

АНОТАЦІЯ

Іванюк О. І. Розробка складу та технології гелю вагінального з ресвератролом та кислотою гіалуроновою. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2020.

Однією з найбільш актуальних проблем сучасної гінекології є попередження й усунення специфічних симптомів (свербіж, печіння, сухість у піхві, диспареунія на тлі гіпоестрогенії), що виникають у жінок у період менопаузи. Найбільш ефективним методом лікування залишається менопаузальна замісна терапія з використанням лікарських засобів, що містять статеві гормони. Проте здебільшого жінки через «гормонофобію» або за наявності факторів ризику та протипоказань до статевих стероїдів більш прихильні до використання негормональних засобів корекції менопаузального синдрому (фітоестрогенів, зволожувальних засобів, лубрикантів).

В Україні майже відсутні препарати вітчизняного виробництва зазначеної дії, а більша частина асортименту представлена ліками іноземного виробництва та дієтичними добавками. Все це актуалізує науковий пошук і розробку нових ефективних і безпечних ЛЗ із використанням природних сполук, дія яких спрямована на попередження або лікування наслідків гіпоестрогенових станів різної етіології.

У *першому розділі* охарактеризовано сучасний стан проблеми фармакокорекції урогенітальних симптомів, які розвиваються у жінок на тлі менопаузального естрогенодефіциту. Показано медико-соціальну значущість досліджуваної проблеми: через прогресуюче старіння населення, як в Україні, так і у світі, хвороби і стани, обумовлені віковими фізіологічними та/або патологічними особливостями жінок літнього віку, набувають дедалі більшого

поширення. Тому, враховуючи специфічну для нашої країни гендерну асиметрію у бік переважання жінок серед літніх вікових категорій, а також середньостатистичні вікові межі настання менопаузи, забезпечення ефективними, безпечними та економічно доступними препаратами відповідної спрямованості дії для підтримання належної якості життя жінок, також і працездатного віку, набуває важливого значення для усього суспільства. Наведено причинно-наслідковий зв'язок між віковим дефіцитом гормонів естрогенового ряду і «ранніми» проявами клімактеричного синдрому: вазомоторних розладів, урогенітальних симптомів, розладів сну та психоемоційних порушень. Охарактеризовано патогенетичні механізми та застосовувані нині підходи до фармакокорекції так званого генітоуринарного синдрому в менопаузі. Показано, що дефіцит естрогенів впливає на тканини як статевої, так і сечової системи, що обумовлює розвиток двох груп симптомів – вульвовагінальних та цистоуретральних. При цьому серед усіх структур урогенітального тракту найбільш виражено атрофічні процеси перебігають у піхві. Гіпоестроген-індуковане порушення процесів проліферації епітелію у піхві призводить до зміни нормального складу вагінального біотопу, зсуву фізіологічного рН у бік олушення та вагінальної сухості. Базисні методи лікування цих розладів засновані на системній або локальній замісній естрогенотерапії. Втім, як і системне, так і локальне застосування естрогенових гормонів має певні обмеження, які, передусім, стосуються ризику розвитку або прогресування естрогенозалежних новоутворень, що найчастіше діагностують у жінок саме старшої вікової групи. Тому альтернативою естрогеновмісним препаратам є вагінальні зволожувальні засоби тривалої дії, до яких належить гіялуронова кислота, а також засоби рослинного походження з естрогеноподібною активністю – фітоестрогени. Наведено порівняльну характеристику груп речовин рослинного походження, зокрема таких, як ізофлавоноїди, лігнани, куместани, флаволи та стильбени, та окремих їх представників, які, за літературними даними, володіють естрогеноподібними властивостями. Визначено, що перспективним фітоестрогеном, з погляду створення на його основі засобів локальної фармакокорекції урогенітальних

розладів, є ресвератрол, що обґрунтовано його здатністю впливати на усі основні типи естрогенових рецепторів, а також низьким потенціалом до абсорбування з тканин піхви у системний кровотік. Розглянуто біофармацевтичні аспекти розробки вагінальних лікарських форм, з яких ключовим є необхідність забезпечення доброї мукоадгезії лікарського засобу. У зв'язку з цим визначено, що оптимальною лікарською формою для розроблюваного лікарського препарату є гель, оскільки наявність у його складі гелеутворювачів та їхні характерні консистентні властивості є передумовою до мукоадгезії. Наведено описані у літературі методи дослідження мукоадгезивних властивостей лікарських форм.

