню інфікованих вірусом клітин і формуванню персистентної інфекції. Вірусна ДНК складається з 80 генів. Розмір вірусних частинок становить 120-200 нм [135].

Таблиця 1.1

Класифікація герпесвірусів та захворювання, які вони викликають

Підгрупа вірусів	Віруси сімейства Herpesviridae	Захворювання
α-герпесвіруси	Вірус простого герпесу-1	Офтальмогерпес, менінгіт, енцефаліт, мієліт, полінейропатії
	Вірус простого герпесу-2	Генітальний герпес, менінгоенцефаліт, герпес новонароджених
	Вірус Varicella zoster	Вітряна віспа, оперізуючий лишай
β-герпесвіруси	Цитомегаловірус	Первинна та вроджена цитомегаловірусна інфекція
	Герпесвірус 6 тип	Екзема, патологія сполучної тканини
	Герпесвірус 7 тип	Екзантема новонароджених, можлива причина синдрому хронічної втоми
γ-герпесвіруси	Вірус Епштейна-Барр	Інфекційний моноклеоз, лімфома Беркіта
	Герпесвірус 8 тип	Саркома Капоші

ВПГ інактивується при температурі 50-52°C через 30 хв, нестійкий до дії фізичних і хімічних чинників, а також ультрафіолетових, рентгенівських променів, органічних розчинників, детергентів та протеолітичних ферментів. При температурі від -20 до -70°C вірус може зберігатися десятиліттями [80, 149].

Інфікування вірусами герпесу відбувається різними шляхами: повітряно-крапельним, статевим, через предмети загального користування, гематогенним, під час пологів.

Проникнення ВПГ в середину здорової клітини відбувається шляхом взаємодії вірусної оболонки з мембранними рецепторами клітин, після чого нуклеокапсид транспортується через нуклеарні пори, де геном вірусу вивільняється і проникає в ядро клітини [2]. Саме тут і починається реплікація вірусу в результаті якої утворюється 70 білків, які є продуктами послідовної експресії трьох груп вірусних генів. Після прикріплення до зовнішньої мембрани клітини «хазяїна» вірус проникає в цитоплазму, де відбувається дезінтеграція вірусу та вивільнення нуклеїнової кислоти, що і приводить до руйнування ДНК клітини [127].

Наступним етапом репродукції збудника захворювання є синтез ДНК вірусу з утворенням нуклеокапсиду. Процес формування вірусу закінчується в результаті брунькування через модифіковані ділянки ядерної мембрани, коли нуклеокапсид покривається зовнішньою оболонкою – суперкапсидом [129].

Існує дві теорії пояснення механізмів персистенції ВПГ. Згідно статичної гіпотези вірус герпесу знаходиться в клітинах паравертебрального сенсорного ганглія в неактивному стані. Під впливом «пускового фактора» вірус активується і переміщується з ганглія по аксону периферичного нерва в епітеліальні клітини, де і реплікується. Доведено, що цьому сприяють сприйнятливість клітин і ослаблення імунологічного контролю. Динамічна гіпотеза передбачає постійну реплікацію і виділення вірусу герпесу з ганглія [130].

Здатність вірусу викликати захворювання та тяжкість перебігу патологічного процесу залежать від таких факторів: патогенність (можливість вірусу при сприятливих умовах викликати інфекційний процес); вірулентність

(ступінь патогенності при певному способі зараження); токсигенність (здатність продукувати речовини, що проявляють токсичну дію на організм); інвазивність (проникнення, розповсюдження та розмноження в організмі хворого); тропність вірусу (вибіркове ураження окремих органів та систем); спосіб проникнення в організм; характер взаємодії з імунною системою та з ЛП (ступінь чутливості до противірусних препаратів) [19].

Встановлено, що на реплікацію вірусу можуть впливати гени, які модифікують механізми захисту організму «господаря», гени, які впливають на розповсюдження вірусу по організму, токсичні вірусні білки та клітинні детермінанти вірулентності вірусів [131].

Можна відокремити такі чинники, що сприяють загостренню ГП: супутні захворювання, що супроводжуються пригніченням імунної системи (онкологічні захворювання, бактеріальні інфекції); переохолодження; менструації; прийом ЛП з імунодепресивною дією [136].

Як свідчать літературні джерела, провідну роль у виникненні патологічних змін при взаємодії вірусу герпесу з клітинами відіграють наступні фактори: особливість структури і швидкість репродукції вірусу, чутливість клітин до збудника захворювання тощо [137]. Патологічні зміни клітин зумовлені специфічними та неспецифічними процесами. До специфічних процесів взаємодії вірусу з клітинами відносять: резистентність клітин до вірусів, порушення функціональної активності клітин, вірусопатичну дію. Неспецифічні процеси обумовлені зміною проникності цитоплазматичної мембрани та вакуолізацією цитоплазми [140].

Відповідно до сучасної концепції існують механізми природного та адаптивного імунітету при герпесвірусних захворюваннях [142]. Серед факторів вродженої резистентності ключове значення належить інтерферонам. Інтерферони блокують розмноження вірусу в клітині, активують синтез білків з противірусною активністю (протеїнкіназа, 2.5-олігоаденілатсинтетаза), активують макрофаги, підвищують специфічну імунну відповідь. Також в захисних реакціях організму бере участь система комплементу [147]. Компоненти C1 і C4 системи

комплементу здатні зв'язуватись з поверхневими білками віріонів виступаючи в ролі опсонінів, які підсилюють фагоцитоз [158].

Природні антитіла (IgM, IgG) нейтралізують функціональну активність вірусів, знижуючи клінічні прояви захворювання. Вони активують систему комплементу і беруть участь в реакціях антитілозалежної клітинної цитотоксичності. Клітинну ланку вродженого противірусного імунітету становлять НК-клітини, моноцити, макрофаги, дендритні клітини, нейтрофіли [126, 148].

Результати досліджень останніх років довели існування на цих клітинах молекулярних структур для розпізнавання вірусів, які отримали назву «toll-like receptors». Взаємодія цих рецепторів з вірусом забезпечує формування сигналу, що запускає каскад реакцій спрямованих на блокування життєдіяльності патогена та визначає тип імунної відповіді. Встановлено, що активовані за допомогою «toll-like receptors» нейтрофіли здатні до фагоцитозу, внаслідок чого підвищується синтез протимікробних пептидів (дефензинів, кателіцидинів), які інактивують вірус герпесу [150].

Адаптивний специфічний противірусний імунітет здійснюється за допомогою гуморального і клітинного механізмів. Виділяють дві фази гуморальної імунної відповіді – індуктивну та продуктивну [159]. Індуктивна фаза характеризується появою В-лімфоцитів. В результаті продуктивної фази гуморальної імунної відповіді утворюються плазматичні клітини, які при отриманні специфічного стимулу від антигену і неспецифічного від Т-клітин починають продукувати антитіла з широким спектром противірусної активності [132].

Після аглютинації вірусних частинок антитіла викликають конформаційні зміни поверхневих білків віріона, перешкоджають їх взаємодії з клітинними рецепторами і блокують проникнення віріонів в клітину. Антитіла здатні проявляти свою дію шляхом імунного лізису інфікованих вірусом клітин у вигляді комплементзалежної та комплементнезалежної цитотоксичності [134].

ГП провокують серйозні ускладнення з боку різних органів та систем організму, здатні до реплікації в клітинах (лейкоцитах, моноцитах, фібробластах, епітеліальних і нервових клітинах). До найбільш розповсюджених ушкоджень відносять ураження шкіри (екзема), слизових оболонок (стоматит), статевих (генітальний герпес), внутрішніх органів (гепатит) та центральної нервової системи (енцефаліт, мієліт, енцефаломієліт).

Найбільш важкі форми захворювання розвиваються в новонароджених та в людей з імунодефіцитом. Вірус герпесу може викликати гостру, латентну і хронічну форми інфекції. Період прояву інфекції в середньому становить 5-10 днів. ГП сприяють розвитку онкологічних, судинних, гематологічних, аутоімунних, нервових захворювань [9].

Виділяють наступні стадії розвитку герпетичних висипань [37]:

- продромальна – триває до 6 годин. 40-60 % пацієнтів скаржаться на відчуття поколювання, свербіж, невелику хворобливість ділянки ураження;
- еритема – триває до 24 годин, супроводжується почервонінням ділянок шкіри;
- везикули – стадія може тривати декілька днів. На почервонілій шкірі з'являються дрібні пухирці із прозорим вмістом, через 24-72 години вміст пухирців каламутніє;
- ерозія – розрив везикули;
- твердий струп – уражена поверхня шкіри підсихає з утворенням кірочки;
- лущення кірочок.

Серед атипових проявів ураження шкіри при герпесі виділяють такі форми, як зостероформну, абортівну, геморагічну, геморагічно-некротичну, еритематозну, папульозну та набрякову. Зостероформний герпес характеризується локалізацією висипу вздовж стовбурів нервів, найчастіше в ділянці обличчя та нижніх кінцівок. При абортівній формі герпесу вхідними воротами є шкіра пальців рук та долоней. Захворювання супроводжується набряком, свербінням та гіперемією. Геморагічна форма характеризується наявністю пухирців, які мають

кров'янистий вміст, геморагічно-некротична – появою некрозів на місці висипу. При еритематозній, папульозній та набряковій формах везикули не утворюються, а з'являються гіперемія, дрібні папули, виникає набряк тканин [48].

Виділяють наступні клінічні форми ГІ [54]:

- герпетичні ураження шкіри (локалізовані і поширені);
- герпетичні ураження слизових оболонок порожнини рота;
- гострі респіраторні захворювання;
- генітальний герпес;
- герпетичні ураження очей (поверхневі і глибокі);
- енцефаліти і менінгоенцефаліти;
- вісцеральні форми герпетичної інфекції;
- герпес новонароджених;
- генералізований герпес;
- герпес у ВІЛ-інфікованих.

Локалізована ГІ зазвичай супроводжує інше захворювання, наприклад, пневмонію, менінгококову інфекцію. Вона розвивається в період основного захворювання або після одужання. Загальні симптоми відсутні або маскуються проявами основного захворювання. Герпетичний висип локалізується навколо рота, на крилах носа, губах. На місці висипу пацієнти відчують жар, печіння або свербіння. Поширене герпетичне ураження шкіри спостерігається на правій половині обличчя, а також на руках і тулубі [60].

Герпетичні ураження слизових оболонок порожнини рота проявляються у вигляді гострого герпетичного стоматиту або рецидивуючого афтозного стоматиту. Гострий стоматит характеризується симптомами загальної інтоксикації та супроводжується високою температурою, відмовою від їжі. При афтозному стоматиті загальний стан хворих стабільний [20, 44, 102].

Віруси герпесу можуть викликати запалення слизових оболонок верхніх відділів респіраторного тракту. Близько 7 % гострих респіраторних захворювань обумовлено ГІ. В 30 % хворих спостерігаються висипи на слизових оболонках щік, ясен [42, 45].

Для генітального герпесу характерні запальні процеси органів малого тазу, порушення репродуктивної функції, а також внутрішньоутробне інфікування плода. Виділяють первинний та рецидивуючий генітальний герпес [4, 95, 153]. Вірус спочатку розмножується в місці інюкуляції, а потім проникає в кров'яне русло і лімфатичну систему. В більшості випадків первинне інфікування геніталій протікає безсимптомно [61, 105].

Герпетичне ураження очей схильне до рецидивуючого перебігу. Офтальмогерпес іноді поєднується з ураженням трійчастого нерва [84].

Клінічними проявами герпетичного енцефаліту є швидке підвищення температури тіла, поява симптомів загальної інтоксикації, ускладнення з боку центральної нервової системи. Герпетичний серозний менінгіт розвивається у хворих на первинний генітальний герпес. Спостерігається підвищення температури тіла, головний біль, світлобоязнь [107].

Вісцеральні форми ГІ частіше проявляються у вигляді гострих пневмоній та гепатиту, ураження слизової оболонки стравоходу.

Герпес новонароджених виникає в результаті внутрішньоутробного інфікування переважно вірусом герпесу II типу. Захворювання протікає з ураженням шкіри, слизових оболонок порожнини рота, очей, центральної нервової системи, внутрішніх органів (печінки, легень), головного мозку (в 70 % випадків) [109].

Для генералізованої ГІ характерні розвиток герпетичного енцефаліту або менінгоенцефаліту, гепатиту, пневмонії тощо [118].

Герпес у ВІЛ-інфікованих розвивається зазвичай в результаті активації наявної латентної ГІ та швидко набуває генералізованого характеру. Ознаками генералізації є поширення вірусу по слизовій оболонці з порожнини рота на слизову оболонку стравоходу, трахею, бронхи з подальшим розвитком герпетичної пневмонії [122].

1.3 Загальні принципи та особливості фармакотерапії герпесвірусних захворювань

На сьогодні сучасна медицина не має високоефективних методів лікування, що дозволяють елімінувати вірус герпесу з організму людини. Тому, головне завдання у терапії герпесвірусних хвороб – пригнічення репродукції вірусу, зменшення клінічних проявів, попередження рецидивів, формування імунітету, а також відновлення викликаних вірусом порушень в організмі [1, 78]. Успіх лікування залежить від форми перебігу, тяжкості інфекційного процесу, локалізації уражень.

Фармакотерапія герпесвірусних захворювань повинна бути комплексною з урахуванням індивідуальних особливостей пацієнта, характеру патологічних змін, загального стану організму [3, 52].

Створення противірусних засобів є досить складним завданням. Це пов'язано з тим, що ДНК- і РНК-віруси – облігатні внутрішньоклітинні паразити. В процесі розмноження віруси використовують апарат біосинтезу клітин макроорганізма, таким чином його модифікуючи. У зв'язку з цим перед науковцями головним завданням є створення ЛЗ селективної дії, які чинили б вплив на віруси, не пошкоджуючи клітини «хазяїна» [7].

При дії вірусів на організм розвиваються імунологічні реакції двох типів: спрямовані проти віріонів та на інфіковані вірусом клітини. Розвиток герпетичного ураження залежить не лише від реплікації вірусу, а й від імунної відповіді та вторинного бактеріального інфікування, тому для ефективного лікування герпесвірусних хвороб потрібно впливати на всі ці ланки патогенезу [50, 83].

Основними мішенями для протигерпетичних ЛЗ є: депротейнізація, посттранскрипційна модифікація вірусної м-РНК, адсорбція та penetрація, транскрипція, синтез білків та процесінг, реплікація вірусної ДНК тощо. Також перспективними мішенями вважаються вірусні протеїнінази, протеїни, протеази та вірусна ДНК-полімераза [123].

Противірусні препарати для ефективної терапії повинні: мати високу біодоступність, не бути токсичними, не впливати на здорові клітини організму [139].

За характером дії препарати, які застосовують для лікування та профілактики вірусних захворювань, поділяють на три групи [36, 119]:

- 1) етіотропні препарати (діють на репродукцію віруса):
 - інгібітори проникнення вірусів до клітини: амантадин, ремантадин;
 - інгібітори інтегрази: ральтегравір;
 - інгібітори рибонуклеїнової кислоти: рибавірин;
 - інгібітори реплікації нуклеїнової кислоти: ацикловір, валацикловір, фамцикловір, ганцикловір, пенцикловір, фоскарнет, відарабін;
 - інгібітори зворотної транскрипції: зидовудин, невірапін, ламівудин, адефовір, абакавір, тельбівудин;
 - інгібітори протеаз: саквінавір, індінавір, рітонавір, атазанавір;
- 2) імуномодуючі препарати (стимулюють імунну систему):
 - ендогенні імуномодулятори (інтерферони, інтерлейкіни);
 - екзогенні імуномодулятори синтетичного походження (поліфосфати, левамізол);
 - екзогенні інгібітори природного походження (бактеріальні вакцини);
- 3) віруліцидні препарати, які інактивують позаклітинні віріони: бонафтон, оксолін, ріодаксол, теброфен, флореналь.

Також використовують патогенетичні препарати (при алергічних реакціях, можливих бактеріальних ускладненнях) та симптоматичні препарати (застосовують при певних симптомах) [51].

Хворі, які страждають на герпесвірусні захворювання, звертаються за допомогою до лікарів різних спеціальностей: терапевтів, дерматовенерологів, стоматологів, інфекціоністів та ін. Це зумовлює відмінності в методологічних підходах фармакотерапії таких пацієнтів [18].

Існує три напрямки в лікуванні та профілактиці ГП: хіміотерапія (використання противірусних препаратів), імунотерапія (специфічна та неспецифічна) та поєднання цих двох методів [11].

Хіміотерапія займає провідне місце при гострій ГП, а також при герпесі новонароджених. Механізм дії хіміопрепаратів пов'язаний з пригніченням синтезу вірусної ДНК та реплікації вірусів шляхом конкурентного інгібування вірусної ДНК-полімерази [128].

Специфічна імунотерапія полягає у застосуванні герпетичної вакцини. Лікувальний ефект вакцини ґрунтується на здатності підвищувати імунітет проти вірусів, відновлювати функціональну активність імунокомпетентних клітин [15, 69].

Неспецифічна імунотерапія включає використання імуноглобулінів, інтерферонів, індукторів інтерферонів та імуномодуляторів. Механізм дії імуноглобулінів полягає у нейтралізації герпетичних віріонів, а також у сприянні руйнування вірус-інфікованих клітин в реакціях антитілозалежної цитотоксичності. Препарати імуноглобулінів чинять десенсибілізуючу, імуномодулюючу та детоксикуючу дії [46, 86].

Інтерферони – цитокіни, які володіють противірусною, імуномодулюючою та протипухлинною активністю. Вони впливають на регуляцію росту клітин, диференціацію, апоптоз, беруть участь у формуванні імунної відповіді та антибактеріального захисту [55, 138].

Індуктори інтерферонів не мають антигенності, активні відносно широкого спектру ДНК- і РНК-вірусів. Імуномодулятори рекомендують призначати не раніше, ніж на 21-й день при гострому і 14-й день при рецидивуючому процесі захворювання, так як у інших фазах інфекційного процесу вплив імуномодуляторів на специфічну імунну відповідь значно менший [90, 152].

Сучасна схема комплексного лікування герпесвірусних хвороб – поєднане застосування ЛЗ з противірусною та імуномодулюючою активністю, що забезпечує пригнічення реплікації вірусу, формування імунної відповіді, реактивацію інфекційного процесу [65, 146].

Перевагами комплексної терапії пацієнтів, що страждають на ГІ є [16, 157]:

1. Комбіноване застосування противірусних та імунобіологічних засобів.
2. Скорочення тривалості лікування.
3. Більш швидке досягнення імунної відповіді.

На сьогодні вчені з різних країн світу проводять експериментальні дослідження з розробки ЛЗ противірусної дії. Досить новим напрямком є комп'ютерний дизайн молекул, здатних інактивувати вірусні рецептори. Перспективним є створення препаратів за допомогою антисмислових технологій. Антисмислові ЛЗ комплементарно взаємодіють з мРНК вірусу, що впливає на транскрипцію останнього. Перевагою даних ЛП є специфічність їх дії, оскільки вони взаємодіють лише з ділянками вірусної мРНК, не завдаючи шкоди клітинам макроорганізму [100].

Новими напрямками у лікуванні вірусних хвороб є створення антиадгезинів та противірусних рибозимів. Групою вчених (S. Jones, V. Cagno, C. Tarrarel, F. Stellacci) з Великої Британії та Швейцарії створено противірусний препарат на основі молекули цукру, який можна застосовувати у лікуванні герпесу, гострих респіраторних вірусних інфекціях, гепатиті С, вірусу імунодефіциту людини та вірусу Зіка.

В якості терапевтичного засобу доцільно застосовувати G2 пептид, який здатний виконувати роль молекули доставки, зменшувати цитотоксичність по відношенню до здорових клітин і проявляти противірусну дію. G2 пептид запобігає взаємодії вірусу з клітинами «хазяїна», а також пригнічує транспорт віріонів до клітини і утворення бляшок, індукованих вірусом герпесу [103].

У дослідженні, проведеному В. В. Махапан разом з колегами, доведено ефективність дії Zn^{2+} на вірус герпесу. Місцеве застосування 4 % $ZnSO_4$ має позитивний терапевтичний вплив на вірус (утворення кірочок через 1-3 дня, повне одужання спостерігається через 6-12 днів від початку лікування) [143].

Наукова робота N. Wagoner свідчить про створення онколітичного вірусу простого герпесу G47 Δ для лікування гепатоцелюлярної карциноми людини.

Вірус реплікується в клітинах пухлини, що спричиняє загибель 70 % онкоклітин [160].

Ісаков В. О. та ін. вивчали дію аутологічних IFN- α індукованих дендритних клітин, навантажених рекомбінантним антигеном вірусу герпесу, які вводили хворим підшкірно в комбінації з препаратом рекомбінантного інтерлейкіну-2 в якості ад'юванта. Результати проведених досліджень свідчать про зменшення кількості рецидивів за рахунок індукції антиген-специфічної клітинної імунної відповіді [58].

Останнім часом все рідше зустрічаються інфекції викликані лише одним типом вірусу. Найчастіше спостерігають мікст-інфекції (63,7 %), які супроводжуються різноманітними клінічними проявами та потребують особливих підходів до лікування таких пацієнтів.

Головними клінічними особливостями мікст-герпетичної інфекції є: тривале відчуття вираженої слабкості, хронічної втоми, пацієнтів турбують пітливість, головні болі, субфебрильна температура, порушення сну, зниження пам'яті, уваги. Серед етіологічних чинників інфекційного синдрому найбільш часто спостерігаються бактеріальні та вірусні коінфекції. При інфекційно-запальному процесі в переважній більшості випадків має місце ураження органів верхніх і нижніх дихальних шляхів та шкіри. Алергічні реакції виявляють у 35 % хворих на мікст-герпесвірусні інфекції, синдром дисбіотичних порушень – в 30 % випадків [88].

Моно-герпесвірусні інфекції зустрічаються у 36,6 % пацієнтів. В етіології моно-інфекції ВПГ 1 типу складає 19,3 %. У хворих на моно- або мікст-герпесвірусні інфекції спостерігають порушення імунної системи – імунодефіцити, в тому числі і системи інтерферонів. Аналіз наявних супутніх захворювань у пацієнтів, які страждають моно- і мікст-герпесвірусними інфекціями, дозволив виділити 5 основних синдромів, які зустрічаються найбільш часто. До них відносять: синдром хронічної втоми, інфекційний, алергічний, аутоімунний і дисбіотичний [113].

Синдром хронічної втоми має різноманітні клінічні прояви. У хворих спостерігають неврологічні порушення, мігрень, депресію, випадіння волосся та інше.

У структурі інфекційного синдрому серед етіологічних чинників найбільш часто спостерігають бактеріальні та вірусні коінфекції. Інфекційно-запальний процес в переважній більшості випадків призводить до ураження органів верхніх і нижніх дихальних шляхів (хронічний тонзиліт, фарингіт, бронхіт), шкіри (фурункульози) [121].

Серед пацієнтів, які страждають моно-герпесвірусними інфекціями, лідируюче положення займає алергічний синдром (55 %). У структурі алергічних захворювань переважають атопічний дерматит, хронічна кропив'янка, контактний дерматит.

При аналізі структури аутоімунного синдрому лідируюче положення займає аутоімунне ураження щитовидної залози – аутоімунний тиреоїдит.

Синдром дисбіотичних порушень включає в себе порушення мікробіому товстої кишки, який діагностується при моно- і мікст-герпесвірусних інфекціях в 26 % і 30 % випадків відповідно.

Широке розповсюдження ГІ диктує необхідність створення нових ЛЗ, застосування яких дозволить знизити клінічні прояви інфекції, блокувати реактивацію вірусу в осередках персистенції за рахунок формування тривалої імунної відповіді та запобігати утворенню інфекційного процесу.

1.4 Актуальність використання ацикловіру та мірамістину для лікування хвороб, викликаних вірусами герпесу

Враховуючи особливості патогенезу герпесу, найбільш доцільним для досягнення максимального терапевтичного ефекту є створення ЛЗ на основі субстанцій, що виявляють різну направленість дії. До таких АФІ у лікуванні герпесвірусних захворювань можна віднести ацикловір і мірамістин.

Ацикловір – синтетичний аналог пуринових нуклеозидів, «золотий стандарт» протигерпетичного лікування. Вперше ацикловір синтезований у 1977 році Нобелівським лауреатом Гертрудою Бел Еліон, а в 1981 році впроваджений в медичну практику фірмою «Burroughs Wellcome» під назвою «Zovirax» [22, 59].

Механізм дії ацикловіру ґрунтується на його взаємодії з вірусною тимідинкіназою та послідовним фосфорилуванням з утворенням моно-, ди- та трифосфату, який інгібує ДНК-полімеразу і зупиняє реплікацію вірусу. Після надходження до організму ацикловір розподіляється в тканинах і рідинах, наприклад, в нирках, легенях, м'язах, спинномозковій рідині, також проникає через плаценту в амніотичну рідину [67, 113].

Перевагами ацикловіру є висока вибірковість до вірусів герпесу, низька токсичність, відсутність тератогенного й мутагенного ефектів, відсутність впливу на мікрофлору кишечника, безпечність при тривалому застосуванні [114]. Застосування ацикловіру при герпесвірусних захворюваннях попереджає появу нових елементів висипу, прискорює утворення кірочок, послаблює больові відчуття [66, 72].

Дослідження по використанню ацикловіру проведені Ю. Р. Єленською з результатів яких встановлено, що місцева терапія герпетичного стоматиту з використанням пов'язок оброблених 5 % маззю з ацикловіром приводить до зменшення больового відчуття та покращує процес епітелізації на 5-й день [44]. Також проведена дослідницька робота (Жилякова Є. Т., Баскакова А. В., Новікова М. Ю.) по розробці складу та технології очних крапель на основі ацикловіру [48].

Також велику увагу приділяють удосконаленню аналітичних методів визначення і вивченню процесів біотрансформації ацикловіру. Кінетичні та мас-спектрометричні дослідження окислювальної трансформації ацикловіру відзначено у роботах Г. Ю. Чалого, В. П. Хейдорова, де показано ступінчастий характер окиснення ацикловіру гіпохлоритом в водному середовищі [117]. Пивоваром М. Л. та Жебентяєвим О. І. вивчено умови екстракції ацикловіру з біоматеріала органічними розчинниками [94].

Значення мікробної флори для організму людини відоме давно. Доведена її участь у формуванні імунного статусу, загальної неспецифічної резистентності, в процесах травлення. Встановлено, що до ГІ може приєднуватись вторинна бактеріальна або грибова інфекція. Активація бактеріальної флори при вірусних інфекціях досягає 40-50 %. Найбільш представлені комбінації стрептококової та лактобацилярної (35 %), кандидозної та стафілококової (30 %), протейно-стафілококової (20 %) та нейсеріально-стрептококової (10 %) мікрофлори.

З метою досягнення максимального терапевтичного ефекту в лікуванні герпесу поряд з противірусними засобами актуальним є використання антимікробних речовин.

Мірамістин відноситься до групи катіонних поверхнево-активних речовин. Володіє антимікробною дією по відношенню до грампозитивних (стафілококи, стрептококи) та грамнегативних (гонококи, сальмонели, хламідії, мікобактерії) бактерій, грибів (*Candida albicans*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichophyton rubrum*), вірусів, найпростіших (трихомонади) [42]. Мірамістин підвищує захисні реакції за рахунок активації фагоцитів, прискорює процеси регенерації та епітелізації, чинить протизапальну дію за рахунок активації фібринолізу в осередку запалення. Він не виявляє місцево-подразнювальної, мутагенної, канцерогенної, ембріотоксичної дій, не викликає алергії та має низьку токсичність, чинить імуноад'ювантну дію.

Механізм дії мірамістину пов'язаний з його впливом на мембрани клітин мікроорганізмів. Він гідрофобно взаємодіє з ліпідними мембранами мікроорганізмів, що приводить до руйнування мікробної оболонки. Молекула мірамістину занурюється в гідрофобну ділянку мембрани мікробної клітини, руйнує надмембранний шар, розрихлює мембрану та підвищує її проникність для речовин. Також молекула мірамістину може змінювати ферментативну активність мікробної клітини [4].

Таким чином, комбіноване використання декількох активних субстанцій в одній лікарській формі (ЛФ) дозволить комплексно впливати на різні ланки патогенезу хвороби і, тим самим, прискорювати процес одужання хворого.

1.5 Біофармацевтичні аспекти створення м'якої лікарської форми для лікування герпесвірусних захворювань

Для досягнення максимального ефекту фармакотерапії герпесвірусних захворювань важливе значення має вибір ЛФ та шляху її введення в організм пацієнта.

Найбільш зручними у лікуванні герпетичних уражень шкірита слизових оболонок є МЛФ. Вони мають низку переваг у порівнянні з іншими ЛФ: здатність забезпечувати тривалу концентрацію діючих речовин у місці нанесення препарату, простоту у застосуванні, можливість поєднання декількох діючих речовин різного фармакологічного спектру дії, забезпечення комплексного підходу до лікування [68].

Трансдермальний шлях уведення ЛЗ дозволяє знизити ефект пресистемного метаболізму в печінці, не залежить від часу приймання їжі, можливостей метаболічної інактивації. Надходження ЛП через шкіру виключає можливість передозування та частоту прояву побічних дій, що часто виникають при пероральному шляху введення [110].

МЛЗ є складними системами, що містять основу і активні компоненти. Одним із важливих питань при розробці МЛЗ є вибір оптимального носія. Правильно підібрана основа забезпечує відповідні параметри фармакодинаміки мазі: необхідну швидкість, повноту вивільнення лікарських речовин, стабільність при зберіганні ЛЗ [85, 92].

Вибір основи залежить від фізико-хімічних властивостей ЛЗ, що призначаються, і характеру дії мазей. Мазева основа впливає на біодоступність ЛЗ, терапевтичну дію, рівномірність розподілу АФІ, точність дозування тощо [5].

Якість мазевих основ оцінюється за багатьма показниками, зокрема вони повинні відповідати таким вимогам [6]:

- мати необхідні структурно-механічні властивості (в'язкість, пластичність);
- добре вивільняти лікарські речовини;

- володіти хімічною стійкістю (не змінюватися під дією світла, повітря, не реагувати з активними речовинами);
- бути біологічно не шкідливими, тобто не викликати сенсibilізууючої, алергізуючої дій;
- володіти антимікробною стабільністю.

Аналіз літературних джерел показав, що для створення МЛФ у дерматології найбільш часто використовують наступні компоненти мазевих основ (табл. 1.2).

Таблиця 1.2

Компоненти мазевих основ

Група речовин	Компоненти основи
Жири та жироподібні речовини	Ланолін, вазелін, білий м'який парафін, цетиловий спирт, ізопропілміристат, олія какао
Емульгатори	Цетиловий спирт, стеариновий спирт
Зволожувачі	Пропіленгліколь, гліцерин
Речовини, що посилюють penetрацію	Пропіленгліколь, саліцилова кислота
Консерванти	Феноксietанол, метилпарагідроксибензоат, пропілпарагідроксибензоат, ніпагін, ніпазол, хлоркрезол
Розчинники	Вода очищена, ізопропіловий спирт, гліцерин
Гелеутворювачі	Карбомери, похідні целюлози, проксаноли

За джерелом отримання компоненти мазевих основ класифікують на природні та синтетичні. За ступенем розчинності у воді розрізняють основи гідрофобні (вуглеводневі, силіконові, жири тваринного і рослинного походження), гідрофільні (гелі білків, карбополу, колагену, полісахаридів, макрогелів) та дифільні (емульсії типу о/в та в/о, силіконвмісні).

До складу маzewої основи вводять речовини, які не реагують з АФІ та сприяють легкому нанесенню мазі на шкіру та слизові оболонки. З цією метою використовують вазелін, ланолін, рослинні і мінеральні олії тощо. Синтетичні маzewі основи, на відміну від природних, перешкоджають випаровуванню вологи і добре емульгуються [49, 105].

У більшості мазей для лікування герпесвірусних захворювань маzewа основа гідрофобна. Такий тип основи має ряд переваг, зокрема, сталість фізико-хімічних властивостей, індиферентність по відношенню до діючих речовин, забезпечення зволоження слизових оболонок [56].

