

Нефьодова Л. В. Розроблення складу та технології назальної композиції для лікування гострого риносинуситу. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація (22 – Охорона здоров'я). – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

Дисертаційна робота присвячена теоретичному та експериментальному обґрунтуванню складу, технології та контролю якості нової комбінованої фармацевтичної композиції для лікування гострих риносинуситів у вигляді назального спрею.

Проведений огляд наукової літератури встановив, що гострі риносинусити широко розповсюджені серед населення, як на території України, так і в цілому світі. Щороку на території України на гострі риносинусити хворіють до 15 % населення.

Головними причинами гострого риносинуситу є респіраторні віруси (у 98 % випадків) грипу, парагрипу, аденовірусів, респіраторно-синцитіальних вірусів та ентеровірусів, а також бактерії (у 2 % випадків) видів *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* та ін. Тобто після гострих респіраторних вірусних інфекцій у 2 хворих зі 100 розвивається риносинусит вірусної або бактеріальної етіології.

До серйозних ускладнень гострого риносинуситу відносяться: набряк, двоїння в очах, зниження гостроти зору, сильний головний біль, втрата свідомості тощо. При цьому, в середньому на 4 тижні знижується працездатність хворої людини. У деяких хворих, внаслідок зниження реакції імунітету на патогенну та умовно-патогенну мікрофлору, з'являються різні ускладнення з боку горла, носа, вух, легень, серцево-судинної системи, а у 0,2 % випадків може траплятися смерть. Лікування гострого риносинуситу і особливо їх ускладнень призводить до значних економічних витрат серед населення.

Проведений маркетинговий аналіз виявив, що частка противірусних препаратів вітчизняного виробництва на фармацевтичному ринку України (станом на 2018 р.) склала 52 %.

До основних країн-виробників імпортованих лікарських засобів для лікування гострого риносинуситу належать Німеччина (12 %), Російська Федерація (11 %), Швейцарія (6,5 %) та Франція (5,4 %).

Сучасна медична практика для лікування гострих риносинуситів використовує назальні засоби симпатоміметичної дії, монокомпонентного складу, які застосовуються лише для полегшення симптомів захворювання і не впливають на патогенез розвитку гострих респіраторних вірусних інфекцій.

Однак, на фармацевтичному ринку України немає комбінованих назальних препаратів, які проявляють профілактичну та лікувальну дію з вираженою противірусною активністю проти основних представників гострих респіраторних вірусних інфекцій, а також здатні зменшувати катаральні симптоми та їх наслідки у вигляді риносинуситу.

На підставі проведеного маркетингового дослідження обґрунтовано вибір лікарської форми для застосування в ринології, а також основних компонентів у складі комбінованого назального засобу для лікування гострих риносинуситів у вигляді назального спрею.

До переваг цієї назальної лікарської форми належать естетичність, гігієнічність, швидкість дії, висока ефективність дії при порівняно малих витратах активних фармацевтичних інгредієнтів. Контейнери, що застосовуються для пакування назального спрею, герметично закриті та виключають забруднення лікарського препарату ззовні, а також захищають препарат від висихання, дії світла і вологи.

Визначено необхідні методи досліджень і наведено їх опис з метою розробки оптимального складу, раціональної технології виготовлення назального спрею та перевірки його якості.

На основі проведеного аналізу асортименту судинозвужувальних препаратів за їх характеристикою та фармакологічною активністю було обрано деконгестант та його концентрацію у складі назального спрею – $0,50 \pm 0,05$ мг/мл оксиметазоліна гідрохлорид.

Експериментально обґрунтовано вид та концентрацію активних фармацевтичних інгредієнтів: антисептика – $0,20 \pm 0,02$ мг/мл декаметоксина дихлорид; протигрипозних компонентів – $0,50 \pm 0,05$ мг/мл пара-амінобензойної кислоти та $50,0 \pm 5,0$ мг/мл амінокапронової кислоти.

Експериментально обґрунтовано вид та концентрацію допоміжних речовин: загусник – $2,5 \pm 0,3$ мг/мл гідроксипропілметилцелюлоза (*HPMC 2208 K 100 M*); стабілізатор рН – $5,2 \pm 0,5$ мг/мл (0,03 М) дикалію гідрофосфат та фосфорна кислота концентрована для корекції рН розчину до величини $7,0 \pm 0,5$.

