

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ПАВЛЮК БОГДАНА ВОЛОДИМИРІВНА

УДК: 615.454.1:615.361:599.731.1-035.5:616-001.17

ДИСЕРТАЦІЯ
РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ГЕЛЮ ТА ГУБОК МЕДИЧНИХ
НА ОСНОВІ КСЕНОДЕРМИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОПІКІВ

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

_____Павлюк Б. В.

Науковий керівник: Грошовий Тарас Андрійович, доктор фармацевтичних наук, професор

Тернопіль – 2020

АНОТАЦІЯ

Павлюк Б. В. Розробка складу та технології гелю та губок медичних на основі ксенодерми для лікування опіків. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація» (22 «Охорона здоров'я»).

– Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, 2020.

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, 2020.

Дисертаційна робота присвячена розробці оптимального складу, технології та дослідженню гелю та губок медичних на основі водного витягу з кріоліофілізованої ксенодерми для місцевого лікування опіків.

У роботі опрацьовано та узагальнено дані літературних джерел щодо проблем та методів лікування опіків різної етіології в Україні та в світі. Проаналізовано сучасний стан виробництва м'яких лікарських форм, а саме, гелів та особливості технології губок медичних. Узагальнено дані наукової літератури щодо можливостей застосування кріоліофілізованої ксенодерми, лідокаїну гідрохлориду та хлоргексидину диглюконату як перспективних активних фармацевтичних інгредієнтів лікарських засобів для місцевого лікування опіків.

Запропоновано методологію щодо розробки гелю та губок медичних на основі кріоліофілізованої ксенодерми. Наведено характеристику активних фармацевтичних інгредієнтів та допоміжних речовин. Описано фізико-хімічні, фармако-технологічні, мікробіологічні, фармакологічні та гістологічні методи дослідження, застосування яких дозволить оцінити якість розроблених засобів.

Досліджено асортимент препаратів для місцевого лікування опіків, які зареєстровані в Україні, Росії, Польщі та Франції. Визначено, що в Україні налічується 105 лікарських препаратів, основна частина яких представлена

м'якими лікарськими формами та показано, що асортимент значною мірою формується за рахунок закордонних виробників, на частку яких припадає 58 % асортименту. Порівняльні дослідження асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на фармацевтичних ринках Росії, Польщі та Франції підтверджують наявність препаратів, аналогів яким в Україні немає, зокрема губок медичних та пластирів. Це доводить перспективність та доцільність розширення асортименту існуючих лікарських форм, які б стимулювали регенеративні процеси шкіри та покращували б загоєння опікових ран.

З метою розробки гелю та губок медичних для лікування опіків досліджено оптимальні умови одержання водного витягу з ксенодерми. Як екстрагент використовували воду очищену, екстрагування проводили при температурі 38 °C ($\pm 0,5$ °C) впродовж 14 год з періодичним інтенсивним перемішуванням та наступним відстоюванням, фільтруванням. В результаті досліджень визначено оптимальне співвідношення порошку ксенодерми та води очищеної (1:10), коефіцієнт водопоглинання – 4,5. Запропоновано методики аналізу амінокислотного складу та кількісного визначення загального білка у водному витязі з ксенодерми.

Представлено результати досліджень з розробки оптимального складу та раціональної технології гелю на основі водного витягу з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом.

З метою вибору гелеутворювача досліджено зразки гелів з різними речовинами (карбомери Carbopol[®] “Ultrez 21” та 980, натрію альгінат, ксантанова камедь, поллоксамер 407, метилцелюлоза-15) у різних концентраціях. За результатами фізико-хімічних, фармако-технологічних та біофармацевтичних досліджень доведено, що оптимальним гелеутворювачем є карбомер Carbopol[®] “Ultrez 21”. З метою забезпечення мікробіологічної чистоти досліджено ефективність дії антимікробних консервантів (ніпагін/ніпазол, “Cosgard”, спирт фенілетиловий, бензалконію хлорид) у різних концентраціях. Встановлено, що введення у склад гелю спирту фенілетилового у концентрації

0,4 % забезпечує мікробіологічну чистоту відповідно до вимог Державної Фармакопеї України.

Теоретично та експериментально обґрунтовано склад гелю під умовною назвою “Кселіогель”: водний витяг з ксенодерми – 10,0 г, лідокаїну гідрохлорид – 2,0 г, карбомер Carbopol® “Ultrez 21” – 1,0 г, трометамол до рН 6.0-6.5, пропіленгліколь – 5,0 г, спирт фенілетиловий – 0,4 г, вода очищена – до 100,0 г.

Розроблено технологічну схему виробництва гелю. На склад та технологію розробленого гелю одержано патент на корисну модель № 138600 від 10.12.19 р.

Запропоновано методику ідентифікації амінокислот в гелі методом високоефективної рідинної хроматографії, отримані результати підтверджують наявність вказаних амінокислот у ланцюзі порошок ксенодерми – водний витяг – гель. Ідентифікацію та кількісне визначення лідокаїну гідрохлориду, а також спирту фенілетилового запропоновано проводити методами високоефективної рідинної та газової хроматографії, розроблено відповідні методики аналізу. Для визначення вмісту загального білка запропоновано спектрофотометричну методику.

Вивчено стабільність розробленого гелю при двох температурних режимах. Результати досліджень підтверджують стабільність гелю при зберіганні у тубах при температурі 2-8 °С протягом двох років.

В результаті досліджень запропоновано проекти методів контролю якості та технологічного регламенту, які апробовано на АТ “Галичфарм” (акти апробації від 16.10.19 р.).

З метою розробки оптимального складу та технології губок медичних використано метод дисперсійного аналізу – латинський квадрат 4x4. Досліджено вплив двох груп допоміжних речовин (полімери, пластифікатори), а також температури приготування водного витягу з ксенодерми на фармако-технологічні показники (6 відгуків) губок медичних, що отримані методом ліофілізації.

За допомогою множинного критерію Дункана для кожного відгуку будували ранжований ряд переваг. Пошук кращих поєднань здійснювали, використовуючи узагальнений показник – функцію бажаності. На підставі отриманих результатів для подальших досліджень були відібрані желатин медичний та пропіленгліколь.

У технології губок із желатином передбачено використання “зшивальних” агентів, що забезпечують пористість та структурність губок медичних. В зв’язку з цим, нами було обрано формальдегід як відповідний агент. З метою оптимізації складу губок медичних вивчали вплив кількісних факторів на технологічні показники губок за допомогою симетричного ротатабельного композиційного плану другого порядку. Інтерпретацію результатів дослідження проводили на підставі аналізу відповідних рівнянь регресії. Виходячи з отриманих результатів, запропоновано оптимальний склад губок медичних, г: хлоргексидину диглюконат – 1,0 г, желатин медичний – 2,0 г, формальдегід – 0,07 г, пропіленгліколь – 1,0 г, водний витяг з ксенодерми – до 100,0 г.

За результатами досліджень, розроблено проект технологічного регламенту на губки медичні, який апробовано на базі ТОВ “Інститут біомедичних технологій” (акт апробації від 19.12.19 р.). На методи визначення фармако-технологічних показників отримано патент України на корисну модель № 139854 від 27.01.20 р.

Ідентифікацію амінокислот запропоновано проводити методом вискоєфективної рідинної хроматографії, отримані результати підтверджують відповідність амінокислотного складу в ланцюзі порошок ксенодерми – водний витяг – губка медична. Також розроблено методику ідентифікації та кількісного визначення хлоргексидину диглюконату в губці медичній методом вискоєфективної хроматографії.

На підставі отриманих фармако-технологічних, фізико-хімічних характеристик розроблено, обґрунтовано та апробовано проект методів

контролю якості (ТОВ “Інститут біомедичних технологій”, акт апробації від 16.12.19 р.).

За результатами експериментальних досліджень встановлено, що губки є стабільними при зберіганні за температури 15-25 °С впродовж двох років.

На основі результатів мікробіологічних досліджень встановлено, що за рівнем мікробної контамінації розроблений гель відповідає вимогам Державної фармакопеї України до м'яких лікарських засобів для нашкірного застосування, а губка медична відповідає вимогам щодо стерильних лікарських форм.

Фармакологічними дослідженнями доведено, що на моделі асептичної опікової рани розроблений гель забезпечує загоєння рани за коротші терміни у порівнянні із групою контрольної патології. За лікувальною дією гель “Кселіогель” проявляє аналогічну регенеративну та ранозагоювальну дію, як і препарат порівняння гель “Солкосерил”, про що свідчить зменшення площі ранової поверхні у всі терміни спостереження.

Методом *in vivo* встановлено, що за параметрами гострої токсичності при нашкірній аплікації гелю та внутрішньо-шлунковому введенні губок медичних, вони належать до V класу токсичності за класифікацією Стефанова (практично нетоксичні речовини). Макро- та мікроскопічне дослідження не виявили будь-якої патології внутрішніх органів при застосуванні досліджуваних засобів.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше науково обґрунтовано та експериментально підтверджено склад, технологію та методики аналізу засобів на основі водного витягу з ксенодерми у формі гелю та губок медичних.

Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано оптимальні умови одержання гелю на основі водного витягу з ксенодерми.

Вперше досліджено оптимальні умови одержання губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми з використанням ліофілізації. На підставі комплексних фармако-технологічних та фізико-хімічних результатів досліджень, використовуючи методи математичного планування експерименту, розроблено оптимальний склад губок медичних.

Досліджено показники якості розроблених засобів, встановлено умови та термін їх зберігання. Вивчено фармакологічну ефективність, гостру токсичність гелю та губок медичних, та встановлено, що вони покращують процес регенерації та загоєння опікових ран.

Новизна досліджень підтверджена патентами України на корисну модель «Фармацевтична композиція у формі гелю на шкірного для місцевого лікування опіків» № 138600 (10.12.19 р.) та «Спосіб визначення фармако-технологічних показників губок медичних (антисептичних, гемостатичних, стоматологічних)» № 139854 (27.01.20 р.).

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено і запропоновано для практичної фармації гель на основі водного витягу з порошку ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом для місцевого лікування опіків. Розроблено проекти методів контролю якості та технологічного регламенту, які було апробовано в умовах виробництва АТ «Галичфарм».

Розроблено і запропоновано для практичної фармації губку медичну на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом для лікування опіків. Розроблено проекти методів контролю якості та технологічного регламенту на губки медичні, які було апробовано на базі ТОВ «Інститут біомедичних технологій».

Окремі фрагменти наукових досліджень впроваджено у навчальний процес кафедр: фармації ННІ післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (акт впровадження від 09.01.20 р.); фармації Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (акт впровадження від 13.01.20 р.); аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (акт впровадження від 13.01.20 р.); технології ліків Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від 17.12.19 р.); заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 13.01.20 р.); технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені

Данила Галицького (акт впровадження від 13.01.20 р.); організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 14.01.20 р.); фармації та фармакології Донецького національного медичного університету (акт впровадження від 02.02.20 р.).

Ключові слова: ксенодерма, гель, губка медична, хлоргексидину диглюконат, лідокаїну гідрохлорид, опіки, технологія.

ANNOTATION

Pavliuk B.V. Development of the composition and technology of gel and medical sponge based on xenoderm for the treatment of burns. – Qualifying scientific work with the manuscript copyrights.

Thesis for a scientific degree Doctor of Philosophy (PhD) specialty 226 «Pharmacy, pharmaceutical industry» (22 «Health Care»). – I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, 2020.

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, 2020.

The dissertation is devoted to the development of the optimal composition, technology and research of medical gels and sponges based on water extraction from cryolyophilized xenoderm for local treatment of burns.

The work is elaborated and generalizes the data of literature sources on the problems and methods of treatment of burns of various etiologies in Ukraine and in the world. The current state of production of soft dosage forms, namely, gels and technology features in the production of medical sponges. The scientific literature on the possibilities of using cryolophilized xenoderm, lidocaine hydrochloride and chlorhexidine digluconate as promising active pharmaceutical ingredients in the development of soft medicines for topical burn treatment has been generalized.

A scheme of methodological approach for the development of pharmaceuticals in the form of gel and sponges based on cryolophilized xenoderm powder is proposed. Described the characteristics of active pharmaceutical ingredients and

excipients. Described the physicochemical, pharmaco-technological, microbiological, pharmacological and histological methods of the study, the application of which will allow evaluating the quality of the developed remedy.

The range of preparations for local treatment of burns registered in Ukraine, Russia, Poland and France is investigated. It is determined that in Ukraine there are 105 medicines of different types of production, the main part of which is represented by soft dosage forms, and it is shown that the assortment is largely formed at the expense of foreign manufacturers, accounting for 58 % of the assortment. Comparative studies of the range of medicines for topical treatment of burns in the pharmaceutical markets of Russia, Poland and France confirm the presence of drugs that have no analogues in Ukraine, including medical sponges and patches. This proves the prospect and feasibility of expanding the range of existing dosage forms and the creation of a new group of original domestic pharmaceuticals that would stimulate the regenerative processes of the skin and improve the healing of burn wounds.

In order to develop pharmaceuticals for the treatment of burns and improve wound regeneration, have been investigated optimal conditions for obtaining water extract from xenoderm. As the extractant used purified water, the extraction carried out at 38 °C (± 0.5 ° C) for 14 h using vigorous stirring, followed by settling and filtration. The result of studies, the optimum ratio of xenoderm powder and purified water (1:10) was determined, and the moisture absorption coefficient of xenoderm powder was 4.5.

Presented the results of research on the development of optimal composition and rational gel technology based on water extraction from xenoderm and lidocaine hydrochloride.

Samples of gels with the different excipients (carbomers Carbopol[®] “Ultrez 21” and 980, sodium alginate, xanthan gum, poloxamer 407, methylcellulose-15) investigated in order to select the gel-forming agent at different concentrations. According to the results of physicochemical, pharmaco-technological and biopharmaceutical research has been proved that the carbomer Carbopol[®] Ultrez 21

be the optimal excipients for the gel. In order to ensure microbiological purity, the effectiveness of antimicrobial preservatives (nipagine/nipazole, Cosgard, phenylethyl alcohol, benzalkonium chloride) investigated at different concentrations. It is established that the introduction of 0,4 % phenylethyl alcohol into the gel provides microbiological purity of the gel in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

On the basis of complex researches the composition of gel under the conditional name "Xeliogel" is theoretically and experimentally substantiated: water extract from xenoderm - 10,0 g, lidocaine hydrochloride – 2,0 g, carbomer Carbopol[®] Ultrez-21 – 1,0 g, trometamol to pH 6.0-6.5, propylene glycol – 5,0 g, phenylethyl alcohol – 0,4 g, water purified - up to 100,0 g.

A gel production scheme has been developed. The composition and technology of the developed gel patented for utility model № 138600 from 10/12/2019.

Proposed the method of identification of amino acids in the gel by the high-performance liquid chromatography, the obtained results confirm the presence of the indicated amino acids in the chain xenoderm powder - water extract - gel. The identification and quantitative determination of lidocaine hydrochloride, as well as phenylethyl alcohol, performed by high performance liquid and gas chromatography methods and appropriate methods of analysis were developed. A spectrophotometric technique proposed to determine the total protein content.

Was studied the stability of the developed gel at two temperature regimes. The results of the studies confirm the stability of the gel when stored in tubes at a temperature of 2-8 °C for two years.

As a result of the research, drafts of quality control methods and technological regulations were proposed, which were tested at JSC "Galychfarm" (acts of approbation of October 16, 2019).

To develop the optimal composition and technology of medical sponges used the method analysis of Latin square 4x4 variance. The influence of two groups of excipients (polymers, plasticizers), as well as the temperature of preparation of water

extract from xenoderm on the pharmaco-technological parameters (6 reviews) of medical sponges obtained by the method of lyophilization were investigated.

Using Duncan's multiple criterion for each response, was constructed a ranked set of benefits. The search for the best combinations was carried out using the generalized indicator, the desirability function. Based on the obtained results, were selected medical gelatin and propyleneglycol for further studies.

Gelatin sponge technology uses "crosslinking" agents, which ensure the porosity and structure of medical sponges. In this regard, was selected formaldehyde as the appropriate agent. In order to optimize the composition of medical sponges, the influence of quantitative factors on the technological parameters of sponges was studied using a symmetrical rotatable second-order composite plan. The results of the study based were interpreted on the analysis of the corresponding regression equations. Based on the obtained results, we proposed the optimal composition of medical sponges, g: chlorhexidine digluconate – 1,0 g, medical gelatin –2,0 g, formaldehyde – 0,07 g, propyleneglycol – 1,0 g. water extract from xenoderm – up to 100,0 g.

According to the research, a draft technological regulation for medical sponges, which was tested based on LLC «Institute of Biomedical Technologies» (act of approbation of December 19, 2019). Obtained the patent of Ukraine for utility model № 139854 from 27/01/2020 for the methods of determining pharmaco-technological parameters.

The identification of amino acids proposed to perform by the method of high-performance liquid chromatography, the obtained results confirm the correspondence of the amino acid composition in the chain of xenoderm powder - water extract - medical sponge. Developed a technique for the identification and quantification of chlorhexidine digluconate in a sponge by a high-performance chromatography method.

On the basis of the received pharmaco-technological, physical and chemical characteristics the project of methods of quality control is developed, proved and

tested (LLC «Institute of Biomedical Technologies», approval act of December 16, 2019).

Experimental studies have shown that sponges are stable when stored at 15-25 °C for two years.

According to the results of microbiological studies, it concluded that by the level of microbial contamination, developed gel meets the requirements of the state pharmacopoeia of Ukraine for soft drugs for skin use, and the sponge medical meets the requirements of the state pharmacopoeia of Ukraine for sterile dosage forms.

Pharmacological studies have shown that on the model of aseptic burn injury in rats developed gel provides healing of the wound in a shorter time compared with the control pathology group. The therapeutic effect of the gel "Xeliogel" exhibits a similar regenerative and wound healing effect as the drug comparison gel "Solcoseryl", as evidenced by the reduction of the area of the wound surface at all times of observation.

The in vivo method established that by the parameters of acute toxicity in the cutaneous application of the gel and by intra-gastric injected medical sponges, they belong to the V class of toxicity according to Stefanov's classification (practically non-toxic substances). Macro- and microscopic examination did not reveal any pathology of the internal organs when using the investigated means.

Scientific novelty of the obtained results. For the first time scientifically substantiated and experimentally confirmed the composition, technology and methods of analysis of pharmaceuticals based on aqueous extract from xenoderm in the form of gel and medical sponges.

For the first time, the optimal conditions for obtaining a gel based on an aqueous extract from xenoderm powder been substantiated theoretically and experimentally.

The first were investigated optimal conditions for obtaining medical sponges based on water extraction from xenoderm powder using lyophilic drying. Based on the complex of pharmaco-technological and physicochemical results of researches,

using the methods of mathematical planning of the experiment was developed the optimal composition of medical sponges.

The quality indices of the developed pharmaceuticals were investigated the conditions and the term of their storage were determined.

Pharmacological efficacy, acute toxicity of gel and medical sponges have been studied and found to improve the regeneration and healing of burn wounds.

The novelty of the research is confirmed by the declarative patents of Ukraine for the utility model “Pharmaceutical composition in the form of skin gel for local treatment of burns” № 138600 (10/12/2019) and “Method for determining pharmacological parameters of medical sponges (antiseptic, hemostatic, dental)” № 139854 (27/01/2020).

The practical significance of the results obtained. Developed and offered for practical pharmacy, pharmaceutical agent in the form of a gel based on a water extraction from the xenoderm powder and with lidocaine hydrochloride for topical treatment of burns. Drafts of quality control methods and technological regulations for the developed gel developed, which have been tested in the conditions of production of JSC "Galychfarm" (acts of approbation dated October 16, 2019).

Medical sponges based on the water extraction from xenoderm and with chlorhexidine digluconate has been developed and proposed for the practical pharmacy for the treatment of burns. Drafts of methods of quality control and technological regulations for medical sponges were developed, which were tested on the basis of LLC «Institute of Biomedical Technologies» (acts of approbation dated December 16 and 19, 2019).

Some fragments of scientific researchers introduced into the educational process of the departments: pharmacy of the Institute of Postgraduate Education I. Horbachevsky Ternopil National Medical University (act of implementation from 09.01.2020); pharmacy of National Pirogov Memorial Medical University (act of implementation from 13.01.2020); pharmacy and industrial technology of drugs Bogomolets National Medical University (act of implementation from 13.01.2020); drug technologies of Zaporizhzhya State Medical University (act of implementation

from 17.12.2019); industrial technology of drugs, National University of Pharmacy (act of implementation from 13.01.2020); drug technology and biopharmaceutics of Danylo Halytsky Lviv National Medical University (act of implementation from 13.01.2020); organization and economy of pharmacy and drug technology of Ivano-Frankivsk National Medical University (act of implementation from 14.01.2020); pharmacy and pharmacology of Donetsk National Medical University (act of implementation from 02.02.2020).

Keywords: xenoderm, gel, medical sponge, chlorhexidine digluconate, lidocaine hydrochloride, burn, technology.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Vons BV, Chubka MB, Groshovyi TA. Market analysis of semisolid dosage forms registered in Ukraine and research of excipients included to their formulas. *Фармацевтичний часопис*. 2015;(1):55-61.
2. Vons BV, Chubka MB, Groshovyi TA. Comparative study of markets of Ukraine, Poland and Russia on registered medications for local treatment of burns. *Фармацевтичний часопис*. 2016;(1):74-8.
3. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Проблема лікування опікових травм і характеристика лікарських засобів для місцевого лікування опіків. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2018;11(1)(26):119-25.
4. Vons B, Tryhubchak O, Grochovuy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*. 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-64.
5. Pavliuk BV, Chubka MB, Hroshovyi TA. The chromatographic determination of the chlorhexidine digluconate in the medical sponges (hemostatic sponges). *Sciences of Europe*. 2019;1(44):13-6.

6. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Стечишин П. Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на національному та закордонних ринках. Фармацевтичний журнал. 2019;(4):4-11.

7. Вонс БВ, Грошовий ТА. Фармакологічне обґрунтування вибору активних фармацевтичних інгредієнтів для місцевого лікування опіків на моделі асептичної опікової рани в щурів. Медична та клінічна хімія. 2019;(1):55-62.

8. Вонс БВ, Мельник ЮЯ, Грошовий ТА, Скорохода ВЙ, Чубка МБ. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(2):30-5.

9. Павлюк БВ, Лукашів ОЯ, Покришко ОВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки складу комбінованого гелю для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):35-42.

Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:

10. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА винахідники; Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, заявник і патентовласник Спосіб визначення фармако-технологічних показників губок медичних (антисептичних, гемостатичних, стоматологічних). Патент України № 139854. 2020 січень 27.

11. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Бігуняк ВВ, винахідники; Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, заявник і патентовласник Фармацевтична композиція у формі гелю нашкірного для місцевого лікування опіків. Патент України № 138600. 2019 грудень 10.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

12. Вонс БВ, Грошовий ТА, Чубка МБ. Аналіз ринку зареєстрованих в Україні м'яких лікарських засобів, які використовуються у дерматології. В: Матеріали ІІІ міжнар. наук.-практ. Internet-конф. Менеджмент та маркетинг у

складі сучасної економіки, науки, освіти, практики. 2015 берез. 26-27; Харків. Харків: Вид-во НФаУ; 2015; с. 303-4.

13. Вонс Б, Чубка М. Дослідження асортименту допоміжних речовин, які використовують при виробництві м'яких лікарських форм. В: Матеріали XIX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2015 квіт. 27-29; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2015; с. 342.

14. Vons BV, Chubka MB. Research of domestic pharmaceutical market of drugs for the local treatment of burns. Topical issues of new drugs development: [abstracts]. In: XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student; 2016 April 21. Vol. 2. Kharkiv: Publishing office nuph; 2016; p. 418

15. Вонс Б, Чубка М. Скринінг субстанцій для місцевого лікування опіків на моделі асептичної опікової рани у щурів. В: Корда ММ, відпов. редактор. Матеріали XX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2016 квіт. 25-27; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2016; с. 334.

16. Вонс БВ, Грошовий ТА. Створення м'якої лікарської форми на основі кріоліофілізованої шкіри свині для лікування опіків. В: Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2016 листоп. 10-11; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ; 2016; с. 95.

17. Вонс БВ, Чубка МБ. Доцільність створення нового лікарського засобу для місцевого лікування опіків. В: V наук.-практ. конф. школи молодих науковців ПАТ «Фармак». Наука та сучасне фармацевтичне виробництво; 2017 жовт. 19; Київ. Київ; 2017; с. 17-8.

18. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Дослідження амінокислот у біологічно активному матеріалі. В: Матеріали II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю. Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку; 2018 квіт. 27; Харків. Харків: НФаУ; 2018; с. 203.

19. Vons B, Melnyk Y, Skorokhoda V, Grochovuy T, Chubka M. Research of the rheological properties of the gel based on sodium alginate for the local treatment

of burns. 2nd international scientific conference. Chemical technology and engineering; 2019 June 24-28; Lviv. Lviv: Polytechnic National University; 2018; p. 232-4.

20. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Мельник ЮЯ, Скорохода ВЙ. Реологічні дослідження водного витягу кріоліофілізованої ксенодерми. В: Матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2018 верес. 27-28; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2018; с. 73-4.

21. Вонс БВ, Стечишин ІІ, Грошовий ТА. Фармакоетнономічні дослідження опіків в умовах стаціонару. В: Немченко АС, та ін., редактори. Матер. IV Всеукр. наук.-практ. конф. Формування Національної лікарської політики за умов впровадження медичного страхування: питання освіти, теорії та практики; 2019 берез. 12-13; Харків. Харків: Вид-во НФаУ; 2019; с. 218-9.

22. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Порівняльне дослідження асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України та Франції. В: Малий ВВ, та ін., редкол. VII міжнар. наук.-практ. дистанційна конф.; 2019 берез. 21; Харків; Харків: НФаУ; 2019; с. 240.

23. Вонс БВ, Краснокуцький О, Чубка МБ. Використання хроматографічних методів аналізу для дослідження амінокислот у кріоліофілізованій ксенодермі. В: ХХІІІ міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; 2019 квіт. 15-17; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2019; с. 214-5.

24. Вонс БВ, Грошовий ТА, Чубка МБ. Технологічні аспекти губок медичних. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2019 черв. 13-14; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2019; с. 81-2.

25. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Технологічні аспекти розробки губок гемостатичних. В: Котвіцька АА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного

працівника України. Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку; 2019 верес. 19-20; Харків. у 2 т. Т. 1. Харків: НФаУ; 2019; с. 107-8.

26. Павлюк БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Стечишин ІП. Розробка та дослідження губки медичної/гемостатичної. В: Всеукраїнська наук.-практ. конф. Актуальні питання фармакології та фармакотерапії; 2019 верес. 26-27; Тернопіль. Тернопіль; 2019; с. 59-60.

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, скорочень і термінів	23
Вступ	25
Розділ 1 Сучасний стан створення та дослідження лікарських засобів для лікування опікових ран (огляд літератури)	32
1.1 Проблеми лікування опікових ран	32
1.2 Морфологічна будова шкіри людини. Характеристика факторів росту та ксенодерми	35
1.3 Характеристика гелів як перспективних лікарських форм для місцевого лікування опіків	39
1.4 Характеристика губок медичних як перспективних засобів для закриття опікових ран та зупинки кровотеч	44
Розділ 2 Обґрунтування загальної методології, об'єктів та методів дослідження	53
2.1 Вибір загальної методології досліджень	53
2.2 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів та допоміжних речовин як об'єктів дослідження	55
2.3 Характеристика методів дослідження гелів	56
2.4 Характеристика методів дослідження губок медичних	60
2.5 Мікробіологічні методи	61
2.6 Біологічні методи	64
2.7 Методи якісного та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів у розроблених засобах	66
2.8 Методи математичного планування експерименту та обробка результатів досліджень	67
Розділ 3 Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на національному та закордонних ринках. Технологія та дослідження водного витягу з ксенодерми	68

3.1	Аналіз фармацевтичних ринків лікарських засобів для місцевого лікування опікових ран	68
3.1.1	Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів для місцевого лікування опікових ран	68
3.1.2	Порівняльна характеристика асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на закордонних фармацевтичних ринках	72
3.2	Обґрунтування складу та розробка технології водного витягу з кріоліофілізованої ксенодерми	75
3.3	Дослідження водного витягу з ксенодерми	77
Розділ 4 Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу і технології гелю “Кселіогель”		86
4.1	Обґрунтування вибору основи при розробці гелю для місцевого лікування опіків	86
4.1.1	Вибір гелеутворювача та дослідження гелевих систем на його основі	87
4.2	Вибір консервантів та їх концентрацій у складі гелю	94
4.3	Розробка технології гелю “Кселіогель” для місцевого лікування опіків	100
4.4	Розробка методик контролю якості гелю “Кселіогель”	104
4.4.1	Визначення органолептичних характеристик та рН гелю “Кселіогель”	105
4.4.2	Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин (амінокислот) в складі гелю “Кселіогель”	105
4.4.3	Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду у гелі “Кселіогель”	108
4.4.4	Кількісне визначення консерванту спирту фенілетилового у гелі “Кселіогель”	113

4.5	Визначення стабільності гелю “Кселіогель” у процесі зберігання	116
Розділ 5 Наукове та експериментальне обґрунтування складу та технології губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом		122
5.1	Вибір якісних факторів з метою розробки складу та технології губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом	122
5.2	Розробка оптимального складу та технології губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом	135
5.3	Розробка методик аналізу активних фармацевтичних інгредієнтів у губках медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом	145
5.3.1	Ідентифікація амінокислот у губках медичних	145
5.3.2	Ідентифікація та кількісне визначення хлоргексидину диглюконату у губках медичних	147
5.4	Визначення стабільності губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом у процесі зберігання	153
Розділ 6 Фармакологічні та мікробіологічні дослідження розроблених гелю “Кселіогель” та губок медичних		155
6.1	Токсикологічні та фармакологічні дослідження розроблених форм	155
6.1.1	Вивчення ранозагоювальної активності гелю “Кселіогель” на моделі асептичної опікової рани	156
6.1.2	Вплив гелю “Кселіогель” на структурні зміни дерми при термічному опіку	160
		167

6.1.3	Вивчення токсичної дії гелю “Кселіогель” та губок медичних	
6.2	Вивчення мікробіологічної чистоти та стерильності розроблених засобів	170
6.2.1	Вивчення мікробіологічної чистоти гелю “Кселіогель”	170
6.2.2	Вивчення стерильності губок медичних	175
	Висновки	180
	Список використаних джерел	183
	Додатки	207

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

АТ	–	акціонерне товариство
АФІ	–	активний фармацевтичний інгредієнт
АлАТ	–	аланінамінотрансфераза
АсАТ	–	аспартатамінотрансфераза
БАР	–	біологічно активна речовина
ВЕРХ	–	високоєфективна рідинна хроматографія
ВООЗ	–	Всесвітня організація охорони здоров'я
ВВ	–	водний витяг
ЄФ	–	Європейська Фармакопея
ГЛФ	–	готова лікарська форма
ГПЦ	–	гідроксипропілцелюлоза
ГПМЦ-50	–	гідроксипропілметилцелюлоза-50
ДР	–	допоміжна речовина
ДФУ	–	Державна Фармакопея України
КУО	–	колонієутворююча одиниця
ЛЗ	–	лікарський засіб
ЛФ	–	лікарська форма
МБЧ	–	мікробіологічна чистота
МКЯ	–	методи контролю якості
МЛО	–	місцеве лікування опіків
МЛЗ	–	м'який лікарський засіб
МЛФ	–	м'яка лікарська форма
МОЗ	–	Міністерство охорони здоров'я
МСМ	–	молекули середньої маси
МС	–	механічна стабільність
МЦ	–	метилцелюлоза-15
ПЕГ	–	поліетиленгліколь

СЗ	–	стандартний зразок
ТР	–	технологічний регламент
ТФР	–	трансформуючий фактор росту
ТОВ	–	товариство з обмеженою відповідальністю
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія
FDA	–	Food and drug administration

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Опік є одним із найбільш поширених видів травм, які трапляються у побуті, на виробництві, а також під час воєнних дій та становлять 5 % від усіх бойових поранень. Щорічно в Україні реєструється щонайменше 80000 опечених, 10 % із яких складають діти, серед яких діти віком до п'яти років становлять 50-80 %. На сьогодні опіки є одинадцятою найпоширенішою причиною смерті дітей віком від 1 до 9 років, а також п'ятою причиною нефатальних травм. При неправильному лікуванні опіків можливе зараження опікової поверхні та навіть поява гангрен [9, 10, 41, 180].

Відповідно до Державного реєстру лікарських засобів (ЛЗ) України та аналізу світових фармацевтичних ринків ЛЗ для місцевого лікування опіків (МЛО) популярним впродовж останніх 10-ти років є використання м'яких лікарських форм (МЛФ) [5, 13, 68]. Також часто застосовують нові лікарські форми (ЛФ), аналогів яким в Україні немає, наприклад губки медичні, пластирі трансдермальні та інші.

Відкриття широкого спектру активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) покращили результати лікування хворих за останні 50 років, проте, опікові рани все ще залишаються актуальною проблемою сучасної медицини.

Аналіз літературних джерел підтверджує ефективність використання подрібненого субстрату кріоліофілізованої шкіри свині для МЛО в клінічній практиці, що дозволило знизити смертність хворих із важкими опіками на 30 %. Корекція опікової травми із застосуванням кріоліофілізованої шкіри свині сприяє відновленню ефективності функціонування антиоксидантної системи, зниженню у крові продуктів вільнорадикального окиснення, зменшенню проявів ендогенної інтоксикації [9, 10, 12, 77, 85, 90].

Попередньо проведені дослідження підтверджують перспективність створення ЛЗ м'якої, твердої або рідкої форми випуску з широким спектром фармакологічної активності на основі ксенодерми [13, 14, 42, 208].

Тому доцільним на сьогодні є розробка складу і технології нових фармацевтичних композицій у формі гелю та губок медичних з ранозагоювальною дією для МЛО, аналогів яким на фармацевтичному ринку України немає.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України “Маркетингові, фармакоекономічні та технологічні дослідження із створення лікарських засобів” (номер державної реєстрації 0115U001530).

Мета дослідження: теоретичне та експериментальне обґрунтування складу, опрацювання технології та методик контролю якості гелю та губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми для місцевого лікування опіків.

Завдання дослідження:

- проаналізувати та систематизувати дані літературних джерел в Україні та в світі щодо етіології, патогенезу та сучасних підходів до лікування опіків;
- узагальнити інформацію щодо складу та фармакологічних властивостей ксенодерми, перспектив та доцільності створення ЛЗ на її основі;
- дослідити асортимент зареєстрованих в Україні та в інших країнах ЛЗ для МЛО різної форми випуску з метою обґрунтування доцільності розробки гелю та губок медичних на основі порошку ксенодерми;
- дослідити оптимальні умови одержання ВВ з порошку ксенодерми та розробити відповідні методики аналізу;
- обґрунтувати склад, розробити технологію гелю та губок медичних на основі ВВ з порошку ксенодерми з використанням методів математичного планування експерименту;

- провести фізичні, фізико-хімічні, фармако-технологічні та мікробіологічні дослідження з метою встановлення основних показників якості розроблених гелю та губок медичних, розробити проекти технологічних регламентів (ТР) і методів контролю якості (МКЯ) на запропоновані засоби;
- вивчити стабільність розроблених гелю та губок медичних, та обґрунтувати умови їх зберігання і терміни придатності;
- провести фармакологічні та гістологічні дослідження, проаналізувати отримані результати.

Об'єкти дослідження. Кріоліофілізована ксенодерма, ВВ з ксенодерми, гель на основі ВВ з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом, губка медична на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом, допоміжні речовини (ДР).

Предмет дослідження. Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу, розробка технології та дослідження гелю та губок медичних на основі ВВ з порошку ксенодерми для лікування опіків.

Методи дослідження: органолептичні (забарвлення, запах, однорідність), фармако-технологічні (структурно-механічні властивості, ступінь деградації, відсоток вологопоглинання), фізичні та фізико-хімічні (рН, густина, реологічні параметри, тонкошарова хроматографія, вискоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), газова хроматографія, абсорбційна спектрофотометрія в видимій та УФ-області), біофармацевтичні (вивільнення лідокаїну гідрохлориду *in vitro*), мікробіологічні (визначення ефективності антимікробних консервантів, мікробіологічної чистоти (МБЧ), стерильності); математико-статистичні методи планування експерименту і обробки результатів дослідження (дисперсійний та регресійний аналізи, статистична обробка результатів), фармакологічні (вивчення гострої токсичності та фармакологічної ефективності гелю та губки медичної) та гістологічні методи дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів. Вперше науково обґрунтовано та експериментально підтверджено склад, технологію та методики аналізу гелю та губок медичних на основі ВВ з ксенодерми у формі.

Вперше теоретично та експериментально обґрунтовано оптимальні умови одержання гелю на основі ВВ з порошку ксенодерми.

Вперше досліджено оптимальні умови одержання губок медичних на основі ВВ з порошку ксенодерми з використанням ліофілізації. На підставі комплексних фізико-хімічних та фармако-технологічних результатів досліджень, використовуючи методи математичного планування експерименту, розроблено оптимальний склад губок медичних.

Досліджено показники якості розроблених засобів, встановлено умови та термін їх зберігання.

Вивчено фармакологічну ефективність, гостру токсичність гелю та губок медичних, та встановлено, що вони покращують процес регенерації та загоєння опікових ран.

Новизна досліджень підтверджена патентами України на корисну модель «Фармацевтична композиція у формі гелю нашкірного для місцевого лікування опіків» № 138600 (10.12.19 р.) та «Спосіб визначення фармако-технологічних показників губок медичних (антисептичних, гемостатичних, стоматологічних)» № 139854 (27.01.2020 р.).

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено та запропоновано для практичної фармації засіб у формі гелю на основі ВВ з порошку ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом для МЛЮ. Розроблено проекти МКЯ та ТР на розроблений гель, які було апробовано в умовах виробництва АТ «Галичфарм» (акти апробації від 16 жовтня 2019 р.).

Розроблено та запропоновано для практичної фармації губку медичну на основі ВВ з порошку ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом для лікування опіків та закриття опікових поверхонь різного ступеня, виразок, ран різної етіології. Розроблено проекти МКЯ та ТР на губки медичні, які було

апробовано на базі ТОВ «Інститут біомедичних технологій» (акти апробації від 16 та 19 грудня 2019 р.).

Окремі фрагменти наукових досліджень впроваджено у навчальний процес кафедр: технології ліків Запорізького державного медичного університету; фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету МОЗ України; фармації Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова; аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О.О. Богомольця; заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету; технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького; організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету; фармації та фармакології Донецького національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною працею. Разом з науковим керівником визначено мету та завдання наукових досліджень, розроблено методичні підходи для виконання експериментальної частини роботи. Безпосередньо автором виконано патентно-інформаційний пошук та проаналізовано літературні джерела щодо ЛЗ на основі біологічного матеріалу. Проведено аналіз вітчизняного ринку ЛЗ, що використовуються для МЛО; досліджено асортимент ДР, що використовуються в технології ЛЗ м'якої форми випуску; проведено порівняльний аналіз фармацевтичних ринків Росії, Польщі та Франції з метою вивчення та порівняння асортименту ЛЗ, що використовуються для МЛО. Проведено експериментальну частину роботи; розроблено технологію ВВ з ксенодерми та проведено відповідні фізико-хімічні та фармако-технологічні дослідження. Теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено оптимальний склад, технологію гелю та губок медичних на основі ВВ з ксенодерми. Опрацьовано методики ідентифікації та кількісного визначення АФІ, досліджено органолептичні, фізико-хімічні, фармако-технологічні,

мікробіологічні, фармакологічні властивості створених фармацевтичних композицій, визначено терміни придатності та умови їх зберігання. Проведено апробацію технології, проектів МКЯ на гель та на губки медичні в умовах промислового виробництва. Отримані результати експериментальних досліджень узагальнено, систематизовано та статистично опрацьовано.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи оприлюднено на: XIX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2015); III міжнародній науково-практичній інтернет-конференції “Менеджмент та маркетинг у складі сучасної економіки, науки, освіти, практики” (Харків, 2015); XX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2016); XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student (Харків, 2016); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 2016); V науково-практичній конференції школи молодих науковців ПАТ «Фармак» “Наука та сучасне фармацевтичне виробництво” (Київ, 2017); VII науково-практичній конференції з міжнародною участю “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів” (Тернопіль, 2018); II науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю “Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку” (Харків, 2018); Всеукраїнській науково-практичній конференції “Актуальні питання фармакології та фармакотерапії” (Тернопіль, 2019); “Здобутки клінічної та експериментальної медицини” (Тернопіль, 2019); 2nd international scientific conference “Chemical technology and engineering” (Lviv, 2019); Науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України “Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку” (Харків, 2019); XXIII міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (Тернопіль, 2019); VII міжнародній науково-практичній дистанційній конференції “Менеджмент та маркетинг у

складу сучасної економіки, науки, освіти, практики” (Харків, 2019); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції “Формування Національної лікарської політики за умов впровадження медичного страхування: питання освіти, теорії та практики” (Харків, 2019).

Публікації. За темою дисертаційної роботи опубліковано 26 наукових праць, зокрема 9 статей, із яких 7 – у фахових виданнях України, 1 – у журналі, проіндексованому у базі даних Scopus та віднесеному до третього квартилю (Q3), 1 – у періодичному науковому виданні іншої держави, що входить до Організації економічного співробітництва та розвитку та Європейського Союзу, 15 публікацій у матеріалах і тезах наукових форумів, 2 патенти на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 250 сторінках тексту, із яких 146 сторінок основного тексту, складається зі вступу, 6 розділів, висновків, списку використаних джерел та додатків. Робота ілюстрована 33 таблицями та 51 рисунком. Список використаних джерел містить 209 найменування, з них 102 кирилицею та 107 латиницею.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНИЙ СТАН СТВОРЕННЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ
ЗАСОБІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОПІКОВИХ РАН
(Огляд літератури)

1.1 Проблеми лікування опікових ран

Опікові травми впливають на життя мільйонів людей у всьому світі та є одними із найпоширеніших видів травм, оскільки щорічно близько 6 мільйонів осіб звертаються за медичною допомогою в лікувальні заклади, проте більшість із них лікуються амбулаторно [10, 105, 183]. В зв'язку з проблематичністю лікування глибоких опіків важливим є негайне звернення за медичною допомогою. Пацієнти з глибокими опіковими ранами без захисту покривної системи схильні до багатьох захворювань, часто з летальними наслідками. Належна оцінка стану хворого у поєднанні з своєчасним оглядом спеціаліста мають вирішальне значення для процесу лікування пацієнта [187].

Опік – тип травми тіла, зумовлений дією високої температури, хімічних речовин, електричного струму, випромінювання [116, 119].

На даний час в нашій країні використовують чотирьохступеневу класифікацію опіків, відповідно до якої опіки поділяють на поверхневі та глибокі [3, 10, 31].

Опіки, що впливають тільки на поверхню шкіри, відомі як поверхневі або опіки першого ступеня. Коли пошкодження проникає в деякі з нижчих шарів, тоді опік називають частково проникаючим або опіком другого ступеня. Глибокий опік або опік третього ступеня – це травма, що поширюється на всі шари шкіри. З опіком четвертого ступеня пов'язане ушкодження більш глибоких тканин, зокрема, м'язів та кісток [34, 35, 64].

Зазвичай, у хворих одночасно комбінуються поверхневі та глибокі опіки. При належному консервативному лікуванні поверхневі опіки загоюються самостійно, тоді як у випадку глибоких опіків необхідна пересадка шкіри.

Опікова рана – це руйнівна травма з системними наслідками, яка виникає при контакті шкіри з хімічними речовинами (кислоти, луги, солі важких металів, тощо), електричним струмом, деякими ЛЗ, а також при дії високої температури, сонячних та рентгенівських променів [62, 63, 129, 153].

Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) повідомляє, що більшість летальних випадків, пов'язаних з опіковими травмами, зустрічаються в країнах Південно-Східної Азії. За консервативною оцінкою, число людей, які прийняті до лікарні з опіками в Індії (населення країни складає понад 1 млрд. людей), щорічно становить від 700000 до 800000 [136, 178, 206]. Соціальні, інфраструктурні, економічні та культурні аспекти ускладнюють загальні проблеми профілактики та лікування опіків. Зокрема, в Бангладеші близько 173000 дітей щорічно отримують опіки III-IV ступенів. У таких країнах як Бангладеш, Єгипет, Колумбія і Пакистан 17 % дітей після перенесених опіків мають тимчасову інвалідність, а 18 % – постійну [104, 137].

Для відображення масштабів проблеми вивчено статистичні дані на прикладі Великобританії (населення близько 60 млн.) та США (населення близько 314 млн.) [183]. Так, у Великобританії опіки отримують щорічно близько 250000 людей, із яких лише 175000 екстренно відвідують відділення швидкої допомоги та 16000 з них допущені до лікарні для надання спеціалізованої медичної допомоги, із яких 300 людей вмирають від опікової травми [104, 105, 116]. У США щороку отримують опікові травми близько 1250000 [144, 203], з яких лише 450000 отримують медичне лікування. Близько 5500 людей помирає внаслідок отриманих опікових травм, а також щорічно реєструється близько 1000 летальних випадків від електричних опіків, рівень смертності від яких становить до 15 % [162].

В Україні щорічно реєструється 80000 опечених, із яких 10 % складають діти. Зокрема, в 2016 році зафіксовані найвищі показники смертності від опіків – 4,55 на 100000 населення, а у 2017 році від опіків постраждало 7605 дітей [31].

Майже половину випадків важких опіків складають опіки в дітей, при цьому 50-80 % всіх опіків трапляються у дітей віком до п'яти років [137]. Опіки є одинадцятою найпоширенішою причиною смерті дітей у віці від 1 до 9 років і п'ятою найчастішою причиною нефатальних травм. Опіки вдвічі частіше трапляються у хлопчиків в порівнянні з дівчатками. Більшість дитячих опіків отримуються в домашніх умовах, виникненню яких в значній мірі можна запобігти [105, 133].

За статистичними даними середній вік пацієнтів опікових відділень становить 24 роки, а середній розмір опікової рани – 19 % від загальної площі поверхні тіла [140]. Більшість зафіксованих випадків опікових травм зумовлені необережністю, а решта випадків пов'язані з курінням та вживанням алкоголю. Причиною 70 % всіх опіків є контакт з гарячими або корозійними речовини, і лише четверту частину всіх випадків становлять травми, викликані вогнем та полум'ям. Обличчя та руки є найбільш поширеними ділянками опікової травми, часто зустрічаються ураження дихальних шляхів, а найменш поширеними є опіки очей [168]. Чоловіки, особливо в молодому віці, як правило, частіше одержують опікові травми у порівнянні з жінками [180, 185, 204].

Лікування опіків – це цілий комплекс спеціальних заходів, спрямованих на збереження життя потерпілих і відновлення цілісності шкірних покривів [128, 141].

На сьогодні опіки лікують консервативно та оперативно, застосовуючи два методи місцевого лікування, а саме, відкритий та закритий. Також комплексно використовують симптоматичну терапію, знеболення, трансплантацію, у випадку важких станів – підтримують життєвоважливі функції, корегують водно-електролітний баланс, вводять парентеральне харчування, проводять детоксикаційну терапію [106].

Поверхневі опіки I ступеня, при яких в опіковій рані наявний життєздатний епітелій, загоюються шляхом епітелізації не з країв рани, а з її дна впродовж 2-4 тижнів без хірургічного втручання [90].

Протягом останніх 50-ти років результати лікування пацієнтів з опіковими ранами значно покращилися. Незважаючи на відкриття значної кількості лікарських речовин з широким спектром дії, опікові рани все ще залишаються проблемою сучасної медицини. Всі місцеві методи лікування опіків адаптуються до конкретних аспектів (площа та глибина опіку, вік пацієнта, етіологія, локалізація, пов'язані патології). Алергічні реакції та подразнення шкіри є найважливішими несприятливими наслідками дії місцевих антибактеріальних та дезінфікуючих засобів, що зменшують швидкість регенерації шкіри та збільшують період реабілітації [13, 87, 97].

Актуальним та досить популярним впродовж останніх 10-ти років є використання МЛФ на водорозчинних основах для лікування у всіх фазах ранового процесу [28].

1.2 Морфологічна будова шкіри людини. Характеристика факторів росту та ксенодерми

Шкіра – зовнішній покрив тіла людини. Загальна площа складає 1,5-2 м² (у дорослої людини середнього віку), маса – 4 кг, що від середньостатистичної загальної маси тіла людини складає 4-9 % [186]. Шкіра захищає людський організм, створюючи фізичний бар'єр між зовнішнім світом і внутрішніми тканинами, та складається з епідермісу, дерми та підшкірно жирової клітковини [110, 153].

Зовнішній епітеліальний шар шкіри, що складається з базального або зародкового, шипуватого, зернистого, блискучого, рогового шарів називається епідермісом [60, 123]. Кератиноцити є клітинами епідермісу, які оновлюються кожні 3-4 тижні (залежно від типу шкіри) [103, 174, 187].

Базальна мембрана хвилястою лінією розділяє між собою шар епідермісу від дермального шару. Завдяки даній мембрані відбувається живлення епідермісу за рахунок транспорту поживних речовин та продуктів обміну у міжклітинній рідині епідермісу та капілярної сітки сосочкового шару дерми .

Дерма у свою чергу є волокнистим шаром, яка складається із еластичних, колагенових та ретикулярних волокон, що відіграють роль каркаса, завдяки якому забезпечується пружність, міцність та еластичність шкіри. Між дермою і гіподермою (підшкірною жировою клітковиною) немає чіткої межі поділу, як у випадку епідермісу та дерми. Товщина дерми варіюється у межах 0,5-5 мм. До складу дерми входять такі клітинні елементи: фібробласти, лейкоцити, макрофаги, тучні клітини. Загальноприйнятим є поділ дерми на два шари, а саме сосочковий та сітчастий, чіткої межі між якими немає [60]. Окрім клітинних елементів, волокон та міжклітинної речовини, складовими компонентами дермального шару є лімфатичні та кровоносні судини, нерви, сальні та потові залози, волосяні цибулини [170, 188]. Основними клітинними елементами є фіброцити і фібробласти, тканинні базофіли, плазматичні клітини [124].

Підшкірна жирова клітковиною або гіподерма – це третій шар шкіри, що складається з колагенових, еластичних і ретикулярних волокон, а також жирової тканини. Товщина гіподерми варіюється в залежності від ділянки тіла, крім того, вона більш товста на дорсальних (зовнішніх) і розгинальних поверхнях, а тонша на вентральних (внутрішніх) і згинальних поверхнях [130].

Важливу роль у шкірі відіграють клітинні елементи, серед яких макрофаги, лімфоцити, еозинофільні лейкоцити, плазматичні клітини, а також клітини нервів та судин. Фібробласти в цитоплазмі містять фібрили та представлені найбільш широко і є основним видом клітин, які синтезують колаген, з якого надалі формуються колагенові волокна [150, 193]. Фібробласти разом з волокнами та основною речовиною відіграють важливу роль при загоєнні ран. Контракцію країв рани забезпечують міофібробласти [134, 150].

Глікозаміноглікани, окрім гіалуронової кислоти, зв'язуються з білками, утворюючи протеоглікани, які виконують численні функції, а саме, створюють гідратований простір між клітинами та відіграють важливу роль у регуляції процесів диференціювання та регенерації [193].

Факторами росту можуть бути білки або невеликі молекули типу пептидів чи стероїдів. Відомі на сьогодні поліпептидні фактори росту, які можуть бути

класифіковані за первинною структурою на: епідермальні фактори росту, фактори росту фібробластів, трансформуючі фактори росту, фактори росту тромбоцитів, цитокіни, колонієстимулюючий фактор росту макрофагів та гранулоцитів [72, 205].

Колонієстимулюючий фактор росту макрофагів та гранулоцитів сприяє зростанню і диференціюванню поліпотентних гемопоетичних клітин-попередників, стимулює фізіологічну активність нейтрофілів, еозинофілів, моноцитів і макрофагів, підтримує вміст сурфактанту [6, 167].

Макрофагальний колонієстимулюючий фактор модулює фізіологічну активність моноцитів і макрофагів, стимулює моноцитопоез та синтезується моноцитами, фібробластами, клітинами ендотелію [135].

Фактор стовбурових клітин – взаємодіючи з іншими гемопоетичними ростовими факторами, стимулює мієлоїдний, лімфоїдні і еритроїдні клітини-попередники та синтезується клітинами строми кісткового мозку, клітинами ендотелію, фібробластами [205, 208].

Трансформуючий фактор росту (ТФР)-альфа – стимулює зростання кератиноцитів, збільшуючи фракцію клітин [154]. ТФР-бета – регулює проліферацію, диференціювання та інші функції в багатьох типах клітин, та включає не менше п'яти білків: ТФР-бета 1, ТФР-бета 2, ТФР-бета 3, ТФР-бета 4 і ТФР-бета 5. ТФР-бета 3 наявний, в основному, в клітинах людей, свиней і птахів та відрізняється від ТФР-бета 1 і ТФР-бета 2 за своїм походженням та функціями. [6, 164].

Епідермальний фактор росту – стимулює зростання кератиноцитів, збільшуючи фракцію клітин, які діляться в колоніях кератиноцитів, із мінімальним впливом на диференціювання [130, 168].

Фактор росту тромбоцитарного походження – потужний мітоген фібробластів, клітин епітелію і ендотелію; стимулятор хемотаксису фібробластів, нейтрофілів і моноцитів; пригнічує активність природних кілерів; стимулює дегрануляцію нейтрофілів і моноцитів; стимулює синтез колагену [72, 165].

Фактор росту фібробластів (колаген, фібронектин) бере активну участь в процесі загоєння ран і ембріонального розвитку та являє собою гепарин, який з'єднаний з білком [130].

При пошкоджені шкіри збудники, хімікати та інші зовнішні елементи мають прямий шлях до зараження організму і викликають різноманітні захворювання, інфікування та смерть [108].

В зв'язку з цим, запропоновано метод лікування опіків із використанням ксенотрансплантантів, які призначені для закриття опікових ран [8, 9, 13, 65, 208].

В Україні розроблена технологія ксенодермоімплантів із шкіри свині, яка полягає у консервуванні матеріалу в середовищі рідкого азоту з наступним висушуванням при низькому тиску і температурі близькій до 80 °С. Стерильно запакована шкіра при температурі від 4 до 6 °С може зберігатися впродовж декількох років. Вказана технологія на даний час впроваджена в промислове виробництво ксенодермоімплантів в Україні [42, 58].

Ліофілізовані ксенодермотрансплантати дозволені до застосування у лікувальних закладах України. Впровадження в клінічну практику ксенодермотрансплантів як замінників шкіри, дозволило зменшити смертність хворих із важкими опіками на 30 %, а терміни перебування хворих в стаціонарних відділеннях лікарень – до 18-20 днів [14, 41, 42].

ТОВ “Інститут біомедичних технологій” (м. Тернопіль, Україна) виготовляє ліофілізовані ксенодермоімплантати як замінники шкіри, що застосовуються при лікуванні опікових (I-II-III-IV ст.), донорських і скальпованих ран, трофічних виразок. Створено банк ліофілізованих ксенодермотрансплантів, для діяльності якого розроблена методика забору, кріоконсервування і ліофілізації ксенодермоімплантів (отримано 16 патентів), щорічно виготовляється близько 1 млн 300 тис. см² ксенотрансплантанту для потреб 28 опікових центрів та відділень країни. Стерильні ліофілізовані ксенодермотрансплантати площею 100, 200, 250, 300 см² та товщиною 0,3-0,5 мм упаковані у відповідні пакети. [12, 15, 91].

Процес отримання кріоліофілізованої шкіри свині складається з 5 етапів: підготовка шкіри; кріоконсервування клаптів ксеношкіри; повторне очищення шкірного сировинного субстрату; ліофілізація клаптів ксеношкіри; подрібнення. Увесь процес підготовки шкіри проводять у стерильних умовах. Шкіру розділяють на шари (епідерміс та дерму) за допомогою електродерматома, товщина клаптів ксеношкіри становить від 0,2 до 0,3 мм [8, 77, 90].

Корекція опікової травми із застосуванням подрібненого субстрату ліофілізованих ксенодермотрансплантатів шкіри свині сприяє відновленню ефективності функціонування антиоксидантної системи, зниженню вмісту у крові продуктів вільнорадикального окиснення, та, як наслідок, зменшенню проявів ендогенної інтоксикації [77].

Інтракон'юнктивальне застосування екстракту кріоліофілізованої шкіри свині дозволяє значно покращити і пришвидшити регенераторні процеси в тканинах рогівки після її опіків [86].

Консервована ксеношкіра проявляє мембранопротекторний вплив на клітини в реакціях імунного конфлікту *in vitro* та *in vivo*, що є основою реалізації ідеї застосування компонентів подрібненого субстрату шкіри свині для корекції імунозалежних системних порушень в організмі [85, 86].

Подрібнений субстрат кріоліофілізованої шкіри свині є перспективним АФІ для створення ЛЗ м'якої, твердої або рідкої форми випуску з широким спектром фармакологічної активності [53, 54, 73].

1.3 Характеристика гелів як перспективних лікарських форм для місцевого лікування опіків

На сьогодні МЛФ займають п'яте місце серед інших ЛФ препаратів, що зареєстровані на території України, а також основне місце в арсеналі ЛЗ для МЛО [18, 28]

Однією з найперспективніших ЛФ для лікування опіків є гелі, що являють собою м'які лікарські засоби (МЛЗ), які призначені для місцевого застосування.

Дисперсійне середовище гелів має неньютонівський тип течії при вказаній температурі зберігання та високі значення реологічних характеристик. Дана ЛФ містить одну або більше АФІ та ДР, та використовується для застосування на шкірі, її придатках, слизових оболонках [5, 11, 52, 98, 152, 178].

Відповідно до фармакопейної класифікації, МЛЗ для нашкірного застосування поділяються на мазі, креми, гелі, пасти, припарки, пластирі лікувальні та пластирі нашкірні [48].

Гелі є однофазними, двофазними та/або багатозфазованими дисперсними системами з рідким дисперсним середовищем, реологічні характеристики яких зумовлені наявністю гелеутворювачів різної концентрації [57, 74, 97].

Гелеутворювачі також виконують функцію стабілізаторів у гелях суспензійного та емульсійного типів.

Гелі характеризуються як дисперсійні драглеподібні системи, дисперсна фаза яких утворює порувату просторову структуру, заповнену рідким дисперсійним середовищем, та деякими характерними властивостями твердих тіл, зокрема, здатність зберігати форму, деяку міцність, пластичність, частіше еластичність [48, 56, 95].

Згідно із Наказом МОЗ України від 20.07.2006 року № 500 “Про затвердження переліків назв лікарських форм та упаковок до лікарських засобів” гелі для зовнішнього застосування належать до категорії нашкірні та трансдермальні препарати [74].

Залежно від природи дисперсного середовища гелі класифікують на: гідрогелі – напівпрозорі гелі, які мають низьку адгезію із раневою поверхнею, швидко поглинають ексудат та токсини, забезпечують постійну вологість та температуру, сприяють транспортуванню молекул кисню у рану; алкогелі – гелі з спиртовим дисперсійним середовищем, а також бензогелі та ацетонові гелі [47, 69, 131, 194, 201].

За походженням гелі класифікують на: природні (желатин, агар-агар, камеді та інші) та штучні (целюлоза та її похідні, нітроцелюлоза та інші).

За призначенням гелі поділяються: для перорального (найчастіше використовують у педіатрії та геріатрії), зовнішнього застосування, а також на очні, вушні, назальні, вагінальні, цервікальні, ректальні, уретральні, та стоматологічні [5, 11, 59, 69].

ДР в технології МЛЗ утворюють просту або складну основу, яку можуть отримати окремо або одержати в процесі виготовлення ЛЗ. Залежно від складу основа може впливати на вивільнення діючих речовин, біодоступність і терапевтичну дію препарату [83]. Перелік ДР, які можуть використовуватись у виробництві ЛЗ в Україні, регламентований наказом МОЗ від 19.06.2007 року № 339 і включає 586 ДР та 38 барвників [75].

Важливою особливістю МЛФ є наявність у їх складі великої кількості ексципієнтів з різним функціональним призначенням, а саме: розчинників, стабілізаторів, емульгаторів (типу о/в та в/о), регуляторів рН, солюбілізаторів, гелеутворювачів, консервантів та інших ДР.

Вибір ДР, обґрунтування доцільності їх застосування та поєднання між собою є важливим етапом фармацевтичної розробки як ЛЗ в загальному, так і МЛЗ конкретно [68, 75, 83, 97].

В технології МЛЗ, зареєстрованих в Україні, часто використовують такі гідрофільні основи-носії як гелі поліетиленгліколі (поліетиленоксида), полісахариди (похідні целюлози – натрію карбоксиметилцелюлоза, натрію кармелоза, метилцелюлоза), сополімери акрилової кислоти (карбомери марок 974Р, 934 Р, 940, 980 (син. назва “карбопол”)), проксанолові основи (відомі під назвою “полоксамери”, “гідрополи”), желатино-гліцеринові, тощо. Популярними на сьогодні серед виробників є полоксамери різних марок, які являють собою біфункціональні полімери, молекули яких мають гідрофобну центральну частину та два гідрофільних закінчення. Ці речовини не мають подразнюючої та сенсibiliзуючої дії, сумісні практично з усіма АФІ, окрім фенолів [49, 83].

Карбомери – кросс-кополімери на основі поліакрилової кислоти. Оптимальним рН середовищем для приготування гелю на основі карбомеру є

діапазон від 5 до 8, при цьому утворюються прозорі гелі або з ледь помітною опалесценцією. Реологічні характеристики таких гелів практично не залежать від температури, препарати зберігають гелеподібну консистенцію навіть при високих температурах [71, 117]. На даний час активно вивчаються властивості гелевих полімерів інших країн-виробників, які є аналогами карбомерам, зокрема, “Ареспол”, “Ultrez 10”, “Ultrez 21”, “Carbopol 2020, 2001” російського, бельгійського та німецького виробництва відповідно [49, 83, 99, 117]. Лише в поодиноких складах МЛЗ використовуються колагенові, хітозанові та бентонітові основи.

До складу МЛФ найбільш часто вводять кислоту альгінову та її солі, карбомери, похідні целюлози, проксаноли, поліетиленгліколь (ПЕГ) 1500–8000, аеросил, желатин та інші [198].

Поверхнево-активні речовини стабілізують мазі, лініменти, креми, гелі та пасти, підвищуючи їх стійкість в результаті зниження поверхневого натягу на межі поділу двох рідких фаз. Вибір ПАР здійснюють, враховуючи величину його гідрофільно-ліпофільного балансу. Часто з метою одержання певного фармакологічного ефекту і максимальної стійкості ЛФ застосовують декілька емульгаторів з різним значенням даного показника [51, 83].