Одним із важливих факторів, що впливає на ефективність ЛП, є допоміжні речовини. На теперішній час у виробництві ЛЗ використовують більше 500 найменувань допоміжних речовин. За походженням їх поділяють на природні, синтетичні та напівсинтетичні. Міжнародні фармацевтичні організації (ICH, IPEC, FDA) запропонували здійснювати контроль якості допоміжних речовин згідно фармакопейних статей. У складі ЛП допоміжні речовини можуть складати більше 90 % і мають відповідати наступним вимогам [40, 106]:

- забезпечувати необхідну біологічну доступність АФІ;
- бути біосумісними з тканинами організму;
- забезпечувати структурно-механічні, фізико-хімічні та органолептичні властивості ЛФ;
- не сприяти мікробній контамінації ЛП;
- відповідати призначенню фармацевтичного препарату.

За характером використання у виробництві допоміжні речовини класифікують на речовини, що покращують властивості ЛЗ (стабілізатори, консерванти, коригенти, ароматизатори, пролонгатори, антиоксиданти); речовини, що регулюють консистенцію (емульгатори, гелеутворювачі); речовини, що оптимізують технологічні процеси (солубілізатори, склеювальні, розпушувальні, ковзні) [30, 41].

Вибір допоміжних речовин потрібно здійснювати з урахуванням їх впливу на стабільність та біофармацевтичні характеристики ЛЗ. Необхідно враховувати,

що вони при взаємодії з АФІ можуть змінювати хімічні та фізико-хімічні властивості фармацевтичного препарату. Використання у фармацевтичній технології допоміжних речовин дозволяє спростити технологію виробництва, покращити характеристики ЛП (стабільність, термін придатності). Вони не тільки обумовлюють технологічну якість ліків, але й виступають як носії та регулятори їх біологічної активності [17, 57].

На сьогодні при виробництві ліків більш широке застосування, порівняно з природними, знаходять синтетичні допоміжні речовини (70 %). Цьому сприяють їх доступність, стабільність, вища ефективність та можливість отримувати бажані властивості. До складу МЛФ вводять допоміжні речовини, які обумовлюють швидкість і повноту вивільнення АФІ, характер терапевтичної дії, тип дисперсної системи, консистенцію, структурно-механічні властивості. Допоміжні речовини утворюють разом з АФІ єдину фармацевтичну систему, забезпечують якісні та споживчі властивості, а також необхідну фармакотерапевтичну дію ЛЗ [40].

Виходячи з вищенаведеного, створення МЛФ – складний і багатостадійний процес, який повинен здійснюватись з урахуванням сучасних вимог до активних фармацевтичних та допоміжних речовин, технологічного процесу, обладнання та контролю якості, що надасть змогу забезпечити сучасних українських пацієнтів високоефективними, якісними та доступними ліками.

Висновки до розділу 1

1. На основі вивчення та аналізу літературних джерел визначено, що проблема розвитку герпесвірусних захворювань має тенденцію до зростання і набуває епідемічного характеру.

2. Проаналізовано та узагальнено дані наукових публікацій щодо класифікації герпесвірусів, етіології, патогенезу та клінічних проявів герпетичних захворювань.

3. Аналіз етіопатогенезу герпесвірусних хвороб дозволяє визначити основні напрями сучасної медикаментозної терапії: блокування реактивації вірусу

в осередках персистенції; прискорення часу епітелізації ерозій; формування тривалої імунної відповіді.

4. Наведено актуальність використання ацикловіру та мірамістину як АФІ у складі комбінованої МЛФ для лікування герпесвірусних захворювань.

5. За результатами аналізу літературних джерел обґрунтовано переваги використання МЛФ у місцевому лікуванні герпесвірусних захворювань.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Перспективи створення лікарських препаратів для лікування вірусних захворювань. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль: ТДМУ, 2018. С. 197.*

2. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. До питання створення м'яких лікарських засобів протівірусної дії. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 77.*

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ДОСЛІДЖЕНЬ. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ

2.1 Методологічні підходи до створення комбінованої м'якої лікарської форми противірусної дії

За даними ВООЗ, у світі спостерігається значне зростання захворювань викликаних вірусом герпесу. Відомо, що методи лікування герпесвірусних хвороб включають наступні підходи: терапію синтетичними препаратами, імунотерапію та комбінування цих двох методів. Враховуючи те, що основним у лікуванні вірусних захворювань є пригнічення реплікації вірусів та відновлення імунної відповіді, найбільш доцільним для досягнення максимального терапевтичного ефекту є створення препаратів з різною направленістю фармакологічної дії, зокрема комбінованих [38, 39, 47].

МЛФ найбільш зручні та прийнятні у застосуванні, оскільки забезпечують безпосередній вплив на збудників захворювання, зменшують симптоми хвороби (біль, запалення, набряк), мають низький ризик виникнення побічної дії в порівнянні з парентеральними та оральними ЛЗ [56]. У зв'язку з цим актуальним є розробка комбінованої МЛФ противірусної дії.

Мета фармацевтичної розробки – теоретично й експериментально обґрунтувати склад ЛЗ на підставі комплексу фізико-хімічних, мікробіологічних і фармако-технологічних досліджень.

Розробка ЛП повинна базуватись на декількох складових [21, 75]:

- ❖ на загальному методологічному підході до фармацевтичної розробки (Керівництво ICHQ8);
- ❖ на вимогах до якості препарату;
- ❖ на медико-біологічних вимогах до препарату;
- ❖ на принципах забезпечення якості.

Для створення якісного, безпечного та ефективного ЛЗ потрібно обґрунтувати етапи планування наукових досліджень щодо його розробки [77, 82, 101]. З цією метою складено схему методологічного підходу створення МЛФ противірусної дії, яка наведена на рис. 2.1.



Рис. 2.1 Алгоритм комплексного підходу до розробки МЛФ для лікування герпесвірусних хвороб

Перший етап досліджень – інформаційно-пошуковий. Цей етап включає визначення доцільності розробки ЛП в залежності від існуючої потреби, пошук літературних даних щодо етіології, патогенезу, клінічних проявів та методів лікування захворювань, викликаних вірусом герпесу. На основі отриманих результатів обирають АФІ, допоміжні речовини та основи.

Другий етап – дослідницький. Засоби для лікування герпесвірусних хвороб мають забезпечувати проходження діючих речовин через напівпроникну мембрану до клітини. З огляду на це необхідно провести дослідження з визначення розчинності АФІ в залежності від виду розчинника. За результатами

мікробіологічних досліджень обирають оптимальні концентрації діючих речовин. На цьому етапі також проводять структурно-механічні дослідження модельних зразків; вивчають термостабільність та колоїдну стійкість модельних композицій; досліджують осмотичну активність.

За результатами реологічних та термогравіметричних досліджень ЛЗ обґрунтовують схему технологічного процесу виготовлення засобу, підбирають оптимальне обладнання та встановлюють критичні параметри процесу, які необхідно контролювати (наприклад, температура плавлення основи, час розчинення та концентрація діючих і допоміжних речовин).

Третій етап досліджень – стандартизаційно-фармакологічний. Цей етап включає дослідження протівірусної активності розробленого препарату, встановлення терміну придатності у процесі зберігання, стандартизацію ЛЗ та валідацію МКЯ, а також затвердження аналітично-нормативної документації.

Таким чином, дотримання вищеперерахованих етапів наукових досліджень дозволить отримати сучасний ЛЗ протівірусної дії з добрими споживчими властивостями.

2.2 Об'єкти досліджень

Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів

Ацикловір (ДФУ 2.0, С. 75), $C_8H_{11}N_5O_3$, М.м. 225,21. Кристалічний порошок білого або майже білого кольору. Мало розчинний у воді Р, мало розчинний у етанолі (96 %). Розчиняється в розведених розчинах мінеральних кислот і гідроксидів лужних металів. Ацикловір містить не менше 98,5 % і не більше 101,0 % 2-аміно-9-[(2-гідроксіетокси)метил]-1,9-дегідро-6Н-пурин-6-ону, у перерахунку на безводну речовину. Згідно з вимогами ДФУ в субстанції ацикловіру проводять визначення основної ідентифікованої домішки – гуаніну, вміст якого не має перевищувати 1,0 %. Виробник – фірма «TEVA Pharmaceutical and Chemical (Hangzhou) Co., Ltd», Китай.

Мірамістин (Miramistin) (Бензилдиметил [3-(міристоіламіно)пропіл] амоній хлорид, $C_{26}H_{47}ClN_2O \cdot H_2O$, М.м. 457,14). Дрібнокристалічний порошок білого або кремового кольору, без запаху або зі слабким специфічним запахом. Легко (повільно) розчинний у воді Р, 96 % етанолі Р, хлороформі Р. Рн від 5,2 до 6,8 (1 г/л розчин субстанції). Втрата в масі під час висушування від 2,5 до 5,0 %, сульфатна зола не більше 0,1 %, важкі метали не більше 10 ppm. Масова доля води – 4-5 %. Супутні домішки – не більше 1 %. Виробник – фірма ТОВ «Інфамед», Росія.

Характеристика допоміжних речовин

Пропіленгліколь (CAS 57-55-6, *Propylenglycolum*, *Propylenglycol*) (ДФУ, 2-е вид., 2014 р., Т. 2, С. 563; USP 32-NF27, Р. 3432 (*PropyleneGlycol*); Ph. Eur. 9.5, Р. 3437 (*Propylenglycolum*)) – безбарвна, в'язка, прозора, гігроскопічна рідина. Пропіленгліколь добре змішується з водою, етанолом 96 % та з більшістю органічних розчинників. Має показник заломлення 1,431–1,433, густину – 1,0351,037 г/см³, температура кипіння не менше 95,0°C.

Гліцерин (CAS-No: 56-81-5, *Glycerolum*, *Glycerol*) (ДФУ, 2-е вид., 2014р., Т. 2, С. 162; USP 32–NF27, Р. 2513 (*Glycerin*); Ph. Eur. 9.5, Р. 2595 (*Glycerolum*)) – прозора, безбарвна (або майже безбарвна), в'язка та масляниста на дотик рідина із вираженими гігроскопічними властивостями. Гліцерин добре змішується з водою, етанолом 96 %, мало розчинний в ацетоні, практично нерозчинний в жирних та ефірних оліях. Температура кипіння 290°C; показник заломлення — 1,4740.

Етанол 96 % (CAS № 64-17-5, *Ethanolum 96 per centum*), *Ethanol 96 per centum*) (ДФУ, 2-е вид., 2014 р., Т. 2, С. 233; USP 32–NF27, Р. 1441 (*Alcohol*); Ph. Eur. 9.5, Р. 2417 (*Ethanolum 96 per centum*)) – прозора, безбарвна, летка, гігроскопічна, легкозаймиста рідина з характерним запахом. Етанол кипить при температурі близько 78°C. Добре змішується з водою та метиленхлоридом. Відносна густина від 0,805 до 0,812.

Вода очищена (*Aqua purificata*, *Water, Purified*) (ДФУ, 2-е вид., 2014 р., Т. 2, С. 129; USP 32–NF27, Р. 3872 (*Purified Water*); Ph. Eur. 9.5, Р. 5475 (*Aquapurificata*)) – прозора, безбарвна, без запаху та смаку рідина.

Кукурудзяна олія (ДФУ 1.2, с. 546-547) має приємні запах і смак. Колір – від світло-жовтого до червонувато-коричневого. Густина при 10°C 924 кг/м³, температура застигання від –10 до –15°C, показник заломлення (при 20°C) 1,471-1,473. Йодне число 117–123.

Макрогол 400 (CAS 25322-68-3, *Поліетиленоксид 400*, *Поліетиленгліколь 400*, *Macrogolum 400*) (ДФУ, 2-е вид., 2014 р., Т. 2, С. 424; *Ph. Eur. 9.5, P. 2950 (Macrogol 400)*) – прозора, в'язка, безбарвна або майже безбарвна, гігроскопічна рідина. Змішується з водою, дуже легко розчинний в етанолі 96 %, ацетоні та метиленхлориді, практично не розчинний у жирних оліях та мінеральних маслах.

Триетаноламін (CAS 102-71-6, *Triethanolamine*) (USP 32–NF27, P. 1374 (*Trolamine*); *Ph. Eur. 9.5, P. 3849 (Trolaminum)*) – прозора, в'язка, безбарвна або блідо-жовтого кольору гігроскопічна рідина, зі слабким запахом аміаку. Триетаноламін добре змішується з водою та етанолом 96 %, розчинний в метиленхлориді.

Вазелінова олія (CAS № 8012–95–1, *Paraffinum liquidum*, *Paraffin, Liquid*) (ДФУ, 2-е вид., 2014 р., Т. 2, С. 110; USP 32–NF27, P. 2984 (*Mineral Oil*); *Ph. Eur. 9.5, P. 5737 (Paraffinum liquidum)*) – безбарвна, прозора, масляниста рідина, що не флуоресцює у денному світлі. Вазелінова олія практично не розчинна у воді, мало розчинна в етанолі, добре змішується з рослинними оліями (крім касторової). Відносна густина становить від 0,875 до 0,890; в'язкість від 110 мПа·с до 230 мПа·с.

Емульгатор Т-2 (ТУ У 22942814.001-2001, *Emulgens T-2*) – тверда воскоподібна маса від світло-жовтого до світло-коричневого кольору, що плавиться при температурі 46-50°C. Суміш ефірів полігліцерину та вищих жирних кислот. Кислотне число не більше 8,0.

Вазелін (CAS 8009-03-8, *Vaselineum album*, *Paraffin, White Soft*) (ДФУ, 2-е вид., 2014 р., Т. 2, С. 109; USP 32–NF27, P. 3264 (*White Petrolatum*); *Ph. Eur. 9.5, P. 3270 (Vaselineum album)*) – напівпрозора, біла або майже білого кольору маса, м'яка на дотик, яка при денному світлі у розплавленому вигляді проявляє флуоресцентні властивості. Вазелін практично не розчинний у воді, етанолі та

гліцерині, мало розчинний у метиленхлориді, розчинний у хлороформі, ефірі та гексані.

Полісорбат 80 (CAS 9005-65-6, *Twın 80, Polysorbatum 80*) (USP 32–NF27, P. 1320 (*Polysorbate 80*); Ph. Eur. 9.5, P. 4591 (*Polysorbatum 80*)) – суміш продуктів неповного ацилювання сорбіту та його ангідридів жирними кислотами. Представляє собою маслянисту, в'язку, прозору або злегка опалесцюючу рідину жовтого чи коричнево-жовтого кольору. Гідрофільно-ліпофільний баланс (ГЛБ) дорівнює 15,5, густина складає 1,08 г/мл, рН 5 % водного розчину становить 6,1.

Гідроксиетилцелюлоза (ЄФ с. 2102-2103, монографія *Hydroxyethyl cellulose*) – жовто-білий, сіро-білий, білий порошок або гранули, розчинний у гарячій і холодній воді з утворенням колоїдного розчину, практично не розчинний в ацетоні, етанолі.

Емульгатор № 1 (ТФС 42-209-1043-99, *LanetteSX (Cognis)*) – суміш жирних високомолекулярних спиртів (цетилового і стеарилового) та натрієвих солей сульфатних етерів цих спиртів. За зовнішнім виглядом являє собою речовину у вигляді лусочок білого кольору зі слабким специфічним запахом. Практично не розчинний у воді, легко розчинний в жирах, розчинний в ефірі і хлороформі. $T_{пл}$ – 49-58°C, ефірне число – 3-15мг КОН / г; рН витяжки – 6,0-9,5.

Спирт цетостеариловий (ЕФ 2005, *Cetostearylalcohol*), (BP, USP NF, CAS №67762-27-0 і №8005-44-5) – це суміш твердих аліфатичних спиртів, в основному (90 %) стеарилового і цетилового спиртів. Спирт цетостеариловий (СЦС) має вигляд білої чи забарвленої у кремовий колір маси або майже білих пластівців чи гранул. Має слабкий характерний (солодкуватий) запах. При нагріванні плавиться і стає прозорою, безбарвною або забарвленою у блідожовтий колір рідиною. Розчинний в етанолі 96 %, етері та олії, практично не розчинний у воді.

Гліцерил моностеарат (*Glycerylmonostearate*), (BP, USP NF, Ph. Eur., CAS № 31566-31-1) – гранули білого кольору. Розчинний у хлороформі, мінеральній олії, практично не розчинний у воді. $T_{пл}$ – 55-60°C.

Карбопол 934 (*Carbopol 934*) (European Pharmacopoeia (Ph. Eur.)) – білий порошок. Значення рН 0,5 % водного розчину становить 2,7-3,5.

Проксанол 268 (ТУ У 6-00205601.087-96) – воскоподібна речовина або лусочки від білого до кремового кольору зі слабким характерним запахом. Синтетичний блоксополімер оксиду етилену та оксиду пропілену. Легко розчинний у воді, етанолі 96 %, хлороформі.

Парафін (ГОСТ 23683-89) – застосовують у фармацевтичній промисловості як структуроутворювач. Являє собою кристалічну масу білого кольору з температурою плавлення не нижче 54°C.

Ізопропілміристат (Isopropylis myristas) (Ph. Eur.), Isopropyl myristate (BP, USPNF), 1-Methylethyl tetradecanoate (CAS № 110–27–0) — суміш етерів пропан-2-олу та насичених жирних кислот. Прозора, безбарвна, майже без запаху рідина з низькою в'язкістю, застигає при 5°C, $T_{\text{кип}}=140,2^{\circ}\text{C}$, розчинний в ацетоні, хлороформі, етиловому спирті 95 %, етилацетаті, жирних спиртах, жирах, нелетких оліях, рідких вуглеводнях, практично не розчинний в гліцерині, гліколях, воді.

Aristoflex AVC (*Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer*) CAS: 91081-14-0 – являє собою нейтралізований зшитий сополімер акріламідопропілпропансульфонової кислоти та вінілпіролідона. Білий порошок, розчинний у воді. Значення рН 1,0 % водного розчину становить 4-6.

2.3 Методи досліджень

У процесі виконання роботи були використані сучасні фізико-хімічні, біофармацевтичні, мікробіологічні, структурно-механічні та фармако-технологічні методи досліджень, які дозволяють об'єктивно оцінювати АФІ, допоміжні речовини та готовий ЛЗ.

Органолептичні властивості (колір, ознаки фізичної нестабільності: агрегація часток, коагуляція, розшарування) експериментальних зразків досліджували згідно з вимогами, наведеними у ДФУ.

Визначення однорідності. Дослідження проводили згідно методики ДФУ вид. 2, Т. 1, п. 2.9.40 [32].

Визначення рН водних витяжок. Для цього 1,0 г МЛФ (точна наважка) кількісно переносили в мірну колбу на 100 мл, додавали 30 мл води, розчиняли і доводили об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. Одержаний розчин фільтрували і у фільтраті визначали реакцію середовища при кімнатній температурі за допомогою рН-метра.

Розмір частинок дисперсної фази (ДФУ 2.0, п. 2.9.37) проводили за допомогою електронного мікроскопа «Konus-Akademy», оснащеного відеокамерою ScopeTekDCM510. Отримання та обробку зображень проводили за допомогою програмного забезпечення ScopePhoto™ (version 3.0.12498).

Дослідження розчинності АФІ в різних розчинниках проводили за методикою, яка наведена в ДФУ 1.2 у розділах 1.4 та 5.11 [33].

Визначення колоїдної стабільності. Пробірки наповнювали на 2/3 об'єму (приблизно 9 г) досліджуваними зразками і зважували з точністю до 0,01 г. Потім пробірки поміщали у водяну баню при температурі (42-45)°C на 20 хв, після чого насухо витирали із зовнішнього боку і розміщували в гнізда центрифуги. Центрифугували протягом 5 хв зі швидкістю 3000 об/хв і 6000 об/хв. Зразок вважали стабільним, якщо після центрифугування в пробірках не спостерігали розшарування [70].

Визначення термостабільності. Для визначення брали 5-6 скляних пробірок діаметром 15 мм і висотою 150 мм. Пробірки наповнювали на 2/3 об'єму досліджуваних зразків і поміщали їх у термостат марки ТС-80М-2 із температурою 40-42°C на 24 години. Після цього візуально визначали стабільність. Емульсія вважається стабільною, якщо в жодній пробірці не спостерігали виділення водної фази, допускається виділення шару масляної фази не більше 0,5 см [70].

Визначення маси вмісту контейнера проводили згідно з вимогами ДФУ 1.1, п.2.9.28 [34].

Вивчення структурно-механічних (реологічних) властивостей (ДФУ 2.0, п. 2.2.10). Реологічні властивості основ досліджували за допомогою ротаційного віскозиметру «Rheolab QC» (фірми «Anton Paar», Австрія) з коаксіальними

циліндрами CC27/S-SN29766. Вивчення реологічних параметрів проводили при температурі $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Термостатування зразків здійснювали за допомогою термостату MLM U15с.

Наважку зразка близько $15,0 \pm 0,5$ г поміщали в ємність зовнішнього циліндра, встановлювали необхідну температуру та термостатували 20 хв. За допомогою програмного забезпечення RheoPlus 32 V3.62 встановлювали умови виміру реологічної кривої, які здійснювали в три етапи:

- 1) лінійне наростання швидкості зсуву від $0,1 \text{ c}^{-1}$ до 350 c^{-1} з 105 точками виміру та тривалістю точки виміру 1 с;
- 2) постійний зсув при швидкості 350 c^{-1} тривалістю 1 с;
- 3) лінійний спад швидкості зсуву від 350 c^{-1} до $0,1 \text{ c}^{-1}$ з 105 точками виміру та тривалістю точки виміру 1 с.

За допомогою програмного забезпечення RheoPlus 32 V3.62 здійснювали обчислення площі петлі гістерезиса (A, Pa/s); точки (межі) плину (τ_0 , Pa) та в'язкості при безкінечній швидкості зсуву (η_∞ , Pa·s).

Розрахунок механічної стабільності (МС) зразків. Значення МС визначається як відношення величини напруги зсуву до руйнування (τ_1) до величини напруги зсуву після руйнування (τ_2) при швидкості зсуву $3,4 \text{ s}^{-1}$ за формулою:

$$\text{МС} = \frac{\tau_1}{\tau_2} \quad (2.1)$$

Мікробіологічні методи дослідження.

Дослідні зразки зберігали при температурі $5 \pm 3^\circ\text{C}$. Усі дослідження виконували в асептичних умовах з використанням ламінарного боксу (кабінет біологічної безпеки AC2-4E1 «Esco», Індонезія).

В якості тест-культур використовували культури: грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативну культуру *Escherichia coli* ATCC 25922. Антифунгальну дію з'ясовували відносно дріжджеподібного гриба роду *Candida* – *Candida albicans* ATCC 885/653. При проведенні дослідів використовували одностодові суспензії бактеріальних мікроорганізмів у фізіологічному розчині та

дводобову культуру дріжжеподібного гриба. Мікробне навантаження складало 10^7 колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів в 1 мл поживного середовища (КУО/мл).

До чашок Петрі вносили по 10 мл розтопленого «голодного» агару. Після застигання нижнього шару агару на його поверхню на однаковій відстані один від одного та від краю чашки розміщали 4 стерильних сталевих тонкостінних циліндра (внутрішній діаметр – $6,0 \pm 0,1$ мм, висота – $10,0 \pm 0,1$ мм). Навколо циліндрів заливали верхній шар, який містив 14 мл розтопленого та охолодженого до $45-48^\circ\text{C}$ агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму. При роботі з бактеріальними культурами для другого шару використовували м'ясо-пептонний агар, при роботі з дріжжеподібним грибом – агар Сабуро. Після охолодження верхнього шару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки вносили досліджувані зразки до повного їх заповнення. Чашки Петрі витримували 30-40 хвилин при кімнатній температурі та поміщали в термостат – бактеріальні культури при температурі $32,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ на 18-24 години, культуру дріжжеподібного гриба при температурі $22,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ на 48 годин.

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення росту мікроорганізмів, включаючи діаметр лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видимого росту. Діаметр зони затримки росту мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків:

- зони затримки росту діаметром до 10 мм оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до внесеного в лунку зразків;
- зони затримки росту діаметром 10-15 мм оцінювали як слабку чутливість культури до концентрації діючої протимікробної речовини, що досліджувалась;
- зони затримки росту діаметром 15-25 мм характеризуються як показник чутливості мікроорганізму до випробуваних зразків;
- зони затримки росту, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до зразків МЛФ.

Визначення мікробіологічної чистоти зразків мазі проводили у відповідності до вимог ДФУ 2.0, п. 2.6.12, п. 2.6.13 та п. 5.1.4.

Осмотичну активність досліджуваних зразків МЛФ проводили методом рівноважного діалізу через напівпроникну мембрану.

Дослідження кінетики вивільнення ацикловіру проводили за методом діалізу крізь напівпроникну мембрану. Для цього застосовували камеру, яка складалася з двох циліндрів, діаметром 50 та 70 мм відповідно кожний. Наважку дослідного зразка (1 г) рівномірно наносили на поверхню мембрани, поміщали в діалізну камеру з певною кількістю води очищеної (100 мл) при температурі $(34 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$. Після відбору проби (3 мл) об'єм води у діалізній камері доводили до початкового рівня (100 мл). Підтримували постійну температуру за допомогою ультратермостату УТ-15. Кількісне визначення ацикловіру в діалізаті проводили методом рідинної хроматографії (ДФУ, 2.2.29).

Вивчення протівірусної активності діючих речовин і мазі.

Культури клітин. Культура клітин одержана з колекції музею культур тканин Національної Академії медичних наук України Державна установа «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського».

Vero– клітини нирки африканської зеленої мавпи.

Тварини. В роботі використовували 18 самців безпородних мурчаків масою 250-300 г, одержаних з питомнику «Глеваха», яких утримували в стандартних умовах віварію.

Вірус простого герпесу II типу – штам ВН, одержаний з музею вірусів Інституту вірусології ім. Д. І. Івановського РАМН. Вірус підтримували серійними пасажами в культурі клітин *Vero*. Інфекційний титр за ЦПД (цитопатогенна дія) в культурі клітин складав – $5,5-9,0 \lg \text{ТЦД}_{50}/0,1 \text{ мл}$. До початку експериментальних досліджень вірус зберігали при температурі – 70°C .

З метою визначення протівірусної активності субстанцій ацикловіру та мірамістину визначали цитотоксичну концентрацію (CC_{50}), ефективну концентрацію (EC_{50}) та їх співвідношення.

Для визначення CC_{50} діючих речовин використовували перещеплювану культуру клітин *Vero*. В дослідях застосовували не менше десяти рядів лунок у планшетах з культурою клітин для кожного розведення діючої речовини у живильному середовищі. Планшети з культурою клітин інкубували при 37°C з подачею 5 % CO_2 протягом 5 днів. Спостереження дослідних та контрольних культур проводили щодня з метою встановлення наявності або відсутності цитопатогенної дії (ЦПД). Ступінь ЦПД визначали за зміною морфології клітин (округлення, зморщення клітин, відторгнення від поверхні лунок дегенеративно змінених клітин) за 4 бальною системою від + до ++++:

«-» – відсутність дегенерації клітин;

«+» – уражено не більше 25 % клітин;

«++» – уражено не більше 50 % клітин;

«+++» – уражено не більше 75 % клітинного моношару;

«++++» – повна дегенерація клітинного моношару.

За CC_{50} субстанції приймали її найбільшу кількість, яка не викликала дегенерацію клітин.

EC_{50} являє собою мінімальну концентрацію субстанцій, яка гальмує розвиток віруспецифічної ЦПД на 50 % та інфекційний титр вірусу не менше ніж на 2 lg. Для визначення EC_{50} тест-вірус у дозі 100 ТЦД₅₀/0,1 мл вносили в культуру клітин *Vero* та інкубували протягом 60 хв при 37°C. Після адсорбції вірусу на клітинах залишки його видаляли, клітини відмивали живильним середовищем, після чого у живильне середовище (RPMI-1640 + 2 % фетальної сироватки) вносили субстанції ацикловіру, мірамістину та ацикловіру+мірамістину у концентраціях 1:100; 1:200; 1:400; 1:800; 1:1600; 1:3200; 1:6400; 1:12800; 1:25600; 1:51200; 1:102400. Відсутність ЦПД у досліді (в оброблених культурах), при наявності його в контролі, а також зниження інфекційного титру в оброблених культурах, при наявності його в контрольних та різниця інфекційних титрів в досліді у порівнянні з контролем вірусу не менше ніж на 2 lg дозволяли встановити EC_{50} субстанції.

Визначення хіміотерапевтичного індексу субстанцій визначали шляхом встановлення співвідношення найбільшої дози, яка не викликає загибель клітин до мінімально активної концентрації.

Результати досліджень наведені в главі 5.

Вивчення антивірусної активності препарату in vivo.

Мурчаків інфікували вірусомісною рідиною з інфекційним титром 6,0 lg ТЦД₅₀/мл. Вірусомісну рідину наносили на попередньо скарифіковану шкіру геніталіїв. Скарифікацію проводили за допомогою хірургічного ланцету, після того як тварини були анестезовані ефіром. Розмір площі скарифікації складав 4-7 мм². Вірусомісну рідину наносили за допомогою піпетки відразу після скарифікації (з наступним втиранням).

Критеріями оцінки важкості інфекційного процесу слугували площа і ступінь специфічних уражень, наявність набряку, гіперемії, висипання, виділення. Максимальна вираженість кожної ознаки складала 4 бали. Спостереження за тваринами проводили протягом 10 діб.

Ефективність препарату оцінювали на піку розвитку патологічного процесу: по зниженню вираженості клінічних проявів, скороченню тривалості захворювання, індексу лікувальної дії (ІЛД) в дослідних групах у порівнянні з контрольною. Кожна група складалася з 6 тварин.

Ідентифікацію та кількісне визначення ацикловіру та мірамістину в складі розробленої мазі проводили методом ВЕРХ згідно вимог ДФУ, вид. 2 (п. 2.2.29, 2.2.46).

Ідентифікація. На хроматограмі випробуваного розчину час утримування основних піків ацикловіру та мірамістину відповідає часу утримування цих піків на хроматограмі розчину порівняння.

Кількісне визначення. Приготування випробуваного розчину: близько 1,0 г (точна наважка) препарату поміщають в мірну колбу місткістю 50 мл, додають 30 мл рухомої фази, перемішують при нагрівання на водяній бані при температурі 40°C протягом 15 хв, охолоджують до кімнатної температури, доводять об'єм розчину тією самою рухомою фазою до позначки і перемішують. Одержаний

розчин фільтрують крізь фторопластовий фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 2 мл фільтрату.

Приготування розчину порівняння: близько 250,0 мг (точна наважка) СЗ ацикловіру (EP CRS, USP RS, ФСЗ ДФУ або РСЗ) і близько 25,0 мг (точна наважка) СЗ мірамістину (ФСЗ ДФУ або РСЗ) поміщають в мірну колбу місткістю 250 мл, додають 150 мл рухомої фази, перемішують до повного розчинення, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за наступних умов:

- колонка Waters Spherisorb CNRP, розміром (250x4,6) мм, з розміром часток 5 мкм;
- рухома фаза: ацетонітрил Р – фосфатний буферний розчин рН 5,0 (50:50);
- швидкість рухомої фази: 1,0 мл/хв;
- температура колонки: 30°C;
- довжина хвилі детектування: 265 нм;
- об'єм проби, що вводиться, 20 мкл.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо на хроматограмі розчину порівняння виконуються наступні умови:

- коефіцієнт розділення піків ацикловіру та мірамістину має бути не менше 5,0;
- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком ацикловіру та мірамістину, має бути не менше 2000 теоретичних тарілок (ДФУ, 2.2.29);
- коефіцієнт симетрії піків ацикловіру та мірамістину має бути не більше 1,8.