У *другому розділі* визначено загальну концепцію досліджень із розробки складу і технології гелю вагінального з ресвератролом та кислотою гіалуроною. Наведено властивості об'єктів дослідження – АФІ та сучасних допоміжних речовин, використаних при розробці лікарського препарату у формі вагінального гелю. Наведено комплекс методів дослідження, їх характеристику, що дозволило обрати раціональний склад вагінального гелю та дослідити його показники якості згідно з вимогами ДФУ.

У *третьому розділі* вивчено структуру і тенденції розвитку українського ринку лікарських засобів для профілактики та лікування гіпоестрогенових станів у жінок. Установлено, що на сьогодні фармацевтичний ринок поповнюється препаратами місцевої дії, у складі яких популярності набувають АФІ рослинного походження, а також зволожувальні агенти, наприклад, кислота гіалуронова. За результатами проведеного аналізу визначено необхідність та доцільність розробки вітчизняних лікарських форм, що забезпечить їх доступність широкому колу пацієнток до лікування та профілактики урогенітальних проявів при менопаузі.

Досліджено фізико-хімічні властивості АФІ, а саме: розчинність, мікроелементний склад, термостабільність, кристалографічні характеристики, та обрано раціональні розчинники: для екстракту ресвератролу – пропіленгліколь, для кислоти гіалуронової – вода очищена.

Розроблено склад зразків гелів з різними гелеутворювачами: Aristoflex AVC, Sepimax Zen, Sepinov EMT 10, гідроксіетилцелюлоза, Карбопол Ultrez 21 та Methocel, і вивчено їх органолептичні властивості, рівень рН, встановлено реологічні параметри. За результатами досліджень обрано раціональний гелеутворювач Aristoflex AVC у концентрації 1,5%, що забезпечує стабільну коагуляційну структуру із псевдопластичним типом плинучості та обумовлює добрі споживчі та біофармацевтичні властивості препарату.

Ступінь біоадгезії визначає можливість утримання АФІ гелю на поверхні ураженого органа за допомогою міжфазних сил упродовж тривалого часу. Тому було обґрунтовано вибір мукоадгезиву та його концентрації у складі гелю. Досліджено вплив натрію альгінату, метилцелюлози, Methocel та OraRez® W-100L16 на показники швидкості розподілу зразків гелю, діаметр плям під дією механічних сил, стійкість до розмивання, ступінь адгезії і текстурні характеристики – зворотну екструзію та намазуваність. Установлено, що максимальні біоадгезивні характеристики має зразок гелю вагінального з натрію альгінатом 1,5%.

Для обґрунтування вибору концентрації пропіленгліколю у складі гелю проведено дослідження вивільнення ресвератролу методом рівноважного діалізу зі зразків із вмістом ПГ 10 та 15%. Установлено, що 15% ПГ сприяє максимальному вивільненню активної речовини – екстракту ресвератролу. Окрім того, дослідний зразок із вмістом ПГ 15% мав найкращу стійкість до висихання.

Проведено дослідження із вибору антимікробного консерванту у складі гелю, в результаті яких обрано косгард у концентрації 0,5%, що сприятиме стабільності розробленого препарату у процесі його зберігання.

На основі проведення комплексу досліджень розроблено склад гелю вагінального, що містить ресвератрол, кислоту гіалуронову, аристофлекс AVC, пропіленгліколь, натрію альгінат, косгард та воду очищену, під умовною назвою «Вагітрол».

У четвертому розділі наведено технологію отримання вагінального гелю у промислових умовах та визначено критичні параметри й умови

технологічного процесу, що дозволить отримати готову продукцію належної якості згідно з вимогами НД.