Експериментальним шляхом було виявлено, що серед досліджених речовин стабілізаторів рН розчин 0,03 М дикалію гідрофосфату мав максимальну буферну ємність, як за кислотою ($B_a = 0,017$ моль/л), так і за лугом ($B_b = 0,015$ моль/л).

Виявлено, що середній діаметр частинок назального спрею дорівнює $71,8 \pm 1,1$ мкм.

Виявлено осмоляльність розробленої композиції (без гідроксипропілметилцелюлози), яка дорівнює 438 ± 4 мОсмоль/кг (еквівалент концентрації натрію хлориду – $1,33 \pm 0,01$ %). Отримані величини діаметру частинок і осмоляльності для назальних розчинів знаходяться в оптимальному діапазоні.

Визначено оптимальну частоту обертання мішалки – 200 об/хв та температурний режим процесу розчинення – 42 ± 2 °С (при цьому розраховано величину числа Рейнольдса, яка дорівнює біля 16 000).

Обрано метод стерилізації – фільтраційний та визначено оптимальний вид матеріалу фільтру – PVDF.

Розроблено схему виготовлення назального препарату під умовною назвою «КОМБІНАЗОЛ» із зображенням критичних точок.

Технологічний процес виготовлення назального спрею комплексної дії включає такі стадії: підготовка сировини; приготування концентрату (розчину з активними фармацевтичними інгредієнтами); фільтрація; підготовка флаконів, ковпачків та клапанно-розпилювальних механізмів; фасування концентрату в контейнери та герметизація контейнерів; маркування та пакування контейнерів в картонні пачки; пакування продукції в картонні пачки.

Досліджено фізико-хімічні властивості розробленого складу комплексної назальної композиції, запропоновано параметри стандартизації лікарської форми та методи кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів.

Для кількісного аналізу пара-амінобензойної кислоти, оксиметазоліну та амінокапронової кислоти було використано метод оборотно-фазової високоефективної рідинної хроматографії, а для декаметоксину – метод спектрофотометрії.

З отриманих залежностей сигналу від концентрації для активних фармацевтичних інгредієнтів, які було отримано в процесі вивчення їх лінійної залежності, можна зробити висновок, що всі вони мають високий коефіцієнт кореляції $R > 0,995$, що підтверджує лінійність методики у досліджуваному діапазоні концентрацій.

Проведено дослідження в сфері валідації аналітичних методик кількісного визначення: ϵ -амінокапронової кислоти, декаметоксина дихлориду, оксиметазоліна гідрохлориду, пара-амінобензойної кислоти, які показали, що специфічність, межа виявлення (LOD), межа кількісного визначення (LOQ), аналітична область, лінійність, прецизійність (повторюваність/збіжність), правильність відповідають валідаційним вимогам, висунутим Державною фармакопеею України до аналітичної методики.

Проведені дослідження стосовно вивчення стабільності композиції «КОМБІНАЗОЛ» впродовж 18 місяців природного зберігання при температурі $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості $(60\pm 5)\%$ показали, що кількісні й якісні параметри не виходять за нижню межу, закладену в нормативній документації. Отримані результати дають підставу рекомендувати термін придатності не менше 12-18 місяців.

Протигрипозна активність розробленої композиції у *in vitro* дослідженні на моделі вірусу грипу A/FM/1/47 (H1N1) перевищує активність препарату «АКК» та знаходиться на рівні препарату «Таміфлю». Ефективність протимікробної активності розробленої композиції у *in vitro* дослідженні на тест-штамах мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Candida albicans* ATCC 885/653 не поступається препаратам порівняння «Полідекса з фенілефрином» та «Ізофра».

Вивчення стерильності назальної композиції показало, що назальна композиція відповідає вимогам Державної фармакопеї України за досліджуваним показником.

Виявлено, що концентрація декаметоксину дихлориду в назальній композиції $(0,20\pm 0,02)$ мг/мл достатня для виявлення необхідного рівня антимікробної ефективності консерванту впродовж 28 діб з дня її контамінування.