Вміст ацикловіру або мірамістину в 1 г препарату, в міліграмах, розраховують за формулою:

$$X_i = \frac{S_{1i} * m_{0i} * 50 * P}{S_{0i} * m_{1i} * 250 * 100} = \frac{S_{1i} * m_{0i} * P}{S_{0i} * 25000},$$

де S_{1i} – середнє значення площ піків ацикловіру або мірамістину,

розраховане з хроматограм випробуваного розчину;

S_{0i} – середнє значення площ піків ацикловіру або мірамістину, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_{0i} – маса наважки ацикловіру або мірамістину, в міліграмах;

m_{1i} – маса наважки препарату, в грамах;

P – вміст ацикловіру або мірамістину в СЗ ацикловіру або СЗ мірамістину, %.

Вміст ацикловіру в 1 г препарату має бути від 47,5 мг до 52,5 мг.

Вміст мірамістину в 1 г препарату має бути від 4,75 мг до 5,25 мг.

Визначення супровідних домішок

Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ, 2.2.27), використовуючи пластинки Кизельгель 60 F_{254} (фірма «Мерк», Німеччина) розміром (10x20) см, із товщиною шару 0,2 мм.

Приготування випробуваного розчину: 0,6 г препарату поміщають у центрифужну пробірку місткістю 10 мл з притертою пробкою, додають 3 мл *0,1 М розчину натрію гідроксиду* і струшують до змішування. Додають 5 мл суміші *хлороформ Р – 1-пропанол Р (1:2)*, добре струшують і центрифугують із швидкістю 8000 об/хв протягом 10 хв. Розводять водний шар до 5 мл *0,1 М розчином натрію гідроксиду*, перемішують і центрифугують із швидкістю 8000 об/хв протягом 10 хв. Водний шар використовують для нанесення на хроматографічну пластинку.

Приготування розчинів порівняння. Розчин порівняння (а): 6 мг гуаніну (2-аміно-1,7-дигідро-6Н-пурин-6-он, CAS 73-40-5) розчиняють у 70 мл *0,1 М розчину натрію гідроксиду* і доводять об'єм розчину *водою Р* до 100 мл.

Розчин порівняння (b): 6 мг СЗ ацикловіру (EP CRS або USP RS) розчиняють у 7 мл *0,1 М розчину натрію гідроксиду* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10,0 мл.

На лінію старту хроматографічної пластинки наносять 10 мкл (близько 60 мкг ацикловіру) випробуваного розчину, 10 мкл (6,0 мкг гуаніну) розчину

порівняння (а) і в одну точку наносять по 10 мкл розчину порівняння (а) і розчину порівняння (б) (6 мкг гуаніну і 6 мкг ацикловіру).

Пластинку сушать на повітрі протягом 10 хв, поміщають в камеру з *етилацетатом* *P* і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників дійде до кінця пластинки, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі до зникнення запаху розчинника. Пластинку поміщають в камеру із сумішшю розчинників: *1-пропанол P – 13,5 M розчин аміаку P – 5 % розчин амонію сульфату P (10:30:60)* і хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде біля 8 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі протягом 20 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм. Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо на хроматограмі в загальній точці нанесення розчину порівняння (а) і розчину порівняння (б) виявляються дві чітко розділені плями.

Статистичну обробку результатів проводили за методикою наведеною в розділі «Статистичний аналіз результатів» (ДФУ, вид. 2, Т. 1, п. 5.3).

Висновки до розділу 2

1. Викладено методологічні підходи до розробки ЛП для фармакотерапії герпесвірусних захворювань.
2. Представлено характеристику речовин, що були використані для опрацювання та дослідження мазі протигерпетичної дії.
3. Наведено методи фізико-хімічних, біофармацевтичних, мікробіологічних, структурно-механічних та фармако-технологічних досліджень, що були використані в роботі.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Злагода В. С. Методологічні аспекти створення м'якої лікарської форми протівірусної дії.

Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2021. № 1 (65).

С. 21–26. (Особистий внесок – оформлення та підготовка статті до друку).

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ З АЦИКЛОВІРОМ ТА МІРАМІСТИНОМ

3.1. Маркетингові дослідження ринку препаратів протигерпетичної дії

На фармацевтичному ринку України ЛЗ для лікування герпесвірусних захворювань мають бути представлені широким асортиментом та різноманітними ЛФ, що надасть можливості лікарю і пацієнту обрати засіб з урахуванням місця ураження, ефективності і безпечності препарату та фінансових спроможностей хворого [76, 141].

З огляду на це, важливим було дослідження сегменту препаратів для лікування герпесвірусних захворювань на фармацевтичному ринку України та визначення, які ЛФ наявні у більшості, а які представлені обмежено.

Маркетингові дослідження вітчизняного фармацевтичного ринку ЛЗ протигерпетичної дії були проведені на кафедрі фармакоелектрофізіології НФаУ під керівництвом д.фарм.н., проф. Яковлевої Л. В.

Аналіз асортименту ЛЗ для лікування ГП проводили згідно з Державним реєстром лікарських засобів України [35] та довідником Компендіум on-line [64] шляхом аналізу маркетингової інформації за ЛФ, країнами-виробниками та комбінацією діючих речовин.

За даними Державного реєстру лікарських засобів України на вітчизняному ринку станом на 2019 рік представлено 80 найменувань ЛП для лікування герпесвірусних захворювань [23]. Аналіз асортименту вказаних ЛЗ за формами випуску наведено на рис. 3.1.

Як видно з рис. 3.1, найбільш розповсюдженою ЛФ є таблетки (70 %). Також на фармацевтичному ринку України присутні сиропи (11 %), порошки та капсули по 4 %, краплі (2 %), ліофілізат для розчину для інфузій (1 %). Частка МЛФ у досліджуваній групі становить 8 %, а саме у формі крему – 6 %, мазі – 2 %.

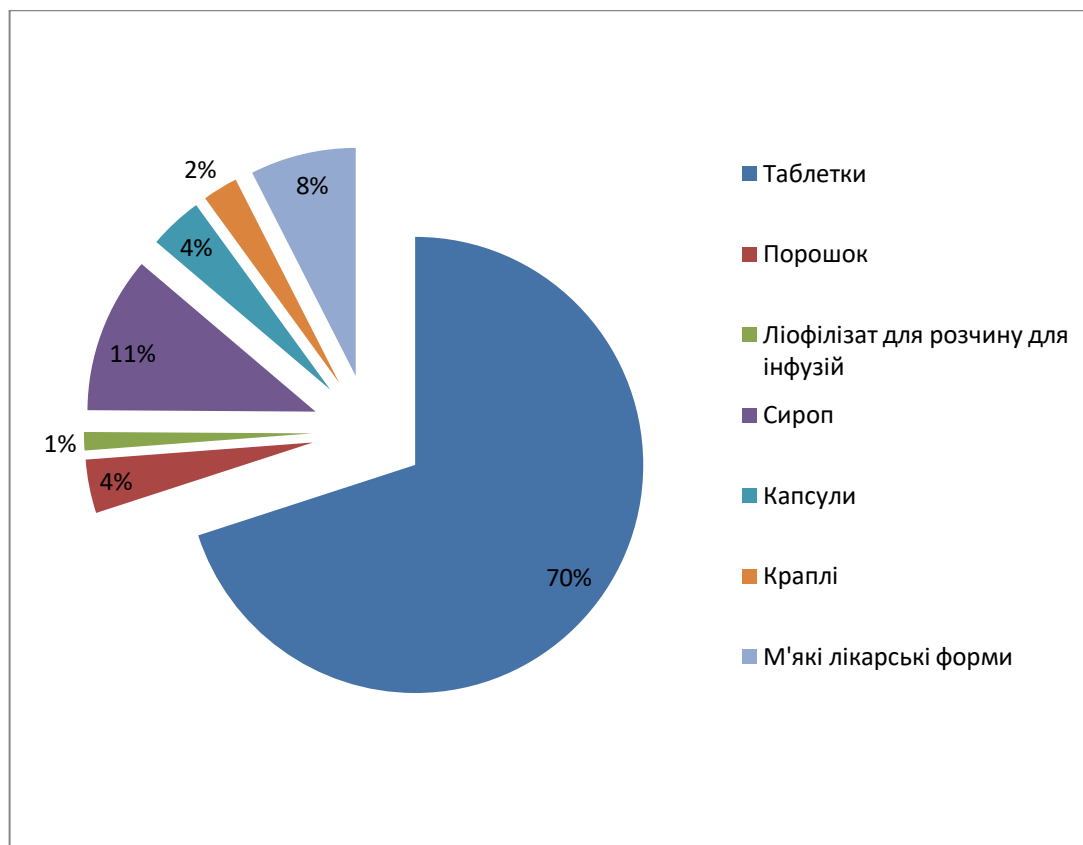


Рис. 3.1 Розподіл препаратів для лікування герпесвірусних захворювань за ЛФ на фармацевтичному ринку України

Аналіз асортименту препаратів для лікування герпетичних захворювань (рис. 3.2) показав, що за кількістю ЛЗ перше місце належить Україні (51 %). Пропозиції на фармацевтичний ринок надходять також з Німеччини (14 %), Польщі (11 %). Фармацевтичні виробники Угорщини постачають 5 % ЛЗ, Словенії, Кіпру, Росії, Італії – по 4 %, Канади, Великої Британії та Румунії – по 1 %.

Вітчизняні виробники поставляють на фармацевтичний ринок України генеричні препарати: таблетки складають 35 %, сиропи – 6 %, капсули – 4 %, краплі – 3 %, порошки, мазі та креми – по 1 %.

Асортимент ЛП вітчизняного виробництва у таблетованих формах представлений наступними торговими найменуваннями (ТН): «Ацикловір-АСТРАФАРМ» (ТОВ «АСТРАФАРМ»), «Ацикловір-ФАРМАК» (ПАТ «Фармак»), «Ацикловір-Дарниця» (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця»), «Ацикловір» (ПрАТ «Лекхім-Харків»), «Герпесвір®» (ПАТ «Київмедпрепарат»),

«Валавір®» (ПАТ «Фармак»), «Вальтровір®» (ПАТ «Київмедпрепарат»), «Гропівірін» (ПАТ «Фармак»), «Новірін» (АТ «Київський вітамінний завод»), «Гроприм» (ТОВ «АСТРАФАРМ»), «Аміксин® ІС» (Товариство з додатковою відповідальністю «ІНТЕРХІМ»), «Амізон®» (ПАТ «Фармак»), «Еребра®» (ПрАТ «Технолог») [144].

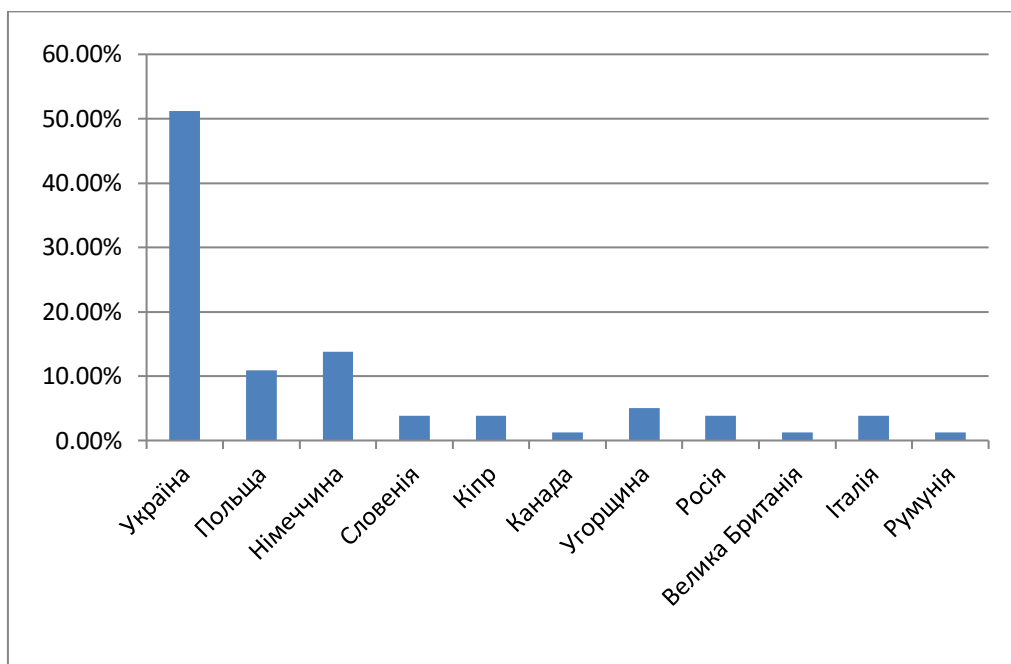


Рис. 3.2 Розподіл препаратів для лікування герпесвірусних хвороб за країнами-виробниками

Сироми наявні такими ТН: «Неопринозин» (ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика»), «Новірін» (АТ «Київський вітамінний завод»), «Флавозід®» (ПАТ «Фармак»). Наступну позицію займають капсули (4 %): «Нуклекс» (ТОВ «Фарма Старт»). 3 % складають краплі: «Протефлазид®» (ТОВ «НВК «Екофарм»).

Вітчизняні ЛЗ у формі порошків представлені препаратами: «Герпевір®» (ПАТ «Київмедпрепарат»). Асортимент групи МЛЗ представлений у формі мазі («Герпевір®» (ПАТ «Київмедпрепарат») та крему («Агерп» (Спільне українсько-іспанське підприємство «Сперко Україна»).

Згідно з результатами аналізу асортименту ЛЗ іноземного виробництва за формами випуску таблетки становлять 35 %, креми та сиропи – по 5 %, порошки – 2 %, ліофілізат для виготовлення розчинів для інфузій та сиропи – по 1 %.

Асортимент ЛЗ іноземного виробництва у формі таблеток для лікування герпесвірусних захворювань представлений наступними ТН: «Зовіракс™» (ГлаксоСмітКляйн Фармасьютікалз С.А., Польща), «Ацик®» (Салютас Фарма ГмбХ, Німеччина), «Ацикловір стада®» (СТАДА Арцнайміттель АГ, Німеччина), «Віролекс» (КРКА, д.д., Ново место, Словенія), «Гевіран» (Фармацевтичний завод «ПОЛЬФАРМА» С.А., Польща), «Медовір» (Медокемі ЛТД, Кіпр), «Валцик» (Фармасайнс Інк., Канада), «Вальтрекс™» (ГлаксоСмітКляйн Фармасьютікалз С.А., Польща), «Гропринозин®» (ТОВ «Гедеон Ріхтер Польща», Польща), «Ізопринозин» (АТ Фармацевтичний завод ТЕВА, Угорщина), «Нормомед» (ЗАТ «Обнінська хіміко-фармацевтична компанія», Російська Федерація) [144].

Наступну сходинку після таблеток займають креми та сиропи (по 5 %). У формі крему представлені ТН: «Ацик®» (Салютас Фарма ГмбХ, Німеччина), «Віролекс» (КРКА, д.д., Ново место, Словенія), «Зовіракс™» (Глаксо Оперейшнс ЮК Лімітед, Велика Британія), «Ациклостад®» (СТАДА Арцнайміттель АГ, Німеччина). Сиропи представлені такими ТН: «Гропринозин®-Ріхтер» (Гедеон Ріхтер Румунія А.Т., Румунія), «Неопринозин» (ТОВ «Афлофарм Фармація Польська», Польща), «Нормомед» (АВС Фармачеутічі С.п.А., Італія).

ЛЗ у формі порошків (2 %) представлені препаратами: «Віролекс» (КРКА, д.д., Ново место, Словенія), «Медовір» (Медокемі ЛТД, Кіпр). Також на фармацевтичному ринку України наявні ліофілізат для виготовлення розчинів для інфузій – «Зовіракс™» (ГлаксоСмітКляйн Мануфактуринг С.п.А., Італія) та сиропи – «Гропринозин®-Ріхтер» (Гедеон Ріхтер Румунія А.Т., Румунія), «Неопринозин» (ТОВ «Афлофарм Фармація Польська», Польща), «Нормомед» (АВС Фармачеутічі С.п.А., Італія).

В результаті аналізу асортименту ЛЗ за комбінацією діючих речовин встановлено, що домінують однокомпонентні препарати – 94 %, комбіновані засоби займають незначну частку – 6 % (всі є вітчизняного виробництва) («Флавозід®» (ПАТ «Фармак»), «Протефлазід®» (ТОВ «НБК «Екофарм»)) (рис. 3.3).

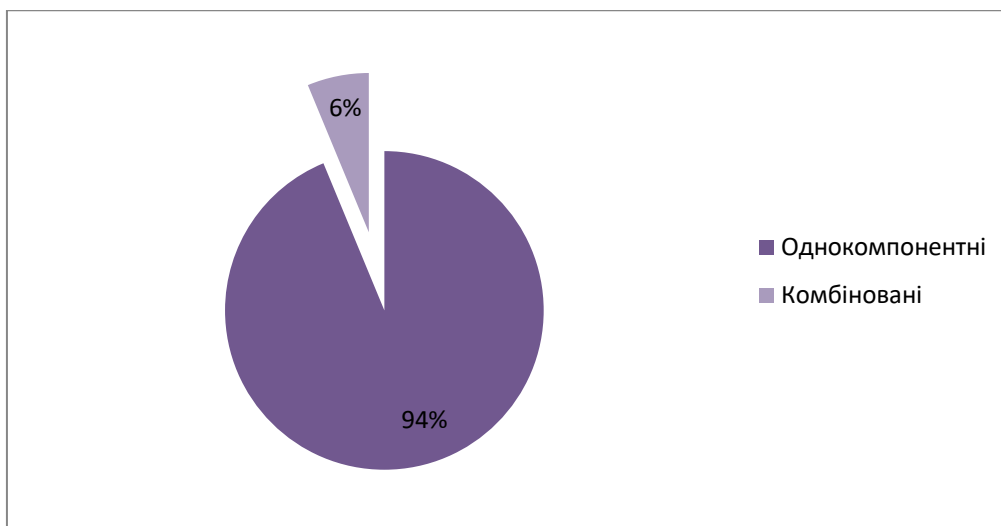


Рис. 3.3 Аналіз асортименту препаратів для лікування герпесвірусних хвороб за комбінацією діючих речовин

За результатами ситуаційного аналізу розроблено асортиментний контур сегмента українського фармацевтичного ринку ЛЗ протигерпетичної дії, представлений на рисунку 3.4.

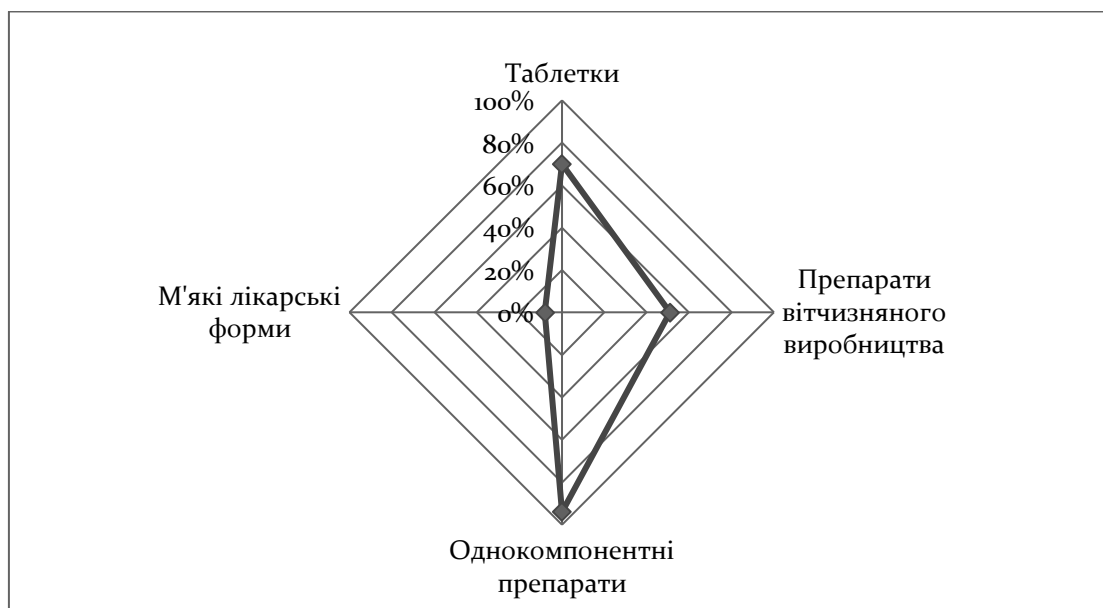


Рис. 3.4 Макроконтур фармацевтичного ринку препаратів протигерпетичної дії

У ході досліджень встановлено, що найбільш розповсюдженою ЛФ в терапії герпесвірусних захворювань є таблетки (70 %); 51 % ЛЗ даної групи виробляється промисловістю України. Проаналізувавши асортимент ЛЗ, які застосовуються для

лікування герпесвірусних захворювань, за складом діючих речовин, виявлено, що найбільша доля припадає на однокомпонентні препарати (94 %). Засоби у МЛФ становлять лише 8 %.

Таким чином, проведений аналіз асортименту протигерпетичних засобів на фармацевтичному ринку України свідчить про недостатню кількість ЛЗ у МЛФ і перевагу однокомпонентних препаратів. Отже, розробка комбінованої МЛФ для лікування герпесвірусних захворювань є перспективним напрямком у розвитку вітчизняної фармацевтичної науки та промисловості.

3.2 Визначення розчинності активних фармацевтичних інгредієнтів

Вивчення фізико-хімічних і технологічних властивостей діючих речовин має важливе значення в процесі створення ЛЗ і безпосередньо впливає на параметри технологічного процесу. Для отримання якісного препарату необхідний раціональний підхід до способу введення АФІ в основу.

Відомо, що між розчинністю, швидкістю розчинення фармацевтичної субстанції та її біодоступністю існує залежність, яка впливає на вивільнення діючих речовин з ЛФ, а також на усмоктування і біотрансформацію цих речовин [124]. Підвищенню розчинності сприяє зменшення розміру частинок субстанції, що збільшує площу поверхні взаємодії та значно підвищує ступінь проникності діючих речовин через біологічні мембрани. Тому, важливим є вивчення розчинності діючих речовин та проведення їх мікроскопічного аналізу з метою визначення властивостей об'єктів дослідження.

Мікроскопічний аналіз проводили за допомогою лабораторного мікроскопа «Konus-Akademy», оснащеного відеокамерою ScopeTek DCM510. Для візуалізації отриманих зображень використовували програмне забезпечення ScopePhoto™ (version 3.0.12.498).

Результати визначення розчинності діючих речовин показали, що їх розчинність при температурі $20 \pm 5^\circ \text{C}$ залежить від виду розчинника (табл. 3.1).

Розчинність діючих речовин

Розчинник	Розчинність	
	Мірамістин	Ацикловір
Гліцерин	розчинний (1:15)	дуже мало розчинний (1:7000)
Макрогол-400	мало розчинний (1:700)	дуже мало розчинний (1:8000)
Олія кукурудзяна	практично не розчинний (1:12000)	дуже мало розчинний (1:5000)
Пропіленгліколь	розчинний (1:8)	мало розчинний (1:600)
Етанол 96 %	дуже легко розчинний (1:1)	дуже мало розчинний (1:6000)
Вода очищена	легко розчинний (1:5)	мало розчинний (1:500)

Розчинність мірамістину збільшується в ряду олія кукурудзяна – макрогол-400 – пропіленгліколь (ПГ) – гліцерин – вода очищена – етанол 96 %. Ацикловір дуже мало розчинний в гліцерині, макроголі-400, олії кукурудзяній, етанолі 96 % та мало розчинний в ПГ і воді очищеній.

Для забезпечення належних властивостей препарату необхідне введення до складу ЛЗ діючих речовин з оптимальним розміром частинок.

Для проведення дослідження розчинності мірамістину мікроскопічним методом були виготовлені зразки мірамістину з розчинниками у співвідношенні 1:5. Аналіз результатів досліджень розміру частинок субстанції мірамістин в різних розчинниках показав, що розмір частинок коливається від 0,01 до 3,5 мкм (рис. 3.5).

За результатами мікроскопічних досліджень субстанції мірамістину у воді очищеній (рис. 3.5 а) та етанолі 96 % (рис. 3.5 б) встановлено, що субстанція являє собою дрібнодисперсний порошок з розміром частинок 0,01 мкм. В ПГ розмір частинок становить 0,2-0,3 мкм (рис. 3.4 в). Розмір частинок у гліцерині (рис. 3.5 г) та в макроголі-400 (рис. 3.5 д) становить 0,2-0,7 мкм та 0,4-0,9 мкм відповідно. Найбільший розмір частинок порошку спостерігається в олії кукурудзяній (3,0-3,5 мкм) та ПГ [29].

Розмір частинок збільшується в ряду вода очищена – етанол 96 % – ПГ – гліцерин – макрогол-400 – олія кукурудзяна.

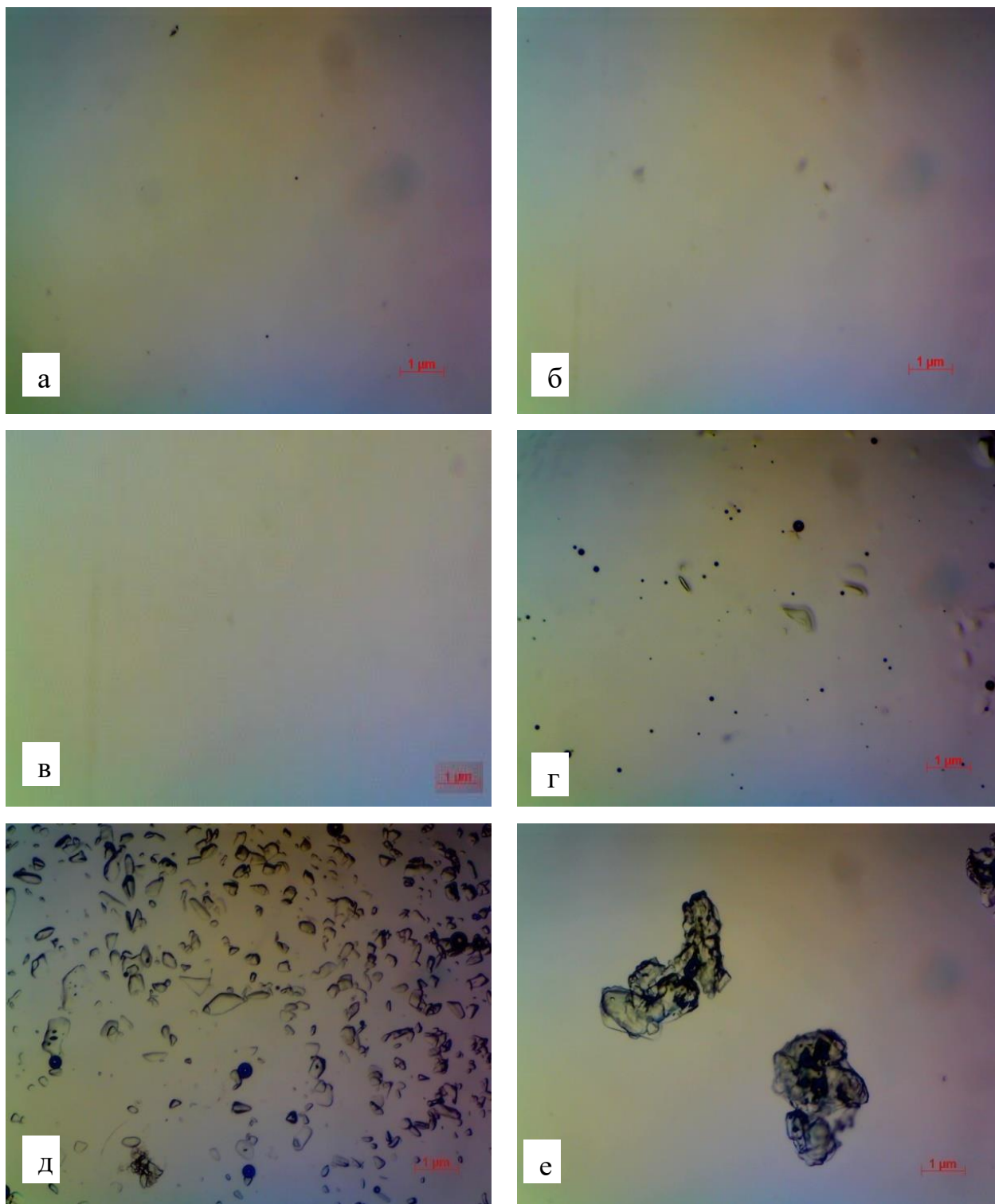


Рис. 3.5 Мікрофотографії мірамістину в різних розчинниках: а – вода очищена; б – етанол 96 %; в – ПГ; г – гліцерин; д – макрогол-400; е – олія кукурудзяна.

За результатами аналізу розчинності мірамістину в вищенаведених розчинниках для подальших досліджень обрано як розчинник мірамістину ПГ у співвідношенні 1:8.

Для проведення дослідження розчинності ацикловіру мікроскопічним методом були виготовлені зразки ацикловіру з розчинниками у співвідношенні 1:5. За результатами проведених досліджень встановлено, що розмір частинок субстанції ацикловір в досліджуваних розчинниках коливається від 0,3 до 1,3 мкм (рис. 3.6).

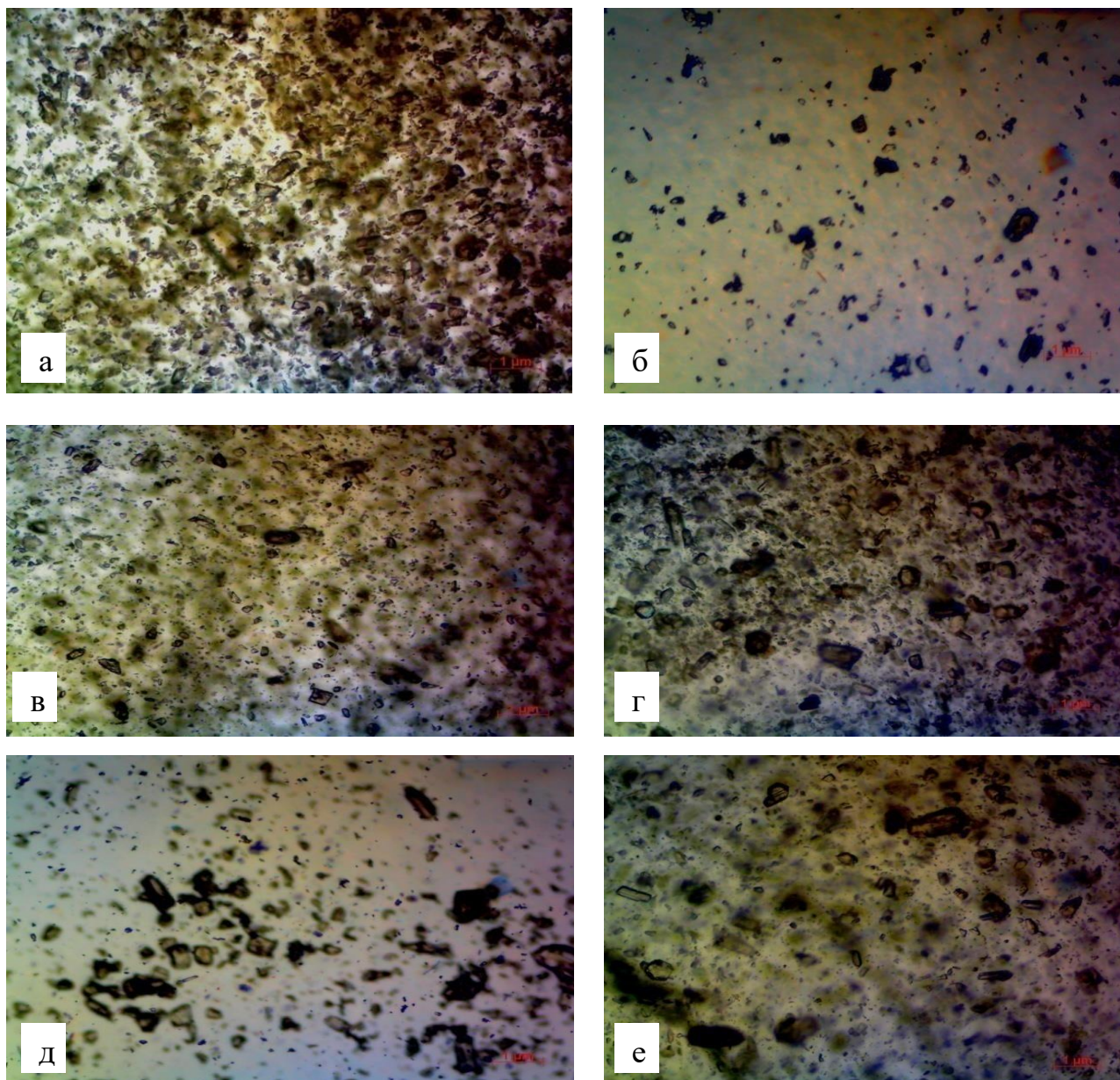


Рис. 3.6 Мікрофотографії ацикловіру в різних розчинниках: а – олія кукурудзяна; б – вода очищена; в – ПГ; г – макрогол-400; д – етанол 96 %; е – гліцерин.