Розроблено методики кількісного та якісного визначення ресвератролу та кислоти гіалуронової у складі гелю методом ВЕРХ. Методом газової хроматографії зі полум'яно-іонізаційним детектором встановлено вміст і кількість ПГ у препараті. Проведено валідацію розробленої методики визначення ресвератролу методом ВЕРХ та встановлено її специфічність, лінійність, прецизійність (збіжність) та правильність.

Розроблено специфікацію на гель «Вагітрол», яка включає ідентифікацію ресвератролу, кислоти гіалуронової, пропіленгліколю, їх кількісне визначення, а також мікробіологічну чистоту, однорідність, рівень рН та масу вмісту упаковки.

На підставі проведених досліджень доведено стабільність розробленого препарату при двох температурних режимах зберігання за всіма показниками якості й встановлено термін його придатності – 2 роки.

У н'ятому розділі представлено результати скринінгових досліджень зразків гелю вагінального із вмістом ресвератролу 0,5, 1, 2, 3% щодо їх впливу на рН вагінального секрету оварієктомованих самок щурів, на вазомоторні реакції, на вміст статевих гормонів у сироватці крові, локомоторну активність за тестами «піднесений хрестоподібний лабіринт», «відкрите поле» та «екстраполяційне вивільнення». Як препарат порівняння досліджували гель «Гінодек».

У доклінічних фармакологічних дослідженнях доведено, що застосування гелю відновлює вагінальний секрет до фізіологічного стану, підвищує функціональну активність епітеліальних клітин, сприяє нормалізації вмісту естрадіолу та прогестерону, помірно впливає на функціональний стан центральної нервової системи. Результати досліджень дозволили встановити, що оптимальний вміст ресвератролу в складі гелю становить 0,5%.

Крім того, встановлено нетоксичність та відповідність мікробіологічної чистоти препарату «Вагітрол» вимогам ДФУ протягом 2 років зберігання.

Розроблено проекти МКЯ і технологічного промислового регламенту на виробництво препарату «Вагітрол» і апробовано їх в умовах ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка».

За результатами проведених досліджень отримано патент України на корисну модель № u 201905153 від 26.12.2019 р.

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

Ключові слова: гіпоестрогеновий стан у жінок, ресвератрол, кислота гіалуронова, гелеутворювачі, гідрофільні неводні розчинники, консерванти, гель вагінальний, склад, технологія, стабільність.

Список публікацій здобувачки

Статті у фахових виданнях:

1. Yarnykh T. G., Ivaniuk O. I., Kovalevska I. V., Kukhtenko H. P., Kutsenko S. A. Rheology-based substantiation of a gel-former choice for vaginal gel. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018. Vol. 10, № 11. P. 2825-2828. (*Scopus*)

2. Ivaniuk O. I., Yarnykh T. G., Kovalevska I. V. Determination of the bioadhesion indicators of vaginal gel with resveratrol and hyaluronic acid. *EUREKA: Health Sciences*. 2019. Vol. 2. P. 33-39.

3. Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Стрига О. А., Яковлева Н. Ю., Рубан О. І. Аспекти фармакодинаміки та клінічної фармакології гіалуронової кислоти. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Вип. 1 (135). С. 33-42.

4. Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Стрига О. А., Рубан О. І. Фармакологічне обґрунтування розробки нових лікарських препаратів на основі ресвератролу. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Вип. 4 (1). С. 21-30.

5. Yarnykh T. G., Ivaniuk O. I. Study of the hyaluronic acid solubility for development of the vaginal gel composition. *Укр. біофармац. журн*. 2017. № 6 (53). P. 19-23.

6. Ivaniuk O. I., Yarnykh T. G., Hrudko V. O., Kovalevska I. V. Determination of vaginal gel composition on the basis of biopharmaceutical and rheological researches. *Annals of Mechnikov Institute*. 2018. № 4. P. 43-47

7. Ivaniuk O. I., Strilets O. P., Yarnykh T. G. Choice of the preservative in the composition of vaginal gel with resveratrol and hyaluronic acid for treatment of urogenital symptoms in the climax period. *Annals of Mechnikov Institute*. 2019. № 3. P. 70-74.