Серед емульгаторів найбільш часто застосовують полісорбати (синонімічна назва “твіни”), які є естерами поліоксиетиленсорбітану та вищих жирних кислот. Твіни бувають різних марок, які відрізняються між собою кислотою, яка вступила в реакцію естерифікації, наприклад, твін-20 на основі лауринової кислоти, твін-40 на основі пальмітинової кислоти, твін-60 та твін-80 – на основі стеаринової та олеїнової кислот відповідно [83, 84].

До рідин, які використовують у виробництві МЛЗ належать вода очищена, неводні гідрофільні розчинники (наприклад, спирт етиловий, гліцерин, ПЕГ-400, тощо), неводні гідрофобні розчинники (зокрема, олія вазелінова, бензилбензоат, риб'ячий жир та інші) [75]. Для покращення дисперсності лікарських речовин в гетерогенних системах можна застосовувати етанол, гліцерин, пропіленгліколь, димексид та інші розчинники. Ці ДР

прискорюють та поліпшують розчинення АФІ, та, завдяки більшій ліпофільності в порівнянні з водою, покращують перехід АФІ крізь біологічні мембрани. ПЕГ стабілізує м'які форми шляхом запобігання взаємодії молекул діючих речовин між собою та з ДР. Речовини, які покращують всмоктування (цетилпальмітат, цетиловий спирт, етиловий спирт), підсилюють проникнення речовин крізь шкіру [12, 84, 152].

При розробці гелів необхідно звернути увагу на ексципієнти, які можуть змінювати фізико-хімічні властивості ЛЗ. Найчастіше такими речовинами є антиоксиданти та антимікробні консерванти [37].

Консерванти повинні забезпечувати мікробіологічну чистоту ЛФ протягом усього терміну їх застосування, тобто мати надійну антимікробну активність, повинні бути сумісними з АФІ та іншими ексципієнтами [4]. Прикладом несумісності, наслідком якої є випадання осаду та зниження антимікробної дії, може бути сумісне використання в гелі карбомеру та бензалконію хлориду.

Від правильності вибору консервантів залежить не лише якість ЛЗ, а й безпечність, яка пов'язана із безпечністю самого консерванту. Згідно із настановою СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016 “Лікарські засоби. Належна виробнича практика” для кожного антиоксиданту та антимікробного консерванту інформація в реєстраційному досьє повинна містити: а) причину включення; б) доказ ефективності; в) метод контролю в готовій продукції; г) докладні відомості про маркування готової продукції; д) інформацію про безпеку [33, 70].

На сьогодні асортимент антимікробних консервантів, які дозволені до застосування, є досить широким, проте при розробці МЛФ виробники надають перевагу парабенам (ніпагін, ніпазол), бензойній кислоті та її солям, сорбінової кислоті та її солям, спирту фенілетиловому [28, 49, 83].

Концентрація консерванту повинна бути обґрунтована з погляду ефективності та безпеки так, щоб використовувалась мінімальна концентрація, яка забезпечувала б необхідний рівень ефективності. Випробуванням для

визначення ефективності антимікробного консерванту є тест “Ефективність антимікробних консервантів”, описаний у Європейській Фармакопеї (ЄФ) та Державній фармакопеї України (ДФУ) [131, 194].

Найпоширенішими антиоксидантами, що використовують сучасні фармацевтичні виробники у МЛФ, є кислота аскорбінова та її солі, α -токоферол, динатрію едетат, бутилгідроксианізол та бутилгідрокситолуол, натрію метабісульфіт [83].

Антиоксиданти включають до складу ЛФ, тільки в тих випадках, якщо доведено, що їх використання є обов’язковим. У випадку зменшення ймовірності проходження окиснювальних процесів у препараті шляхом оптимізації виробничого процесу, доцільність використання антиоксидантів не є обґрунтованою [99].

Для надання гелям естетичного зовнішнього вигляду та аромату, до їх складу вводять барвники та ароматизатори, а до МЛЗ, які застосовують у стоматології додають підсолоджувачі смаку, зокрема, аспартам, цукрозу, сахарози кокоат, сахарин та його солі, цикламат [75].

Як коригенти запаху та смаку, особливо в гелях стоматологічних, використовують речовини рослинного походження (ефірні олії м’яти, апельсину, хвої, гвоздики, спиртові витяжки лікарської рослинної сировини), а також синтетичні речовини, ідентичні натуральним (ментол, ванілін, тимол).

1.4 Характеристика губок медичних як перспективних засобів для закриття опікових ран та зупинки кровотеч

Механізми виникнення ран, історично відрізняються в бойових і цивільних умовах. Травми від вибухонебезпечних пристроїв стають все більш поширеними у розвинених країнах, подібно до того, що сталося в останніх випадках вибухів у цивільних секторах (наприклад, у Парижі в 2015 році та в інших місцях). В Україні кількість таких ран значно зросла в останні роки за період проведення АТО/ООС.

Дослідження та застосування абсорбуючого кровоспинного матеріалу має значення як для мирного населення, так і для військових. При будь-якій травмі присутня кровотеча, яка є однією з головних причин смерті. Тому, даний факт стимулює розвиток створення нових поглинаючих гемостатичних/абсорбуючих матеріалів, губок медичних [158, 159, 163, 177].

Губки медичні застосовуються у хірургії, нейрохірургії, стоматології, оторалінгології та гінекологія з метою припинення крововтрати або для закриття раневих поверхонь (опіки, трофічні виразки) [108, 158].

Губка медична – засіб, що має абсорбуючі і антисептичні властивості, а також стимулює регенерацію тканин [113, 142, 160].

За видом основи губки класифікують на:

- фібринні – губки, отримані з фібрину й просочені розчином тромбіну. Добре прилягають до поверхні, що кровоточить, і створюють надійний гемостаз [155];

- гемостатичні – губки, які отримують із плазми крові людини з додаванням гемостатика (кальцію хлориду та амінокапронової кислоти). Вони можуть використовуватися у вигляді порошку або окремих шматків. У випадку інфікованих ран застосовують антисептичну гемостатичну губку, що додатково насичена антибіотиком [160];

- желатинові – губки, які виготовлені зі спеціально обробленого желатину, та містять антисептики. Для посилення гемостатичного ефекту губку можна змочити розчином тромбіну [151];

- суху плазму (сироватка), приготована ліофільним методом, що має вигляд порошку, яким присипають поверхню рани, що кровоточить.

Відповідно за призначенням губки поділяють на антисептичні, абсорбуючі, вагінальні, гемостатичні, ректальні.

Використання абсорбційних матеріалів є актуальним в хірургії, має важливе значення при кровотечі та для гемостазу в цілому. Наприклад, застосування сухої губки при оперативних втручаннях забезпечує поглинання

великої кількості рідини, при цьому після операції така губка розчиняється [121, 160].

В даний час вважається, що гемостатичний та абсорбційний ефекти пов'язані з пористістю губок та їх здатністю поглинати кров або екссудат з ранової поверхні, вони відновлюють цілісність пошкоджених судин та прискорюють процес відновлення пошкоджених тканин епідермісу [138]. Губки проявляють бактерицидні, антисептичні, протимікробні, регенеруючі, тонізуючі і абсорбуючі властивості та цілеспрямовано діють на вогнище патології [1, 2, 96].

Починаючи з 2000 р. проводиться багато досліджень по розробці та вивченню нових гемостатичних та абсорбційних засобів, з'являється все більше підтверджень ефективності їх застосування в порівнянні з марлевими пов'язками [1, 96, 155, 160]. Гемостатичні губки стають цінним доповненням арсеналу засобів для зовнішнього контролю кровотечі та для закриття опікових поверхонь, особливо, у випадках, коли джгут неможливо накласти (наприклад, при травмі шиї).

З 2003 р. гемостатичні губки були впроваджені у відповідні рекомендації та керівництва військових організацій США та Північноатлантичного альянсу [159, 202].

Управлінням з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів США (FDA) опубліковано ретроспективний огляд та визначено гемостатичні засоби на основі колагену, що розсмоктуються, як потенційно придатними та ефективними засобами [132]. Гемостатичні засоби (губки медичні) на основі колагену можуть бути особливо популярними в малоінвазивних операціях, як засіб для згортання крові у важкодоступних місцях або як друга лінія захисту, коли звичайні методи не виявляються достатніми для контролю кровотечі [182, 202]. У випадку малоінвазивних хірургічних операцій желатинова губка або мікрофібрилярні колагенові засоби, як правило, вводяться через спеціальний пристрій, подібний до шприца [192].

FDA підраховано, що лише у 2012 році гемостатичні засоби використовувались у понад 6,9 мільйона процедур. Ця цифра узагальнює результати 165 загальних звітів про медичні вироби від 24 липня 2003 року та до 31 грудня 2018 року включно. Як повідомляє FDA, зафіксовано вісім випадків смерті, три з яких сталися у випадках неетичного використання засобів [132].

В даний час розсмоктуючі кровоспинні вироби згідно з 21 CFR 878.4490 класифікацією “Поглинаючі гемостатичні засоби і перевязувальний матеріал” [186] групуються під трьома кодами товарів:

- LMF – абсорбуючі гемостатичні засоби на основі колагену;
- PMX – абсорбуючі колагенові гемостатичні засоби з тромбіном;
- LMG – абсорбуючі гемостатичні засоби на основі не колагену.

Гемостатичні агенти на основі колагену (код товару LMF) виготовляються з желатину та колагену.

Желатинова губка – це всмоктуваний матеріал, створений із желатину, що ортиманий із свинячої шкіри [190]. Губка не має внутрішньої гемостатичної дії, але індукує гемостаз завдяки сильно пористій структурі, що дає змогу в 45 разів перевищувати вагу крові. По мірі наповнення кров’ю тромбоцити вступають у тісний контакт і починають злипатись, ініціюючи каскад згортання.

Колаген (мікрофібрилярний колаген) – це нерозчинні у воді волокна, що містять мікрочастинки, виготовлені з очищеного шкірного колагену. Мікрофібрилярний колаген діє, насамперед, за рахунок реакції з тромбоцитами. Тромбоцити прикріплюються до конкретних ділянок колагену і дегранулюють, ініціюючи гемостатичний каскад, що призводить до утворення фібринового згустка.

Гемостатичні засоби на основі колагену забезпечують гемостаз за допомогою контактної активації та сприяння агрегації тромбоцитів, які виникають як безпосередній результат контакту крові та колагену [2, 155, 156, 182, 202].

Продукти на основі желатину та денатурованого колагену також ініціюють згортання шляхом контактної активації. Поглинувши кров та/або ексудат, набряклі частинки желатину обмежують кровотік і забезпечують стійку матрицю, навколо якої може утворюватися згусток [192].

Поглинаючі гемостатичні агенти на основі не колагену (код товару – LMG, відповідно до класифікації FDA) не містять колагену та складаються з рослинних похідних матеріалів (окисненої целюлози, регенованої окисненої целюлози та полісахаридів). Ці засоби призначені для впливу на гемостаз за допомогою пасивної фізичної активації каскаду згортання. Біологічний компонент, як правило, складається з очищеного тромбіну, що впливає на гемостаз шляхом прямої біохімічної активації фактора (факторів) у каскаді згортання [156, 202].

Гемостатичні засоби на основі колагену, що містять біологічну речовину (код товару – PMX відповідно до класифікації FDA) характеризуються як комбіновані, оскільки, крім основи губки вони мають 7 біологічних компонентів. Основа губки переважно складається з желатинових або колагенових матеріалів, як описано вище, для сприяння гемостазу за допомогою пасивної фізичної активації каскаду згортання. Гемостаз відбувається аналогічно, як і у поглинаючих гемостатичних агентів що не містять колаген [155, 194].

Механізм дії губок пов'язаний з їхньою пористістю, оскільки відбувається захоплення тромбоцитів в коагуляційний каскад, який активується шляхом перетворення розчинного фібриногену у нерозчинний фібрин, що зупиняє кровотечу. Фізіологічне утворення ж тромбіну в губці є достатнім для припинення кровотечі, саме через його дію на фібриноген у крові [113, 126].

На сьогодні для отримання губок медичних/гемостатичних можна використовувати багато полімерних матеріалів. Зазвичай використовують колаген та колагенові волокна, целюлозу і геміцелюлозу, медичний кровоспинний желатин, альгінат, хітозан та інші речовини [107, 121, 139, 151, 163, 165, 166, 189, 209].

Хітозан широко використовується у технології ліків завдяки нетоксичності та біологічній сумісності. Хітозанові губки призначені для поглинання великої кількості рідини (20-ти кратна кількість від маси сухої губки). Прикладами хітозанових губок є “HemCon ChitoGauze”, “Celox”; а також результати досліджень показали хорошу ефективність та еквівалентність марлевих пов'язок на основі хітозану з використанням препарату “QuikClot Combat Marl” в доклінічних моделях артеріальної кровотечі на кінцівках [166, 169, 191].

Желатин – суміш білкових речовин тваринного походження або продукт неповного гідролізу, який сприяє активації макрофагів та підвищує осмотичний ефект. У технології губок використовують желатин у концентраціях від 2 % до 5 %. Розчин желатину отримують шляхом набухання желатину у воді при кімнатній температурі. До отриманого розчину, підігрітого до повного розчинення желатину, додають АФІ. Одержану суміш спінують до збільшення об'єму приблизно в 3 рази. Розчини антибіотиків та антисептиків вводять у спінений желатин, після чого проводять повторне спінування впродовж 5-7 хв до отримання стійкої піни [2, 132, 151].

На сьогодні, розроблено гемостатичний засіб, що включає желатинову губку та плівку. Концентрація желатину в плівковому шарі складає 4,8-5,0 %, а пористому шарі – 1,0 %. Для утворення губки, отримана маса повинна пройти процес глибокого заморожування при -80°C впродовж 30 хвилин; потім процес сублімаційного та вакуумного сушіння. Використання двошарового желатинового листа і желатинової губки характеризується позитивними гемостатичними результатами (100 % гемостазу) [190, 192].

Колаген – позаклітинний, близькоспоріднений білок, основний компонент сполучної тканини та шкіри, міститься, головним чином, в дермі та складає більше ніж 70 % сухої шкіри та 25 % всіх білків. Спеціальний колагеновий розчин, що виготовляють з шкіри та сухожилів великої рогатої худоби, є складним у технології та зберіганні, проте значно ефективніший у використанні. Колаген є фібрилярним білком глікопротеїдної природи, який

складається із макромолекул, що мають унікальну триспиральну структуру [2, 59, 92, 202].

Колаген виконує важливу регуляторну функцію, забезпечує пружність та еластичність тканин, запобігає зневодненню, сприяє зволоженню більш глибоких шарів шкіри, покращує стан волосся та нігтів [92, 175].

Губки гемостатичні колагенові отримують шляхом ліофілізації. Такі губки частіше використовують у стоматології та для регенерації кісткової тканини.

Гентаміцин-колагенові губки (містять 280 мг колагену та 130 мг гентаміцину) розроблені для профілактики та лікування раневої інфекції, забезпечуючи високу місцеву концентрацію гентаміцину, уникаючи високих системних концентрацій, пов'язаних з його нефротоксичністю. Колагенова матриця губки зазнає біодеструкції і руйнується протягом декількох тижнів [155, 175].

Матеріали колагену позиціонуються також як матеріали-носії у стоматології для реваскуляризації завдяки своєму зберіганню біопоглинаючих властивостей.

Абсорбуюча/гемостатична губка здатна абсорбувати великий об'єм рідини в обмеженому просторі, її можна легко видалити. Найважливішою перевагою колагенових губок, є те що вони не заважають зростанню кісток і м'яких тканин, оскільки здатні поглинати рідину навіть тоді, коли вона залишається в хірургічній порожнині [2].

Відомо, що губки медичні можна оцінити за такими характеристиками як органолептичні показники (зовнішній вигляд, колір, однорідність), середня маса та товщина, вологопоглинання та розчинення, пористість та розмір пор, щільність, морфологічні показники, прокоагулянтна активність *in vitro*, здатність до гемостазу та інші [195].

В технології губок використовують метод ліофілізації, який забезпечує підвищену стабільність та швидку їх розчинність. Технологія сублимації дозволяє отримати високопористі каркаси із колагенових волокон, а також за

рахунок введення у склад речовин “Porogen” [171], збільшується площа поверхні та утворюються мікро-, мезопори в губках. Як розчинник використовують лише воду очищену [126, 143, 161].

Приготовлені розчини (піну) заморожують перед ліофілізацією, тому в процесі сушіння відбувається сублімація льоду. Сушіння замороженої піни шляхом ліофілізації зменшує руйнування пористої структури та забезпечує одержання більш рівномірних губок з бажаним розміром пор [96, 171, 172].

Губки як гемостатичні/абсорбційні композиції стерилізують сухим жаром або гамма-випромінювання (променева стерилізація). До та після стерилізації губки перевіряють за такими параметрами: зовнішній вигляд, відсоток вологопоглинання, розмір пор, біодеградація *in vitro*.

Губки з більш високою здатністю до вологопоглинання можуть поглинати більшу кількість рідини за один раз, що важливо для ефективного гемостазу. Вважається, що розміри пор у діапазоні 60-200 мкм є оптимальними, які забезпечують максимальний контакт губок з пошкодженою поверхнею тканини та високий відсоток вологопоглинання [166].

Під пористістю розуміють наявність пор в загальному об'ємі полімерної матриці. Пори (пустоти) класифікують залежно від їх розміру та форми на чотирнадцять різних типів (загальні, зв'язані, ефективні, основні (оригінальні), вторинні, мікропорожністі, міжзернисті, внутрішньогранулярні, розчинні, переломні, міжкристалічні, плесневі, феєстральні, вигнуті) [161]. За формою пори теж бувають різними, наприклад, циліндричні відкриті, циліндричні сліпі, форма чорнила, форма лійки та шорсткі.

На сьогодні для визначення пористості можна використовувати декілька методів, застосування яких передбачає вимірювання маси губки, розміру пор та тиску. Найчастіше визначають пористість найпростішим прямим (мікроскопічним) методом [132, 139, 143, 158, 161].

Таким чином, губка є універсальною формою, яку можна заповнити необхідним АФІ, в результаті чого проявлятиме відповідну дію, наприклад, знеболювальну (з лідокаїну гідрохлоридом, новокаїну гідрохлоридом);

протизапальну (з натрію диклофенаком, димексидом, метилурацилом, преднізолоном); кровоспинну (з тромбіном, кальцію хлоридом, борною кислотою, глюконатом кальцію), тощо [1, 107, 108, 160, 163].

На сьогодні в Україні зареєстровано губку гемостатичну (на основі плазми з донорської крові людини з утвореним фібриновим згустком); пластини “ТАХОКОМ Б” різного розміру (на основі тромбіну з крові людини та ліофілізованого фібриногену людини); гранули гемостатичні “Целокс” (на основі хітозану); губку гемостатичну хірургічну “Сургіспон” стерильну (на основі желатину). Відповідно до АТС-класифікації дані препарати належать до групи В – засоби, що впливають на систему крові та гемопоез, а саме, підгрупа В02В – вітамін К та інші гемостатичні засоби [50].

Відповідно до інструкцій щодо застосування даних засобів та огляду літературних джерел, існують певні протипоказання щодо їх використання, а саме: піодермія, гнійні рани, артеріальні кровотечі, алергічні та місцеві реакції на шкірі (свербіж, печіння, почервоніння, набряк дерми).

Матеріали, що викладені в даному розділі, опубліковані в науковій праці автора [31].

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ МЕТОДОЛОГІЇ, ОБ'ЄКТІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Вибір загальної методології досліджень

Метою даної дисертаційної роботи стала розробка складу, технології гелю та губок медичних для лікування опіків на основі ВВ з ксенодерми.

При розробці нових ЛЗ важливим етапом є пошук ефективних та безпечних АФІ, які не проявлять побічних ефектів та є безпечними для використання.

Оскільки розроблювані ЛЗ призначені для МЛО, а саме гель для лікування поверхневих опіків I-IIБ ступеня, а губки для глибоких опіків, або як гемостатичний матеріал, то вони повинні відповідати наступним вимогам:

- легко та зручно наноситись на опікову поверхню та забезпечувати рівномірний розподіл АФІ;
- не проявляти місцевої подразнюючої, алергічної та сенсibiliзуючої дії;
- мати задовільні фізико-хімічні та фармако-технологічні показники, бути стійким до дії мікроорганізмів протягом передбачуваного терміну придатності;
- мати нейтральне рН, яке має бути стабільним протягом періоду зберігання.

При виробництві ЛЗ важливим є врахування вимог до технологічних процесів, найголовнішими із яких є ефективність та економічність виробництва. Методологічний підхід базується на виконанні широкого комплексу досліджень, а саме, на підставі аналізу спеціальної літератури та патентного пошуку було визначено проблему, напрямок, мету і завдання досліджень. Схема проведення поетапних досліджень наведена на рисунку 2.1.

Проведення досліджень відповідно до запропонованої методології дозволять обґрунтувати склад, технологію та методи аналізу нових ЛЗ (гелю та губок медичних) на основі ВВ з порошку ксенодерми.

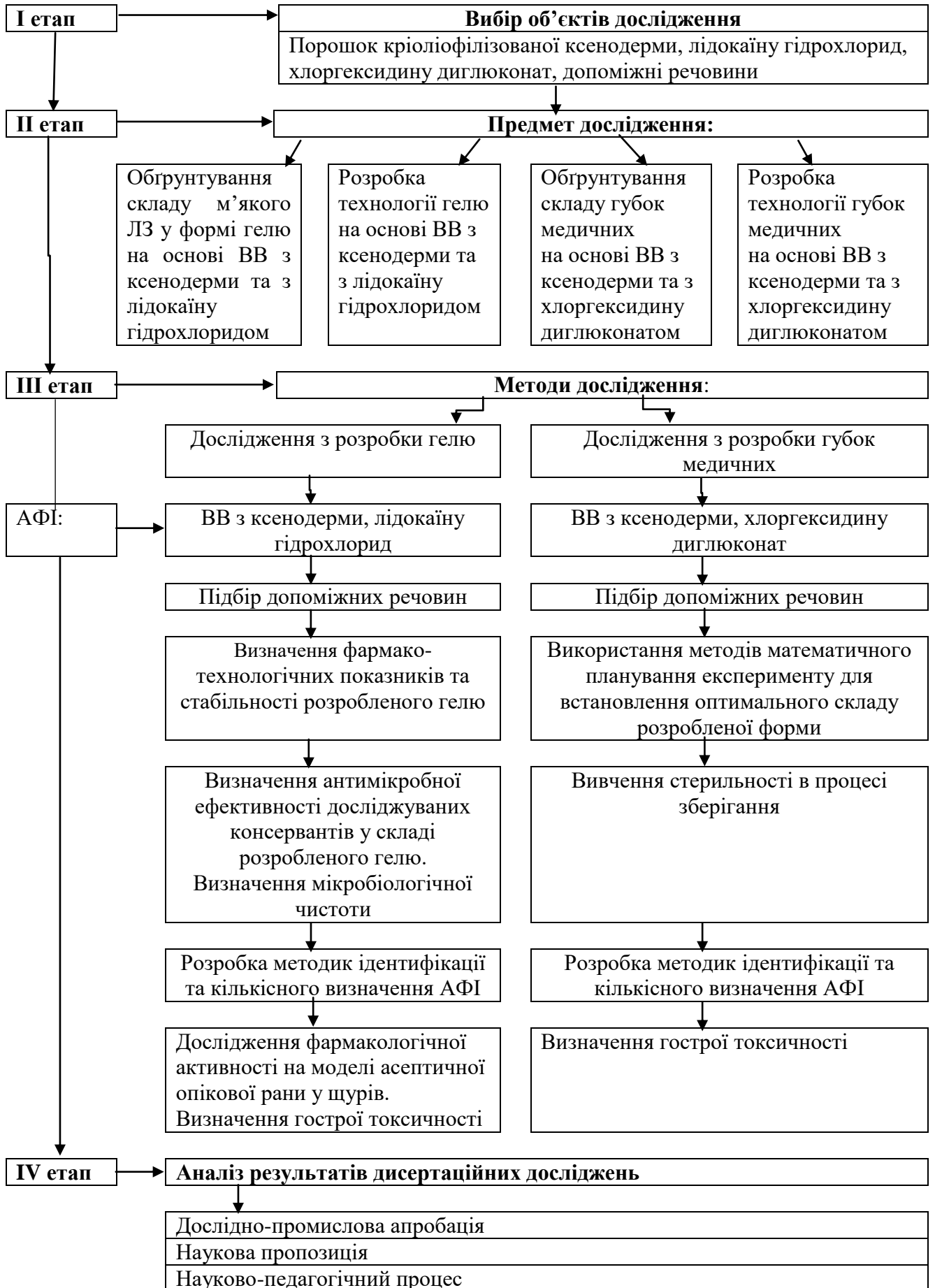
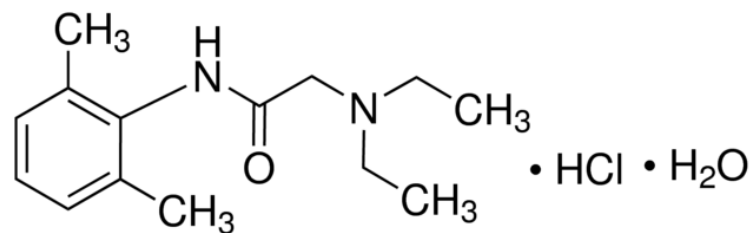


Рисунок 2.1 – Схема виконання дисертаційної роботи

2.2 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів та допоміжних речовин як об'єктів дослідження

Порошок кріоліфікованої ксеродерми свині [ТУ У 15.8-35578106-001:2011.] – аморфний, сухий грубодисперсний, гігроскопічний порошок білого забарвлення з жовтуватим відтінком. Допускається наявність нещільно з'єднаних грудочок, які розсипаються при легкому натисканні. Смак специфічний, властивий продукту, без сторонніх присмаків, без ознак осалювання. Запах специфічний, властивий продукту, проте без стороннього запаху. Подрібнений порошок кріоліфікованої ксеродерми свині розфасовують в поліетиленові пакети.

Лідокаїну гідрохлорид. 2-(Діетиламіно)-N-(2,6-диметилфеніл)ацетамід гідрохлорид моногідрат (ДФУ 2,0., Т. 2, С. 401, USP 29-NF 24, Р. 1252).

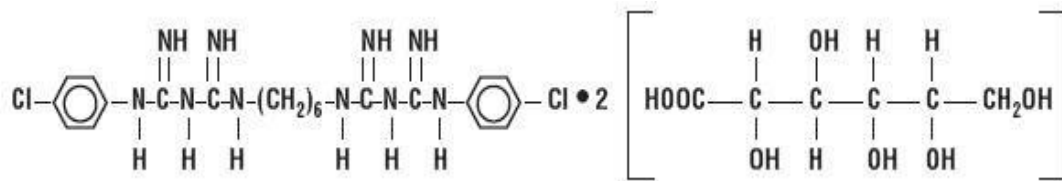


$C_{14}H_{23}ClN_2O, H_2O$

М.м.288,81

Кристалічний порошок білого або майже білого кольору. Дуже легко розчинний у воді *P*, легко розчинний в етанолі (96 %) *P*.

Хлоргексидину диглюконат. 1,1'-гексаметиленбіс[5-(*p*-хлорофеніл)бігуанід] диглюконат (Ф. США (USP 29-NF 24))



$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}O_{10} \cdot 2C_6H_{12}O_7$

М.м. 897,76

Безбарвна рідина. Антисептичний, дезинфікуючий засіб, який проявляє бактерицидну та/або бактериостатичну дію на грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми.

Усі ДР, які було використано при розробці оптимального складу та технології гелю та губок медичних на основі ВВ з ксенодерми відповідають вимогам Наказу МОЗ № 339 від 19. 06. 2007 р. “Про затвердження Переліку назв допоміжних речовин та барвників, що входять до складу лікарського засобу” [75].

Використані ДР є стабільними, не мають токсичної дії та відповідають вимогам щодо якості ДФУ та ЄФ. Екстрагенти, розчинники, реактиви та консерванти, які були використані у роботі, відповідають вимогам ДФУ та відповідній нормативній документації, та є дозволеними до використання у фармацевтичній промисловості [47-49]. В процесі проведення аналітичних випробувань використовували різні стандартні зразки (СЗ) (18 амінокислот, хлоргексидину діацетат, лідокаїну гідрохлорид, ліофілізований бичачий сироватковий альбумін).

Перелік ДР та їх функціональне призначення наведені у додатку Г.

2.3 Характеристика методів дослідження гелів

Дослідження з контролю якості розробленої МЛФ виконувались відповідно до методів та рекомендацій наведених у ДФУ 2.0., Т. 1 розділ “М’які лікарські засоби для наскірного застосування” (С. 1098-1101).

Опис. Органолептично досліджували зовнішній вигляд і характерні властивості зразків гелів (забарвлення, запах, консистенцію тощо). Лікарські форми досліджувались щодо наявності/відсутності ознак фізичної нестабільності (агрегація часток, коагуляція, коалесценція, розшарування, тощо).

Визначення забарвлення і запаху. Зовнішній вигляд, забарвлення та запах визначали, переглядаючи мазки гелю, нанесені на предметне скельце шаром завтовшки 2-4 мм.

Визначення однорідності. Дослідження проводили за методикою, наведеною в монографії ДФУ 2.0., Т. 3 “М’які лікарські засоби, виготовлені в аптеках” (С. 713). По чотири проби досліджуваного зразка масою 20-30 мг,

поміщали між двома предметними скельцями, притискаючи їх для утворення зон діаметром 2 см. Отримані проби розглядали на відстані 30 см від очей. Зразок гелю вважали однорідним, якщо в усіх чотирьох пробах не виявлялися видимі частинки, включення та ознаки фізичної нестабільності (розшарування). Якщо одна з проб не витримувала випробування, визначення проводили додатково ще на восьми пробах, всі з яких повинні витримувати даний тест [49].

Визначення рН водних розчинів гелів. Значення рН досліджуваних зразків визначали потенціометрично (ДФУ, 2.0., Т. 1, п. 2.2.3), з використанням потенціометра. Всі вимірювання проводились при кімнатній температурі. Прилад калібрували з використанням стандартних буферних розчинів.

Виготовляли 10 % водні розчини модельних зразків гелів: 5,0 г гелю поміщали в конічну колбу місткістю 100 мл, додавали 45 мл води *P*, перемішували до повного розчинення гелю [47].

Дослідження вивільнення АФІ із модельних зразків гелів через напівпроникну мембрану. Вивільнення АФІ (лідокіаїну гідрохлориду) з модельних зразків гелів визначали при температурі 34 ± 1 °С у дослідах *in vitro* методом діалізу крізь напівпроникну мембрану в 9 г/л *натрію хлориду* розчин, використовуючи діалізаційний блок з двома робочими камерами. До нижнього отвору внутрішнього циліндра діалізаційної камери герметично прикріплювали напівпроникну мембрану (тонкий шар шкіри свині) [97, 148, 184]. Наважку дослідного зразка (1,0 г) рівномірно наносили на поверхню мембрани, площа становить близько 2000 мм². Внутрішній циліндр з дослідним зразком вміщували в діалізаційну камеру, яка містила (50 ± 0,5 мл) 9 г/л *натрій хлориду* *P* розчину. Вміст лідокаїну гідрохлориду у пробі діалізату визначали методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області (за методом стандарту), визначаючи оптичну густину розчинів при (263 ± 2) нм (ДФУ 2.0., Т. 3, С. 613-614). Тривалість дослідження складала 3 год.

Визначення густини. Здійснювали пікнометрично, використовуючи скляний пікнометр № 50 ($V \approx 64 \text{ см}^3$) (ДФУ 2.0., Т. 1, п. 2.2.5).

Густина ρ (г/см³) вираховували за формулою:

$$\rho = 0,99997 \cdot \frac{(m_2 - m)}{(m_1 - m)},$$

де m – маса пікнометра, г;

m_1 – маса пікнометра з водою очищеною, г;

m_2 – маса пікнометра з досліджуваною рідиною, г;

0,99997 – густина води при 20 °С, г/см³.

Визначення реологічних властивостей. Вивчення структурно-механічних (реологічних) параметрів виконували згідно вимог ДФУ 2.0., Т. 1, п. 2.2.10. Дослідження реологічних показників розробленого гелю проводили на ротаційному віскозиметрі “Rheomat-30” (фірми Contraves AG, Швейцарія) із використання адаптера ротаційного типу з коаксіальними циліндрами, який оснащений спеціальною проточною коміркою.

Прилад прогрівали впродовж 20 хв до заданої температури, потім поміщали наважку гелю у камеру (зовнішній циліндр). Після вмикання приладу внутрішній циліндр починав обертання з малих швидкостей деформації, включаючи послідовно наступні швидкості зсуву.

Дослідження проводили при різних температурах в інтервалі швидкостей зсуву від 0 до 452 с⁻¹. Температуру вимірювали лабораторним термометром з ціною поділки 0,1 °С.

Вивченню підлягали такі параметри як динамічна в'язкість (η , мПа·с), швидкість зсуву ($D_{\text{гер}}$, с⁻¹), напруга зсуву (τ , Па), механічна стабільність (МС), коефіцієнт динамічної течії (Kd).

Динамічну в'язкість гелю (η) визначали за формулою:

$$\eta = \frac{\tau}{D_r}$$

де τ – напруга зсуву, Па;

D_r – швидкість обертання циліндра, с⁻¹.

Напругу зсуву (τ) визначали за формулою:

$$\tau = \tau_r \% \cdot \alpha$$

де τ_r % – константа приладу;

α – показ шкали приладу.

Значення механічної стабільності (МС) розраховували за формулою:

$$МС = \tau_1 / \tau_2$$

де τ_1 – межі міцності структури до руйнування;

τ_2 – межі міцності структури після її руйнування.

Визначення кількісної оцінки плинності м'яких лікарських форм. В'язкість гелів визначали при швидкостях зсуву 3,3 і 6,1 с⁻¹, що відповідає швидкості руху долоні на поверхні шкіри, а також при швидкостях зсуву 28,5 і 132,0 с⁻¹, що дозволяє відтворити інтенсивність їх технологічної обробки під час виробництва МЛФ для зовнішнього застосування. Коефіцієнти динамічної течії розраховували за такими формулами:

$$K_d = \frac{(\eta_{3,3} - \eta_{6,1}) * 100}{\eta_{3,3}}$$

$$K_d = \frac{(\eta_{28,5} - \eta_{132}) * 100}{\eta_{28,5}}$$

де K_d – коефіцієнти динамічної течії;

η – ефективна в'язкість за певних швидкостей зсуву.

Маса вмісту контейнера. Масу вмісту контейнера визначали на 10 упаковках, відповідно до методики наведеної у ДФУ 1.1., п. 2.9.28, С. 86. Десять контейнерів із вмістом препарату зважували, кожну одиницю окремо, з точністю до 0,01 г, звільняли від вмісту, промивали гарячою водою, залишки води видаляли фільтрувальним папером і знову зважували. Маса вмісту кожного контейнера з ЛЗ повинна бути від 28,8 г до 31,2 г (± 4 %); середня маса вмісту десяти контейнерів повинна бути від 29,17 г до 30,65 г ($\pm 1,3$ %) (для контейнерів масою 30,0 г).

Визначення герметичності контейнера проводили відповідно до методики, наведеної у ДФУ 2.0., Т.1, С. 1101. Відбирали 10 туб з гелем, ретельно витирали їх ззовні фільтрувальним папером. Туби поміщали у горизонтальному положенні на аркуш фільтрувального паперу і витримували 8 год у термостаті при температурі 60 ± 3 °С. Контейнери вважали герметичними, якщо не було підтікань на фільтрувальному папері із жодної з туб.

2.4 Характеристика методів дослідження губок медичних

Опис. Губки медичні контролювали за зовнішнім виглядом і характерними органолептичними властивостями (забарвлення, запах, консистенція), а також за ознаками фізичної нестабільності (розшарування, ламкість, щільність, однорідність поверхні).

Визначення товщини губки. Товщину губок вимірювали за допомогою товщиноміру КИ (ГОСТ 6507-78) з точністю до 10 мкм.

Визначення середньої маси губки. Середню масу губки визначали шляхом зважування 10 губок однієї серії на аналітичних вагах, кожену губку зважували окремо і розраховували середню масу. Вважається, що губки витримали випробування, якщо жодна із індивідуальних мас не відхиляється від середньої маси на величину, що перевищує ± 10 %. Якщо хоча б одна з губок не витримувала випробування, тоді визначення проводили додатково на 20 губках.

Морфологія губок. Досліджували тонкі зрізи губок за допомогою мікроскопу Nikon Eclipse CI-E. Крім того, губки були розглянуті під оптичним мікроскопом для кращого спостереження за пористою структурою та взаємозв'язками між порами.

Визначення рН водних розчинів губок. Значення рН досліджуваних зразків визначали потенціометрично (ДФУ, 2.0., Т. 1, п. 2.2.3). Всі випробування проводились при кімнатній температурі. Потенціометр калібрували з використанням стандартних буферних розчинів.

Відсоток вологопоглинання. Для визначення відсотка вологопоглинання готували симуляційний розчин, що містить 8,398 г/л *натрію хлориду* і 0,278 г/л *кальцію хлориду*. Дана пропорція вмісту іонів відповідає кількості та співвідношенню в сироватці крові людини. У плоскодонну чашку (попередньо нагріту до $37 \pm 1^\circ\text{C}$) додавали симуляційний розчин та занурювали у нього на 10 хв попередньо зважений шматочок сухої губки розміром $1 \times 1 \text{ см}^2$ (X_0). Губку виймали та, після видалення поверхневої вологи фільтрувальним папером, зважували (X_1). Вологопоглинання (%) розраховували таким чином:

$$\text{Вологопоглинання (\%)} = (X_1 - X_0) / X_0 \times 100 \%$$

де X_0 – маса губки до поглинання, г;

X_1 – маса губки після поглинання, г.

Дану методику можна використовувати для моделювання кривої вологопоглинання та визначення часу повного розчинення (деградація). З цією метою губку зважують через певні проміжки часу до повного розчинення. Експеримент проводять паралельно при двох різних температурах: кімнатній ($(25 \pm 3)^\circ\text{C}$) та в термостаті (37°C) з наступною інтерпретацією результатів.

In vitro *деградація губок.* Деградацію визначали шляхом занурення губки в 10 мл фосфатного буферного розчину (рН 7,4) на 1 добу. Дослідження проводили за кімнатної температури ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) та в умовах камери інкубації (37°C) з наступним порівнянням результатів випробування. Через 24 години губку повторно висушували та розраховували зміну в масі. *In vitro* деградацію губок розраховували за формулою:

$$\text{Деградація (\%)} = (X_k - X_p) / X_p$$

де X_k – кінцева маса губки після висушування, г;

X_p – початкова маса губки, г.

Час розчинення губок. Після визначення відсотка *In vitro* деградації губок, одержані відсоткові значення за 1 добу експерименту переводили у години, та визначали час повного розчинення при двох температурних режимах (за кімнатної температури ($(25 \pm 3)^\circ\text{C}$) та в умовах камери інкубації (37°C)).

2.5 Мікробіологічні методи

Визначення протимікробної активності зразків гелю. Випробування проводили на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України під керівництвом доц. О.В. Покришко та у ДП “Тернопільський науково-виробничий центр стандартизації, метрології та сертифікації” під керівництвом канд. біол. наук О.Я. Лукашів.

Ефективність антимікробних консервантів визначали відповідно до вимог ДФУ, 2.0., Т. 1, п. 5.1.3 С. 773 “Ефективність антимікробних консервантів”.

Критерієм оцінки антибактеріальної ефективності консервантів вважається зменшення або хоча б не збільшення кількості життєздатних клітин мікроорганізмів за певний період після контамінації готового засобу. У препаратах для місцевого застосування, відповідно до вимог ДФУ, логарифм зменшення (lg) кількості життєздатних мікроорганізмів по відношенню до певної вихідної кількості клітин через 2 доби має становити не менше 2-х, через 7 діб – не менше 3-х, у подальшому – після 28 діб кількість життєздатних клітин бактерій не повинна збільшуватися. Логарифм зменшення кількості життєздатних клітин грибів за 14 діб має становити не менше 2-х і за 28 діб не повинен збільшуватись. Ці показники відповідають критерію «А».

Згідно з критерієм «В» у препаратах для місцевого застосування логарифм зменшення кількості життєздатних бактерій за 14 діб має складати не менше 3-х, а у подальшому (28 діб) кількість життєздатних бактерій не повинна збільшуватися. Логарифм зменшення кількості життєздатних грибів за 14 діб має складати не менше 1 і в подальшому (28 діб) не збільшуватися. Наявність життєздатних клітин мікроорганізмів і грибів на 28 добу дослідження вказує на невідповідність препарату критеріям «А» або «В» і вимогам ДФУ [43].

Ефективність антимікробних консервантів вивчали згідно відповідної методики оцінки та вимог ДФУ. Як референт-штами використовували наступні мікроорганізми: грампозитивні коки *Staphylococcus aureus* ATCC 25923,

грамнегативні палички *Escherichia coli* 055K59 №3912/41 та *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2853 (F51), дріжджові та цвілеві гриби *Candida albicans* ATCC 885-653 та *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Перед проведенням експериментів перевіряли якість поживних середовищ за їх ростовими властивостями (табл. 2.1).

Поживні середовища інокулювали незначною кількістю тест-штамів мікроорганізмів ($10\text{-}10^2$) колонієутворювальних одиниць на 1 мл середовища – КУО/мл.

Всі досліджувані культури мікроорганізмів відповідали таксономічному позначенню штаму, а морфологія колоній при культивуванні на поживних середовищах і морфологія клітин при мікроскопії була типовою. При проведенні дослідів використовували однодобові суспензії бактеріальних культур у фізіологічному розчині та п'ятидобові культури грибів.

Для приготування суспензій бактеріальних культур і культури дріжджового гриба *C. albicans* мікробну масу змивали з поверхні поживного середовища стерильним суспендованим розчином, що вміщував 9 г/л натрію хлориду *P*, та переносили у стерильну пробірку, ретельно перемішували для рівномірного розподілення мікроорганізмів у зразку та доводили вміст до 10^8 клітин/мл. Для приготування суспензії культури *A. brasiliensis* використовували стерильну суспендуючу рідину, що містить 9 г/л натрію хлориду *P*, 0,5 г/л полісорбат 80 *P*, та доводили вміст спор до 10^8 КУО в мл.

Із кожної отриманої суспензії, відразу після її приготування, відбирали проби і визначали кількість КУО в 1 мл кожної суспензії шляхом прямого висівання на чашки Петрі зі щільними поживними середовищами, які використовували для початкового вирощування тест-культур.

До кожного досліджуваного зразка додавали суспензію тест-мікроорганізмів у концентрації 10^8 клітин/мл так, щоб у самому зразку мікробне навантаження становило від 10^5 до 10^6 КУО/мл.

Зразки витримували при температурі 20-25 °C у захищеному від світла місці.

Таблиця 2.1 – Ростові властивості поживних середовищ

Тест-штами мікроорганізмів	Поживні середовища	Умови культивування		Висновок
		Температура, °С	Термін культивування	
S. aureus ATCC 25923	жовтково-солевий агар	37	24–48 год	Морфологія колоній і клітин типова
E. coli 055K59 №3912/41	середовище Ендо	37	18–24 год	Морфологія колоній і клітин типова
P. aeruginosa ATCC 2853 (F51).	МПА, середовище Плоскірева	37	24 год	Морфологія колоній і клітин типова
C. albicans ATCC 885-653	агар Сабуро	25	5 діб	Морфологія колоній і клітин типова
A. brasiliensis ATCC 16404	агар Сабуро	25	5-7 діб	Морфологія колоній і клітин типова

Дослідження на мікробіологічну чистоту та стерильність. Визначення МБЧ гелю проводили згідно методики ДФУ 2.0., Т. 1, п. 5.1.4, С. 775 “Мікробіологічна чистота нестерильних лікарських засобів та субстанцій для фармацевтичного застосування”. Визначення стерильності губок медичних проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0., Т. 1, п. 2.6.1, С. 234 “Стерильність”.

2.6 Біологічні методи

Для підтвердження ранозагоювальної дії розробленої фармацевтичної композиції у вигляді гелю та губки медичної було проведено скринінгові дослідження на моделі асептичної опікової травми у щурів на базі віварію ТНМУ імені І.Я. Горбачевського МОЗ України за консультативної допомоги к. біол. н. І.П. Стечишин.

Фармакологічне дослідження також включало вивчення загальнотоксичних властивостей та гістологічних досліджень [38, 88].

Молекули середньої маси. Рівень молекул середньої маси (MCM_1 і MCM_2) вимірювали за методом Габриеляна з модифікаціями (Gabrielyan N.I., 1985). Відповідно до методики у центрифужну пробірку додавали 1 мл сироватки та 0,5 мл трихлороцтової кислоти (100 г/л), перемішували і центрифугували протягом 30 хв при 3000 об./хв. Супернатант збирали і переносили у пробірку з 4,5 мл води очищеної. Вміст пробірки перемішували і вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 254 та 280 нм [145, 207].

Визначання загального білка. Вміст загального білка визначали з використанням набору для фотометричного визначення вмісту загального білка у сироватці крові біуретовим методом.

Визначення АлАТ та АсАт. Активності амінотрансфераз визначали за допомогою стандартних наборів реактивів для визначення ферментів (ТОВ НВП “Філісіт-Діагностика”), в основу яких закладено уніфікований метод S. Reitman, S.A. Frenkel [101].

Гостра токсичність. Дослідження проводили на статевозрілих білих щурах самицях, які більш чутливі до токсичної дії, ніж самці, по 6 особин у групі. Тварин поділяли випадковим чином, порівно. Розроблену фармацевтичну композицію у вигляді гелю рівномірно наносили на депільовану ділянку шкіри тварин у дозі 2810 мг/кг маси тіла. Губку медичну вводили перорально, розчинивши попередньо, за допомогою зонду натще у вигляді водної суспензії у дозі 10 000 мг/кг [46, 102].

Спостереження за тваринами проводили двічі на день (зранку та ввечері) протягом 14 днів. Клінічні спостереження включали: контроль рухової активності, стан шкірного покриву, зміна дихання, вживання їжі та води, зміна маси та будь які зміни у поведінці тварин. Для контролю за масою тіла тварин, проводили індивідуальні зважування перед нанесенням зразків гелю в день експерименту та на 3, 7 та 14 доби.

Після завершення періоду спостереження, а саме 14 діб, під наркозом провели евтаназію тварин. У подальшому були визначені біохімічні показники крові щурів, проведено патоморфологічне та гістологічне дослідження їх внутрішніх органів.

Гістологічні дослідження проведено на базі кафедри гістології та ембріології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України за консультативної допомоги к. біол. н., доц. С.Б. Крамар.

2.7 Методи якісного та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів у розроблених засобах

Комплексні дослідження щодо аналізу кріоліофілізованої ксенодерми, ВВ на його основі, а також гелю та губок медичних на основі ВВ було проведено на базі АТ “Галичфарм” та ТОВ “Інститут біомедичних технологій”, відповідні методики наведені у розділах та у додатках М, Н.

Ідентифікацію амінокислот у порошку ксенодерми, ВВ на його основі, в гелі та губках медичних проводили методами тонкошарової хроматографії (ТШХ) (лише в порошку ксенодерми) та ВЕРХ з використанням рідинного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Technologies, США).

Кількісний вміст білка у водному витязі та гелі визначали спектрофотометрично за методом Лоурі (ДФУ 2.0., Т. 1, п 2.5.33 С. 238).

Для ідентифікації та кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду та хлоргексидину диглюконату в гелі та в губках медичних використовували метод ВЕРХ із використанням діодно-матричного детектора.

Кількісний вміст фенілетилового спирту визначали методом газової хромато-мас-спектрометрії на приладі Agilent 6890N/5973inert (Agilent Technologies, США).

2.8 Методи математичного планування експерименту та обробка результатів досліджень

Математичне планування експерименту сприяє ефективному плануванню та проведенню експерименту, зменшенню кількості дослідів при проведенні порівняльних випробувань та отриманню достовірних результатів досліджень [40].

При проведенні експериментальних досліджень щодо розробки складу та технології губок медичних використовували плани дисперсійного (латинський квадрат 4x4) та регресійного (симетричний ротатабельний композиційний план другого порядку) аналізів.

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за спеціально розробленими програмами (“Excel”) та програмою “Design-Expert 12.0”.

Визначення статистичної достовірності результатів біологічних випробувань та результатів хімічного експерименту проводили відповідно до вимог ДФУ 2.0., Т. 1., п. 5.3 та 5.3.N.1.

РОЗДІЛ 3

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ АСОРТИМЕНТУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДЛЯ МІСЦЕВОГО ЛІКУВАННЯ ОПІКІВ НА НАЦІОНАЛЬНОМУ ТА ЗАКОРДОННИХ РИНКАХ. ТЕХНОЛОГІЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ВОДНОГО ВИТЯГУ З КСЕНОДЕРМИ

3.1 Аналіз фармацевтичних ринків лікарських засобів для місцевого лікування опікових ран

3.1.1 Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів для місцевого лікування опікових ран

Вивчення номенклатурного асортименту ЛЗ проводилось згідно з Державним реєстром ЛЗ і Анатомо-терапевтично-хімічною класифікацією (АТС) (Anatomical Therapeutic Chemical). Об'єктом дослідження була інформація про зареєстровані ЛЗ на території України, розміщена на сайті «Нормативно-директивні документи МОЗ України» [50, 76], при цьому використано метод аналізу вторинної маркетингової інформації. Як інформаційне джерело використано також “Компендіум”.

Нами встановлено, що асортимент, зареєстрованих в Україні ЛЗ для МЛО станом на грудень 2018 р. налічує 105 препаратів різної форми випуску. Досліджуваний асортимент ЛЗ аналізували за формою випуску (рис. 3.1).

Аналіз асортименту зареєстрованих в Україні ЛЗ, станом на кінець 2018 рік продемонстрував, що основна їх частина представлена МЛФ – 67,58 %, серед яких домінують мазі – 53,43 %, на другому місці – креми (23,29 %), в значно меншій кількості представлені гелі (12,33 %) та лініменти (10,95 %). Рідким ЛФ (розчини для зовнішнього застосування, емульсії та настойки) належить 22,23 % ринку, ЛФ, що розпилюються (аерозолі та спреї) та твердим формам випуску (порошки) 8,33 % та 1,86 % відповідно.

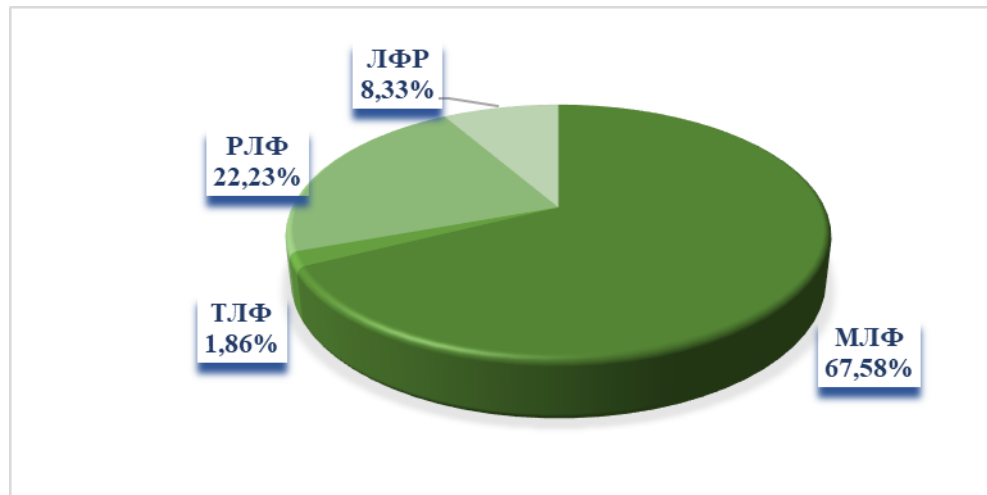


Рисунок 3.1 – Співвідношення асортименту ЛЗ для лікування опіків, зареєстрованих в Україні, за видом лікарської форми, %

Результати вивчення асортиментної структури ЛЗ для лікування опіків, що зареєстровані в Україні, свідчать про незначну різницю у відсотковому співвідношенні між імпортними та вітчизняними препаратами (58,33 % та 41,67 %), з переважанням частки саме ЛЗ закордонного виробництва (рис. 3.2).

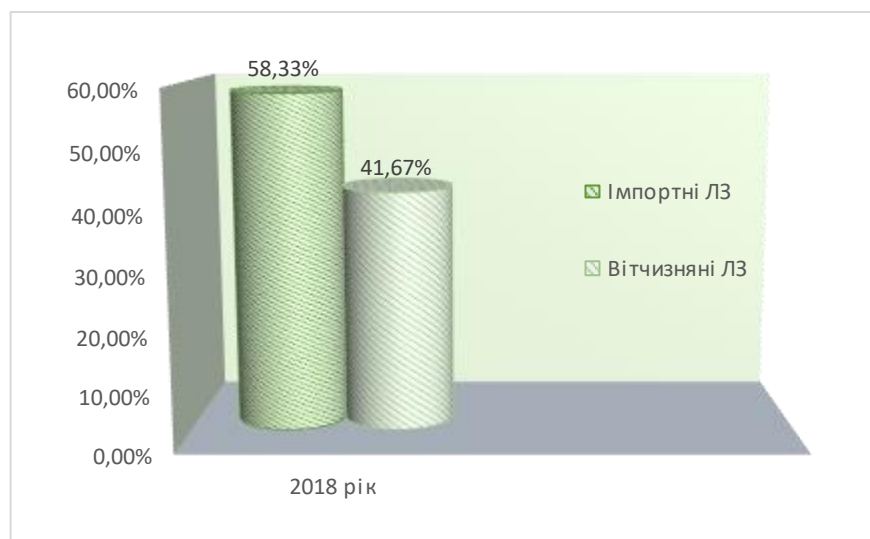


Рисунок 3.2 – Діаграма розподілу вітчизняних та імпортних ЛЗ для місцевого лікування опіків на національному ринку

Станом на грудень 2018 р. ЛЗ для лікування опіків на українському ринку представляють 12 країн світу, з-поміж яких лідерами є Німеччина (24,45 %),

Польща (13,32 %), Швейцарія (13,32 %), Росія (8,88 %). Інші країни, імпортуваних ЛЗ яких є незначним, займають сумарно 40,03 % українського ринку (рис. 3.3).

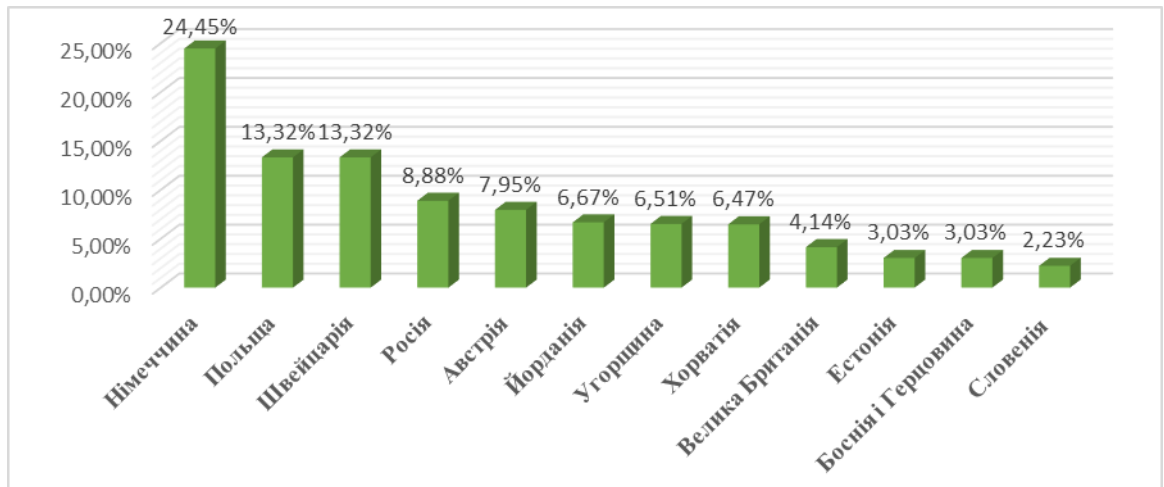


Рисунок 3.3 – Рейтингова шкала країн-виробників за кількістю зареєстрованих ЛЗ для МЛО на фармацевтичному ринку України, %

В Україні препарати для МЛО випускають 22 фармацевтичних підприємств різної форми власності. За обсягом виробництва домінуючі позиції займають ВАТ “Лубнифарм” – 12,70 %, ТОВ Фармацевтична фабрика “Віола” – 9,52 %, ПАТ “Фітофарм” – 9,52 %, ПАТ “Борщагівський ХФЗ” – 7,94 %, ТОВ “Фармацевтична компанія “Здоров’я”, ПрАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця” – 6,35 %, ПАТ “Фармак” – 6,35 %. Частка інших вітчизняних фармацевтичних виробників ЛЗ зазначеної дії, є незначною і разом складає 41,27 % ринку (рис. 3.4).

В Україні, з усієї кількості ЛЗ для МЛО частка монокомпонентних засобів становить 55,24 %, решта (44,76 %) – комбіновані препарати (рис. 3.5).

Найбільш ефективними і часто використовуваними препаратами, що використовують для МЛО, є антибактеріальні препарати, дану групу складають антибіотики і антисептики (бетадин, етоній; препарати на основі високодисперсного колоїдного срібла, “Сільведерм” (мазь, крем), дермазин та інші), також препарати, що стимулюють загоєння (усі ЛЗ із декспантенолом; “Солкосерил”, “Актовегін” та інші) та композиційні складки (“Левомеколь” та

інші). Часто при лікуванні опіків використовують поєднання антисептиків, знеболювальних і препаратів, що стимулюють загоєння.

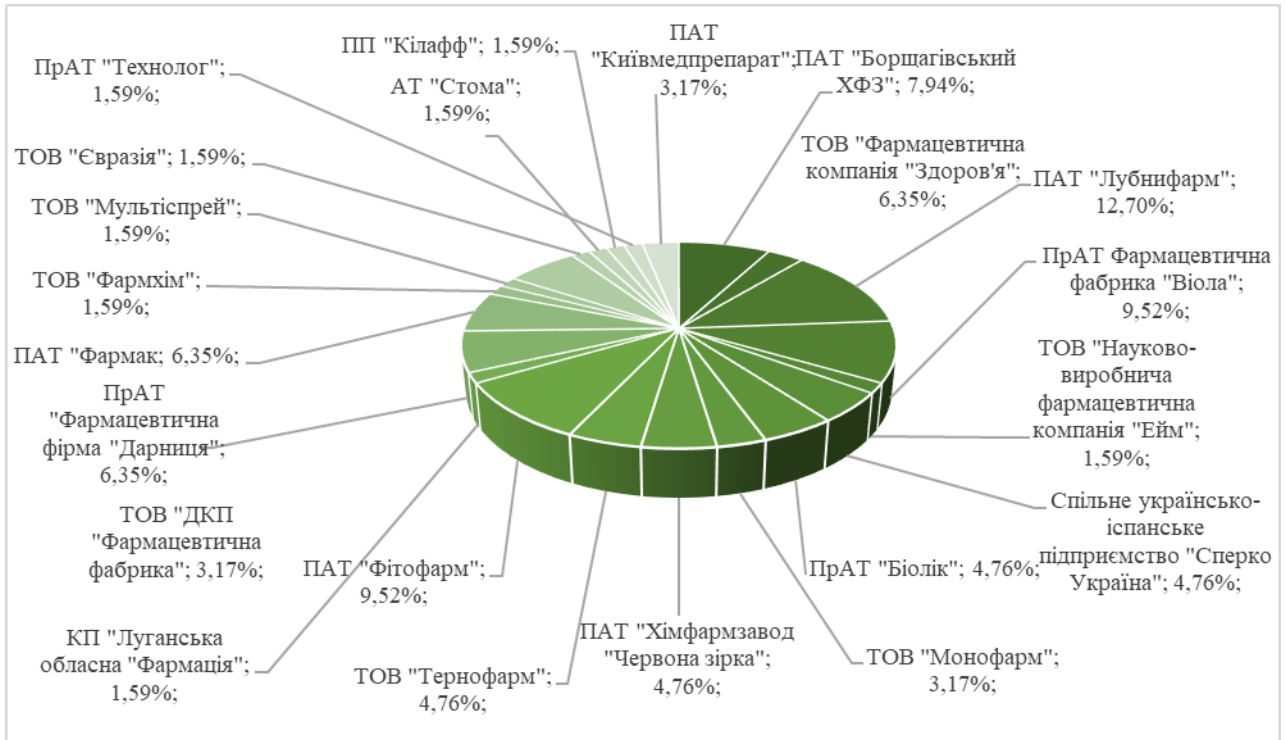


Рисунок 3.4 – Рейтингова шкала вітчизняних виробників за кількість зареєстрованих ЛЗ для МЛО на фармацевтичному ринку України, %

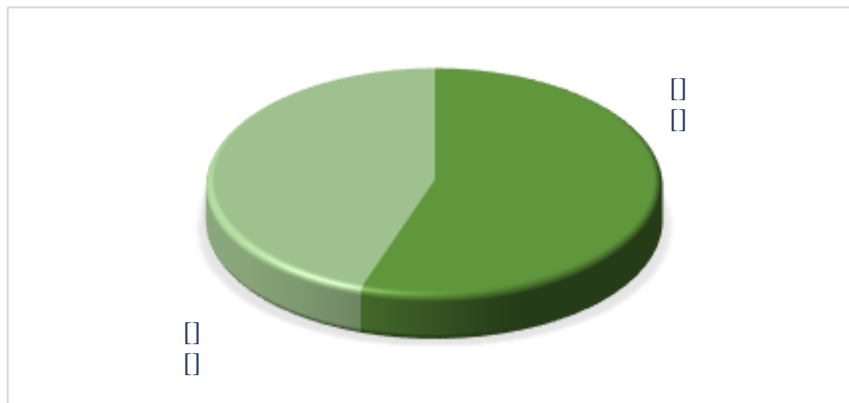


Рисунок 3.5 – Асортимент ЛЗ для МЛО за складом препарату, %

Дані дослідження доводять перспективу розширення асортименту існуючих ЛФ та створення нової групи оригінальних ЛЗ, які б стимулювали регенераторні процеси шкіри, та покращували б загоєння ран [21, 24, 26, 30, 196, 198].

3.1.2 Порівняльна характеристика асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на закордонних фармацевтичних ринках

Відомо, що ЛЗ, які зареєстровані в зарубіжних країнах, не обов'язково реєструються в Україні. Є різні мотиви входу зарубіжних фармацевтичних виробників на фармацевтичний ринок України, при цьому внутрішній фармацевтичний ринок зарубіжних країн може суттєво відрізнятися від українського. При створенні оригінальних ЛЗ проходить певний період часу перш ніж виробник ЛЗ приймає рішення про вихід на зарубіжні ринки.

Згідно з результатами проведених досліджень на фармацевтичних ринках Польщі, Росії та Франції нараховується 63, 72 та 64 (безрецептурних) ЛЗ відповідно, різної форми випуску з різних груп АТС-класифікації, які безпосередньо використовуються для МЛО.

Відповідно до інструкцій про застосування ЛЗ, дані препарати належать до безрецептурних засобів та можуть використовуватись для лікування поверхневих та глибоких опіків [39, 79, 109, 122].