Найменший розмір частинок субстанції ацикловіру спостерігається в суспензіях з олією кукурудзяною (0,3-0,5 мкм) та водою очищеною (0,3-0,7 мкм) (рис. 3.6). В ПГ та макроголі-400 розмір частинок коливається від 0,4-0,7 мкм до 0,4-1,0 мкм відповідно.

Встановлено, що в етанолі 96 % (рис. 3.6 д) та гліцерині (рис. 3.6 е) частинки мають приблизно однаковий розмір (0,5-1,0 мкм та 0,5-1,3 мкм відповідно). Результати проведених досліджень розподілу частинок свідчать, що найбільш рівномірно частинки розподіляються в олії кукурудзяній, воді очищеній та ПГ [63].

3.3 Вивчення структурно-механічних властивостей зразків мазевих основ

Дослідження структурно-механічних властивостей зразків модельних мазевих основ проводили на кафедрі косметології і ароматології НФаУ під керівництвом к.фарм.н., доц. Кухтенко Г. П.

На сьогодні реологічні методи широко використовуються при вивченні дисперсних систем [145]. Цьому сприяли наукові дослідження П. О. Ребіндера, Б. В. Дерягіна, Г. В. Виноградова, а також дослідження вчених в області фармацевтичної технології – І. М. Перцева, А. О. Аркуші, Д. І. Дмитрієвського, В. М. Грецького, В. І. Чуєшова, М. О. Ляпунова.

Реологічні властивості дисперсних систем залежать від природи, кількісного співвідношення компонентів системи, ступеня механічної обробки (гомогенізації), молекулярної маси (довжини молекулярних ланцюгів), температури тощо [31].

При підвищенні температури в'язкість мазі змінюється, що відображається на процесах гомогенізації, фасуванні, визначенні оптимальних умов зберігання та транспортуванні [43].

Залежність ефективної в'язкості від швидкості зсуву враховується при виборі технологічного обладнання для приготування мазі [145]. Отже, реологічні

властивості ЛЗ досить суттєво впливають на ефективність технологічних процесів.

Мазі належать до дисперсних систем з в'язко-пластичними властивостями, які впливають на виробничі характеристики, терапевтичну активність та споживчі властивості (зовнішній вигляд, намазування на шкіру та слизові оболонки, екструзію з туб).

Терапевтична цінність МЛФ залежить від раціонального вибору мазевої основи, оскільки остання впливає на швидкість і повноту вивільнення діючих речовин, терапевтичну активність препарату [26].

З метою вибору оптимального носія були досліджені основи різного складу, які найчастіше використовуються в сучасній фармацевтичній практиці. Склад модельних зразків основ наведений в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Склад модельних основ

Компоненти	Номери основ / вміст компонентів, г							
	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8
ПГ	24,0	-	10,0	-	-	10,0	-	-
Проксанол-268	54,0	-	-	-	-	-	-	-
Макрогол-400	22,0	-	10,0	-	12,0	10,0	-	-
Олія вазелінова	-	85,0	-	-	25,0	-	5,2	-
Парафін	-	15,0	-	-	-	-	-	-
СЦС	-	-		-	25,0	-	-	-
Полісорбат-80	-	-		-	2,0	-	-	-
Карбопол 934	-	-	1,5	-	-	-	-	-
Триетаноламін	-	-	1,5	-	-	-	-	-
Олія кукурудзяна	-	-	10,0	20,0	-	-	-	-
Емульгатор № 1	-	-	6,0	6,0	-	-	-	-
Aristoflex AVC	-	-	-	2,0	-	-	-	-
Вазелін	-	-	-	-	-	55,0	93,6	-

Емульгатор Т-2	-	-	-	-	-	10,0	-	-
Ізопропілміристат	-	-	-	-	-	-	1,2	-
Гідроксиетилцелюлоза	-	-	-	-	-	-	-	2
Вода очищена до	-	-	100,0	100,0	100,0	100,0	-	100,0

З метою вивчення структурно-механічних властивостей експериментальних зразків були побудовані реограми плинущ (рис. 3.7).

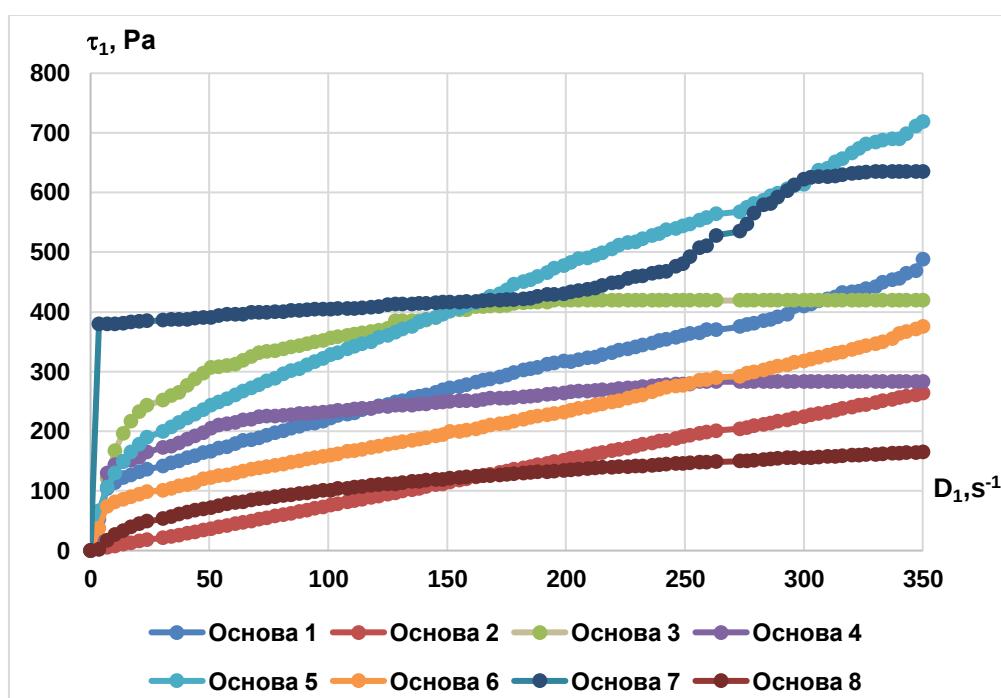


Рис. 3.7 Реограми плинущ зразків мазевих основ

Як видно з рис. 3.7, профіль реологічної поведінки залежить від складу мазевої основи та варіюється у широкому діапазоні структурно-механічних показників. Усі зразки мають псевдопластичний тип плинущ, в'язкість зразків зменшується не пропорційно від збільшення швидкості зсуву. Зразки по різному піддаються плинущ, що виражаються у значенні межі плинущ, обчисленому за математичним рівнянням Кассона та становить 105,8 Па – 1,3 Па – 49,3 Па – 12,6 Па – 104,5 Па – 77,2 Па – 65,9 Па – 0,3 Па для зразків відповідно № 1 – № 2 – № 3 – № 4 – № 5 – № 6 – № 7 – № 8. Зразок № 8 має низькі реологічні показники,

система має виражену здатність до самоплину через недостатню концентрацію гелеутворюючої речовини.

План експерименту передбачає покрокове збільшення швидкості руйнування дисперсної системи, плин системи відображається у висхідній кривій та наступному зменшенні швидкості із тим же кроком, а плин системи описується низхідною кривою.

Досліджувані мазеві основи у різній ступені відновлюються, площа поверхні між висхідною та низхідною кривою свідчить про тиксотропність системи або ж про здатність до відновлення. З однієї сторони, чим площа петлі гістерезиса менша, тим система швидше відновлюється, а з іншої – чим площа більша, тим система легше розподіляється по поверхні і на більшу площу поверхні. Перший аспект важливий у процесі виробництва, і говорить про відновлюваність структурованої системи після технологічного процесу обробки, а інший важливий як споживчий показник якості.

Площа петлі гістерезису (табл. 3.3) для основи № 1 складає 38780,5 Па/с, № 2 – 30887,8 Па/с, № 3 – 40,2 Па/с, № 4 – 17242,8 Па/с, № 5 – 49174,4 Па/с, № 6 – 49521,1 Па/с, № 7 – 82587,0 Па/с та основи № 8 – 319,5 Па/с.

Табл. 3.3

Розраховані структурно-механічні показники мазевих основ

Показники	№1	№2	№3	№4	№5	№6	№7	№8
Площа петлі гістерезиса, Па/с	38780,5	30887,8	40,2	17242,8	49174,4	49521,1	82587,0	319,5
Межа плину за Кассоном τ_0 , Па	105,8	1,3	49,3	12,6	104,5	77,2	65,9	0,3
В'язкість при безкінечній швидкості зсуву за Кассоном η_∞ , Па·с	0,39	0,54	0,83	0,72	0,88	0,34	0,44	0,65
Коефіцієнт динамічного розрідження Kd_1 , %	70,4	58,6	27,1	61,9	59,5	70,8	95,9	34,8

Коефіцієнт динамічного розрідження $Kd_2, \%$	77,7	86,6	77,6	75,6	61,6	78,8	97,7	63,2
Механічна стабільність при $\gamma 3,4s^{-1}$	3,51	1,08	1,34	1,56	1,55	4,99	5,05	1,19

В період руйнування структурованих систем за допомогою наростаючої швидкості обертання внутрішнього циліндра відбувається розрідження систем, яке ніколи не доходить до кінця, тому що деяка частка зв'язків зворотно відновлюється навіть при великих швидкостях. В'язкість при безкінечній швидкості зсуву (табл. 3.3), розрахованій за моделлю Кассона, складає 0,39 Pa·s – 0,54 Pa·s – 0,83 Pa·s – 0,72 Pa·s – 0,88 Pa·s – 0,34 Pa·s – 0,44 Pa·s – 0,65 Pa·s відповідно для зразків № 1 – № 2 – № 3 – № 4 – № 5 – № 6 – № 7 – № 8. За цим показником найбільш стійким до прикладеного зусилля зсуву є зразок № 8 на основі гідроксиетилцелюлози. Емульсійні зразки піддаються розрідженню у найбільшій мірі.

Поведінку дисперсних систем під час ступінчатого руйнування оцінюють також за коефіцієнтами динамічного розрідження та показником механічної стабільності (табл. 3.3). Коефіцієнти динамічного розрідження Kd_1 при швидкостях зсуву 3,4 і 10,3 s⁻¹ варіюється у діапазоні від 34,8 % до 95,5 %. Коефіцієнти динамічного розрідження Kd_2 лежать у діапазоні ще вищих значень, оскільки системи при вищих швидкостях зсуву руйнуються у більшій степені. Коефіцієнт механічної стабільності, розрахований при $\gamma 3,4 s^{-1}$, служить мірою оцінки відновлення структури після повного циклу проходження руйнування-відновлення. Чим більше наближене розраховане значення МС до 1, тим система відновлюється швидше, і говорить про високі миттєві тиксотропні властивості.

Як видно з даних таблиці 3.3, значення показника МС зразка № 8 становить 1,19. Для гелевих систем така поведінка є характерною, оскільки під час зростаючої швидкості обертання циліндра відбувається видовження молекул

високомолекулярної речовини, і після припинення дії рушійної сили структурована орієнтація молекули відновлюється. У емульсійних дисперсних системах, до яких належать зразки № 3, № 4, № 5, № 6, зміна в'язко-пластичних властивостей обумовлена золь-гель переходом, і такі системи відновлюються з часом.

Гомогенні гідрофобні дисперсні системи (зразок № 7) відновлюються повільніше, причиною цього може бути порушення термодинамічної рівноваги в системі в результаті примусового зміщення одного шару відносно іншого, в'язкість гідрофобних систем чутлива до зміни температури.

Зразок № 2 (рис. 3.7), на основі парафіну та олії вазелінової, має стабільний однорідний потік на всьому діапазоні швидкостей зсуву, система легко піддається рушійній силі. Зразки № 6 та № 7 (рис. 3.7), мають нестабільний потік при високих швидкостях зсуву, що можна трактувати як нестабільну структуру, яка може розшаруватися з часом.

Отже, в результаті проведених реологічних досліджень визначено, що зразок № 2, на основі парафіну та олії вазелінової, має стабільний однорідний потік на всьому діапазоні швидкостей зсуву, система легко піддається рушійній силі.

Згідно даних літератури для лікування герпесвірусних захворювань бажано використовувати гідрофобні основи, тому що вони здатні довгий час утримуватись на поверхні шкіри та слизових оболонок, не змиваються водою і біологічними рідинами організму, не володіють високою осмотичною активністю, а також пом'якшують і захищають шкіру від пересушування [151, 156]. На додаток до цього більшість МЛЗ виготовляють на гідрофобних основах (парафін та олія вазелінова): 5 % крем «Ацик[®]», 5 % крем «Віролекс», 5 % крем «Зовіракс», 5 % крем «Ациклостад», 5 % крем «Агерп» [35, 64].

Тому, є доцільним для подальших досліджень з розробки складу мазі противірусної дії використання зразка мажевої основи № 2.

3.4 Визначення концентрації мірамістину у складі м'якої лікарської форми

З метою визначення концентрації мірамістину у складі мазі були проведені мікробіологічні дослідження, які виконані на кафедрі біотехнології НФаУ під керівництвом д.фарм.н., проф. Стрілець О. П. Досліджували антибактеріальну активність експериментальних зразків мазі на основі олії вазелінової та парафіну з вмістом ацикловіру 5 % та мірамістину: зразок № 1 – 0,25 %, № 2 – 0,5 %, № 3 – 0,75 %. Вміст ацикловіру обрано на підставі даних літератури. Досліджувані зразки було перевірено щодо широкого спектру мікроорганізмів [13, 133]. Результати досліджень представлені в табл. 3.4.

Таблиця 3.4

Антибактеріальні властивості експериментальних зразків мазі

Зразок	Культури мікроорганізмів			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC
	25293	6633	25922	885/653
	Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм			
№ 1	21,6±0,5	21,2±0,4	19,6±0,5	13,4±0,5
№ 2	26,2±0,4	24,6±0,5	23,4±0,5	16,6±0,5
№ 3	26,4±0,5	24,6±0,5	23,6±0,5	16,8±0,4

Результати дослідження свідчать, що зразок № 2 є більш активним у порівнянні зі зразком № 1 по відношенню до усіх тест-штамів культур мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* 26,2±0,4 мм і 21,6±0,5 мм, *Bacillus subtilis* 24,6±0,5 мм і 21,2±0,4 мм, *Escherichia coli* 23,4±0,5 мм і 19,6±0,5 мм та *Candida albicans* 16,6±0,5 мм і 13,4±0,5 мм відповідно.

Підвищення концентрації мірамістину у складі мазі до 0,75 % не призводить до істотного збільшення активності [25].

Таким чином для подальших досліджень доцільно обрати зразок № 2 з вмістом ацикловіру 5 % та мірамістину 0,5 %.

3.5 Обґрунтування вибору солюбілізатора у складі мазі протівірусної дії

Одним зі шляхів підвищення біодоступності і терапевтичної ефективності ЛП, що містять мало розчинні речовини, є збільшення їх розчинності в ЛФ. Іноді для гідрофобних або гідрофільних речовин ЛЗ існує бар'єр у вигляді дисперсійного середовища, в якому речовина погано розчиняється. На процес пенетрації лікарських речовин в шкіру впливають тип основи, її реологічні властивості, наявність солюбілізаторів [8, 104].

Солюбілізатори за своєю природою є поверхнево активними речовинами, молекули яких мають дифільну будову. Їх характерними особливостями є здатність впливати на процес вивільнення речовин з основи, розмір частинок дисперсної фази, рівномірність їх розподілу в дисперсійному середовищі тощо. Солюбілізатори посилюють проникнення лікарських речовин через шкіру, розчиняючи ліпідні компоненти шкірного покриву або діють як співрозчинники [91, 125].

У разі наявності гідрофобних речовин у складі МЛФ, їх вивільнення буде сповільнюватися через низьку обертальну рухливість молекул речовини; введення солюбілізатора сприяє підвищенню рухливості молекули речовини, тобто розчинності. При виборі солюбілізаторів необхідно враховувати наступні фактори: механізм їх дії, токсичність, хімічну сумісність з іншими компонентами ЛЗ [155].

На швидкість вивільнення речовин також впливає ГЛБ солюбілізаторів, який характеризується співвідношенням ліпофільної (неполярної) і гідрофільної (полярної) частин молекули. Значення ГЛБ використовують для прогнозування властивостей молекули поверхнево активної речовини: <10 – жиророзчинні, >10 – водорозчинні. Зменшення ГЛБ солюбілізаторів сприяє підвищенню обертальної рухливості молекул речовин, що локалізовані у середовищі. Таким чином,

зниження ГЛБ впливатиме на вивільнення з основ як гідрофільних, так і гідрофобних речовин [40].

Також важливим фактором є концентрація солюбілізаторів. При низьких концентраціях солюбілізатори часто сприяють абсорбції лікарських речовин, впливаючи на проникність мембран, а завдяки своїм властивостям змочувати – підвищують розчинність малорозчинних речовин. Навпаки при високих концентраціях вони сповільнюють абсорбцію внаслідок утворення міцелярних комплексів [112, 156].

З огляду на те, що ацикловір погано розчиняється в мазевій основі, до складу досліджуваної МЛФ є доцільним введення солюбілізатора. З метою дослідження розчинення частинок ацикловіру в мазевій основі нами проведені мікроскопічні дослідження впливу солюбілізаторів на розмір частинок вищенаведеної субстанції.

У якості об'єктів дослідження було обрано солюбілізатори СЦС та гліцерил моностеарат. СЦС (ГЛБ 0,5) застосовують як пом'якшувальну, диспергувальну, емульгувальну та підвищуючу в'язкість речовину. Гліцерил моностеарат (ГЛБ 3,6) використовують як солюбілізатор, емульгатор та стабілізатор.

Для визначення розміру частинок ацикловіру в мазевій основі застосовували метод мікроскопії. З цією метою були виготовлені зразки:

- мазева основа з ацикловіром (зразок № 1);
- мазева основа з вмістом ацикловіру та СЦС 1,5 %, 3,0 % та 4,5 % (зразки № 2-4);
- мазева основа з вмістом ацикловіру та гліцерил моностеарату 1,5 %, 3,0 %, 4,5 % (зразки № 5-7).

З метою вивчення впливу температурного режиму виготовлення мазі на розчинення частинок ацикловіру дослідження проводили при температурах 65 °С, 70 °С та 75 °С.

На рис. 3.8 наведені фотографії маzewої основи з ацикловіром при температурах: а – 65 °С; б – 70 °С; в – 75 °С.

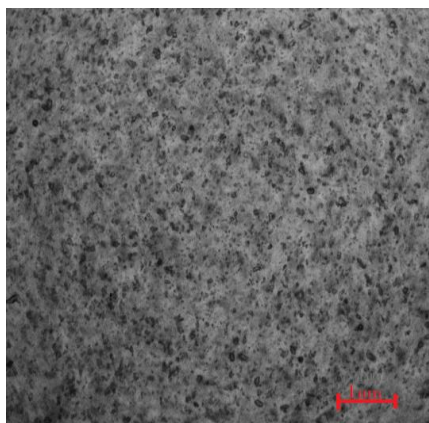


Рис. 3.8 а

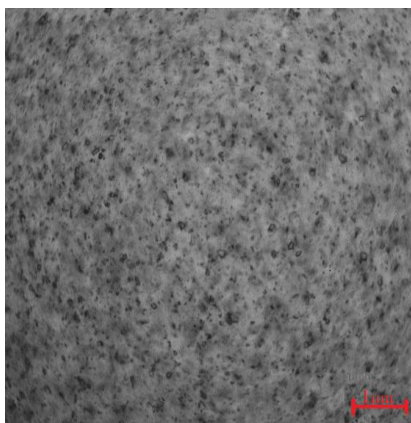


Рис.3.8 б

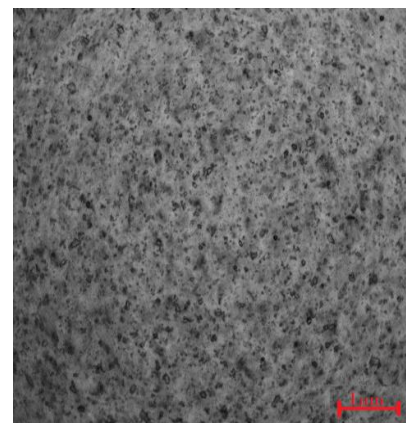


Рис. 3.8 в

Рис. 3.8 а-в Фотографії мазевої основи з ацикловіром (зразок № 1) при температурах 65 °С, 70 °С, 75 °С

Як видно з рисунку, розмір частинок ацикловіру складає 0,4-0,75 мкм. Підвищення температури з 65 °С до 75 °С на розмір частинок не впливає. В досліджуваній мазевій основі спостерігається рівномірний розподіл частинок діючої субстанції.

На рис. 3.9 наведені фотографії мазевої основи з ацикловіром та СЦС 1,5 % (зразок № 2) при вищенаведених температурах.

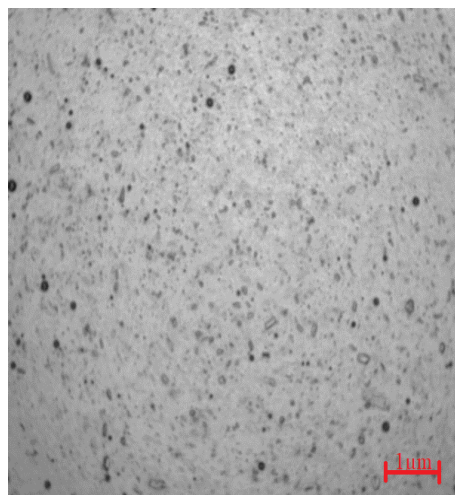


Рис. 3.9 а

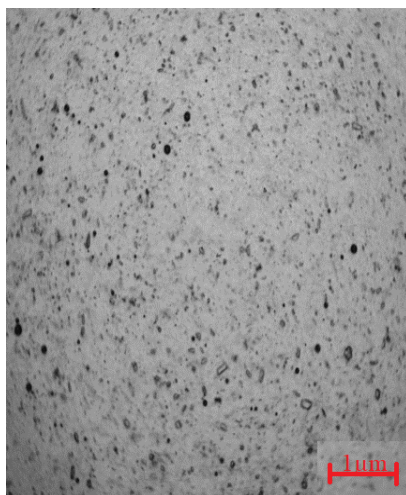


Рис.3.9 б

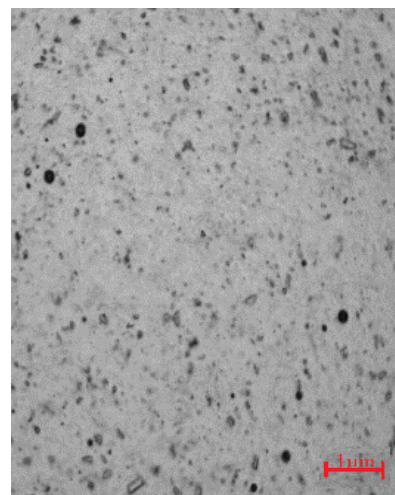


Рис. 3.9 в

Рис. 3.9 а-в Фотографії мазевої основи з ацикловіром та СЦС 1,5 % (зразок № 2) при температурах 65 °С, 70 °С, 75 °С

Як видно з рисунку, введення солубілізатора СЦС у концентрації 1,5 % не впливає на розмір частинок ацикловіру.

Як видно з рисунку 3.10, введення солубілізатора СЦС у концентрації 3,0 % сприяє суттєвому зменшенню розміру частинок досліджуваної субстанції. Розмір частинок коливається від 0,05 до 0,07 мкм. Підвищення температури від 65 °С до 75 °С не призводить до суттєвих змін розчинення частинок діючої речовини. При вищенаведених температурах спостерігається рівномірний розподіл частинок ацикловіру в мазевій основі.



Рис. 3.10 а

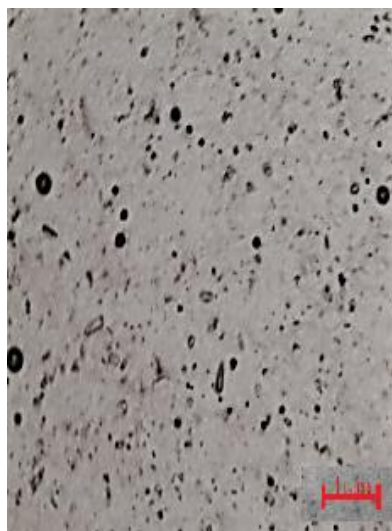


Рис. 3.10 б



Рис. 3.10 в

Рис. 3.10 а-в Фотографії мазевої основи з ацикловіром та СЦС 3,0 % (зразок № 3) при температурах 65 °С, 70 °С, 75 °С

За результатами подальшого експерименту встановлено, що розмір частинок ацикловіру в мазевій основі з додаванням вищенаведеного солубілізатора у концентрації 4,5 % не призводить до зменшення частинок ацикловіру (рис. 3.11 а-в).

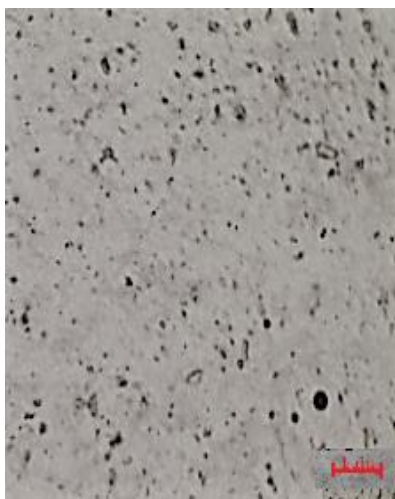


Рис. 3.11 а

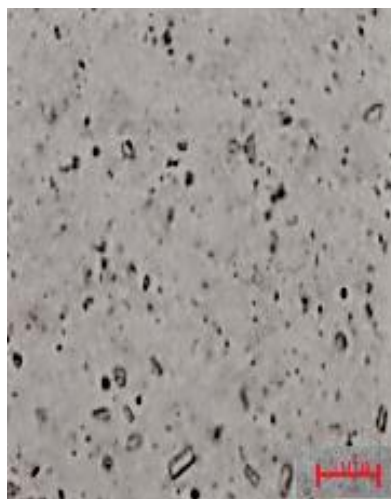


Рис. 3.11 б

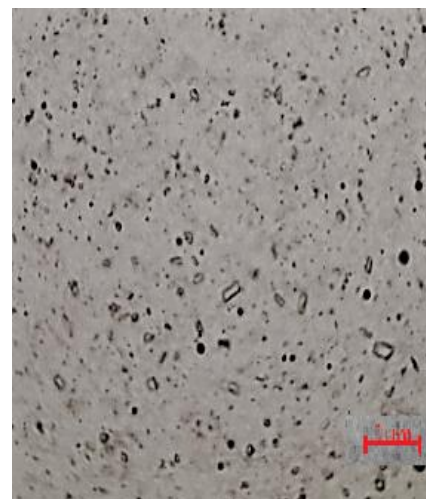


Рис. 3.11 в

Рис. 3.11 а-в Фотографії маzewої основи з ацикловіром та СЦС 4,5 % (зразок № 4) при температурах 65 °С, 70 °С, 75 °С

Наступним етапом нашого експерименту стало вивчення розміру частинок ацикловіру в маzewій основі з додаванням солубілізатора гліцерил моностеарата у концентрації 1,5 %. Результати дослідження наведені на рис. 3.12.

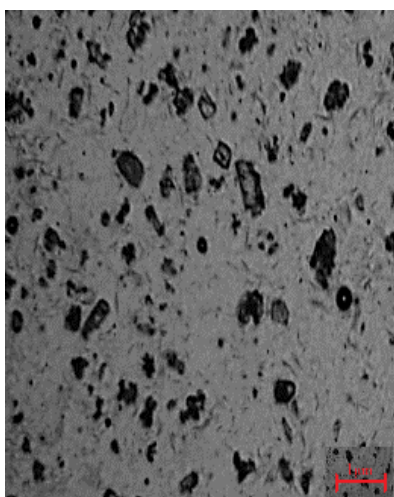


Рис. 3.12 а

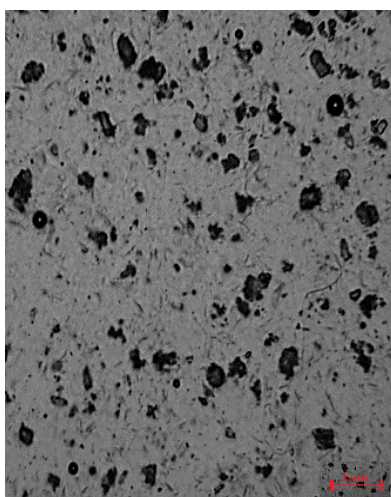


Рис. 3.12 б

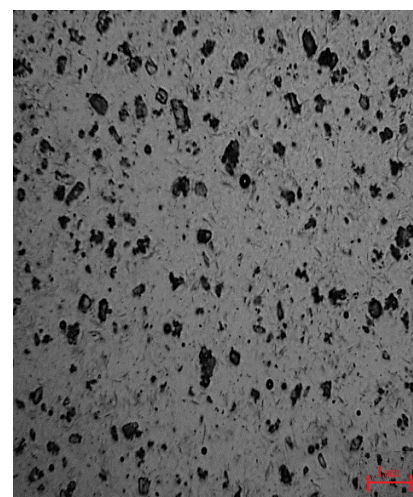


Рис. 3.12 в

Рис. 3.12 а-в Фотографії маzewої основи з ацикловіром та гліцерил моностеаратом 1,5 % (зразок № 5) при температурах 65 °С, 70 °С, 75 °С

За результатами експерименту встановлено, що розмір частинок ацикловіру в маzewій основі з додаванням вищенаведеного солубілізатора у концентрації

1,5 % коливається від 0,7 до 1,3 мкм. Як видно з рисунку, підвищення температури до 75°C не впливає на розчинення частинок ацикловіру.

Як видно з рисунку 3.13 а-в, введення гліцерил моностеарата у концентрації 3,0 % не призводить до суттєвого зменшення частинок ацикловіру (0,8-1,5 мкм).