8. Іванюк О. І., Ярних Т. Г., Євтушенко О. М. Огляд ринку препаратів для профілактики та лікування урогенітальних симптомів у пре- та постменопаузальному періоді. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2019.Т.5, № 4.С. 66-78.

Патенти:

1. Іванюк О. І., Ярних Т. Г., Стрига О. А., Зайченко Г. В., Ковалевська І. В. Фармацевтична композиція для корекції гіпоестрогенових станів у жінок у формі гелю вагінального : пат. 139105 Україна. №и 201905153; заявл. 15.05.2019; опубл. 26.12.2019, Бюл. № 24. 4 с.

Тези доповідей конференцій:

1. Рубан Е. И. Ярных Т. Г. Гиалуриновая кислота и её роль в организме человека. *Перспективы развития биологии, медицины и фармации* : материалы IV Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов, г. Шымкент, 9-10 дек. 2016 г. Шымкент, 2016. С. 28-29.

2. Рубан О. І., Ярних Т. Г. Вивчення розчинності кислоти гіалууронової з метою визначення шляху її введення до складу гелю вагінального. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Харків : НФаУ, 2017. Вип. 2. : Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів : матеріали I Міжнар. наук.-практ. конф., 3–4 берез. Харків, 2017 р. С. 172-174.

3. Ruban O. I., Yarnykh T. G. Study of the rheological properties of the vaginal gel with hyaluronic acid. *Topical issues of new drugs development* : Abstracts of XXIV International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student, April 20, 2017. Kharkiv : Publishing Office NUPh, 2017. Vol. 1. P. 282.

4. Іванюк О. І., Ярних Т. Г. Вивчення розчинності ресвератролу для вибору технології введення до складу гелю вагінального. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали III Міжнар. наук.–практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. С 94.

5. Ivaniuk O. I., Yarnykh T. G. The research of extrication resveratrol by an equilibrium dialysis in the composition of the vaginal gel. *Topical issues of new drugs development* : abstracts of XXV international scientific and practical conference of young scientists and student, April 18-20, 2018. Kharkiv : NUPh, 2018. P. 139-140.

6. Іванюк О. І., Ярних Т. Г. Обґрунтування вмісту пропіленгліколю у складі гелю вагінального. *Proceedings of the 3rd International scientific congress of scientists of Europe*. Premier Publishing s.r.o. Vienna, 2019. P. 1067-1069.

7. Ivaniuk O. I., Yarnykh T. G. The choice of mucoadhesive in the composition of vaginal gel. *Topical issues of new medicines development* : Abstracts of XXVI International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student, Kharkiv, April 10-12, 2019. Kharkiv : NUPh, 2019. P. 113.

8. Іванюк О. І., Ярних Т. Г., Стрілець О. П. Вивчення антимікробної активності консервантів у складі гелю вагінального. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали IV Міжнар. наук.–практ. інтернет-конф., м. Харків, 14-15 листоп. 2019 р. Харків: НФаУ. 2019. С. 97-98.

9. Стрига О. А., Зайченко Г. В., Іванюк О. І. Оцінка фармакологічної дії нових вагінальних гелів з ресвератролом та гіалуроновою кислотою за впливом на масу тіла оваріоектомованих щурів. *Planta+. Досягнення та перспективи* : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. пам'яті д-ра хім. наук, проф. Ніни Павлівни Масютіної (до 95-річчя від дня народж.), м. Київ, 20-21 лют. 2020 р. Київ : ПАЛИВОДА А.В., 2020. С. 231-232.

10. Іванюк О. І., Ханін В. А., Ярних Т. Г. Визначення кількісного вмісту ресвератролу в гелі методом ВЕРХ. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських*

засобів : матеріали Міжнар. наук.-практ. дистанційної конф. м. Харків, 20 бер. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 80-81.

Інформаційні листи:

1. Ярних Т. Г., Іванюк О. І. Розробка технології вагінального гелю з ресвератролом та кислотою гіалуроновою : інформ. лист № 255-2019. Київ, 2019. 4 с. (Протокол ПК «Фармація» № 106 від 26.03.2019 р.).