Усі досліджувані ЛЗ, що зареєстровані на іноземних фармацевтичних ринках було проаналізовано за формою випуску (рис. 3.6).

На фармацевтичних ринках Польщі, Росії та Франції домінуючі позиції теж займають ЛЗ м'якої форми випуску, яким належить 75 %, 62 % та майже 39 % відповідно.

Встановлено, що для місцевого лікування опікових поверхонь в Росії, Польщі та Франції зареєстровано ЛЗ у формі губок медичних та пластирів, аналогів яким вітчизняного виробництва немає.

Зокрема, в Росії зареєстровано 5 найменувань лікарських препаратів у вигляді губок медичних, а саме, “Метуракол”, що містить метилурацил та сухий колаген; “Альгімаф” з натрію альгінатом, кальцію глюконатом, мафенід ацетатом, кислотою фенозановою; “Альгіпор”, до складу якого входить натрію альгінат, кальцію глюконат та фурацилін; “Губка з канаміцином” (канаміцин,

нітрофура́л) та “Комбутек-2”, який містить колаген як основу, глутаровий альдегід, хінозол та кислоти борну [39, 197].

Польські фармацевтичні підприємства для МЛО випускають пластри різних розмірів на основі гідрогелю – “DermaPlast”, “Urgo Burns”. ЛЗ “Versiva ХС” виробництва фірми “Bristol Myers Squibb” складається з природних і синтетичних полімерів (полівінілпіролідон, ПЕГ і агар) [197].

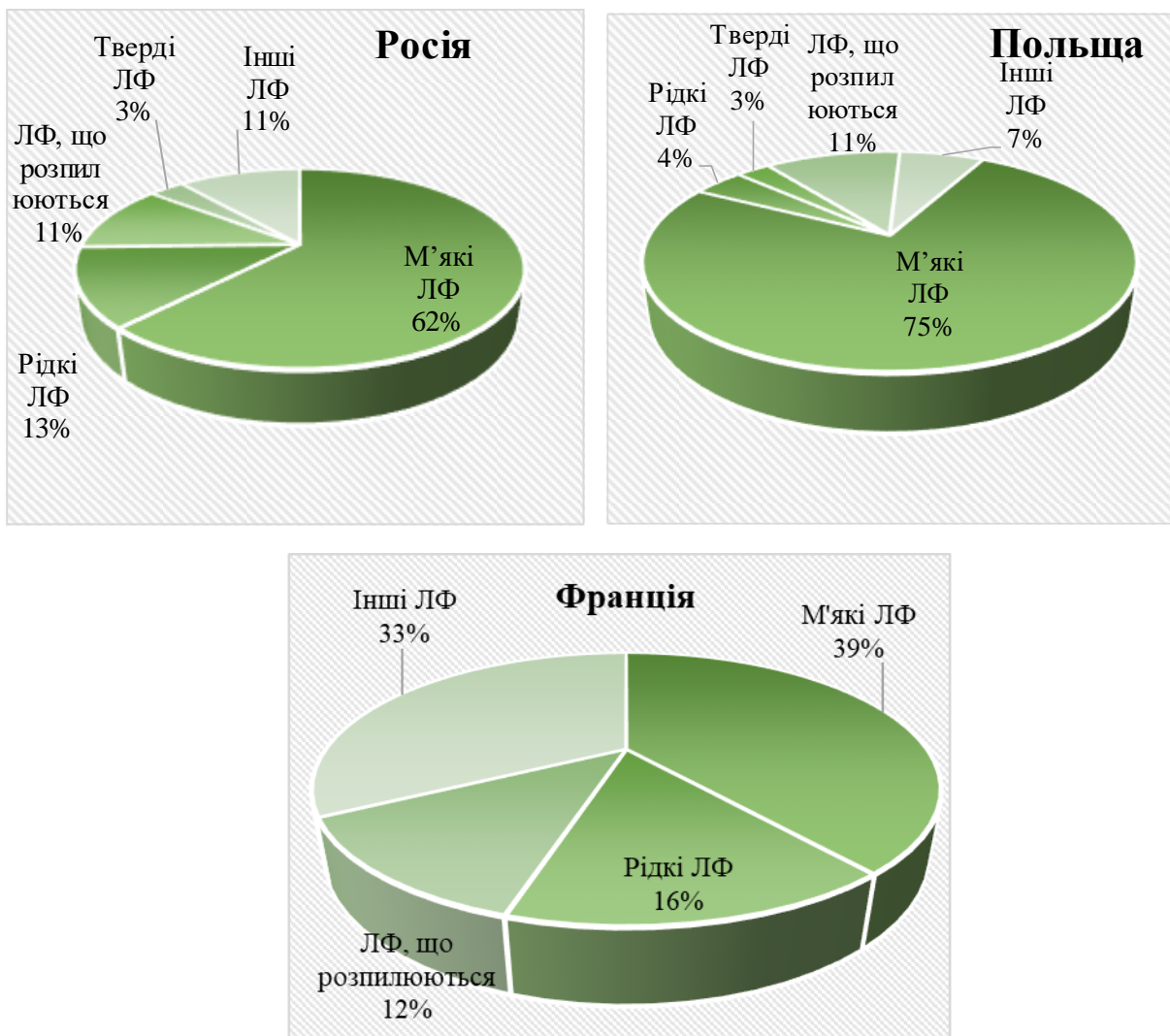


Рисунок 3.6 – Співвідношення асортименту ЛЗ для лікування опіків, за видом лікарської форми

Так, наприклад, у Франції зареєстровані такі ЛЗ, як пластр “Betadine TULLE 10%”, на бавовняній марлі якого розподілено АФІ (активним інгредієнтом є повідон-йод); “Bioxyl Patch” (активними інгредієнтами є титану

диоксид, цинку оксид, цинку пероксид); “Patch Emlapatch 5 %” (активними інгредієнтами є лідокаїн та прілокаїн). До складу 17,18 % препаратів (патчі, креми та спреї), що використовуються для МЛО, як АФІ входить лідокаїну гідрохлорид, а також до 18,75 % ЛЗ (спреї, креми, компреси) входить декспантенол. Також, важливим є той факт, що ЛЗ із антибіотиками та кортикостероїдами, відпускаються із аптек лише за рецептом лікаря.

Під час дослідження до уваги було взято також ЛЗ, що використовуються при опіках, в складі яких як АФІ виступає не хімічна субстанція чи лікарська рослинна сировина, а біологічно активний матеріал. Так, наприклад, ЛЗ “Солкосерил” швейцарського виробництва, який зареєстровано у Польщі, Україні та Росії, складається з безбілкового діалізату з крові телят, та призначений для лікування опіків I-II ступеня. Препарат “Комбутек-2” російського виробництва, що зареєстрований лише в Росії, містить як основу колаген, одержаний із ахілових сухожилів або шкіри великої рогатої худоби, використовується для лікування опіків II-IIIА ступенів.

При дослідженні російського фармацевтичного ринку встановлено, що 61,90 % досліджуваних ЛЗ виробляються російськими виробниками. Дані препарати випускають 24 фармацевтичних підприємств різної форми власності, серед яких лідерами є ВАТ “Нижфарм”, ЗАТ “Вартекс”, ВАТ “Химико-фармацевтический комбинат “Акрихин”, ВАТ Лужский завод “Белкозин”.

Лікарським препаратам імпортного виробництва належить відповідно 38,10 % фармацевтичного ринку, при цьому ЛЗ для МЛО імпортують у Росію 14 країн світу. Лідерами є Німеччина, Україна та Польща, на долю фірм-виробників яких припадає 29,16 %, 16,67 % та 8,34 % відповідно від загальної номенклатури досліджуваної групи ЛЗ.

Вивчаючи польський ринок ЛЗ встановлено, що 62,50 % ЛЗ від загальної кількості препаратів, що використовують для місцевої терапії опіків, виробляється польськими виробниками, серед яких лідерами є: “Polfa” (Grodzisk Pharmaceutical Works Sp.z.o.o.), “UNIA” (Pharmaceutical Plant Co-op), “Jelfa” (Pharmaceutical Works S.A.), “СHEMA ELEKTROMET”.

ЛЗ для лікування опіків на польському ринку ЛЗ представляють 12 країн світу, з-поміж яких лідерами, як і на російському ринку, є Німеччина – 25,93 % та Швейцарія – 14,81 %. Великобританія та Угорщина імпортують порівно по 11,12 % від загальної кількості досліджуваних ЛЗ, інші країни, імпорт яких є незначним, займають разом 37,02 % ринку.

Франція входить у п'ятірку країн-лідерів за обсягом продажів ЛЗ, та посідає другу позицію у світі. На фармацевтичному ринку Франції щодо усіх ЛЗ для МЛО вітчизняним виробникам належить 32,81 % ринку, із яких лідерами є: “Biogran, S.A.S.”, “Pierre Fabre Sante”, “Laboratoires Besins International”, “Laboratoire Arrow” та інші.

ЛЗ для місцевого лікування опіків на французькому фармацевтичному ринку представляють 11 країн світу, з-поміж яких лідерами є Німеччина – 16,27 %, Великобританія та Швеція – по 11,62 %, Швейцарія – 9,30 %.

Таким чином, отримані результати порівняльних досліджень фармацевтичних ринків доводять перспективу та актуальність розробки нових ЛЗ та розширення асортименту ЛФ груп препаратів, які б використовувались для місцевого лікування опікових ран [24, 197].

3.2 Обґрунтування складу та розробка технології водного витягу з кріоліофілізованої ксенодерми

Склад ЛЗ повинен бути обґрунтованим науково-експериментальними дослідженнями, тому на підставі проведеного літературного та інформаційно патентного пошуку, розроблена технологія ВВ із кріоліофілізованої ксенодерми шкіри свині. При виборі оптимальної технології ЛЗ доцільним є визначення наявності амінокислот у ланцюзі: порошок кріоліофілізованої ксенодерми – ВВ (проміжний продукт) – готова ЛФ (ГЛФ).

ТОВ “Інститут біомедичних технологій” виготовляє кріоліофілізовані ксенодермотрансплантанти як замітники шкіри, а порошок кріоліофілізованої ксенодерми як потенційну субстанцію для створення ЛЗ [58].

Увесь процес підготовки шкіри проводять у стерильних умовах. Шкіру розділяють на шари (епідерміс та дерму) за допомогою електродерматома, товщина клаптів ксеношкіри становить від 0,2 до 0,3 мм. Вакуумне висушування подрібненого кріоліофілізованого субстрату проводять у сублімаційній камері LZ-45.2. Відповідно до умов технічного регламенту ліофілізація триває впродовж 12-14 годин.

Основними біологічно активними речовинами (БАР) порошку ксенодерми є амінокислоти з вираженою регенеруючою та ранозагоювальною дією [14, 19, 29, 58]; макро- та мікроелементи [200]. Враховуючи вищенаведене для отримання ВВ як екстрагент вибрано воду очищену у співвідношенні 1:10 з врахуванням коефіцієнта водопоглинання 4,5 %. Детальний опис приготування ВВ наведено нижче.

Одержання водного витягу з кріоліофілізованої ксенодерми методом вимочування (настоювання). Попередньо подрібнений порошок ксенодерми масою 1,0 кг завантажують у збірник та настоюють при температурі 38 °C ($\pm 0,5$ °C) при щогодинному періодичному інтенсивному перемішуванні впродовж 5 хвилин. Як екстрагент використовують воду очищену, об'єм якої розраховують з врахуванням коефіцієнта водопоглинання порошку (ксенодерма – 4,5%). З мірника подають воду очищену та настоюють протягом 14 год при температурі 38 °C ($\pm 0,5$ °C). Після чотирнадцятигодинного настоювання зливають отриманий витяг через подвійний шар марлі в проміжну ємність. Після зливання витяг проціджують та фільтрують з використанням “FSI Filter Specialiet INC” 10 micron BPONG 010-X01 з вакуумною установкою.

Очищення та фільтрація. Одержаний витяг із ємності за допомогою вакууму завантажують в збірник, в зовнішній контур якого подають охолоджуючий розчин з холодильної установки для створення температури 8-10 °C. Після відстоювання зливають та фільтрують.

Одержують ВВ з ксенодерми, який є однорідним, в'язкої консистенції, білого кольору, з характерним запахом.

3.3 Дослідження водного витягу з ксенодерми

ВВ з ксенодерми є тонкою суспензією білого кольору в'язкої консистенції із слабким характерним специфічним запахом.

ВВ стандартизували шляхом ідентифікації амінокислот та визначення вмісту загального білка, які було обрано якісним та кількісним показниками якості відповідно. При дослідженні доцільним є визначення амінокислотного складу у ланцюзі порошок ксенодерми – ВВ – готовий ЛЗ, а також вмісту загального білка у ВВ і готовому ЛЗ.

Ідентифікацію амінокислот у субстанції-порошку ксенодерми, ВВ та у готовому препараті проводили хроматографічними методами. Наявність амінокислот в порошок ксенодерми підтверджували методом ТШХ і ВЕРХ, кількісний їхній склад у порошок, ВВ та ГЛФ визначали методом ВЕРХ [146, 147].

При визначенні амінокислот у порошок ксенодерми необхідним є попереднє проведення гідролізу. Випробування методом ТШХ проводили в системі розчинників кислота оцтова льодяна Р – вода Р – бутанол Р (20:20:60), використовуючи розчини стандартних зразків (СЗ) амінокислот (гліцин, лейцин, аланін, триптофан, тирозин, глютамінова кислота) як розчини порівняння. Проявлення амінокислот виконували обробляючи хроматограму розчином нінгідрину Р, та витримуючи при температурі від 100 °С до 105 °С впродовж 15 хв. Результати перегляду хроматограм представлені схемою хроматограми (рис. 3.7).

Як видно з рисунку 3.7, у гідролізаті з порошок ксенодерми присутні не менше 10 сполук, з яких ідентифіковано амінокислоти: лейцин ($R_f = 0,4$), гліцин ($R_f = 0,56$), триптофан ($R_f = 0,64$), аланін ($R_f = 0,45$), тирозин ($R_f = 0,49$), глютамінова кислота ($R_f = 0,53$).

Методика ідентифікації амінокислот у порошок ксенодерми наведена в додатку Д.

Верхня частина пластинки	
триптофан: жовто-коричнева зона	жовта зона жовто-коричнева зона жовто-коричнева зона (триптофан)
гліцин: жовто-оранжева зона	жовто-оранжева (гліцин)
глутамінова к-та: жовта зона	жовта зона (глутамінова к-та)
тирозин: фіолетова зона	фіолетова зона (тирозин)
аланін: жовто-оранжева зона	жовто-оранжева (аланін)
лейцин: жовта зона	жовта зона (лейцин) блідо-жовта зона блідо-жовта зона
Розчин порівняння	Випробовуваний розчин

Рисунок 3.7 – Схема хроматограми в умовах ідентифікації амінокислот у гідролізаті порошку ксенодерми

Обравши амінокислоти, як активний маркер АФІ, необхідно було дослідити динаміку їхнього вмісту в ланцюзі порошок ксенодерми – ВВ – ГЛФ. Для цього були проведені дослідження по визначенню їх складу і вмісту методом ВЕРХ. Оскільки амінокислоти є сполуками без вираженої оптичної активності в УФ і видимій ділянці спектру, то для їх детектування слід було застосувати дериватизацію. З цією метою використовували методику [146] з 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (ФМОС) та *o*-фталеvim альдегідом (ОФА) [147].

При ідентифікації амінокислот порівнювали часи утримування піків амінокислот на хроматограмах випробуваних розчинів досліджуваних зразків з часами утримування відповідних речовин СЗ амінокислот на хроматограмі розчину порівняння. Кількісний вміст амінокислот розраховували за значеннями площ піків. Вміст зв'язаних амінокислот визначали шляхом віднімання вмісту вільних амінокислот від їх загального вмісту.

Методика ідентифікації та визначення кількісного вмісту амінокислот в субстанції-порошку ксенодерми та ВВ методом ВЕРХ наведена в додатку Е.

В результаті проведених досліджень в порошок ксенодерми та у ВВ ідентифіковано та визначено кількісний вміст 16 амінокислот, з-поміж яких: 6 – замінних (серин, гліцин, аланін, пролін, глютамінова та аспарагінова кислоти), 2 – умовнозамінних (аргінін, тирозин) та 8 – незамінних (гістидин, треонін, валін, метіонін, фенілаланін, лізин, лейцин та ізолейцин) амінокислот. Усі ідентифіковані амінокислоти представлені як у вільному, так і в зв'язаному стані (рис. 3.8-3.10). Результати визначення вмісту амінокислот наведені в таблиці 3.1.

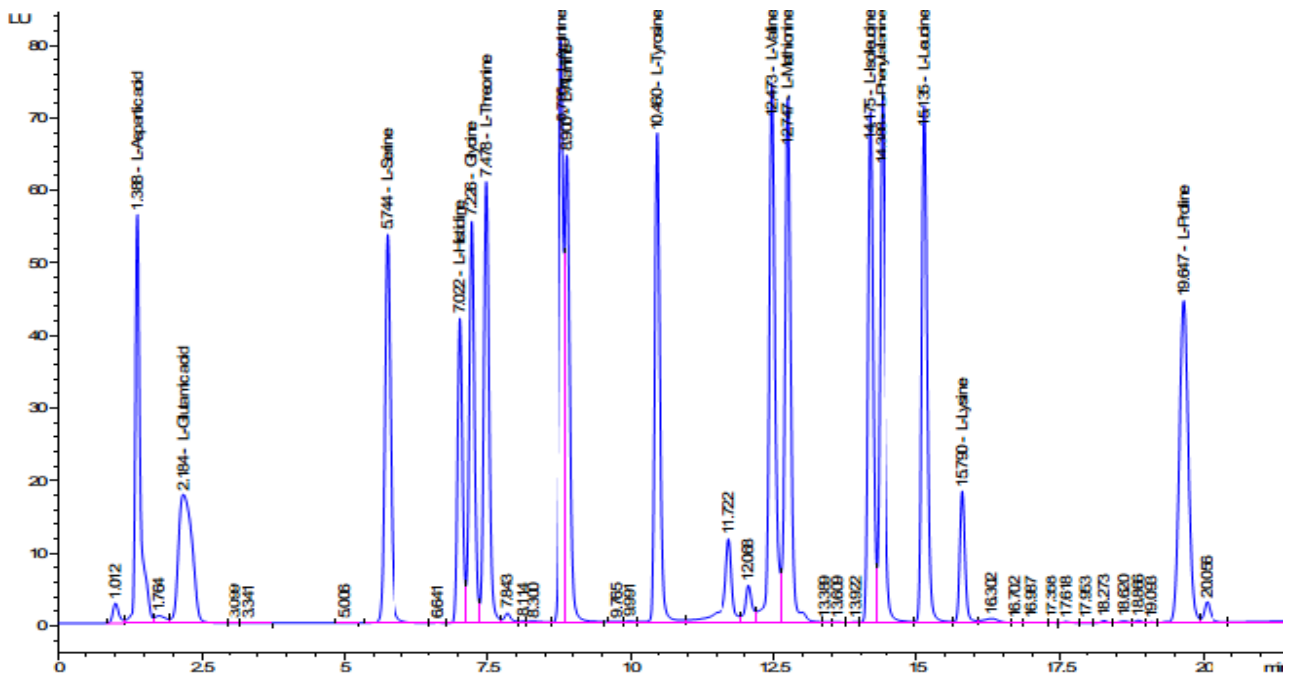


Рисунок 3.8 – Хроматограма розчину СЗ амінокислот, отримана в умовах кількісного визначення амінокислот

Як видно з поданих рисунків та результатів, наведених у таблиці 3.1, ідентифіковані амінокислоти знаходяться практично у зв'язаному стані – 3,0 % у субстанції порошку ксенодерми та 1,5 % у ВВ. У незв'язаному вигляді найбільшим був вміст глютамінової кислоти та гліцину: в субстанції порошку ксенодерми 0,19 % та 0,12 %, у водному витязі – 0,09 % та 0,06 % відповідно. В зв'язаному стані в обох об'єктах у великій кількості перебувають глютамінова кислота, пролін, гліцин, аспарагінова кислота та аргінін.

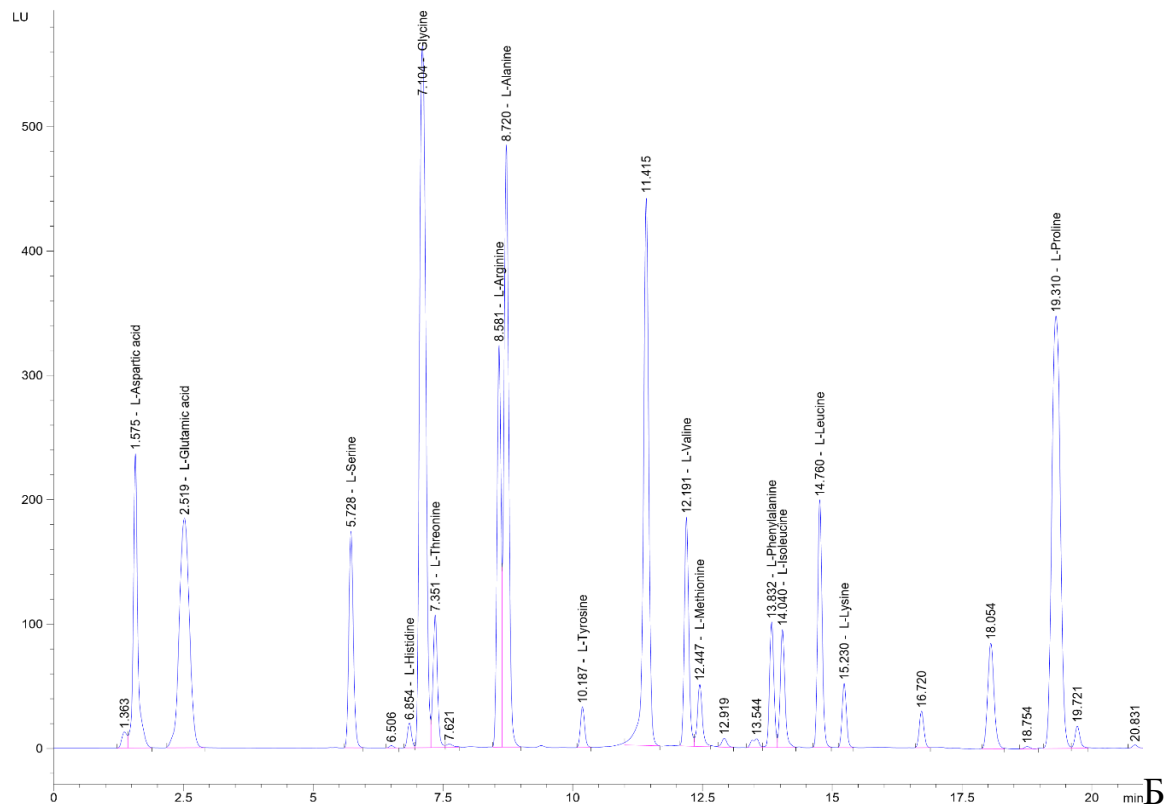
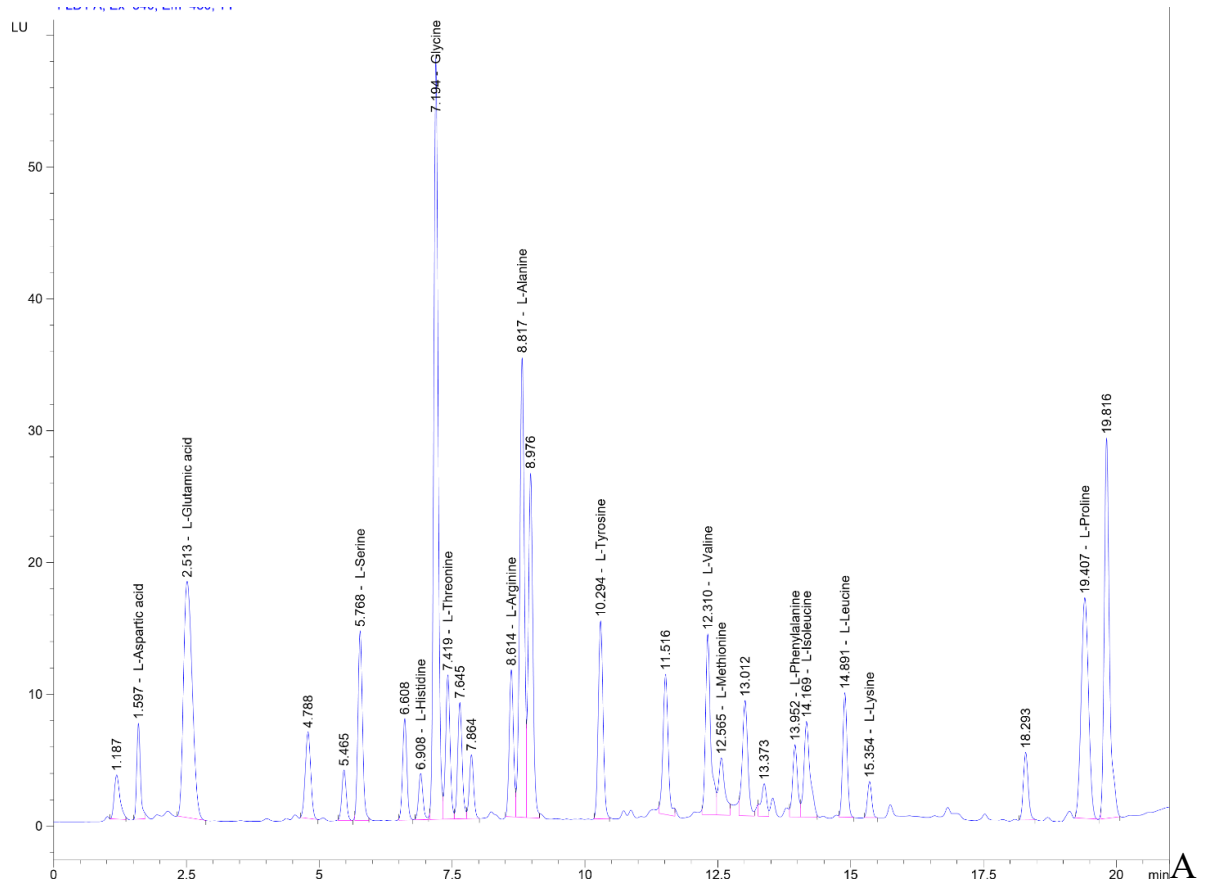


Рисунок 3.9 – Хроматограми, отримані при кількісному визначенні амінокислот у субстанції-порошку ксенодерми: А – вмісту вільних; Б – загального вмісту

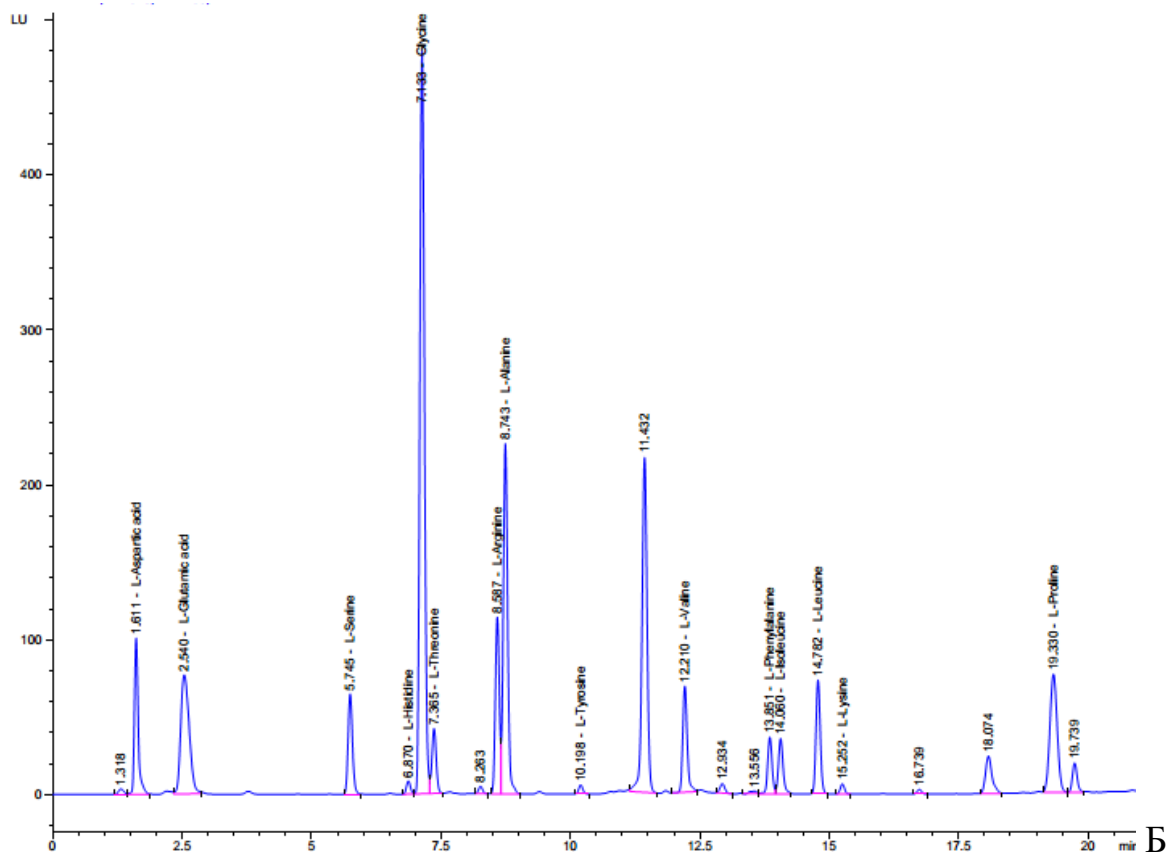
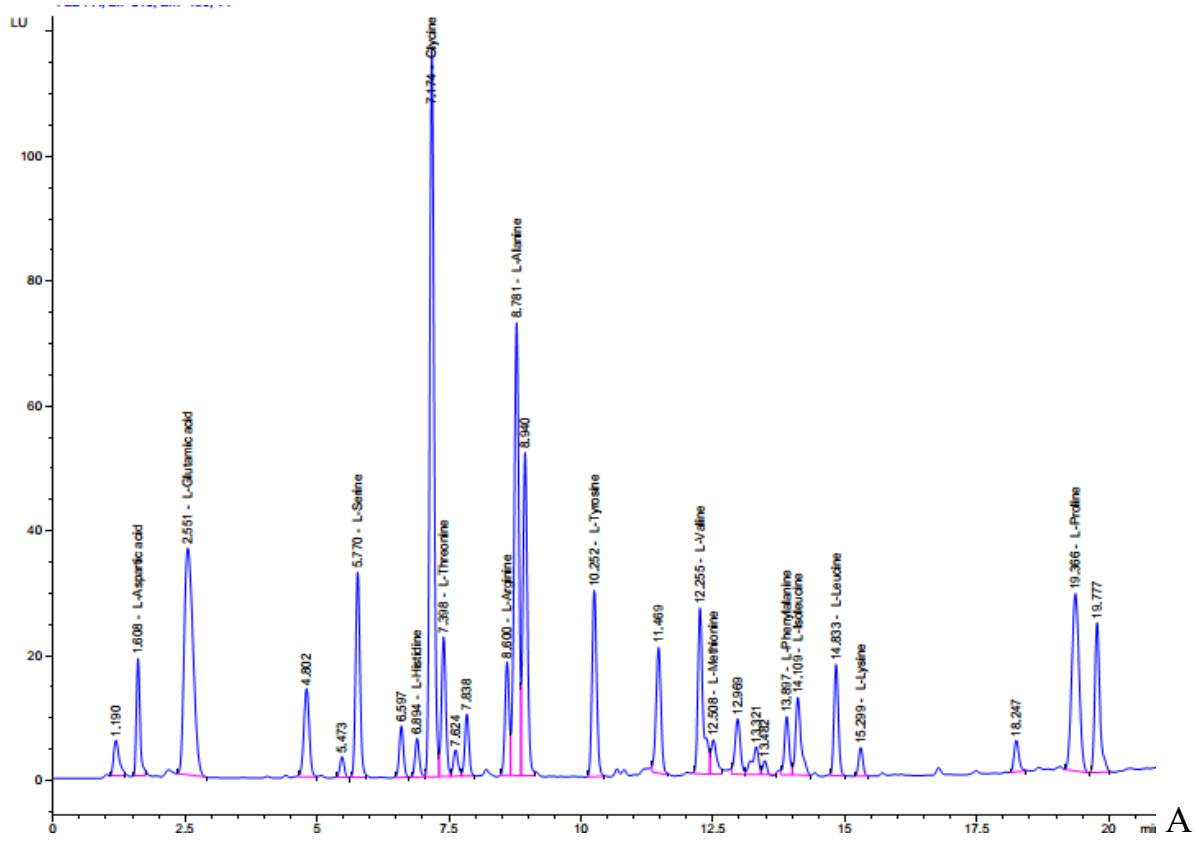


Рисунок 3.10 – Хроматограми, отримані при кількісному визначенні амінокислот у водному витязі з порошку ксенодерми: А – вмісту вільних; Б – загального вмісту

Таблиця 3.1 – Результати дослідження якісного складу та кількісного вмісту амінокислот в субстанції порошку ксенодерми та у його водному витязі (n=5, P<0,05)

Амінокислота	Час утримування, хв	Порошок ксенодерми			ВВ з порошку ксенодерми		
		Вміст амінокислот, мг/г			Вміст амінокислот, мг/г		
		вільні	зв'язані	загальні	вільні	зв'язані	загальні
Аспарагінова кислота	1,575	0,33 ± 0,01	3,49 ± 0,09	3,82 ± 0,09	0,22 ± 0,01	1,68 ± 0,05	1,90 ± 0,05
Глутамінова кислота	2,519	1,89 ± 0,05	4,77 ± 0,12	6,67 ± 0,18	0,95 ± 0,03	2,36 ± 0,05	3,31 ± 0,09
Серин	5,728	0,42 ± 0,01	1,06 ± 0,02	1,48 ± 0,04	0,23 ± 0,01	0,58 ± 0,02	0,81 ± 0,02
Гістидин	6,854	0,30 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,09 ± 0,01	0,22 ± 0,01
Гліцин	7,104	1,21 ± 0,03	3,71 ± 0,08	4,92 ± 0,13	0,65 ± 0,02	1,98 ± 0,05	2,63 ± 0,06
Треонін	7,351	0,35 ± 0,01	0,67 ± 0,01	1,02 ± 0,02	0,17 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,49 ± 0,01
Аргінін	8,581	0,46 ± 0,01	3,29 ± 0,08	3,75 ± 0,09	0,28 ± 0,01	1,77 ± 0,04	2,05 ± 0,05
Аланін	8,720	0,88 ± 0,02	2,86 ± 0,06	3,74 ± 0,08	0,39 ± 0,02	1,43 ± 0,04	1,82 ± 0,05
Тирозин	10,187	0,54 ± 0,01	0,01 ± 0,00	0,55 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,25 ± 0,01
Валін	12,191	0,42 ± 0,01	1,00 ± 0,02	1,43 ± 0,33	0,26 ± 0,01	0,56 ± 0,02	0,82 ± 0,03
Метіонін	12,447	0,19 ± 0,01	0,32 ± 0,01	0,52 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,25 ± 0,01
Фенілаланін	13,832	0,24 ± 0,01	0,94 ± 0,02	1,18 ± 0,03	0,15 ± 0,01	0,49 ± 0,01	0,64 ± 0,02
Ізолейцин	14,040	0,30 ± 0,01	0,58 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,16 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,43 ± 0,01
Лейцин	14,760	0,29 ± 0,01	1,52 ± 0,04	1,80 ± 0,04	0,13 ± 0,01	0,78 ± 0,02	0,91 ± 0,02
Лізін	15,230	0,34 ± 0,01	1,61 ± 0,04	1,95 ± 0,05	0,16 ± 0,01	0,81 ± 0,02	0,97 ± 0,02
Пролін	19,310	0,64 ± 0,01	3,89 ± 0,08	4,52 ± 0,10	0,32 ± 0,01	1,73 ± 0,05	2,05 ± 0,05
Сума	-	8,80 ± 0,22	29,89 ± 0,74	38,69 ± 0,93	4,53 ± 0,12	15,03 ± 0,43	19,56 ± 0,47

Із замісних та умовнозамісних амінокислот у порошку ксенодерми вищим є вміст вільної і зв'язаної глютамінової кислоти (1,89 мг/г і 4,77 мг/г), гліцину (1,21 мг/г) у вільному стані і проліну (3,89 мг/г) у зв'язаному. Із незамісних амінокислот найвищим є вміст лізину (1,61 мг/г) у зв'язаному вигляді та валіну (0,42 мг/г) у вільному.

У ВВ серед незамісних амінокислот також домінують лізин (0,81 мг/г) та лейцин (0,78 мг/г) у зв'язаному стані. У вільному стані вміст амінокислот коливається у межах від 0,08 до 0,95 мг/г залежно від представника. Замісні та умовнозамісні амінокислоти також переважно знаходяться у зв'язаному вигляді, серед них найбільшим є вміст глютамінової кислоти (2,36 мг/г).

Кількісний вміст білка у ВВ визначали спектрофотометричним методом. Визначення проводили методом Лоурі (ДФУ 2.0., Т. 1, п. 2.5.33., С. 228), який ґрунтується на здатності відновлювати білком фосфорно-молібденово-вольфрамовий реактив внаслідок чого отримують забарвлену сполуку з максимумом поглинання при 750 нм [47]. Концентрацію білка (мг/мл) у ВВ визначали за градуовальним графіком (рис. 3.11), побудованим за даними поглинання розчинів порівняння із різним вмістом СЗ бичачого сироваткового альбуміну 0,155 – 5 мг/мл. Для визначення загального білка у ВВ запропонована відповідна методика аналізу, яка наведена в додатку Ж.

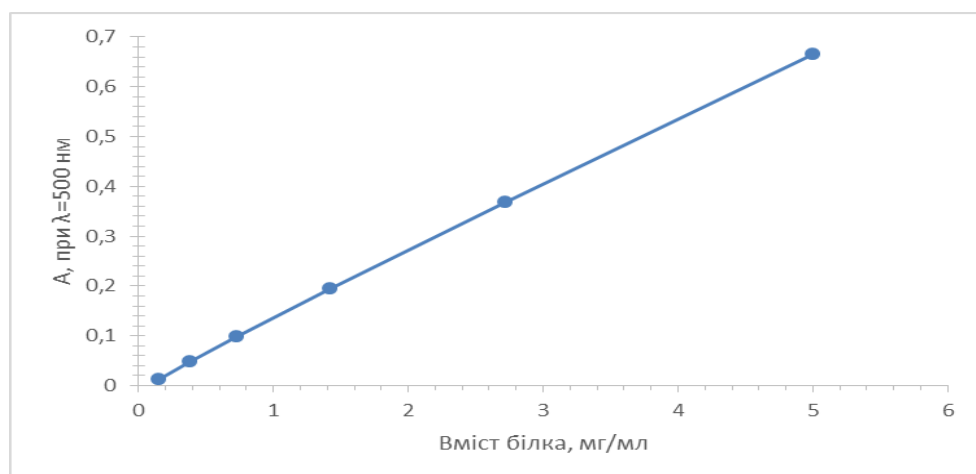


Рисунок 3.11 – Залежність оптичної густини від концентрації альбуміну, отримана в умовах кількісного визначення білка за методом Лоурі

Результати визначення кількісного вмісту білка у ВВ з порошку ксенодерми наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 - Результати кількісного визначення білка у водному витязі з порошку ксенодерми

Номер серії	Маса наважки, г	Вміст білка, %
1	0,1315	9,84 ± 0,08
2	0,1302	9,93 ± 0,08
3	0,1340	9,65 ± 0,07
4	0,1335	9,69 ± 0,07
5	0,1320	9,80 ± 0,08

На підставі результатів кількісного визначення білка у ВВ з порошку ксенодерми можна запропонувати кількісний критерій якості ВВ – вміст білка не менше 9,5 %.

При вивченні структурно-механічних властивостей ВВ встановлено, що зі зміною температури змінюється в'язкість витягу, що дозволяє віднести його до неньютонівських рідин [32]. Тому було досліджено залежність густини та динамічної в'язкості отриманих витягів від температури. Результати визначення цих показників наведено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 - Залежність густини, динамічної в'язкості ВВ з порошку ксеродерми від температури

Температура, °С	4	5	10	15	20
Густина, г/см ³	1,033 ± 0,025	1,033 ± 0,025	1,032 ± 0,025	1,032 ± 0,032	1,031 ± 0,030
Динамічна в'язкість, мПа·с	16,54 ± 0,48	16,08 ± 0,45	12,86 ± 0,35	10,11 ± 0,27	6,98 ± 0,20

Як видно із отриманих результатів, із збільшенням температури зменшується в'язкість ВВ, а густина залишається стабільною. Отримані дані дозволяють запропонувати критерій за даним показником в інтервалі 4-20 °С від 1,0300 до 1,0320.

На основі отриманих результатів вивчення фізичних та фізико-хімічних властивостей ВВ з порошку ксенодерми було запропоновано такі показники його якості: “Опис”, “Ідентифікація”, “Кількісне визначення”, “Густина”.

Підбиваючи підсумки даного розділу, можна зробити такі висновки:

- аналіз асортименту ЛЗ для МЛЮ на національному фармацевтичному ринку станом на кінець 2018 року налічує 105 препаратів різної форми випуску, більшість препаратів представлена МЛФ;

- порівняльна характеристика асортименту ЛЗ для МЛЮ на фармацевтичних ринках Росії, Польщі, Франції свідчить про наявність ЛЗ, аналоги яких на фармацевтичному ринку України практично відсутні;

- обґрунтовано склад, розроблено технологію ВВ з порошку кріоліофілізованої ксенодерми, вивчено його фізичні властивості (густина, динамічна в'язкість);

- методом ВЕРХ визначено амінокислотний склад у ВВ з ксенодерми, методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області визначено вміст загального білка у ВВ. Кількісним критерієм якості запропоновано вміст білка не менше 9,5 %. Підтверджено наявність 16 амінокислот у ланцюзі порошок ксенодерми – ВВ.

Матеріали, що викладені в даному розділі, опубліковані в наукових працях автора [15, 18, 19, 21, 24, 26, 29, 30, 32, 196, 197, 198, 200].

РОЗДІЛ 4

ТЕОРЕТИЧНЕ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ І ТЕХНОЛОГІЇ ГЕЛЮ “КСЕЛЛОГЕЛЬ”

4.1 Обґрунтування вибору основи при розробці гелю для місцевого лікування опіків

На основі огляду літературних джерел для дослідження нами були вибрані гелеутворювачі, які найчастіше використовують при створенні ЛЗ м'якої форми випуску, а саме: карбомери Carbopol® “Ultrez 21” та 980, натрію альгінат, ксантанова камедь, полоксамер 407, метилцелюлоза-15 [114, 115, 117]. Необхідно відзначити, що дані гелеутворювачі є нетоксичними, проявляють помірну осмотичну активність, добру адгезивну здатність та дозволені до застосування у фармацевтичній та косметичній промисловості.

Для утворення гелів на основі карбомеру необхідним є використання нейтралізатора. На підставі проведеного літературного та патентного пошуку як нейтралізуючий агент було обрано трометамол (у межах рН 6,0-10,0) – органічний амін, який, на відміну від триетаноламіну, є нетоксичний та повністю виводиться нирками у незміненому вигляді [117, 194].

При епідермальних та поверхневих дермальних опіках в перші декілька годин після отриманої травми у хворих спостерігається виражений больовий синдром. Тому, на даному етапі лікування доцільним є використання ЛЗ, що містять анестетики. На сьогодні, в більшості галузях медицини, а особливо в хірургії, найчастіше застосовують три місцевих анестетики: тривалої дії – бупівакаїну гідрохлорид, середньої тривалості дії – лідокаїну гідрохлорид та короткої дії – новокаїну гідрохлорид. За рахунок доступності, швидкого початку та середньої тривалості дії, низької алергенності найпопулярнішим та найбільш використовуваним є лідокаїну гідрохлорид. Саме це і стало причиною вибору даного анестетика як АФІ у складі гелю. В Україні лідокаїну гідрохлорид зареєстрований у вигляді розчину для ін'єкцій (2 % та 10 %) та

спрею (10 %), а також у складах багатьох багатокомпонених МЛЗ для наскірного застосування (“Офлокаїн-Дарниця”, “Метролавін”, “Інфларанс”), вушних (“Отикаїн-Здоров’я”, “Отікс”, “Ототон”) та ректальних (“Проктозол”) ЛЗ, тощо. У МЛФ лідокаїну гідрохлорид міститься в концентраціях від 2 % до 4 %, відповідно, дозу даного АФІ у складі гелю було визначено в кількості 20 мг/г.

Тому, з метою вибору оптимального гелеутворювача та його концентрації досліджували 12 експериментальних зразків гелів з вище переліченими гелеутворювачами, взятих у різних концентраціях. Також вивчали взаємодію гелевих основ із ВВ з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом.

До складу всіх гелів вводили пропіленгліколь або гліцерин у концентрації 5 %, які є ефективними зволожуючими і вологоутримуючими речовинами, що допомагають підтримувати необхідний рівень зволоження та перешкоджають висиханню гелів, а також використовуються для пом’якшення шкіри.

4.1.1 Вибір гелеутворювача та дослідження гелевих систем на його основі

Зразки гелів готують за загальними принципами технології МЛФ, із використанням необхідного лабораторного обладнання [61, 68].

- гелі з *карбомером 980* (зразки № 1 (0,2 %) та № 2 (0,5 %)) та *карбомером Carbopol® “Ultrez 21”* (зразки № 3 (0,5 %) та № 4 (1,0 %)): потрібну кількість гелеутворювача зважують, додають до води очищеної та залишають для повного набухання на 1 годину (візуальний контроль). Для досягнення рН 6,5-7,0 додають нейтралізатор – трометамол, при цьому отримують прозорі однорідні гелеві основи з необхідними споживчими характеристиками. До нейтралізованої основи додають ВВ з ксенодерми, лідокаїну гідрохлорид 2,0 % та пропіленгліколь, перемішують до повної гомогенізації суміші.

- гелі з *ксантановою камеддю* (зразки № 5 (1,0 %) та № 6 (2,0 %)): необхідну кількість ксантанової камеді заливають розрахованою кількістю води очищеної, залишають для набухання протягом 1-2 год при кімнатній

температурі, періодично перемішують. Потім до однорідної основи додають ВВ з ксенодерми, лідокаїну гідрохлорид 2,0 % та пропіленгліколь, перемішують до повної гомогенізації суміші.

- гелі з *натрію альгінатом* (зразки № 7 (1,5 %) та № 8 (2,0 %)): необхідну кількість гелеутворювача частинами вводять до води очищеної при постійному перемішуванні, залишають для повного набухання (періодично перемішують та проводять візуальний контроль). До отриманої прозорої гелевої основи зі специфічним запахом (натрію альгінату), додають ВВ з ксенодерми, лідокаїну гідрохлорид 2,0 % та пропіленгліколь, перемішують до повної гомогенізації суміші.

- гелі з *полоксамером 407* (зразки № 9 (30,0 %) та № 10 (50,0 %)): необхідну кількість полоксамеру 407 заливають розрахованою кількістю води очищеної та залишають для набухання протягом 1 год, періодично перемішують. До отриманої однорідної основи додають лідокаїну 2,0 %, ВВ з ксенодерми та гліцерин, ретельно перемішують до повної гомогенізації суміші.

- гелі з *метилцелюлозою-15* (зразки № 11 (2,0 %) та № 12 (2,5 %)): необхідну кількість метилцелюлози-15 заливають розрахованою кількістю підігрітої до 80 °С води очищеної та залишають для набухання, періодично перемішуючи до утворення однорідної маси. До отриманої основи додають лідокаїну гідрохлорид 2,0 %, ВВ з ксенодерми та гліцерин, ретельно перемішують до повної гомогенізації суміші.

Дослідні зразки були виготовлені у лабораторних умовах, використовуючи гомогенізатор з різною швидкістю перемішування (40-60 об/хв). Склади розроблених зразків гелів наведені у таблиці 4.1.

Гелі оцінювали за органолептичними (зовнішній вигляд, колір, консистенція, запах) та споживчими властивостями (легкість нанесення, площа нанесення, швидкість всмоктування, наявність липкості, стан шкіри після нанесення).

Результати досліджень свідчать, що при виготовленні експериментальних зразків № 1, 3, 5, 7, 9-11 утворюються рідкі або в'язкі рідини, які є нестабільними та не відповідають технологічним вимогам до гелів, а також візуально спостерігається випотівання води, наявність осаду та розшарування.

Таблиця 4.1 – Склади гелів з водним витягом з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом без консервантів

Назва компонента	Зразки гелів											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Водний витяг	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0
Лідокаїну гідрохлорид	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Пропіленгліколь	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	-	-	-	-
Гліцерин	-	-	-	-	-	-	-	-	5,0	5,0	5,0	5,0
Карбопол 980	0,2	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Карбомер Carbopol® “Ultrez 21”	-	-	0,5	1,0	-	-	-	-	-	-	-	-
Трометамол (до рН 6,0)	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ксантанова камедь	-	-	-	-	1,0	2,0	-	-	-	-	-	-
Натрію альгінат	-	-	-	-	-	-	1,5	2,0	-	-	-	-
Полоксамер 407	-	-	-	-	-	-	-	-	30,0	50,0	-	-
МЦ-15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,0	2,5
Вода очищена	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл	до 100 мл

Результати досліджень свідчать, що при виготовленні експериментальних зразків № 1, 3, 5, 7, 9-11 утворюються рідкі або в'язкі рідини, які є нестабільними та не відповідають технологічним вимогам до гелів, а також візуально спостерігається випотівання води, наявність осаду та розшарування.

Зразки № 2, 4, 6, 8, 12 являють собою стабільні однорідні гелі, однак, відрізняються в'язкістю і не всі відповідають задовільним сенсорним властивостям (легкість нанесення, швидкість і ступінь всмоктування, стан шкіри після нанесення, тощо). Тому, для подальших досліджень були вибрані зразки № 2, 4, 8, 12, які мають оптимальну в'язкість та придатні для нанесення

на шкіру. Інші склади гелів не відповідали вимогам – є занадто щільними (зразок № 6) або мають недостатньо в'язку консистенцію (зразки № 3, 7 та 9).

Зразки гелів № 2, 4, 8, 12 були розфасовані у скляні та пластикові контейнери і зберігалися у прохолодному місці при температурі 2-8 °С, та при кімнатній температурі протягом 3 міс. За час спостереження у зразках гелів № 8 та 12 у скляних та пластикових банках, які зберігались при температурі 2-8 °С, відбулися органолептичні та візуальні зміни, що свідчить про необхідність застосування консервантів у складі даних зразків гелів та непридатність використання даної тари для їх зберігання. Гелеві зразки № 2 та № 4, які зберігались при температурі 2-8 °С на основі органолептичних показників виявились стабільними протягом даного терміну зберігання.

При виборі оптимального складу гелю важливим є вивчення здатності АФІ вивільнятися із гелевої основи. З цією метою досліджували вивільнення лідокаїну гідрохлориду з різних складів гелів, оскільки, застосовуючи сучасні методи аналізу, вміст даного АФІ в діалізаті можна визначити досить експресно та об'єктивно. Враховуючи те, що напівпроникна мембрана, яка використовується в експерименті, є біологічного походження, тому визначення амінокислот та загального білка в діалізаті є недоцільним [148, 184].

Для вивчення вивільнення лідокаїну гідрохлориду із гелів використовували модельні зразки гелів із різними гелеутворювачами (натрію альгінат, метилцелюлоза-15, карбомер 980, Carborol "Ultrez 21"). Ступінь вивільнення лідокаїну гідрохлориду із модельних зразків гелів визначали за ступенем дифузії через напівпроникну мембрану. Кількісний вміст лідокаїну гідрохлориду визначали у 25 мл отриманого діалізату методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області (за методом стандарту), визначаючи оптичну густину розчинів при 263 ± 2 нм. Електронні спектри поглинання лідокаїну гідрохлориду усіх зразків гелів характеризуються наявністю максимуму поглинання при 263 нм (рис. 4.1).

Як видно з рисунка 4.1, в умовах кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду спектри всіх досліджуваних зразків гелів за виглядом кривих

світлопоглинання та положенням максимуму поглинання відповідають спектру поглинання СЗ лідокаїну гідрохлориду (рис. 4.2).

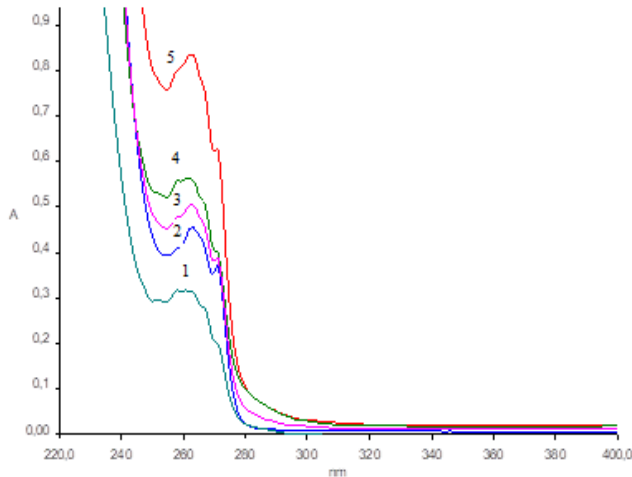


Рисунок 4.1 – Електронні спектри поглинання лідокаїну гідрохлориду в умовах кількісного визначення в зразках гелю з: 1 – метилцелюлоза-15; 3 – натрій альгінатом; 4 – карбомером 980; 5 – Carbopol “Ultrez 21”; 2 – СЗ лідокаїну гідрохлориду.

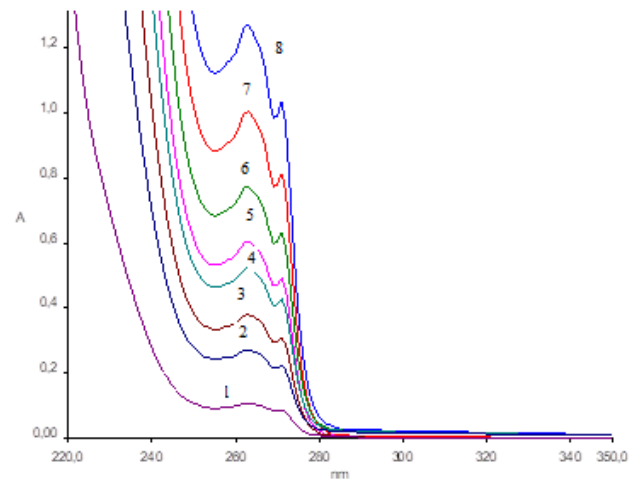


Рисунок 4.2 – Електронні спектри поглинання стандартного зразка лідокаїну гідрохлориду в умовах кількісного визначення при 263 нм: 1 – 0,064 мг/мл; 2 – 0,16 мг/мл; 3 – 0,24 мг/мл; 4 – 0,32 мг/мл; 5 – 0,384 мг/мл; 6 – 0,48 мг/мл; 7 – 0,64 мг/мл; 8 – 0,80 мг/мл.

Як видно з результатів, наведених в таблиці 4.2, найбільш повне вивільнення лідокаїну гідрохлориду спостерігалось із гелю на основі карбомеру Carbopol “Ultrez 21”.

Площу нанесення визначали намазуванням на поверхню шкіри 0,2 г гелю одним мазком. Швидкість нанесення шару гелю на шкіру становила 10 см/с. Для оцінки площі покриття листок фільтрувального паперу притискали до шкіри, після чого визначали площу утвореної плями [94]. Площа намазуваності зразка № 4 є найбільшою та відрізняється від інших.

Значення реологічних показників, виміряних при температурі 20 ± 2 °С, представлені в таблиці 4.2.

Таблиця 4.2 – Органолептичні та фізико-хімічні (структурно механічні) показники досліджуваних зразків (n = 5; P = 95 %)

Номер зразка	Органолептичні властивості	pH	Динамічна в'язкість, η , мПа·с	МС	Площа намазуваності, см ²	Вивільнення АФІ з основи, %
Карбомер 980 Зразок № 2	Гелеподібна консистенція злегка рідкувата, легко наноситься, не залишає слідів та липкості.	6,7 ± 0,3	9780	1,17	30,3385	24,71
Carbopol "Ultrez 21" Зразок № 4	Гелеподібна консистенція, легко наноситься, добре всмоктується, не залишає слідів та липкості.	6,6 ± 0,2	4930	1,06	32,8385	64,65
Натрію альгінат Зразок № 8	Гель густої консистенції, легко наноситься, добре всмоктується	5,9 ± 0,1	5420	1,06	28,8832	40,50
МЦ-15 Зразок № 12	Гель густої консистенції.	7,1 ± 0,5	Розшару- вався	-	20, 3577	38,70

Під час визначення реологічних параметрів зразок № 12 виявився нестабільним та в подальшому був виведений з експерименту.

Додавання лідокаїну гідрохлориду в кількості 2,0 % та ВВ з ксенодерми до гелевої основи з 0,5 % концентрацією карбомеру 980 (зразок № 2) знижувало показники структурної в'язкості, а при збільшенні концентрації карбомеру 980 основа ставала неоднорідною, з'являлись згустки та розшарування.

Тому, наступним етапом стало визначення реологічних показників зразків гелів з натрій альгінатом (зразок № 8) та карбомером Carbopol® “Ultrez 21” (зразок № 4). Залежність напруги зсуву від швидкості зсуву наведено на рисунку 4.3.

Розроблені гелі є неньютонівськими рідинами та мають пластичний тип текучості з нижньою межею плину. При постійно заданій швидкості зсуву в'язкість аналізованих зразків повільно зменшується, а при припиненні дії зовнішнього чинника на матеріал, навпаки, збільшується аж до повного або часткового відновлення в'язкості до початкового значення. На рис. 4.3 видно, що обидва зразки характеризуються наявністю верхньої та нижньої кривої течії, які не збігаються між собою та утворюють “петлю гістерезису”, що свідчить про наявність тиксотропних властивостей [36, 43, 199].

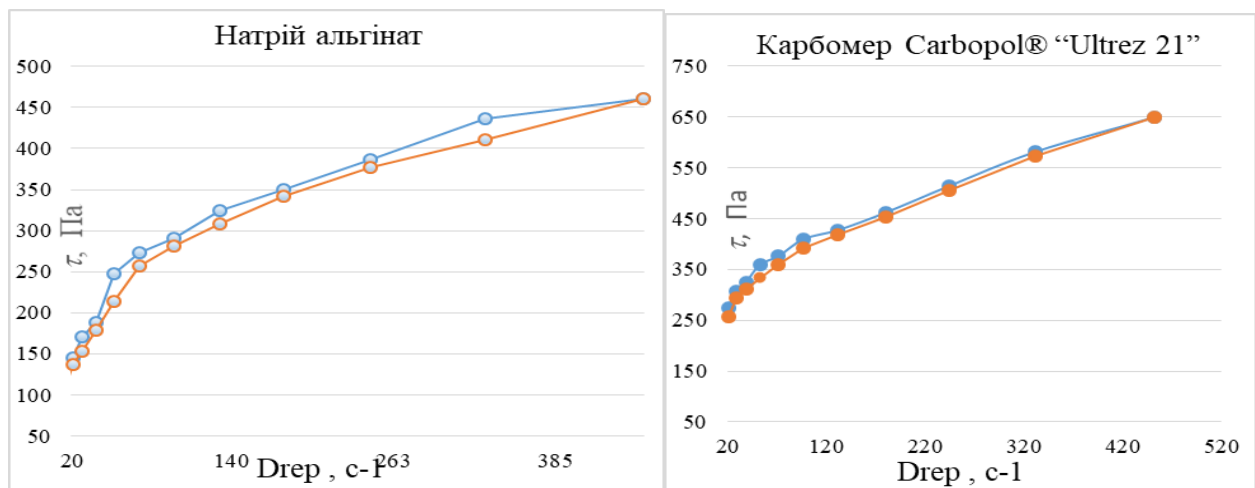


Рисунок 4.3 – Залежність напруги зсуву від швидкості зсуву при 20 °С

Залежності динамічної в'язкості від швидкості зсуву гелю, що відображені на рисунку 4.4, відображають зниження структурної в'язкості під час зростання швидкості зсуву, що є закономірними для структурованих дисперсних систем на основі даних гелеутворювачів. Це в свою чергу забезпечує необхідні параметри технологічного процесу гелів та є кращими у зразка № 4 на основі карбомер Carbopol® “Ultrez 21” – 1 %, що свідчить про те, що розроблений нами гель є структурованою дисперсною системою, та має задовільні структурно-механічні властивості, здатність до екструзії із туб [20].

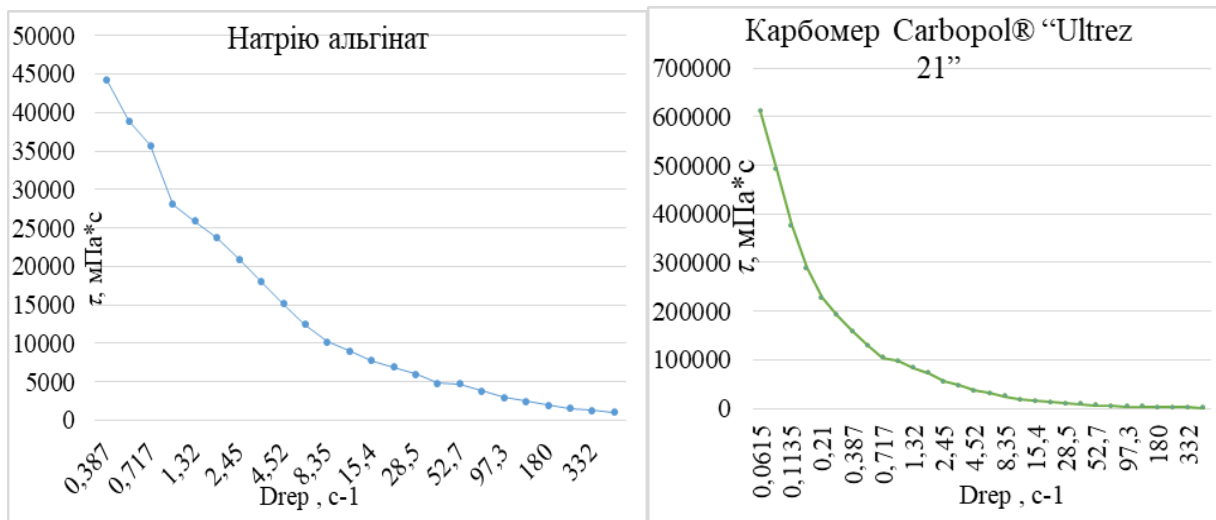


Рисунок 4.4 – Залежності динамічної в'язкості від швидкості зсуву гелю при 20 °С

За результатами експериментальних досліджень обрано зразок № 4, який має задовільні реологічні, а також органолептичні властивості, та до складу якого входить: лідокаїну гідрохлорид – 2 %, водний витяг з ксенодерми – 10 %, карбомер Carbopol® “Ultrez 21” – 1 %; трометамол – до рН 6,0, пропіленгліколь – 5 % і вода очищена – до 100,0.