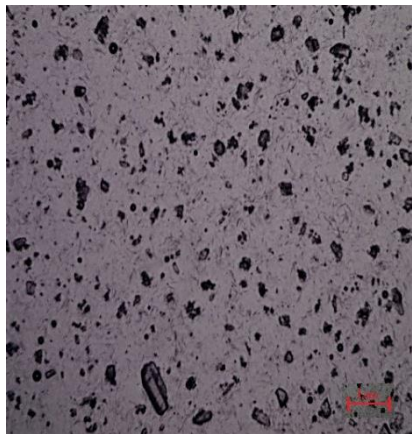


Рис. 3.13 а

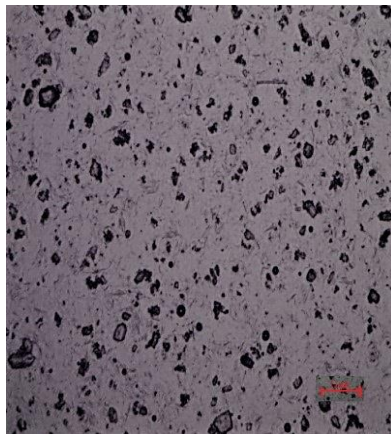


Рис. 3.13 б

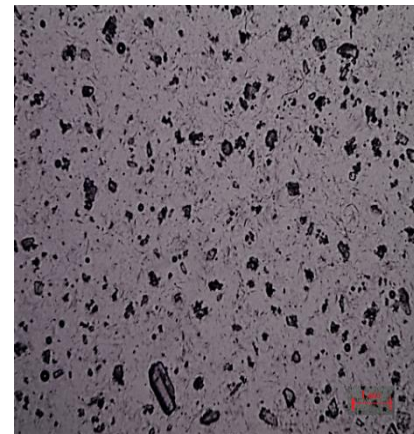


Рис. 3.13 в

Рис. 3.13 а-в Фотографії маzewої основи з ацикловіром та гліцерил моностеаратом 3,0 % (зразок № 6) при температурах 65°C , 70°C , 75°C

На рис. 3.14 а-в наведені фотографії частинок ацикловіру в мазевій основі № 7 з вмістом гліцерил моностеарата у концентрації 4,5 %. Підвищення концентрації солюбілізатора не призводить до зменшення ацикловіру.

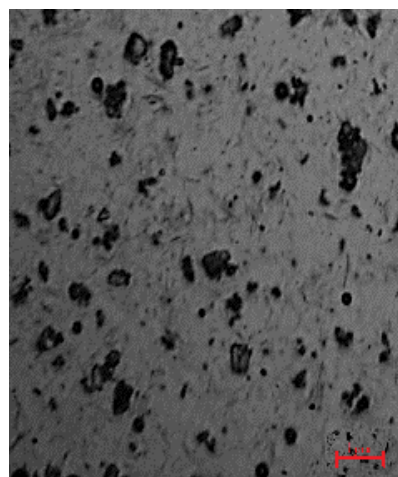


Рис. 3.14 а

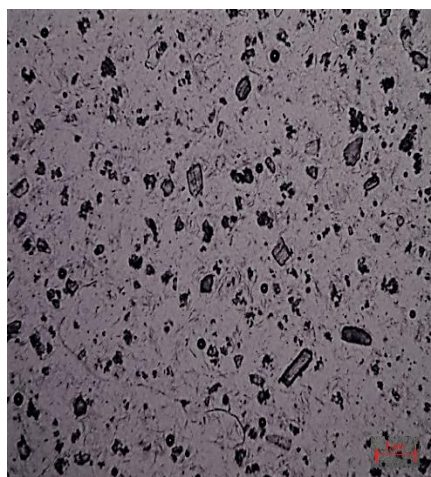


Рис. 3.14 б

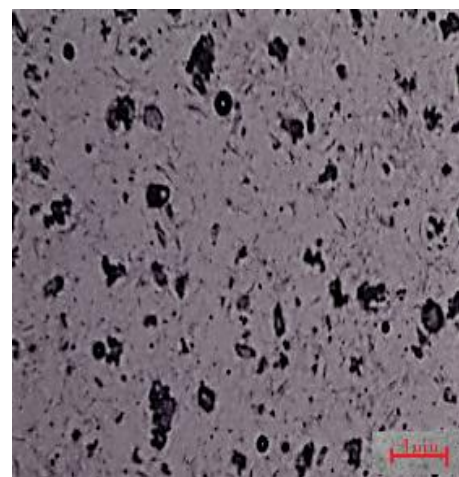


Рис. 3.14 в

Рис. 3.14 а-в Фотографії маzewої основи з ацикловіром та гліцерил моностеаратом 4,5 % (зразок № 7) при температурах 65°C , 70°C , 75°C

Виходячи з одержаних результатів дослідження, введення до складу основи солюбілізатора СЦС у порівнянні з солюбілізатором гліцерил моностеаратом є більш доцільним. Встановлена оптимальна концентрація СЦС – 3,0 %.

Для підтвердження результатів впливу солюбілізатора СЦС на розчинення частинок ацикловіру нами проведені дослідження мазі з вмістом ацикловіру, СЦС та розчином мірамістину в ПГ. Результати експерименту наведені на рис. 3.15.



Рис. 3.15 Фотографія мазі при температурі 65 °С

Як видно з рисунку, введення СЦС до МЛФ значно зменшує розмір частинок ацикловіру. З огляду на те, що підвищення температурного режиму виготовлення мазі до 75 °С не впливає на розчинення частинок ацикловіру, дослідження проводили при температурі 65 °С.

Згідно проведених мікроскопічних досліджень розчинення частинок ацикловіру в мазевих основах з додаванням солюбілізаторів СЦС і гліцерил моностеарата при температурах 65 °С, 70 °С, 75 °С, можна зробити висновок, що солюбілізатор СЦС більш суттєво впливає на дисперсність і забезпечує значне зменшення розміру частинок субстанції ацикловіру в мазевій основі. Підвищення температури виготовлення мазі з 65 °С до 75 °С не позначається на розчиненні частинок ацикловіру. Тому нами обрано солюбілізатор СЦС у концентрації 3,0 % та запропоновано температурний режим виготовлення мазі – 65 °С.

На підставі проведених фізико-хімічних, мікробіологічних та фармако-технологічних досліджень теоретично та експериментально обґрунтовано склад

мазі під умовною назвою «Ацимір»:

Речовина	Вміст, г
Ацикловір	5,0
Мірамістин	0,5
Олія вазелінова	75,0
Парафін	12,5
ПГ	4,0
СЦС	3,0

3.6 Вивчення осмотичної активності мазі з ацикловіром та мірамістином

При розробці МЛФ необхідно враховувати осмотичні властивості лікарського засобу, оскільки вони є одним з факторів, який забезпечує абсорбцію та необхідні умови для загоєння пошкодженої поверхні тканин [40].

Відомо, що осмотична активність препарату залежить від типу основи. В. В. Верніковський рекомендує розподіляти мазеві основи за осмотичною активністю на 4 групи [12]:

- 1) основи з максимальною осмотичною активністю (сплави макроголу-400, макроголу-1500 в різних співвідношеннях);
- 2) основи з вираженою осмотичною активністю (гідрогелі макроголу або карбополу);
- 3) основи з помірною осмотичною активністю (гідрогелі карбополу та натрію альгінату);
- 4) основи з незначною осмотичною активністю (гідрогелі хітозану, сплав олії вазелінової та парафіну).

Осмотичну активність МЛЗ ділять на малу (до 83 %), середню (до 193 %), виражену (від 240 %) та гіперосмотичну активність (від 400 %) [125].

Дослідження осмотичної активності мазі з ацикловіром та мірамістином проводили на базі АТ «БІОЛІК» під керівництвом начальника відділу фармацевтичної розробки к.фарм.н., с.н.с. Назарової О. С. Використовували

метод діалізу крізь напівпроникну мембрану з подальшим визначенням абсорбованої води гравіметричним методом. Результати досліджень наведено на рис. 3.16.

Як видно з рисунку, маса камери з препаратом зростає через 0,5 год на 2,9 %, 1 год – 6,0 %, 2 год – 9,5 %, 3 год – 10,0 %, 4 год – 10,8 %, 5 год – 11,9 %, 6 год– 13,4 % та 8 год – 15,0 %.

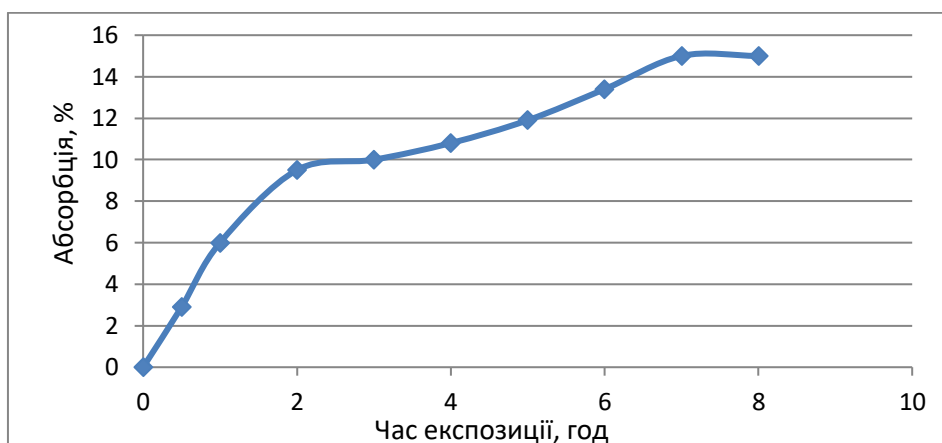


Рис. 3.16 Залежність кількості абсорбованої рідини від часу діалізу

Таким чином, розроблена мазь володіє малою осмотичною активністю і помірно абсорбує воду (15,0 % протягом 8 год).

Також була досліджена осмотична активність препарату порівняння «Зовіракс», який широко застосовується у лікуванні герпесвірусних захворювань (рис. 3.17).

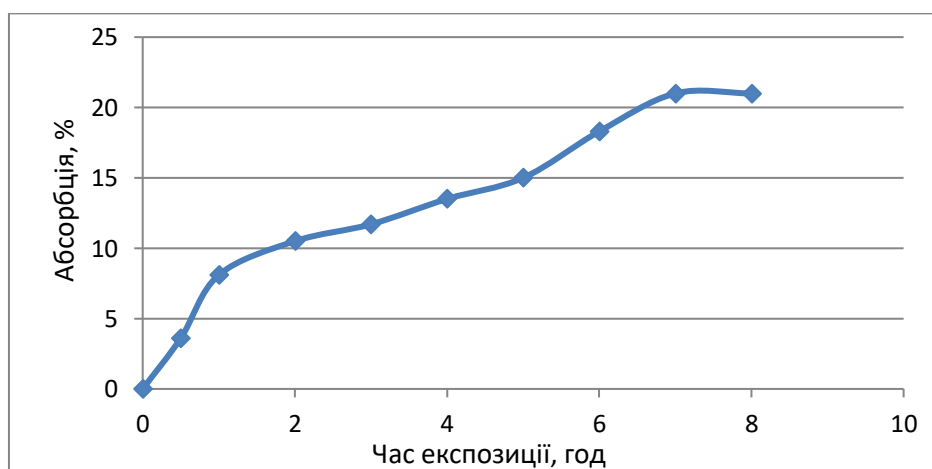


Рис. 3.17 Залежність кількості абсорбованої рідини від часу діалізу препарату «Зовіракс»

Як видно з рисунку, препарат «Зовіракс» володіє малою осмотичною активністю (21,0 % протягом 8 год), що майже не відрізняється від осмотичної активності розробленої мазі.

Герпетичні ураження шкіри та слизових оболонок можуть характеризуватися появою везикул з серозним вмістом. Також зустрічаються форми герпетичних інфекцій без везикулярних висипань. Тому, м'яка лікарська форма, що призначається для лікування усіх стадій герпесвірусної хвороби не має надавати пересушувальної дії на шкіру та не повинна порушувати процес епітелізації тканин.

Наступним етапом наших досліджень стало вивчення реологічних властивостей розробленої мазі та препарату порівняння «Зовіракс». Результати наведено на рис. 3.18 та 3.19.

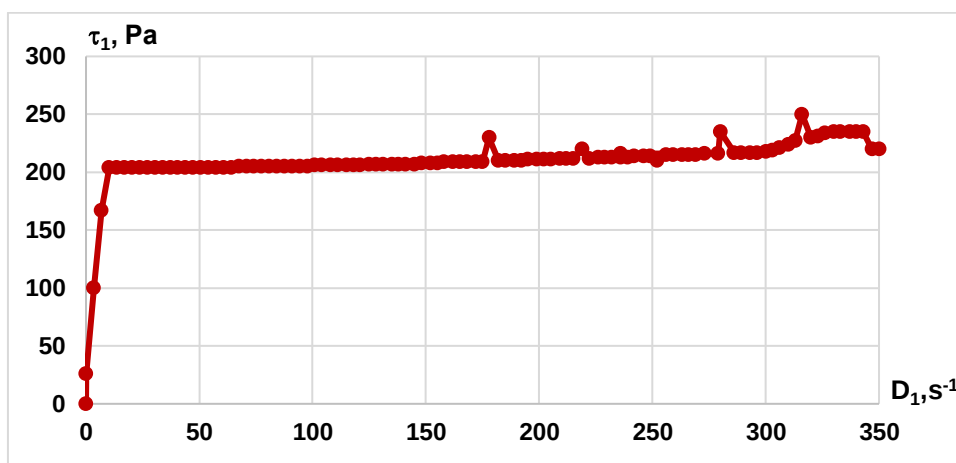


Рис. 3.18 Реограма плинущу розробленої мазі

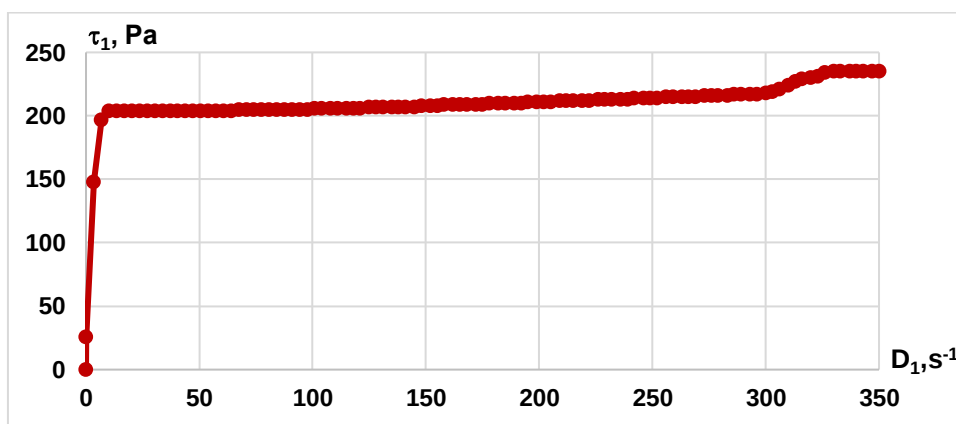


Рис. 3.19 Реограма плинущу препарату «Зовіракс»

Результати реологічних досліджень розробленого препарату та препарату порівняння «Зовіракс» мають подібний характер.

3.7 Біофармацевтичні дослідження м'якої лікарської форми

Створення нового ЛЗ у формі мазі неможливе без врахування факторів, які впливають на ступінь, повноту вивільнення та усмоктування лікарських субстанцій. Результати біофармацевтичних досліджень демонструють істотний вплив фізико-хімічного стану лікарських речовин на фармакокінетичну активність мазей [116].

На ступінь вивільнення лікарських речовин з мазей впливає їх спорідненість до води або олії (фільність) і природа носія. Відомо, що речовини погано розчинні та нерозчинні у воді із гідрофобних мазевих основ вивільняються слабше, ніж із гідрофільних [112].

Одним з фармацевтичних факторів, що впливають на фармакокінетичну активність мазей, є вибір допоміжних речовин. Допоміжні речовини впливають на рівень, швидкість вивільнення активних фармацевтичних інгредієнтів і, тим самим, чинять безпосередній вплив на терапевтичний ефект препарату.

Попередніми дослідженнями як солюбілізатор обрано СЦС. Тому, з метою підтвердження його впливу на підвищення біодоступності розробленої мазі проведені біофармацевтичні дослідження з вивільнення ацикловіру.

Біофармацевтичні дослідження МЛФ проводили на базі АТ «БІОЛІК» під керівництвом начальника відділу фармацевтичної розробки к.фарм.н., с.н.с. Назарової О. С.

Для досліджень були виготовлені зразки мазей з вмістом СЦС у попередньо встановленій концентрації 3 % (зразок № 1) та без вмісту СЦС (зразок № 2). Дослідження проводили впродовж 6 годин. Результати експерименту представлені на рис. 3.20.

Як видно з рисунку, вивільнення ацикловіру зі зразка № 1 відбувається більш активно в порівнянні зі зразком № 2 і становить 60 %.

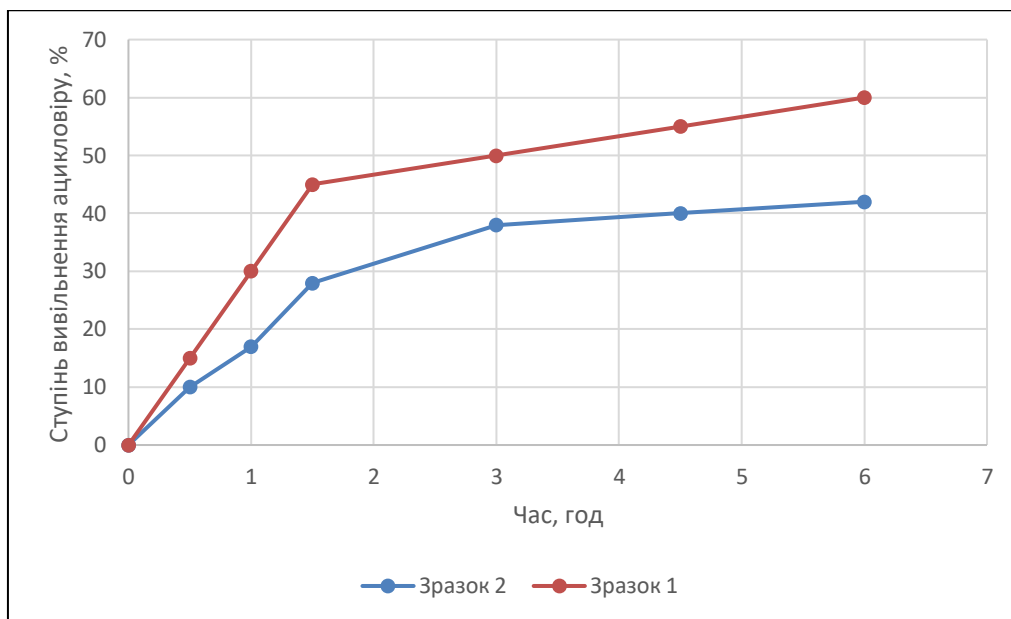


Рис. 3.20. Динаміка вивільнення ацикловіру зі зразків мазі:

- зразок № 1 –з вмістом СЦС 3,0 %;
- зразок № 2 –без вмісту СЦС

Отримані результати визначення кінетики вивільнення свідчать, що додавання солубілізатора СЦС в обраній раніше концентрації забезпечує більш повне вивільнення ацикловіру, що дозволить протягом необхідного часу підтримувати його ефективну концентрацію в місці використання.

3.8 Розробка технології мазі з ацикловіром та мірамістином

В результаті створення нового ЛП потрібно брати до уваги вірогідність хімічної взаємодії між діючими та допоміжними речовинами. Кожна з речовин, яка входить до складу препарату, має характерні термічні властивості. У виробництві ЛЗ необхідно враховувати теплові ефекти, які виникають у процесі виробництва препарату. Тому, важливим етапом у створенні нового ЛЗ є термогравіметричний аналіз субстанцій.

Ацикловір – термостабільна речовина, яка не змінює хімічну структуру до 160°C [76].

Субстанція мірамістин плавиться в межах 50-82°C, а його маса залишається

при цьому стабільною. При температурі 90-160°C відбувається незначне зменшення маси, а при збільшенні температури до 160-190°C – значне зменшення маси зразка.

За даними літератури відомо, що процес розкладу олії вазелінової проходить за один процес (210-406°C).

Плавлення парафіну повністю відбувається за температури 64,7°C [14].

ПГ – термостабільна речовина, яка не розкладається при використанні загальноприйнятих температурних режимів виготовлення мазевої основи [74].

Температура плавлення СЦС становить 49-53°C [73].

Таким чином, можна зробити висновок, що температурний режим 65°C для виробництва мазі є найбільш оптимальним. При даній температурі не будуть спостерігатися незворотні зміни як діючих, так і допоміжних речовин.

Технологія виготовлення ЛЗ – основний фармацевтичний фактор, який відповідає за якість розробленого препарату. При виготовленні мазі необхідно визначити основні технологічні параметри на кожній стадії виробництва. Недотримання параметрів і режимів технологічного процесу може впливати на терапевтичну ефективність препарату. Технологія мазі розроблена з урахуванням фізико-хімічних властивостей діючих і допоміжних речовин.

Виробництво мазі включає в себе процеси плавлення, перемішування, розчинення, гомогенізації та охолодження. Технологічна схема виробництва мазі складається з 10 стадій.

Стадія 1. Підготовка сировини.

АФІ та допоміжні речовини проходять вхідний контроль якості. На електронних вагах в збірники послідовно відважують всі компоненти і передають в щільно закритих ємкостях на стадії 2, 3, 4 та 5.

Стадія 2. Приготування мазевої основи.

У проміжний реактор відважують олію вазелінову та парафін, сплавляють при температурі 65°C при перемішуванні скребковою та лопатевою мішалками зі швидкістю обертання 45 об/хв до отримання однорідної маси.

Стадія 3. Введення СЦС до мазевої основи.

Відважений на вагах СЦС вносять до мазевої основи. Отриману масу нагрівають до температури 65°C, перемішують скребковою та лопатевою мішалками зі швидкістю обертання 45 об/хв.

Стадія 4. Введення ацикловіру до мазевої основи.

Відважений на вагах ацикловір вносять до мазевої основи з СЦС. Отриману масу нагрівають до температури 65°C, перемішують скребковою та лопатевою мішалками зі швидкістю обертання 45 об/хв.

Стадія 5. Розчинення мірамістину в ПГ.

Відважений на вагах мірамістин розчиняють в реакторі в ПГ. Отриману масу нагрівають до температури 65°C, перемішують скребковою та лопатевою мішалками зі швидкістю обертання 45 об/хв. Контролюють повноту розчинення мірамістину (візуально).

Стадія 6. Введення розчину мірамістину в мазеву основу.

У реактор-гомогенізатор завантажують сплавлену мазеву основу з СЦС та ацикловіром, розчин мірамістину в ПГ зі стадії 5. Температура в реакторі підтримується 65°C. Масу в реакторі перемішують за допомогою мішалки зі швидкістю обертання 45 об/хв.

Стадія 7. Гомогенізація та охолодження мазі.

Гомогенізацію мазі здійснюють за допомогою скребкової, лопатевої та турбінної мішалок протягом 5 хв при частоті обертання турбінної мішалки 1500 об/хв, скребкової та лопатевої – 60-80 об/хв. Гомогенізацію здійснюють під вакуумом 0,05-0,06 МПа. Охолоджують мазь за допомогою води, яку подають у рубашку реактора-гомогенізатора до температури 25°C при постійному перемішуванні скребковою й лопатевою мішалками.

Відбирають пробу для проведення контролю якості проміжної продукції. Після отримання результатів про відповідність показникам якості мазь відвантажують у збірник за допомогою стислого повітря під тиском 0,5-0,7 МПа.

Стадія 8. Фасування мазі в туби.

Мазь при температурі 20-30°C транспортують порціями в бункер тубонаповнюючого автомата, дозують по 5 г у туби алюмінієві. Періодично на

вагах здійснюють контроль маси мазі, що фасують у туби.

Стадія 9. Пакування туб у пачки.

Кожну тубу разом з листком-укладкою поміщають у пачку з картону.

Стадія 10. Пакування пачок у групову тару.

Препарат у пачках упаковують у групове пакування (у коробки).

Виробництво мазі проводили в виробничих приміщеннях класу чистоти D.

Технологію мазі апробовано в умовах промислового виробництва на ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», м. Харків.

Блок-схема технологічного процесу виробництва мазі «Ацимір» наведена на рис. 3.21.

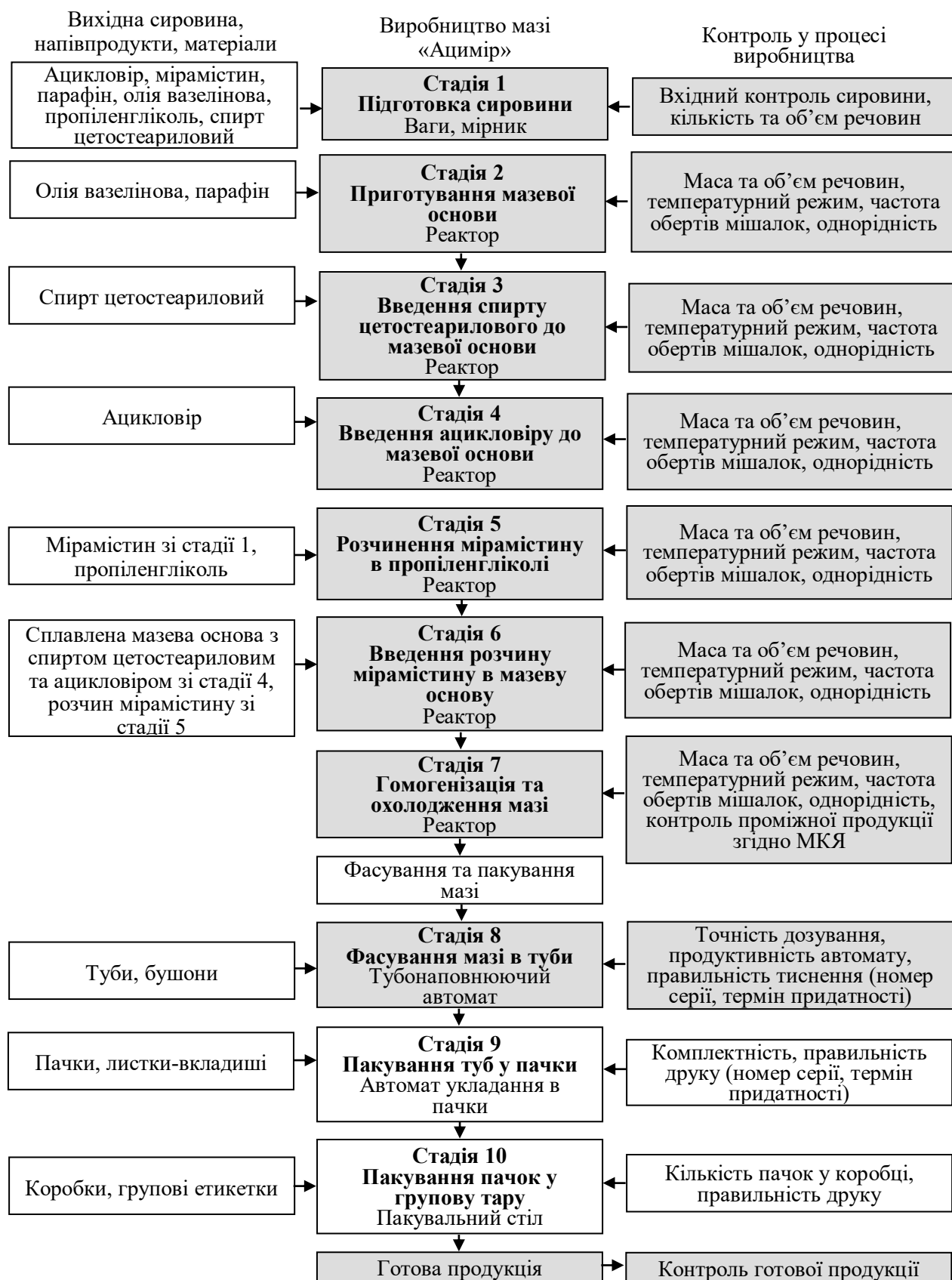


Рис. 3.21 Схема технологічного процесу виробництва мазі «Ацимір»

3.9 Дослідження мікробіологічної чистоти мазі «Ацимір»

Дослідження мікробіологічної чистоти мазі «Ацимір» проводили на кафедрі біотехнології НФаУ під керівництвом д.фарм.н., проф. Стрілець О. П.

Мікробному псуванню піддаються будь-які лікарські форми, в тому числі і МЛФ. Причиною контамінації мазі може бути мікробне забруднення обладнання, загальне недотримання санітарно-епідемічного режиму виробництва тощо [89].

Критерії прийнятності мікробіологічної чистоти готових нестерильних ЛЗ для зовнішнього застосування (ДФУ 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4): загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): 10^2 КУО/г; загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС): 10^1 КУО/г; відсутність в 1 г ЛЗ *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa*. Дані наведені в табл. 3.5.

Табл. 3.5

Випробування мазі «Ацимір» на мікробіологічну чистоту

Показник	Мазь
ТАМС КУО/г	<50
ТУМС КУО/г	<10
Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г	Відсутні
Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г	Відсутні

Проведені дослідження мікробіологічної чистоти протягом терміну зберігання (27 місяців) показали, що розроблена мазь під умовною назвою «Ацимір» за показником «мікробіологічна чистота» повністю відповідає вимогам ДФУ як до готових нестерильних ЛЗ для зовнішнього застосування.

Для підтвердження самоконсервуючої дії складових розробленої мазі, а саме мірамістину, були проведені дослідження антимікробної дії МЛФ (зразків з мірамістином 0,5 %) у процесі зберігання через 12 і 27 місяців. Зразки зберігали в умовах холодильника (3-5 °C). Результати дослідження представлені в табл. 3.6.

Результати дослідження свідчать, що зразок мазі з мірамістином 0,5 % обраний у попередніх дослідженнях як самий активний по відношенню до використаних грампозитивних (*S. aureus* ATCC 25293, *B. subtilis* ATCC 6633), грамнегативних (*E. coli* ATCC 259220), бактерій і грибів (*C. albicans* ATCC 885/653) протягом терміну зберігання (27 місяців) практично не змінює свої антимікробні властивості (табл. 3.6).

Табл. 3.6

Антибактеріальні властивості експериментальних зразків мазі

Зразок	Культури мікроорганізмів			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
	ATCC	ATCC	ATCC	ATCC
	25293	6633	25922	885/653
Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм				
12 місяців зберігання				
Мазь «Ацимір» (10.2019)	26,2±0,4	24,6±0,5	23,2±0,4	16,4±0,5
27 місяців зберігання				
Мазь «Ацимір» (01.2021)	25,8±0,4	24,4±0,5	23,2±0,4	16,2±0,4

Таким чином, отримані експериментальні результати свідчать, що розроблена мазь під умовною назвою «Ацимір» володіє широким спектром протимікробної дії протягом всього терміну зберігання і додавання до складу антимікробного консерванту є не доцільним.

Висновки до розділу 3

1. Проведено маркетинговий аналіз ЛЗ для лікування герпесвірусних захворювань на фармацевтичному ринку України, за результатами якого встановлено, що ЛФ у вигляді таблеток складають 70 %; 51 % – препаратів виробництва України; 94 % – однокомпонентні; МЛФ складають 8 % від загальної кількості протигерпетичних препаратів.

2. Дослідження розчинності діючих субстанцій показали, що порошок мірамистин розчинний в більшості розчинниках; ацикловір дуже мало розчинний в досліджуваних розчинниках. Встановлено, що розмір частинок субстанції мірамистин в різних розчинниках коливається від 0,01 до 3,5 мкм, а розмір частинок субстанції ацикловір становить від 0,3 до 1,3 мкм.

3. За результатами структурно-механічних досліджень обрано склад маzewої основи (олія вазелінова та парафін).

4. На основі проведених мікробіологічних досліджень встановлена оптимальна концентрація мірамистину у складі мазі – 0,5 %.

5. За результатами проведених мікроскопічних досліджень впливу солюбілізаторів СЦС та гліцерил моностеарата на розчинення частинок діючої субстанції ацикловір при температурах 65 °С, 70 °С, 75 °С встановлено, що введення СЦС забезпечує значне зменшення розміру частинок субстанції ацикловір в мазевій основі (до 0,05-0,07 мкм) у порівнянні з гліцерил моностеаратом (0,7-1,3 мкм). Доведено, що підвищення температури виготовлення МЛФ не впливає на розчинення частинок досліджуваної субстанції. Встановлена концентрація СЦС – 3,0 %.

6. Проведені дослідження осмотичної активності показали, що розроблена мазь володіє малою осмотичною активністю і помірно абсорбує воду (15,0 % протягом 8 год) на рівні препарату порівняння.

7. Дослідження структурно-механічних властивостей розробленої мазі та препарату порівняння «Зовіракс» показали, що їх реологічні характеристики мають подібний характер.