Уперше науково та експериментально обґрунтовано склад і технологію композиції у вигляді назального спрею під умовною назвою «КОМБІНАЗОЛ» на основі принципово нової комбінації активних фармацевтичних інгредієнтів для місцевого лікування гострих риносинуситів, яка на відміну від існуючих лікарських засобів проявляє як етіотропну (противірусну та протимікробну), так і симптоматичну (судинозвужувальну) дію.

Уперше експериментально знайдена противірусна активність пара-амінобензойної кислоти та її синергетичний ефект у поєднанні з амінокапроною кислотою відносно вірусу грипу А/М/1/47 (H1N1) в умовах *in vitro* дослідів.

Розроблено проекти технологічного регламенту і методик контролю якості назального спрею під умовною назвою «КОМБІНАЗОЛ».

Новизна проведених досліджень підтверджена патентами України на корисну модель № 83708 від 25.09.2013 р. «Фармацевтична композиція для лікування назальних захворювань» та № 11872 від 11.09.2017 р. «Фармацевтична композиція для місцевого лікування та профілактики інфекційних захворювань верхніх дихальних шляхів».

Практичне значення отриманих результатів полягає в тому, що результати, отримані в ході проведених досліджень, збагачують наукове знання в сфері розробки лікарських засобів для лікування гострих риносинуситів.

Фрагменти роботи упроваджені в науково-дослідну роботу та навчальний процес споріднених закладів вищої освіти України.

Ключові слова: пара-амінобензойна кислота, амінокапронова кислота, декаметоксин, оксиметазолін, назальний спрей, гострий риносинусит, інтерференогенна активність, склад, технологія, стабільність.

Список публікацій здобувача

Статті у фахових виданнях

1. Бойко М. М., Нефьодова Л. В., Рибалкін М. В., Осолодченко Т. П. Обґрунтування вибору антисептика для комплексного назального препарату з антимікробною та судинозвужувальною дією. *Анали Мечниківського Інституту*. 2013. № 4. С. 53–56. (Особистий внесок – брала участь у обґрунтуванні вибору антисептика для комбінованого назального препарату з антимікробною та судинозвужувальною дією, обробці результатів та підготовці статті).

2. Nefedova Lilia, Boyko Nikolay, Starosila Daria, Rybalko Svetlana, Zhilyakova Elena, Novikov Oleg, Zhukovina Olga, Sagaydak-Nikitjuk Rita, Iurchenko Ivan. *In vitro* study of anti-influenza activity of para-aminobenzoic acid and prospects of nasal drug development on its base. *Annals Of Mechnikov Institute*. 2017. № 2. P. 20–22. (Особистий внесок – брала участь у обґрунтуванні вибору антисептика для комбінованого назального препарату з антимікробною та судинозвужувальною дією, обробці результатів та підготовці статті).
3. Нефьодова Л. В., Сагайдак-Нікітюк Р. В., Жуковина О. В., Рибалко С. Л., Старосила Д. Б., Валова К. Г. *In vitro* вивчення протигрипозної активності комбінації пара-амінобензойної кислоти й ε-амінокапронової кислоти. *Фармаком*. 2019. № 3. С. 35–40. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).
4. Nefedova L., Sahaidak-Nikitiuk R., Blazheyevskiy M., Barnatovich S. Scientific substantiation of the formulation and technology of a new complex nasal drug composition for local treatment of influenza and acute respiratory viral infections. *Norwegian Journal of development of the International Science*. 2020. № 48. P. 42–47. (Особистий внесок – брала участь у проведенні розробці технологічної схеми виробництва комбінованого назального препарату з антимікробною та судинозвужувальною дією, обробці результатів та підготовці статті).
5. Nefedova L., Sahaidak-Nikitiuk R., Blazheyevskiy M., Barnatovych S. Development of RP HPLC method for aminocaproic acid determination in a complex nasal drug. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2020. № 5 (27). P. 52–59. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці статті).