Також, необхідно відзначити, що карбомер Carbopol® “Ultrez 21” характеризується швидким змочуванням та набуханням без необхідності перемішування, що забезпечує високу в'язкість і формує прозорі гелі та робить його надзвичайно простим та ефективним у промисловому виробництві [20].

4.2 Вибір консервантів та їх концентрацій у складі гелю

Важливе значення при оцінці якості ЛЗ має мікробіологічний контроль, адже потрапляння у склад МЛФ мікроорганізмів (грампозитивних бактерій – *S. aureus*; грамнегативних культур – *E. coli*, *P. aeruginosa*; культури пліснявих та дріжджоподібних грибів роду *C. albicans* та *A. brasiliensis*) у процесі виробництва, зберігання чи використання може призвести до втрати стабільності продукту (розшарування, утворення цвілі) чи до зниження терапевтичної ефективності без наявних візуальних змін [4, 81, 84, 179]. Застосування ЛЗ, які містять

мікроорганізми, є небезпечним, оскільки це, може призвести до зниження чи втрати терапевтичного ефекту ЛЗ, або до виникнення побічних реакцій чи нових захворювань.

Відповідно до вимог ДФУ, яка гармонізована з ЄФ, на стадії розробки МЛФ слід одержати дані, що підтверджують необхідність застосування антимікробних консервантів та ефективність їх дії, від якої залежить захист препарату від мікробного забруднення при виробництві, зберіганні та використанні [48].

Обчислення, згідно з вимогами ДФУ, 2.0., Т. 2, п. 5.1.3, як для лікарських препаратів для зовнішнього застосування здійснювали відразу після приготування зразків гелів та на 2, 7, 14 та 28 добу з моменту внесення мікроорганізмів у модельну систему [75]. Ефективність дії консервантів оцінювали за логарифмом (lg) зменшення кількості числа життєздатних мікроорганізмів по відношенню до визначеного вихідного числа мікроорганізмів. Дані про консерванти, які входили у склад експериментальних зразків гелів, наведені у таблиці 4.3.

Таблиця 4.3 – Перелік і склад консервантів, введених до складу гелю

№ зразка	Назва консерванту	Активний фармацевтичний інгредієнт	Вміст консерванту, %	Країна - виробник
1	гель без консерванту			
2	Ніпагін/ Ніпазол	Метилпарагідрокси бензоат натрієва сіль	0,2	Німеччина
3	Ніпагін/ Ніпазол	/пропілпарагідрокси бензоат натрієва сіль	0,4	
4	“Cosgard”	Бензиловий спирт, дегідрооцтова кислота	0,4	Німеччина
5	Спирт фенілетилловий	2-гідроксиетилбензол	0,25	Франція
6	Спирт фенілетилловий		0,4	
7	Бензалконію хлорид	Алкілдиметилбензил амоній хлорид	0,02	Індія
8	Бензалконію хлорид		0,01	

Результати щодо антимікробної активності консервантів, присутніх у досліджуваних гелях, наведені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4 – Результати дослідження ефективності консервантів з антимікробними властивостями у досліджуваних зразках гелів

№ зразка	Мікробне навантаження після інокуляції/lg КУО, КУО/мл (lg КУО/мл)	Ріст мікроорганізмів, КУО/мл (lg КУО/мл) Логарифм зниження вихідного мікробного навантаження			
		2 доба	7 доба	14 доба	28 доба
1.	2.	3.	4.	5.	6.
<i>S. aureus ATCC 25923</i>					
№1	4*10 ⁵ (5,6)	5x10 ⁴ (4,69) lg зменш.0,91	4,4x10 ² (2,64) lg зменш.2,96	НВ	НВ
№2		8,0x10 ³ (2,9) lg зменш. 2,7	НВ	НВ	НВ
№3		1,1x10 ³ (3,04) lg зменш.2,56	НВ	НВ	НВ
№4		1,3x10 ² (2,11) lg зменш.3,49	НВ	НВ	НВ
№5		3,1x10 ² (2,29) lg зменш.3,31	НВ	НВ	НВ
№6		НВ	НВ	НВ	НВ
№7		5,7x10 ³ (3,76) lg зменш.1,84	НВ	НВ	НВ
№8		5,5x10 ³ (3,74) lg зменш.1,86	НВ	НВ	НВ
<i>P. aeruginosa ATCC 2853 (F51)</i>					
№1	1*10 ⁵ (5)	1x10 ⁴ (4,00) lg зменш.1,0	1,8x10 ¹ (1,26) lg зменш.3,74	НВ	НВ
№2		2,5x10 ³ (3,4) lg зменш. 1,6	НВ	НВ	НВ
№3		1,2x10 ³ (3,08) lg зменш.2,78	НВ	НВ	НВ
№4		1,6x10 ² (2,2) lg зменш. 2,8	НВ	НВ	НВ
№5		НВ	НВ	НВ	НВ
№6		НВ	НВ	НВ	НВ
№7		НВ	НВ	НВ	НВ
№8		4,3x10 ¹ (1,63) lg зменш.3,37	НВ	НВ	НВ
<i>E. coli 055K59 №3912/41</i>					
№1	2*10 ⁵ (5,3)	3,2x10 ⁴ (4,51) lg зменш.0,79	2,9x10 ³ (3,46) lg зменш.1,84	4,5x10 ² (2,65) lg зменш.2,65	2,7x10 ¹ (1,43) lg зменш.3,87

Продовження табл. 4.4

1.	2.	3.	4.	5.	6.
№2	2*10 ⁵ (5,3)	5,2x10 ³ (3,72) lg зменш.1,58	4,1x10 ² (2,61) lg зменш.2,69	2,3x10 ² (2,36) lg зменш. 2,94	1,1x10 ¹ (1,04) lg зменш. 4,26
№3		6,7x10 ³ (3,83) lg зменш.1,47	3,2x10 ² (2,51) lg зменш.2,79	5,5x10 ¹ (1,74) lg зменш. 3,56	1,0x10 ¹ (1,0) lg зменш. 4,3
№4		7,9x10 ² (2,9) lg зменш. 2,4	8,4x10 ¹ (1,92) lg зменш.3,38	1,1x10 ¹ (1,04) lg зменш. 4,26	НВ
№5		2,1x10 ³ (3,32) lg зменш.1,98	1,2x10 ² (2,08) lg зменш.3,22	НВ	НВ
№6		4,2x10 ¹ (1,62) lg зменш.3,68	НВ	НВ	НВ
№7		5,3x10 ² (2,72) lg зменш.2,58	НВ	НВ	НВ
№8		5,5x10 ² (2,74) lg зменш.2,56	5,3x10 ¹ (1,72) lg зменш.3,58	НВ	НВ
<i>C. albicans ATCC 885-653</i>					
№1	2*10 ⁵ (5,3)	9x10 ⁴ (4,95) lg зменш. 0,35	4,2x10 ³ (3,6) lg зменш.1,7	3,1x10 ² (2,49) lg зменш. 2,81	1,3x10 ¹ (1,11) lg зменш.4,19
№2		8,0x10 ³ (2,9) lg зменш. 2,4	1,2x10 ¹ (1,08) lg зменш.4,22	НВ	НВ
№3		1,1x10 ³ (3,04) lg зменш.2,26	НВ	НВ	НВ
№4		1,3x10 ² (2,11) lg зменш.3,19	НВ	НВ	НВ
№5		4,1x10 ² (2,6) lg зменш. 2,7	1,9x10 ² (2,27) lg зменш.3,03	НВ	НВ
№6		3,2x10 ² (2,5) lg зменш. 2,8	НВ	НВ	НВ
№7		НВ	НВ	НВ	НВ
№8		НВ	НВ	НВ	НВ
<i>A. brasiliensis ATCC 16404</i>					
№1	2,5*10 ⁵ (5,39)	3,0x10 ⁴ (4,48) lg зменш.0,91	4,8x10 ³ (3,68) lg зменш.1,71	2,6x10 ² (2,42) lg зменш.2,97	1,3x10 ¹ (1,12) lg зменш.4,27
№2		2,8x10 ² (2,88) lg зменш.2,51	4,4x10 ¹ (1,65) lg зменш.3,74	1,1x10 ¹ (1,04) lg зменш.4,3	НВ
№3		2,8x10 ² (2,44) lg зменш.2,95	1,1x10 ¹ (1,04) lg зменш.4,35	НВ	НВ
№4		1,7x10 ³ (3,22) lg зменш.2,17	2,7x10 ² (2,44) lg зменш.2,95	1,0x10 ¹ (1,0) lg зменш.4,39	НВ
№5		1,3x10 ² (2,1) lg зменш.3,29	1,1x10 ¹ (1,04) lg зменш.4,35	НВ	НВ
№6		4,4x10 ¹ (1,65) lg зменш.3,74	НВ	НВ	НВ
№7		6,3x10 ² (2,8) lg зменш.2,59	2,2x10 ¹ (1,34) lg зменш.4,05	1,0x10 ¹ (1,01) lg зменш.4,3	НВ
№8		3,5x10 ² (2,54) lg зменш.2,85	3,6x10 ¹ (1,56) lg зменш.3,83	НВ	НВ
Примітка. НВ – мікроорганізмів не виявлено					

Експериментально встановлено, що консерванти, які входили до складу досліджуваних гелів (табл. 4.3), у відповідних концентраціях та в умовах високого мікробного навантаження 10^5 – 10^6 КУО/мл були ефективними проти як грампозитивних та грамнегативних бактерій, так і проти дріжджоподібних грибів.

Після 14-ти діб зберігання *C. albicans* у гелях з різними консервантами не було виявлено. Винятком став гель без консерванту (зразок № 1), у якому рівень дріжджових грибів знижувався впродовж всього періоду експерименту: на 2 добу зниження логарифму вихідного мікробного навантаження (lg) становило 0,35, на 7 добу спостереження – 1,7, на 14 добу – 2,81, на 28 добу – 4,19, що не відповідає вимогам ДФУ. Найефективнішими щодо *C. albicans* були зразки № 7 та 8, які містили бензалконію хлорид. У них на 2-гу добу експерименту росту грибів не виявляли, що вказує на високий рівень антигрибкової активності даних консервантів у складі гелю. Найменш ефективним був консервант у зразку № 5 (спирт фенілетиловий 0,25 %), оскільки на 2-гу добу зниження логарифму вихідного мікробного навантаження становило 2,7, і лише на 14-ту добу росту грибів не було виявлено. Консерванти ніпагін/ніпазол (0,2 %), “Cosgard” (0,4 %) та спирт фенілетиловий (0,4 %) у зразках № 2, 4 та 6 проявили однакову дію проти *C. albicans*, росту не спостерігали починаючи із 7-ї доби експерименту.

Згідно отриманих результатів, *S. aureus* не було виявлено вже на 14 добу інкубації тест-культури у зразках гелів з різними консервантами, що відповідає вимогам ДФУ. Найефективнішим консервантом проти грампозитивних коків виявився спирт фенілетиловий у концентрації 0,4 % (зразок № 6), оскільки вже на 2-гу добу росту бактерій не спостерігали. Найменш активним проти золотистих стафілококів був гель без консерванта (зразок № 1), оскільки на 2-гу добу зниження логарифму вихідного мікробного навантаження становив 0,91, на 7-му добу – 2,96. Росту *S. aureus* у цьому зразку не виявлено на 14-ту добу. Усі інші зразки проявили однаково згубну дію на коки: їх загибель відзначали на 14-ту добу.

Аналізуючи отримані експериментальні дані дослідження антимікробних властивостей зразків гелів щодо *P. aeruginosa*, слід відзначити, що спирт фенілетиловий у концентраціях 0,25 % та 0,4 % (зразки № 5 та 6), а також бензалконію хлорид 0,02 % (зразок № 7) виявилися найбільш ефективними: після 2-х діб культивування у них життєздатних клітин не спостерігали. У зразку гелю без консерванту (зразок № 1) рівень життєздатних клітин *P. aeruginosa* впродовж дослідження поступово знижувався – на 2-гу добу експерименту значення логарифму вихідного мікробного навантаження становило – 1,0, на 7-му – 3,74. При подальшому зберіганні цього гелю життєздатних клітин у даному зразку не виявлено. Консерванти ніпагін/ніпазол (0,2 та 0,4 %), “Cosgard” (0,4 %), бензалконію хлорид (0,01%) у зразках № 2, 3, 4 та 8 відповідно, проявили однакоvu ефективність – росту не спостерігали, починаючи з 7-ої доби.

Щодо *A. brasiliensis*, отримані результати продемонстрували, що не усі зразки гелів відповідали вимогам ДФУ. Найефективнішим виявився спирт фенілетиловий у концентрації 0,4 % (зразок № 6). На 2-гу добу експерименту значення логарифму вихідного мікробного навантаження становило – 3,74, а на 7-му – росту мікроорганізмів не спостерігали. Консерванти ніпагін/ніпазол (0,4 %), спирт фенілетиловий (0,25 %), бензалконію хлорид (0,01 %) у зразках № 3, 5 та 8 відповідно проявили однакоvu ефективність проти *A. brasiliensis*, росту не спостерігалось вже з 14-ї доби. Гель без консерванту (зразок № 1) виявив помірну протимікробну активність щодо *A. brasiliensis*: впродовж всього періоду спостереження – на 2, 7, 14, 28 доби значення логарифму вихідного мікробного навантаження знижувалось та становило 0,91; 1,71; 2,97; 4,27 відповідно, що підтвердило необхідність використання консервантів. Консерванти ніпагін/ніпазол (0,2 %), “Cosgard” (0,4 %) та бензалконію хлорид (0,02 %) у зразках № 2, 4 та 7 проявили однакоvu ефективність, росту не спостерігали на 28-му добу, що не відповідало вимогам ДФУ.

Дані таблиці 4.4 продемонстрували неефективність гелю без консерванту (зразок № 1). Він проявив помірну протимікробну активність щодо

життєздатних клітин *E. coli*: впродовж всього періоду спостереження – на 2, 7, 14, 28 доби, спостерігалось зниження логарифму вихідного мікробного навантаження на 0,79, 1,84, 2,65 і 3,87 відповідно. Це свідчило також про неможливість використання гелю на основі ВВ з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом без консерванту.

Серед усіх дослідних зразків найбільш активними до даного тест-штаму виявились наступні консерванти: спирт фенілетилловий в концентрації 0,4 % (зразок № 6) та бензалконію хлорид у концентрації 0,02 % (зразок № 7). Активність консерванту ніпагін/ніпазол у концентрації 0,2 % (зразок № 2) була недостатньою, адже логарифм зменшення життєздатних клітин *E. coli* не відповідав обом критеріям прийнятності ефективності антимікробних консервантів. Збільшення концентрації консерванту вдвічі (зразок № 3) не зумовив значної зміни протимікробної активності, тому недоцільно його застосовувати в даній композиції. Консерванти “Cosgard” (0,4 %), спирт фенілетилловий (0,25 %) та бензалконію хлорид (0,02 %) у зразках № 4, 5 та 8 відповідали усім критеріям ефективності, росту мікрофлори не спостерігалось на 14-ту добу.

За результатами проведених досліджень найбільш прийнятним консервантом у складі розробленого гелю обрано спирт фенілетилловий у концентрації 0,4 %, що зумовлено проявом його високої антимікробної активності у даній фармацевтичній композиції, фізіологічною безпечністю, економічністю, а також можливістю його використання як ароматизатора.

4.3 Розробка технології гелю “Кселіогель” для місцевого лікування опіків

Враховуючи усі проведені комплексні дослідження, теоретично та експериментально обґрунтовано склад гелю під умовною назвою “Кселіогель”, що проявляє ранозагоювальну та місцевоанестезуючу дією для МЛЮ. Процес виготовлення гелю складається з стадії допоміжних робіт; стадій виготовлення

ЛЗ; стадій пакування, маркування і відвантаження на склад готової продукції [70, 114].

Склад розробленого гелю наведено нижче, г:

Водний витяг з ксенодерми	10,0
Лідокаїну гідрохлорид	2,0
Карбомер Carbopol® “Ultrez 21”	1,0
Трометамол	до рН 6,0-6,5
Пропіленгліколь	5,0
Спирт фенілетиловий	0,4
Вода очищена	до 100,0

Послідовність введення компонентів визначали відповідно до розроблених умов приготування гелю, що має важливий вплив на ефективність ЛЗ. Швидкість розчинення, диспергування та гомогенізації тощо, визначено при дослідженні фармако-технологічних показників гелю. Для отримання гелю використовували лабораторне обладнання, що застосовується у виробництві МЛФ.

За результатами проведених досліджень розроблено технологічну схему виробництва гелю, яка наведена на рис. 4.5 та включає 9 стадій, із яких 6 стадій основного технологічного процесу та 3 стадії пакування, опис яких наведений на рисунку 4.5.

Стадія 1. Підготовка сировини.

АФІ та ДР для виготовлення гелю (лідокаїну гідрохлорид, ВВ з ксенодерми, Carbopol® “Ultrez 21”, трометамол, спирт фенілетиловий, пропіленгліколь, вода очищена) після проходження вхідного контролю доправляють на дільницю. На ситі проводять просіювання Carbopol® “Ultrez 21” в необхідній кількості на серію. Потім сипкі речовини послідовно відважують за допомогою ваг, а рідкі відмірюють з використанням мірника. Відміряну та відважену сировину передають на стадії виробництва за допомогою транспортних візків.

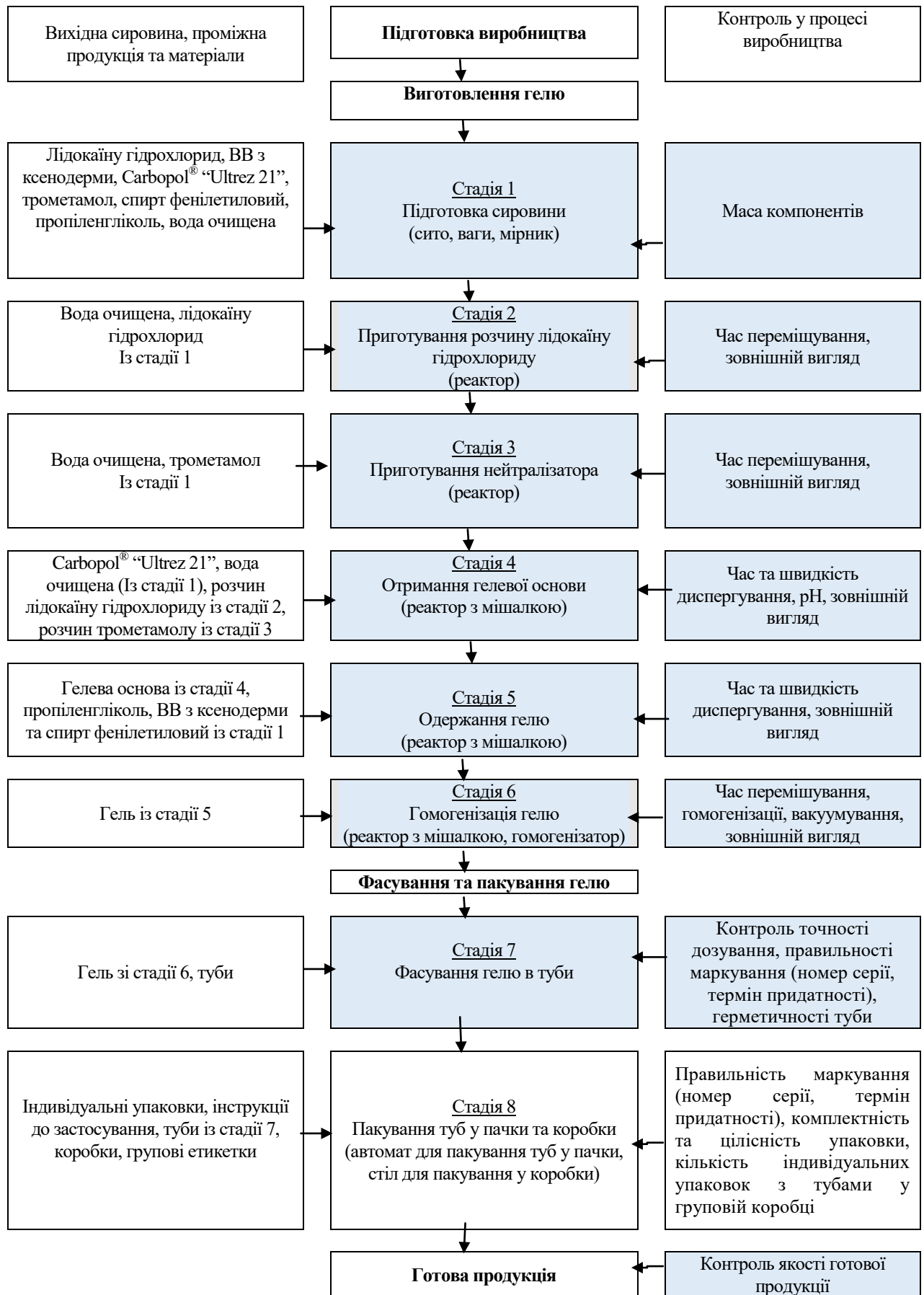


Рисунок 4.5 – Технологічна схема виробництва гелю “Кселіогель” для місцевого лікування опіків

Стадія 2. Приготування розчину лідокаїну гідрохлориду.

Із стадії 1 беруть необхідну кількість води очищеної і завантажують у реактор. Також у реактор завантажують попередньо відважену кількість лідокаїну гідрохлориду із стадії 1. Інгредієнти у реакторі перемішують мішалкою протягом встановленого часу до повного розчинення та утворення прозорого розчину. Проводять візуальний контроль.

Стадія 3. Приготування нейтралізатора.

Із стадії 1 відбирають потрібну кількість води очищеної та вносять у реактор, завантажують попередньо відважену кількість трометамолу. Компоненти у реакторі перемішують мішалкою протягом визначеного часу до повного розчинення та утворення прозорого розчину. Проводять візуальний контроль, при цьому розчин повинен бути прозорим і не мати нерозчинених часток.

Стадія 4. Отримання гелевої основи.

У реактор до попередньо відміряної кількості води очищеної на стадії 1 завантажують попередньо просіяний та відважений на стадії 1 Carbopol® “Ultrez 21”, перемішують та залишають для набрякання. Через 1 год утворену основу перемішують до однорідності та додають розчин лідокаїну гідрохлориду, який отримано на стадії 2, нейтралізують розчином трометамолу, який отримано на стадії 3. Контролюють рН утвореної основи рН-метром. Гелева основа повинна бути однорідною та не мати злиплих грудок.

Стадія 5. Одержання гелю.

У реактор до попередньо приготовленої гелевої основи на стадії 4 послідовно вводять із стадії 1 відміряні ВВ з ксенодерми та пропіленгліколь, у якому попередньо розчиняють спирт фенілетилловий, вмикають мішалку і перемішують протягом визначеного часу до отримання однорідної маси.

Стадія 6. Гомогенізація гелю.

Гомогенізацію гелю проводять з одночасним вакуумуванням для уникнення процесу аерації у гелі протягом визначеного часу при включеній

мішалці. Гель – однорідна маса з білою опалесценцією з характерним квітковим запахом.

Стадія 7. Фасування гелю в туби.

Отриманий гель перекачують у бункер тубонаповнювального автомата, за допомогою якого визначену масу гелю фасують в туби. Номер серії та термін придатності наносять тисненням на хвостовик туби. Проводять контроль точності дозування, правильності маркування (серія, термін придатності), комплектності та цілісності упаковки.

Стадія 8. Пакування туб у пачки та коробки.

Туби з інструкцією до застосування упаковують у індивідуальні упаковки на автоматі для пакування туб в пачки. Вручну на столі для пакування проводять упаковку туб в індивідуальних упаковках в групові коробки, на які наклеюють групові етикетки. Проводять контроль маркування (номер серії, термін придатності), комплектність та цілісність упаковки, кількість індивідуальних упаковок з тубами у груповій коробці. Групові коробки з готовою продукцією складають на піддони та відправляють на склад готової продукції.

Технологія гелю “Кселіогель” апробована в умовах виробництва АТ “Галичфарм”.

4.4 Розробка методик контролю якості гелю “Кселіогель”

Враховуючи склад, технологію та призначення розробленого гелю контроль його якості необхідно здійснювати відповідно до вимог статті ДФУ “М’які лікарські засоби для наскірного застосування”, а саме, слід дослідити такі показники: “Опис”, “Ідентифікація”, “Однорідність”, “рН”, “Кількісне визначення”, “Мікробіологічна чистота”, “Кількісний вміст спирту фенілетилового”, оскільки саме цей консервант забезпечує МБЧ гелю впродовж усього терміну придатності.

4.4.1. Визначення органолептичних характеристик та рН гелю “Кселіогель”

Опис. За зовнішнім виглядом гель – однорідна гелеподібна маса з білою опалесценцією без сторонніх домішок.

Однорідність визначали за методикою, наведеною у розділі 2. За візуальними спостереженнями гель – однорідний, без згустків, без стороннього запаху та забарвлення.

рН. Враховуючи призначення розробленого гелю та, зважаючи на використання гелеутворювачів, введення яких зумовлює певне значення рН засобу, значення даного показника є важливим, і тому дана ЛФ повинна контролюватися за показником “рН”. Визначення рН проводили потенціометричним методом відповідно до вимог ДФУ, 2.0., Т. 1, п. 2.2.3 за методикою, наведеною у розділі 2.

При визначенні числового значення рН п'ятьох зразків гелю отримали такі значення: $6,80 \pm 0,22$; $6,95 \pm 0,21$; $6,74 \pm 0,10$; $7,02 \pm 0,21$; $6,66 \pm 0,11$ ($n=5$). Отримані результати дослідження дозволили запропонувати критерій для чисельного значення водневого показника гелю від 6,0 до 7,5.

4.4.2 Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення біологічно активних речовин (амінокислот) в складі гелю “Кселіогель”

Для підтвердження наявності біологічно активних речовин ВВ у складі гелю запропоновано ідентифікацію амінокислот та кількісне визначення білка. Продовжуючи стандартизацію у ланцюзі порошок ксенодерми – ВВ – гель, в готовому ЛЗ визначено амінокислотний склад методом ВЕРХ з передколунковою дериватизацією 9-флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (ФМОС) та *o*-фталевим альдегідом (ОФА) [146, 147]. Ідентифікацію амінокислот здійснювали шляхом порівняння часів утримування піків відповідних речовин на хроматограмі випробовуваного розчину (рис. 4.6) та на хроматограмі розчину порівняння (рис. 3.9). Методика ідентифікації та визначення кількісного вмісту амінокислот методом ВЕРХ в складі гелю “Кселіогель” наведена в додатку Е.

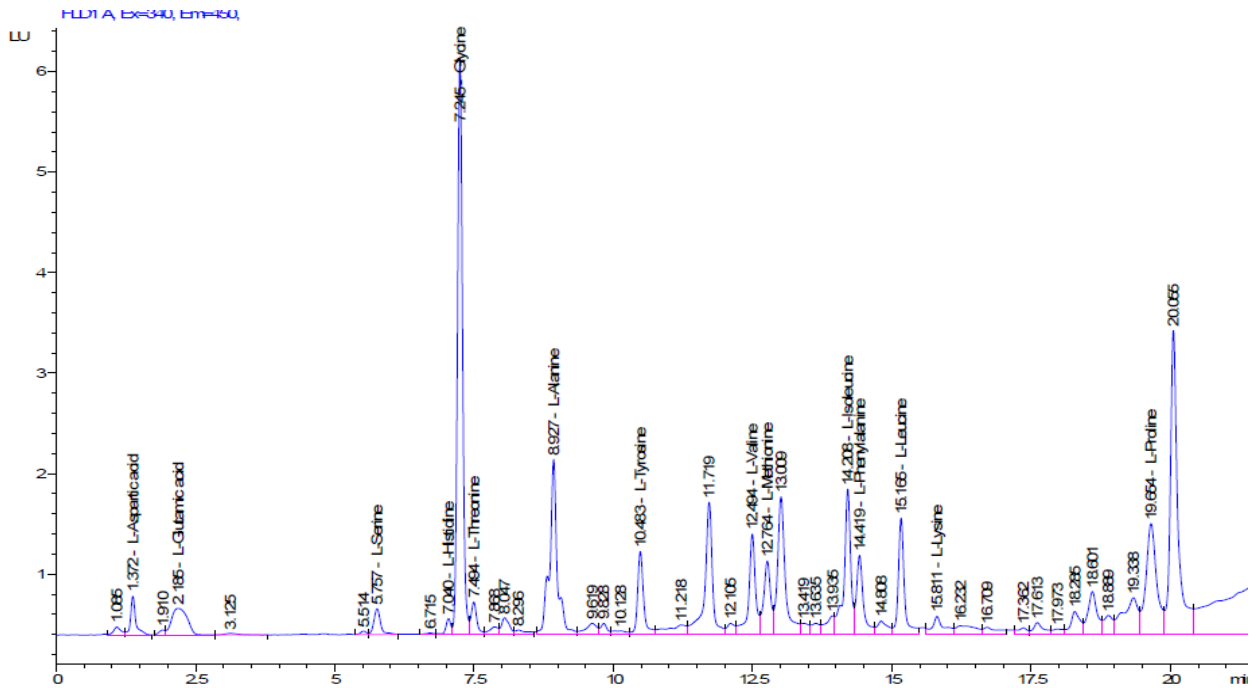


Рисунок 4.6 – ВЕРХ-хроматограма випробовуваного розчину, отримана в умовах ідентифікації амінокислот у гелі “Кселіогель”

Результати виявлення і визначення амінокислот у досліджуваному гелі “Кселіогель” наведені в таблиці 4.5.

Таблиця 4.5 – Результати визначення якісного складу та вмісту амінокислот методом ВЕРХ в гелі “Кселіогель” (n=5, P<0,05)

Речовина	Час утримування, хв	Вміст загальних амінокислот, мг/г
1.	2.	3.
Аспарагінова кислота	1,372	0,28 ± 0,01
Глутамінова кислота	2,185	0,56 ± 0,01
Серин	5,757	0,22 ± 0,01
Гістидин	7,040	0,09 ± 0,00
Гліцин	7,245	0,97 ± 0,02
Треонін	7,494	0,32 ± 0,01
Аргінін	8,047	0,08 ± 0,00
Аланін	8,927	0,73 ± 0,02
Тирозин	10,482	0,21 ± 0,01
Валін	12,494	0,19 ± 0,00
Метіонін	12,764	0,32 ± 0,01

Продовження табл 4.5

1.	2.	3.
Ізолейцин	14,208	0,52 ± 0,01
Фенілаланін	14,419	0,84 ± 0,02
Лейцин	15,165	0,98 ± 0,02
Лізин	15,811	0,16 ± 0,00
Пролін	19,654	0,82 ± 0,03

У гелі ідентифіковано 16 амінокислот та визначено їх кількісний вміст, при цьому із замісних та умовнозамінних амінокислот домінують гліцин та пролін (в межах 0,1 %), з-поміж незамінних переважає лейцин (0,1 %). Отримані результати вивчення амінокислотного складу в розробленому гелі об'єктивно доводять наявність ВВ з ксенодерми у розробленому гелі.

Для контролю вмісту ВВ з порошка ксенодерми у готовому гелі необхідно, продовжуючи ланцюг стандартизації, запропонувати об'єктивний кількісний показник. Зважаючи, що ВВ стандартизували за загальним вмістом амінокислот і вмістом загального білка, для кількісного показника було обрано вміст загального білка. Такий підхід є фармакопейним – специфічна ідентифікація ВВ методом ВЕРХ і сумарний кількісний показник – вміст білка.

Кількісний вміст загального білка визначали спектрофотометрично, аналогічно до застосовуваної процедури при кількісному визначенні у ВВ з ксенодерми. Методика кількісного визначення загального білка у розробленому гелі наведена у додатку Ж. Результати визначення вмісту загального білка у досліджуваних зразках розробленого гелю наведені в таблиці 4.6.

Таблиця 4.6 – Результати кількісного визначення загального білка у гелі “Кселіогель”

Серія гелю	Наважка, г	Вміст загального білка, мг/г	Метрологічні характеристики
1	0,2235	9,24	$\bar{x} = 9,13$ $S = 0,1360$ $S^2 = 1,85 \cdot 10^{-2}$ $S_{\bar{x}} = 0,0608$ $S_r = 0,0133$ $\Delta\bar{x} = 0,01$ $\bar{\epsilon} = 1,85 \%$
2	0,2166	9,54	
3	0,2105	9,81	
4	0,2310	8,94	
5	0,2285	9,04	

Як видно із значень, наведених в даній таблиці, отримані результати визначення вмісту загального білка у досліджуваних серіях гелю корелюють з вмістом білка у ВВ з ксенодерми (не менше 9,5 %).

Тому кількісним критерієм якості розробленого гелю за показником *“Кількісне визначення загального білка”* було запропоновано інтервал від 8,55 до 10,45 мг в одному грамі гелю. Аналізуючи отримані дані кількісного визначення загального білка можна зробити висновок про те, що всі результати знаходяться в межах запропонованого критерію якості.

4.4.3 Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду у гелі *“Кселіогель”*

В науковій літературі описані методики якісного та кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду у ЛФ різними методами, оскільки даний АФІ входить до складу багатьох зареєстрованих ЛЗ [111, 112, 125, 127, 149, 157, 176]. У ДФУ наведені монографії на субстанцію *“Лідокаїну гідрохлорид”* та на готовий ЛЗ *“Лідокаїну гідрохлорид розчин для ін’єкцій”*, відповідно до яких кількісний вміст АФІ у субстанції та в розчині для ін’єкцій рекомендується визначати титриметрично та методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій ділянці спектру відповідно.

Ідентифікацію та кількісне визначення лідокаїну гідрохлориду у розробленому гелі запропоновано проводити методом ВЕРХ, підібравши попередньо відповідні умови пробопідготовки та хроматографування. Підтвердження наявності лідокаїну гідрохлориду у гелі проводили шляхом порівняння часу утримування відповідного піку на хроматограмі випробовуваного розчину, отриманого в умовах кількісного визначення, з часом утримування піку відповідної сполуки на хроматограмі розчину порівняння (рис. 4.7).

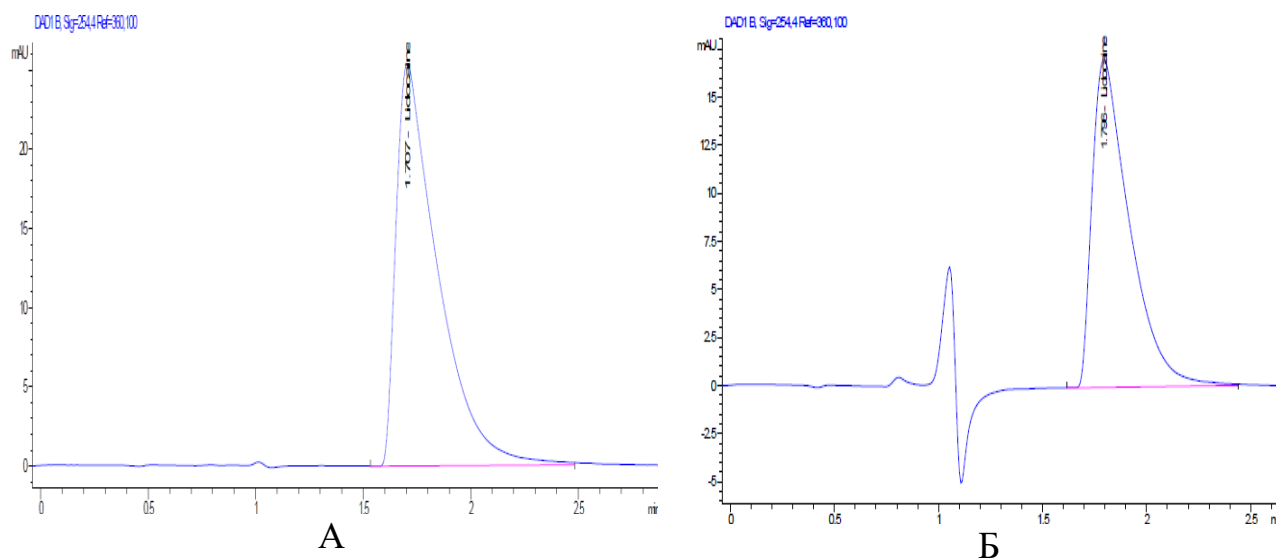


Рисунок 4.7 – Хроматограми отримані в умовах кількісного визначення для:

А – розчину порівняння; Б – випробовуваного розчину.

Методика кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду у складі гелю “Кселіогель”

Випробовуваний розчин. 1,0 г (т.н.) препарату поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 15 мл *етанолу Р*, 5 мл *води Р* і витримують в ультразвуковій бані протягом 20 хв, додають 15 мл 0,1 % (об) розчину ортофосфорної кислоти, перемішують і залишають в ультразвуковій бані ще на 10 хв, доводять об’єм у колбі 0,1 % розчином ортофосфорної кислоти. Отриману суміш переносять в центрифужну пробірку і центрифугують при 5000 об./хв 10 хв. Надосадову рідину фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,22 мкм у віалу.

Приготування розчину порівняння. 20 мг СЗ лідокаїну гідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 15 мл *етанолу Р*, 5 мл *води Р* і розчиняють в ультразвуковій бані до повного розчинення, об’єм розчину доводять до позначки 0,1 % (об) розчином ортофосфорної кислоти, перемішують та фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,22 мкм у віалу.

Рухома фаза: *ацетонітрил Р*, 0,1 % ортофосфорна кислота (20:80 об/об);

Хроматографування розчину порівняння і випробовуваного розчину проводять по чергово, отримуючи по три хроматограми для кожного.

Умови хроматографування:

Колонка:

- “Zorbax SB-C18” розміром 2,1 x 150 мм, заповнена сорбентом з розміром частинок 3,5 мкм, або аналогічна;

- температура термостату колонки: 40 °С;

- швидкість рухомої фази: 0,45 мл/хв;

- детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 245 нм;

- об'єм інжекції: 30 мкл.

На хроматограмі випробовуваного розчину повинен бути пік, який співпадає за часом утримування з часом утримування лідокаїну гідрохлориду на хроматограмі розчину порівняння.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі вимоги:

- ефективність хроматографічної системи, розрахована за піком лідокаїну гідрохлориду, має бути не менше 2000 теоретичних тарілок;

- коефіцієнт симетрії піку лідокаїну гідрохлориду має бути від 0,8 до 1,5;

- відносне стандартне відхилення, розраховане для площі піку, має бути менше 2 %.

Вміст лідокаїну гідрохлориду (X), в міліграмах на 1 г гелю розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_0 \cdot S_x}{S_0 \cdot m_{\text{нав}}}$$

де S_x – середнє значення площі піку лідокаїну гідрохлориду, отримане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 – середнє значення площі піку лідокаїну гідрохлориду, отримане з хроматограм розчину порівняння;

$m_{\text{нав}}$ – маса наважки гелю, взята для випробування, г;

m_0 – маса наважки СЗ лідокаїну гідрохлориду, взята для приготування розчину порівняння, мг.

Результати кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду в розробленому гелі наведені в таблиці 4.7.

Таблиця 4.7 – Результати кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду у гелі “Кселіогель”

Серія гелю	Маса наважки, г	Вміст лідокаїну гідрохлориду, мг/г	Метрологічні характеристики
1	1,0015	19,86	$\bar{x} = 19,74$ $S = 0,3498$ $S^2 = 0,1224$ $S_{\bar{x}} = 0,1564$ $S_r = 0,0177$ $\Delta\bar{x} = 0,43$ $\bar{\epsilon} = 2,2 \%$
2	1,0225	20,05	
3	0,9975	19,24	
4	1,0810	20,53	
5	0,9923	19,06	

Як видно із даних, наведених в таблиці 4.7, отримані результати кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду у досліджуваних серіях гелю є достатньо близькими між собою. Враховуючи вимоги ДФУ щодо допустимих меж відхилення кількісного вмісту АФІ ($\pm 10 \%$) у гелі, кількісним критерієм якості розробленого гелю за показником “Кількісний вміст лідокаїну гідрохлориду” було запропоновано інтервал від 18,00 до 22,00 мг в одному грамі гелю. Аналізуючи отримані дані можна зробити висновок про те, що всі результати знаходяться в межах запропонованого кількісного критерію якості.

Відповідно до вимог ДФУ, для розробленої методики вивчені відповідні валідаційні характеристики. За вимогами ДФУ [47], для випробування “Ідентифікація” потрібно визначати специфічність, а для випробування “Кількісне визначення” – специфічність, правильність, лінійність, прецизійність та діапазон застосування.

Вивчення специфічності методики. З метою дослідження специфічності методики вивчали хроматограми контрольного розчину, розчину порівняння та випробовуваного розчину. На хроматограмі контрольного розчину немає піку,

який співпадає за часом утримування з піком лідокаїну гідрохлориду на хроматограмі розчину порівняння, а на хроматограмі випробовуваного розчину пік, притаманний лідокаїну гідрохлориду, співпадає за часом утримування з відповідним піком на хроматограмі розчину порівняння (рис. 4.7). Таким чином, запропоновані хроматографічні умови кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду витримують вимоги валідаційної характеристики “специфічність”.

Вивчення лінійності, правильності та прецизійності (збіжності) методики. Вивчення лінійності, правильності і прецизійності досліджували одночасно на 9 модельних розчинах, концентрації яких охоплювали діапазон концентрацій 80-120 % від декларованого вмісту лідокаїну гідрохлориду.

На підставі розрахованих параметрів лінійності методики (вільний член, коефіцієнт кореляції і залишкове стандартне відхилення), які наведені в додатку К (таблиця К.1 та К.2), можна зробити висновок про те, що лінійність методики кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду підтверджується протягом усього діапазону вивчених концентрацій.

Правильність методики оцінювали методом “введено-знайдено” за результатами, отриманими при вивченні лінійності. Отримані результати свідчать про статистичну та практичну незначущість систематичної похибки порівняно з максимально допустимою невизначеністю аналізу (додаток К).

Вивчення прецизійності (збіжності) проводили методом “введено-знайдено”, оцінюючи прецизійність із результатів, отриманих при дослідженні лінійності. Величина одностороннього довірчого інтервалу не перевищує максимально допустиму невизначеність результатів аналізу, що дає можливість стверджувати про збіжність методики кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду.

Вивчення діапазону застосування. Валідаційні характеристики лінійність, прецизійність (збіжність) та правильність методики визначено у межах концентрації від 80 % до 120 % від декларованого вмісту лідокаїну гідрохлориду та витримують критеріальні вимоги ДФУ, а тому, у цих межах

концентрацій дана хроматографічна методика придатна для кількісного визначення даного АФІ.

4.4.4 Кількісне визначення консерванту спирту фенілетилового у гелі “Кселіогель”

Для забезпечення МБЧ впродовж усього терміну придатності ЛЗ було необхідним введення консерванту. Тому визначення вмісту використаного антимікробного консерванта в гелі є обов’язковим елементом його стандартизації. Попередніми мікробіологічними дослідженнями встановлено, що введення до складу гелю спирту фенілетилового у кількості 0,4 г на 100 г забезпечує дотримання вимог МБЧ впродовж усього терміну придатності.

Для визначення спирту фенілетилового запропоновано застосовувати метод газової хроматографії, використовуючи газовий хроматограф “Agilent 6890N/5973inert” (Agilent Technologies, США), із мас-спектрометричним детектором. З метою забезпечення вивільнення консерванту з гелю у випробовуваний розчин та розділення його з іншими АФІ та ексципієнтами були підібрані оптимальні умови пробопідготовки та хроматографування.

Ідентифікацію спирту фенілетилового проводили шляхом порівняння мас-спектру при часі утримування відповідного піку на хроматограмі випробовуваного розчину (13,967 хв), отриманій в умовах кількісного визначення, з мас-спектром спирту фенілетилового з бібліотеки мас-спектрів NIST02. Відповідна хроматограма наведена на рисунку 4.8.

Кількісне визначення фенілетилового спирту проводили за нижче наведеною методикою (метод добавок).

Методика кількісного визначення спирту фенілетилового у гелі “Кселіогель”

Вихідний розчин. 1,0 г (т.н.) препарату поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, додають 5 мл *ацетонітрилу Р* та переносять в ультразвукову баню на 20 хв. Об’єм у колбі доводять *ацетонітрилом Р* до позначки і

перемішують. Вміст колби переносять у центрифужну пробірку і центрифугують 10 хв при 5000 об./хв. Надосадовий розчин обережно зливають у мірну колбу місткістю 10 мл.

Випробовуваний розчин (а). 2,5 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 5 мл і доводять об'єм розчину до позначки, перемішують і фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,22 мкм у віалу.

Вихідний розчин СЗ спирту фенілетилового. 25 мг (т.н.) СЗ спирту фенілетилового поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають ацетонітрил Р, розчиняють і доводять об'єм розчину до позначки ацетонітрилом Р, перемішують.

Випробовуваний розчин (b). 2,5 мл вихідного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 5 мл, додають 1 мл вихідного розчину СЗ спирту фенілетилового і доводять об'єм розчину до позначки, перемішують і фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,22 мкм у віалу.

Хроматографування випробовуваних розчинів (а) і (b) проводять по чергово на газовому хроматографі з мас-спектрометричним детектором при таких умовах:

Колонка:

- капілярна “DP-FFAP” (фірми “J&W Scientific”, США) або аналогічна;
- розмір: 30 м x 0,25 мм, заповнена сорбентом з розміром частинок 0,25 мкм;
- температуру колонки програмують: від 60 °С до 230 °С із швидкістю 7 °С/хв;
- температура блоку введення проби: 250 °С;
- швидкість газу-носія: гелій для хроматографії Р 1 мл/хв.
- об'єм інжекції: 0,5 мкл.
- іонізація проводилася шляхом електронного удару, з фіксацією утворених іонів в діапазоні 18-400 m/z.

Вміст спирту фенілетилового (X), в міліграмах в 1 г препарату, розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_0 \cdot S_x \cdot 20}{25 \cdot 5 \cdot (S_{x+\text{доб}} - S_x) \cdot m_{\text{нав}}}$$

де S_x – середнє значення площі піку спирту фенілетилового, отримане з хроматограм випробовуваного розчину (а);

$S_{x+доб}$ – середнє значення площі піку спирту фенілетилового, отримане з хроматограм випробовуваного розчину (b);

$m_{нав}$ – маса наважки гелю, взята для аналізу, г;

m_0 – маса наважки стандартного зразка спирту фенілетилового, мг.

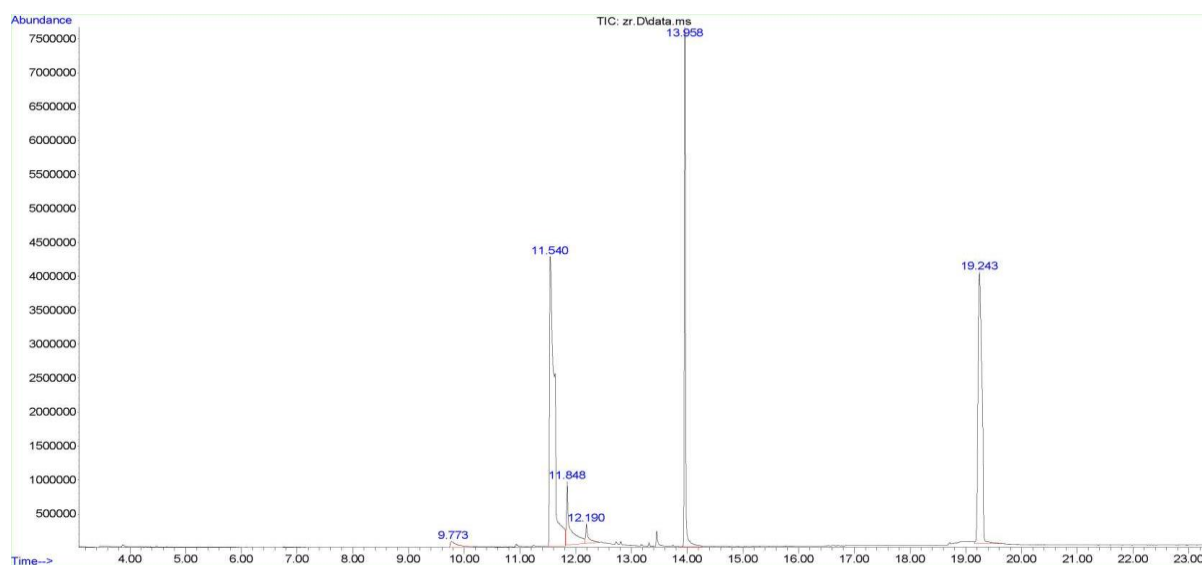


Рисунок 4.8 – Хроматограма випробовуваного розчину, отримана в умовах кількісного визначення спирту фенілетилового у гелі “Кселіогель”

Результати визначення кількісного вмісту спирту фенілетилового у зразках різних серій гелю наведені в таблиці 4.8.

Таблиця 4.8 – Результати кількісного визначення спирту фенілетилового у гелі “Кселіогель”

Серія гелю	Маса наважки, г	Вміст спирту фенілетилового, мг/г
1	0,6512	4,09 ± 0,09
2	0,6576	4,05 ± 0,09
3	0,6603	4,04 ± 0,08
4	0,6428	4,14 ± 0,08
5	0,6615	4,03 ± 0,09

Враховуючи результати кількісного визначення консерванту у гелі, а також вимоги ДФУ щодо рекомендованих меж відхилення кількісного вмісту ($\pm 10\%$), запропоновано критерій вмісту спирту фенілетилового від 3,6 мг до 4,4 мг в 1 грамі гелю.

На основі комплексних досліджень розроблено проект МКЯ (додаток Н.1) на одержаний гель “Кселіогель”, який апробовано в лабораторії АТ “Галичфарм” (акт апробації від 16 жовтня 2019 р., додаток Н.2).

4.5 Визначення стабільності гелю “Кселіогель” у процесі зберігання

Стабільність є важливим показником якості та запорукою терапевтичного ефекту ЛЗ, оскільки забезпечує постійність ЛЗ у процесі його застосування та зберігання [61].

Важливими показниками стабільності гелів є реологічні характеристики, завдяки яким можна передбачити поведінку середовища в технологічних процесах, також вони є важливими при створенні нових та вдосконаленні існуючих ЛЗ.

За реограмою оцінюють тип плинності, а також наявність тиксотропних властивостей ЛФ [120]. Відомо, що тиксотропним є явище повільної зміни в'язкості або будь-яких реологічних властивостей, яке викликане деформацією матеріалу або його відновленням після зняття зовнішнього впливу. Наприклад, при постійно заданій швидкості зсуву в'язкість досліджуваного розчину повільно зменшується, а при припиненні дії зовнішнього чинника на матеріал, навпаки, збільшується, аж до повного або часткового відновлення в'язкості до початкового значення. Значення в'язкості в процесі збільшення швидкості зсуву та в процесі зменшення швидкості зсуву не збігаються між собою. Тиксотропні властивості залежать також від наявності електролітів, рН і температури [100].

Важливими показниками якості МЛФ є їх консистенція та здатність до намазування, яка пов'язана із напруженою зсуву, а також із стабільністю гелю при зміні температурних режимів зберігання. Оптимальна гелева основа повинна

легко наноситься на пошкоджену поверхню шкіри, мати достатню плинність, сприяти вивільненню діючої речовини з ЛФ.

Дослідження пластично-в'язко-пружних властивостей розробленого гелю проводили на ротаційному віскозиметрі “Rheomat-30” фірми “Contraves AG” (Швейцарія) із використання адаптера ротаційного типу з коаксіальними циліндрами, який оснащений спеціальною протічною коміркою.

Залежність структурно-механічних властивостей гелю від швидкості вивчали у інтервалі швидкостей зсуву від 0 до 452 c^{-1} та у діапазоні температур при 20 $^{\circ}\text{C}$, 35 $^{\circ}\text{C}$ та 50 $^{\circ}\text{C}$ для того, щоб дослідити зміни реологічних показників, оскільки із підвищенням температури відбувається зниження структурно-механічних та споживчих характеристик гелю (рис. 4.9).

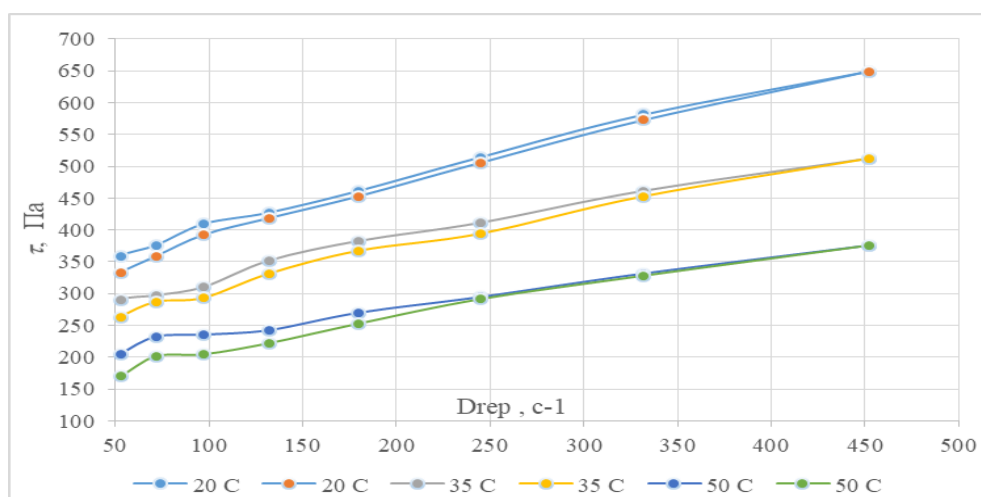


Рисунок 4.9 – Реограми гелю “Кселіогель” за температур: 20 $^{\circ}\text{C}$, 35 $^{\circ}\text{C}$, 50 $^{\circ}\text{C}$

Реограми експерименту показують, що досліджуваний гель є неньютонівською рідиною та має пластичний тип текучості. З рисунка 4.9 видно, що реограми гелю характеризуються наявністю верхньої та нижньої кривої течії, які не збігаються між собою та утворюють “петлю гістерезису”, площа якої свідчить про наявність тиксотропних властивостей не зважаючи на зміну температурних режимів. При цьому площа петель гістерезису практично однакова, але спостерігається залежність зменшення напруження зсуву від швидкості зсуву із

зростанням температури досліджу. При підвищенні температури до 50 °С спостерігається незначне зниження в'язкості гелю, що можна пояснити нагріванням молекули полімеру та зміною механічної стабільності гелю.

Залежності динамічної в'язкості від швидкості зсуву гелю, що відображені на рисунку 4.10, досліджували за температур 20 °С, 35 °С та 50 °С. Показники структурної в'язкості дають можливість визначити її залежність від градієнта швидкості зсуву. Як видно з одержаних даних, спостерігається зниження структурної в'язкості під час зростання швидкості зсуву та температури, що є закономірним для структурованих дисперсних систем на основі карбомеру, що в свою чергу забезпечує необхідні параметри технологічного процесу гелів.

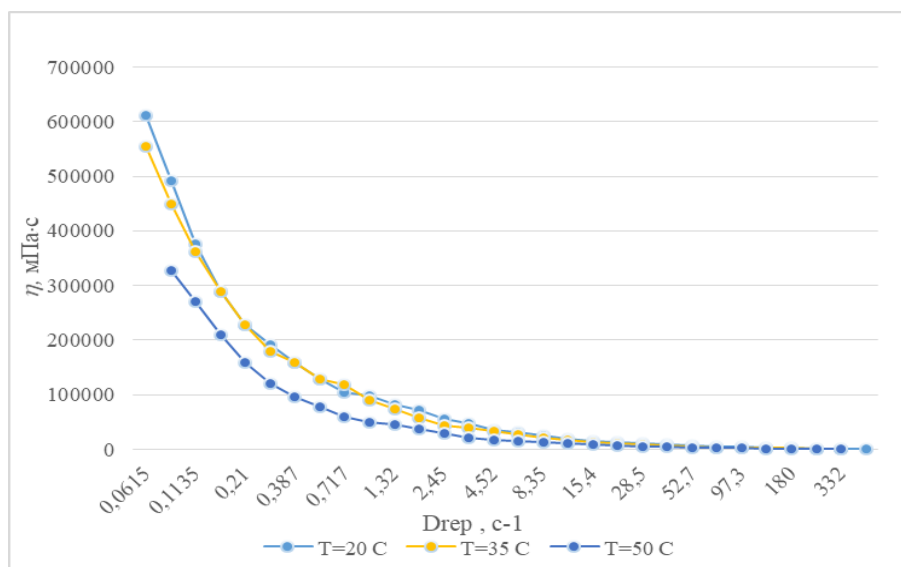


Рисунок 4.10 – Залежність структурної в'язкості гелю “Кселіогель” від швидкості зсуву за температур 20 °С, 35 °С та 50 °С

Також, нами розраховано показник механічної стабільності гелю [34], який характеризує ступінь руйнування полімерної структури. Вимірювання проводили відразу після приготування і через кожні 6 міс у процесі зберігання, результати наведено у таблиці 4.9. Оптимальне значення механічної стабільності є 1. При температурі 20 °С даний показник розробленого гелю

складає 1,06, при 35 °С – 1,07, та при 50 °С – 1,22, що свідчить про стабільність гелю у процесі зміни температури зберігання.

Таблиця 4.9 – Дослідження реологічних показників гелю “Кселиогель” у процесі зберігання

Термін спостереження	МС	Коефіцієнт динамічного розрідження (%) , при швидкостях зсуву	
		3,32-6,15 с ⁻¹	21,0-97,3 с ⁻¹
Відразу після приготування	1,06	46,17	78,43
Через 6 міс.	1,06	45,15	79,12
Через 12 міс.	1,02	45,85	78,81
Через 18 міс.	1,11	46,1	76,6
Через 24 міс.	1,06	46,25	77,1
Через 27 міс.	1,11	46,3	76,9

Упродовж терміну зберігання та з метою вивчення екструзійних властивостей було розраховано коефіцієнт динамічного розрідження (Kd) гелю (табл. 4.9) [36]. З розрахованих даних випливає, що значення Kd варіюють від 78,43 до 76,6. Розраховані показники Kd характеризують задовільний ступінь розрідження при нанесенні гелю на шкіру зразу після виготовлення та у процесі зберігання [20].

Для встановлення терміну зберігання розробленого гелю використано класичний метод визначення стабільності з періодичним аналізом через кожні 6 місяців зразків, які розфасовані у туби по 30 г, що забезпечують герметичність у процесі тривалого зберігання.

Дослідження щодо визначення терміну придатності гелю “Кселиогель” було виконано при двох температурних режимах 2-8 °С (холодильник) та 15-25 °С (кімнатна температура) на 3-х серіях. Період спостереження складав 27 місяців, під час якого контролювали такі показники якості: зовнішній вигляд, колір, запах, ідентифікація амінокислот та кількісне визначення загального

білка, лідокаїну гідрохлориду та спирту фенілетилового, рН та середня масу вмісту туби.

Результати дослідження гелю “Кселіогель” представлені в додатку К (таблиця К.5). В результаті проведених випробувань було встановлено, що гелі, які зберігалися при температурі 2-8 °С, відповідають вимогам, що наведені у проекті МКЯ. Зразки гелів, які зберігалися впродовж 18 місяців при кімнатній температурі у захищеному від світла місці, не відповідають вимогам, запропонованим в проекті МКЯ для розробленого гелю, що свідчить про нестабільність гелю під час зберігання при кімнатній температурі.

Таким чином, вивчено стабільність розробленого гелю, а також встановлено термін і умови його зберігання та доведено, що він є стабільним при зберіганні за температури 2-8 °С у тубах по 30,0 г впродовж 24 місяців (додаток К, таблиця К.5).

Підбиваючи підсумки даного розділу, можна зробити такі висновки:

- досліджено 12 експериментальних зразків з метою вибору оптимальної основи гелеутворювача та його концентрації. Усі зразки оцінювали за органолептичними та фізико-хімічними показниками (динамічна в'язкість, рН, МС, площа намазуваності, ступінь вивільнення АФІ);
- за результатами мікробіологічних досліджень підтверджено ефективність антимікробних консервантів спирту фенілетилового в концентрації 0,4 % та бензалконію хлорид у концентрації 0,02 %;
- теоретично та експериментально обґрунтовано оптимальний склад гелю під умовною назвою “Кселіогель”: ВВ з ксенодерми – 10 %, лідокаїну гідрохлорид – 2 %, карбомер Carbopol® “Ultrez 21” – 1 %; трометамол – до рН 6,0, пропіленгліколь – 5 %, спирт фенілетиловий – 0,4 % і вода очищена – до 100,0;
- розроблено технологічну схему виробництва гелю “Кселіогель” та проведено постадійний контроль його якості;

- проведено дослідження якісного складу гелю “Кселиогель” методом ВЕРХ та ідентифіковано 16 амінокислот. Підтверджено наявність вказаних амінокислот у ланцюзі порошок ксенодерми – ВВ – гель;
- кількісним критерієм якості розробленого гелю за показником “Кількісне визначення загального білка” було запропоновано інтервал від 8,55 до 10,45 мг в одному грамі гелю;
- розроблено методику ідентифікації та кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду, кількісним критерієм якості розробленого гелю за показником “Кількісний вміст лідокаїну гідрохлориду” було запропоновано інтервал від 18,00 до 22,00 мг в одному грамі гелю;
- опрацьовано методику кількісного визначення вмісту консерванту спирту фенілетилового методом газової хроматографії, який повинен бути в межах від 3,6 мг до 4,4 мг в одному грамі гелю;
- розроблено технологію гелю “Кселиогель”, яку апробовано на базі АТ «Галичфарм» (акт апробації від 16 жовтня 2019 р.), запропоновано прект МКЯ;
- вивчено стабільність розробленого гелю “Кселиогель” у процесі зберігання, встановлено термін і умови зберігання.

Матеріали, що викладені в даному розділі, опубліковані в наукових працях автора [20, 23, 26, 28, 81, 199].

РОЗДІЛ 5

НАУКОВЕ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ГУБОК МЕДИЧНИХ НА ОСНОВІ ВОДНОГО ВИТЯГУ З КСЕНОДЕРМИ ТА З ХЛОРГЕКСИДИНУ ДИГЛЮКОНАТОМ

5.1 Вибір якісних факторів з метою розробки складу та технології губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом

При розробці складу та технології губок медичних використовували ВВ з ксенодерми, отриманий за технологією наведеною у розділі 3, хлоргексидину диглюконат та ДР, які відповідають вимогам ДФУ та вимогам наказу МОЗ України від 19.06.2007 року № 339. Вивченню підлягали 12 ДР, перелік яких наведено у додатку Г.

Як АФІ обрано хлоргексидину диглюконат, який належить до катіонактивних сполук та є одним із перших міжнародновизнаних лікувальних та профілактичних антисептиків для шкіри та ран. Хлоргексидину диглюконат широко використовують у гінекології, хірургії, урології, офтальмології, отоларингології та стоматологічній практиці [45]. Однією із переваг хлоргексидину, окрім його вираженої антимікробної дії, є його здатність зв'язуватися з різними біологічними субстратами та зберігати свою антибактеріальну активність у складі ЛЗ (механізм дії хлоргексидину диглюконату ґрунтується на здатності змінювати властивості клітинних мембран мікроорганізмів) [55]. Спектр протимікробної дії розповсюджується на бактерії, гриби роду *Candida*, оболонкові віруси, за тривалих експозицій – на мікобактерії та дерматофіти. Максимальна ефективність проявляється при значеннях рН від 5,5 до 7.