8. З метою підтвердження впливу солюбілізатора СЦС на підвищення біодоступності розробленої мазі проведені біофармацевтичні дослідження з вивільнення ацикловіру. Результати досліджень показали, що додавання солюбілізатора СЦС забезпечує більш повне вивільнення ацикловіру і становить 60 %.

9. На підставі проведених фізико-хімічних, мікробіологічних та фармако-технологічних досліджень розроблено склад, технологію та складено технологічну схему виробництва мазі під умовною назвою «Ацимір».

10. Результати дослідження самоконсервуючої дії складових розробленої мазі, а саме мірамістину, свідчать, що зразок мазі з мірамістином 0,5 % протягом терміну зберігання (27 місяців) практично не змінює свої антимікробні властивості.

11. Розроблено проект технологічного промислового регламенту на виробництво мазі з ацикловіром та мірамістином та проведена його апробація в умовах промислового виробництва ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», м. Харків (акт апробації від 16.02.2021 р.).

Результати досліджень даного розділу представлені в таких публікаціях:

1. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження активних фармацевтичних інгредієнтів у складі м'якої лікарської форми противірусної дії. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2 (59). С. 27–31. (Особистий внесок – участь у плануванні та виконанні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).

2. Hrytsenko V. I., Kienko L. S., Bobrytska L. O. The study of the antimicrobial activity of a soft dosage form with the antiviral effect. *Clinical pharmacy*. 2019. Vol. 2 (23). P. 25–28. (Особистий внесок – участь у проведенні експерименту, обробці результатів та підготовці статті).

3. Lydmila Kienko, Vita Hrytsenko, Larysa Iakovlieva, Larysa Bobrytska. Marketing analysis of the assortment of drugs for the treatment of herpes viral diseases at the pharmaceutical market of Ukraine. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 3 (27).

Р. 70–76. (Особистий внесок – узагальнення та аналіз літературних джерел, підготовка статті).

4. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Шпичак О. С., Германюк Т. А., Назарова О. С. Фармацевтична композиція м'якої лікарської форми з противірусною дією : пат. 134507 України на корисну модель: МПК А61Р 31/04. № 201811079 ; заявл. 09.11.18 ; опубл. 27.05.19, Бюл. № 10. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, обробка первинної інформації, розробка фармацевтичної композиції, систематизація отриманих результатів, формулювання винаходу, участь у підготовці матеріалів для оформлення патентної заявки).

5. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження розчинності ацикловіру та мірамістину з метою створення комбінованого лікарського засобу противірусної дії. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 178.

6. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Аналіз асортименту лікарських засобів для лікування герпесвірусних захворювань, представлених на фармацевтичному ринку України. *Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнародної наук.-практ. конф., присвяченої пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 93–94.

7. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження антимікробної активності фармацевтичної композиції з ацикловіром та мірамістином у вигляді м'якої лікарської форми противірусної дії. *Мікробіологія, вірусологія та імунологія в сучасній клінічній і лабораторній медицині*: матеріали наук.-практ. дистанційної конф., присвяченої пам'яті відомого вченого-мікробіолога, д. мед. наук, проф. І. Л. Дикого, м. Харків, 19 берез. 2020 р. Х. : НФаУ, 2020. С. 28.

8. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження реологічних властивостей мазевих основ для вибору оптимального складу мазі

протівірусної дії. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VIII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес.2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 80.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИК КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ТА ВИВЧЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ПРЕПАРАТУ

Ідентифікацію та кількісне визначення АФІ мазі з ацикловіром та мірамістином проводили на базі АТ «БІОЛПК» під керівництвом начальника відділу фармацевтичної розробки к. фарм. н., с.н.с. Назарової О. С.

4.1 Забезпечення якості фармацевтичної розробки м'якої лікарської форми

Одним із важливих етапів при розробці нового ЛЗ є його стандартизація. В Україні розроблений і введений в дію ряд нормативних документів зі стандартизації АФІ і готових ЛЗ. Важливим завданням фармацевтичної розробки ЛЗ є контроль кількісного вмісту діючих речовин. Мають бути розроблені специфікація на готовий препарат і МКЯ, а також проведена валідація аналітичних методик [10, 108, 120]. Завданням наших досліджень була розробка і валідація МКЯ МЛФ, що містить як діючі речовини ацикловір і мірамістин.

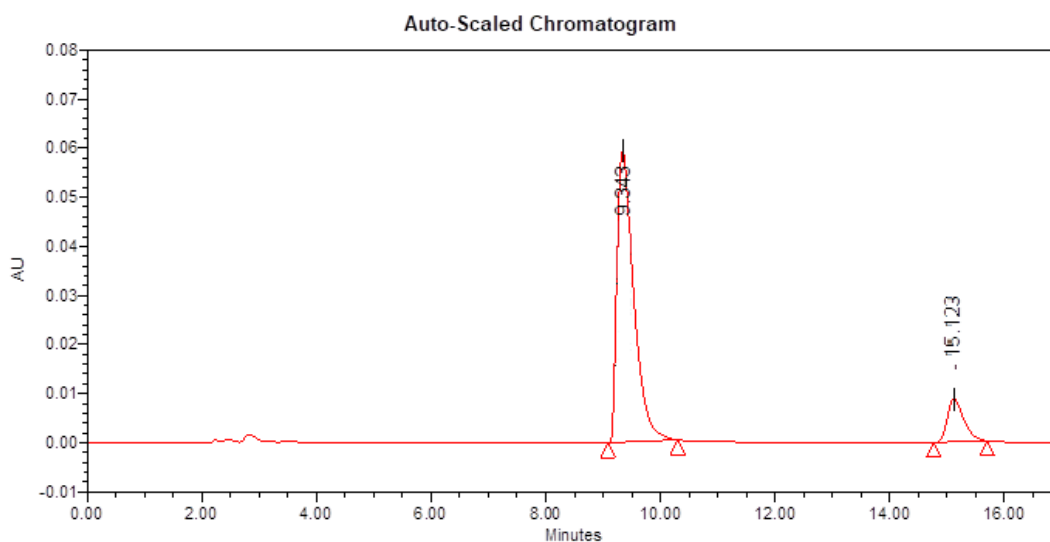
В результаті аналізу фармакопей різних держав (України, Білорусії, Великої Британії, Сполучених Штатів Америки, Японії) встановлено, що основним методом аналізу ацикловіру в різних лікарських формах є ВЕРХ [62, 97].

За літературними даними, для кількісного визначення мірамістину використовують ацидиметрію в неводному середовищі, двофазне титрування з натрію лаурилсульфатом і меркуриметрію. Мірамістин можна визначати методом екстракційної фотометрії з бромтимоловим синім. Однак ці методи мають деякі обмеження при аналізі МЛФ. Виходячи з вищенаведеного, для ідентифікації та кількісного визначення АФІ МЛФ використовували метод ВЕРХ [93, 99].

ВЕРХ є сучасним інструментальним методом аналізу, який дозволяє розділяти компоненти комбінованих ЛП і проводити одночасне їх кількісне визначення та ідентифікацію з високою специфічністю та точністю.

Дослідження проводили з використанням аналітичного обладнання: хроматограф фірми «Waters 2487» (США), ваги BA-210S фірми «Sartorius» (Німеччина), мірний посуд класу А. Використовували наступні умови хроматографування: хроматографічна колонка Waters Spherisorb CNRP розміром (4,6 x 250) мм, заповнена сорбентом з розміром часток 5 мкм. В якості рухомої фази використовували суміш *ацетонітрил Р – буферний розчин* pH 5,0 (50:50). Швидкість потоку – 1,0 мл/хв, температура колонки 30°C. Детектування за довжини хвилі 265 нм. У роботі використовували стандартні зразки ацикловіру і мірамістину для приготування розчину порівняння. Об'єктом досліджень є МЛФ, яка містить в якості діючих речовин ацикловір (фірми «TEVA Pharmaceutical and Chemical (Hangzhou) Co., Ltd», Китай) та мірамістин (фірми ТОВ «Інфамед», Росія).

Ідентифікація. На хроматограмі випробовуваного розчину (рис. 4.1), одержаний в тесті «Кількісне визначення», час утримування основних піків ацикловіру та мірамістину мають співпадати з часом утримування цих піків на хроматограмі розчину порівняння (рис. 4.2).



Integration Results								
	Name	RT	Start Time	End Time	Area	Height	% Area	Int Type
1	Acyclovir	9.343	9.083	10.300	1201993	59423	87.37	BB
2	Myramistin	15.123	14.767	15.700	173805	8783	12.63	BB

Рис. 4.1 Типова хроматограма випробовуваного розчину для тесту «Кількісне визначення»: 1 пік - ацикловір, 2 пік – мірамістин

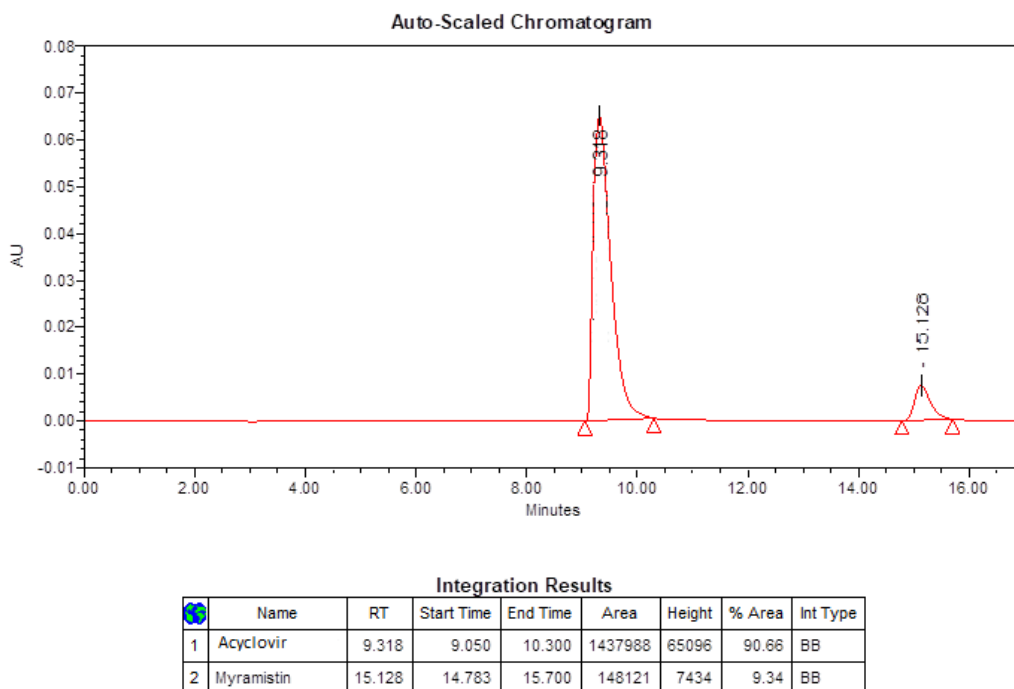


Рис. 4.2 Типова хроматограма розчину порівняння для тесту «Кількісне визначення»: 1 пік - ацикловір, 2 пік – мірамістин

Кількісне визначення. Кількісно ацикловір та мірамістин визначали за методом стандарту та площі піків ацикловіру і мірамістину, отримані при хроматографуванні випробовуваного розчину (рис. 4.1) та розчину порівняння (рис. 4.2). Вміст ацикловіру в 1 г препарату має становити від 47,5 мг до 52,5 мг, мірамістину – від 4,75 мг до 5,25 мг.

Придатність хроматографічної системи визначають за ефективністю хроматографічної колонки, симетрії піків і відтворюваності площ піків ацикловіру та мірамістину на хроматограмах розчинів порівняння. З урахуванням отриманих даних і фармакопейних вимог були встановлені вимоги до придатності хроматографічної системи. Хроматографічну систему вважають придатною, якщо при аналізі хроматограм розчину порівняння виконуються наступні умови: коефіцієнт розділення піків ацикловіру та мірамістину має бути не менше 5,0; ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком ацикловіру та мірамістину, має бути не менше 2000 теоретичних тарілок; коефіцієнт симетрії піків ацикловіру та мірамістину має бути не більше 1,8.

Згідно з вимогами ДФУ в субстанції ацикловіру проводять визначення основної ідентифікованої домішки – гуаніну, вміст якого не має перевищувати 1,0 %. Визначення супровідніх домішок проводять методом тонкошарової хроматографії. Граничний вміст гуаніну у препараті складає 1,0 %: на хроматограмі випробовуваного розчину додаткова пляма на рівні плями на хроматограмі розчину порівняння (а), не має бути інтенсивнішою за пляму на хроматограмі розчину порівняння (b). Хроматограма визначення гуаніну наведена на рис. 4.3.

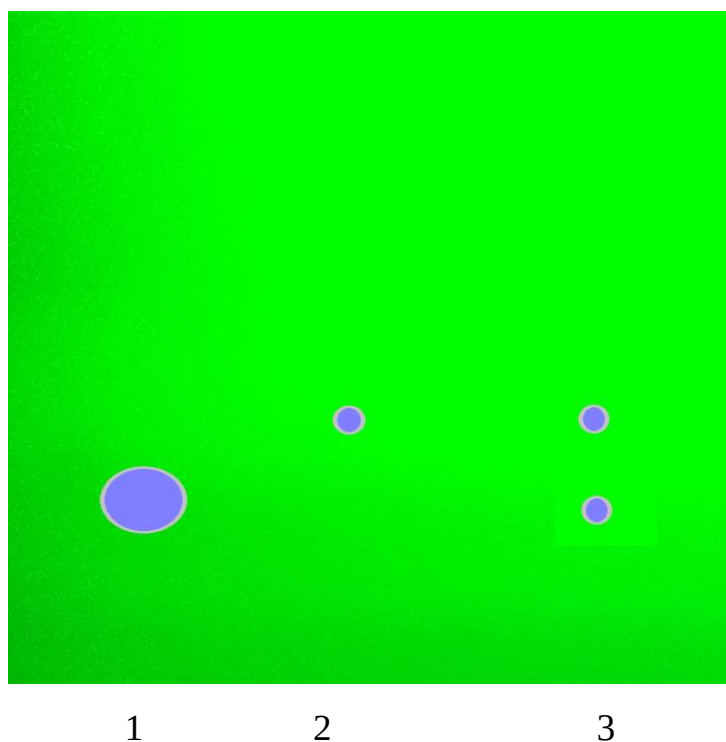


Рис. 4.3 Схема хроматограми для визначення тесту «Гуанін» в системі розчинників 1-пропанол $P - 13,5 M$ розчин аміаку $P - 5 \%$ розчин амонію сульфату $P (10:30:60)$ при перегляданні в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм

Примітки:

1. Випробовуваний розчин – 10 мкл (близько 60 мкг ацикловіру);
2. Розчин порівняння (а) – 10 мкл (6,0 мкг гуаніну);
3. Розчин порівняння (а) + розчину порівняння (b) – по 10 мкл (розчин порівняння (а) і розчину порівняння (b)).

Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо на хроматограмі в загальній точці нанесення розчину порівняння (a) і розчину порівняння (b) виявляються дві чітко розділені плями.

В результаті проведених досліджень складено специфікацію для МЛФ з ацикловіром та мірамістином (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Специфікація для МЛФ

Показники	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Мазь білого або майже білого кольору	За п. 1 Візуально
Ідентифікація ацикловір та мірамістин	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманих в розділі «Кількісне визначення», час утримання основних піків ацикловіру та мірамістину мають співпадати з часом утримування цих піків на хроматограмі розчину порівняння	За п. 2, 8 МКЯ, ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 (метод рідинної хроматографії)
Однорідність	Препарат має бути однорідним	За п. 3 МКЯ Візуально
pH	Від 5,0 до 8,5	За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.2.3
Розмір часток	У 10 полях зору мікроскопу основна маса часток має бути розміром не більше ніж 50 мкм	За п. 5 МКЯ (метод мікроскопії)
Гуанін (супровіднадомішка ацикловіру)	Не більше 1,0 %	За п. 6 МКЯ (метод ТШХ)
Маса вмісту упаковки	Маса вмісту кожної туби має бути не менше 5,0 г	За п. 7 МКЯ (ваговий метод)

Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^2 КУО/г Загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС) – 10^1 КУО/г Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г	За п. 8 МКЯ ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4
Кількісне визначення Ацикловіру ($C_8H_{11}N_5O_3$) Мірамістину ($C_{26}H_{47}ClN_2O$)	В 1 г препарату: Від 47,5 мг до 52,5 мг Від 4,75 мг до 5,25 мг	За п. 9 МКЯ, ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 (метод рідинної хроматографії)

4.2 Валідація методики кількісного визначення м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином

Головною метою валідації аналітичної методики є підтвердження того, що дана методика придатна для вирішення передбачуваних завдань. Валідацію кількісного визначення діючих речовин проводять за основними валідаційними характеристиками: специфічність, правильність, прецизійність (збіжність), лінійність, діапазон застосування. Також проводять розрахунок прогнозованої повної невизначеності результатів аналізу [108].

Дослідження з валідації методики кількісного визначення ацикловіру та мірамістину проведені відповідно до документу CPMP/ICH/381/95 (ICH Topic Q 2 (R1)) «Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology» і загального тексту «Валідація аналітичних методик та випробувань» ДФУ.

Допуски вмісту (В) ацикловіру та мірамістину в готовій ЛФ під час зберігання складають $\pm 5\%$, тому при проведенні валідації критеріями оцінки цієї

методики були параметри для $B = 5,0 \%$, тобто максимальна невизначеність аналізу (Δ_{As}) має бути не більше $1,6 \%$. Нормування вмісту $C_8H_{11}N_5O_3$ (ацикловіру) в 1 г препарату має бути від $47,5$ мг до $52,5$ мг, $C_{26}H_{47}ClN_2O$ (мірамістину) в 1 г – від $4,75$ мг до $5,25$ мг. Вимоги до параметрів лінійної залежності методики визначення діючих речовин виконуються у всьому діапазоні концентрацій від 80% до 120% від номінального значення. На рис. 4.4 та 4.5 наведені лінійні залежності площі піків від концентрації ацикловіру і мірамістину відповідно в нормалізованих координатах.

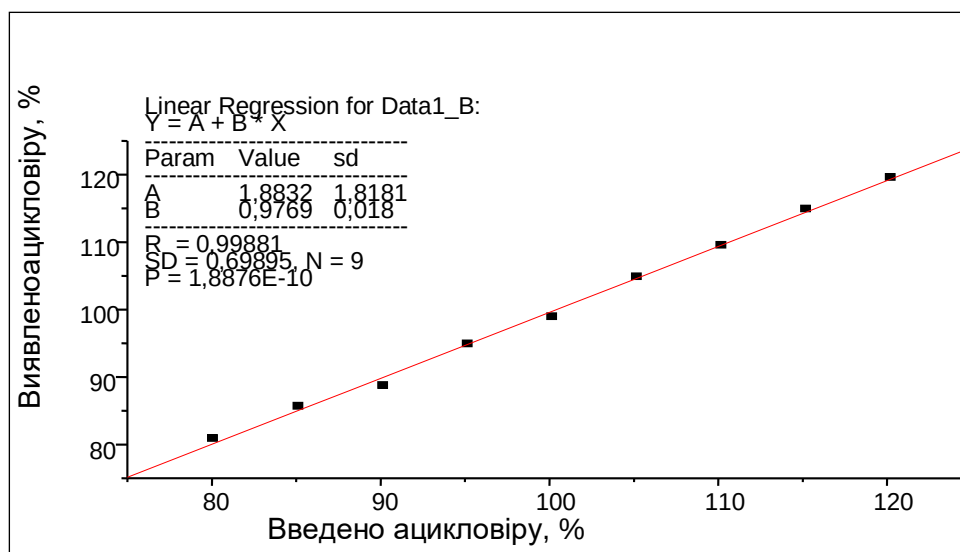


Рис. 4.4 Лінійна залежність площі піку від концентрації ацикловіру в нормалізованих координатах

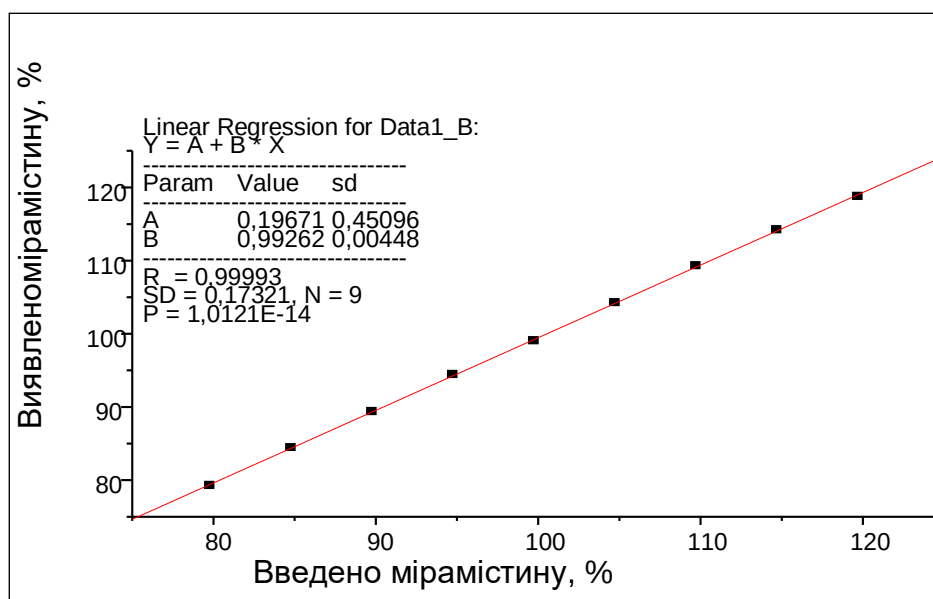


Рис. 4.5 Лінійна залежність площі піку від концентрації мірамістину в нормалізованих координатах

Розрахунок параметрів лінійної залежності $Y_i = b \cdot X_i + a$ для ацикловіру та мірамістину був проведений методом найменших квадратів. Результати наведені в табл. 4.2 та 4.3.

Табл. 4.2

Метрологічні характеристики лінійної залежності для ацикловіру

Параметри	Значення	Критерій	Висновок
b	0,9769	-	-
S _b	0,018	-	-
a	1,8832	1) $\leq 1,8946 \cdot S_a = 3,57 $ 2) якщо не виконується 1), то $\leq 2,6 $	Відповідає Відповідає
S _a	1,8181	-	-
S _r (RSD ₀)	0,69895	-	
S ₀ (RSD ₀ /b)	0,72	≤ 84	Відповідає
r	0,99881	$\geq 0,9981$	Відповідає

Табл. 4.3

Метрологічні характеристики лінійної залежності для мірамістину

Параметри	Значення	Критерій	Висновок
b	0,99262	-	-
S _b	0,00448	-	-
a	0,19671	1) $\leq 1,8946 \cdot S_a = 0,85 $ 2) якщо не виконується 1), то $\leq 2,6 $	Відповідає Відповідає
S _a	0,45096	-	-
S _r (RSD ₀)	0,17321	-	-
S ₀ (RSD ₀ /b)	0,17	≤ 84	Відповідає
r	0,99993	$\geq 0,9981$	Відповідає

Як видно з табл. 4.2 та 4.3, виконуються вимоги до параметрів лінійної залежності (a , r), тобто лінійність методики визначення ацикловіру і мірамістину підтверджується в усьому діапазоні концентрацій (80-120 %).

Високе значення коефіцієнтів кореляції ацикловіру $r = 0,99881$ та для мірамістину $r = 0,99993$, також задовольняє вимогам критерію прийнятності ($r = 0,9981$) і підтверджує лінійність залежності між «введеною» і «визначеною» кількістю досліджуваних речовин (табл. 4.2, 4.3).

З табл. 4.4 видно, що для ацикловіру методика аналізу характеризується достатньою прецизійністю (збіжністю). Знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Z (1,5) менше критичного значення для збіжності результатів (1,6 %). Для мірамістину методика аналізу також характеризується достатньою прецизійністю (табл. 4.5). Знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Z (0,28) менше критичного значення для збіжності результатів (1,6 %).

Виконується критерій незначущості систематичної похибки методики – систематична похибка методики (0,39 та 0,50 відповідно) є статистично і практично незначущою, тобто методика аналізу характеризується достатньою правильністю в усьому діапазоні концентрацій від 80 % до 120 % (табл. 4.4, 4.5).

Табл. 4.4

**Результати аналізу модельних сумішей і їх статистична обробка для
кількісного визначення ацикловіру**

№ модельного розчину	Введено в % до концентрації розчину порівняння ($X_i = C_i/C_{st}$, %)	Виявлено в % до концентрації розчину порівняння ($Y_i = S_i/S_{st}$, %)	Виявлено в % до введеного ($Z_i = Y_i/X_i$, %)
1	80,10	80,88	100,97
2	85,17	85,65	100,56

3	90,18	88,73	98,39
4	95,19	94,90	99,69
5	100,20	98,92	98,72
6	105,21	104,83	99,64
7	110,22	109,51	99,35
8	115,23	114,88	99,70
9	120,24	119,56	99,43
Середнє, Z_{cp} , %			99,61
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % $RSD_z(\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{(z_i - \bar{z})^2}{n-1}}{n-1}}$			0,81
Відносний довірчий інтервал $\Delta (\%) = t(95\%, 8) \cdot RSD_z = 1,8595 \cdot 0,81$			1,50
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As} , % (гранична невизначеність)			1,6
Оцінка збіжності:			$1,50 < 1,6$
Систематична похибка $\delta = Z_{cp} - 100 $			0,39
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) Статистична незначимість: $\Delta / 3 = 0,39 / 3 = 0,13 \quad 0,39 > 0,13$ 2) Практична незначимість: якщо не виконується 1), то $\leq 0,51 > 0,39$			Не виконується
			Виконується
Загальний висновок про методику			Коректна

**Результати аналізу модельних сумішей і їх статистична обробка для
кількісного визначення мірамістину**

№ модельного розчину	Введено в % до концентрації розчину порівняння ($X_i = C_i/C_{st}$, %)	Виявлено в % до концентрації розчину порівняння ($Y_i = S_i/S_{st}$, %)	Виявлено в % до введеного ($Z_i = Y_i/X_i$, %)
1	79,81	79,26	99,31
2	84,80	84,42	99,55
3	89,78	89,35	99,52
4	94,77	94,43	99,64
5	99,76	99,03	99,27
6	104,75	104,23	99,50
7	109,74	109,29	99,56
8	114,72	114,21	99,55
9	119,71	118,76	99,21
Середнє, Z_{cp} , %			99,46
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % $RSD_z(\%) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \frac{(Z_i - \bar{Z})^2}{n-1}}{n-1}}$			0,15
Відносний довірчий інтервал $\Delta(\%) = t(95\%, 8) \cdot RSD_z = 1,860 \cdot 0,15$			0,28
Критичне значення для збіжності результатів Δ_{As} , (гранична невизначеність)			1,6
Оцінка збіжності:			$0,28 < 1,6$
Систематична похибка $\delta = Z_{cp} - 100 $			0,50
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) Статистична незначимість: $\Delta/3 = 0,54/3 = 0,50 < 0,28$ 2) Практична незначимість: якщо не виконується 1), то $\leq 0,51 > 0,50$			Не виконується
			Виконується
Загальний висновок про методику			Коректна

Таким чином, підтверджена лінійність, прецизійність (збіжність) і правильність визначення ацикловіру та мірамістину методом ВЕРХ в діапазоні використання від 80 % до 120 %.

Нами експериментально визначався термін придатності розробленої МЛФ в процесі зберігання зразків. Із метою вивчення терміну придатності мазі «Ацимір» було виготовлено 3 серії препарату та закладено на зберігання при температурі 15-25 °С. У процесі досліджень вивчення стабільності препарату, за Настановою з якості 42-3.3.-2004 «Дослідження стабільності» встановлено, що термін придатності препарату складає 2 роки (табл. 4.6). Первинним пакуванням МЛФ були туби алюмінієві з мембраною для медичних цілей. Впродовж періоду спостереження (27 міс.) МЛФ відповідала вимогам МКЯ та ДФУ за всіма показниками якості.

Продовж. табл. 4.6

Однорідність	Препарат має бути однорідним	00120	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00220	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00320	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
pH	Від 5,0 до 8,5	00120	6,2	6,2	6,2	6,3	6,3	6,3	6,4	6,4
		00220	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,6	6,6	6,6
		00320	7,3	7,3	7,3	7,3	7,4	7,4	7,5	7,5
Колоїдна стабільність	Препарат має бути стабільним	00120	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00220	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00320	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Термостабільність	Препарат має бути термостабільним	00120	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00220	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00320	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Розмір часток	У 10 полях зору мікроскопу основна маса часток має бути розміром не більше ніж 50 мкм	00120	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00220	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00320	Відповідає	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Гуанін (супровідна домішка ацикловіру)	Не більше 1,0 %	00120	0,65 %	0,67 %	0,67 %	0,68 %	0,68 %	0,67 %	0,65 %	0,66 %
		00220	0,70 %	0,70 %	0,71 %	0,69 %	0,69 %	0,68 %	0,71 %	0,69 %
		00320	0,68 %	0,65 %	0,66 %	0,67 %	0,68 %	0,69 %	0,67 %	0,69 %
Маса вмісту упаковки	Маса вмісту кожної туби має бути не менше 5,0 г	00120	5,2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00220	5,1	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
		00320	5,1	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

Продовж. табл. 4.6

Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^2 КУО/г. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) - 10^1 КУО/г. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г.	00120	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – менше 10^2 КУО/г. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – менше 10^1 КУО/г. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
		00220		Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
		00320		Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення: ацикловіру мірамістину	В 1 г препарату: Від 47,5 мг до 52,5 мг Від 4,75 мг до 5,25 мг	00120	50,5 5,05	50,5 5,05	50,5 5,05	50,4 5,04	50,4 5,03	50,3 5,03	50,3 5,03	50,3 5,02
		00220	48,0 4,81	48,0 4,81	48,0 4,80	47,9 4,80	47,9 4,80	47,9 4,80	47,8 4,79	47,8 4,79
		00320	52,5 5,23	52,5 5,23	52,5 5,23	52,5 5,22	52,4 5,22	52,4 5,21	52,4 5,21	52,4 5,21

Висновки до розділу 4

1. Розроблено методику одночасного кількісного визначення ацикловіру та мірамістину у складі МЛФ з використанням методу ВЕРХ.
2. Розроблено методику визначення супровідних домішок ацикловіру в мазі методом тонкошарової хроматографії.
3. Валідаційні дослідження з використанням критеріїв прийнятності для допуску вмісту $\pm 5 \%$ підтверджують специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність) та правильність застосування запропонованої методики кількісного визначення ацикловіру та мірамістину.
4. Складено специфікацію для проведення контролю якості препарату.
5. Вивчено стабільність препарату в процесі тривалого зберігання при температурі не вище 25°C , що стало підставою для визначення терміну придатності препарату – 2 роки.
6. Проведені дослідження мікробіологічної чистоти протягом терміну зберігання (27 місяців) показали, що мазь під умовною назвою «Ацимір» за показником «мікробіологічна чистота» повністю відповідає вимогам ДФУ як до готових нестерильних ЛЗ для зовнішнього застосування.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Розробка методик контролю якості мазі з ацикловіром та мірамістином. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 26 листоп. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 225–226.
2. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Назарова О. С. Розробка і валідація методики кількісного визначення ацикловіру та мірамістину у складі м'якої лікарської форми. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2020. № 4 (64). С. 10–17. (Особистий внесок – участь у проведенні

експерименту, аналіз, узагальнення експериментальних даних, оформлення та підготовка статті до друку).

РОЗДІЛ 5

УЗАГАЛЬНЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ
АКТИВНОСТІ МАЗІ

Вивчення протівірусної активності діючих речовин і мазі проводили на базі лабораторії експериментальної хіміотерапії вірусних інфекцій Національної Академії медичних наук України Державна установа «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського» під керівництвом д.мед.н., проф. Рибалко С. Л.

5.1 Вивчення антигерпетичної активності діючих речовин

Для визначення антивірусної активності використовували вірус простого герпесу II типу, штам ВН, інфекційний титр 5,5-9,0 lg ТЦД₅₀/0,1 мл.