6. Фармацевтична композиція для лікування назальних захворювань : пат. 83708 України. № заявки u201303849 ; заявл. 28.03.2013 ; публ. 25.09.2013, Бюл. № 18/2013. (Особистий внесок: патентний пошук, планування експерименту, участь в проведенні досліджень та оформленні патентної заявки).
7. Фармацевтична композиція для місцевого лікування та профілактики інфекційних захворювань верхніх дихальних шляхів : пат. 118972 України. № заявки u201613542 ; заявл. 28.12.2016 ; публ. 11.09.2017, Бюл. № 17/2017. (Особистий внесок: патентний пошук, планування експерименту, участь в проведенні досліджень та оформленні патентної заявки).

Методичні рекомендації

8. Бойко М. М., Зайцев О. І., Похил С. І., Осолодченко Т. П., Казмірчук В. В., Нефьодова Л. В., Гушилик Б. І., Мельник А. Л., Невмержицький В. В., Христян Г. Є. Методи розрахунку інтегральних показників протимікробної активності антибактеріальних лікарських засобів. Методичні рекомендації (79.15/02.16). Київ: ФОП Петров В.В., 2015. 30 с. (Особистий внесок – брала участь у проведенні експериментальних досліджень, обробці результатів та підготовці методичних рекомендацій).

Тези доповідей

9. Нефьодова Л. В., Гладух Є. В., Бойко М. М. Перспективний склад спрею назального комбінованої дії. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології* : матеріали III наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 21–23 лист. 2012 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2012. С. 117.
10. Нефедова Л. В., Бойко Н. Н., Зайцев А. И. Перспективы разработки комплексного назального препарата применяемого при гриппе. *Актуальні питання боротьби з інфекційними захворюваннями* : матеріали наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, присвяч. 170-й річниці з дня

народж. І. І. Мечникова, м. Харків, 14–15 трав. 2015 р. Харків : ДУ «ІМІ ім. І. І. Мечникова НАНУ», 2015. С. 8.

11. Нефедова Л. В., Бойко Н. Н., Сагайдак-Никитюк Р. В., Жуковина О. В. Анализ рынка назальных препаратов применяемых для лечения ОРВИ в Украине. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології та біотехнології* : зб. наук. пр. Харків, 2016. С. 440–441.
12. Нефьодова Л. В., Сагайдак-Нікітюк Р. В., Жуковина О. В., Бойко М. М. Оптимізація технологічного процесу створення комплексного назального спрею для лікування інфекційних захворювань носа. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 14–15 лист. 2017 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. С. 137.
13. Nefedova L. V., Boyko N. N., Rybalko S. L., Starosila D. B., Sagaydak-Nikitjuk R. V., Zhukovina O. V. Theoretical justification of formulation and experimental evaluation of antiviral activity of some components of a complex nasal drug by in vitro and in vivo methods. *Актуальні питання створення нових лікарських засобів* : тези доп. XXIV міжнар. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, м. Харків, 20 квіт. 2017 р. Харків : НФаУ, 2017. Т. 2. С. 109.
14. Нефедова Л. В., Бойко Н. Н., Сагайдак-Никитюк Р. В., Жуковина О. В. Управление рисками в производстве комплексных назальных капель с противовирусным эффектом. *Управління якістю в фармації* : матеріали XI наук.-практ. конф., м. Харків, 19 трав. 2017 р. Харків : Вид-во НФаУ, 2017. С. 125.
15. Нефьодова Л. В., Сагайдак-Нікітюк Р. В., Жуковина О. В., Бойко М. М. Стандартизація і забезпечення якості на етапах життєвого циклу назального лікарського засобу з противірусною та антисептичною дією. *Управління якістю в фармації* : матеріали XII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 18 трав. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 139.

16. Нефьодова Л. В., Сагайдак-Нікітюк Р. В., Жуковіна О. В. Перспективи створення лікарського засобу для лікування вірусних інфекцій респіраторного тракту. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : матеріали VII наук.-практ. дистанційна конф. з міжнар. участю. Харків, 2018. С. 266–268.
17. Нефьодова Л. В., Сагайдак-Нікітюк Р. В., Жуковіна О. В. Маркетингові дослідження ринку лікарських засобів протівірусної дії в Україні. *Науково-практичні засади загальноінженерної підготовки фахівців фармації* : зб. наук. пр. I Міжнар. наук.-практ. Інтернет-конф., м. Харків, 25–26 жовт. 2018 р. Харків : НФаУ, 2018. С. 190–193.