Тому, при виборі терапевтичної дози хлоргексидину диглюконату керувались даними щодо способу застосування та дозування даного АФІ в ЛЗ, зареєстрованих в Україні, а саме 20 % розчину-концентрату; 0,05 % розчину

для зовнішнього застосування; супозиторій вагінальних “Гексикон” з вмістом 0,016 г хлоргексидину; супозиторій вагінальних “Гексикон-Д” з вмістом 0,008 г хлоргексидину; гелю “Метрогіл-дента” та “Дента гель”, що містять 0,5 % хлоргексидину. Також він входить у комплекси до складу таких ЛЗ, як мазі “Бепантен плюс”, “Депантол”, супозиторії вагінальні “Депантол”, спрей “Лідокаїн-Асепт”, гелі “Інстіллагель” і “Катеджель”, таблетки “Гексорал табс”, “Анти-Ангін” та інші [45, 50].

Згідно з інструкціями до медичного застосування та огляду літературних джерел, хлоргексидин рекомендований до застосування у концентрації від 0,05 до 2 %. Відповідно, дозу хлоргексидину диглюконату на одну губку медичну було визначено 1 %.

При розробці складу губок медичних вивчено вплив ДР на фармако-технологічні показники губок за допомогою математичного планування експерименту з використанням латинського квадрату 4x4, що дозволило в 4 рази скоротити число дослідів [40].

Усі використовувані ДР та температурні режими приготування ВВ були згруповані в три основні групи (фактори): полімери (фактор А), пластифікатори (фактор В), температура приготування ВВ з ксенодерми (фактор С). Перелік ДР та значень температури (рівнів факторів), які вивчалися при розробці губок медичних, наведено в таблиці 5.1.

З метою розробки оптимального складу губок медичних на основі ВВ з ксенодерми та хлоргексидину диглюконату, використовуючи метод ліофілізації, було застосовано такі технологічні процеси: просіювання, зважування, розчинення, змішування, замороження в розчині рідкого азоту, сушіння, стерилізація. Модельні суміші готували таким чином: усі необхідні компоненти просіювали та зважували, полімери заливали необхідною кількістю води очищеної та залишали для набухання, після змішували з пластифікатором та при постійному перемішуванні частинами додавали ВВ з ксенодерми, який приготовлений при різних температурах (рівні фактора С) за технологією, описаною в розділі 3, та хлоргексидину диглюконат. Приготовлений розчин

переносили у металеві лотки та заморожували у розчині рідкого азоту, після чого висушували шляхом ліофілізації впродовж 18-20 год, використовуючи ліофілізаційну сушку. Дослідження проводили на базі ТОВ “Інститут біомедичних технологій”.

Таблиця 5.1 – Фактори та їх рівні, які вивчалися в процесі розробки губок медичних

Фактори	Рівні факторів
А – Полімер	a ₁ – желатин медичний a ₂ – гідроксипропілцелюлоза (ГПЦ) a ₃ – гідроксипропілметилцелюлоза-50 (ГПМЦ-50) a ₄ – метилцелюлоза-15 (МЦ-15)
В – Пластифікатор	b ₁ – твін-80 b ₂ – ПЕГ-400 b ₃ – гліцерин b ₄ – пропіленгліколь
С – Температура приготування ВВ (°С)	c ₁ – 20 °С c ₂ – 30 °С c ₃ – 40 °С c ₄ – 50 °С

При розробці складу губок кількість АФІ та ДР в одній губці медичній була наступною (г):

Хлоргексидину диглюконат		1,0
Полімер	(Фактор А)	3,0
Пластифікатор	(Фактор В)	0,3
ВВ з ксенодерми	(Фактор С)	70,0
Вода очищена		25,7

Матриця планування експерименту та результати дослідження фармако-технологічних характеристик губок медичних представлено у таблиці 5.2.

Таблиця 5.2 – Матриця планування експерименту та результати дослідження губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми

№ з/п	Фактори			Відгуки (показники)													
	A	B	C	y ₁	y ₁ '	y ₂	y ₂ '	y ₃	y ₃ '	y ₄	y ₄ '	y ₅	y ₅ '	y ₆	y ₆ '	D	D'
1	a ₁	b ₁	c ₁	6,5	6,8	5	5	962	950	4320	4380	0,5	0,6	0,12	0,18	0,147	0,189
2	a ₁	b ₂	c ₂	6,8	6,5	5	4	1179	1170	4200	4380	0,6	0,6	0,3	0,4	0,205	0,193
3	a ₁	b ₃	c ₄	6,3	6,5	5	4	671	665	3600	3720	0,6	0,7	2	2,5	0,12	0,121
4	a ₁	b ₄	c ₃	6,5	6,9	5	5	1344	1350	4380	4400	0,7	0,6	0,4	0,44	0,229	0,214
5	a ₂	b ₁	c ₂	7,6	7,4	4	3	401	405	60	90	0,4	0,4	2,53	3,02	0,0001	0,0001
6	a ₂	b ₂	c ₁	7,1	6,9	3	3	222	220	180	190	0,4	0,4	1,25	1,45	0,00002	0,00003
7	a ₂	b ₃	c ₃	6,4	6,5	5	4	526	521	600	720	0,4	0,4	0,42	0,48	0,0008	0,0009
8	a ₂	b ₄	c ₄	7,2	7,1	3	3	270	272	180	210	0,32	0,32	4,8	4,9	0,00004	0,00006
9	a ₃	b ₁	c ₃	7,5	7,25	5	4	785	790	540	600	0,7	0,7	6,53	6,55	0,007	0,007
10	a ₃	b ₂	c ₄	6,9	6,8	5	5	248	245	30	30	0,6	0,6	0	0,05	0	0
11	a ₃	b ₃	c ₁	7,1	7,5	5	5	328	325	30	45	0,6	0,6	1,01	1,07	0	0
12	a ₃	b ₄	c ₂	7	7,1	5	4	183	188	55	55	0,7	0,7	0,14	0,16	0,0002	0,0002
13	a ₄	b ₁	c ₄	6,5	7	4	4	177	175	3	5	0,6	0,6	2,45	2,55	0	0
14	a ₄	b ₂	c ₃	7,3	7,1	4	4	135	132	10	10	0,6	0,6	2	2,1	0	0
15	a ₄	b ₃	c ₂	6,6	6,7	1	1	83	85	10	10	0,3	0,3	1,75	1,95	0	0
16	a ₄	b ₄	c ₁	6,9	7,2	3	2	15	18	10	10	0,5	0,6	8,52	8,67	0	0

Примітка 1. y₁ і y₁' – рН губок першої і другої серії дослідів відповідно.

Примітка 2. y₂ і y₂' – зовнішній вигляд губок першої і другої серії дослідів відповідно, бал.

Примітка 3. y₃ і y₃' – вологопоглинання губок першої і другої серії дослідів відповідно, %.

Примітка 4. y₄ і y₄' – час повного розчинення губок першої і другої серії дослідів відповідно, хв.

Примітка 5. y₅ і y₅' – товщина губок першої і другої серії дослідів відповідно, см.

Примітка 6. y₆ і y₆' – втрата в масі першої і другої серії дослідів відповідно, %.

Примітка 7. **D** і **D'** – функція бажаності першої та другої серії дослідів відповідно

Результати досліджень підлягали дисперсійному аналізу за схемою латинського квадрату 4x4, кожену серію дослідів було реалізовано з двома повтореннями. Дисперсійний аналіз експериментальних значень відгуків наведений в додатку К (таблиця К.3).

При плануванні експерименту за методом латинського квадрату з повторними дослідями, результати представляються у вигляді лінійної моделі:

$$y_{ijkm} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \text{res} + \varepsilon_{ijkm}$$

де y_{ijkm} – експериментальний результат;

μ – генеральне середнє;

α_i – ефект фактора А;

β_j – ефект фактора В;

γ_k – ефект фактора С;

res – джерела дисперсії, які не передбачені лінійною моделлю;

ε_{ijkm} – залишок.

У випадках, коли експериментальне значення F-критерію Фішера було більшим від табличного, робили висновок про статистичну значущість фактора. Для значущих факторів будували діаграми та здійснювали обговорення одержаних результатів експерименту. Ранжовані ряди переваг будували для відображення впливу факторів на досліджувані показники. Якісні фактори розташовували у послідовності їх впливу на досліджуваний показник.

Дисперсійний аналіз одержаних результатів показав, що при наявності повторних дослідів полімери та пластифікатори істотно впливають на рН (y_1) губок медичних, вплив факторів можна проілюструвати наступним рядом переваг: А > В > res. Фактор С у даному випадку є статистично незначущим, зміна температури приготування ВВ з ксенодерми не впливає на значення рН одержаних губок медичних. Значення res вказує, що між рівнями вивчених факторів проявляється взаємодія. Вплив типу полімеру на рН губок медичних зображено на рисунку 5.1.

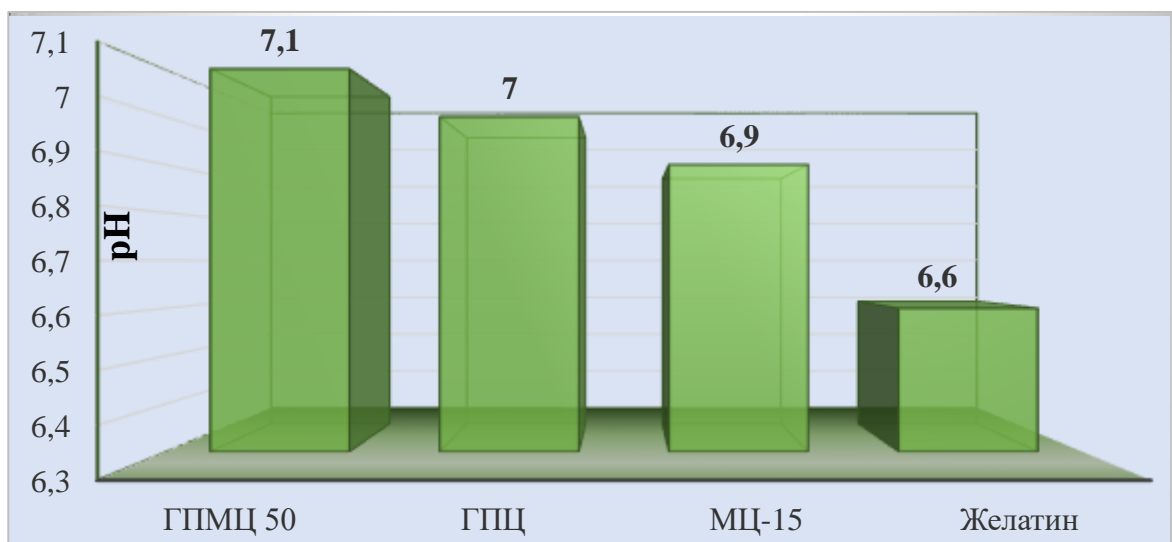


Рисунок 5.1 – Вплив полімеру на рН губок медичних

Найбільш суттєвий вплив на рН проявляє тип полімеру (фактор А), ряд переваг має такий вигляд: ГПМЦ 50 > ГПЦ > МЦ-15 > желатин.

Вплив фактора В (вид пластифікатора) на рН губок медичних можна зобразити таким ранжованим рядом переваг: твін-80 > пропіленгліколь > ПЕГ-400 > гліцерин.

Вплив факторів на зовнішній вигляд (y_2) структурованих губок оцінювали за п'ятибальною шкалою. При цьому використовували наступні критерії оцінювання:

- 5 балів – губки однорідні, м'які, з пористою структурою, пластичні та пухкі;
- 4 бали – губки структуровані, дещо неоднорідні, м'які, пластичні;
- 3 бали – губки структуровані, дещо неоднорідні, трохи тверді;
- 2 бали – губки структуровані, неоднорідні, тверді, дещо крихкі;
- 1 бал – губки неструктуровані, неоднорідні, тверді, ламкі.

Вивчення впливу досліджуваних факторів показало, що на зовнішній вигляд губок медичних впливають два із трьох вивчених факторів. Вплив факторів на досліджуваний показник має такий вигляд: А > С > res.

Вплив полімеру на зовнішній вигляд губок медичних представлений на рисунку 5.2.

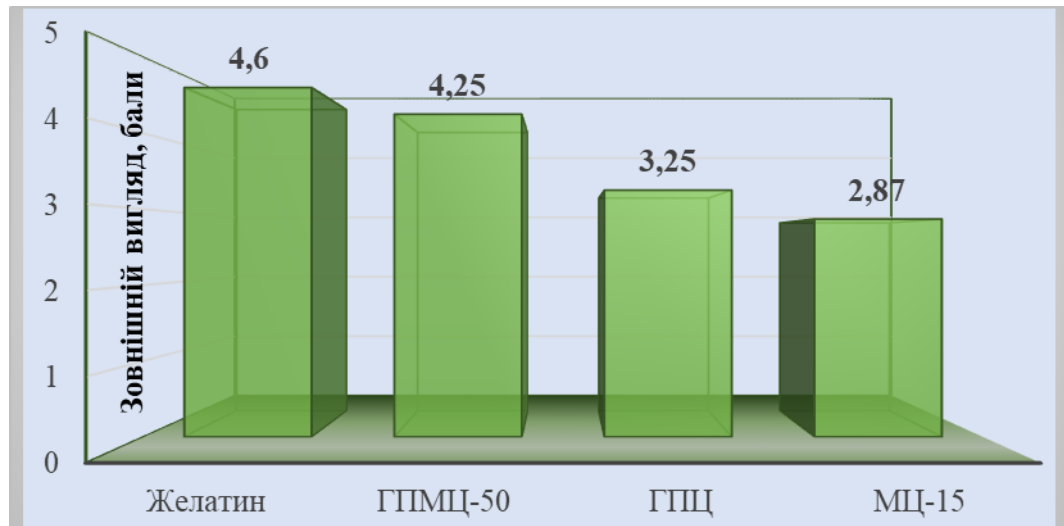


Рисунок 5.2 – Вплив полімеру на зовнішній вигляд губок медичних

Ранжований ряд переваг впливу полімеру на зовнішній вигляд губок медичних має такий вигляд: желатин медичний > ГПМЦ-50 > ГПЦ > МЦ-15.

Вплив температури приготування ВВ (фактор С) на зовнішній вигляд одержаних губок можна зобразити наступним чином: $40\text{ }^{\circ}\text{C} = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4,0) > $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (3,87) > $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (3,12).

Зовнішній вигляд губок, у технології яких використовували ВВ приготовлений при $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, був найкращий, оскільки вони були пористої структури, достатньо пухкі, м'які та пластичні.

Значення показника вологопоглинання (%) є важливою характеристикою губок медичних, яка дозволяє оцінити відсоток абсорбції, оскільки чим більше значення вологопоглинання (%), тим швидше та в більшій кількості губка поглинатиме ексудат (кров).

Вплив факторів на відсоток вологопоглинання (u_3) губок медичних має такий вигляд: $A > C > res > B$. Вплив типу полімеру на вологопоглинання губок медичних зображено на рисунку 5.3.

Найбільший відсоток вологопоглинання спостерігали при використанні желатину медичного (1036,4 %), який практично втричі перевищує значення даного показника для губок на основі ГПМЦ-50 (386,5 %) та ГПЦ (354,6 %), та в 10 разів більше ніж у губок на основі МЦ-15 (102,5 %).

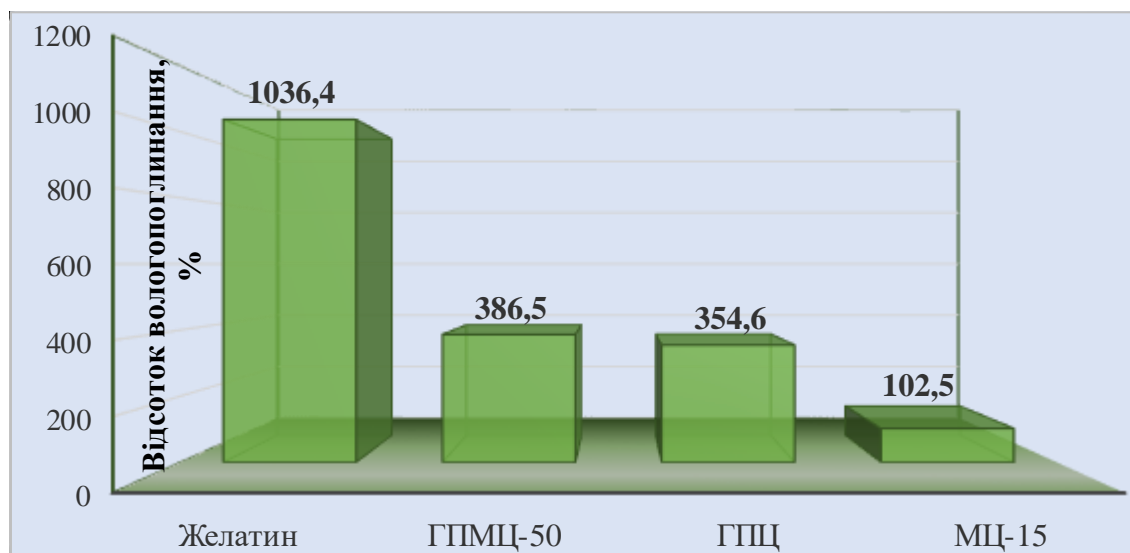


Рисунок 5.3 – Вплив полімеру на показник вологопоглинання

Вплив температури приготування ВВ з ксенодерми на вологопоглинання (%) можна представити таким ранжованим рядом переваг: 40 °С (697,8 %) > 30 °С (461,75 %) > 20 °С (380,0 %) > 50 °С (340,37 %).

Лідером серед пластифікаторів по впливу на показник вологопоглинання є твін-80, а ранжований ряд переваг виглядає наступним чином: твін-80 > пропіленгліколь > ПЕГ-400 > гліцерин.

Час повного розчинення губки є важливою характеристикою, яка дозволяє оцінити ефективність губки у процесі застосування. Вплив факторів на час розчинення (y_4) губок медичних можна проілюструвати таким чином: А > С > res > В. Найбільше на час розчинення губок впливає тип полімеру (рис. 5.4).

Ряд переваг рівнів фактору А має такий вигляд: желатин медичний > ГПЦ > ГПМЦ-50 > МЦ-15. Губки, розроблені на основі желатину медичного, зберігають свій каркас та не розчиняються впродовж 24 годин, час повного розчинення у симуляційному розчині складає 70 годин (орієнтовно 3 дні), що є перевагою над іншими досліджуваними полімерами.

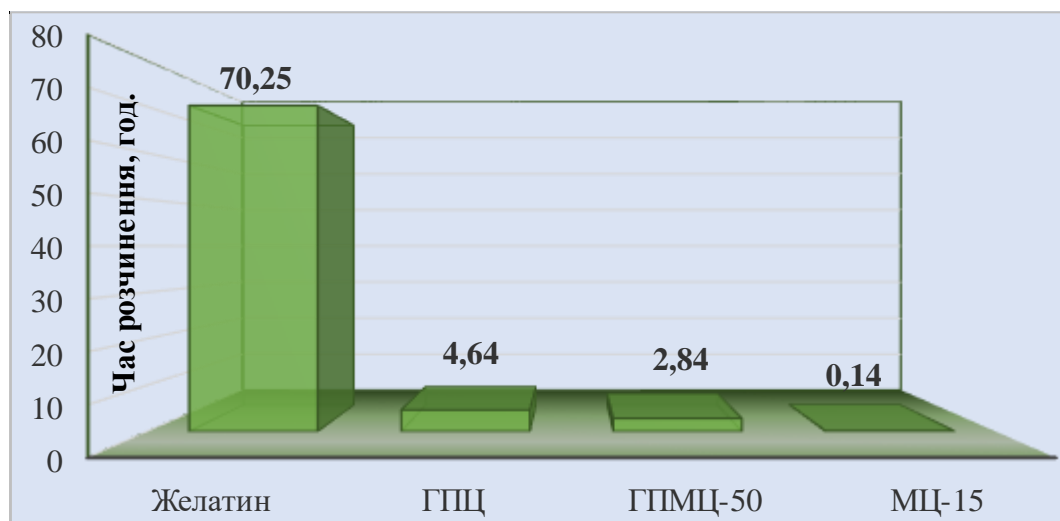


Рисунок 5.4 – Вплив полімеру на час розчинення губок (години)

Ранжований ряд впливу температури ВВ з ксенодерми (фактор С) на час розчинення губок має такий вигляд: 40 °С (24,16 год) > 20 °С (19,0 год) > 30 °С (18,41 год) > 50 °С (16,20 год).

Серед вивчених пластифікаторів (фактор В) ранжований ряд переваг має наступний вигляд: твін-80 (20,82 год) > пропіленгліколь (20,0 год) > ПЕГ-400 (18,8 год) > гліцерин (18,1 год).

Товщина губки є важливим показником якості, на який, у першу чергу, впливають ДР. Згідно огляду літератури та аналізу фармацевтичного ринку уже існуючих губок медичних, відомо, що чим більша товщина губки, тим більшу кількість пор вона вміщує. Таким чином, товщина губки прямопропорційно впливає на відсоток водопоглинання та час розчинення.

Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав, що на товщину губок впливають усі вивчені фактори. Їх вплив на даний показник можна проілюструвати таким рядом переваг: А > res > С > В.

Вплив фактора А – типу полімера на товщину губок є найбільш вагомим, найкраще значення даного показника забезпечує ГПМЦ-50 та желатин медичний (рис. 5.5), адже при їх використанні товщина губок складає 0,65 та 0,61 см відповідно. При використанні МЦ-15 та ГПЦ товщина складає 0,51 та 0,36 см відповідно.

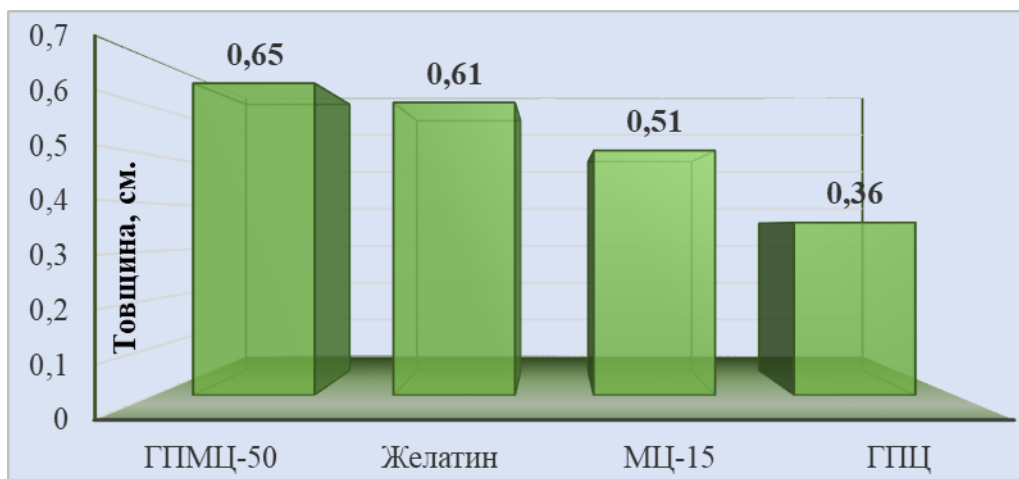


Рисунок 5.5 – Вплив полімеру на товщину губок

Вплив температури ВВ з ксенодерми на товщину губок можна представити таким рядом переваг: $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (0,58 см) $>$ $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (0,52 см) $=$ $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (0,52 см) $>$ $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (0,50 см), а тому можна зробити висновок, що зміна температури мало впливає на товщину губок.

Ранжований ряд впливу фактору В (пластифікаторів) на товщину губок має такий вигляд: твін-80 (0,56 см) $>$ пропіленгліколь (0,54 см) $>$ ПЕГ-400 (0,53 см) $>$ гліцерин (0,48 см).

Визначення відсотка втрати в масі при висушуванні є важливою характеристикою губок медичних. Даний показник дозволяє оцінити стан губок після ліофілізації, а саме наявність або відсутність внутрішньої (залишкової) вологи після ліофілізації, а також у процесі зберігання. При контакті із повітрям, або під час тривалого зберігання губок у негерметичній тарі, губки здатні поглинати вологу із зовнішнього середовища.

Вплив ДР на відсоток втрати в масі при висушуванні можна проілюструвати таким ранжованим рядом переваг: $B > A > res > C$.

Найбільш вагомим на даний показник є вплив фактору В – пластифікаторів (рис. 5.6).

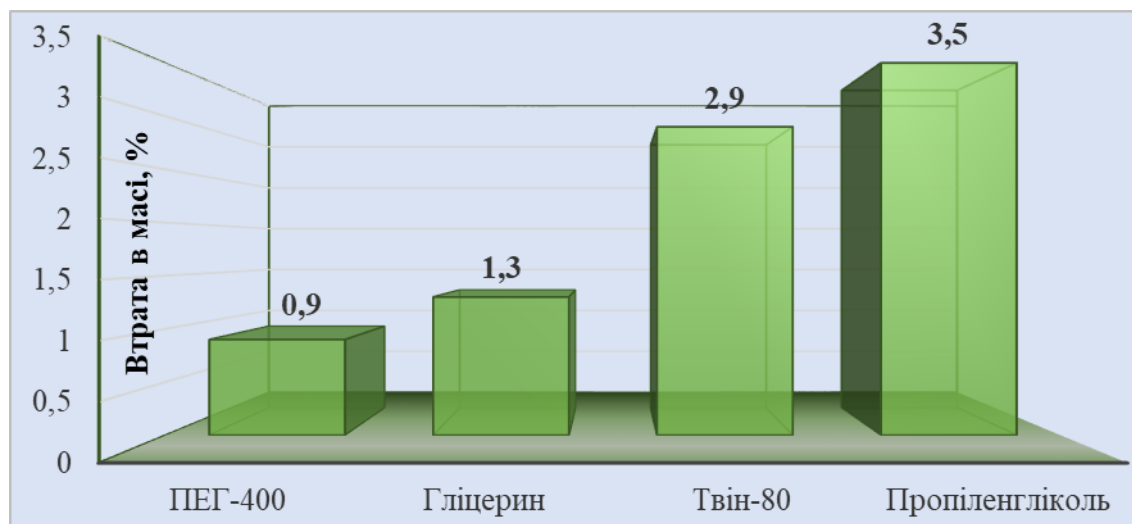


Рисунок 5.6 – Вплив пластифікаторів на втрату в масі

Серед вивчених пластифікаторів найнижчі значення досліджуваного фактора забезпечує ПЕГ-400 (0,9 %), який має перевагу над гліцерином (1,3 %), твіном-80 (2,9 %) та пропіленгліколем (3,5 %).

Щодо полімерів, то ранжований ряд має такий вигляд: желатин медичний (0,79 %) > ГПМЦ-50 (1,9 %) > ГПЦ (2,3 %) > МЦ-15 (3,7 %).

Вплив фактору С (температури приготування ВВ з ксенодерми) можна проілюструвати таким рядом: 30 °С (1,28 %) > 40 °С (2,36 %) > 50 °С (2,40 %) > 20 °С (2,8 %).

Результати проведених досліджень дозволили оцінити вплив ДР та температури, при якій готується ВВ, на фармако-технологічні показники якості губок медичних. Дані дослідження демонструють різні ряди переваг, що дещо ускладнює вибір оптимальних ДР для наступного етапу досліджень. Тому, нами було вирішено використати узагальнений показник – функцію бажаності (рис. 5.7). При цьому первинні результати вибраних відгуків переводили у безрозмірні значення за допомогою функції та розраховували узагальнений показник **D**.

Результати, отримані за допомогою функції бажаності, наведені в таблиці 5.2 (графи **D** та **D'**), результати дисперсійного аналізу – в таблиці додатку К.

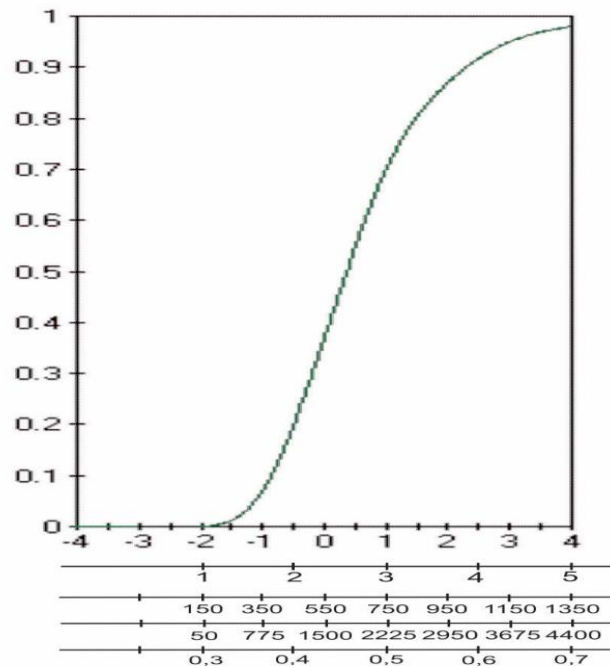


Рисунок 5.7 – Функція бажаності для властивостей (зовнішній вигляд губок (y_2), вологопоглинання губок (y_3), час повного розчинення губок (y_4), товщина губок (y_5))

Дисперсійний аналіз результатів показав, що вплив факторів на функцію бажаності можна розмістити в такій послідовності: $A > C > B > res$. Порівняння рівнів фактора A показало, що найкращий результат функції бажаності отримано при використанні желатину як полімеру (рис. 5.8).

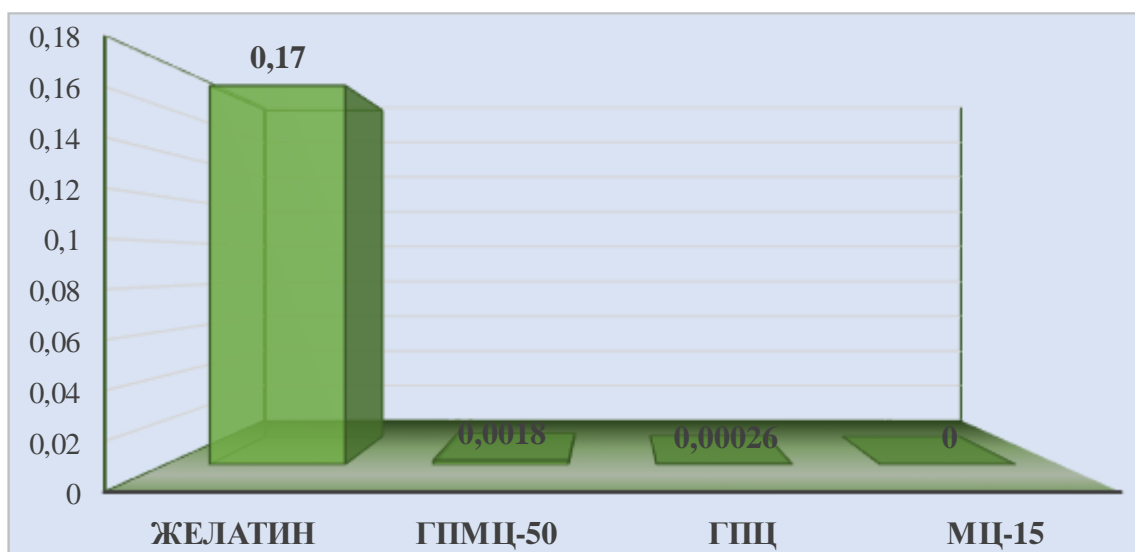


Рисунок 5.8 – Вплив виду полімеру на функцію бажаності

За впливом на функцію бажаності значення температур, при яких приготований ВВ, можна розмістити наступним чином: $c_3 > c_2 > c_1 > c_4$. Таким чином, 40 °С є найбільш оптимальною температурою для приготування ВВ з ксенодерми (рис. 5.9).

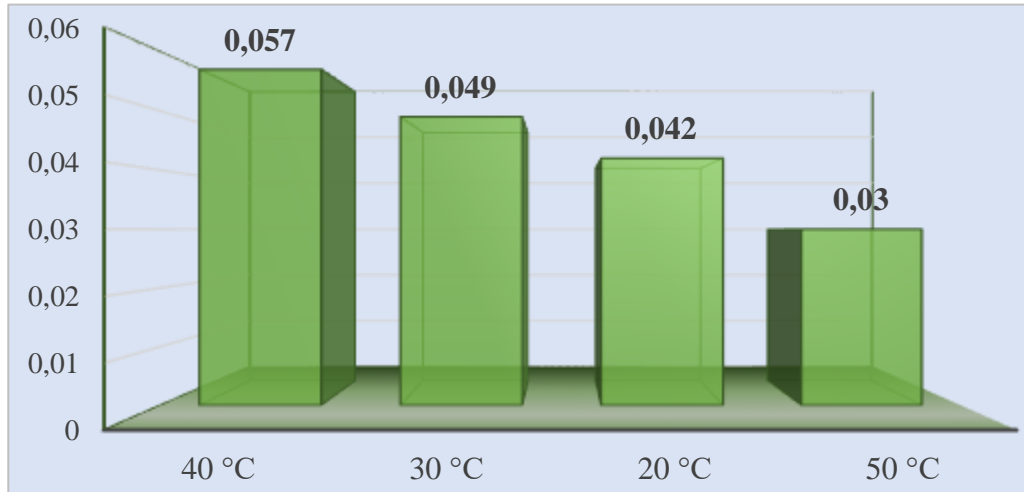


Рисунок 5.9 – Вплив температури приготування ВВ з ксенодерми на функцію бажаності

З-поміж досліджених пластифікаторів найкращі значення функції бажаності губок забезпечує використання пропіленгліколю (рис. 5.10). Ранжований ряд переваг фактора В має такий вигляд: $b_4 > b_2 > b_1 > b_3$.

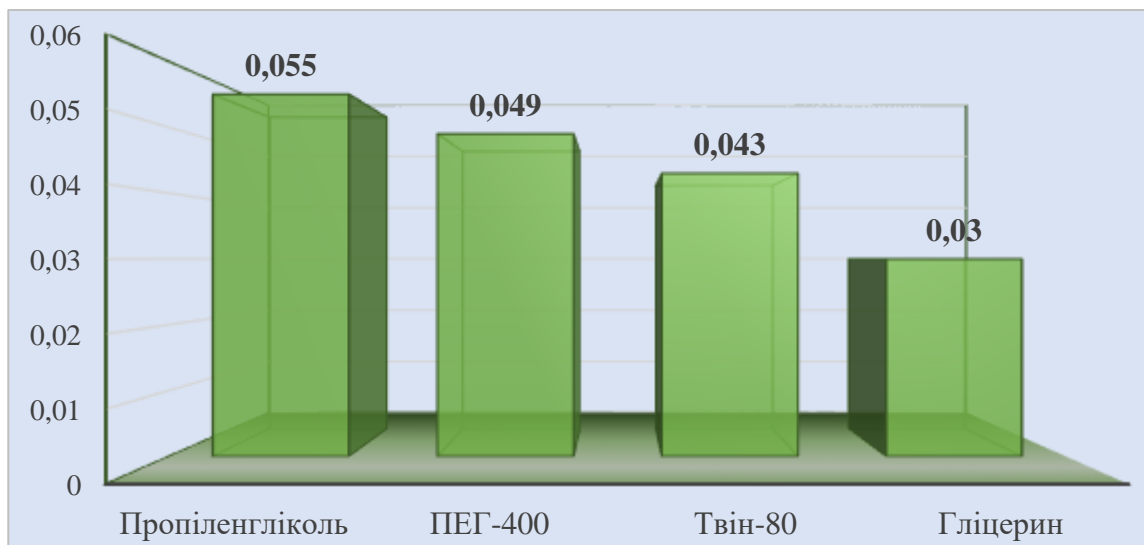


Рисунок 5.10 – Вплив пластифікаторів на функцію бажаності

На основі одержаних результатів отримано оптимальне поєднання рівнів факторів – желатин, пропіленгліколь та приготування ВВ з ксенодерми при 40 °С, використання яких дозволяє отримати губки з найкращими показниками якості. Вищеперелічені ДР відібрано для наступного етапу досліджень із метою розробки оптимального складу губок медичних на основі ВВ з ксенодерми з хлоргексидину диглюконатом.

5.2 Розробка оптимального складу та технології губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом

На основі попередньо проведеного аналізу літературних джерел встановлено, що для отримання губок медичних використовують два методи “зшивання” желатину. Фізичне “зшивання” желатинових губок здійснюється термічним нагріванням та під дією ультрафіолетового опромінення. Для хімічного “зшивання” желатину використовують альдегіди (формальдегід, глутаровий альдегід), водорозчинні карбодііміди, діпоксидні сполуки, діізоціанати [126, 160]. Ці агенти утворюють амідні містки в межах амінокислот, наявних у желатині, та покращують структуру, стабільність та пористість губок. Тому нами було вирішено ввести до складу губок як “зшивальний” агент формальдегід.

З метою вивчення впливу кількісних факторів на фармако-технологічні показники губок медичних обрано три ДР, а саме: желатин медичний, пропіленгліколь та формальдегід.

Перелік кількісних факторів та їх рівнів, які вивчалися при розробці оптимального складу та технології губок медичних, наведено в таблиці 5.3.

Вивчення обраних факторів проводили з використанням симетричного ротатабельного композиційного плану другого порядку (central composite circumscribed (ССС)). Величина зіркового плеча для даного плану складає 1,682. Зіркова точка розраховується множенням інтервалу варіювання на значення зіркового плеча. Для одержання верхньої зіркової точки (“+ α ”)

величину зіркового плеча додавали до основного рівня, а при відніманні було отримано нижню зіркову точку (“ $-\alpha$ ”).

Таблиця 5.3 – Фактори, що вивчалися при розробці оптимального складу губки медичної на основі ВВ з ксенодерми

Фактори	Інтервал варіювання	Рівні факторів (%)				
		Нижня зіркова точка “ $-\alpha$ ”	Нижній “ $-$ ”	Основний “0”	Верхній “ $+$ ”	Верхня зіркова точка “ $+\alpha$ ”
x_1 – кількість желатину медичного, %	1,0	0,32	1,0	2,0	3,0	3,68
x_2 – кількість пропіленгліколю, %	0,5	0,16	0,5	1,0	1,5	1,84
x_3 – кількість формальдегіду, %	0,04	0,008	0,035	0,075	0,115	0,142

При розробці оптимального складу губок медичних їх контролювали за шістьма відгуками (показниками): рН губки під час деградації, відсоток вологопоглинання, ступінь деградації, зовнішній вигляд, товщина та час повного розчинення губок.

Матриця планування даного експерименту та результати вивчення характеристик губок медичних на ВВ з ксенодерми та з 1 % хлоргексидину диглюконатом наведені в таблиці 5.4, та у додатку К (таблиця К.4).

При вивченні трьох факторів модель другого порядку має вигляд:

$$y = b_0x_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2$$

Статистичну значущість коефіцієнтів і адекватність моделей перевіряли за допомогою F-критерію ($F_{\text{експ.}} < F_{\text{табл.}}$). За величинами і знаками коефіцієнтів регресії визначали характер впливу вивчених факторів.

Таблиця 5.4 – Матриця планування експерименту та результати вивчення характеристик губок медичних на основі витягу з ксенодерми

№	Фактори			Відгуки (показники)					
	x ₁	x ₂	x ₃	y ₁	y ₂	y ₃	y ₄	y ₅	y ₆
1	+	+	+	6,8	2300	26	5	0,9	89
2	-	+	+	6,6	2400	62	4	0,9	31
3	+	-	+	6,5	2200	26	5	0,8	92
4	-	-	+	6,8	2400	63	5	0,9	38
5	+	+	-	6,6	2700	26	4	0,7	92
6	-	+	-	6,5	2750	68	5	0,6	45
7	+	-	-	6,6	2400	31	4	0,9	77
8	-	-	-	6,7	2300	69	5	0,9	35
9	+L	0	0	6,7	2600	26	4	0,6	109
10	-L	0	0	6,6	2000	96	4	0,6	25
11	0	+L	0	6,8	2850	52	5	0,9	49
12	0	-L	0	6,6	2850	48	5	0,9	50
13	0	0	+L	6,9	1980	41	4	1,3	59
14	0	0	-L	6,4	2800	49	4	0,8	54
15	0	0	0	6,6	3000	51	5	0,9	47
16	0	0	0	6,6	2800	47	5	0,8	51
17	0	0	0	6,7	2900	48	4	0,8	50
18	0	0	0	6,6	3100	49	5	0,9	49
19	0	0	0	6,7	3200	48	5	0,7	50
20	0	0	0	6,8	3150	47	5	0,8	51
Примітка 1. y ₁ – рН губок під час деградації. Примітка 2. y ₂ – відсоток вологопоглиння губок, %. Примітка 3. y ₃ – ступінь деградації губок, %.				Примітка 4. y ₄ – зовнішній вигляд губок, бал. Примітка 5. y ₅ – товщина губок, см. Примітка 6. y ₆ – час повного розчинення губок, год.					

Взаємозв'язок між вивченими факторами на рН губок медичних описується наступним рівнянням регресії:

$$y_1 = 6,65 + 0,083x_3 + 0,09x_1x_2 \quad (\text{Фексп.} = 1,03)$$

У дане та інші нижченаведені рівняння регресії включені тільки статистично значущі коефіцієнти. Із рівняння регресії проявляється статистична значущість x_3 (кількість формальдегіду), а також взаємодія факторів x_1 та x_2 (вміст желатину та пропіленгліколю). Статистично незначущими в рівнянні регресії виявилися коефіцієнти $b_1, b_2, b_{13}, b_{23}, b_{11}, b_{22}, b_{33}$.

Для значимих коефіцієнтів парних взаємодій інтерпретацію рівняння регресії проводять за допомогою графіку. Вплив кількості формальдегіду на рН губок медичних, яке вивчалось під час деградації губок, наведено на рисунку 5.11

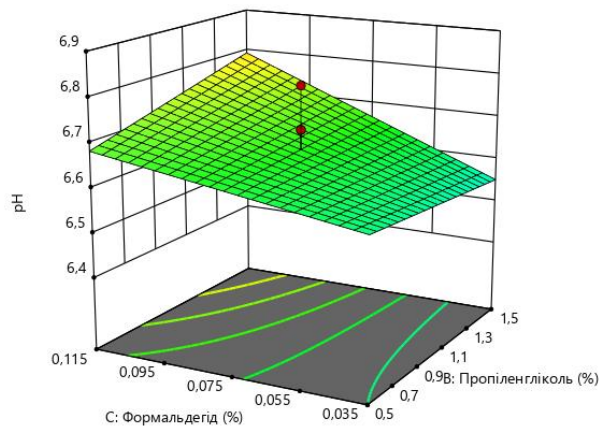


Рисунок 5.11 – Вплив формальдегіду на рН губок під час деградації

При збільшенні кількості формальдегіду в складі губок підвищується значення рН.

Взаємозв'язок між вивченими факторами і відсотком вологопоглинання губок на основі ВВ з ксенодерми описується наступним рівнянням регресії:

$$y_2 = 3026,65 - 163,22x_3 - 267,09x_1^2 - 235,28x_3^2 \quad (\text{Фексп.} = 1,14)$$

Найбільш значущим фактором, що впливає на вологопоглинання, є фактор x_3 – кількість формальдегіду. Статистично незначущими в рівнянні регресії виявилися коефіцієнти $b_1, b_2, b_{12}, b_{13}, b_{23}, b_{34}, b_{22}$.

Вплив кількості формальдегіду на відсоток вологопоглинання у складі губок медичних наведено на рисунку 5.12.

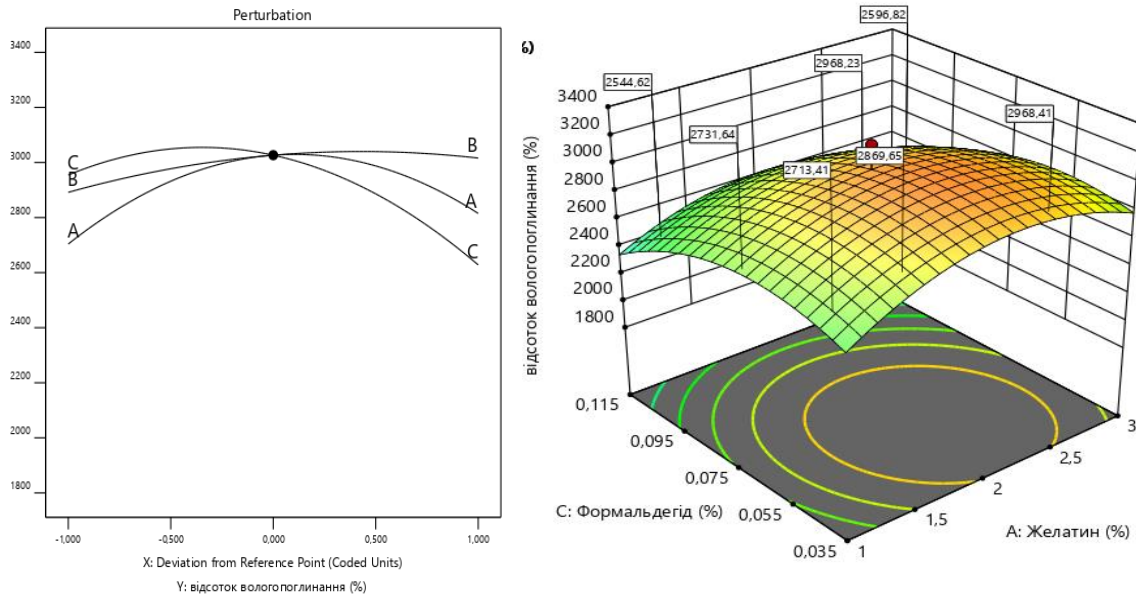


Рисунок 5.12 – Вплив кількості формальдегіду на вологопоглинання

В результаті аналізу встановлено один тип залежності відсотка вологопоглинання від кількості формальдегіду, оскільки при збільшенні кількості формальдегіду до 0,075 % підвищується відсоток вологопоглинання, а подальше збільшення його кількості до 0,115 % призводить до негативного результату.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та ступенем деградації губок медичних, після виключення незначущих коефіцієнтів, описується таким рівнянням регресії:

$$y_3 = 48,52 - 19,82x_1 - 2,23x_3 + 3,24x_1^2 - 2,41x_3^2 \quad (F_{\text{експ.}} = 4,64)$$

Як показують значення коефіцієнтів, найбільш значущими факторами, які впливають на відсоток деградації виявився фактор x_1 – кількість желатину медичного та x_3 – кількість формальдегіду. Статистично незначущими в рівнянні регресії виявилися коефіцієнти b_2 , b_{12} , b_{13} , b_{14} , b_{23} , b_{22} .

Вплив кількості желатину медичного та формальдегіду на ступінь деградації губок медичних наведено на рисунку 5.13.

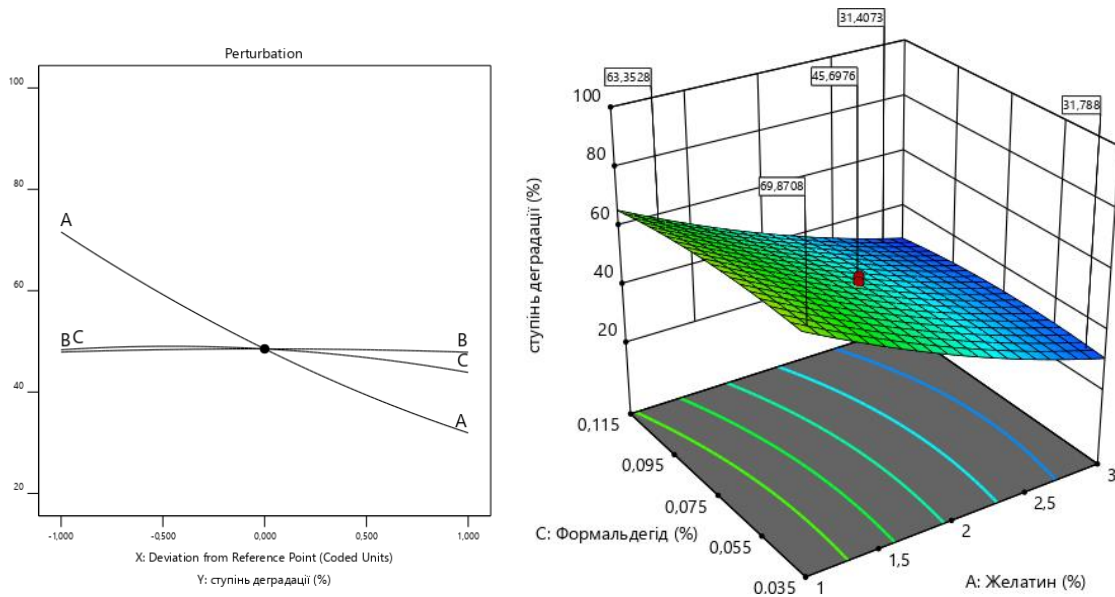


Рисунок 5.13 – Вплив желатину та формальдегіду на ступінь деградації

В результаті аналізу встановлено типи залежності ступеня деградації губок від вивчених факторів (x_1 , x_3), які вказують на те, що із збільшенням кількості желатину до 3 % ступінь деградації зменшується, а тому, губки довший час не розчинятимуться. Концентрація желатину медичного прямопропорційно впливає на ступінь деградації, а саме, від 26 % при верхній “зірковій” точці до 96 % при нижній “зірковій” точці. Щодо впливу формальдегіду, то він в меншій мірі, ніж желатин медичний впливає на ступінь деградації, але із збільшенням кількості формальдегіду до 0,115 ступінь деградації зменшується.

Вплив факторів на зовнішній вигляд (y_4) структурованих губок оцінювали за п’ятибальною шкалою, як і під час виконання дисперсійного аналізу. При цьому рівняння регресії має наступний вигляд:

$$y_4 = 4,8 \quad (F_{\text{експ.}} = 0,76)$$

Таким чином, ми можемо охарактеризувати, що $F_{\text{експ}}$ адекватно відтворює вплив, жоден із досліджуваних факторів у межах вивчених інтервалів не впливає на зовнішній вигляд розроблених губок медичних.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та товщиною губок медичних, після виключення незначущих коефіцієнтів, описується наступним рівнянням регресії:

$$y_5 = 0,82 + 0,09x_3 + 0,07x_2x_3 - 0,08x_1^2 + 0,07x_3^2 \quad (F_{\text{експ.}} = 0,90)$$

Як показують значення коефіцієнтів, найбільш значущим фактором, що впливає на відсоток деградації є фактор x_3 – кількість формальдегіду. Статистично незначущими в рівнянні регресії виявилися такі коефіцієнти: b_1 , b_2 , b_{12} , b_{13} , b_{14} , b_{23} , b_{22} . Вплив кількості формальдегіду на товщину губок медичних наведено на рисунку 5.14.

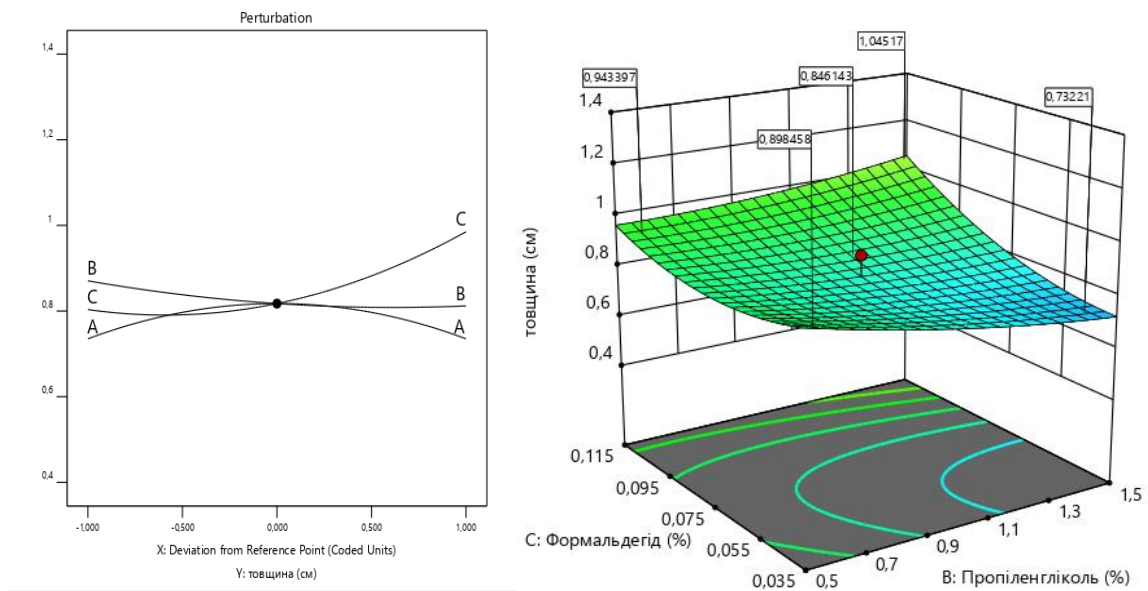


Рисунок 5.14 – Вплив кількості формальдегіду на товщину губок

В результаті аналізу, встановлено тип залежності товщини губок від кількості формальдегіду, яка вказує на те, що із збільшенням кількості формальдегіду (x_3) до верхньої “зіркової” точки товщина губок зростає, що призводить до збільшення пористості желатину медичного та до утворення губок з порами більшого розміру. Таким чином, концентрація формальдегіду впливає на товщину губок медичних, а саме, при збільшенні концентрації від 0,075 % до 0,142 % товщина губок зростає.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та часом повного розчинення губок медичних, після виключення незначущих коефіцієнтів, описується таким рівнянням регресії:

$$y_6 = 49,53 + 25,06x_1 + 2,87x_1x_3 - 4,37x_2x_3 + 7,01x_1^2 + 3,30x_3^2 \quad (\text{Fексп.} = 3,06)$$

Фактором, що найбільше впливає на час повного розчинення, є кількість желатину медичного (фактор x_1). Статистично незначущими в даному рівнянні регресії виявилися коефіцієнти b_2 , b_3 , b_{12} , b_{22} . Вплив кількості желатину медичного у складі губок медичних на час повного розчинення наведено на рисунку 5.15.

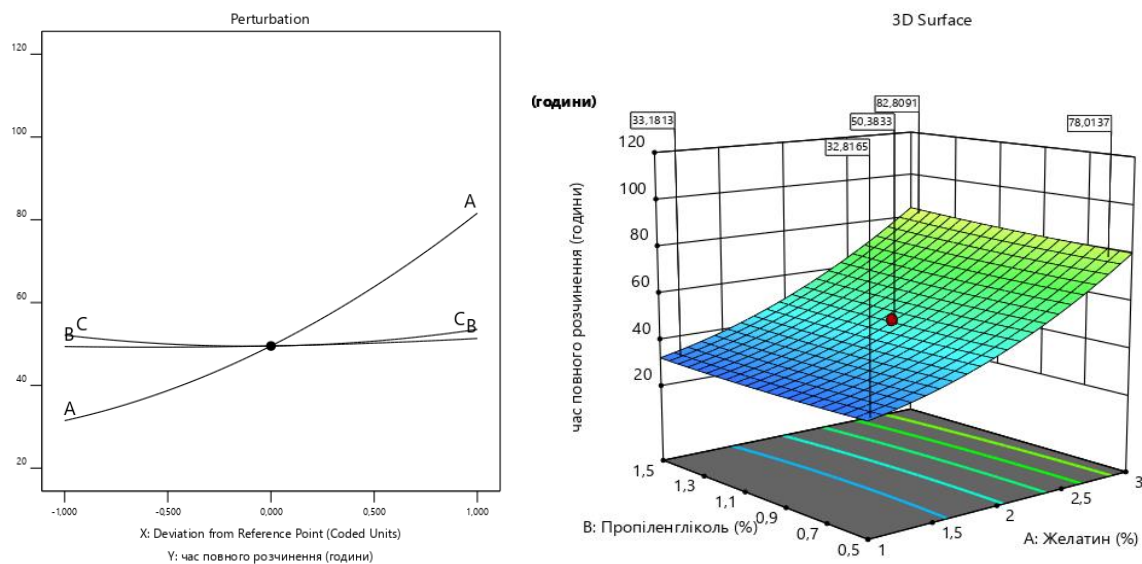


Рисунок 5.15 – Вплив желатину медичного на час повного розчинення.

В результаті аналізу встановлено тип залежності часу розчинення губок від вмісту фактора x_1 , що вказує на те, що зменшення кількості желатину медичного до 0,32 % пришвидшує розчинення губок, а подальше збільшення концентрації зумовлює повільне, поетапне розчинення.

На основі отриманих результатів статистичної обробки експериментальних даних та з одержаних рівнянь регресії по вивченню впливу рівнів факторів на характеристики губок медичних, а також на основі отриманих фармако-технологічних показників якості, визначено оптимальний

склад з використанням програми Design-Expert 12.0. для трьох досліджуваних факторів. Результати дослідження представлені на рисунку 5.16.

Оптимальний склад губок медичних був обраний на основі обмежень фармако-технологічних показників, встановлених для незалежних змінних: y_1 (6,6 – 6,9), y_2 (2800 – 3100 %), y_3 (45 – 55 %), y_5 (0,8 – 0,9 см) та y_6 (46 – 50 год) (рис. 5.16).

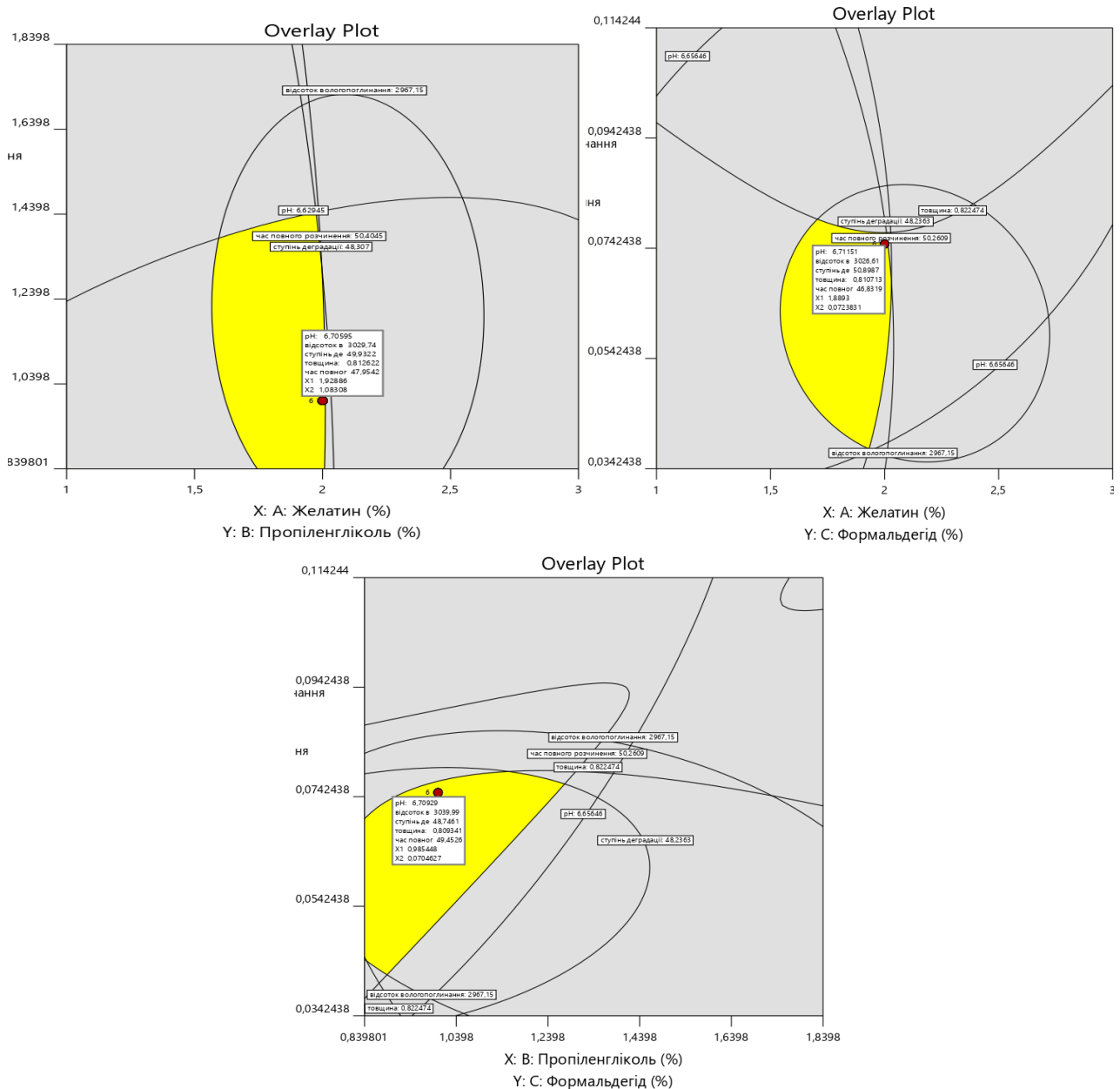


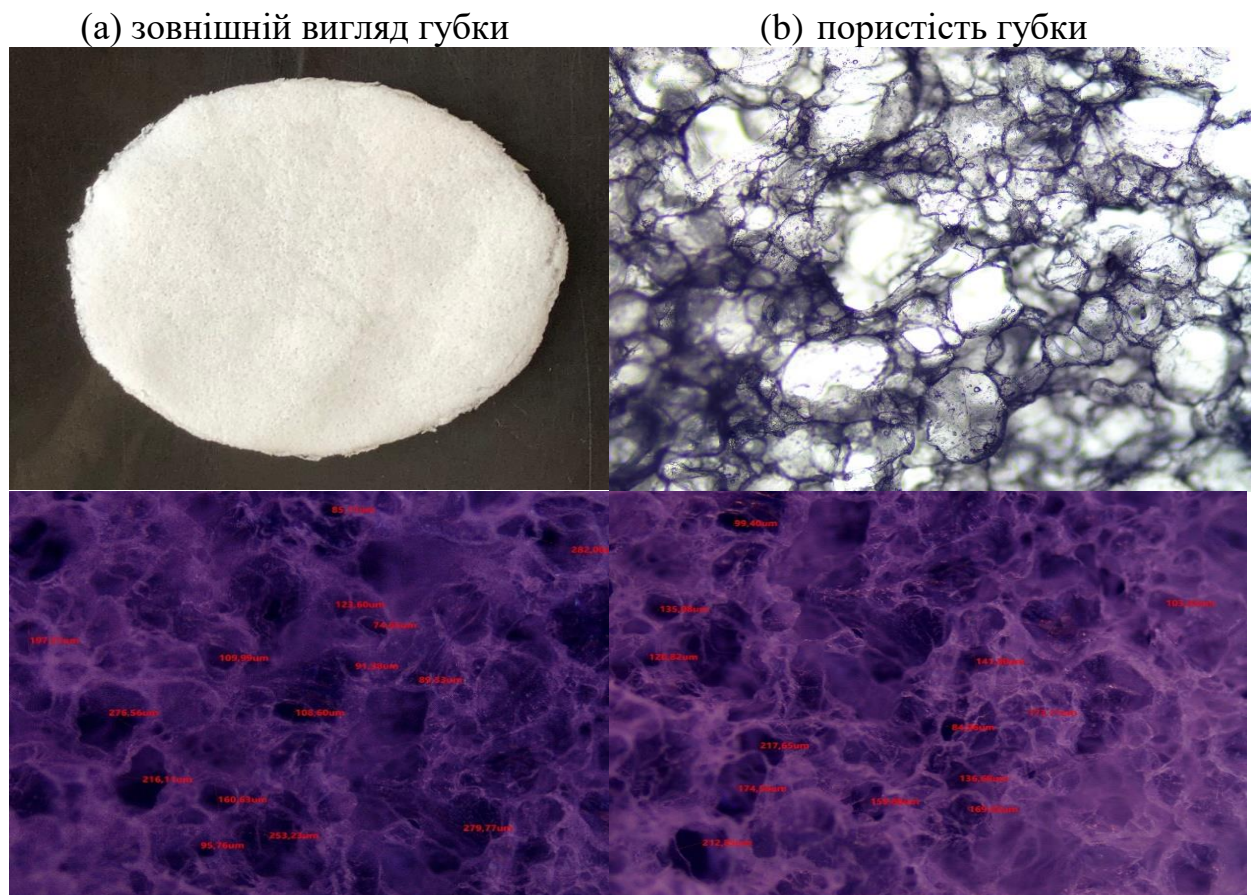
Рисунок 5.16 – Взаємодія факторів та їх рівнів при визначенні оптимального складу губок медичних

Виходячи з отриманих результатів, запропоновано оптимальний склад губок медичних на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом,

одержаних методом ліофілізації.