Для визначення СС₅₀ діючих речовин, яка не викликає загибелі клітин, використовували культури клітин *Vero* з метою встановлення наявності або відсутності цитопатогенної дії, ступінь якої визначали за зміною морфології клітин. Методика наведена в главі 2.

За середню цитотоксичну концентрацію діючих речовин приймали їх найбільшу кількість, яка не викликала дегенерації клітин. Результати визначення наведені на рис. 5.1-5.3.

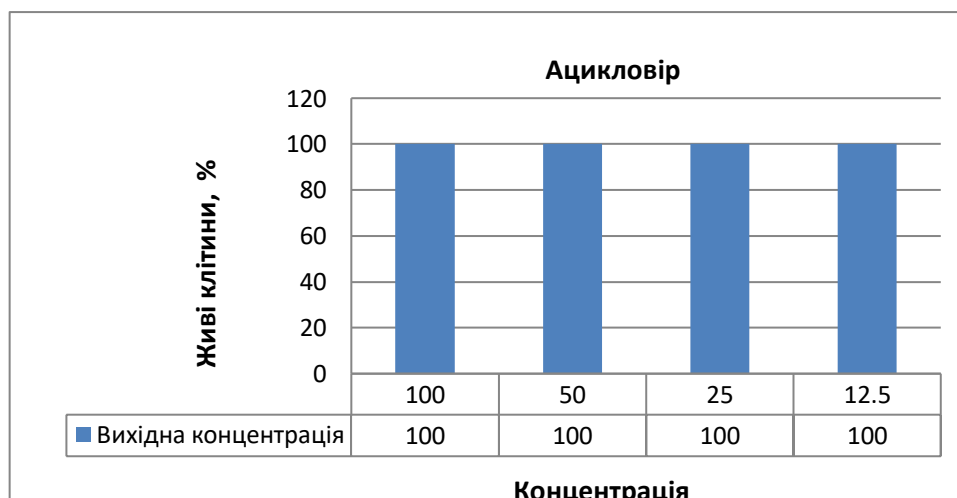
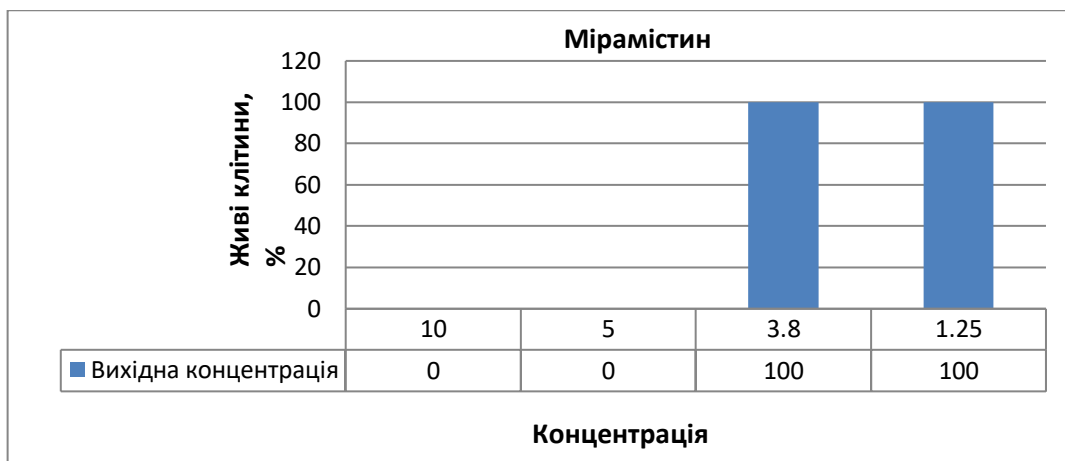
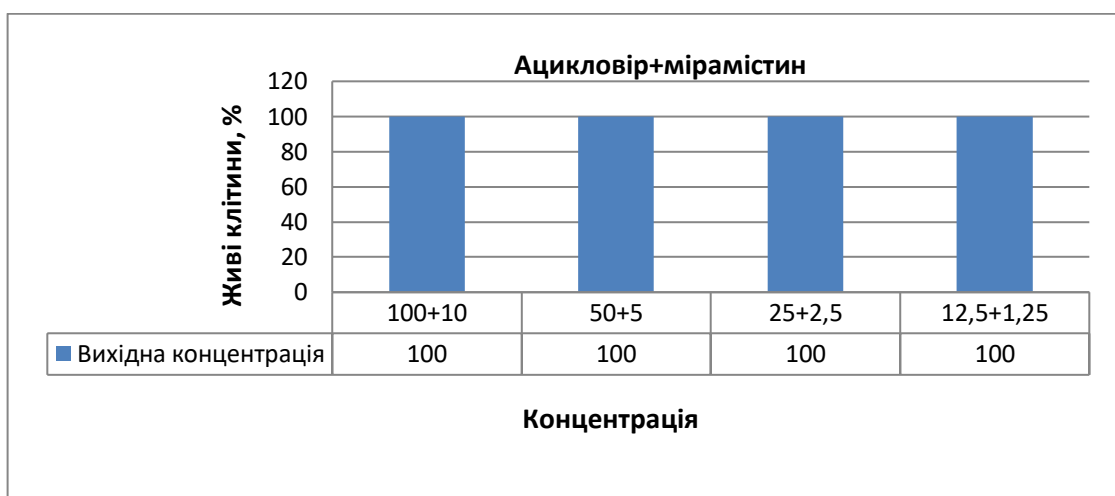


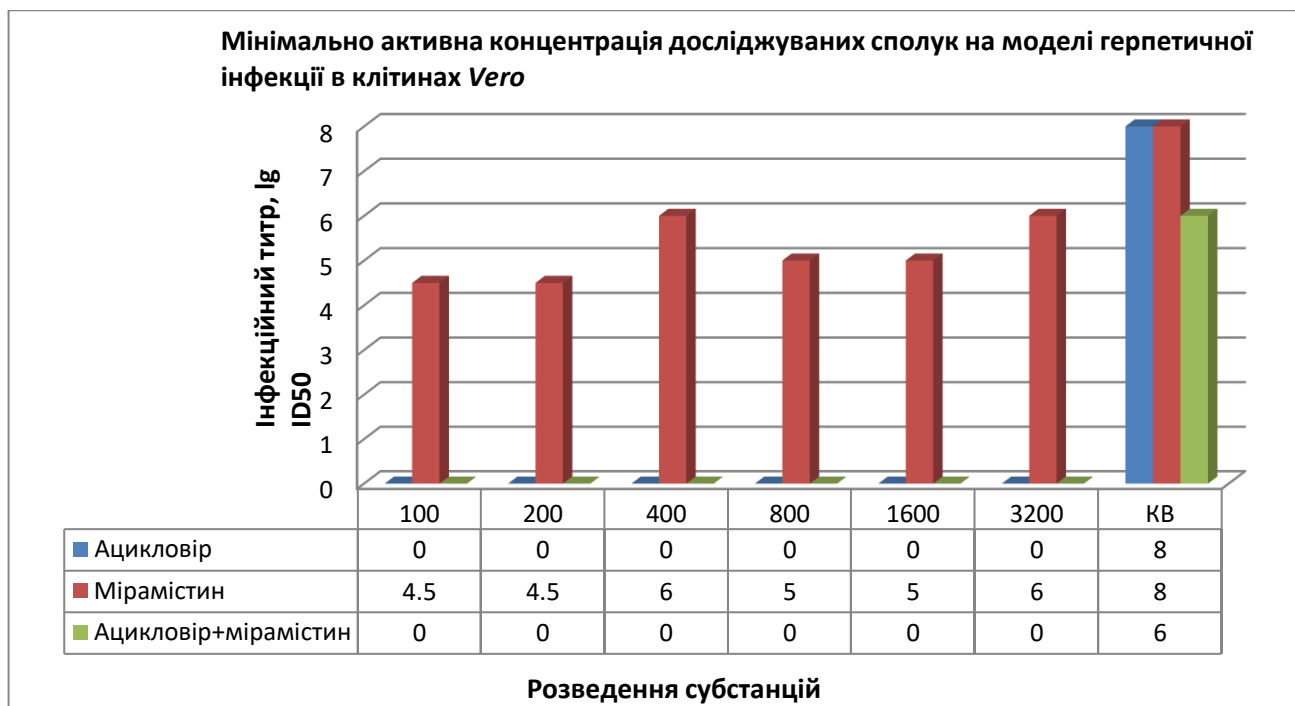
Рис. 5.1 Визначення СС₅₀ субстанції ацикловір

Рис. 5.2 Визначення CC_{50} субстанції мірамістинРис. 5.3 Визначення CC_{50} субстанції ацикловір+мірамістин

В результаті проведених досліджень встановлено, що цитотоксична концентрація ацикловіру становить 100 мкг/мл, мірамістину – 3,8 мкг/мл та суміші ацикловір+мірамістин – 100+10 мкг/мл [28].

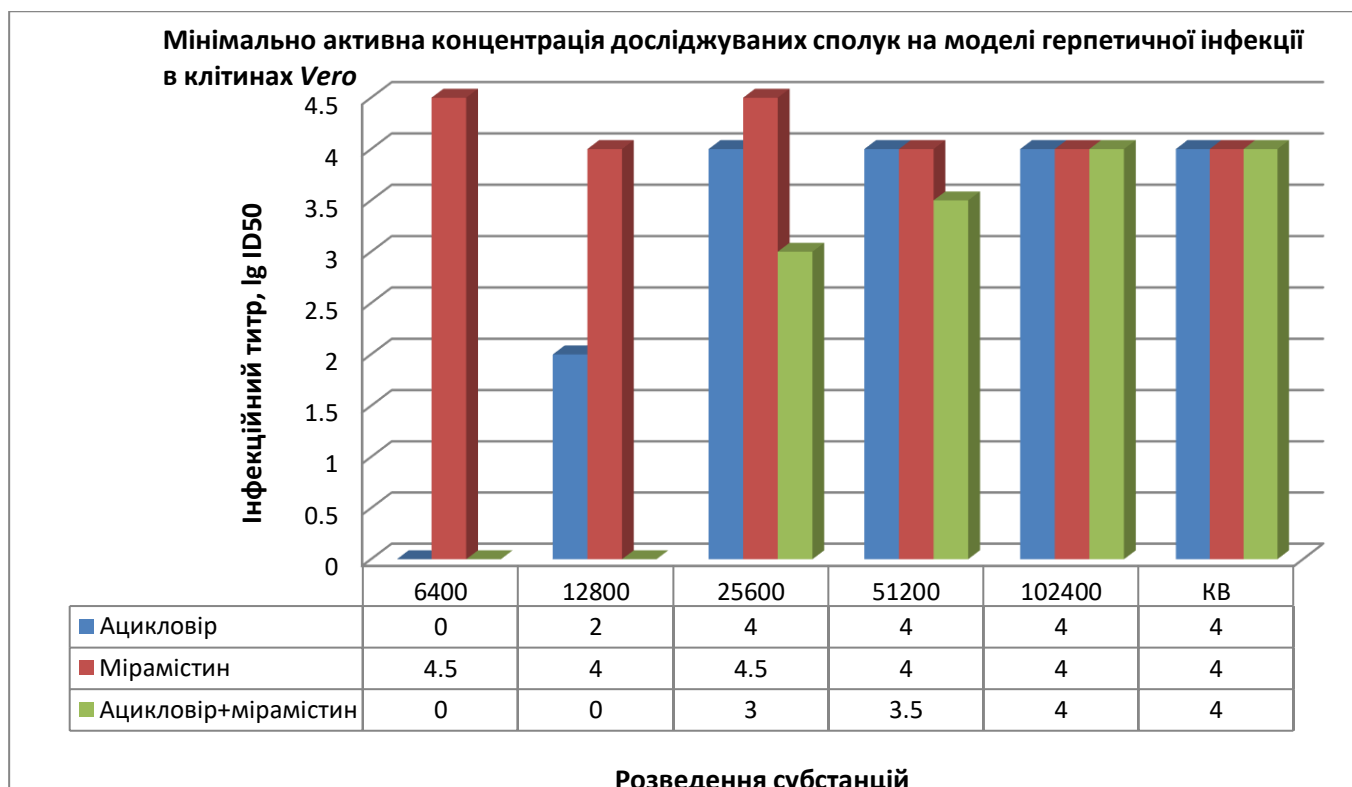
На наступному етапі досліджень проведено визначення ефективної концентрації діючих речовин. EC_{50} – це мінімальна концентрація діючої речовини, яка гальмує розвиток вірус специфічної ЦПД на 50 %.

Для визначення ефективної концентрації діючих речовин використовували тест-вірус у дозі 100 ТЦД₅₀/0,1 мл, який вносили в культуру клітин та інкубували. Методика наведена в главі 2. Результати визначення EC_{50} представлені на рис. 5.4 та 5.5.



Примітка. KB – контроль вірусу.

Рис. 5.4 Мінімально активна концентрація досліджуваних сполук на моделі герпетичної інфекції в клітинах Vero



Примітка. KB – контроль вірусу.

Рис. 5.5 Мінімально активна концентрація досліджуваних сполук на моделі герпетичної інфекції в клітинах Vero

Згідно з результатами визначення інфекційного титру вірусу герпесу II типу (рис. 5.4, 5.5) всі досліджувані діючі речовини ефективно інгібували репродукцію вірусу, а саме: субстанція ацикловір в концентрації 0,39 мкг/мл, мірамістин – 0,15 мкг/мл, ацикловір+мірамістин – 0,39+0,03 мкг/мл.

Проведені дослідження по визначенню цитотоксичної та ефективної концентрацій субстанцій дозволили вирахувати хіміотерапевтичні індекси вищенаведених речовин, шляхом встановлення співвідношення CC_{50} до EC_{50} . Хіміотерапевтичні індекси досліджуваних субстанцій ацикловіру, мірамістину та ацикловіру+мірамістину складають 256,41; 25,3 та 256+333 одиниць відповідно.

Таким чином, проведені дослідження показали, що всі діючі речовини проявляють антигерпетичну активність, найбільше вона виражена в ацикловіру.

5.2 Вивчення антигерпетичної активності м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином *in vivo*

Вивчення протівірусної активності МЛФ *in vivo* проводили на моделі генітального герпесу у мурчаків (модель Маренникової С. С.) [98]. Лікування тварин починали через 24 години після інфікування ВПГ-II. В якості референтного препарату використовували 5 % крем «Зовіракс» виробництва Глаксо Оперейшнс ЮК Лімітед, Велика Британія.

Для проведення експерименту тварини були поділені на 3 групи:

- 1 група – тварини, яких інфікували лише вірусом герпесу;
- 2 група – тварини, яких інфікували вірусом герпесу і лікували МЛФ з ацикловіром та мірамістином;
- 3 – тварини, яких інфікували вірусом герпесу і лікували референтним препаратом – 5 % кремом «Зовіракс».

Критеріями оцінки важкості інфекційного процесу були: площа і ступінь шкірних уражень, зокрема наявність набряку, гіперемія, везикулярний висип, виділення. Максимальна виразність кожної ознаки складала 4 бали. Спостереження за тваринами проводили протягом 10 діб. При дослідженні

ефективності МЛФ на моделі генітального герпесу у мурчаків були одержані наступні результати (табл. 5.1).

Табл. 5.1

Ефективність МЛФ на моделі генітального герпесу у мурчаків

Вплив	Тривалість захворювання, доба	P	СІВЗ, бали	ІЛД, %
Вірус герпесу	10		68,0	
МЛФ: ацикловіру 5%, мірамістину 0,5%	1	< 0,05	4,0	94,2
Крем «Зовіракс», 5 % ацикловір	3	< 0,05	24,0	64,7

Дослідження показали, що використання МЛФ з ацикловіром та мірамістином 1 раз на добу протягом 5 днів знижувало вираженість симптоматики до 4,0 балів, що відповідає ІЛД на рівні 94,2 % і достовірно скорочувало тривалість захворювання до 1 доби [154].

Застосування референтного препарату 5 % крему «Зовіракс» призвело до зниження симптоматики до рівня 24,0 балів, терапевтичний ефект склав 64,7 %, тривалість захворювання у тварин склала 3 доби [115].

Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що субстанції ацикловір та мірамістин – активні інгібітори репродукції ВПГ-II, а розроблений препарат на їх основі є ефективним ЛЗ у лікуванні герпесвірусних хвороб.

Висновки до розділу 5

1. Визначена антигерпетична активність діючих речовин по відношенню до вірусу герпесу II типу: цитотоксична концентрація ацикловіру становить 100 мкг/мл, мірамістину – 3,8 мкг/мл, суміш ацикловір+мірамістин –

100+10 мкг/мл; субстанція ацикловір інгібує репродукцію вірусу в концентрації 0,39 мкг/мл, мірамістин – 0,15 мкг/мл, ацикловір+мірамістин – 0,39+0,03 мкг/мл.

2. За допомогою фармакологічних досліджень встановлено, що при використанні мазі «Ацимір» у мурчаків 1 раз на добу протягом 5 днів достовірно скорочується тривалість захворювання, а ІЛД складає 94,2 %.

3. Результати проведених досліджень підтверджують, що противірусна активність мазі з ацикловіром та мірамістином вища, ніж засобу порівняння – 5 % крему «Зовіракс».

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Hrytsenko VI, Kienko LS, Bobrytska LA, Rybalko SL, Starosila DB. Study of anti-herpetic activity of a soft dosage form with acyclovir and miramistin. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12 (06). P. 397–404. (Особистий внесок – планування експерименту, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

2. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фармакологічне вивчення м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином для лікування герпесвірусних захворювань. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. X. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 83.

ВИСНОВКИ

1. Уперше на підставі фізико-хімічних, мікробіологічних, біофармацевтичних та фармако-технологічних досліджень розроблено склад і технологію виробництва мазі під умовною назвою «Ацимір» з ацикловіром та мірамістином противірусної дії.

2. Проаналізовано та узагальнено дані наукових інформаційних джерел щодо класифікації герпесвірусів, етіології, патогенезу, клінічних проявів і сучасних аспектів лікування герпетичних інфекцій та доведено необхідність створення нового комбінованого противірусного ЛП.

3. Запропоновано методологічні підходи щодо створення ЛП протигерпетичної дії.

4. За результатами проведених маркетингових досліджень вітчизняного ринку фармацевтичних препаратів протигерпетичної дії встановлено доцільність створення нового комбінованого лікарського засобу у вигляді м'якої лікарської форми.

5. Проведено визначення розчинності діючих речовин – ацикловіру та мірамістину; обрано склад маzewої основи – олія вазелінова і парафін у співвідношенні 85:15.

6. На підставі проведених мікробіологічних досліджень було встановлено вміст мірамістину на рівні 0,5 %.

7. Результати проведених мікроскопічних досліджень впливу солюбілізаторів СЦС та гліцерил моностеарата на розчинення частинок субстанції ацикловір показали, що введення СЦС забезпечує значне зменшення розміру частинок субстанції ацикловір в мазевій основі (до 0,05-0,07 мкм) у порівнянні з гліцерил моностеаратом (0,7-1,3 мкм); доведено, що підвищення температури виготовлення МЛФ з 65 ° С до 75 ° С не впливає на розчинення частинок досліджуваної субстанції. Встановлена концентрація СЦС – 3,0 %.

8. Проведені дослідження осмотичної активності показали, що розроблена мазь володіє малою осмотичною активністю і помірно абсорбує воду

(15,0 % протягом 8 год) на рівні препарату порівняння. Аналіз структурно-механічних властивостей розробленої мазі та препарату порівняння «Зовіракс» виявив, що їх реологічні характеристики мають подібний характер.

9. З метою підтвердження впливу солюбілізатора СЦС на підвищення біодоступності розробленої мазі проведені біофармацевтичні дослідження з вивільнення ацикловіру. Результати досліджень показали, що додавання солюбілізатора СЦС забезпечує більш повне вивільнення ацикловіру і становить 60 %.

10. На підставі проведених фізико-хімічних, мікробіологічних та фармако-технологічних досліджень розроблено склад, технологію та складено технологічну схему виробництва мазі під умовною назвою «Ацимір».

11. Проведені дослідження мікробіологічної чистоти протягом терміну зберігання (27 місяців) показали, що мазь під умовною назвою «Ацимір» за показником «мікробіологічна чистота» повністю відповідає вимогам ДФУ як до готових нестерильних ЛЗ для зовнішнього застосування. Результати аналізу самоконсервуючої дії мірамістину свідчать, що зразок мазі з мірамістином 0,5 % протягом терміну зберігання практично не змінює свої антимікробні властивості.

12. З метою стандартизації розробленого препарату опрацьовані методики кількісного визначення АФІ методом ВЕРХ. Досліджено стабільність мазі «Ацимір» у процесі зберігання; режим зберігання мазі – при температурі не вище 25 °С протягом 2-х років.

13. Проведені фармакологічні дослідження мазі «Ацимір» на моделі генітального герпесу у мурчаків. Результати проведених досліджень підтверджують, що противірусна активність мазі з ацикловіром та мірамістином вища, ніж засобу порівняння – крему «Зовіракс».

14. Розроблено проект МКЯ та технологічного регламенту на виробництво мазі з ацикловіром та мірамістином та проведена його апробація в умовах промислового виробництва ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», м. Харків (акт апробації від 16.02.2021 р.).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Алимбарова Л. М., Лазаренко А. А., Баринский И. Ф. Выбор терапии герпесвирусной инфекции по данным мониторинга чувствительности вируса простого герпеса к этиотропным препаратам. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2012. № 2. С. 21–25.
2. Альфа-герпесвирусы: современный взгляд на структуру / Е. В. Маркелова и др. *РМЖ*. 2018. № 4. С. 5–9.
3. Андрашко Ю. В., Чечерська Т. І., Коваль Г. М. Нові аспекти в розумінні перебігу герпетичних захворювань шкіри та ефективна топічна терапія. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2013. № 1 (48). С. 129–134.
4. Андреева В. О. Опыт применения препарата Мирамистин® в комплексе со специальной гинекологической насадкой в комплексном лечении вульвовагинального кандидоза. *Эффективная фармакотерапия*. 2017. № 25. С. 6–12.
5. Бабій О. В., Ващенко К. Ф. Розробка технології гелю для зовнішнього лікування герпетичної інфекції. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2016. Вип. 26. С. 122–127.
6. Башура А. О., Башура О. Г., Половко Н. П. Обґрунтування складу гелю з настойкою листя гіркокаштану. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини*. 2012. Том 7, № 1. С. 60–65.
7. Бизунок Н. А., Гайдук А. В. Противовирусные средства : учеб.-метод. пособие. Минск : БГМУ, 2016. 52 с.
8. Биофармация : уч. пособ. / под. ред. В. В. Гладышева. Днепро : ЧМП «Экономика», 2018. 261 с.
9. Бобрицька Л. О., Рубан О. А., Пуляев Д. С. Особливості перебігу та аспекти фармакотерапії герпесвірусної інфекції. *Postępywnaucewostatnichlatach. Nowychrozwiązań : zbiórraportównaukowych*, Warszawa, 28-30 December 2012. Część 9, 2012. P. 29–31.

10. Борщевский Г. И., Гризодуб А. И., Шевина В. Л. Стандартизованная процедура валидации методик количественного определения суммарных препаратов в варианте калибровочного графика. *Фармаком.* 2013. № 3. С. 24–33.
11. Веретенникова М. А. Современная фармакотерапия герпеса с использованием различных лекарственных форм. *Фармацевтические науки.* 2014. № 8. С. 1630–1634.
12. Верниковский В. В. Биофармацевтические исследования по разработке раноочищающих мазей с протеолитическими ферментами. *Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Естественные науки. Спецвыпуск: Фармакология.* 2006. С. 31-33.
13. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. / Ю. Л. Волянський та ін. Київ, 2004. 38 с.
14. Визначення температурних режимів виробництва м'якої лікарської форми з катіазином / О. Л. Івахненко та ін. *Український журнал клінічної та лабораторної медицини.* 2012. Т. 7, № 4. С. 208–211.
15. Викулов Г. Х. Иммунологические аспекты герпес-вирусных инфекций. *Клиническая дерматология и венерология.* 2015. № 5. С. 104–114. DOI:10.17116/klinderma2015145104-114/ (дата обращения: 09.10.2018).
16. Викулов Г. Х., Вознесенский С. Л. Комбинированная противовирусная терапия простого герпеса. *Врач.* 2019. Т. 30, № 5. С. 27–34. DOI: 10.29296/25877305-2019-05-05
17. Влияние высокомолекулярных вспомогательных веществ на оптимизацию фармакокинетических свойств лекарственных препаратов / П. О. Бочков и др. *Фармакокинетика и фармакодинамика.* 2016. № 1. С. 3–11.
18. Волянський Ю. Л., Бобрицька Л. О. Дослідження специфічної активності лікарського препарату на основі валацикловіру. *Запорозький медичний журнал.* 2011. Т. 13, № 6. С. 103–105.

19. Герпес-вирусная инфекция в дерматологии: проблемы и современный подход к лечению / Н. В. Кунгуров и др. *Клиническая дерматология и венерология*. 2015. № 5. С. 117–124. DOI:10.17116/klinderma2015145117-124
20. Герпетична інфекція на слизовій оболонці порожнини рота та шкірі обличчя: частота, структура і клінічні прояви / К. Є. Іщейкін та ін. *Вісник проблем біології і медицини*. 2011. Вип. 3. Т. 3 (89). С. 69–74.
21. Гильдеева Г. Н., Белостоцкий А. В. Концепция Quality-by-Design как ключевой элемент в обеспечении качества лекарственных препаратов. *Менеджмент*. 2017. № 3. С. 54–58. DOI: 10.21518/1561-5936-2017-3-54-58
22. Горячкина М. В., Белоусова Т. А. Эпизодическая и супрессивная терапия простого герпеса ациклическими нуклеозидами. *Клиническая дерматология и венерология*. 2014. № 12 (4). С. 68–74.
23. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Аналіз асортименту лікарських засобів для лікування герпесвірусних захворювань, представлених на фармацевтичному ринку України. *Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці: матеріали міжнародної наук.-практ. конф., присвяченої пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 93–94.*
24. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. До питання створення м'яких лікарських засобів протівірусної дії. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей І наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2018. С. 77.*
25. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження антимікробної активності фармацевтичної композиції з ацикловіром та мірамістином у вигляді м'якої лікарської форми протівірусної дії. *Мікробіологія, вірусологія та імунологія в сучасній клінічній і лабораторній медицині: матеріали наук.-практ. дистанційної конф., присвяченої пам'яті відомого вченого-мікробіолога, д. мед. наук, проф. І. Л. Дикого, м. Харків, 19 берез. 2020 р. Х. : НФаУ, 2020. С. 28.*

26. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження реологічних властивостей мазевих основ для вибору оптимального складу мазі противірусної дії. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VIII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 80.

27. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Перспективи створення лікарських препаратів для лікування вірусних захворювань. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль : ТДМУ, 2018. С. 197.

28. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фармакологічне вивчення м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином для лікування герпесвірусних захворювань. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 83.

29. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження активних фармацевтичних інгредієнтів у складі м'якої лікарської форми противірусної дії. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2 (59). С. 27–31.

30. Гурєєва С. М., Демчук М. Б., Грошовий Т. А. Дослідження асортименту допоміжних речовин, які використовують в лікарських засобах, що зареєстровані на території України. *Фармацевтичний часопис*. 2013. № 1. С. 63–68.

31. Давтян Л. Л., Вашук В. А., Поліщук Ю. П. Реологічні дослідження як основа технологічного процесу у разі створення нового лікарського засобу. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 4. С. 54–58.

32. Державна фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1–е вид., 2 допов. Х. : Держ. п–во «Науково–експертний фармакопейний центр», 2008. 620 с.
33. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Х. : Держ. п–во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.
34. Державна фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1–е вид. Х. : РІРЕГ, 2001. 556 с.
35. Державний реєстр лікарських засобів України / МОЗ України, 2018. URL: <http://www.drlz.com.ua/> (дата звернення: 15.03.2019).
36. Диагностика и лечение герпетических инфекций / В. А. Исаков и др. *Вестник Новгородского государственного университета*. 2019. № 3 (115). С. 31–35.
37. Долгих Т. И., Минакова Е. Ю., Сербаяев Д. А. Герпесвирусные инфекции: стратегия диагностики. *Лабораторная диагностика*. 2014. № 5. С. 4–7.
38. До питання комбінованих лікарських засобів / А. Б. Зіменковський та ін. *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація*. 2014. № 3-4. С. 8–15.
39. До питання про герпетичну інфекцію як актуальну проблему сьогодення / В. П. Борак та ін. *Актуальная инфектология*. 2016. № 2. С. 53–58.
40. Допоміжні речовини у виробництві ліків : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / О. А. Рубан та ін. ; за ред. І. М. Перцева. Х. : Золоті сторінки, 2016. 720 с.
41. Дослідження асортименту допоміжних речовин, які використовують у лікарських засобах, зареєстрованих на території України / О. І. Лукашів та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2013. № 3. С. 50–54.

42. Дунаевский А. М., Кириченко И. М. Клиническое обоснование использования препарата Мирамистин в терапии инфекционно-воспалительных заболеваний респираторной системы (обзор литературы). *Поликлиника*. 2013. № 5. С. 6–12.
43. Дьячкова Л. В., Трухачева Т. В., Жебентяев А. И. Изучение структурно-механических свойств мазевых основ. *Вестник фармации*. 2012. № 3 (57). С. 23–28.
44. Еленская Ю. Р. Оценка эффективности местного лечения герпетического стоматита у детей с использованием полотна трикотажного медицинского сетчатого для мазевых повязок. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2012. Т. 11, № 2. С. 179–183.
45. Жизномирська О. О., Слаба О. М., Мінько Л. Ю. Клінічні аспекти, комплексна терапія та профілактика гострого герпетичного стоматиту (випадок із практики). *Клінічна стоматологія*. 2016. № 1. С. 16–21.
46. Жолобак Н. М. Состояние и перспективы современной противовирусной терапии. *Научный медицинский вестник*. 2016. № 1 (3). С. 89–105.
47. Завіднюк Н. Г. Сучасний погляд на комбіноване лікування деяких герпетичних інфекцій. *Вісник наукових досліджень*. 2015. № 4. С. 14–17. DOI:10.11603/1681-276X.2015.4.5632
48. Запольський М. Е. Захворювання шкіри, асоційовані з вірусами простого герпесу 1-го та 2-го типів (клінічні прояви, особливості патогенезу, лікування і профілактика) : автореф. дис. ... д-ра мед. наук : 14.01.20 / ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України». Харків, 2014. 34 с.
49. Изменение параметров высвобождения метилурацила в зависимости от выбранной основы / Л. Л. Давтян и др. *Рецепт*. 2013. № 4. С. 89–95.
50. Иммуная система человека и особенности патогенеза герпетической инфекции (обзор) / Д. М. Собчак и др. *СТМ*. 2014. Т. 6, № 3. С. 118–127.
51. Імунотерапевтичні підходи у лікуванні герпетичних інфекцій / О. І. Скроцька та ін. *Наукові праці НУХТ*. 2012. № 47. С. 23–28.

52. Інфекційні хвороби : підручник / за ред. А. В. Черновіл, Р. Ю. Грицко. Київ : медицина, 2012. 432 с.
53. Исаков В. А., Архипова Е. И., Исаков Д. В. Герпесвирусные инфекции человека: руководство для врачей / ред. В. А. Исакова. Изд. 2-е, перераб. и доп. СПб. : СпецЛит, 2013. 670 с.
54. Исаков Д. В., Исаков В. А. Новые аспекты патогенеза простого герпеса (обзор). *Вестник гематологии*. 2016. Т. XII, № 4. С. 13–18.
55. Исаков В. А., Исаков Д. В. Иммуномодуляторы в терапии и профилактике герпесвирусных инфекций. *Клиническая медицина*. 2015. № 93 (4). С. 16–24.
56. Исследование ассортимента лекарственных средств в лекарственной форме мази / И. В. Гаммель и др. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2019. Т. 22, № 8. С. 3–9. DOI: 10.29296/25877313-2019-08-01
57. Исследование некоторых физико-химических свойств действующих и вспомогательных веществ на этапе фармацевтической разработки препаратов в форме гелей / А. Н. Ляпунов и др. *Фармаком*. 2017. № 4. С. 7–16.
58. Использование иммуномодуляторов в терапии рецидивирующего герпеса / В. А. Исаков и др. *TERRAMEDICA®*. 2015. № 1-2. С. 45–53.
59. Казанцева И. А., Казанцева Н. Н. Эффективность местного применения ацикловира в лечении герпеса губ у детей. *Вестник ВолгГМУ*. 2016. № 4 (60). С. 96–98.
60. Казмирчук В. Е., Мальцев Д. В. Рекомендации по лечению герпесвирусных инфекций человека. *Український медичний часопис*. 2012. № 5 (91). С. 94–106.
61. Кащенко І. М. Диференційований підхід до лікування генітального герпесу у жінок репродуктивного віку з урахуванням цитокінового статусу : дис. ... к-та мед. наук: 14.01.01 / Державна установа «Інститут урології Національної академії медичних наук України». Київ, 2015. 156 с.

62. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Розробка методик контролю якості мазі з ацикловіром та мірамістином. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції, м. Харків, 26 листоп. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 225–226.

63. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження розчинності ацикловіру та мірамістину з метою створення комбінованого лікарського засобу протівірусної дії. *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку*: матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 178.

64. Компендиум. Лекарственные препараты. URL: <http://compendium.com.ua/> (дата звернення: 08.05.2019).

65. Комплексная супрессивная терапия герпетической инфекции / М. Э. Запольский и др. *Здоровье мужчины*. 2017. № 2 (61). С. 128–131.

66. Коровина А. Н., Куханова М. К., Кочетков С. Н. Пошук інгібіторів реплікації вірусу герпесу: 30 років після ацикловіру. *Biotechnologia acta*. 2013. № 6 (4). С. 78–85.

67. Копча В. С., Завіднюк Н. Г., Ничик Н. А. Сучасні етіотропні протівірусні хіміопрепарати. *Інфекційні хвороби*. 2013. № 1. С. 84–95.

68. Кочергин Н. Г., Петрунин Д. Д. Современный взгляд на проблему выбора лекарственной формы средств наружной терапии. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2012. № 4 (47). С. 59–67.

69. Кравченко Л. В., Афонин А. А., Демидова М. В. Нарушение иммунной системы при герпесвирусной инфекции. *Детские инфекции*. 2012. № 1. С. 33–37.

70. Креми косметичні. Загальні технічні умови: ДСТУ 4765:2007; чинний від 01.01.2009. Київ : Держспоживстандарт України, 2009. 7 с. (Національний стандарт України).

71. Кускова Т. К., Белова Е. Г. Семейство герпесвирусов на современном этапе. *Лечащий врач*. 2014. № 5. С. 5–9.

72. Куханова М. К., Коровина А. Н., Кочетков С. Н. Вирус простого герпеса человека: жизненный цикл и поиск ингибиторов. *Успехи биологической химии*. 2014. Т. 54. С. 457–494.

73. Кучина Л. К., Гладишев В. В., Бірюк І. А. Термогравіметричні дослідження супозиторіїв із дилтіаземом. *Фармацевтичний журнал*. 2015. № 3. С. 34–38.

74. Кучина Л. К., Гладишев В. В., Пухальська І. О. Термогравіметричні дослідження гелю назального з дилтіаземом. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2015. № 3 (19). С. 30–33.

75. Лікарські засоби. Фармацевтична система якості : Настанова СТ-Н МОЗУ 42–4.3:2011. (ICH Q10) / розроб. М. О. Ляпунов та ін. Вид. офіц. К. : МОЗ України, 2011. 30 с.

76. Літвінова О. М. Розробка складу та технології вагінальних супозиторіїв з ацикловіром і ефірними оліями чайного дерева та чебрецю : дис. ... к-та фармац. наук: 15.00.01 / НФаУ. Харків, 2018. 185 с.

77. Ляпунов Н. А., Безуглая Е. П. Современная методология фармацевтической разработки лекарственных препаратов. *Фармацевтическая отрасль*. 2013. №1 (36). С. 79–86.

78. Мавров Г. И., Нагорный А. Е., Унучко С. В. Противовирусная терапия инфекций, вызванных вирусами группы Herpes. *Дерматологія та венерологія*. 2011. № 4 (54). С. 13–26.

79. Макаренко В. Д. Герпесвирусная инфекция: мифы и реалии (обзор). *Annals of Mechnikov Institute*. 2015. № 1. С. 8–13.

80. Маркелова Е. В., Сайбель А. В., Красницкая А. С. Современные представления о процессах латенции и реактивации герпесвирусов I типа. *Фундаментальные исследования*. 2012. № 12. С. 418–425.

81. Матейко Г. Б. Герпесвірусні інфекції: раціональні підходи до лікування та діагностики. *Семейная медицина*. 2013. № 4 (48). С. 17–24.

82. Методологічні аспекти створення м'якої лікарської форми противірусної дії / В. І. Гриценко та ін. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2021. № 1 (65). С. 21–26.

83. Модифицированная терапия герпетической инфекции / Т. В. Сологуб и др. *Клиническая медицина*. 2011. Т. 89, № 3. С. 54–57.

84. Морфологічні та вірусологічні характеристики експериментальної вірусної інфекції, викликаной вірусом простого герпесу 1 типу / І. В. Гомоляка та ін. *Лабораторна діагностика*. 2012. № 2 (60). С. 41–45.

85. Мягкие лекарственные средства: фармацевтическая разработка и трансфер технологии / Н. А. Ляпунов и др. *Фармацевтическая отрасль*. 2014. № 5 (46). С. 22–33.

86. Нагоев Б. С., Камбачокова З. А. Состояние клеточного иммунитета у больных герпесвирусными инфекциями. *Вестник новых медицинских технологий*. 2011. Т. XVIII, № 3. С. 325–327.

87. Неверов В. А., Васильев В. В., Демиденко Т. П. Герпесвирусные инфекции, вызываемые нейро-тегментальнотропными вирусами (HSV-I, II, и VZV). *Russian Family Doctor*. 2017. Vol. 21, № 1. С. 29–38. DOI:10.17816/RFD2017129-38

88. Нестерова И. В., Халтурина Е. О. Моно- и микст-герпесвирусные инфекции: ассоциированность с клиническими синдромами иммунодефицита. *Вестник РУДН. Серия: медицина*. 2018. № 22 (2). С. 226–234. DOI:10.22363/2313-0245-2018-22-2-226-234 / (дата обращения: 29.09.2020).

89. Оценка микробиологической чистоты нестерильных лекарственных средств и видового спектра микроорганизмов-контаминантов / О. В. Гунар и др. *Ведомости НЦЭСМП*. 2014. № 4. С. 7–11.

90. Панкратов О. В. Иммуномодуляторы в лечении герпетической инфекции, вызванной вирусом простого герпеса. *Медицинские новости*. 2011. № 4. С. 18–24.

91. Пелех І. Р., Білоус С. Б. Сучасні підходи до застосування емульгаторів та консервантів у складі дерматологічних лікарських засобів. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 3. С. 52–57. DOI: 10.11603/2312-0967.2018.3.9453
92. Переваги складу та активності нової комбінованої мазі з етонієм у лікуванні ранового процесу / Л. Б. Іванчик та ін. *Врачебное дело*. 2019. № 1-2. С. 126–133. DOI: 10.31640/JVD.1-2.2019(19)
93. Перспективи створення противірусного лікарського препарату на основі сировини синтетичного походження / О. С. Бурдак та ін. *Вісник фармації*. 2019. № 1 (97). С. 26–32. DOI: <https://doi.org/10.24959/nphj.19.2>
94. Пивовар М. Л., Жебентяев А. И. Экстракция ацикловира и аллопуринола органическими растворителями. *Вестник фармации*. 2010. Т. 49, № 3. С. 78–84.
95. Пирогова В. І., Голюк Н. Я., Вереснюк Н. С. Стратегія і тактика при герпесвірусних ураженнях органів репродуктивної системи. *Здоровье женщины*. 2012. № 5 (71). С. 69–73.
96. Попова О. І. Герпетична інфекція як провідна медико-соціальна проблема. *Современная стоматология*. 2013. № 2. С. 48–50. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23839615/> (дата звернення: 25.08.2019).
97. Порівняльний аналіз фармакопей провідних країн світу щодо класифікації м'яких лікарських засобів / Т. А. Шостак та ін. *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація*. 2014. № 3-4. С. 136–139.
98. Разработка и практическое использование новых экспериментальных моделей разных форм герпетической инфекции / С. С. Маренникова и др. *Вопросы вирусологии*. 1986. № 1. С. 59-65.
99. Розробка і валідація методики кількісного визначення ацикловіру та мірамістину у складі м'якої лікарської форми / В. І. Гриценко та ін. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2020. № 4 (64). С. 10–17.
100. Рублева О. В. Герпесвирусная инфекция и противовирусные препараты в практике врача. *Поликлиника*. 2013. № 2. С. 80–82.

101. Руденко В. В. Методологічні підходи до розробки дерматологічних м'яких лікарських засобів. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 2. С. 65–68.
102. Савичук Н. О. Превентивна та протирецидивна терапія захворювань слизової оболонки порожнини рота й губ, асоційованих з вірусами герпесу. *Современная стоматология*. 2011. № 5. С. 35–38.
103. Сергеева И. Г., Макарова Н. Г. Современная топическая терапия пациентов с рецидивами простого герпеса. *Вестник Новосибирского государственного университета*. 2014. Т. 12, № 1. С. 94–101.
104. Сеткина С. Б., Хишова О. М. Биофармацевтические аспекты технологии лекарственных средств и пути модификации биодоступности. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2014. Т. 13, № 14. С. 162–172.
105. Современные аспекты тактики при генитальной герпесвирусной инфекции: обзор литературы / Т. Ю. Пестрикова и др. *Гинекология*. 2018. Т. 20, № 2. С. 67–73. DOI: 10.26442/2079-5696_2018267-73
106. Современные биофармацевтические аспекты вспомогательных веществ / А. И. Тенцова и др. *Фармация*. 2012. № 7. С. 3–7.
107. Соколенко М. О., Москалюк В. Д., Соколенко А. А. Вплив герпесвірусів на імунний статус пацієнтів, неінфікованих ВІЛ-інфекцією. *Буковинський медичний вісник*. 2016. № 1 (77). С. 161–165.
108. Стандартизованная процедура валидации методики количественного определения при исследовании биоэквивалентности *in vitro* / А. И. Гризодуб и др. *Фармаком*. 2013. № 4. С. 36–50.
109. Сучасні проблеми, діагностика та лікування герпесвірусних інфекцій / О. Г. Андрєєва та ін. *На допомогу практикуючому лікарю*. 2020. Т. 8, № 3-4. С. 63–67.
110. Сушинская О. А., Голяк Н. С., Царенков В. М. Методы исследования высвобождения лекарственных веществ из наружных лекарственных форм. *Вестник фармации*. 2019. № 4 (86). С. 86–96.

111. Тельнова Е. А., Щепин В. О., Загоруйченко А. А. Противовирусные препараты: от создания до настоящего времени. *Бюллетень национального научно-исследовательского института общественного здоровья имени Н. А. Семашко*. 2020. № 4. С. 108–119. DOI:10.25742/NRIPH.2020.04.014 / (дата обращения: 15.12.2020).

112. Технология повышения биологической и фармацевтической доступности лекарственных веществ / К. В. Алексеев и др. *Вестник новых медицинских технологий*. 2012. № 9. С. 43–47.

113. Ткачова О. В., Билов І. Є. Аналіз доказової бази клінічної ефективності та безпеки ацикловіру для місцевого застосування. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 4. С. 23–29. DOI: 10.24959/cphj.20.1542

114. Туркіна В. А., Перейма І. В. Токсичність ацикловіру в експерименті (огляд літератури). *Сучасні проблеми токсикології, харчової та хімічної безпеки*. 2015. № 3. С. 82–86.

115. Фармацевтична композиція м'якої лікарської форми з противірусною дією : пат. 134507 України : МПК А61Р 31/04. № u 201811079 ; заявл. 09.11.2018 ; опубл. 27.05.2019, Бюл. № 10.

116. Фармацевтичні та медико–біологічні аспекти ліків : навч. посіб. /за ред. І. М. Перцева. Вінниця : Нова книга, 2007. 728 с.

117. Чалый Г. Ю., Хейдоров В. П. Кинетическое и масс-спектрометрическое исследование окислительной трансформации ацикловира. *Вестник фармации*. 2012. № 4 (58). С. 37–42.

118. Чемя М. Д., Ільїна В. В., Лимарь М. В. Клініко-епідеміологічні особливості герпесвірусної інфекції. *Інфекційні хвороби*. 2016. № 1 (83). С. 23–27.

119. Шестакова И. В. Противовирусные препараты. *Журнал для непрерывного медицинского образования врачей*. 2015. № 1. С. 77–86.

120. Шкляев С. А. Обґрунтування та встановлення критерію прийнятності при валідації технологічних процесів на фармацевтичному підприємстві. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 4. С. 43–46.

121. Шмига Т. В., Гаєвська В. Ю., Гаєвський В. Ю. Особливості імунної відповіді при рецидивуючій герпетичній інфекції першого та другого типів. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2017. Т. XVI, №1 (59). С. 190–194.
122. Юлиш Е. И. Стратегия взаимоотношений и взаимодействий человека и герпесвирусных инфекций. *Здоровье ребенка*. 2015. № 3 (63). С. 93–98.
123. Antonelli G., Turriziani O. Antiviral therapy: old and current issues. *International J. of Antimicrobial Agents*. 2012. Vol. 40, № 2. P. 95–102. DOI:10.1016/j.ijantimicag.2012.04.005 / (Date of access: 24.03.2019).
124. A review on self-emulsified drug delivery system / P. Thakare et al. *Pharmaceutical and Biological Evaluations*. 2016. Vol. 3 (2). P. 140–153.
125. Basics of pharmaceutical emulsions: a review / A. K. Barkat et al. *African journal of pharmacy and pharmacology*. 2011. Vol. 5 (25). P. 2715–2725. DOI: 10.5897/AJPP11.698
126. Brandstadter J. D., Yang Y. Natural killer cell responses to viral infection. *J. Innate Immun*. 2011. Vol. 3, № 3. P. 274–279.
127. Brown J. C., Newcomb W. W. Herpesvirus capsid assembly: insights from structural analysis. *Current opinion in virology*. 2011. Vol. 1. P. 142–149.
128. Clercq E. De. A 40-year journey in search of selective antiviral chemotherapy. *Annu Rev. Pharmacol Toxicol*. 2011. Vol. 51. P. 1–24. DOI:10.1146/annurev-pharmtox-010510-100228/ (Date of access: 16.11.2019).
129. DNA sensing independent inhibition of herpes simplex virus type 1 replication by DAI/ZBP1 / T.H. Pham et al. *Journal of virology*. 2013. Vol. 87. P. 3076–3086.
130. Daniel Ruderfer, Leonard R. Krilov Herpes simplex viruses 1 and 2. *ResearchGate*. 2015. Vol. 36, № 2. P. 86–90. DOI:10.1542/pir.36-2-86 (Date of access: 05.12.2019).
131. Diefenbach R. J., Fraefel C. Herpes Simplex Virus: Methods and Protocols / Humana Press, Springer Science+Business Media, 2014. 331 p.

132. Global and regional estimates of prevalent and incident herpes simplex virus type 1 infections in 2012 / K. J. Looker et al. *PLoS One*. 2015. Vol. 10, № 10. P. 1–23.

133. Hrytsenko V. I., Kienko L. S., Bobrytska L. O. The study of the antimicrobial activity of a soft dosage form with the antiviral effect. *Clinical pharmacy*. 2019. Vol. 2, № 23. P. 25–28.

134. Herpes simplex virus infections, pathophysiology and management / Murtaza Mustafa et al. *Journal of dental and medical sciences*. 2016. Vol. 15, № 7. P. 85–91. DOI:10.9790/0853-150738591.(Date of access: 13.08.2018).

135. Herpes virus, oral clinical signs and qol: systematic review of recent data / C. Salvatore et al. *Viruses*. 2019. Vol. 11, № 463. P. 1–18. DOI: 10.3390/v11050463

136. Herpes virus fusion and entry: a story with many characters/ R. J. Eisenberg et al. *Viruses*. 2012. Vol. 4, № 5. P. 800–832. DOI: 10.3390/v4050800

137. Herpes virus genome, the pressure is on / W. David Bauer et al. *J. Am. Chem. Soc.* 2013. Vol. 135, № 30. P. 11216–11221. DOI: 10.1021/ja404008r

138. Herpes virus, oral clinical signs and qol: systematic review of recent data / S. Crimi et al. *Viruses*. 2019. Vol. 11, № 5. P. 2–18. DOI: 10.3390/v11050463

139. Immune evasion by herpes simplex virus / A. R. Retamal-Díaz et al. *Rev Chil Infectol*. 2015. Vol. 32, №. 1. P.58–71.

140. Jon B. Suzich, Anna R. Cliffe strength in diversity: understanding the pathways to herpes simplex virus reactivation. *Virology*. 2018. Vol. 522. P. 81–91. DOI: 10.1016/j.virol.2018.07.011

141. Levachkova L. V., Yarnykh T. G., Litvinova O. M. Antivirals: today and the prospects of development in Ukraine. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 6. С. 18–22.

142. Lilith T., Tatiana O., Qiyi T. Enhancement of Herpes simplex virus (HSV) infection by seminal plasma and semen amyloids implicates a new target for the

prevention of HSV infection. *Viruses*. 2015. Vol. 7. P. 2057–2073. DOI:10.3390/v7042057/ (Date of access: 27.01.2018).

143. Mahajan B. B., Mohit Dh., Rajwinder S. Herpes genitals – topical zinc sulfate: an alternative therapeutic and modality. *Indian J Sex Transm Dis AIDS*. 2013. Vol. 34, № 1. P. 32–34. DOI:10.4103/0253-7184.112867

144. Marketing analysis of the assortment of drugs for the treatment of herpes viral diseases at the pharmaceutical market of Ukraine / Lydmila Kienko et al. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 3, № 27. P. 70–76. DOI: 10.21303/2504-5679.2020.001285

145. Mezger T. G. Rheology Handbook / London : Applied Science Publishers, 2nd ed, 2006. 299 p.

146. New strategies against drug resistance to herpes simplex virus / Yu-Chen Jiang et al. *International Journal of Oral Science*. 2016. Vol. 8. P. 1–6.

147. Nicoll M. P., Proença J. T., Efstathiou S. The molecular basis of herpes simplex virus latency. *FEMS Microbiol Rev*. 2012. Vol. 36, № 3. P. 684–705.

148. Orange J. S. Natural killer cell deficiency. *J. Allergy. Clin. Immunol*. 2013. Vol. 132, № 3. P. 515–526.

149. Perre P. Van de., Nagot N. Herpes simplex virus: a new era? *Lancet*. 2012. Vol. 18, № 379. P. 598–599.

150. Recognition of herpes viruses by the innate immune system / S. R. Paludan et al. *Nat Rev Immunol*. 2011. Vol. 11, № 2. P. 143–154.

151. Rowe R. C., Shesky P. J., Owen S. C. Handbook of Pharmaceutical Excipients / London – Chicago, 2006. 960 p.

152. Schnitzler P. Essential oils for the treatment of herpes simplex virus infections. *Chemotherapy*. 2019. Vol. 64. P. 1–7. DOI:10.1159/000501062

153. Standard-dose and high-dose daily antiviral therapy for short episodes of genital HSV-2 reactivation: Three randomised, open-label, cross-over trials / C. Johnston et al. *Lancet*. 2012, Vol. 379. P. 641–647.

154. Study of anti-herpetic activity of a soft dosage form with acyclovir and miramistin / VI Hrytsenko et al. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12, № 6. P. 397–404.

155. Study of kinetic rates of medical product with antimicrobial action by in vitro method / Y. Polischuk et al. *Int. J. Drug Dev. Res.* 2013. Vol. 5, № 3. P. 192–198.

156. Surface active agents as excipients in semi-solid dosage forms / W. Musial et al. *Romanian Biotechnological Letters*. 2015. Vol. 20 (2). P. 10257–10268.

157. Terminase large subunit provides a new drug target for herpesvirus treatment / L. Yang et al. *Viruses*. 2019. Vol. 11 (219). P. 2–18. DOI:10.3390/v11030219

158. Tomishima M. J., Smith G. A., Enquist L. W. Sorting and transport of α -herpesviruses in axons. *Traffic*. 2011. Vol. 2. № 7. P. 429–436.

159. Viral infections: contribution to late fetal death, stillbirth, and infant death / E. J. Williams et al. *J. Pediatr.* 2013. Vol. 163. № 2. P. 424–428.

160. Wagoner N. J. Van., Hook E. W. Herpes diagnostic tests and their use. *Curr. Infect. Dis. Rep.* 2012. Vol. 14, № 2. P. 175 – 184.

ДОДАТКИ

Додаток А

Список публікацій здобувача

Статті (Scopus/web of science)

1. Hrytsenko VI, Kienko LS, Bobrytska LA, Rybalko SL, Starosila DB. Study of anti-herpetic activity of a soft dosage form with acyclovir and miramistin. *Journal of Global Pharma Technology*. 2020. Vol. 12 (06). P. 397–404. (Особистий внесок – планування експерименту, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

Статті у фахових виданнях

2. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження активних фармацевтичних інгредієнтів у складі м'якої лікарської форми противірусної дії. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2 (59). С. 27–31. (Особистий внесок – участь у плануванні та виконанні експерименту, узагальненні результатів та підготовці статті).

3. Hrytsenko V. I., Kienko L. S., Bobrytska L. O. The study of the antimicrobial activity of a soft dosage form with the antiviral effect. *Clinical pharmacy*. 2019. Vol. 2 (23). P. 25–28. (Особистий внесок – участь у проведенні експерименту, обробці результатів та підготовці статті).

4. Lydmila Kienko, Vita Htytsenko, Larysa Iakovlieva, Larysa Bobrytska. Marketing analysis of the assortment of drugs for the treatment of herpes viral diseases at the pharmaceutical market of Ukraine. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 3 (27). P. 70–76. (Особистий внесок – узагальнення та аналіз літературних джерел, підготовка статті).

5. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Назарова О. С. Розробка і валідація методики кількісного визначення ацикловіру та мірамістину у складі м'якої лікарської форми. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2020. № 4 (64). С. 10–17. (Особистий внесок – участь у проведенні

експерименту, аналіз, узагальнення експериментальних даних, оформлення та підготовка статті до друку).

6. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Злагода В. С. Методологічні аспекти створення м'якої лікарської форми противірусної дії. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2021. № 1 (65). С. 21–26. (Особистий внесок – оформлення та підготовка статті до друку).

Патенти

7. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О., Шпичак О. С., Германюк Т. А., Назарова О. С. Фармацевтична композиція м'якої лікарської форми з противірусною дією : пат. 134507 України на корисну модель: МПК А61Р 31/04. № и 201811079 ; заявл. 09.11.18 ; опубл. 27.05.19, Бюл. № 10. (Особистий внесок – здійснення патентного пошуку, обробка первинної інформації, розробка фармацевтичної композиції, систематизація отриманих результатів, формулювання винаходу, участь у підготовці матеріалів для оформлення патентної заявки).

Тези доповідей конференцій

8. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Перспективи створення лікарських препаратів для лікування вірусних захворювань. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27-28 верес. 2018 р. Тернопіль: ТДМУ, 2018. С. 197.

9. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. До питання створення м'яких лікарських засобів противірусної дії. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція*: тези доповідей I наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 жовт. 2018 р. Х.: Вид-во НФаУ, 2018. С. 77.

10. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження розчинності ацикловіру та мірамістину з метою створення комбінованого лікарського засобу противірусної дії. *Фармакоекономіка в Україні*:

стан та перспективи розвитку: матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 178.

11. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Аналіз асортименту лікарських засобів для лікування герпесвірусних захворювань, представлених на фармацевтичному ринку України. *Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнародної наук.-практ. конф., присвяченої пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, м. Харків, 25 берез. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 93–94.

12. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження антимікробної активності фармацевтичної композиції з ацикловіром та мірамістином у вигляді м'якої лікарської форми противірусної дії. *Мікробіологія, вірусологія та імунологія в сучасній клінічній і лабораторній медицині*: матеріали наук.-практ. дистанційної конф., присвяченої пам'яті відомого вченого-мікробіолога, д. мед. наук, проф. І. Л. Дикого, м. Харків, 19 берез. 2020 р. Х. : НФаУ, 2020. С. 28.

13. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Дослідження реологічних властивостей мазевих основ для вибору оптимального складу мазі противірусної дії. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VIII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23-24 верес. 2020 р. Тернопіль : ТНМУ, 2020. С. 80.

14. Кієнко Л. С., Гриценко В. І., Бобрицька Л. О. Розробка методик контролю якості мазі з ацикловіром та мірамістином. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали V Міжнародної наук.-практ. інтернет-конференції, м. Харків, 26 листоп. 2020 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2020. С. 225–226.

15. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фармакологічне вивчення м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином для лікування герпесвірусних захворювань. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти*

створення лікарських препаратів різної направленості дії: матеріали IV Міжнародної наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Х. : Вид-во НФаУ, 2019. С. 83

Апробація результатів дисертації

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2018 р., форма участі – публікація тез).

2. I науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція» (Харків, 2018 р., форма участі – публікація тез).

3. IV Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2019 р., форма участі – публікація тез).

4. Науково-практичній дистанційній конференції, присвяченій пам'яті відомого вченого-мікробіолога, доктора медичних наук, професора І. Л. Дикого «Мікробіологія, вірусологія та імунологія в сучасній клінічній і лабораторній медицині» (Харків, 2020 р., форма участі – публікація тез).

5. Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова «Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці» (Харків, 2020 р., форма участі – публікація тез).

6. XII науково-практичній інтернет-конференції «Фармакоєкономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 2020 р., форма участі – публікація тез).

7. V Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2020 р., форма участі – публікація тез).

8. VIII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2020 р., форма участі – публікація тез).

9. I Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 2021 р., форма участі – усна доповідь).

Додаток Б



Додаток В

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я» м. Харків



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор з якості та

сертифікації ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я»

Замарасв М.Г.

«16» лютого 2021 р.

ПРОЕКТ ТЕХНОЛОГІЧНОГО РЕГЛАМЕНТУ НА
ВИРОБНИЦТВО МАЗІ «Ацимір» 5 г в тубах алюмінієвих
для лікування противірусних захворювань

Харків 2021

Додаток Г

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я»

Замарасв М.Г.

«*16 лютого*» 2021 р.

АКТ

АПРОБАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ

В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА

Даний акт складено в тому, що в умовах ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», Україна (м. Харків) було опрацьовано технологію виробництва мазі з ацикловіром та мірамістином для лікування противірусних захворювань під умовною назвою «Ацимір» та перевірено відтворюваність параметрів технологічного регламенту на виробництво препарату.

Начальник виробництва
ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я»

A handwritten signature in blue ink, likely belonging to the Head of Production.

Гритчин Р.В.

Додаток Д**ЗАТВЕРДЖУЮ**Наказ Міністерства охорони
здоров'я України

№ _____

Ресстраційне посвідчення

№ _____

Заявник: ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», Україна

Виробник: ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

(проект)

АСУМІР**АЦИМІР**

мазь для лікування протівірусних захворювань

5 г в тубах алюмінієвих

УПАКОВКА

Мазь фасують по 5 г у туби алюмінієві з мембраною і бушонами (ТУ 25463020-01-98) з внутрішнім лаковим покриттям типу Paclac 11-15-000.

Кожну тубу разом з інструкцією для медичного застосування із паперу етикеткового з ГОСТ 7625-86 поміщають у пачку з картону хромерзац за ГОСТ 1301-81 або 12303-80.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 12301-2006.

МАРКУВАННЯ

На тубі українською мовою вказують: «Україна», ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», товарний знак, назву препарату (додатково англійською мовою), лікарську форму (мазь), масу препарату в грамах, вміст діючих речовин в одному грамі в міліграмах, «Для зовнішнього застосування», «Зберігати в недоступному для дітей, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С», «Термін придатності 2 роки. Придатний до», номер реєстраційного посвідчення, номер серії.

На пачках та етикетках групової тари українською мовою вказують: «Україна», ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я», товарний знак та адресу виробника, назву препарату (додатково англійською мовою), «Мазь для зовнішнього застосування», масу препарату в грамах, вміст діючих речовин в одному грамі мазі в міліграмах, «Зберігати в недоступному для дітей, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25 °С», номер серії, термін придатності, «Відпускається без рецепта», штриховий код, номер реєстраційного посвідчення, кількість упаковок.

Транспортне маркування відповідно до ГОСТ 14192-96, ДСТУ ISO 780-2001.

ЗБЕРІГАННЯ

В сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25 °С.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Директор
ТОВ «КЛЮЧІ ЗДОРОВ'Я»



Замараєв М.Г.

« 16 » лютого 2021 р.

Додаток Е



1. **Назва пропозиції для впровадження:** теоретичне та експериментальне обґрунтування створення м'якої лікарської форми противірусної дії.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету, 61000, Україна, Харків, пул. Валентинівська, 4. Автори: Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О.
3. **Джерела інформації:** 1. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження активних фармацевтичних інгредієнтів у складі м'якої лікарської форми противірусної дії. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2 (59). С. 27 – 31.
 2. Hrytsenko V. I., Kienko L. S., Bobrytska L. O. The study of the antimicrobial activity of a soft dosage form with the antiviral effect. *Clinical pharmacy*. 2019. Vol. 2 (23). P. 25 – 28.
 3. Lydmila Kienko, Vita Hrytsenko, Larysa Iakovlieva, Larysa Bobrytska Marketing analysis of the assortment of drugs for the treatment of herpes viral diseases at the pharmaceutical market of Ukraine. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 3 (27). P. 70 – 76.
4. **Де і коли впроваджено:** в навчальний процес на кафедрі технології ліків, у лекційний курс при вивченні теми «М'які лікарські засоби»
5. **Термін впровадження:** 2021 р.
6. **Результат впровадження:** результати наукових досліджень впроваджено у навчальний процес при вивченні технології м'яких лікарських засобів.
7. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
8. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень впроваджені в науково-педагогічний процес кафедри.

Відповідальний за впровадження:
 Зав. кафедри технології ліків
 д. фарм. наук., проф.

Ярух Т.Г.

Затверджую

Ректор

Вінницького національного медичного
університету імені М. І. Пирогова
академік НАМН України
проф. В. М. Мороз

квітня 2021 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** теоретичне та експериментальне обґрунтування створення м'якої лікарської форми протівірусної дії.
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету, 61000, Україна, Харків, вул. Валентинівська, 4. Автори: Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О.
3. **Джерела інформації:** 1. Гриценко В. І., Кієнко Л. С., Бобрицька Л. О. Фізико-хімічні дослідження активних фармацевтичних інгредієнтів у складі м'якої лікарської форми протівірусної дії. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 2 (59). С. 27 – 31. 2. Hrytsenko V. I., Kienko L. S., Bobrytska L. O. The study of the antimicrobial activity of a soft dosage form with the antiviral effect. *Clinical pharmacy*. 2019, Vol. 2 (23). P. 25 – 28. 3. Lydmila Kienko, Vita Hrytsenko, Larysa Iakovlieva, Larysa Bobrytska Marketing analysis of the assortment of drugs for the treatment of herpes viral diseases at the pharmaceutical market of Ukraine. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 3 (27). P. 70 – 76.
4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармації Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова у вересні 2020 р. – лютому 2021 р.
5. **Результат впровадження:** результати наукових досліджень впроваджено у навчальний процес при вивченні технології м'яких лікарських засобів.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
7. **Ефективність впровадження:** результати наукових досліджень впроваджені в науково-педагогічний процес кафедри.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри,
протокол № 11 від 11.03.2021 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації
ВНМУ ім. М.І.Пирогова
д.фарм.н., проф.

О. В. Кривов'яз