Хлоргексидину диглюконат	1,0
Водний витяг з ксенодерми	до 100,0
Желатин медичний	2,0
Формальдегід	0,07
Пропіленгліколь	1,0

Розроблені губки проаналізовано за фармако-технологічними характеристиками до та після їх стерилізації. Згідно огляду літературних джерел, додатковою характеристикою якості губок медичних обрано розмір пор, що прямопропорційно впливають на відсоток вологопоглинання, зовнішній вигляд яких зображено на рисунку 5.17.



(а) зовнішній вигляд губки
Розмір пор від 85 мкм до 280 мкм

(б) пористість губки
Розмір пор від 80 мкм до 270 мкм

Рисунок 5.17 – Мікрофотознімки зовнішнього вигляду губок медичних з використанням мікроскопа Nikon Eclipse CI-E

Вважається, що пори розміром в діапазоні від 60 мкм до 200 мкм є оптимальними для губок, оскільки забезпечують максимальний контакт з пошкодженою поверхнею тканин та проявляють високий відсоток вологопоглинання.

Оптимальний склад і технологія губок медичних апробовано в умовах ТОВ “Інститут біомедичних технологій” (акт апробації від 19 грудня 2019р., наведений в додатку М.3-М.4). Результати оцінки показників якості губок медичних на основі ВВ з ксенодерми у процесі зберігання наведені у додатку К (таблиця К.6).

5.3 Розробка методик аналізу активних фармацевтичних інгредієнтів у губках медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом

5.3.1 Ідентифікація амінокислот у губках медичних

Для підтвердження наявності активних речовин ВВ у складі губок запропоновано ідентифікацію амінокислот методом ВЕРХ. Наявність амінокислот підтверджували шляхом порівняння часів утримування піків відповідних речовин на хроматограмі випробовуваного розчину (рис. 5.18) та на хроматограмі розчину порівняння (рис. 3.9).

Відповідна методика визначення амінокислот в губках на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом методом ВЕРХ наведена в додатку Е. Результати вивчення амінокислотного складу наведені в таблиці 5.5.

В результаті проведених випробувань у губках медичних ідентифіковано 16 амінокислот, зокрема, 6 замісних (серин, гліцин, аланін, пролін, глютамінова та аспарагінова кислоти), 2 умовнозамісних (аргінін, тирозин) та 8 незамісних (гістидин, треонін, валін, метіонін, фенілаланін, лізин, лейцин та ізолейцин) амінокислот (рис. 5.18).

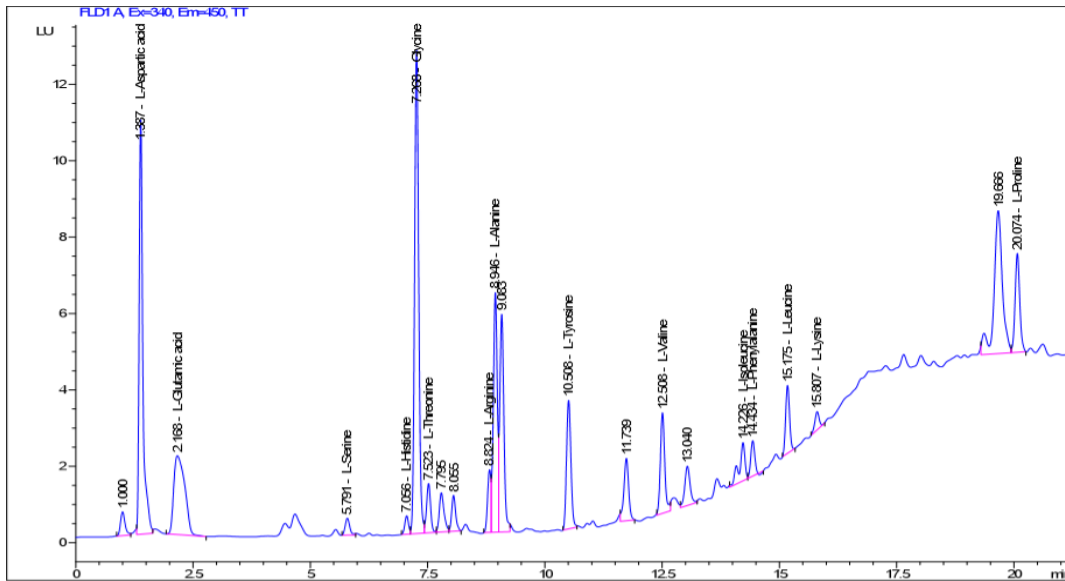


Рисунок 5.18 – Хроматограма загальних амінокислот, отримана методом ВЕРХ, у губках медичних

Таблиця 5.5 – Результати ідентифікації загальних амінокислот методом ВЕРХ в губках медичних (m=5, P<0,05)

Назва амінокислоти	Губка медична
	Час утримування, хв
Аспарагінова кислота	1,387
Глутамінова кислота	2,168
Серин	5,791
Гістидин	7,056
Гліцин	7,268
Треонін	7,523
Аргінін	8,824
Аланін	8,946
Тирозин	10,508
Валін	12,508
Метіонін	12,729
Фенілаланін	14,226
Ізолейцин	14,434
Лейцин	15,175
Лізін	15,807
Пролін	20,074

Як видно з отриманих результатів досліджень, усі ідентифіковані 16 амінокислот у губках підверджують відповідність амінокислотного складу в ланцюзі порошок ксенодерми – ВВ – губка медична.

Враховуючи те, що в порошку ксенодерми, ВВ на його основі домінуючими за кількісним вмістом були глютамінова кислота, гліцин та валін, тому нами було запропоновано контролювати наявність амінокислот у складі губок медичних за ідентифікацією гліцину, валіну та глютамінової кислоти.

5.3.2 Ідентифікація та кількісне визначення хлоргексидину диглюконату в губках медичних

Субстанція хлоргексидину диглюконату не описана у ДФУ, проте монографії на хлоргексидину діацетат та хлоргексидину дихлорид є у Європейській та Американській Фармакопеях, відповідно до яких, для їх ідентифікації запропоновано використовувати абсорційну спектрофотометрію в ІЧ-області, а також якісні кольорові та осадові реакції, а для кількісного визначення запропоновано метод рідинної хроматографії з спектрофотометричним детектуванням [131]. Зокрема, для розробки методики кількісного визначення даного АФІ у складі вагінальних супозиторій авторами [89] використано метод ВЕРХ. У літературних джералах наведено приклади використання інших методів (титриметричних, фізико-хімічних) для кількісного визначення хлоргексидину диглюконату у різних ЛФ, зокрема використання капілярного електрофорезу для кількісного визначення хлоргексидину диглюконату в 0,05 % його розчині, спектрофотометричну методику для ідентифікації та визначення кількісного вмісту хлоргексидину у стоматологічних лікарських плівках, титриметричні методики для визначення даного АФІ в розчині та стоматологічному гелі [7, 44, 118, 181].

Для ідентифікації та кількісного визначення хлоргексидину диглюконату у розроблених губках медичних запропоновано метод ВЕРХ, який є селективним та прецизійним методом аналізу.

Дослідження проводили на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, США) з діодно-матричним детектором, підібравши попередньо відповідні умови хроматографування та пробопідготовки.

Ідентифікацію хлоргексидину проводили за абсолютним часом утримування (5,4 хв), відповідна хроматограма наведена на рисунку 5.19.

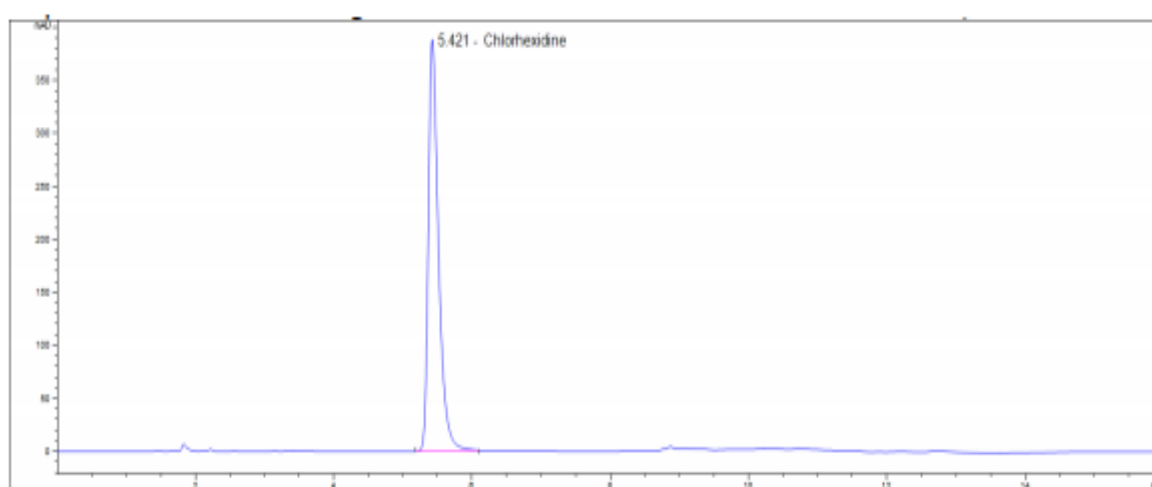


Рисунок 5.19 – Хроматограма випробовуваного розчину в умовах кількісного визначення хлоргексидину диглюконату в губках медичних

Методика кількісного визначення хлоргексидину диглюконату у губці медичній

Метод А. Метод градуувального графіка.

Випробовуваний розчин. 0,25 г (т.н.) порошку подрібненої губки поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 25 мл метанолу Р, 10 мл рухомої фази А, перемішують та витримують в ультразвуковій бані при температурі 25 °С впродовж 10 хв; доводять об'єм у колбі до позначки рухомою фазою А і перемішують. 10 мл отриманої суспензії поміщають у центрифужну пробірку і центрифугують при 5000 об./хв впродовж 10

хвилин, надосадову рідину фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,20 мкм у віалу.

Вихідний стандартний розчин хлоргексидину. 9 мг (т.н., еквівалентно 12,92 мг хлоргексидину диглюконату) С3 хлоргексидину ацетату (Pharmaceutical Secondary Standard, Supelco) поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 10 мл *метанолу Р*, 5 мл рухомої фази А, перемішують і витримують в ультразвуковій бані при температурі 25 °С 10 хв, доводять об'єм у колбі рухомою фазою А до позначки і перемішують.

Градувальні розчини. У мірні колби місткістю 25 мл послідовно поміщають 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 мл вихідного стандартного розчину хлоргексидину і доводять об'єм розчинів у колбах до позначки сумішшю *метанолу Р* і рухомої фази А (3:2), перемішують.

Метод В. Метод стандарту

Випробовуваний розчин. 1,35 г (т.н.) порошку подрібненої губки поміщають у мірну колбу місткістю 250 мл, додають 125 мл *метанолу Р*, 50 мл рухомої фази А, перемішують та витримують в ультразвуковій бані при температурі 25 °С впродовж 10 хв; доводять об'єм у колбі до позначки рухомою фазою А, перемішують. 10 мл отриманої суспензії поміщають у центрифужну пробірку і центрифугують при 5000 об/хв впродовж 10 хв, надосадову рідину фільтрують через мембранний фільтр з розміром пор 0,22 мкм у віалу.

Розчин порівняння. 10 мг (т.н. еквівалентно 14,35 мг хлоргексидину диглюконату) С3 хлоргексидину ацетату (Pharmaceutical Secondary Standard, Supelco) поміщають у мірну колбу місткістю 250 мл, додають 125 мл *метанолу Р* та 100 мл рухомої фази А, перемішують і витримують в ультразвуковій бані при температурі 25 °С 10 хв, доводять об'єм у колбі рухомою фазою В до позначки, перемішують.

Для хроматографування розчин фільтрують через мембранний фільтр із розміром пор 0,20 мкм у віалу.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором при таких умовах:

- рухома фаза А: 27,6 г натрію дигідрофосфату одноосновного моногідрату Р і 10 мл триетиламіну Р розчиняють у 1500 мл води для хроматографії Р, доводять кислотою фосфорною Р та рН до 3,0 і додають воду для хроматографії Р до позначки. Отриманий розчин і ацетонітрил Р змішують у співвідношенні (70:30);

- рухома фаза В: ацетонітрил Р;

- колонка "Zorbax SB-C18" розміром 2,1 x 150 мм, заповнена сорбентом з розміром частинок 5,0 мкм, або аналогічна;

- температура термостату колонки: 40 °С;

- швидкість рухомої фази: 1,5 мл/хв;

- детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 235 нм;

- об'єм інжекції: 50 мкл.

Використовують таку програму градієнта:

Стадія	Час, хв	Рухома фаза А (%)	Рухома фаза Б (%)
1	0 → 9	100	0
2	9 → 10	100 → 45	0 → 55
3	10 → 15	45	55
4	15 → 18	45 → 100	55 → 0
5	18 → 25	100	0

Почергово хроматографують розчини порівняння і випробовуваний, отримуючи не менше трьох хроматограм для кожного розчину. На хроматограмі випробовуваного розчину має бути пік, який співпадає за часом утримування з піком хлоргексидину на хроматограмі розчину порівняння.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі вимоги:

- ефективність хроматографічної системи, яка розрахована за піком хлоргексидину, має бути не менше 1000 теоретичних тарілок;

- коефіцієнт симетрії піку хлоргексидину має бути від 0,8 до 1,5;

- відносне стандартне відхилення, розраховане для площі піку, має бути менше 3 %.

Метод А.

За результатами хроматографування розраховують середні значення площ піків для кожного градуовального розчину. За середніми значеннями площ будують градуовальний графік у вигляді залежності площі піка від концентрації (мкг/мл) хлоргексидину (у вигляді диглюконату) у градуовальному розчині. За побудованим графіком і розрахованим рівнянням прямої на основі середнього значення площі піка хлоргексидину (у вигляді диглюконату) на хроматограмі випробовуваного розчину розраховують концентрацію хлоргексидину в мкг/мл.

Знаючи концентрацію хлоргексидину у випробовуваному розчині розраховують вміст (%) хлоргексидину у перерахунку на хлоргексидину диглюконат, у губці за формулою:

$$X = \frac{C \cdot 5 \cdot P}{m_{\text{нав}} \cdot 1000}$$

де C – концентрація хлоргексидину (у формі диглюконату), розрахована за градуовальним графіком в мкг/мл;

P – вміст хлоргексидину діацетату у СЗ хлоргексидину ацетату, у частинах від одиниці;

m – маса наважки подрібненої губки, взятої для аналізу, г.

Метод Б.

Вміст хлоргексидину (X , %) в перерахунку на хлоргексидину диглюконат розраховують за формулою:

$$X = \frac{m_o \cdot P \cdot 1,4352 \cdot S_x \cdot 100}{S_o \cdot m_{\text{нав}}}$$

де S_x – середнє значення площі піку хлоргексидину, отримане з хроматограм випробовуваного розчину;

P – вміст хлоргексидину діацетату в СЗ хлоргексидину ацетату (Pharmaceutical Secondary Standard, Supelco), в частинах від одиниці;

m_o – маса наважки СЗ хлоргексидину ацетату (Pharmaceutical Secondary Standard, Supelco), взятої для приготування розчину порівняння;

S_0 – середнє значення площі піку хлоргексидину, отримане з хроматограм розчину порівняння;

$m_{\text{нав}}$ – маса наважки подрібненої губки, взятої для аналізу, г;

1,4352 – коефіцієнт перерахунку хлоргексидину ацетату на хлоргексидину диглюконат, який становить 1,4352.

Результати кількісного визначення досліджуваного АФІ у губці медичній двома методами наведено в таблиці 5.6.

Таблиця 5.6 – Результати визначення кількісного вмісту хлоргексидину у губках медичних

Метод А		Метод Б	
Маса наважки, г	Вміст хлоргексидину диглюконату, %	Маса наважки, г	Вміст хлоргексидину диглюконату, %
0,255	1,02 ± 0,01	1,3563	1,03 ± 0,02
0,248	1,05 ± 0,02	1,3605	1,01 ± 0,01
0,261	0,99 ± 0,02	1,3449	1,00 ± 0,02
0,252	1,03 ± 0,01	1,3560	1,02 ± 0,01
0,257	1,01 ± 0,02	1,3528	1,02 ± 0,01

Як видно із результатів, наведених в таблиці 5.6, отримані за двома методиками розрахунку значення вмісту хлоргексидину у різних зразках губки медичної є достатньо близькими та порівнюваними між собою. Розраховані значення критерію Фішера і коефіцієнтів Стьюдента 0,01497 та 0,51 є меншими теоретичних значень 6,388 і 2,306, що вказує на відсутність статистично значущих відмінностей між вибірками результатів, отриманих за двома розрахунковими методиками. Враховуючи відсутність регламентованих меж відхилення кількісного вмісту АФІ у губках, нами запропоновано допустиме відхилення ± 10 % для кількісного показника якості. Тому кількісним критерієм якості розроблених губок за показником “Кількісний вміст хлоргексидину

диглюконату” запропоновано інтервал 0,9-1,0 % хлоргексидину у вигляді хлоргексидину диглюконату.

На основі результатів проведених випробувань розроблено проект МКЯ на губки медичні (додаток М.1-М.2), яий апробовано в умовах ТОВ “Інститут біомедичних технологій” (акт апробації від 16 грудня 2019 р.).

Відповідно до проекту МКЯ розроблені губки запропоновано контролювати за такими показниками: “Опис”, “Ідентифікація”, “рН”, “Наявність органічних розчинників”, “Вологопоглинання”, “In vitro деградація”, “Кількісне визначення”, “Стерильність”, “Упаковка”, “Зберігання”, “Термін придатності”.

5.4 Визначення стабільності губок медичних на основі водного витягу з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом у процесі зберігання

Для встановлення терміну зберігання розроблених губок медичних використовували класичний метод визначення стабільності з періодичним аналізом (через кожні 6 місяців) зразків, які розфасовані у целофаново-пергаментні пакети, що призначені для тривалого зберігання та стерилізації [17, 23, 25]. Перед початком експерименту губки простерилізували з використанням електронно-променевої обробки.

Дослідження щодо визначення терміну придатності губок медичних на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом, було виконано при температурних режимах (2-8 °С та 15-25 °С). Період спостереження складав 27 місяців, під час якого контролювали такі показники якості: “Опис”, “Ідентифікація”, “рН”, “Наявність органічних розчинників”, “Вологопоглинання”, “In vitro деградація”, “Кількісне визначення”, “Стерильність”.

Результати дослідження губок медичних наведені в додатку К (таблиця К.6). В результаті досліджень було встановлено, що розроблені губки

відповідають вимогам наведених у проекті МКЯ та є стабільними при зберіганні за двох температурних режимах.

За результатами проведених досліджень встановлено термін і умови зберігання губок медичних та доведено, що вони є стабільним при зберіганні за кімнатної температури 15-25 °С – 24 місяці.

Підбиваючи підсумки даного розділу, можна зробити такі висновки:

- використовуючи метод латинського квадрату 4x4, вивчено вплив 2 груп ДР (полімери та пластифікатори) та температури приготування ВВ з ксенодерми (°С) на фармако-технологічні характеристики губок медичних. За результатами вибрано кращі ДР: желатин медичний, пропіленгліколь та температуру приготування ВВ з ксенодерми до 40 °С;

- за допомогою симетричного ротатбельного композиційного уніфікованого плану другого порядку вивчено вплив та досліджено взаємозв'язок між значущими факторами та фармако-технологічними показниками губок медичних. Оптимальний склад губок запропоновано на підставі отриманих результатів статистичної обробки: хлоргексидину диглюконат – 1,0; желатин медичний – 2,0; пропіленгліколь – 1,0; формальдегід – 0,07; ВВ з ксенодерми – до 100,0;

- ідентифіковано 16 амінокислот методом ВЕРХ, підтверджена їх наявність у ланцюзі порошок ксенодерми – ВВ – губка медична;

- опрацьовано методику аналізу хлоргексидину диглюконату, кількісним критерієм якості розроблених губок запропоновано інтервал 0,9-1,0 % хлоргексидину у вигляді хлоргексидину диглюконату;

- розроблено технологію губок медичних, яку апробовано на базі ТОВ «Інститут біомедичних технологій» (акт апробації від 19 грудня 2019 р.), запропоновано прект МКЯ;

- вивчено стабільність розроблених губок медичних у процесі зберігання, встановлено термін і умови зберігання.

Матеріали, що викладені в даному розділі, опубліковані в наукових працях автора [17, 22, 25, 82, 173].

РОЗДІЛ 6

ФАРМАКОЛОГІЧНІ ТА МІКРОБІОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕЛЮ “КСЕЛІОГЕЛЬ” ТА ГУБОК МЕДИЧНИХ

6.1 Токсикологічні та фармакологічні дослідження розроблених форм

Визначення ефективності та безпеки розроблених засобів є важливим етапом доклінічних досліджень. Для підтвердження ранозагоювальної дії розроблених фармацевтичних композицій у вигляді гелю “Кселіогель” та губки медичної було проведено скринінгові дослідження на моделі асептичної опікової рани у щурів. Фармакологічне дослідження також включало вивчення загальнотоксичних властивостей та проведення гістологічних досліджень.

Дослідження проводили на базі Центральної науково-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України за консультативної допомоги к. біол. н. І.П. Стечишин.

Усі маніпуляції було виконано відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), Законом України “Про захист тварин від жорстокого поводження” (від 15.12.2009 р. № 1759-VI), та Директивою Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

Гістоморфологічні дослідження проведено на базі морфологічного відділу міжкафедральної навчально-дослідної лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України за консультативної допомоги к. біол. н., доц. С.Б. Крамар.

6.1.1 Вивчення ранозагоювальної активності гелю “Кселіогель” на моделі асептичної опікової рани

На моделі асептичної опікової рани у щурів нами попередньо проведено скринінг АФІ синтетичного та природного походження та встановлено високу ранозагоювальну активність щодо лікування поверхневих опіків зразків на основі ВВ з кріоліофілізованої ксенодерми. Також досліджено, що зразки із ВВ з ксенодерми є ефективнішими ніж МЛФ із порошком ксенодерми та ВВ з ксенодерми (епідермальний шар). Результати попередньо проведених досліджень підтверджують перспективність подальших випробувань щодо створення нових ЛЗ на основі ВВ з ксенодерми (дермальний шар) [16, 27, 88].

Дослідження по вивченню ранозагоювальної ективності гелю “Кселіогель” проводили на статевозрілих щурах лінії Wistar обох статей масою 250-260 г. Тварин, одержаних з віварію Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (Тернопіль, Україна), утримували в стандартних умовах при кімнатній температурі в ізольованих клітках з 12-годинним режимом день/ніч, із доступом до води та їжі *ad libitum*.

Щурів, яким попередньо збривали дорсальні волосини електричною бритвою, розподіляли випадковим чином порівно на чотири групи: 1 – група інтактних тварин; 2 – група контрольної патології, 3 – група впливу гелю “Кселіогель” та 4 – група впливу препарату порівняння “Солкосерил” гель (Легасі Фармасьютікалз Світселенд ГмбХ, Швейцарія), який належить до групи ЛЗ, що містять АФІ природнього походження.

Термічні опіки відтворювали на поголеній ділянці шкіри спини в асептичних умовах під тіопенталовим наркозом. Для моделювання опікової травми використовували прилад, на кінці якого розташована мідна пластина розміром 2x4 см. Час експозиції пластини, нагрітої до 100 °C (± 2 °C), становив 6 с. Даний метод дозволив моделювати опіки II ступеня відповідно до клінічної класифікації опіків [58, 101].

Лікування починали з наступної доби після моделювання опіку. Клінічні спостереження за процесом загоєння та вимірювання площі опікової поверхні проводили кожних 2–3 дні до повного загоєння ран. Біоматеріал для дослідження відбирали під тіопенталовим знечуленням відповідно до перебігу патологічного процесу на 3-ю, 7-у, 14-у доби, в інтактній групі – на 14 добу [93, 101].

Оцінку ступеня катаболізму та мембранодеструктивних процесів проводили шляхом визначення маркерних ферментів цитолізу – АлАТ і АсАТ у сироватці крові, загального білка та молекул середньої маси (МСМ).

Прийнято вважати, що одним з основних критеріїв білкового обміну є концентрація загального білка [93], яка у нашому дослідженні на третю добу (стадія опікового шоку) експерименту достовірно знижувалась у тварин контрольної патології за умови опіку на 15 % в порівнянні з інтактними тваринами (табл. 6.1), що вказує на зниження його синтезу та абсорбцію, підвищення процесів катаболізму та інгібування окисного фосфорилування [88, 93].

Про розпад некротичних тканин та перебіг катаболічних процесів також свідчить вірогідне збільшення рівня МСМ [207]. В стадії опікового шоку (3 доба) вміст МСМ підвищився на 68 %, а на стадії ранньої токсемії – на 52 % в порівнянні з інтактними тваринами, тобто виражена інтоксикація трималася протягом 7 діб з тенденцією до зниження. Вміст МСМ характеризує не тільки стан білкового обміну, а й рівень ендогенної метаболічної інтоксикації та є маркером останньої. МСМ здатні включатися в вуглеводний обмін, білковий метаболізм, процеси тканинного дихання з роз'єднанням окисного фосфорилування, транспорт іонів через мембрани і ряд інших процесів. Проявляючи різновекторну біологічну активність (інгібування ферментних систем, порушення іонної проникності біомембран, зв'язування життєвоважливих білків), вони вносять суттєву частку в розвиток ендогенної інтоксикації при опіках [66]. Для оцінки стану мембранодеструктивних процесів також проводили визначення маркерних ферментів цитолізу — АлАТ і АсАТ у сироватці крові, вміст яких, як відомо з літературних джерел, значно збільшується при опіковій травмі внаслідок розпаду некротичних тканин [65].

Таблиця 6.1 – Зміни біохімічних показників сироватки крові тварин за умови термічного опіку

Група тварин	Доба	Загальний білок, г/л	АлАТ, ммоль/год*л	АсАТ ммоль/год*л	МСМ ум. од.
Інтактні	0	65,4±0,64	0,26±0,003	0,63±0,01	0,25±0,006
Контрольна патологія	3	53,7±0,50 $p_1 \leq 0,001$	0,42±0,01 $p_1 \leq 0,001$	0,76±0,01 $p_1 \leq 0,001$	0,42 ± 0,01 $p_1 \leq 0,001$
	7	55,01±0,13 $p_1 \leq 0,001$	0,32±0,01 $p_1 \leq 0,1$	0,68±0,01 $p_1 \geq 0,05$	0,38 ± 0,01 $p_1 \leq 0,001$
	14	59,3±0,20 $p_1 \leq 0,001$	0,30±0,01 $p_1 \geq 0,05$	0,64±0,042 $p_1 \geq 0,05$	0,36 ± 0,01 $p_1 \leq 0,001$
Опік + гель “Кселіогель”	3	54,6±0,35 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$	0,39±0,01 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,05$	0,74±0,01 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$	0,44±0,01 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$
	7	59,3±0,25 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,001$	0,30±0,004 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \leq 0,1$	0,61±0,01 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \leq 0,001$	0,39±0,01 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$
	14	63,7±0,31 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \leq 0,001$ $p_3 \geq 0,05$	0,28±0,008 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \geq 0,05$ $p_3 \geq 0,05$	0,58±0,01 $p_1 \leq 0,01$ $p_2 \geq 0,05$ $p_3 \leq 0,01$	0,28±0,01 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,001$ $p_3 \geq 0,05$
Опік + гель “Солкосерил”	3	54,1±0,27 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$	0,38±0,005 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,001$	0,75±0,01 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$	0,42±0,008 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$
	7	60,1±0,32 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,001$	0,30±0,007 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \geq 0,05$	0,62±0,005 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \leq 0,001$	0,36±0,01 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \geq 0,05$
	14	61,3±0,35 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \geq 0,05$	0,28±0,01 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \geq 0,05$	0,62±0,003 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \geq 0,05$	0,29±0,007 $p_1 \leq 0,001$ $p_2 \leq 0,001$

Примітки тут та надалі у розділі:

1. p_1 – відхилення достовірне по відношенню до інтактного контролю, $p \leq 0,05$;
2. p_2 – відхилення достовірне по відношенню до контрольної патології відповідного дня експерименту, $p \leq 0,05$;
3. p_3 – відхилення достовірне по відношенню до препарату порівняння “Солкосерил” гель відповідного дня експерименту, $p \leq 0,05$;
4. $n=6$ – кількість тварин у групі.

Вивчення динаміки активності амінотрансфераз у сироватці крові щурів при моделюванні опіку показало, що активність АсАТ підвищувалась на 21 % відносно інтактних на 3 добу експерименту, повертаючись до норми вже на 7 добу ($p_1 \geq 0,05$); активність АлАТ зростала на 62 %, 23 % та 15 % відповідно на 3, 7 та 14 доби експерименту в порівнянні з інтактними тваринами. Відповідні результати досліджень наведені у таблиці 6.1.

Таким чином, зміни біохімічних показників у групі тварин з модельованим опіком свідчать про розвиток чіткого катаболізму з наростанням стійкої ендогенної інтоксикації на фоні мембранодеструктивних процесів.

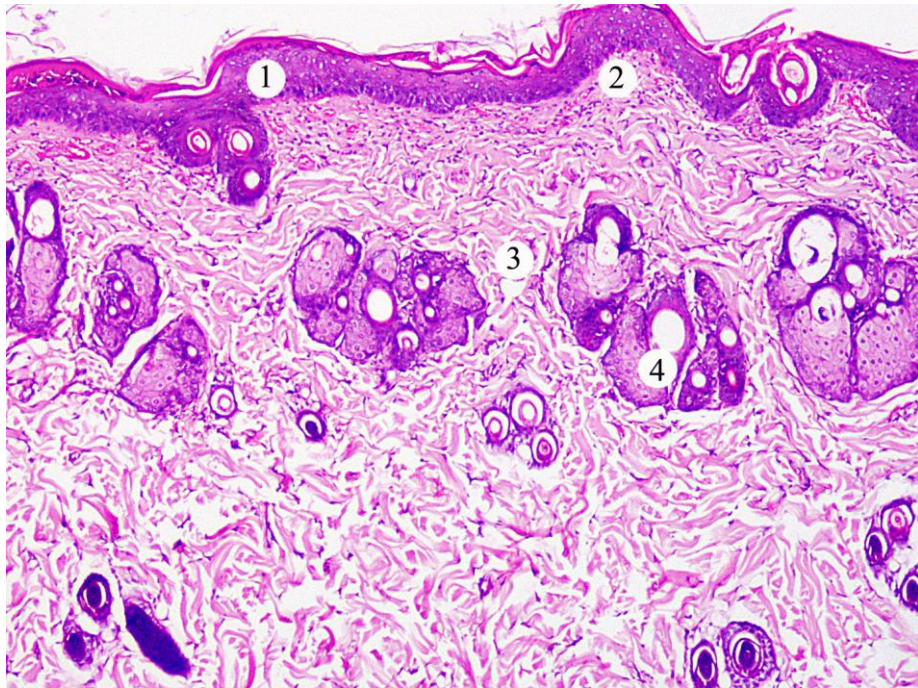
При застосуванні розробленого гелю “Кселіогель” при експериментальному термічному опіку спостерігали достовірне підвищення концентрації загального білка на 8 % на 7 добу відносно відповідної доби в групі контрольної патології, повертаючи показник до норми на 14 добу, що на 7 днів швидше, ніж за умов опіку. У випадках нанесення препарату “Солкосерил гель” спостерігали зростання концентрації загального білка на 10 % на 7 добу, а на 14 добу концентрація загального білка достовірно не відрізнялась від групи інтактного контролю. Таким чином, можна зробити висновок, що вплив розробленого гелю на загальний білок у крові достовірно не відрізнявся від впливу препарату порівняння.

Лікування опікової травми сприяло зниженню рівнів АлАТ і АсАТ у сироватці крові відносно таких у групі контрольної патології, що достовірно не відрізнялося від впливу препарату порівняння. Так, у групах тварин, для лікування яких використовували гель “Солкосерил” та розроблений гель, рівні АлАТ та АсАТ достовірно поверталися у норму вже на 7 добу, що свідчить про зниження некротичних процесів у групі експериментальних тварин.

У групах тварин, на опікові рани яких наносили гель “Солкосерил” та гель “Кселіогель”, вже на 14 добу ендогенна інтоксикація достовірно знижувалася на 24 % та на 29 % відповідно в порівнянні з 14 днем в групі опіку. Вплив розробленого гелю на ендогенну інтоксикацію у крові достовірно не відрізнявся від впливу препарату порівняння.

6.1.2 Вплив гелю “Кселиогель” на структурні зміни дерми при термічному опіку

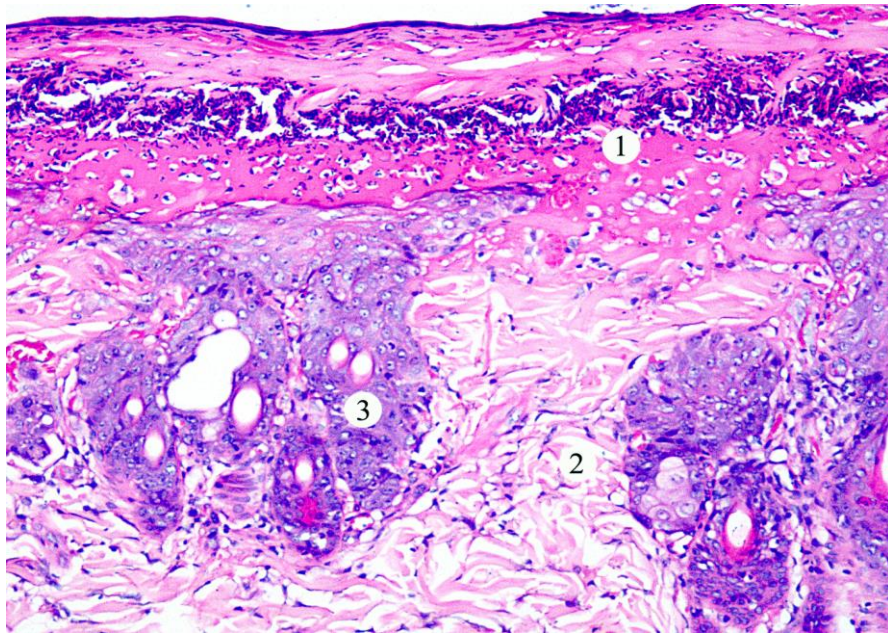
При гістоморфологічному дослідженні встановлено, що шкіра інтактних тварин складається з епідермісу, дерми та гіподерми [67]. В епідермісі прослідковуються базальний, остистий, зернистий та шар рогових лусочок. Дерма складається з сосочкового та сітчастого шарів з типовою для них структурною організацією (рис. 6.1).



Умовні позначки: 1 – епідерміс, 2 – сосочковий шар дерми, 3 – сітчастий шар дерми, 4 – придатки шкіри.

Рисунок 6.1 – Структурна організація шкіри інтактної тварин. Забарвлення гематоксилином та еозином, збільшення x80

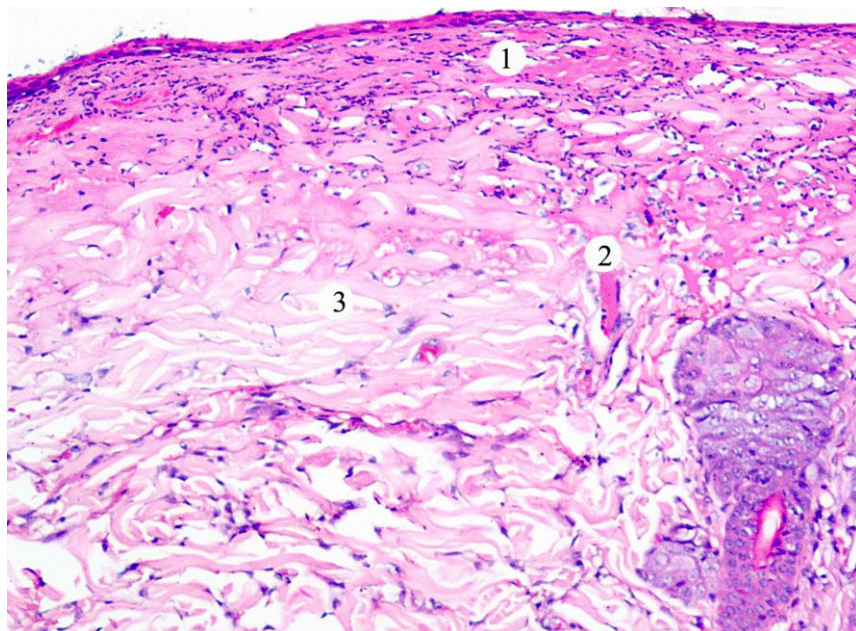
На 3 добу експерименту у групі контрольної патології в ділянці рани спостерігалось порушення кровопостачання з розширенням судин мікроциркуляторного русла. Встановлений набряк дерми та часткове руйнування волокнистих структур сосочкового шару. Ці явища супроводжувалися значною лейкоцитарною інфільтрацією. Поверхня раневого дефекту вкрита некротичними масами та згустками крові (рис. 6.2).



Умовні позначки: 1 – некротичні маси, 2 – сітчастий шар дерми,
3 – придатки шкіри.

Рисунок 6.2 – Мікроскопічні зміни шкіри тварини на 3 добу після експериментальної термічної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

Збільшення x200



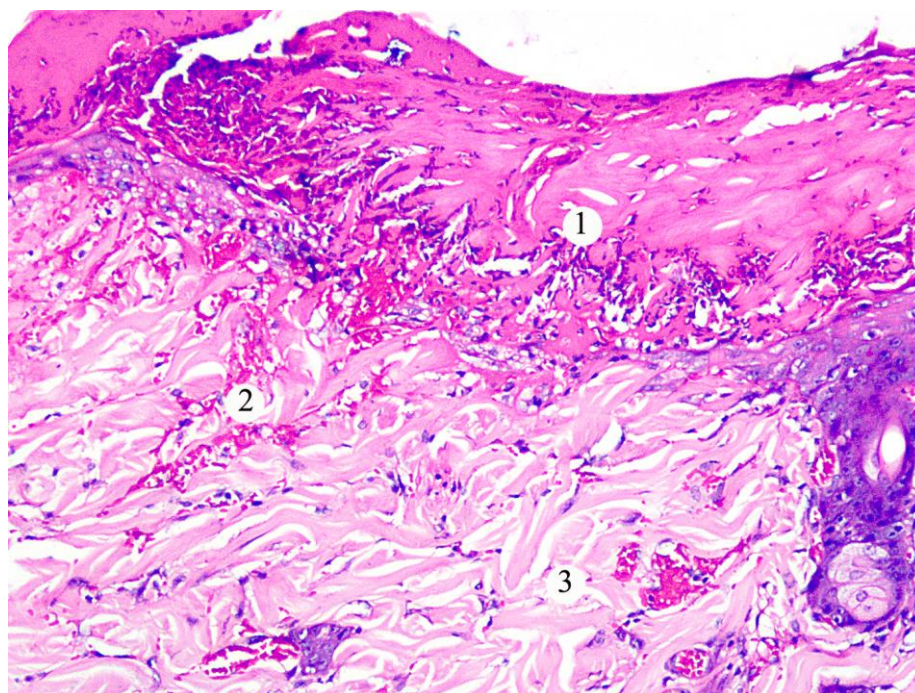
Умовні позначки: 1 – некротичні маси, 2 – кровонаповнений, розширений капіляр, 3 – набряклі колагенові волокна.

Рисунок 6.3 – Гістологічні зміни шкіри тварини на 3 добу після експериментальної термічної травми при застосуванні гелю «Ксеоліогель».

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

При застосуванні розробленого гелю “Кселіогель” встановлено, що на 3 добу експерименту рана поверхня покрита кірочкою, яка утворена білками плазми та зруйнованими форменими елементами крові. В поверхневих шарах дерми спостерігалися ознаки порушення кровообігу, що проявлялися розширенням та повнокрів’ям гемокапілярів, дрібними периваскулярними діapedезними крововиливами. Міжклітинна речовина дерми була густо інфільтрована лімфоцитами та макрофагами (рис. 6.3).

При гістологічному дослідженні шкіри тварин, для загоєння рани яких використовували препарат порівняння гель “Солкосерил” на 3 добу експерименту на місці дефекту епідермісу спостерігалось утворення плівки із ексудату, насиченого лейкоцитами. В рані наявні також розлади кровообігу, скупчення макрофагів, набряк тканини, пошкодження волокнистих структур дерми (рис. 6.4).



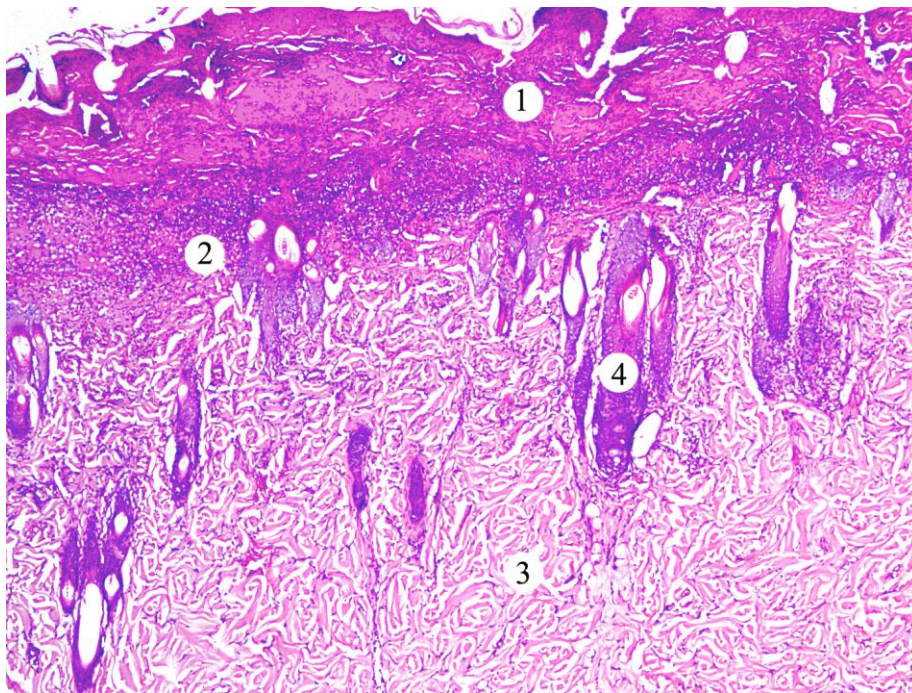
Умовні позначки: 1 – некротичні маси, 2 – крововиливи,
3 – сітчастий шар дерми.

Рисунок 6.4 – Морфологічні зміни шкіри тварини на 3 добу після експериментальної термічної травми при застосуванні гелю “Солкосерил”.

Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

Порівнюючи стан раневих поверхонь у тварин двох дослідних груп, яким застосовували коригуючі чинники, встановлено, що при застосуванні гелю “Солкосерил” на 3 добу експерименту розлади кровообігу були більш вираженими, ніж у групі тварин впливу розробленого гелю.

Гістологічно на 7 добу експерименту у групі тварин контрольної патології ділянка дефекту шкіри була закрита кірочкою, що складалась в основному зі зруйнованих клітин крові та фібрину. Базальна мембрана слабо сформована. Структурні компоненти дерми густо інфільтровані лімфоцитами, спостерігались дистрофічні зміни колагенових та еластичних волокон (рис. 6.5).

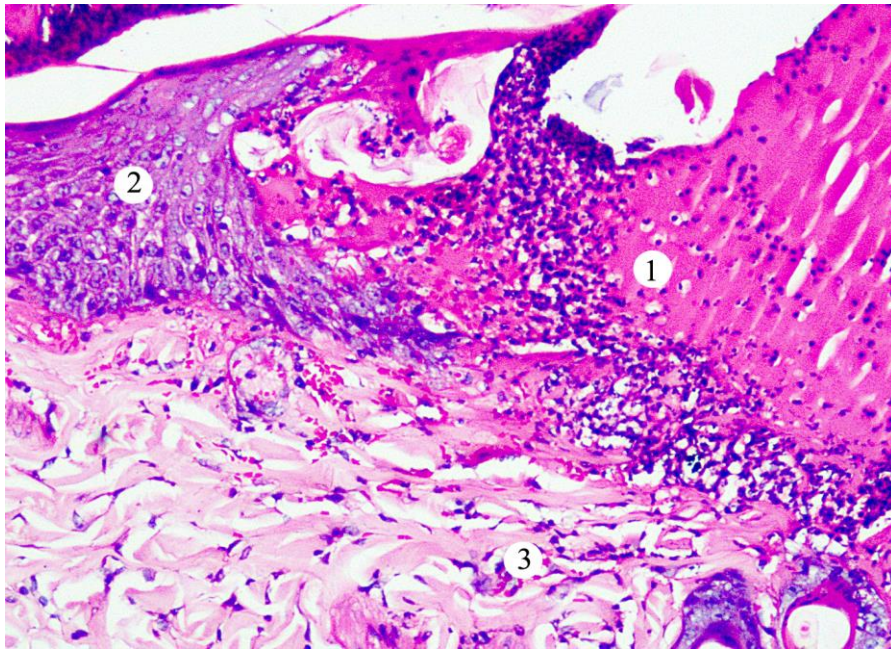


Умовні позначки: 1 – струп, 2 – лейкоцитарна інфільтрація,
3 – сітчастий шар дерми, 4 – придатки.

Рисунок 6.5. Гістологічні зміни шкіри тварини на 7 добу після експериментальної термічної травми. Забарвлення гематоксиліном та еозином.

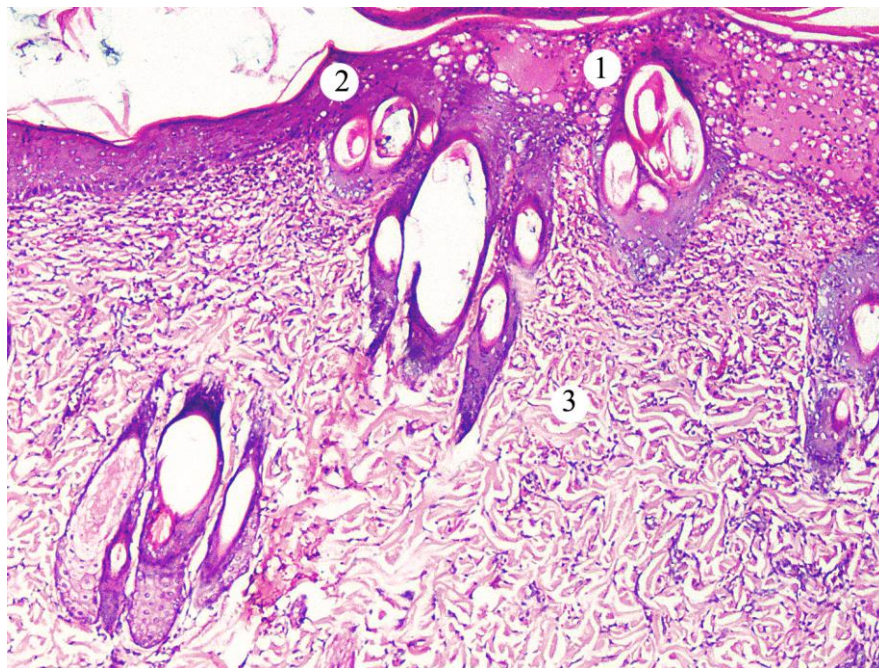
Збільшення x80.

На 7 добу після експериментальної термічної травми як при застосуванні гелю “Ксеологель”, так і при використанні препарату порівняння “Солкосерл” гель встановлено, що ділянка дефекту шкіри також була закрита плівкою, основними компонентами якої були зруйновані клітини крові та фібриноїдна маса.



Умовні позначки: 1 – струп, 2 – епідермальний регенерат, 3 – сітчастий шар дерми.

Рисунок 6.6 – Мікроскопічний стан перифокальної ділянки рани на 7 добу після експериментальної термічної травми при застосуванні гелю “Ксеоліогель”. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x200.

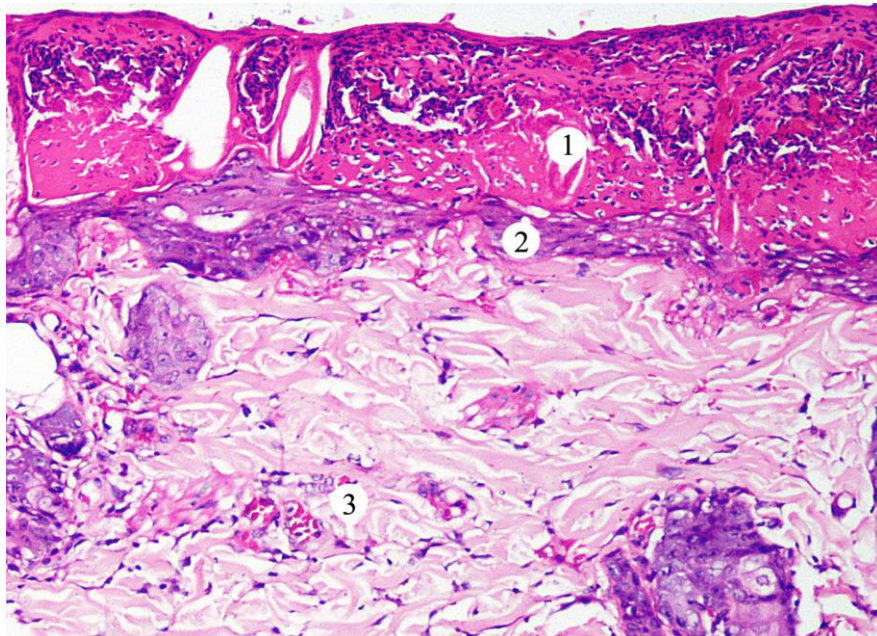


Умовні позначки: 1 – струп, 2 – епідермальний регенерат, 3 – сітчастий шар дерми.

Рисунок 6.7 – Морфологічний стан перифокальної ділянки рани на 7 добу після експериментальної термічної травми при застосуванні “Солкосерил”. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x80.

Відмічено ознаки появи базальної мембрани та підвищена крайова епітелізація. В дермі рани спостерігається формування капілярної сітки та поява волокнистих структур, помірно інфільтрованих клітинами лімфоцитарного ряду (рис. 6.6 та 6.7).

Світлооптично на 14 добу після експериментальної термічної травми у групі тварин контрольної патології у центральній ділянці рани наявний погано сформований, деструктуризований епідермальний регенерат, який зверху вкритий струпом. Сосочковий шар дерми несформований, а у сітчастому шарі спостерігається набряк колагенових волокон, незначні крововиливи (рис. 6.8).



Умовні позначки: 1 – струп, 2 – деструктурований епідермальний регенерат, 3 – сітчастий шар дерми.

Рисунок 6.8 – Морфологічний стан центральної ділянки рани на 14 добу після експериментальної термічної травми. Зabarвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x100.

Гістологічно встановлено, що на 14 добу дослід у групі впливу розробленого гелю у ділянці загоєння спостерігається добре сформований епідермальний регенерат, що складається з базального, остистого, зернистого та шару рогових лусочок. Наявна базальна мембрана та сосочковий шар дерми з

дещо гомогенною структурою. В ретикулярному шарі дерми колагенові та еластичні волокна розташовані паралельно епідермісу, між ними спостерігаються клітини фібробластичного ряду (рис. 6.9).

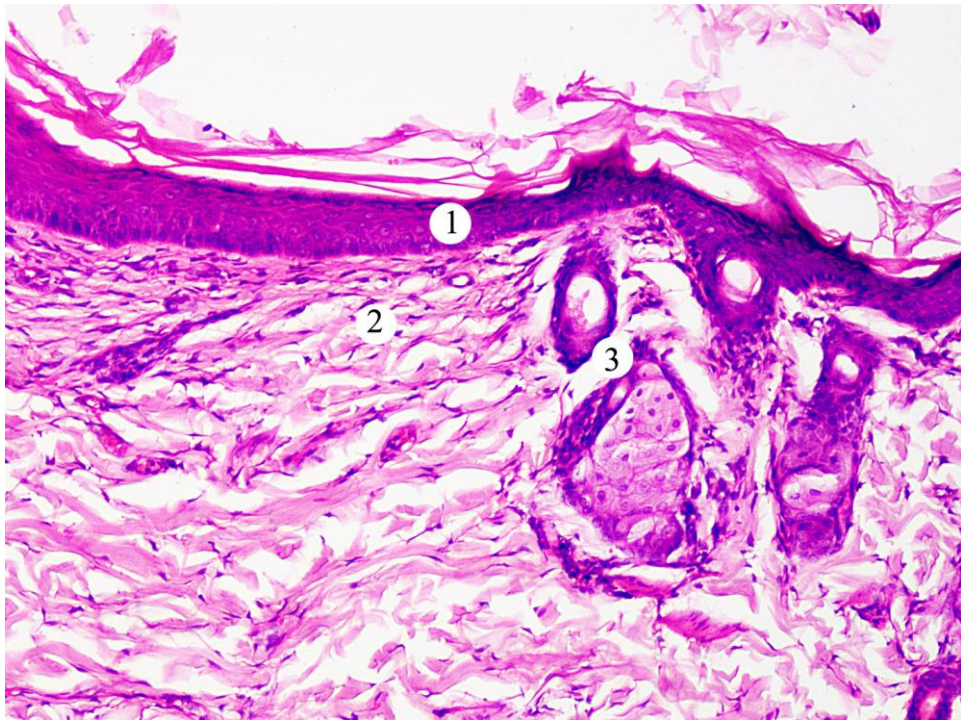


Умовні позначки: 1 – епідерміс, 2 – сосочковий шар дерми, 3 – сітчастий шар дерми, 4 – придатки шкіри.

Рисунок 6.9 – Гістологічний стан ділянки загоєння рани на 14 добу після експериментальної термічної травми при застосуванні гелю “Ксеолігель”.

Забарвлення гематоксилином та еозином. Збільшення x80.

При дослідженні ділянки дефекту на 14 добу експерименту із застосуванням препарату порівняння “Солкосерил” гель спостерігалось загоєння рани з покриттям епітеліальним пластом з чіткою пошаровою будовою. Проте у цій групі тварин формування сосочкового шару дерми менш виражене у порівнянні із групою тварин впливу фармацевтичної композиції. Таке явище може призвести до відшарування епідермального пласту від сполучної тканини у ділянках, де сосочковий шар погано сформований (рис. 6.10).



Умовні позначки: 1 – епідерміс, 2 – сітчастий шар дерми, 3 – придатки шкіри.

Рисунок 6.10 – Морфологічний стан ділянки загоєння рани на 14 добу після експериментальної термічної травми при застосуванні гелю “Солкосериль”. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x80.

Таким чином, проведена гістологічна оцінка використання як коригуючого чинника гелю “Кселіогель” встановила, що розроблений гель забезпечує загоєння раневого дефекту на 14 добу експерименту. Спостерігається добре виражена крайова регенерація епідермісу, формування базальної мембрани, відновлення сосочкового шару дерми та капілярної сітки. Натомість при застосуванні препарату порівняння формування сосочкового шару сполучної тканини шкіри було менш виражене.

6.1.3 Вивчення токсичної дії гелю “Кселіогель” та губок медичних

Дослідження проводили на статевозрілих білих щурах самках, які більш чутливі до токсичної дії, ніж самці, по 6 особин у групі. Тварин розподіляли випадковим чином, порівно. При дослідженні гострої токсичності препаратів

інтегральним показником є виживання/летальність тварин, який дозволяє розрахувати середньолетальну дозу (LD_{50}) засобу. Державний фармакопейний центр МОЗ України рекомендує для дослідження гострої токсичності використовувати максимальну дозу IV класу токсичності відповідно до шляху введення. Тому, для встановлення нетоксичності розробленого гелю “Кселіогель” його рівномірно наносили у дозі 2810 мг/кг. Адже при нашкірному нанесенні подальші дослідження зі збільшенням дози можна вважати недоцільними [38, 46, 88, 102]. Шлях нанесення розробленого гелю обрали відповідно до передбачуваного шляху використання засобу в клінічній практиці. Гель наносили на попередньо вистрижену ділянку шкіри спини, яка становила не менше 10 % від загальної площі поверхні тварини. Тваринам групи негативного контролю відповідним шляхом наносили гелеву основу в еквівалентному об'ємі.

Губку медичну вводили натще перорально у вигляді водної суспензії в дозі 10000 мг/кг, що дозволяє забезпечити системну дію та узгоджується з вимогами наказів МОЗ України. Тваринам інтактної групи відповідним шляхом вводили воду очищену в еквівалентному об'ємі.

Спостереження за тваринами, проводили двічі на день (зранку та ввечері), протягом 14 днів. Клінічні спостереження включали контроль рухової активності, стану шкірного покриву, зміни дихання, вживання їжі та води, зміни маси та будь-які зміни у поведінці тварин. Для контролю за масою тіла проводили індивідуальні зважування на 0, 3, 7 та 14 добу (табл. 6.2).

Під час спостереження за поведінкою тварин, їх зовнішнім виглядом, станом шерсті, активністю та апетитом не виявлено жодних ознак клінічної інтоксикації та загибелі. Рефлекторна збудливість, сечовиділення, дефекація знаходились у межах фізіологічної норми. У всіх тварин спостерігався приріст маси тіла без значущих відмінностей між групами. Видимих патологічних змін зовнішнього вигляду й поведінки експериментальних тварин на 1-шу, 7-му і 14-ту доби після початку застосування розроблених засобів не зареєстровано.

Таблиця 6.2 – Динаміка маси тіла тварин при вивченні гострої токсичності гелю “Кселиогель” та губки медичної

Група тварин	Білі щури	Маса тварин ($M \pm m$), г			
		0 доба	3 доба	7 доба	14 доба
Інтактні	Самки	247,17±0,70	249,00±0,68	254,17±0,65	260,0±0,37
Гель “Кселиогель” (2810 мг/кг)	Самки	249,17±1,35	251,83±1,35	256,0±1,39	262,17±1,25 $p_1 \geq 0,05$
Губка медична (10000 мг/кг)	Самки	254,72±1,68	257,67±1,17	261,83±1,01	265,83±1,14 $p_1 \geq 0,05$

В процесі дослідження гострої токсичності губки медичної було встановлено, що при введенні внутрішньошлунково суспенії губки в дозі 10000 мг/кг загибелі тварин не спостерігалось.

Після завершення періоду спостереження, а саме 14 діб, під наркозом провели евтаназію тварин. Під час експерименту, також не було зафіксовано різниці у величинах відносної маси органів тварин, результати досліджень наведені у таблиці 6.3.

Таблиця 6.3 – Масові коефіцієнти внутрішніх органів щурів-самок в умовах дослідження гострої токсичності гелю “Кселиогель” та губки медичної

Органи		Група тварин ($M \pm m$), г.		
		Інтактні	Гель “Кселиогель”	Губка медична
Щурі-самиці				
<i>1.</i>		<i>2.</i>	<i>3.</i>	<i>4.</i>
Печінка		2,99±0,03	3,02±0,04 $p_1 \geq 0,05$	3,00±0,05 $p_1 \geq 0,05$
Нирки	Права	0,34±0,01	0,33±0,01 $p_1 \geq 0,05$	0,34±0,01 $p_1 \geq 0,05$
	Ліва	0,33±0,01	0,32±0,01 $p_1 \geq 0,05$	0,32±0,02 $p_1 \geq 0,05$
Серце		0,41±0,01	0,42±0,01 $p_1 \geq 0,05$	0,43±0,01 $p_1 \geq 0,05$

Продовження табл. 6.3

1.	2.	3.	4.
Легені	0,77±0,02	0,78±0,01 p ₁ ≥0,05	0,80±0,01 p ₁ ≥0,05
Селезінка	0,46±0,02	0,47±0,01 p ₁ ≥0,05	0,48±0,01 p ₁ ≥0,05
Наднирники	0,041±0,001	0,039±0,001 p ₁ ≥0,05	0,040±0,001 p ₁ ≥0,05
Тимус	0,15±0,009	0,17±0,01 p ₁ ≥0,05	0,16±0,01 p ₁ ≥0,05

Усі тварини мали охайний густий покрив шерсті, жодних зовнішніх змін не було зафіксовано, зовнішні слизові органи були без змін. Усі внутрішні органи розташовані анатомічно правильно. Поверхня органів гладка, форма, забарлення та розмір є характерними та незмінними. Печінка представлена долями звичайного розміру. Селезінка повнокровна, пружна, нормальних розмірів. Нирки всіх тварин симетричні з характерною будовою. Легені повітряні, листки плеври незмінні. Тимус без змін. Яєчники в нормі.

За результатами досліджень гострої токсичності розробленого гелю “Кселіогель” в дозі 2810 мг/кг та губки медичної на основі ВВ з ксенодерми з хлоргексидину диглюконатом в дозі 10000 мг/кг, у внутрішніх органах не виявлено ознак патологічних змін чи запальних реакцій. Тому, за параметрами гострої токсичності розроблені фармацевтичні засоби відносяться до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини) за класифікацією О. В. Стефанова.

6.2 Вивчення мікробіологічної чистоти та стерильності розроблених засобів

6.2.1 Вивчення мікробіологічної чистоти гелю “Кселіогель”

Випробування проводили за методикою, наведеною у ДФУ 2.0., 2.6.12., 2.6.13, на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Тернопільського

національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України та у ДП “Тернопільський науково-виробничий центр стандартизації, метрології та сертифікації”.

Метою досліджень була розробка та перевірка придатності методики визначення МБЧ розробленого гелю.

З метою вивчення МБЧ визначали кількість бактерій та грибів, а також присутність патогенних і умовнопатогенних мікроорганізмів: *S. aureus*, *P. aeruginosa*. Відповідно до критеріїв прийнятності МБЧ готових нестерильних ЛЗ для місцевого застосування визначається загальне число життєздатних непатогенних мікроорганізмів, а також відсутність бактерій в 1 г (*P. aeruginosa*, *S. aureus*). В 1,0 г препарату допускається наявність не більше 100 КУО аеробних мікроорганізмів (ТАМС) і 10 КУО дріжджових та плісневих грибів (ТУМС). Не допускається наявність бактерій *P. aeruginosa* і *S. aureus*.

Визначення МБЧ проводили після виготовлення гелю, а також в процесі його зберігання (у тубах при 2-8 °С). Тест-штами культур мікроорганізмів наведені у розділі 2 (2.5).

Для перевірки придатності методики та усунення можливої антимікробної дії досліджуваних зразків використовували розведення 1:10. З цією метою 10,0 г зразка гелю переносили в стерильний мірний посуд та додавали фосфатний буферний розчин (рН 7,2) до 100,0 мл, що містить 3,0 % полісорбату-80 та інтенсивно перемішували до розчинення (розведення 1:10). Результати перевірки придатності методики на визначення загального числа аеробних мікроорганізмів наведені в таблиці 6.4.

Для контролю умов випробування проводили негативний контрольний дослід, використовуючи замість випробовуваного зразка обраний розчинник.

Попередні результати показали, що в умовах визначення МБЧ на Сабуро-декстрозному агарі (гриби *C. albicans*, *A. brasiliensis*) та на живильному соєво-казеїновому агарі (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*) в розведенні 1:10 зразки не виявляють пригнічуваної дії на життєздатність аеробних мікроорганізмів,

дріжджових та плісневих грибів. Отримані результати досліджень свідчать про придатність методики при розведенні 1:10.

Таблиця 6.4 – Результати дослідження придатності методики випробування на загальне число аеробних мікроорганізмів

Схема випробування	Середнє число КУО в 1 мл зразка			
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>
	соєво-казеїновий агар	соєво-казеїновий агар	Сабуро-декстрозний агар	соєво-казеїновий агар
Розведення 1:10 (проба № 1)				
Зразок гелю + м/о	38/42	18/23	42/51	38/47
Контроль позитивний м/о	75/84	87/90	64/58	42/49
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній			
Розведення 1:10 (проба № 2)				
Зразок гелю + м/о	51/60	26/30	57/42	51/43
Контроль позитивний м/о	89/79	54/62	53/48	62/58
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній			
Розведення 1:10 (проба № 3)				
Зразок гелю + м/о	42/38	23/19	61/70	38/31
Контроль позитивний м/о	67/59	44/39	64/58	50/54
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній			

Визначення МБЧ проводили з використанням методу глибинного та двошарового посіву відповідно до вимог ДФУ. Для визначення загального числа грибів та аеробних мікроорганізмів методом глибинного посіву в стерильні чашки Петрі діаметром 9 см вносять по 1 мл зразка у розведенні 1:10, в яких містилося близько 100 КУО відповідного тест-мікроорганізму, заливають 15-20 мл соєво-казеїнового агару (для бактерій) та на Сабуро-декстрозного агару (для грибів) з температурою 40-45 °С та дають агару застигнути. Для кожного з тест-мікроорганізмів роблять два паралельних досліди.

При використанні методу двошарового посіву по 1 мл зразка (попередньо підготовленого у співвідношенні 1:10, в яких містилося близько 100 КУО відповідного тест-мікроорганізму) вносять у стерильні пробірки, що містять по 4 мл відповідного розплавленого та охолодженого агару (соєво-казеїновий агар – бактерії, агар Сабуро – гриби). Вміст пробірки перемішують та рівномірно переносять в підготовлені чашки Петрі із живильними середовищами. Після застигання агару чашки інкубують, для визначення мікроорганізмів при температурі 30-35 °С протягом 3-5 діб, для визначення грибів при температурі 20-25 °С протягом 5-7 діб. Підраховують число колоній у кожній чашці Петрі та визначають середнє арифметичне значення числа колоній. Для підтвердження наявності/відсутності *P. aeruginosa* та *S. aureus* проводять два паралельних досліди.

Для *S. aureus* підтвердження наявності або відсутності мікроорганізмів по 10,0 мл зразка (у розведенні 1:10) вносять у 100,0 мл соєво-казеїнового бульйону та інокують 0,1 мл монокультури бактерій з концентрацією 10^4 КУО/мл. Інкубацію проводять за температури 30 ± 1 °С протягом від 18 до 24 години. Після завершення періоду інкубації проводять пересівання на поверхню з манітно-сольовим агаром та інкубують при температурі 30 ± 1 °С від 18 до 72 години.

Для *P. aeruginosa* підтвердження наявності або відсутності мікроорганізмів по 10,0 мл зразка (у розведенні 1:10) вносять у 100,0 мл соєво-казеїнового бульйону та інокують 0,1 мл монокультури бактерій у

концентрації 10^4 КУО/мл. Інкубацію проводять при температурі 30 ± 1 °С впродовж 18-24 години. Після завершення періоду інкубації на поверхню цетримідного агару проводять пересівання та інкубують при температурі 30 ± 1 °С протягом від 18 до 72 години. Результати дослідження МБЧ гелю “Кселиогель” наведені у таблиці 6.4.

Таблиця 6.4 – Результати дослідження гелю “Кселиогель” за показником МБЧ

Зразки	Загальне число життєздатних мікроорганізмів в 1 г зразка					
	Метод глибинного висівання		Метод двошарового висівання		Мікроорганізми	
	аеробні м/о (ТАМС)	дріжджові і плісеневі грибів (ТУМС)	аеробні м/о (ТАМС)	дріжджові і плісеневі грибів (ТУМС)	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Свіжовиготовлені зразки						
Гель “Кселиогель” (1:10)	$<1 \cdot 10^1$	$<1 \cdot 10^1$	$<1 \cdot 10^1$	$<1 \cdot 10^1$	ВР	ВР
Через 27 місяців зберігання						
Гель “Кселиогель” (1:10)	$<1 \cdot 10^1$	$<1 \cdot 10^1$	$<1 \cdot 10^1$	$<1 \cdot 10^1$	ВР	ВР
Примітка 1. м/о – мікроорганізми. Примітка 2. ВР – відсутність росту мікроорганізмів.						

Отже, у розробленому гелі “Кселиогель” не виявлено бактерій Enterobacteriaceae, *P. aeruginosa* та *S. aureus* в 1 г зразка. Встановлено, що загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) становить не більше 10^1 КУО в 1 г зразка, загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) становить не більше 10^2 КУО в 1 г зразка, що відповідає вимогам ДФУ щодо мікробіологічної чистоти.

Результати перевірки на МБЧ доводять, що обраний консервант (спирт фенілетиловий в концентрації 0,4 %) забезпечує мікробіологічну чистоту розробленого гелю при зберіганні у холодильнику (2-8 °С) протягом 27 місяців.

6.2.2 Вивчення стерильності губок медичних

Метою досліджень була розробка та перевірка придатності методики визначення стерильності губки медичної на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом.

Відповідно до вимог ДФУ, а також огляду літератури, губки медичні стерилізують з використанням електронно-променевої обробки (стерилізації). Даний метод також використовують для стерилізації ксеноімплантів ліофілізованої шкіри свині, що і є основою розроблених губок.

Губки медичні упаковують у пергаментно-целюфанові упаковки, призначені для пакування виробів медичного призначення перед стерилізацією, а також для додаткового пакування стерилізаційних упаковок із виробами, що в них знаходяться після стерилізації, з метою зберігання стерильності цих виробів під час транспортування та зберігання до використання за призначенням.

Дані упаковки дозволяють простерилізувати упаковані губки медичні та є непроникними для мікроорганізмів за умови дотримання правил закривання, умов і термінів зберігання упаковок, є вологостійкими, зберігають цілісність (у тому числі герметичність швів) і зовнішній вигляд (окрім зміни кольору індикатора) після стерилізації відповідним методом.

Стерильність губок визначали після їх виготовлення та у процесі зберігання.

Випробування на придатність методики визначення стерильності губок медичних проведено в асептичних умовах. Перед проведенням випробування на стерильність губки медичні попередньо були витримані у термостаті при

температурі 30-35 °С протягом 3 діб для перевірки на бомбаж та для перевірки упаковки (відсутність візуальних змін упаковки, вздуття, зміна кольору, тощо).

У експерименті використано два типи живильних середовищ: рідке тіогліколеве середовище, яке використовують для вирощування анаеробних бактерій та соєво-казеїнове середовище, що застосовують для вирощування аеробних бактерій та грибів. Рідке тіогліколеве середовище інкубують при температурі від 30 °С до 35 °С, а соєво-казеїнове середовище – при температурі від 20 °С до 25 °С.

Випробування на стерильність проводять для аеробних, анаеробних мікроорганізмів та грибів. Порцію рідкого тіогліколевого середовища інокують 100 КУО мікроорганізмів *Cl. perfringens*. Порцію соєво-казеїнового середовища інокують 100 КУО кожного з таких видів мікроорганізмів: *P. aeruginosa*, *S.aureus*, *B. subtilis*, *A. brasiliensis*. Порцію Сабуро-декстрозного агару інокують 100 КУО мікроорганізмів *C. albicans*. Інкубують не більше трьох діб (для бактерій) та не більше п'яти діб (для грибів).

Після закінчення періоду інкубації в середовищах спостерігалось виразно видиме зростання мікроорганізмів, що свідчить про придатність середовища для дослідження (таблиця 6.5).

Визначення стерильності губок медичних проводили методом прямого висівання відповідно до вимог ДФУ [47]. Губку розкривали, дотримуючись правил асептики, у асептичному боксі, та переносили по три зразки, які відібрані з країв та середини губки, у кожне із живильних середовищ. Маса зразків складала 150 мг. Шматочки губки переносили у стерильні пробірки та заливали живильним середовищем у співвідношенні 1:10, так, щоб цілком покрити випробовуваний матеріал. Проводили два паралельних дослідів на кожному живильному середовищі, а також позитивний контроль дослід.

Посіви переглядали кілька разів у період інкубації. Результати дослідження стерильності губок медичних наведені у таблиці 6.6.

Таблиця 6.5 – Результати дослідження придатності методики випробування на загальне число аеробних та анаеробних мікроорганізмів

Схема випробування	Середнє число КУО в 1 мл зразка				
	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Cl. perfringens</i>
	соєво-казеїновий агар	соєво-казеїновий агар	Сабуро-декстрозний агар	соєво-казеїновий агар	тіогліколеве середовище
Розведення 1:10 (проба № 1)					
Зразок губки медичної + м/о	48/33	52/45	24/18	35/26	Присутній ріст
Контроль позитивний м/о	63/75	72/84	36/43	32/39	Присутній ріст
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній				
Розведення 1:10 (проба № 2)					
Зразок губки медичної + м/о	49/56	52/60	30/42	42/44	Присутній ріст
Контроль позитивний м/о	56/49	54/55	32/38	44/39	Присутній ріст
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній				
Розведення 1:10 (проба № 3)					
Зразок губки медичної + м/о	52/48	58/52	28/34	38/36	Присутній ріст
Контроль позитивний м/о	58/60	44/56	38/40	44/34	Присутній ріст
Негативний контрольний дослід	Ріст відсутній				

Таблиця 6.6 – Результати дослідження стерильності губок медичних

Зразки	Мікроорганізми					
	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. brasiliensis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Cl. perfringens</i>
Свіжовиготовлені зразки						
Губка медична	ВР	ВР	ВР	ВР	ВР	ВР
Через 27 місяців зберігання						
Губка медична	ВР	ВР	ВР	ВР	ВР	ВР
Примітка. ВР – відсутність росту мікроорганізмів						

На підставі результатів проведених досліджень можна зробити висновок, що усі зразки витримують випробування на стерильність відповідно до вимог ДФУ, як для свіжоприготовлених зразків, так і для зразків у процесі зберігання. При візуальному визначенні не виявлено зростання мікроорганізмів.

Таким чином, використання установки “ИЛУ-6” забезпечує стерильність губок медичних при зберіганні до 27 місяців у пергаментно-целофанових упаковках, які призначені для пакування виробів медичного призначення перед стерилізацією та у процесі зберігання.

Підбиваючи підсумки даного розділу, можна зробити такі висновки:

- на моделі асептичної опікової травми у щурів гель “Кселіогель” забезпечує загоєння рани в коротші терміни порівняно із групою контрольної патології. За лікувальною дією розроблений гель проявляє аналогічну ранозагоювальну дію, як і препарат порівняння, про що свідчить зменшення площі ранової поверхні;

- встановлено, що за параметрами гострої токсичності гель “Кселіогель” та губка медична належать до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини). Результати гістологічних досліджень підтверджують відсутність будь-якої патології внутрішніх органів при застосуванні розроблених засобів;

- проведено дослідження мікробіологічної чистоти гелю “Кселіогель”. Результати мікробіологічних досліджень підтверджують, що розроблений гель відповідає чинним вимогам ДФУ (відсутність бактерій *Enterobacteriaceae*, *S. aureus* та *P. aeruginosa*, загальне число дріжджових і плісневих грибів (ТУМС) не більше 10^1 КУО в 1 г, загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) не більше 10^2 КУО в 1 г);

- результати дослідження стерильності підтверджують, що розроблені губки медичні відповідають чинним вимогам ДФУ щодо стерильності.

Матеріали, що викладені в даному розділі, опубліковані в наукових працях автора [16, 27].

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі вперше науково обґрунтовано, розроблено та експериментально підтверджено склад, технологію, методи аналізу гелю та губок медичних на основі ксенодерми для лікування опіків.

1. Систематизовано та проаналізовано дані літературних джерел щодо патогенезу, клінічних проявів та проблем лікування опіків в Україні та світі. Проведено аналіз асортименту ЛЗ для місцевого лікування опіків на національному фармацевтичному ринку та встановлено, що станом на кінець 2018 р. дана група ЛЗ налічує 105 препаратів різної форми випуску. При порівняльному аналізі асортименту даних ЛЗ на фармацевтичних ринках Росії, Польщі та Франції встановлена наявність препаратів аналогів яким в Україні немає, наприклад губок медичних, пластирів трансдермальних. В проаналізованих країнах, як і в Україні, найбільшу частку займають препарати м'якої форми випуску.

2. Обґрунтовано склад, розроблено технологію водного витягу з кріоліофілізованої ксенодерми, вивчено його фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості. У водному витязі з ксенодерми визначено амінокислотний склад методом ВЕРХ та підтверджено наявність 16 амінокислот у ланцюзі порошок ксенодерми – водний витяг на його основі. Вміст загального білка визначено методом абсорбційної спектрофотометрії у видимій області та запропоновано кількісним критерієм вміст білка не менше 9,5 %.

3. На підставі проведених комплексних досліджень теоретично та експериментально обґрунтовано оптимальний склад гелю: водний витяг з ксенодерми – 10 %, лідокаїну гідрохлорид – 2 %, карбомер Carbopol® “Ultrez 21” – 1 %; трометамол – до рН 6,0, пропіленгліколь – 5 %, спирт фенілетилловий – 0,4 % і вода очищена – до 100,0. Розроблено технологічну схему виробництва і проведено постадійний контроль якості розробленого гелю. За результатами мікробіологічних досліджень підтверджено доцільність та ефективність

введення антимікробного консерванта спирту фенілетилового в концентрації 0,4 %.

4. Маркерами, що підтверджують наявність біологічно активних речовин порошку ксенодерми в розробленому гелі, обрано ідентифікацію амінокислот, наявність яких підтверджено у ланцюзі порошок ксенодерми – водний витяг – гель методом ВЕРХ. Розроблено методики ідентифікації і кількісного визначення лідокаїну гідрохлориду методом ВЕРХ, кількісного визначення білка спектрофотометричним методом у складі розробленого гелю. Кількісним критерієм якості розробленого гелю запропоновано вміст білка – 8,55-10,45 мг/г, вміст лідокаїну гідрохлориду – 18,00-22,00 мг/г гелю. Розроблено методику кількісного визначення консерванту спирту фенілетилового методом газової хроматографії, вміст якого повинен становити 3,6-4,4 мг/г гелю.

5. За допомогою математичного планування експерименту, а саме латинського квадрату 4x4, вивчено вплив двох груп допоміжних речовин (полімери та пластифікатори) та температури приготування ВВ з ксенодерми на фармако-технологічні показники губок медичних. За допомогою симетричного ротатабельного композиційного уніфікованого плану другого порядку вивчено вплив, встановлено взаємозв'язок між вивченими факторами та характеристиками губок медичних. На підставі даних статистичної обробки результатів дослідження запропоновано оптимальний склад губок: хлоргексидину диглюконат – 1,0, желатин медичний – 2,0, пропіленгліколь – 1,0, формальдегід – 0,07, водний витяг з ксенодерми – до 100,0.

6. Вивчено амінокислотний склад у ланцюзі порошок ксенодерми – водний витяг – губка медична. Розроблено методики ідентифікації амінокислот та кількісного визначення хлоргексидину диглюконату в розроблених губках медичних. Кількісним критерієм якості губок медичних запропоновано вміст хлоргексидину диглюконату – 0,9-1,1 % на одну губку.

7. Проведено фармакологічні дослідження розробленого гелю на моделі асептичної опікової травми у щурів. Встановлено, що загоєння ран відбувається за менший період в порівнянні з групою контрольної патології та доведено, що

гель “Кселіогель” проявляє аналогічну до препарату порівняння регенеративну та ранозагоювальну дію. Встановлено, що за параметрами гострої токсичності при нашкірній аплікації гелю та внутрішньо-шлунковому введенні губок медичних вони належать до V класу токсичності за класифікацією Стефанова (практично нетоксичні речовини).

8. В результаті вивчення стабільності та умов зберігання розроблених гелю та губок медичних встановлено, що впродовж досліджуваного терміну зберігання (27 місяців) усі показники якості знаходяться в допустимих межах, які зазначені у відповідних специфікаціях. Розроблено проекти ТР та МКЯ на гель та губки медичні, які апробовано на базі АТ “Галичфарм” корпорації “Артеріум” (акт апробації від 16 жовтня 2019 року) та на базі ТОВ “Інститут біомедичних технологій” (акт апробації від 16 та 19 грудня 2019 року). На основі отриманих даних запропоновано умови зберігання гелю – при температурі 2-8 °С у тубах по 30,0 г у захищеному від світла місці, термін придатності – 2 роки. Для губок медичних запропоновано встановити термін придатності – 2 роки при температурі не вище 25 °С у пергаментно-целофанових упаковках в захищеному від світла місці.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абояиц РК, Истранов ЛП, Истранова ЕВ, Руденко ТГ, изобретатели. Гемостатическая губка Патент РФ № 2385726. 2010 апрель 10.
2. Антонов СФ, Парамонов БА, Никонов БА, Нугаев ТШ, Золина НВ, Потокин ИЛ, и др. Морфологические особенности процессов регенерации ран при лечении коллаген-хитозановыми и желатин-хитозановыми губками. Вестник Северо-Западного государственного университета им. И. И. Мечникова. 2012;4(2):59-62.
3. Атясов ИН, Атясова МЛ. Местное лечение ожогов серебросодержащими препаратами. Сульфаргин – препарат выбора. Хирургия. 2011;(5):66-8.
4. Бавикіна МЛ, Вишневська ЛП, Осолодченко ТП, Мегалінський ВЛ. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки вагінального гелю. Управління, економіка та забезпечення якості в фармацевції. 2016;(1):8-13.
5. Баранова П, Башура ОГ. Експериментальне вивчення фізико-механічних властивостей гелів на основі модифікованого гелеутворювача –Amaze. Вісн. фармацевції. 2010;(1):10-2.
6. Белова ОВ. Иммуотропные препараты из кожи. Разработка методов получения, физико-химическая и иммунобиологическая характеристика и перспектива клинического применения [автореферат дисертації]. Москва: Федеральное государственное учреждение «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины Росздрава»; 2007. 44 с.
7. Березина ЕС, Голованенко АЛ, Алексеева ИВ. Валидация методики количественного определения хлоргексидина биглюконата в геле для лечения кариеса дентина. Международный научно-исследовательский журнал. 2017;(5)(58):133-6.

8. Бігуняк ВВ, Бігуняк НВ, винахідники; Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, заявник і патентовласник Спосіб виготовлення ксенотрансплантатів. Патент України № 66353. 2004 травень 17.

9. Бігуняк ВВ, Повстяний МЮ, Волков КС, Таран ВМ, Нагайчук ВІ, Савчин ВС, та ін., укладачі. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів у комбустіології: методичні рекомендації. Тернопіль; 2003. 21 с.

10. Бігуняк ВВ, Дем'яненко ВВ, Волков КС. Технологізація терапії ранового процесу: перспективи розвитку. Клінічна хірургія. 2009;(11-12):11-3.

11. Білоус СБ, Калинюк ТГ, Гузь НІ. Актуальні питання фармацевтичної розробки м'яких лікарських засобів для зовнішнього застосування. Фармацевтичний журнал. 2010;(2):17-27.

12. Бігуняк ВВ, Гуда НВ, Цимбалюк АВ. Применение криолиофилизированой ксеногенной кожи в лечебных учреждениях Украины. 2 съезд Ассоциации врачей экстренной медицинской помощи, посвященный десятилетию службы экстренной медицинской помощи республики Узбекистан, 2011 окт. 21-22; Ташкент. Ташкент; 2011, с. 49-50.

13. Борщевський ГІ, Лісничук НЄ, Волков КС, Борщевська МІ. Ранозагоювальна дія препарату «Ефіаль». Фармацевтичний часопис. 2013;(3):29-34.

14. Борщевський ГІ, Серединська НМ. Можливість створення органопрепаратів на основі пептидних комплексів. Фармацевтичний журнал. 2013;(5.):58-67.

15. Вонс БВ, Грошовий ТА. Створення м'якої лікарської форми на основі криоліофілізованої шкіри свині для лікування опіків. В: Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2016 листоп. 10-11; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ; 2016, с. 95.

16. Вонс БВ, Грошовий ТА. Фармакологічне обґрунтування вибору активних фармацевтичних інгредієнтів для місцевого лікування опіків на моделі асептичної опікової рани в щурів. Медична та клінічна хімія. 2019;(1):55-2.

17. Вонс БВ, Грошовий ТА, Чубка МБ. Технологічні аспекти губок медичних. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2019 черв. 13-14; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2019; с. 81-2.

18. Вонс БВ, Грошовий ТА, Чубка МБ. Аналіз ринку зареєстрованих в Україні м'яких лікарських засобів, які використовуються у дерматології. В: Матеріали III міжнар. наук.-практ. Internet-конф. Менеджмент та маркетинг у складі сучасної економіки, науки, освіти, практики [Інтернет]. 2015 березень 26-27; Харків. Харків: Вид-во НФаУ; 2015; [цитовано 2019 жовт. 20]; с. 303-4. Доступно з: <https://docplayer.net/77862151-Seriya-nauka-farmaceutichna-nauka-ta-praktika-problemi-dosyagnennya-perspektivi-rozvitku.html>

19. Вонс БВ, Краснокуцький О, Чубка МБ. Використання хроматографічних методів аналізу для дослідження амінокислот у кріоліофілізованій ксенодермі. В: XXIII міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; 2019 квіт. 15-17; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2019; с. 214-5.

20. Вонс БВ, Мельник ЮЯ, Грошовий ТА, Скорохода ВЙ, Чубка МБ. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(2):30-5.

21. Вонс БВ, Стечишин ІП, Грошовий ТА. Фармакоекономічні дослідження опіків в умовах стаціонару. В: Немченко АС, та ін., редактори. Матер. IV Всеукр. наук.-практ. конф. Формування Національної лікарської політики за умов впровадження медичного страхування: питання освіти, теорії та практики; 2019 берез. 12-13; Харків. Харків: Вид-во НфаУ; 2019; с. 218-9.

22. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА винахідники; Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, заявник і патентовласник Спосіб визначення фармако-технологічних показників губок медичних (антисептичних, гемостатичних, стоматологічних). Патент України № 139854. 2020 січень 27.

23. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Бігуняк ВВ, винахідники; Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського,

заявник і патентовласник Фармацевтична композиція у формі гелю нашкірного для місцевого лікування опіків. Патент України № 138600. 2019 грудень 10.

24. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Стечишин П. Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на національному та закордонних ринках. Фармацевтичний журнал. 2019;(4):4-11.

25. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Технологічні аспекти розробки губок гемостатичних. В: Котвіцька АА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України. Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку; 2019 верес. 19-20; Харків. у 2 т. Т. 1. Харків: НФаУ; 2019; с. 107-8.

26. Вонс БВ, Чубка МБ. Доцільність створення нового лікарського засобу для місцевого лікування опіків. В: V наук.-практ. конф. школи молодих науковців ПАТ «Фармак». Наука та сучасне фармацевтичне виробництво; 2017 жовт. 19; Київ. Київ; 2017; с. 17-8.

27. Вонс Б, Чубка М. Скринінг субстанцій для місцевого лікування опіків на моделі асептичної опікової рани у щурів. В: Корда ММ, відпов. редактор. Матеріали XX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2016 квіт. 25-27; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2016; с. 334.

28. Вонс Б, Чубка М. Дослідження асортименту допоміжних речовин, які використовують при виробництві м'яких лікарських форм. В: Матеріали XIX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2015 квіт. 27-29; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига, 2015; с. 342.

29. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Дослідження амінокислот у біологічно активному матеріалі. В: Матеріали II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю. Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку; 2018 квіт. 27; Харків. Харків: НФаУ; 2018; с. 203.

30. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Порівняльне дослідження асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України та Франції. В: Малий ВВ, та ін., редкол. VII

міжнар. наук.-практ. дистанційна конф.; 2019 берез. 21; Харків; Харків: НФаУ, 2019. с. 240.

31. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Проблема лікування опікових травм і характеристика лікарських засобів для місцевого лікування опіків. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. [Інтернет]. 2018 [цитовано 2019 лип. 23];11(1)(26):119-25. Доступно з: <http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/123731/119484>. doi: 10.14739/2409-2932.2018.1.123731

32. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Мельник ЮЯ, Скорохода ВЙ. Реологічні дослідження водного витягу кріоліофілізованої ксенодерми. В: Матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2018 верес. 27-28; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2018; с. 73-4.

33. Георгієвський В, розробник. Настанови з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності: Настанова СТ–Н МОЗУ 42-3.3:2004. Вид. офіц. Київ: МОЗ України; 2004. 59 с. Доступно з: <http://www.zakon.rada.gov.ua>.

34. Герич ІД, Савчин ВС, Ващук ВВ. До питання класифікації опікових уражень шиї. Клінічна хірургія. 2012;(11):11-4.

35. Герич ІД, Савчин ВС, Стояновський ІВ, Барвінська АС, Чемерис ОМ. Нова класифікація опіків голови. Вісник ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія». 2013;13(1):206-210.

36. Гладух ЄВ, Сегі Анан Марсель, Ніколайчук НО. Реологічні дослідження основи гелю з густим екстрактом лопуха. Соціальна фармація в охороні здоров'я. 2017;3(3):21-6.

37. Горлачова ВІ, Вишнеvsька ЛІ. Дослідження ефективності антимікробних консервантів з метою удосконалення складу лікарського косметичного засобу протизапальної дії. Біофармацевтичний журнал. 2016;1(42):16-20.

38. Горчакова НА, Чекман ИС, Данильчук ИВ, Данильчук ВВ, Степанюк ГИ, Зупанец ІА та ін., укладачі. Доклинические исследования лекарственных средств: метод. рекомендации, под ред. А.В. Стефанова. Киев; 2002. 568 с.

39. Государственный реестр лекарственных средств России [Интернет]. [обновлено 2017 январь 29; цитировано 2019 серп. 15]. Доступно з: <http://grls.rosminzdrav.ru/Default.aspx>

40. Грошовий ТА, Марценюк ВП, Кучеренко ЛІ, Вронська ЛВ, Гуреева СМ. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації. Тернопіль: Укрмедкнига; 2008. 368 с.

41. Гуда НВ, Бігуняк АВ. Використання ліофілізованих ксенодермотрансплантатів для лікування дермальних опіків у потерпілих похилого і старечого віку. Шпитальна хірургія. 2007;(3):81-3.

42. Гуда НВ, Бігуняк ТВ, Равлів ЮА. Ліофілізовані ксенодермоімплантанти при лікуванні хворих з опіками. В: Матеріали Всеукраїнської наук.-практ. інтернет-конф. за участю міжнар. спеціалістів. «Соціальна фармація в Україні: стан, проблеми, перспективи» [Интернет]. 2013 квіт. 3–8; Харків. [цитовано 2019 лип. 20]. Доступно з: <http://socpharm.nuph.edu.ua/files/2013/04/12T2-G-B-R.pdf>

43. Давтян ЛЛ, Ващук ВА, Поліщук ЮП. Реологічні дослідження як основа технологічного процесу у разі створення нового лікарського засобу. Фармацевтичний журнал. 2013(4):52-8.

44. Давтян ЛЛ, Воронкіна АС, Чубенко ОВ, Трохимчук ВВ. Розробка методик контролю якості стоматологічних лікарських плівок із хлоргексидином, метронідазолом та глюкозаміном. Фармацевтичний журнал. 2016;(3-4):92-9.

45. Давтян ЛЛ, Попович ВП, Малецька ЗВ, Рева ДВ. Декаметоксин і хлоргексидин на вітчизняному фармацевтичному ринку. Фармацевтичний журнал. 2014;(1):28-33.

46. Дев'яткіна НМ. Вивчення гострої токсичності комбінованого гелю «Ротрин-Дента». Актуальні проблеми сучасної медицини. 2013;13(2):194-9.

47. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Державна Фармакопея України. 2-е вид. Т. 1. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»; 2015. 1128 с.

48. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Державна Фармакопея України. 2-е вид. Т.2. Харків, 2015. 724 с.

49. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Державна Фармакопея України. 2-е вид. Т. 3. Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів»; 2015. 732 с.

50. Державний реєстр лікарських засобів України [Інтернет]. [цитовано 2019 верес. 14]. Доступно з: <http://www.drlz.kiev.ua/>

51. Дроздова АО, Давтян ЛЛ. Піноутворюючі властивості поверхнево-активних речовин. В: Матеріали 4 наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Сучасні досягнення фармацевтичної технології; 2014 жовт.16-17; Харків. Харків: Вид-во НФаУ; 2014; с. 108.

52. Дуллах Арам, Власенко ИА, Давтян ЛЛ, Бирюкова СВ, Войда ЮВ. Изучение фармацевтических факторов, как этап разработки технологии мягкого лекарственного средства. Вопр. биол., мед. и фармацевт. химии. 2015;(4):11-4.

53. Жебровська Ф І, Костюк ГВ, Борщевський ГІ, Борщевська МІ, Бігуняк ВВ, винахідники. Спосіб одержання фармацевтичної композиції роназагоюючої та регенеруючої дії на основі пептидних біорегуляторів. Патент Україна № 66570. 2012 січ. 10.

54. Жебровська ФІ, Костюк ГВ, Борщевський ГІ, Борщевська МІ, Бігуняк ВВ, винахідники. Спосіб отримання фармацевтичної композиції ранозагоюючої та регенеруючої дії на основі пептидів дермального шару шкіри свиней. Патент Україна № 101235. 2013 берез. 11.

55. Зверьков АВ, Зузова АП. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2013;(4):279-85.

56. Иванкова ЮО, Степанова ЄФ, Абисалова ИЛ, Локарев АВ. Разработка мягких лекарственных форм коллагеназы камчатского краба и их фармакологические исследования. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2013;(3):28-30.

57. Инагамов СЯ, Мухамеджанова МЮ, Мухамедов ГИ. Поликомплексные гели на основе натрий карбоксиметилцеллюлозы – новые пролонгаторы лекарственных препаратов. Химия раст. сырья. 2011;(2):51-6.

58. Інститут біомедичних технологій. [Інтернет]. [цитовано 2019 верес. 21]. Доступно з: <https://www.ibt.in.ua/eng/ksenoderm.html>

59. Калинин ОВ. Специфические функции незаменимых аминокислот. Молодежь и наука. 2016;(1):2-3.

60. Клітинні елементи шкіри. [Інтернет]. [цитовано 2019 верес. 21]. Доступно з: <http://medukr.ru/>

61. Ковалев ВВ, Ярных ТГ, Ковалев ВН. Изучение реологических свойств мази с сухим экстрактом листьев тополя китайского. Вестник фармации. 2016;1(71):15-20.

62. Коваленко АО. Застосування термометрії для визначення глибини опіків шкіри. Клінічна хірургія. 2015;(4):66-8.

63. Козинець ГП, Коваленко ОН, Слесаренко СВ. Опікова хвороба. [Інтернет]. [цитовано 2019 лип. 14]. Доступно з: <http://m-l.com.ua/?aid=907>

64. Козинець ГП, Комаров МП, Воронін АВ. Нова концепція розвитку комбустіологічної служби в Україні. Вестник неотложной и восстановительной хирургии. 2014;15(1):6-16.

65. Козинець ГП, Осадча ОІ, Боярська ГМ, Циганков ВП, Назаренко ВМ, Солодкий ЮА. Визначення клінічної ефективності препарату РЕГЕН-Д 150 для місцевого лікування опіків. Клінічна хірургія. 2011;(1):65-8.

66. Корнієнко ВВ, Олешко ОМ. Особливості морфогенезу опікової рани при застосуванні хітозанових плівок у тварин старечого віку. Вісник проблем біології і медицини. 2014;4.1(113):275-80.
67. Крамар СБ, Волков КС, Котик АО. Гістологічні та гістохімічні зміни ушкодженої ділянки шкіри в динаміці після експериментальної термічної травми. Світ медицини та біології. 2014;4(46):182-5.
68. Кран ОС, Башура ОГ, Баранова П. Створення комбінованого гелю для лікування ран у другій фазі ранового процесу. Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. 2015;(4):33-41.
69. Локарев АВ, Огай МА. Разработка и исследование гидрофобной мягкой лекарственной формы с коллагеназой. Биомедицина и социология. 2018;3(2):29-33.
70. Ляпунов М., керівник розробки. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ІСН Q8): Настанова СТ–Н МОЗУ 42-3.0:2011 Вид. офіц. Київ: МОЗ України; 2011. 33 с.
71. Ляпунов АН, Безуглая ЕП, Ляпунов НА, Кирилюк ІА. Исследование гелей с карбомерами методами ротационной вискозиметрии и спиновых зондов. Химико-фармацевтический журнал. 2015;49(9):51-6.
72. Макаров МС, Сторожева МВ, Конюшко ОИ. Влияние концентрации тромбоцитарного фактора роста на пролиферативную активность фибробластов человека. Клеточные технологии в биологии и медицине. 2013;(2):111-5.
73. Малянова ГВ. Аминокислотный и жирнокислотный состав мышечной и жировой тканей у свиней разных пород. Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2012;(1):155-8.
74. Міністерства охорони здоров'я. Про затвердження Класифікатора лікарських форм. [Інтернет]. 2006 [цитовано 2019 лип. 14]. Наказ № 500. 2006 липень 7. Доступно з: <https://www.apteka.ua/article/3482>
75. Міністерство охорони здоров'я України. Про затвердження Переліків назв допоміжних речовин та барвників, що входять до складу лікарського засобу.

[Інтернет]. 2007 [цитовано 2019 лип. 14]. Наказ № 339. 2007 червень 19. Доступно з: <http://mozdocs.kiev.ua/view.php?id=7108>.

76. Міністерство охорони здоров'я України. Нормативно-директивні документи МОЗ України [Інтернет]. [цитовано 2019 лип. 14]. Доступно з: <http://mozdocs.kiev.ua>

77. Небесна ЗМ, Лісничук НЄ, Демків ІЯ. Динаміка змін окисно-відновних реакцій в тканині легень за умов опікової травми та при її корекції субстратом ліофілізованої ксеношкіри Вісник проблем біології і медицини. 2015;4(1):124-8.

78. Онлайн аптека [Інтернет]. [цитовано 2019 лип. 14]. Доступно з: <https://www.superpharm.pl/>

79. Онлайн аптека. [Інтернет]. [цитовано 2019 лип. 14]. Доступно з: <http://www.aleleki.pl/>

80. Онлайн довідник [Інтернет]. [цитовано 2019 лип. 14]. Доступно з: <http://drugslr.com/countries-sales/poland>

81. Павлюк БВ, Лукашів ОЯ, Покришко ОВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки складу комбінованого гелю для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):35-42.

82. Павлюк БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Стечишин ІП. Розробка та дослідження губки медичної/гемостатичної. В: Всеукраїнська наук.-практ. конф. Актуальні питання фармакології та фармакотерапії; 2019 верес 26-27; Тернопіль. Тернопіль; 2019; с. 59-60.

83. Перцев ІА, Дмитрієвський ДІ, Рибачук ВД, Хоменко ВМ, Гудзенко ОП, Котенко ОМ, та ін. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. Харків: Золоті сторінки; 2010. 600 с.

84. Пелех ІР, Білоус СБ. Сучасні підходи до застосування емульгаторів та консервантів у складі дерматологічних лікарських засобів. Фармацевтичний часопис. 2018;(3):52-7.

85. П'ятницький ЮС, Яковлева ЛВ, Кошова ОЮ. Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей субстрату кріоконсервованої шкіри свині. Клінічна фармація. 2013;17(1):56-63.

86. Романюк ТІ. Ультраструктурні особливості репаративних змін у рогівці кролів після її опіків лугом та корекції екстрактом кріоліофілізованої шкіри свині. Вісник проблем біології і медицини. 2015;1(117):231-5.

87. Сайт Управлінням з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів в США [Інтернет]. Доступно з: www.fda.gov/cvm/FOI.

88. Стефанов ОВ, Літвінова НВ, Філоненко-Патрушева МА та ін., укладачі. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Київ, Авіценна; 2001. 528 с.

89. Ханін ВА. Розробка методики кількісного аналізу діючих речовин вагінальних супозиторіїв «Флугедин». Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2010;5(3):170-3.

90. Цимбалюк А.В. Патогенетичні особливості перебігу опікової хвороби за умов її експериментальної терапії подрібненим субстратом кріоліофілізованої ксеношкіри [автореферат дисертації]. Тернопіль: Терноп. держ. мед. у-т; 2013. 20 с.

91. Цимбалюк АВ, Гуда НВ. Антитоксичний феномен кріоліофілізованого ксенодермального субстрату. Медична хімія. 2012;4(2):96-8.

92. Чекман ИС, Сырoвая АО, Новикова ИВ, Макаров ВА, Андреева СВ, Шаповал ЛГ. Аминокислоты – наноразмерные молекулы: клинико-лабораторные исследования: моногр. Киев; Харьков: Щедра садиба плюс; 2014. 154 с.

93. Чорненька Н, Раєцька Я, Савчук О, Остапченко Л. Біохімічні зміни в сироватці крові щурів за умов експериментальної опікової хвороби та їх корекція меланіном. Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. 2016;2:44-8.

94. Чумакова ВА. Разработка состава, фармако-технологические исследования мягкой лекарственной формы фексофенадина антигистаминного

действия [диссертация]. Пятигорск: ФГБОУ ВО Волгоград. гос. мед. у-т Минздрава РФ; 2016. 126 с.

95. Шатова НА, Москалева ЕП, Котелевцева СВ. Полоксамери как инновационные вспомогательные вещества. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2013;(5):37-42.

96. Шканакин ЛГ, Жук ДД, Горбатенко ТП, изобретатели. Гемостатическая, антисептическая и ранозаживляющая губка. Патент РФ № 2226406. 2002 июль 10.

97. Шматенко ВВ. Обґрунтування складу основи з метою створення м'якого лікарського засобу для лікування ранового процесу. Вісник фармації 2014;2(78):20-4.

98. Шостак ТА, Білоус СБ, Гудзь НІ, Калинюк ТГ. Порівняльний аналіз фармакопей провідних країн світу щодо класифікації м'яких лікарських засобів. Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація. 2014;(3-4):136-9.

99. Шостак ТА, Білоус СБ, Гудзь НІ, Калинюк ТГ. Особливості вибору допоміжних речовин для м'яких лікарських форм. Фармацевтичний часопис. 2015;(1):18-21.

100. Шрам НА, Мошці ВФ, Дмитрієвський ДІ. Дослідження стабільності та визначення умов зберігання і терміну придатності мазі «Естан». Фармацевтичний часопис. 2017;(2):59-63.

101. Яковлева ЛВ, Ткачова ОВ, Горбань ОМ. Дослідження ефективності мазі «Біофлорин» на моделі опікової травми у щурів. Клінічна фармація. 2012;16(1):42-7.

102. Яковлева ЛВ, Чорна НС, Половко НП. Вивчення токсикологічних властивостей гелів Клотримазолу, Кетоконазолу та Біфоназолу. Клінічна фармація. 2012;16(1):31-4.

103. Abbas O, Mahalingam M. Epidermal stem cells: practical perspectives and potential uses. Br. J. Dermatol. 2009;161(2):228-36.

104. Agbenorku P, Agbenorku M, Fiifi-Yankson KP. Pediatric burns mortality risk factors in a developing country's tertiary burns intensive care unit. *Int J Burns Trauma*. 2013;(3):151-8.
105. American Burn Association. Burn incidence fact sheet. [Internet]. [cited 2019 Jan 5]. Available from: <http://ameriburn.org/who-we-are/media/burn-incidence-fact-sheet/>. Accessed December 16, 2017.
106. Atiyeh BS, Ibrahim A, Hayek SN. Burn wound cleansing: an efficient evidence-based treatment modality or a ritualistic practice. *J Wound Technol*. 2010;(7):6-10.
107. Azuma K, Izumi R, Osaki T, Ifuku S, Morimoto M, Saimoto H, et al. Chitin, chitosan, and its derivatives for wound healing: old and new materials. *J Funct Biomater*. 2015;(6):104-42
108. Ban KA, Minei JP, Laronga C, Harbrecht BG, Jensen EH, Fry DE, et al. American College of Surgeons and Surgical Infection Society: Surgical Site Infection Guidelines. *J Am Coll Surg*. 2017 Jan;224(1):59-74. doi: 10.1016/j.jamcollsurg.2016.10.029. Epub 2016 Nov 30.
109. Base de données publique des médicaments [Internet]. [cited 2019 Jan 5]. Available from: <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr>
110. Beck B, Blanpain C. Mechanisms regulating epidermal stem cells. *EMBO J*. 2012;31(9):2067-75.
111. Belal TS, Shaalan RA, Haggag RS. Gradient HPLC-diode array detector stability-indicating determination of lidocaine hydrochloride and cetylpyridinium chloride in two combined oral gel dosage forms. *J AOAC Int*. 2011 Mar-Apr;94(2):503-12.
112. Belal TS, Haggag RS. Gradient HPLC-DAD stability indicating determination of miconazole nitrate and lidocaine hydrochloride in their combined oral gel dosage form. *J. Chromatogr Sci*. 2012;50(5):401-9.
113. Bennett BL, Littlejohn LF, Kheirabadi BS, Butler FK, Kotwal RS, Dubick MA, Bailey JA. Management of external hemorrhage in tactical combat casualty care:

chitosan-based hemostatic gauze dressings – TCCC guidelines – Change 13–05. *J Spec Oper Med.* 2014;(14):40-5.

114. Bhagurkar AM, Angamuthu M, Patil H, Tiwari RV, Maurya A, Hashemnejad SM, et al. Development of an Ointment Formulation Using Hot-Melt Extrusion Technology. *AAPS Pharm Sci Tech.* 2016;(17):158-66.

115. Bhasha SA, Khalid SA, S. Duraivel, D. Bhowmik, Kumar KS. Recent trends in usage of polymers in the formulation of dermatological gels. *Indian J Res Pharm Biotec.* 2013;1(2):161-8.

116. Burn Incidence and Treatment in the United States: 2012 Fact Sheet. American Burn Association. [Internet]. [cited 2019 Jan 22]. Available from: http://www.elanix.ch/images/PDFs/Burn_Incidence_and_Treatment_in_the_United_States.pdf

117. Carbopol® Ultrez 21 Polymer, Technical Data Sheet (TDS-297), Lubrizol, Cleveland [Internet] 2002 Nov [cited 2019 Jan 22]. Available from: https://www.ge-iic.com/files/fichas%20productos/Carbopol_Ultrez_21_hoja_tecnica.pdf.

118. Cardoso MA, Fávero ML, Gasparetto JC, Hess BS, Stremel DP, Pontarolo R. Development And Validation Of An Rp-Hplc Method For The Determination Of Chlorhexidine Andp-Chloroaniline In Various Pharmaceutical Formulations. *J LIQ Chromatogr RT.* 2011 Sept;34(15):1556-67. doi:10.1080/10826076.2011.575979

119. Carter NH, Leonard C, Rae L. Assessment of outreach by a regional burn center: could referral criteria revision help with utilization of resources? *J Burn Care Res.* 2017 Sept;39(2):245-51. doi: 10.1097/BCR.0000000000000581.

120. Carvalho FC, Calixto G. Rheological, mechanical and bioadhesive behavior of hydrogels to optimize skin delivery system. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 2013 Nov;39(11):1750-7. doi: 10.3109/03639045.2012.734510. Epub 2012 Dec 6.

121. Casettari L, L. Illum Chitosan in nasal delivery systems for therapeutic drugs. *J Control Release.* 2014 Sep 28;190:189-200. doi: 10.1016/j.jconrel.2014.05.003. Epub 2014 May 10.

122. Centrum Informacji o Leku [Internet]. [cited 2019 Sept 5]. Available from: <http://leki-informacje.pl/rejestracje>

123. Chua AW, Khoo YC, Tan BK, Tan KC, Foo CL, Chong SJ. Skin tissue engineering advances in severe burns: Review and therapeutic applications. *Burns Trauma*. 2016 Feb;(19):4-6. doi: 10.1186/s41038-016-0027-y. eCollection 2016.
124. Clara CA, Marie SK, Almeida JRde. Angiogenesis and expression of PDGF-C, VEGF, CD105 and HIF-1 α in human glioblastoma. *Neuropathology*. 2014 Feb;(26):203-12.
125. Daykin H. The efficacy and safety of intravenous lidocaine for analgesia in the older adult: a literature review. *Br J Pain*. 2017 Feb;11(1):23-31. doi: 10.1177/2049463716676205. Epub 2016 Oct 24.
126. Deng AH, Chen AZ, Wang SB, Li Y, Liu YG, Cheng XX, Zhao Z, Lin DL. Porous nanostructured poly-l-lactide scaffolds prepared by phase inversion using supercritical CO₂ as a nonsolvent in the presence of ammonium bicarbonate particles. *J. Supercrit. Fluids*. 2013;(77):110-6.
127. Dołowy M, Kulpińska-Kucia K, Pyka A. Validation of a Thin-Layer Chromatography for the Determination of Hydrocortisone Acetate and Lidocaine in a Pharmaceutical Preparation. *The Scientific World Journal*. 2014. Article ID 107879, 10. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/107879>
128. Douglas HE, Wood F. Burns dressings. *Aust Fam Physician*. 2017 Mar;46(3):94-7.
129. Enoch S, Roshan A, Shah M. Emergency and early management of burns and scalds. *BMJ*. 2009 Apr 8;338:b1037. doi: 10.1136/bmj.b1037.
130. «Epidermis» (n.d.) Vocabulary.com. [Internet]. [cited 2019 Sept 5]. Available from: <http://www.vocabulary.com/dictionary/epidermis>.
131. European Pharmacopoeia. 7th ed. Council of Europe. Strasbourg; 2011. 3307 p.
132. FDA consults surgical device experts on down-classing certain hemostatic agents [Internet]. [cited 2019 Oct 12]. Available from: <https://www.medtechdive.com/news/fda-consults-surgical-device-experts-on-down-classing-certain-hemostatic-ag/555768/>

133. Gibran NS, Wiechman S, Meyer W, Edelman L, Fauerbach J, Gibbons L, et al. American Burn Association consensus statements. *J Burn Care Res.* 2013;(34):361-5.
134. Gurtner GC, Chapman MA. Regenerative medicine: charting a new course in wound healing. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2016;5(7):314-28.
135. Hashiguchi Y, Yabe R, Chung SH, Murayama MA, Yoshida K, Matsuo K, et al. IL-36 α from skin-resident cells plays an important role in the pathogenesis of imiquimod-induced psoriasiform dermatitis by forming a local autoamplification loop. *J Immunol.* 2018;(201):167-82.
136. Herndon DN. A brief history of acute burn care management [Internet]. *Total Burn Care.* 4th ed. New York: Saunders Elsevier; 2012. [cited 2018 Jan 1]. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781437727869000011>.
137. Hollywood E, O'Neill T. Assessment and management of scalds and burns in children. *Nurs Child Young People.* 2014 Mar;26(2):28-33. doi: 10.7748/ncyp2014.03.26.2.28.e396.
138. Hu Z, Ouyang Q, Cheng Y, Hong P, Liao M, Chen F, Li S. Optimization of preparation process and characterization of carboxymethyl chitosan/sodium alginate hemostatic sponge. *Global Conference on Polymer and Composite Materials (PCM 2017).* [Internet]. 2017 IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 2017:203. [cited 2018 Jan 1]. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/213/1/012045/pdf>. doi:10.1088/1757-899X/213/1/012045
139. Huang L, Zhou B, Wu H, Zheng L, Zhao J. Effect of apatite formation of biphasic calcium phosphate ceramic (BCP) on osteoblastogenesis using simulated body fluid (SBF) with or without bovine serum albumin (BSA). *Mater. Sci. Eng. C.* 2017;(70):955-61.
140. Hussain A, Dunn KW Predicting length of stay in thermal burns: a systematic review of prognostic factors. *Burns.* 2013;(39):1331-40.
141. Hyland EJ, Connolly SM, Fox JA, Harvey JG. Minor burn management: potions and lotions. *Aust Prescr.* 2015 Aug;38(4):124-7.

142. Ikram S, Islamia J M. Chitosan & Its Derivatives: a Review in Recent Innovations. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2015;6(1):14-30.
143. Imani R, Rafienia M, Emami SH. Synthesis and characterization of glutaraldehyde-based crosslinked gelatin as a local hemostat sponge in surgery: an in vitro study. *Biomed Mater Eng.* 2013;23(3):211-24. doi: 10.3233/BME-130745.
144. Inoue Y, Hasegawa M, Maekawa T, Le Pavoux A, Asano Y, Abe M, et al. The wound/burn guidelines - 1: Wounds in general. *J Dermatol.* 2016 Apr;43(4):357-75. doi: 10.1111/1346-8138.13276. Epub 2016 Mar 12.
145. Ishchuk TV, Raetska YaB, Savchuk OM, Ostapchenko LI. Changes in blood protein composition under experimental chemical burns of esophageal development in rats. *Biomedical Research and Therapy.* 2015;2(4):241-9.
146. Jámbor A, Molnár-Perl I. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study. *J Chromatogr A.* 2009 Apr 10;1216(15):3064-77. doi: 10.1016/j.chroma.2009.01.068. Epub 2009 Jan 29.
147. Jámbor A, Molnár-Perl I. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. *J Chromatogr A.* 2009 Aug 21;1216(34):6218-23. doi: 10.1016/j.chroma.2009.06.083. Epub 2009 Jul 7.
148. Jan Misik, Ruzena Pavlikova, Jiri Cabal, Ladislav Novotny, Kamil Kuca. Method of static diffusion cells for assessment of pesticides skin permeation. *Mil. Med. Sci. Lett.* 2011;80:46-51.
149. Jancic-Stojanovic B, Malenovi A, Markovi S, Ivanovi D, Medenica M. Optimization and validation of an RP-HPLC method for analysis of hydrocortisone acetate and lidocaine in suppositories. *J AOAC Int.* 2010 Jan-Feb;93(1):102-7.
150. João De Masi EC, Campos AC, João De Masi FD, Ratti MA, Ike IS, João De Masi RD. The influence of growth factors on skin wound healing in rats. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2016 Sep-Oct;82(5):512-21. doi: 10.1016/j.bjorl.2015.09.011. Epub 2016 Jan 7.

151. Kabiri M, Emami SH, Rafinia M, Tahriri M. Preparation and characterization of absorbable hemostat cross linked gelatin sponges for surgical applications. *Current Applied Physics*. 2011;11(3):457-61. doi:10.1016/j.cap.2010.08.031.
152. Kaur LP, Guleri TK. Topical gel: recent approach for novel drug delivery. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2013;3(17):1-5.
153. Kaushik D, Kamboj S, Kaushik P, Sharma S, Rana AC. Burn wound: Pathophysiology and its management by herbal plants. *Chron Young Sci*. 2013;4(Is.2):86-93. doi: 10.4103/2229-5186.115537.
154. King A, Balaji, Keswani SG, Crombleholme TM. The role of stem cells in wound angiogenesis. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2014;3(10):614-25.
155. Konstantelias AA, Polyzos KA, Falagas ME. Gentamicin-Collagen Sponges for the Prevention of Surgical Site Infections: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Surgical Infections*. 2016;17(5):601-9.
156. Kowalewski M, Pawliszak W, Zaborowska K, Navarese EP, Szwed KA, et al. Gentamicin-collagen sponge reduces the risk of sternal wound infections after heart surgery: Meta-analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2015;149(6):1631-40.e1-6. doi: 10.1016/j.jtcvs.2015.01.034. Epub 2015 Jan 23.
157. Kumar KB, Rajan TV, Begum TN Analytical method development and validation of lidocaine in ointment formulation by U.V spectrophotometric method. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2012;4(2):610-4.
158. Kunito N, Riha GM, Watson KM, Differding JA, Schreiber MA, Watters JM. Chitosan based hemostatic dressing is associated with decreased blood loss in a swine uncontrolled hemorrhage model. *Am J Surg*. 2013 May;205(5):505-10. doi: 10.1016/j.amjsurg.2013.01.014. Epub 2013 Mar 14.
159. Leonard J, Zietlow J, Morris D, Berns K, Eyer S, Martinson K, et al. A multi-institutional study of hemostatic gauze and tourniquets in rural civilian trauma. *J Trauma Acute Care Surg*. 2016 Sep;81(3):441-4. doi: 10.1097/TA.0000000000001115.

160. Liu J-Y, Li Y, Hu Y, Cheng G, Ye E, Shen C, et al. Hemostatic porous sponges of cross-linked hyaluronic acid/cationized dextran by one self-foaming process. *Materials Science and Engineering*. 2018;83(1):160-8.
161. Mane S. Effect of Porogens (Type and Amount) on Polymer Porosity: A Review. *Canadian Chemical Transactions*. 2016;4(2):210-25. doi:10.13179/canchemtrans.2016.04.02.0304
162. Mathews K, Lascelles D, Nolan A, Robertson S, Steagall PV, Wright B, et al. Guidelines for recognition, assessment and treatment of pain. *J Small Anim Pract*. 2014 Jun;55(6):E10-68. doi: 10.1111/jsap.12200. Epub 2014 May 20.
163. Mawhinney AC, Kirk SJ. A systematic review of the use of tourniquets and topical haemostatic agents in conflicts in Afghanistan and J R Nav Med Serv. 2015;101(2):147-54.
164. Melba Sheila D'Souza, Jennifer D'Souza, Subrahmanya Nairy Karkada Foot care education and platelet derived growth factor on wound healing in foot ulcers among adults. *International journal of nutrition, pharmacology, neurological diseases*. 2016;6(3):111-6. doi: 10.4103/2231-0738.184583
165. Miguel SP, Ribeiro MP, Brancal H, Coutinho P, Correia IJ. Thermoresponsive chitosan-agarose hydrogel for skin regeneration. *Carbohydr Polym*. 2014 Oct 13;111:366-73. doi: 10.1016/j.carbpol.2014.04.093. Epub 2014 May 2.
166. Muanprasat C, Chatsudthipong V. Chitosan oligosaccharide: Biological activities and potential therapeutic applications. *Pharmacol Ther*. 2017 Feb;170:80-97. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.10.013. Epub 2016 Oct 20.
167. Nathoo R, Howe N, Cohen G. Skin substitutes: An overview of the key players in wound management. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2014 Oct;7(10):44-8.
168. National Burn Repository 2008-2017 Report. [Internet]. Chicago, IL: American Burn Association; 2017. [cited 2019 Jan 5]. Available from: <https://ameriburn.siteym.com/general/custom.asp?page=NBRReports&DGPCrPg=1&DGPCrSrt=13A>
169. Ngo DH, Vo T-S, Ngo D-N, Kang K-H, Je J-Y, Pham H, et al. Biological effects of chitosan and its derivatives. *Food Hydrocoll*. 2015;51:200-16.

170. Niu Y, Li Q, Ding Y, Dong L, Wang C. Engineered delivery strategies for enhanced control of growth factor activities in wound healing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019 Jun;(146):190-208. doi: 10.1016/j.addr.2018.06.002. Epub 2018 Jun 5.

171. Pan Y, Shi K, Peng C, Wang W, Liu Z, Ji X. Evaluation of hydrophobic polyvinyl-alcohol formaldehyde sponges as absorbents for oil spill. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2014. Jun 11;6(11): 8651-9.

172. Pan Y, Shi K, Liu Z, Wang W, Peng C, Ji X. Synthesis of new kind of macroporous polyvinyl-alcohol formaldehyde based sponges and its water superabsorption performance. *RSC Advances.* [Internet]. 2015, Issue 96. [cited 2018 Apr 3]. Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/getauthorversionpdf/C5RA11958H>.

173. Pavliuk BV, Chubka MB, Hroshovyi TA. The chromatographic determination of the chlorhexidine digluconate in the medical sponges (hemostatic sponges). *Sciences of Europe.* 2019;1(44):13-6.

174. Peck MD. Epidemiology of burns throughout the world. Part I: Distribution and risk factors. *Burns.* 2011 Nov;37(7):1087-100. doi: 10.1016/j.burns.2011.06.005. Epub 2011 Jul 29.

175. Peng YY, Glattauer V, Ramshaw JAM. Stabilisation of Collagen Sponges by Glutaraldehyde Vapour Crosslinking. *Int J Biomater.* 2017;2017:8947823. doi: 10.1155/2017/8947823. Epub 2017 May 9.

176. Plenis A, Konieczna L, Miękus N, Bączek T. Development of the HPLC Method for Simultaneous Determination of Lidocaine Hydrochloride and Tribenoside Along with Their Impurities Supported by the QSRR Approach. *Chromatographia.* 2012;76(5-6):255-65. doi:10.1007/s10337-012-2339-9.

177. Pogorielov M, Kalinkevich O, Deineka V, Garbuzova V, Solodovnik A, Kalinkevich A, et al. Haemostatic chitosan coated gauze: In vitro interaction with human blood and in-vivo effectiveness. *Biomater. Res.* 2015;19(1):1-10.

178. Powar RS, Sudhir BM, Prabhu MD Rajput DU, Mallapur BN. Epidemiological study of pediatric burns at a tertiary care centre in South India. *Int J*

Community Med Public Health. 2016;3:1242-6. doi: <http://dx.doi.org/10.18203/2394-6040.ijcmph20161392>.

179. Richcane A, Samuel CKT, Pius A, Enoch F, Thomas KG, Poku OSP. Bacteriological profile of burn wound isolates in a burns center of a tertiary hospital. *Journal of acute disease*. 2017;6(4):181-6.

180. Rowan MP, Cancio LC, Elster EA, Burmeister DM, Rose LF, Natesan S, et al. Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Crit Care*. 2015 Jun 12;19:243. doi: 10.1186/s13054-015-0961-2.

181. Sampiiev A. M., Davitavian N.A., Nikiforova Ye. B., Yakuba Yu. F. Quantitative determination of 0.05 % chlorhexidine solution by capillary electrophoresis. *Zaporozhye medical journal*. 2019;21(4):517-21.

182. Santos Tde S, Abuna RP, Almeida AL, Beloti MM, Rosa AL. Effect of collagen sponge and fibrin glue on bone repair. *J Appl Oral Sci*. 2015 Nov-Dec;23(6):623-8. doi: 10.1590/1678-775720150374.

183. Sen S, Palmieri T, Greenhalgh D. Review of burn research for the year 2013. *J Burn Care Res*. 2014;35:362-8.

184. Shiow-Ferm Ng, Jennifer J. Rouse, Francis D. Sanderson, Victor Meidan, Gillian M. Eccleston. Validation of a Static Franz Diffusion Cell System for In Vitro Permeation Studies. *AAPS Pharm SciTech*. 2010;11(3):1432-41.

185. Shpichka A, Butnaru D, Bezrukov EA, Sukhanov RB, Atala A, Burdukovskii V, et al. Skin tissue regeneration for burn injury. *Stem Cell Research & Therapy*. [Internet] 2019 [cited 2018 Jan 9];10(1). Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-019-1203-3>. doi: 10.1186/s13287-019-1203-3.

186. Skin & Wound Management. Essentials of Burn Care Burn Wound Management with Prontosan®. [Internet]. [cited 2018 Jan 9]. Available from: <http://www.prontosan.co.uk/docs/Case%20Studies/Burn%20Wound%20Management%20with%20Prontosan.pdf>. Song HF, Chen AZ, Wang SB, Kang YQ, Ye SF, Liu YG, Wu WG. Preparation of Chitosan-Based Hemostatic Sponges by Supercritical Fluid Technology. *Materials (Basel)*. 2014 Mar 27;7(4):2459-73. doi: 10.3390/ma7042459.

187. Sood A, Granick MS, Tomasell NL. Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data. *Advances in Wound Care*. 2014 Aug 1; 3(8):511-29.
188. Son JE, Lee E, Jung SK, Kim JE, Oak MH, Lee KW, et al. Anthocyanidins, novel FAK inhibitors, attenuate PDGF-BB-induced aortic smooth muscle cell migration and neointima formation. *Cardiovasc Res*. 2014 Mar 1;101(3):503-12. doi: 10.1093/cvr/cvt337. Epub 2013 Dec 20.
189. Suginta W, Sirimontree P, Sritho N, Ohnuma T, Fukamizo T. The chitin-binding domain of a GH-18 chitinase from *Vibrio harveyi* is crucial for chitin-chitinase interactions. *Int J Biol Macromol*. 2016 Dec;93(Pt A):1111-17. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.09.066. Epub 2016 Sep 22.
190. Sun W, Chen Y, Yuan W. Hemostatic absorbable gelatin sponge loaded with 5-fluorouracil for treatment of tumors. *International. Int J Nanomedicine*. 2013;8:1499-506. doi: 10.2147/IJN.S41462. Epub 2013 Apr 18.
191. Sun X, Tang Z, Pan M, Wang Z, Yang H, Liu H. Chitosan/kaolin composite porous microspheres with high hemostatic efficacy. *Carbohydr Polym*. 2017 Dec 1;177:135-143. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.08.131. Epub 2017 Sep 1 Subbaiyan H, Ajitha P. Perforation Repair Using Absorbable Collagen Sponge and Biodentine. *J Clin Diagn Res*. 2018. Sep;12(9):1-2. DOI: 10.7860/JCDR/2018/36397.12005
192. Takagi T, Tsujimoto H, Torii H, Ozamoto Y, Hagiwara A. Two-layer sheet of gelatin: A new topical hemostatic agent. *Asian J Surg*. 2018 Mar;41(2):124-30. doi: 10.1016/j.asjsur.2016.09.007. Epub 2016 Nov 2.
193. Thangapazham RL, Darling TN, Meyerle J. Alteration of skin properties with autologous dermal fibroblasts. *Int J Mol Sci*. 2014 May 13;15(5):8407-27. doi: 10.3390/ijms15058407.
194. The United States Pharmacopoeia, 37-th ed. NF 32. New-York: 2014; 5230 p.
195. Vig K, Chaudhari A, Tripathi S, Dixit S, Sahu R, Pillai S, et al. Singh Advances in Skin Regeneration Using Tissue Engineering. *Int J Mol Sci*. 2017 Apr 7;18(4). pii: E789. doi: 10.3390/ijms18040789.

196. Vons BV, Chubka MB. Research of domestic pharmaceutical market of drugs for the local treatment of burns. Topical issues of new drugs development: [abstracts]. In: XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student; 2016 April 21. Vol. 2. Kharkiv: Publishing office nuph; 2016. 418 p.

197. Vons BV, Chubka MB, Groshovyi TA. Comparative study of markets of Ukraine, Poland and Russia on registered medications for local treatment of burns. *Фармацевтичний часопис*. 2016;(1):74-8.

198. Vons BV, Chubka MB, Groshovyi TA. Market analysis of semisolid dosage forms registered in Ukraine and research of excipients included to their formulas. *Фармацевтичний часопис*. 2015;(1):55-61.

199. Vons B, Melnyk Y, Skorokhoda V, Grochovuy T, Chubka M. Research of the rheological properties of the gel based on sodium alginate for the local treatment of burns. 2nd international scientific conference. Chemical technology and engineering; 2019 June 24-28; Lviv. Lviv: Polytechnic National University, 2018. p. 232-34.

200. Vons B, Tryhubchak O, Grochovuy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*. 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-64.

201. Wardhana A, Nindita E. The use of PHMB (polyhexamethylene biguanide) and Betaine Surfactant irrigation solution and gel in burn injuries [Presentation]. In: 15th European Burns Association Congress; 2013 Aug. Vienna; 2013.

202. Yan T, Cheng F, Wei X, Huang Y, He J. Biodegradable collagen sponge reinforced with chitosan/calcium pyrophosphate nanoflowers for rapid hemostasis. *Carbohydr Polym*. 2017 Aug 15;170:271-80. doi: 10.1016/j.carbpol.2017.04.080. Epub 2017 Apr 29.

203. Yim E, Sinha V, Diaz SI, Kirsner RS, Salgado CJ. Wound healing in US medical school curricula. *Wound Repair Regen*. 2014;22(4):467-72.

204. Yoshida T, Yoshida S, Kobayashi M, Herndon DN, Suzuki F. Pivotal advance: Glycyrrhizin restores the impaired production of β -defensins in tissues surrounding the burn area and improves the survival of burn mice to *Pseudomonas aeruginosa* wound infection. *J Leukoc Biol*. 2010;(87):35-41.

205. Zareia F, Soleimanineja M. Role of growth factors and biomaterials in wound healing. *Artif Cells Nanomed Biotechnol.* 2018;46(sup1):906-11.
206. Zbuche A. Up-to-date use of honey for burns treatment. *Ann Burns Fire Disasters.* 2014 Mar;(27):22-30.
207. Zhao F, Liu W, Yu Y, Liu X, Yin H, Liu L, Yi G. Effect of small molecular weight soybean protein-derived peptide supplementation on attenuating burn injury-induced inflammation and accelerating wound healing in a rat model. *RSC Advances.* 2019;(9):1247-59
208. Zuo Y, Lu S. Dermis, acellular dermal matrix, and fibroblasts from different layers of pig skin exhibit different profibrotic characteristics: Evidence from in vivo study. *Oncotarget.* 2017;(8):23613-27.
209. Zuo X. Preparation and Evaluation of Novel Thiourea/Chitosan Composite Beads for Copper (II) Removal in Aqueous Solutions. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2014;53(3):1249-55.

ДОДАТОК А.1



ДОДАТОК А.2



ДОДАТОК Б

Список публікацій аспіранта:

1. Vons BV, Chubka MB, Groshovyi TA. Market analysis of semisolid dosage forms registered in Ukraine and research of excipients included to their formulas. *Фармацевтичний часопис*. 2015;(1):55-61.
2. Vons BV, Chubka MB, Groshovyi TA. Comparative study of markets of Ukraine, Poland and Russia on registered medications for local treatment of burns. *Фармацевтичний часопис*. 2016;(1):74-8.
3. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Проблема лікування опікових травм і характеристика лікарських засобів для місцевого лікування опіків. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2018;11(1)(26):119-25.
4. Vons B, Tryhubchak O, Grochovuy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*. 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-64.
5. Pavliuk BV, Chubka MB, Hroshovyi TA. The chromatographic determination of the chlorhexidine digluconate in the medical sponges (hemostatic sponges). *Sciences of Europe*. 2019;1(44):13-6.
6. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Стечишин ІП. Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на національному та закордонних ринках. *Фармацевтичний журнал*. 2019;(4):4-11.
7. Вонс БВ, Грошовий ТА. Фармакологічне обґрунтування вибору активних фармацевтичних інгредієнтів для місцевого лікування опіків на моделі асептичної опікової рани в щурів. *Медична та клінічна хімія*. 2019;(1):55-62.
8. Вонс БВ, Мельник ЮЯ, Грошовий ТА, Скорохода ВЙ, Чубка МБ. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. *Фармацевтичний часопис*. 2019;(2):30-5.

9. Павлюк БВ, Лукашів ОЯ, Покришко ОВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки складу комбінованого гелю для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):35-42.

10. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА винахідники; Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, заявник і патентовласник Спосіб визначення фармако-технологічних показників губок медичних (антисептичних, гемостатичних, стоматологічних). Патент України № 139854. 2020 січень 27.

11. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Бігуняк ВВ, винахідники; Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, заявник і патентовласник Фармацевтична композиція у формі гелю нашкірного для місцевого лікування опіків. Патент України № 138600. 2019 грудень 10.

12. Вонс БВ, Грошовий ТА, Чубка МБ. Аналіз ринку зареєстрованих в Україні м'яких лікарських засобів, які використовуються у дерматології. В: Матеріали III міжнар. наук.-практ. Internet-конф. Менеджмент та маркетинг у складі сучасної економіки, науки, освіти, практики. 2015 берез. 26-27; Харків. Харків: Вид-во НФаУ; 2015; с. 303-4.

13. Вонс Б, Чубка М. Дослідження асортименту допоміжних речовин, які використовують при виробництві м'яких лікарських форм. В: Матеріали XIX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2015 квіт. 27-29; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2015; с. 342.

14. Vons BV, Chubka MB. Research of domestic pharmaceutical market of drugs for the local treatment of burns. Topical issues of new drugs development: [abstracts]. In: XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student; 2016 April 21. Vol. 2. Kharkiv: Publishing office nuph; 2016; p. 418.

15. Вонс Б, Чубка М. Скринінг субстанцій для місцевого лікування опіків на моделі асептичної опікової рани у щурів. В: Корда ММ, відпов. редактор.

Матеріали XX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених; 2016 квіт. 25-27; Тернопіль. Тернопіль: Укрмедкнига; 2016; с. 334.

16. Вонс БВ, Грошовий ТА. Створення м'якої лікарської форми на основі кріоліофілізованої шкіри свині для лікування опіків. В: Матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2016 листоп. 10-11; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ; 2016; с. 95.

17. Вонс БВ, Чубка МБ. Доцільність створення нового лікарського засобу для місцевого лікування опіків. В: V наук.-практ. конф. школи молодих науковців ПАТ «Фармак». Наука та сучасне фармацевтичне виробництво; 2017 жовт. 19; Київ. Київ; 2017; с. 17-8.

18. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Дослідження амінокислот у біологічно активному матеріалі. В: Матеріали II наук.-практ. інтернет-конф. з міжнар. участю. Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку; 2018 квіт. 27; Харків. Харків: НФаУ; 2018; с. 203.

19. Vons B, Melnyk Y, Skorokhoda V, Grochovyy T, Chubka M. Research of the rheological properties of the gel based on sodium alginate for the local treatment of burns. 2nd international scientific conference. Chemical technology and engineering; 2019 June 24-28; Lviv. Lviv: Polytechnic National University; 2018; p. 232-4.

20. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Мельник ЮЯ, Скорохода ВЙ. Реологічні дослідження водного витягу кріоліофілізованої ксенодерми. В: Матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів; 2018 верес. 27-28; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2018; с. 73-4.

21. Вонс БВ, Стечишин ІП, Грошовий ТА. Фармакоеконімічні дослідження опіків в умовах стаціонару. В: Немченко АС, та ін., редактори. Матер. IV Всеукр. наук.-практ. конф. Формування Національної лікарської політики за умов впровадження медичного страхування: питання освіти, теорії та практики; 2019 берез. 12-13; Харків. Харків: Вид-во НфаУ; 2019; с. 218-9.

22. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Порівняльне дослідження асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків, зареєстрованих на фармацевтичному ринку України та Франції. В: Малий ВВ, та ін., редкол. VII міжнар. наук.-практ. дистанційна конф.; 2019 берез. 21; Харків; Харків: НФаУ; 2019; с. 240.

23. Вонс БВ, Краснокуцький О, Чубка МБ. Використання хроматографічних методів аналізу для дослідження амінокислот у кріоліофілізованій ксенодермі. В: XXIII міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; 2019 квіт. 15-17; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2019; с. 214-5.

24. Вонс БВ, Грошовий ТА, Чубка МБ. Технологічні аспекти губок медичних. Здобутки клінічної та експериментальної медицини; 2019 черв. 13-14; Тернопіль. Тернопіль: ТДМУ «Укрмедкнига»; 2019; с. 81-2.

25. Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Технологічні аспекти розробки губок гемостатичних. В: Котвіцька АА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 20-й річниці заснування Дня фармацевтичного працівника України. Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку; 2019 верес. 19-20; Харків. у 2 т. Т. 1. Харків: НФаУ; 2019; с. 107-8.

26. Павлюк БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Стечишин ІП. Розробка та дослідження губки медичної/гемостатичної. В: Всеукраїнська наук.-практ. конф. Актуальні питання фармакології та фармакотерапії; 2019 верес. 26-27; Тернопіль. Тернопіль; 2019; с. 59-60.

ДОДАТОК В

Відомості про апробацію результатів дисертації:

- III міжнародна науково-практична Internet-конференція «Менеджмент та маркетинг у складі сучасної економіки, науки, освіти, практики». (м. Харків, 26-27 березня 2015 р.) *(публікація)*;
- XIX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; (м. Тернопіль, 27-29 квітня 2015 р.) *(публікація)*;
- XXIII international scientific and practical conference of young scientists and student (Kharkiv, 21 April 2016) *(публікація)*;
- XX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 25-27 квітня 2016 р.) *(публікація)*;
- VI науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.) *(публікація)*;
- V науково-практична конференція школи молодих науковців ПАТ «Фармак». Наука та сучасне фармацевтичне виробництво (м. Київ, 19 жовтня 2017 р.) *(стендова доповідь, публікація)*;
- II науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Фармацевтична наука та практика: проблеми, досягнення, перспективи розвитку» (м. Харків, 27 квітня 2018 р.) *(публікація)*;
- VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р.) *(публікація)*;
- IV Всеукраїнська науково-практична конференція «Формування Національної лікарської політики за умов впровадження медичного страхування: питання освіти теорії та практики» (м. Харків, 12-13 березня 2019) *(публікація)*;

- VII міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Менеджмент та маркетинг у складу сучасної економіки, науки, освіти, практики» (м. Харків, 21 березня 2019 р.) *(публікація)*;
- XXIII міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 15-17 квітня 2019 р.) *(публікація)*;
- науково-практична конференція «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 13-14 червня 2019 р.) *(публікація)*;
- 2nd international scientific conference «Chemical technology and engineering»; (Lviv, 24-28 June 2019) *(публікація)*;
- науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку» (м. Харків, 19-20 вересня 2019 р.) *(публікація)*;
- Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання фармакології та фармакотерапії» (м. Тернопіль, 26-27 вересня 2019 р.) *(доповідь, публікація)*.

ДОДАТОК Г

Характеристика допоміжних речовин

Назва допоміжної речовини	Функціональне призначення	Аналітичні посилання
Карбомер марки 980	гелеутворювач	Ф.США (USP29 – NF24) с. 3295
Карбомер Carbopol [®] “Ultrez 21”	гелеутворювач	Ф.США (USP29 – NF24) с. 2426-2428
Натрію альгінат	гелеутворювач	Ф.США (USP29 – NF24) с. 3420
Ксантанова камедь	гелеутворювач	ЄФ, 6.0., с. 3233-3234
Полоксамер 407	гелеутворювач	ЄФ, 5.0., с. 2264-2265
Метилцелюлоза-15	гелеутворювач	ДФУ, 2.0., Т. 2, с. 447
Желатин медичний	полімер носій	номер CAS – 9000-70-8
Гідроксипропілметил-целюлоза-50	полімер носій	Ф.США (USP29 – NF24) с. 1098
Гідроксиметилцелюлоза	полімер носій	Ф.США (USP29 – NF24) с. 3346
Поліетиленгліколь-400	пластифікатор	ДФУ, 2.0., Т. 2, с. 424-427
Трометамол	регулятор рН	ЄФ, 9.7., с. 3851
Твін-80 (Полісорбат 80)	ПАР, емульгатор, солюбілізатор	ДФУ, 2.0., Т. 2, с. 551
Пропіленгліколь	гелеутворювач, емульгатор, стабілізатор	ДФУ 2.0, Т. 2, с. 563
Гліцерин	зволожуючий і пом'якшуючий агент	ДФУ, 2.0., Т. 2, с. 563
Розчин формальдегіду	структурутворювач	ДФУ, 2.0., Т.2 с. 663
Вода очищена	розчинник для приготування гелів	ДФУ, 2.0., Т. 2, с. 129
Метилпарагідроксибензоат натрію	консервант	ДФУ, 2.0., Т. 2, с. 444
Пропілпарагідроксибензоат натрію	консервант	ДФУ, 2.0., Т. 2, с. 444
Натрію бензоат	консервант	ДФУ, 2.0., Т.2 с. 472
Бензалконій хлорид	консервант	ЄФ, 7.0., с.1461-1463
Спирт фенолетиловий	консервант	Ф.США (USP29 – NF24) с. 1714
Cosgard	консервант	

ДОДАТОК Д

Методика ідентифікації амінокислот в порошку ксенодерми методом ТШХ

Вихідний розчин. 1,0 г подрібненого порошку поміщають в ампулу з термостійкого скла місткістю 20 мл, додають 7,5 мл *води очищеної Р* і 7,5 мл *кислоти хлористоводневої Р*. Ампулу з вмістом охолоджують і заморожують вміст за допомогою рідкого азоту, відкачують повітря та запаюють, після чого поміщають у термостат із постійною температурою 105 ± 5 °С на 24 години. Після вказаного часу ампулу розкривають, попередньо охолодивши її до кімнатної температури. Отриману суспензію фільтрують, фільтрат кількісно переносять за допомогою 20 мл *води очищеної Р* у колбу та випарюють на роторному випарювачі при температурі 50 °С досуха. Упарювання повторюють двічі, щоразу додаючи по 25 мл *води очищеної Р*. Отриманий сухий залишок розчиняють за допомогою 5 мл *води очищеної Р* і кількісно переносять у мірну колбу місткістю 10 мл.

Випробовуваний розчин. 10 мл вихідного розчину.

Розчин порівняння. 5 мг СЗ лейцину, 5 мг СЗ триптофану, 5 мг СЗ тирозину, 5 мг СЗ гліцину, 5 мг СЗ аланіну, 5 мг СЗ глютамінової кислоти розчиняють у *воді Р* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл.

На лінію старту хроматографічної пластинки Silica gel F₂₅₄ наносять окремо 5 мкл випробовуваного розчину і розчину порівняння. Пластинку поміщають у камеру із сумішшю розчинників *кислота оцтова льодяна Р – вода Р – бутанол Р* (20:20:60). Коли фронт розчинників пройде 15 см, пластинку виймають із камери, сушать при температурі 80 °С впродовж 30 хв, обприскують *розчином нінгідрину Р* і нагрівають при температурі від 100 °С до 105 °С впродовж 15 хв. На хроматограмі випробовуваного розчину мають спостерігатися зони лейцину, аланіну, тирозину, глютамінової кислоти, гліцину та триптофану на рівні відповідних зон на хроматограмі розчину порівняння. Крім основних зон допускається наявність інших зон.

ДОДАТОК Е

Методика ідентифікації та кількісного визначення вільних та зв'язаних амінокислот в порошку ксенодерми, водному витязі, гелі та губці методом ВЕРХ

Вихідний розчин для визначення вільних амінокислот: 0,15 г (точна наважка) порошку ксенодерми (водного витягу) поміщають у віалу, додають 4 мл 0,1 М кислоти хлористоводневої Р, укупорюють герметично та витримують віалу в ультразвуковій бані при 50 °С впродовж 3 год. Отриману суміш центрифугують при 5000 об./хв впродовж 5 хв. 0,5 мл надосадової рідини упарюють на роторному випарювачі. Для видалення кислоти хлористоводневої тричі промивають водою очищеною Р, щоразу додаючи 0,5 мл води очищеної Р і випарюючи. Отриманий залишок розчиняють в 0,5 мл води очищеної Р та фільтрують крізь мембранний фільтр із регенованої целюлози (розмір пор – 0,2 мкм).

Вихідний розчин для визначення суми вільних і зв'язаних амінокислот: 0,025 г (точна наважка) порошку ксенодерми (водного витягу, гелю, подрібненої губки) поміщають у віалу, додають 0,5 мл 6 М кислоти хлористоводневої Р і укупорюють герметично. Віалу поміщають в термостат і витримують при 110 °С впродовж 24 год. Отриману суміш розбавляють водою для хроматографії Р до 4,0 мл і центрифугують при 5000 об./хв впродовж 5 хв. 0,5 мл надосадової рідини упарюють на роторному випарювачі. Для видалення кислоти хлористоводневої тричі промивають водою очищеною Р, щоразу додаючи 0,5 мл води очищеної Р і випарюючи. Отриманий залишок розчиняють в 0,5 мл води очищеної Р та фільтрують крізь мембранний фільтр із регенованої целюлози (розмір пор – 0,2 мкм).

Перед введенням проби в хроматографічну колонку в автоматичному програмованому режимі одержують флуоресцентні похідні амінокислот, необхідні для дослідження (передколонкова дериватизація 9-

флуоренілметоксикарбоніл хлоридом (ФМОС) та *o*-фталевим альдегідом (ОФА) [146, 147].

Хроматографічне розділення проводять на рідинному хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, США) з флуоресцентним детектором за таких умов:

- колонка Zorbax AAA довжиною 150 мм з внутрішнім діаметром 4,6 мм, діаметр зерна сорбента – 3 мкм;
- температура термостату колонки – 40 °С;
- мобільна фаза А – 40 ммоль/л Na₂HPO₄, рН 7,8;
- мобільна фаза В – ацетонітрил: метанол: вода (45:45:10, об/об/об);
- інжекція – 0,5 мкл.
- швидкість рухомої фази – 1,5 мл/хв, режим елюювання – градієнтний (схема додається)

Час, хв	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0-2	100	0
2-17	100 → 44	0 → 56
17-20	44 → 0	56 → 100
20-22	0	100
22-24	0 → 100	100 → 0
24-26	100	0

Детектування здійснюють у наступному режимі:

Час, хв	Довжина хвилі збудження, нм	Довжина хвилі випромінювання (емісії/детектування), нм
0 → 15	340	450
15 → 26	266	305

Розрахунок вмісту амінокислот (X, мкг/мг) проводять за формулою:

$$X = (C \cdot V_{\text{розч}}) / m_{\text{преп}}, \text{ де}$$

C – концентрація, отримана із розрахунку за хроматограмами розчину порівняння і випробовуваного розчину, в мкг/мл;

V_{розч} – об'єм розчинника, використаний при отриманні вихідного розчину, мл;

m_{преп} – маса наважки препарату, взятого для аналізу, мг.

ДОДАТОК Ж

Методика визначення кількісного вмісту білка у водному витязі з порошку ксенодерми, у гелі

Усі реактиви готують відповідно до вимог статті ДФУ “Загальний білок” (ДФУ 2.0., Т. 1, п 2.5.33 С. 238).

Вихідний розчин. 0,3 г водного витягу (0,2 г гелю) поміщають в колбу, розчиняють в 5 мл води Р (10 мл води Р для гелю).

Холостий розчин. Використовують буферний розчин, що застосовується для приготування випробовуваного розчину та розчину порівняння.

Побудову градувального графіка проводять за розчинами порівняння.

Розчин порівняння. 5 мг стандартного зразка ліофілізованого бичачого сироваткового альбуміну розчиняють у 5 мл 0,9 % розчині натрію хлориду. Аліквоти отриманого розчину розводять тим самим розчинником для отримання не менше п'яти розчинів порівняння з концентраціями білка, рівномірно розподіленими у діапазоні від 0,155 до 5 мг/мл. До 0,5 мл кожного з отриманих розчинів додають 2,5 мл реактиву міді лужної, витримують при кімнатній температурі протягом 10 хв. Потім додають 0,25 мл фосфорно-молібденового реактиву розведеного, перемішують, витримують при кімнатній температурі протягом 30 хв.

Випробовуваний розчин. До 0,5 мл вихідного розчину додають 2,5 мл реактиву міді лужної, витримують при кімнатній температурі 10 хв. Потім додають 0,25 мл фосфорно-молібденового реактиву розведеного, перемішують, витримують при кімнатній температурі 30 хв.

Компенсаційний розчин. До 0,5 мл холостого розчину додають 2,5 мл реактиву міді лужної, витримують при кімнатній температурі 10 хв. Потім додають 0,25 мл фосфорно-молібденового реактиву розведеного, перемішують, витримують при кімнатній температурі 30 хв.

Оптичну густина випробовуваного розчину та розчину порівняння вимірюють через 30 хв після приготування за довжини хвилі 500 ± 2 нм. За

результатами вимірювання оптичної густини розчинів порівняння будують градувальний графік, використовуючи який і на основі значення оптичної густини випробовуваного розчину визначають концентрацію білка у ньому.

Вміст білка (X) в мг/г визначають за формулою:

$$X = c \cdot V / m, \text{ де}$$

c – концентрація білка, визначена за градувальним графіком, мг/мл;

V – об'єм випробовуваного розчину, мл;

m – маса наважки, взятої для аналізу, г.

ДОДАТОК К

Таблиця К.1 – Результати дослідження лінійності методики визначення лідокаїну гідрохлориду

№ п/п	$C_i \times 10^4$, г/мл	$C_{\text{норм}}$, %	$S_{\text{вимір}}$	$S_{\text{норм}}$	Критеріальні вимоги і прийнятність	
1	1,06	80	0,26	80,10	Рівняння прямої: $S_{\text{норм}} = 0,9983 \cdot C_{\text{норм}} + 0,1903$ Тангенс кута нахилу: $b = 0,9983$ Точка перетину з віссю ординат: $a = 0,1903$ Коефіцієнт кореляції: $r = 0,9999$	
2	1,38	85	0,34	85,14		
3	1,70	90	0,42	89,90		
4	2,01	95	0,50	94,85		
5	2,12	100	0,53	100,26		
6	2,23	105	0,55	104,95		
7	2,54	110	0,63	110,05		
8	2,86	115	0,71	114,92		
9	3,18	120	0,79	120,04		
Коефіцієнт кореляції: $r = 0,9999$					$r > 0,9690$	виконується
Залишкова дисперсія $S_0^2 = 0,0163$ Залишкове стандартне відхилення $S_0 = 0,1275$					$S_0/b \leq 3,378$	виконується
Довірчий інтервал константи a : $\Delta_a = 0,6298$ $a = 0,0063$					$> a \leq 10,240$	виконується за критеріями статистичної і практичної незначущості

Таблиця К.2 – Результати дослідження правильності та збіжності методики визначення лідокаїну гідрохлориду

№ з/п	C_i введене, %	C_i знайдене, %	$Z = C_i \text{ знайдене} \cdot 100 / C_i \text{ введене}, \%$
1	80	80,10	100,13
2	85	85,14	100,16
3	90	89,90	99,89
4	95	94,85	99,84
5	100	100,26	100,26
6	105	104,95	99,95
7	110	110,05	100,05
8	115	114,92	99,93
9	120	120,04	100,03
Середнє арифметичне, \bar{Z}			100,03
Відносне стандартне відхилення, S_z			0,1401
Односторонній довірчий інтервал, Δ_z			0,2603
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_z \% \leq 6,4$			виконується
Критерій статистичної незначущості систематичної похибки $\delta \% = \bar{Z} - 100 \leq \Delta_z / \sqrt{n}$		$\leq 0,087$	виконується
Критерій практичної незначущості систематичної похибки $\delta \% = \bar{Z} - 100 \leq 0,32 \cdot \Delta_{AS}$		$\leq 2,0480$	виконується
Загальний висновок про методику			коректна

Таблиця К.3 – Дисперсійний аналіз експериментальних даних фармако-технологічних показників губок медичних

Джерело дисперсії (Фактор)	Число ступенів свободи	Суми квадратів	Середні квадрати	$F_{\text{експ}}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
1	2	3	4	5	6	7
$y_1 - \text{pH}$						
Фактор А	3	1,308359	0,43612	12,54457	4,76	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	0,600859	0,200286	5,761049	4,76	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	0,207109	0,069036	1,985768	4,76	$\gamma_k = 0$
Залишок (взаємодія)	6	1,186719	0,197786	5,689139	4,76	$\text{res} \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,55625	0,034766	-	-	-
Загальна сума	31	3,859297	-	-	-	-
$y_2 - \text{зовнішній вигляд}$						
Фактор А	3	19,625	6,541667	34,88889	4,76	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	2,125	0,708333	3,777778	4,76	$\beta_j = 0$
Фактор С	3	5,125	1,708333	9,111111	4,76	$\gamma_k \neq 0$
Залишок (взаємодія)	6	10	1,666667	8,888889	4,76	$\text{res} \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	3	0,1875	-	-	-
Загальна сума	31	39,875	-	-	-	-
$y_3 - \text{вологопоглинання}$						
Фактор А	3	3808964	1269655	92338,53	4,76	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	143805,3	47935,08	3486,188	4,76	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	615181,8	205060,6	14913,5	4,76	$\gamma_k \neq 0$
Залишок (взаємодія)	6	344888,8	57481,46	4180,47	4,76	$\text{res} \neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	220	13,75	-	-	-
Загальна сума	31	4913060	-	-	-	-
$y_4 - \text{час повного розчинення}$						
Фактор А	3	97212957	32404319	14619,38	4,76	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	109329,6	36443,2	16,44154	4,76	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	795652,1	265217,4	119,6542	4,76	$\gamma_k \neq 0$
Залишок (взаємодія)	6	631644,2	105274	47,49495	4,76	$\text{res} \neq 0$

Продовження таблиці К.3

1	2	3	4	5	6	7
Похибка всередині клітинки	16	35464,5	2216,531	-	-	-
Загальна сума	31	98785047	-	-	-	-
y_5 – товщина						
Фактор А	3	0,34965	0,11655	93,24	4,76	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	0,02865	0,00955	7,64	4,76	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	0,03265	0,010883	8,706667	4,76	$\gamma_k \neq 0$
Залишок (взаємодія)	6	0,1058	0,017633	14,10667	4,76	res $\neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,02	0,00125	-	-	-
Загальна сума	31	0,53675	-	-	-	-
y_6 – втрата в масі						
Фактор А	3	35,77616	11,92539	588,6355	4,76	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	36,38146	12,12715	598,5946	4,76	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	10,03441	3,344803	165,099	4,76	$\gamma_k \neq 0$
Залишок (взаємодія)	6	102,1641	17,02735	840,4676	4,76	res $\neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,32415	0,020259	-	-	-
Загальна сума	31	184,6803	-	-	-	-
D – функція бажаності						
Фактор А	3	0,187065	0,062355	935,0306	4,76	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	0,002783	0,000928	13,91288	4,76	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	3	0,003242	0,001081	16,20408	4,76	$\gamma_k \neq 0$
Залишок (взаємодія)	6	0,005522	0,00092	13,80137	4,76	res $\neq 0$
Похибка всередині клітинки	16	0,001067	6,67E-05	-	-	-
Загальна сума	31	0,19968	-	-	-	-

Таблиця К.4 – Регресійний аналіз експериментальних даних фармако-технологічних показників губок медичних (ANOVA)

Джерело дисперсії (Фактор)	Число ступенів свободи (df)	Суми квадратів	Середні квадрати	F _{експ}	p-value	Гіпотеза H ₀
1	2	3	4	5	6	7
y ₁ – рН						
Model	6	0,1735	0,0289	3,24	0,0358	
Фактор А	1	0,0003	0,0003	0,0381	0,8482	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	0,0041	0,0041	0,4584	0,5102	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	0,0953	0,0953	10,68	0,0061	$\gamma_k \neq 0$
АВ	1	0,0612	0,0612	6,86	0,0212	
АС	1	0,0013	0,0013	0,1401	0,7142	
ВС	1	0,0112	0,0112	1,26	0,2818	
Residual	13	0,1160	0,0089			
Залишок (взаємодія)	8	0,0827	0,0103	1,55	0,3266	res = 0
Похибка всередині клітинки	5	0,0333	0,0067			
Загальна сума	19	0,2895				
y ₂ – відсоток вологопоглинання						
Model	9	2,201E+06	2,445E+05	6,42	0,0038	
Фактор А	1	42190,97	42190,97	1,11	0,3172	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	52903,84	52903,84	1,39	0,2657	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	3,638E+05	3,638E+05	9,56	0,0114	$\gamma_k \neq 0$
АВ	1	312,50	312,50	0,0082	0,9296	
АС	1	15312,50	15312,50	0,4023	0,5401	
ВС	1	52812,50	52812,50	1,39	0,2661	
A ²	1	1,028E+06	1,028E+06	27,01	0,0004	
B ²	1	76049,89	76049,89	2,00	0,1879	
C ²	1	7,977E+05	7,977E+05	20,96	0,0010	
Residual	10	3,806E+05	38059,84			res = 0
Залишок (взаємодія)	5	2,618E+05	52369,68	2,21	0,2029	
Похибка всередині клітинки	5	1,188E+05	23750,00			
Загальна сума	19	2,581E+06				
y ₃ – ступінь деградації						
Model	9	5713,14	634,79	43,06	<0,0001	
Фактор А	1	5366,70	5366,70	364,06	<0,0001	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	1	0,0055	0,0055	0,0004	0,9850	$\beta_j \neq 0$
Фактор С	1	67,91	67,91	4,61	0,0574	$\gamma_k \neq 0$
АВ	1	1,13	1,13	0,0763	0,7880	

Продовження таблиці К.4

1	2	3	4	5	6	7
AC	1	6,13	6,13	0,4155	0,5337	
BC	1	3,13	3,13	0,2120	0,6551	
A ²	1	151,69	151,69	10,29	0,0094	
B ²	1	5,99	5,99	0,4063	0,5382	
C ²	1	83,87	83,87	5,69	0,0383	
Residual	10	147,41	14,74			res ≠ 0
Залишок (взаємодія)	5	136,08	27,22	12,01	0,0082	
Похибка всередині клітинки	5	11,33	2,27			
Загальна сума	19	5860,55				
y ₅ –товщина						
Model	9	0,3908	0,0434	6,10	0,0046	
Фактор А	1	5,551E-17	5,551E-17	7,797E-15	1,0000	α _i ≠ 0
Фактор В	1	0,0117	0,0117	1,65	0,2285	β _j ≠ 0
Фактор С	1	0,1128	0,1128	15,84	0,0026	γ _k ≠ 0
AB	1	0,0050	0,0050	0,7023	0,4216	
AC	1	0,0050	0,0050	0,7023	0,4216	
BC	1	0,0450	0,0450	6,32	0,0307	
A ²	1	0,0976	0,0976	13,71	0,0041	
B ²	1	0,0081	0,0081	1,14	0,3102	
C ²	1	0,0850	0,0850	11,94	0,0062	
Residual	10	0,0712	0,0071			res = 0
Залишок (взаємодія)	5	0,0429	0,0086	1,51	0,3303	
Похибка всередині клітинки	5	0,0283	0,0057			
Загальна сума	19	0,4620				
y ₆ –час повного розчнення						
Model	9	9636,28	1070,70	118,61	<0,0001	
Фактор А	1	8578,05	8578,05	950,25	<0,0001	α _i ≠ 0
Фактор В	1	12,99	12,99	1,44	0,2580	β _j ≠ 0
Фактор С	1	6,48	6,48	0,7181	0,4166	γ _k ≠ 0
AB	1	10,13	10,13	1,12	0,3145	
AC	1	66,13	66,13	7,33	0,0221	
BC	1	153,13	153,13	16,96	0,0021	
A ²	1	710,08	710,08	78,66	<0,0001	
B ²	1	9,98	9,98	1,11	0,3178	
C ²	1	157,62	157,62	17,46	0,0019	
Residual	10	90,27	9,03			res ≠ 0
Залишок (взаємодія)	5	78,94	15,79	6,97	0,0264	
Похибка всередині клітинки	5	11,33	2,27			
Загальна сума	19	9726,55				

Продовження таблиці К.5

1	2	3						4					
<i>Кількісний вміст: -загальний білок,</i>	8,55-10,45 мг/г	9,24± 0,02	9,04± 0,01	8,97± 0,02	9,00± 0,01	9,05± 0,03	8,90± 0,01	9,05± 0,02	9,07± 0,02	9,04± 0,03	8,95± 0,01	8,55± 0,11	8,00± 0,10
<i>- лідокаїну гідрохлорид,</i>	18,00-22,00 мг/г	20,01± 0,02	20,01 ±0,01	20,05 ±0,02	19,98 ±0,02	19,90 ±0,01	19,95 ±0,01	20,01 ±0,02	20,10 ±0,03	20,08 ±0,01	19,95 ±0,04	18,70 ±0,03	17,65 ±0,02
<i>- спирт фенілетиловий</i>	3,6-4,4 мг/г	4,03± 0,05	4,04± 0,01	4,04± 0,04	3,99± 0,01	3,89± 0,06	3,65± 0,04	4,01± 0,01	3,99± 0,01	3,87± 0,02	3,67± 0,05	3,48± 0,04	3,00± 0,06
<i>pH</i>	6,0-7,5	6,5±0,20	6,5± 0,24	6,3± 0,11	6,4± 0,11	6,4± 0,22	6,0± 0,22	6,8± 0,20	6,8± 0,20	6,6± 0,10	6,5± 0,20	6,2± 0,10	5,5± 0,20
<i>Маса вмісту туби, г</i>	Допустимі відхилення від номінальної маси 1,2 г (від 28,8 г до 31,2 г)	30,0±0,6	30,2± 0,6	30,3± 0,2	30,0± 0,4	30,1± 0,3	29,5± 0,6	30,0± 0,6	30,1± 0,4	30,0± 0,6	30,4± 0,4	29,5± 0,5	29,4± 0,4
Примітка 1. "+" – відсутні зміни під час зберігання. Примітка 2. "-" – наявні зміни під час зберігання.													

Таблиця К.6 – Оцінка показників якості губок медичних у процесі зберігання (n=5, P=95 %)

Назва показника	Вимоги МКЯ	Термін придатності, місяці												
		Початок	6	12	18	24	27	Початок	6	12	18	24	27	
		Зразки, які зберігались у прохолодному місці						Зразки, які зберігались при кімнатній температурі						
<i>Зовнішній вигляд</i>	Однорідні, м'які, з пористою структурою, пластичні та пухкі	Однорідні, м'які, з пористою структурою, пластичні та пухкі	+	+	+	+	+	+	Однорідні, м'які, з пористою структурою, пластичні та пухкі	+	+	+	+	+
<i>Колір</i>	Повинен відповідати кольору виробу	Білий	+	+	+	+	+	Білий	+	+	+	+	+	
<i>Вологопоглинання, %</i>	Не менше 2500 %	Не менше 2500 %	+	+	+	+	+	Не менше 2500 %	+	+	+	+	+	
<i>Ідентифікація: амінокислот; хлоргексидину диглюконат</i>	Співпадають із часом утримання піків розчину порівняння	Співпадають із часом утримання піків розчину порівняння	+	+	+	+	+	Співпадають із часом утримання піків розчину порівняння	+	+	+	+	+	
<i>Кількісний вміст: хлоргексидину диглюконат</i>	0,9-1,0 %	1,01±0,05	1,01±0,04	0,99±0,02	1,01±0,01	1,01±0,01	0,98±0,03	1,02±0,01	1,01±0,02	1,03±0,03	1,00±0,01	0,97±0,01	0,98±0,03	
<i>Наявність формальдегіду, ацетону, етанолу</i>	Відсутні	Відсутні	-	-	-	-	-	Відсутні	-	-	-	-	-	
<i>pH</i>	6,5-7,5	6,5±0,20	6,8±0,20	6,8±0,20	6,8±0,30	6,8±0,30	6,8±0,20	6,8±0,20	6,8±0,20	6,7±0,20	6,6±0,30	6,6±0,30	6,5±0,20	
<i>Стерильність</i>	Стерильні	Стерильні	+	+	+	+	+	Стерильні	+	+	+	+	+	
<i>In vitro деградація</i>	Не більше 72 годин	Не більше 72 годин	+	+	+	+	+	Не більше 72 годин	+	+	+	+	+	
Примітка 1. "+" – відсутні зміни під час зберігання; Примітка 2. "-" – наявні зміни під час зберігання.														

ДОДАТОК Л.1



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медичного
університету,

д.м.н., професор. Візір В.А.

2019 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Назва пропозиції для впровадження: Розробка складу та технології лікарського засобу на основі ксенодерми для лікування опіків

Установа, його адреса, виконавці: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків, 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36, аспірант Б. В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т. А. Грошовий.

Джерела інформації:

Vons B., Tryhubchak O., Grochovuy T., Chubka M., Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. International. Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-64.

Vons B.V., Chubka M.B., Groshovyi T.A. Market analysis of semisolid dosage forms registered in Ukraine and research of excipients included to their formulas. Фармацевтичний часопис. 2015;(1):55-61.

Вонс Б.В., Мельник Ю.Я., Грошовий Т.А., Скорохода В.Й., Чубка М.Б. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(2):30-35.

Впроваджено: У навчальний процес кафедри технології ліків при вивченні теми з промислової технології лікарських засобів «Виробництво м'яких і твердих лікарських засобів» згідно протоколу № 12 засідання кафедри від «17» 12 2019 р.

Термін впровадження: з грудня 2019

Ефективність впровадження: Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри технології ліків,
доктор фармацевтичних наук, професор

В.В.Гладишев

ДОДАТОК Л.2



ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету
проф. Загайко А. Л.

03 » 10 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології лікарського засобу на основі ксенодерми для лікування опіків
2. **Установа, його адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків, 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36, аспірант Б. В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т. А. Грошовий.
3. **Джерела інформації:**
 - Pavliuk BV, Chubka MB, Hroshovyi TA. The chromatographic determination of the chlorhexidine digluconate in the medical sponges (hemostatic sponges). Sciences of Europe. 2019;1(44):13-16.
 - Вонс БВ, Мельник ЮЯ, Грошовий ТА, Скорохода ВЙ, Чубка МБ. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(2):30-35.
 - Vons B, Tryhubchak O, Grochovuy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. International. Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-664.
4. **Ким і коли впроваджено:** у навчальний процес кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету при вивченні дисципліни «Промислова технологія лікарських засобів».
5. **Форма впровадження:** у лекційний курс і при проведенні лабораторних та семінарських занять за темами «Виробництво м'яких лікарських засобів. Мазі. Гелі. Лініменти. Пасты. Технологічна схема виробництва. Обладнання. Контроль якості згідно з ДФУ» (дисципліна «Промислова технологія лікарських засобів»).
6. **Термін впровадження:** січень 2020 р.
7. **Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри.
8. **Зауваження, пропозиції:** немає.

Відповідальний за впровадження:

доцент кафедри ЗТЛ НФаУ

Ю. С. Маслій

Завідувач кафедри ЗТЛ НФаУ

д.фарм.н., проф.

О. А. Рубан

ДОДАТОК Л.3

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
Івано-Франківського національного
медичного університету,
проф. М. Барстенюк


2020р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології лікарського засобу на основі ксенодерми для лікування опіків
2. **Установа, його адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків, 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36, аспірант Б.В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т. А. Грошовий.
3. **Джерела інформації:**
 - Вонс Б.В., Чубка М.Б., Грошовий Т.А. Проблема лікування опікових травм і характеристика лікарських засобів для місцевого лікування опіків Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2018;11(1)(26):119-125.
 - Vons BV, Chubka MB, Groshovi TA. Comparative study of markets of Ukraine, Poland and Russia on registered medications for local treatment of burns. Фармацевтичний часопис. 2016;(1):74-78.
 - Павлюк Б.В., Лукашів О.Я., Покришко О.В., Чубка М.Б., Грошовий Т.А. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки складу комбінованого гелю для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):35-42.
 - Вонс Б.В., Чубка М.Б., Грошовий Т.А., Стечишин І.П. Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на національному та закордонних ринках. Фармацевтичний журнал. 2019;(4):4-11.
4. **Ким і коли впроваджено:** у робочий процес кафедри організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету.
5. **Форма впровадження:** У навчальний процес кафедри (лекційний курс, лабораторні заняття) при вивчені теми "М'які лікарські засоби", "Асептика, лікарські форми що потребують асептичних умов приготування"
6. **Термін впровадження:** *листопад 2020р.*
7. **Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри організації та економіки
фармації і технології ліків,
Івано-Франківського національного
медичного університету
д. фарм. н., професор



Д.В. Семенів

ДОДАТОК Л.4

ЗАТВЕРДЖЕНО



Проректор з наукової роботи
Вінницького національного
медичного університету
ім. М. І. Пирогова
професор О.В. Власенко
"01" 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології лікарського засобу на основі ксенодерми для лікування опіків
2. **Установа, його адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків, 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36, аспірант Б. В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т. А. Грошовий.
3. **Джерела інформації:**
 - Вонс БВ, Мельник ЮЯ, Грошовий ТА, Скорохода ВЙ, Чубка МБ. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(2):30-35.
 - Pavliuk BV, Chubka MB, Hroshovyi TA. The chromatographic determination of the chlorhexidine digluconate in the medical sponges (hemostatic sponges). Sciences of Europe. 2019;1(44):13-16.
 - Vons B, Tryhubchak O, Grochovuy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. International. Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2018 July-Sep;12(3) (Supp 1):657-664.
4. **Ким і коли впроваджено:** у навчальний процес кафедри фармації Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова.
5. **Форма впровадження:** У навчальний процес кафедри (лекційний курс, практичні заняття) при вивченні тем "М'які лікарські засоби", "Асептика, лікарські форми що потребують асептичних умов приготування"
6. **Термін впровадження:** жовтень–грудень 2019 р. (протокол № 12 від 13.01.2020 р.)
7. **Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри.

Завідувач кафедри фармації
Вінницького національного
медичного університету ім. М.І. Пирогова
доктор фарм. наук., доцент

О.В. Кривов'яз

ДОДАТОК Л.5

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Тернопільського національного

медичного університету

ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України

д. біол. н., проф. І.М. Кліщ



2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Фармацевтична розробка лікарських засобів на основі ксенодерми для лікування опіків
2. **Установа, його адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків, 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36, аспірант Б.В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т. А. Грошовий.
3. **Джерела інформації:**
 - Pavliuk BV, Chubka MB, Hroshovyi TA. The chromatographic determination of the chlorhexidine digluconate in the medical sponges (hemostatic sponges). *Sciences of Europe*. 2019;1(44):13-16.
 - Vons B, Tryhubchak O, Grochovuy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*. 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-664.
 - Вонс БВ, Чубка МБ, Грошовий ТА, Стечишин ІП. Порівняльний аналіз асортименту лікарських засобів для місцевого лікування опіків на національному та закордонних ринках. *Фармацевтичний журнал*. 2019;(4):4-11.
 - Вонс БВ, Грошовий ТА. Фармакологічне обґрунтування вибору активних фармацевтичних інгредієнтів для місцевого лікування опіків на моделі асептичної опікової рани в щурів. *Медична та клінічна хімія*. 2019;(1):55-62.
4. **Ким і коли впроваджено:** у навчальний процес кафедри фармації факультету післядипломної освіти Тернопільського національного медичного університету МОЗ України.
5. **Форма впровадження:** У навчальний процес кафедри (семінарські заняття) при вивченні теми "Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти м'яких лікарських форм".
6. **Термін впровадження:** з січня 2019 р.
7. **Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації ФПО
д-р. біол. н., проф.

Фіра Л.С.

ДОДАТОК Л.6

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи
Донецького національного медичного
університетудоктор медичних наук
професор Чернишов С.

« 05 » 02 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології лікарського засобу на основі ксенодерми для лікування опіків
2. **Установа, його адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків, 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36, аспірант Б. В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т. А. Грошовий.
3. **Джерела інформації:**
 - Вонс БВ, Мельник ЮЯ, Грошовий ТА, Скорохода ВЙ, Чубка МБ. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(2):30-35.
 - Pavliuk BV, Chubka MB, Hroshovyi TA. The chromatographic determination of the chlorhexidine digluconate in the medical sponges (hemostatic sponges). Sciences of Europe. 2019;1(44):13-16.
 - Vons B, Tryhubchak O, Grochovyy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. International. Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-664.
4. **Ким і коли впроваджено:** у робочий процес кафедри фармації та фармакології Донецького національного медичного університету
5. **Форма впровадження:** У навчальний процес кафедри (лекційний курс, лабораторні заняття) при вивчені теми "М'які лікарські засоби", "Асептика, лікарські форми що потребують асептичних умов приготування"
6. **Термін впровадження:**
7. **Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри.

Завідувач кафедри фармації та фармакології
Донецького національного медичного університету
доктор фармацевтичних наук, професор

В.М. Хоменко

ДОДАТОК Л.7

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного
медичного університету
імені Данила Галицького
чл. кор. НАМН України
проф. М. Р. Гжегоцький

«19» 01 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. *Назва пропозиції для впровадження:* Розробка складу та технології лікарського засобу на основі ксенодерми для лікування опіків.
2. *Установа, його адреса, виконавці:* Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків; 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36; аспірант Б.В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т.А. Грошовий.
3. *Джерела інформації:*
 - Вонс Б.В., Мельник Ю.Я., Грошовий Т.А., Скорохода В.Й., Чубка М.Б. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019; (2):30-35.
 - Павлюк Б.В., Лукашів О.Я., Покришко О.В., Чубка М.Б., Грошовий Т.А. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки складу комбінованого гелю для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):35-42.
 - Vons B., Tryhubchak O., Grochovuy T., Chubka M., Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. International Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-64.
4. *Ким і коли впроваджено:* Кафедра технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.
5. *Форма впровадження:* У навчальний процес кафедри (лекційний курс, лабораторні заняття) при вивченні теми "М'які лікарські засоби".
6. *Термін впровадження:* з 08.01.19 р.
7. *Ефективність впровадження:* Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри технології ліків і біофармації
Львівського національного медичного
університету імені Данила Галицького



доц. С.Б. Білоус

ДОДАТОК Л.8

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор
з наукової роботи та інновацій
Національного медичного
університету імені О. О. Богомольця,
д. мед. н., проф. С. В. Земсков



2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології лікарських засобів м'якої форми випуску.
2. **Установа, його адреса, виконавці:** Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України, кафедра управління економіки фармації з технологією ліків, 46000, м. Тернопіль, вул. Руська 36, аспірант Б. В. Павлюк; д. фарм. н., професор Т. А. Грошовий.
3. **Джерела інформації:**
 - Вонс БВ, Мельник ЮЯ, Грошовий ТА, Скорохода ВЙ, Чубка МБ. Реологічні дослідження гелю, що містить водний витяг з ксенодерми, для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(2):30-35.
 - Павлюк БВ, Лукашів ОЯ, Покришко ОВ, Чубка МБ, Грошовий ТА. Дослідження антимікробної активності консервантів з метою розробки складу комбінованого гелю для місцевого лікування опіків. Фармацевтичний часопис. 2019;(3):35-42.
 - Vons B, Tryhubchak O, Grochovuy T, Chubka M, Bihunyak V. Research of powders of the cryolyophilized xenoderm of porcine skin. International Journal of Green Pharmacy (IJGP). 2018 July-Sep;12(3)(Supp 1):657-64.
4. **Впроваджено:** У навчальний процес кафедри (лекційний курс, практичні заняття) при вивченні теми "М'які лікарські засоби".
5. **Термін впровадження:** 2019-2020 навчальний рік
6. **Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених в джерелах інформації. Результати впровадження включено у навчальний процес кафедри.

Відповідальний за впровадження:

Зав. кафедри аптечної та промислової технології ліків
Національного медичного університету
імені О.О. Богомольця, д. фарм. н., доц.

Ж. М. Полова

ДОДАТОК М.1**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Директор

ТОВ «Інститут біомедичних технологій»

д. мед. н., проф. В.В. Бігуняк


«19» грудня 2019 р.

Заявник, країна: Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

Виробник, країна: ТОВ «Інститут біомедичних технологій», Україна

ПРОЕКТ МЕТОДИК КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

**ГУБКИ МЕДИЧНОЇ НА ОСНОВІ ВОДНОГО
ВИТЯГУ З КСЕНОДЕРМИ ТА З
ХЛОРГЕКСЕДИНУ ДИГЛЮКОНАТОМ
MEDICAL SPONGES BASED ON WATER EXTRACT
FROM XENODERM AND CHLORHEXEDINE
DIGLUCONATE**

Продовження додатку М.1

**Специфікація на губки медичні на основі ВВ з ксенодерми та з
хлоргексидину диглюконатом**

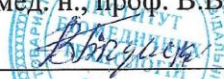
Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Однорідні, м'які, з пористою структурою, пластичні та пухкі	МКЯ, п. 1 візуально
Ідентифікація: - амінокислоти (глутамінова кислота, гліцин, пролін) - хлоргексидину диглюконат	На хроматограмі випробовуваного розчину часи утримування основних піків, що відповідають глутаміновій кислоті, гліцину та проліну, мають відповідати часам утримування відповідних піків на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину час утримування основного піку хлоргексидину диглюконату має відповідати часу утримування відповідного піку на хроматограмі розчину порівняння	МКЯ, п. 2.1 Метод ВЕРХ ДФУ2.0., п.2.2.27 МКЯ, п. 2.2 Метод ВЕРХ ДФУ2.0., п. 2.2.27
pH	Від 6,5 до 7,5	МКЯ п. 3, ДФУ2.0., п.2.2.3
Наявність органічних розчинників	У губках медичних повинні бути відсутні формальдегід, ацетон, етанол	МКЯ п. 4, Метод ГХ ДФУ 2.0., п. 2.2.28
Вологопоглинання, %	Не менше 2500 %	МКЯ п. 5
In vitro деградація	Не більше 72 год	МКЯ п. 6
Кількісне визначення Хлоргексидину диглюконату	Від 0,9 % до 1,1 % в перерахунку на середню масу губки	МКЯ п. 7, Метод ВЕРХ ДФУ2.0., п. 2.2.27
Стерильність	Повинні бути стерильними	МКЯ п. 8, ДФУ2.0., п. 2.6.1
Упаковка	В оригінальній стерильній пергаментно-целофановій упаковці	
Зберігання	В оригінальній упаковці при кімнатній температурі, в захинему від світла місці.	
Термін придатності	2 роки	

ДОДАТОК М.2

Директор

ТОВ «Інститут біомедичних технологій»

д. мед. н., проф. В.В. Бігуняк


«16» грудня 2019 р.

АКТ АПРОБАЦІЇ

проекту методик контролю якості
на губки медичні на основі ВВ з ксенодерми
та з хлоргексидину диглюконатом

Комісія у складі: Директор ТОВ «Інститут біомедичних технологій» д. мед. н., проф. В.В. Бігуняк, головний інженер ТОВ «Інститут біомедичних технологій» Чонка В.І., зав. кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України д. фарм. н. проф. Грошовий Т.А., аспіранта тієї ж кафедри Павлюк Б.В. провели апробацію проекту методик контролю якості на губки медичні на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом в умовах ТОВ «Інститут біомедичних технологій».

Проект методик контролю якості на губки медичні на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом, склад і технологія якого одержані у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України Б.В. Павлюк під керівництвом д. фарм. н., професора Т.А. Грошового.

Висновок комісії: методики контролю, закладені у проекті методик контролю якості на губки медичні на основі ВВ з ксенодерми та з

Продовження додатку М.2

хлоргексидину диглюконатом, відтворюються на дослідних серіях в умовах
ТОВ «Інститут біомедичних технологій».

Головний інженер ТОВ «Інститут
біомедичних технологій».



Чонка В.І.

Зав. кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України
д. фарм. н. проф.



Грошовий Т.А.

Аспіранта кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України



Павлюк Б.В

ДОДАТОК М.3

УЗГОДЖЕНО

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
д. біол. н., проф. І.М. Кліщ

“ ” 20 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор
ТОВ «Інститут біомедичних
технологій»
д. мед. н., проф В.В. Бігуняк

«19» грудня 2019 р.

ПРОЕКТ ТЕХНОЛОГІЧНОГО РЕГЛАМЕНТУ

на виробництво губок медичних на основі ВВ з ксенодерми

та з хлоргексидину диглюконатом

Термін дії регламенту до грудня 2019 р.

РОЗРОБЛЕНО

Аспірант кафедри управління
та економіки фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України

Павлюк Б.В

«19» грудня 2019 р.

Завідувач кафедри управління
та економіки фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
д. фарм. н. проф. Грошовий Т.А.

«19» грудня 2019 р.

Регламент є власністю
Тернопільського національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
та ТОВ «Інститут біомедичних технологій»
і не може бути повністю або частково
відтворений, тиражований,
розповсюджений без дозволу
Тернопільського національного медичного університету
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
та ТОВ «Інститут біомедичних технологій»

ДОДАТОК М.4

Директор

ТОВ «Інститут біомедичних
технологій»

В.В. Бігуняк

«19» грудня 2019 р.



АКТ АПРОБАЦІЇ

**на виробництво губок медичних на основі ВВ з ксенодерми
та з хлоргексидину диглюконатом**

Комісія у складі: Директор ТОВ «Інститут біомедичних технологій» д. мед. н., проф. В.В. Бігуняк, головний інженер ТОВ «Інститут біомедичних технологій» Чонка В.І., зав. кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України д. фарм. н., проф. Грошовий Т.А., аспіранта тієї ж кафедри Павлюк Б.В. провели апробацію технологічного регламенту на виробництво губки медичної на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом в умовах ТОВ «Інститут біомедичних технологій».

Проект технологічного регламенту на виробництво губки медичної/гемостатичної на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину диглюконатом, склад і технологія якого одержані у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України Б.В. Павлюк під керівництвом д. фарм. н., професора Т.А. Грошового.

Висновок комісії: технологічний процес і методики між операційного контролю, які закладені у проекті технологічного регламенту на виробництво губки медичної/гемостатичної на основі ВВ з ксенодерми та з хлоргексидину

Продовження додатку М.4

диглюконатом відтворюються на дослідних серіях в умовах ТОВ «Інститут біомедичних технологій».

Головний інженер



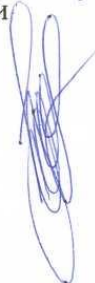
Чонка В.І.

Зав. кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України
д. фарм. н. проф.



Грошовий Т.А.

Аспіранта кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України



Павлюк Б.В

ДОДАТОК Н.1**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**

Директор-виконавчий

АТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум»

О. В. Блонський

**ПРОЕКТ МЕТОДИК КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

**ГЕЛЬ З ВОДНИМ ВИТЯГОМ З КСЕНОДЕРМИ
ТА ЛІДОКАЇНУ ГІДРОХЛОРИДОМ
GEL WITH WATER EXTRACT FROM XENODERM
AND LIDOCAINE HYDROCHLORIDE**

Продовження додатку Н.1

**Специфікація на гель на основі водного витягу з ксенодерми та з
лідокіаїну гідрохлоридом**

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Напівпрозорий гель з білою опалесценцією без сторонніх домішок	МКЯ, п. 1, візуально, органолептично
Однорідність	За зовнішнім виглядом гель повинен бути однорідним	МКЯ, п. 2, візуально, ДФУ 1.0, С. 511
Ідентифікація - амінокислоти (16 амінокислот) - лідокіаїну гідрохлорид	На хроматограмі випробовуваного розчину часи утримування основних піків, що відповідають 16 ідентифікованим амінокислотам, мають відповідати часам утримування відповідних піків на хроматограмі розчину порівняння. На хроматограмі випробовуваного розчину, одержаній при кількісному визначенні лідокіаїну гідрохлориду, час утримування основного піку лідокіаїну гідрохлориду має відповідати часу утримування відповідного піку на хроматограмі розчину порівняння	МКЯ, п. 3.1 Метод ВЕРХ ДФУ 2.0., п.2.2.27 МКЯ, п. 3.2 Метод ВЕРХ ДФУ 2.0., п. 2.2.27
pH	Від 6,0 до 7,5	МКЯ п.4,ДФУ 2.0.,п. 2.2.3
Кількісне визначення - загального білка - лідокіаїну гідрохлориду	Від 8,55 до 10,45 мг в 1 г гелю Від 18,00 до 22,00 мг в 1 г гелю	МКЯ, п. 5.1 УФ-спектроскопія ДФУ 2.0., Т.1, п. 2.5.33, С. 238 МКЯ, п. 5.2 Метод ВЕРХ ДФУ 2.0., п. 2.2.27
Кількісне визначення спирту фенілетилового	Від 3,6 мг до 4,4 мг в 1 г гелю	МКЯ, п. 6 Метод ГХ ДФУ 2.0., п. 2.2.28
Мікробіологічна чистота	Загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів: не більше 10000 бактерій і не більше 100 грибів у грамі. Не більше 100 ентеробактерій і деяких інших грамнегативних бактерій у 1 г. Відсутність <i>Salmonella</i> 10 г. Відсутність <i>Escherichia coli</i> в 1 г. Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> у 1 г. Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1 г.	МКЯ п. 7, ДФУ 2.0., Т. 1, п. 5.1.4,
Маса вмісту контейнера	Маса вмісту в кожній окремій тубі має бути від 28,8 г до 31,2 г ($\pm 4\%$)	МКЯ п. 8.
Упаковка	Туби по 30,0 г	

ДОДАТОК Н.2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор виконавчий
 Т «Галичфарм» Корпорації «Артеріум»
 О. В. Блонський
 16.08.2019 р.



АКТ АПРОБАЦІЇ

**проекту методик контролю якості на гель
 з водним витягом з ксенодерми та лідокаїну гідрохлоридом**

Комісія у складі: керівника дослідного центру АТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум» Процик Л. В., начальника аналітичної лабораторії дослідного центру к. фарм. н. Смалюх О.Г., начальника відділу контролю якості к. фарм. н. Ділай Н. В., зав. кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського д. фарм. н. проф. Грошового Т.А., к. фарм. н. доц. кафедри фармації ННІ ПО Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського Чубки М.Б. аспіранта тієї ж кафедри Павлюк Б.В., провели апробацію проекту методик контролю якості на гель з водним витягом з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом в умовах аналітичної лабораторії дослідного центру та біологічної лабораторії відділу контролю якості АТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум».

Проект методик контролю якості гелю з водним витягом з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом, склад і технологія якого одержані у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського Б.В. Павлюк під керівництвом д. фарм. н., професора Т.А. Грошового.

Висновок комісії: методики контролю, закладені у проекті методик контролю якості на гель з водним витягом з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом, відтворюються на дослідних серіях в умовах аналітичної

Продовження додатку Н.2

лабораторії дослідного центру та біологічної лабораторії відділу контролю якості АТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум».

Керівник ДЦ



Процик Л. В.

Начальника АЛ ДЦ
к. фарм. н.



Смалюх О.Г.

Начальник ВКЯ
к. фарм. н.



Ділай Н. В.

Зав. кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського
д. фарм. н. проф.



Грошовий Т.А.

Аспірант кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського



Павлюк Б.В.

ДОДАТОК Н.3

УЗГОДЖЕНО

Проректор з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
ім. І.Я. Горбачевського МОЗ

України
Д-р мед. наук проф. І.М. Кліщ
«16» жовтня 2019 р.



ЗАТВЕРДЖУ

Ю

Директор виконавчий
АТ «Галичфарм»
ТОВ «Арттеріум»
О.В. Блюмський

«16» жовтня 2019 р.



ПРОЕКТ ТЕХНОЛОГІЧНОГО РЕГЛАМЕНТУ

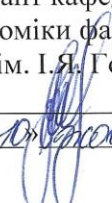
на виробництво гелю з водним витягом з ксенодерми
та лідокаїну гідрохлоридом у тубах по 30,0

Термін дії регламенту до 16 жовтня 2024 р.

РОЗРОБЛЕНО

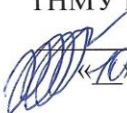
Аспірант кафедри управління
та економіки фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України

Павлюк Б.В.
«16» жовтня 2019 р.



Завідувач кафедри управління
та економіки фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України
д. фарм. н. проф. Грошовий Т.А.

«16» жовтня 2019 р.



ДОДАТОК Н.4

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор виконавчий
 АТ «Галичфарм» Корпорації «Артеріум»
 О. В. Блонський
 р.



АКТ АПРОБАЦІЇ

проекту технологічного регламенту на гель

з водним витягом з ксенодерми та лідокаїну гідрохлоридом

Комісія у складі: керівника дослідного центру АТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум» Процик Л. В., начальника технологічної лабораторії дослідного центру к. фарм. н. Шалати В. Я., зав. кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського д. фарм. н. проф. Грошовий Т.А., аспіранта тієї ж кафедри Павлюк Б.В., к. фарм. н. доц. кафедри фармації ННІ ПО Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського Чубки М.Б. провели апробацію технологічного регламенту на виробництво гелю з водним витягом з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом в умовах дослідного центру АТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум».

Проект технологічного регламенту на виробництво гелю з водним витягом з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом, склад і технологія якого одержані у результаті науково-дослідної роботи, розроблений аспірантом кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського Б.В. Павлюк під керівництвом д. фарм. н., професора Т.А. Грошового.

Висновок комісії: технологічний процес і методики між операційного контролю, які закладені у проекті технологічного регламенту на виробництво гелю з водним витягом з ксенодерми та з лідокаїну гідрохлоридом, відтворюються на дослідних серіях в умовах дослідного центру АТ «Галичфарм» корпорації «Артеріум».

Продовження додатку Н.4

Керівник ДЦ

Процик Л.В.

Начальника ТЛ ДЦ
к. фарм. н.

Шалата В.Я.

Начальник ВКЯ
к. фарм. н.

Ділай Н.В.

Зав. кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського
д. фарм. н. проф.

Грошовий Т.А.

Аспірант кафедри управління та економіки
фармації з технологією ліків
ТНМУ ім. І.Я. Горбачевського

Павлюк Б.В.