

ТЕХНОЛОГІЧНІ ТА БІОФАРМАЦЕВТИЧНІ АСПЕКТИ ДО СТВОРЕННЯ М'ЯКОЇ ЛІКАРСЬКОЇ ФОРМИ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ АСОЦІЙОВАНИХ ГЕРПЕС-ВІРУСНИХ ІНФЕКЦІЙ

**О.С. Шпичак¹, В.І. Гриценко¹, Л.О. Бобрицька¹, А.В. Кабачна²,
В.С. Злагода³, О.С. Назарова⁴**

¹ Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

² Національний університет охорони здоров'я імені П.Л. Шупика, м. Київ, Україна

³ Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця, Україна

⁴ Товариство з обмеженою відповідальністю «Біолік Фарма», м. Харків, Україна

Вступ. Враховуючи етіологію і патогенез інфекцій, викликаних вірусами герпесу, ефективність лікування підвищується за допомогою комбінованих препаратів, особливо при мікст-інфекціях, коли приєднується грибкова або бактеріальна інфекція, які взаємодіють та посилюють вплив один на одного. На ринку України переважають однокомпонентні препарати (94%), але комбіновані засоби, такі як крем "Зовіракс Дуо-актив," поєднують противірусну дію ацикловіру та протизапальну дію гідрокортизону. Водночас пропонується новий комбінований лікарський препарат у формі мазі з ацикловіром та мірамістином для лікування моно- і мікст-герпесвірусних інфекцій, що спричинює антимікробну дію на різні види мікрофлори.

Мета дослідження: обґрунтування технологічних та біофармацевтичних аспектів для м'якої лікарської форми, яка містить ацикловір та мірамістин, для лікування асоційованих герпес-вірусних інфекцій.

Матеріали та методи: до складу м'якої лікарської форми для лікування змішаних герпес-вірусних інфекцій входять діючі речовини ацикловір з мірамістином, а також допоміжні речовини: вазелінова олія, парафін, пропіленгліколь, спирт цетостеариловий. Були використані наступні методи дослідження: органолептичні; фізико-хімічні; фармакотехнологічні; мікробіологічні; фармакологічні.

Результати: запропоновано методологічні підходи до розробки комбінованого препарату у формі м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином для лікування асоційованих герпес-вірусних інфекцій. Проведено мікробіологічні дослідження і встановлено концентрацію мірамістину на рівні 0,5 %. Розроблено склад, технологію та специфікацію для нової фармацевтичної розробки з ацикловіром та мірамістином. Фармакологічні дослідження підтвердили, що противірусна активність м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином вища, ніж засобу порівняння – крему «Зовіракс».

Висновки. Раціональна комбінація ацикловіру з мірамістином є новим підходом в лікуванні асоційованих герпес-вірусних інфекцій. Розроблений вітчизняний препарат буде діяти не тільки на вірусну інфекцію, а також буде посилювати антимікробний ефект, при цьому знімати запалення, і в цілому сприятливо впливати на одужання і якість життя пацієнта.

Ключові слова: м'яка лікарська форма, технологія, біофармація, стандартизація, герпес-вірусні інфекції.

Вступ. З огляду на етіологію і патогенез, для лікування інфекцій, викликаних вірусами герпесу, доцільно застосовувати комбіновані лікарські засоби, особливо при мікст-інфекціях, коли приєднується грибкова або бактеріальна інфекція, при яких збудники захворювання посилюють вплив один одного на організм хворого. Відомо, що герпесвірусні інфекції зазвичай супроводжуються приєднанням грибкової або бактеріальної інфекції [1]. Комбіновані препарати комплексно діють на різні ланки патологічного процесу та мають широкий спектр фармакологічної дії препарату [2]. На фармацевтичному ринку України домінують однокомпонентні препарати – 94 %, комбіновані засоби займають незначну частку – 6 % [3].

Серед комбінованих препаратів з ацикловіром на ринку існує крем «Зовіракс Дуо-

актив», виробник GlaxoSmithKline, Велика Британія. Крем поєднує противірусну дію ацикловіру та протизапальну дію гідрокортизону [2].

Для лікування моно- і мікст-герпесвірусних інфекцій нами запропоновано комбінований лікарський препарат у формі мазі з ацикловіром та мірамістином, який виявляє антимікробну дію на грампозитивну і грамнегативну, аеробну і анаеробну, спороутворюючу і аспорогенну мікрофлору [4].

Мета дослідження: обґрунтування технологічних та біофармацевтичних аспектів для м'якої лікарської форми, яка містить ацикловір та мірамістин, для лікування асоційованих герпес-вірусних інфекцій.

Матеріали та методи дослідження. До складу м'якої лікарської форми для лікування змішаних герпес-вірусних інфекцій входять діючі речовини ацикловір з мірамістином, а також

допоміжні речовини: вазелінова олія, парафін, пропіленгліколь, спирт цетостеариловий.

Були використані наступні методи дослідження: органолептичні; фізико-хімічні; фармакотехнологічні; мікробіологічні; фармакологічні.

Результати дослідження та їх обговорення. При розробці нового лікарського засобу враховуються основні складові, які базуються на маркетингових, фармакотехнологічних, фізико-хімічних і

біофармацевтичних дослідженнях, для одержання ефективного, якісного та доступного продукту.

Нами розроблена загальна методологія до розробки комбінованого препарату у м'якій лікарській формі, яка забезпечить відповідність препарату сучасним вимогам (рис. 1). Запропонована методологія як алгоритм для фармацевтичної розробки дає змогу отримати сучасний лікарський засіб вітчизняного виробництва з добрими споживчими властивостями.

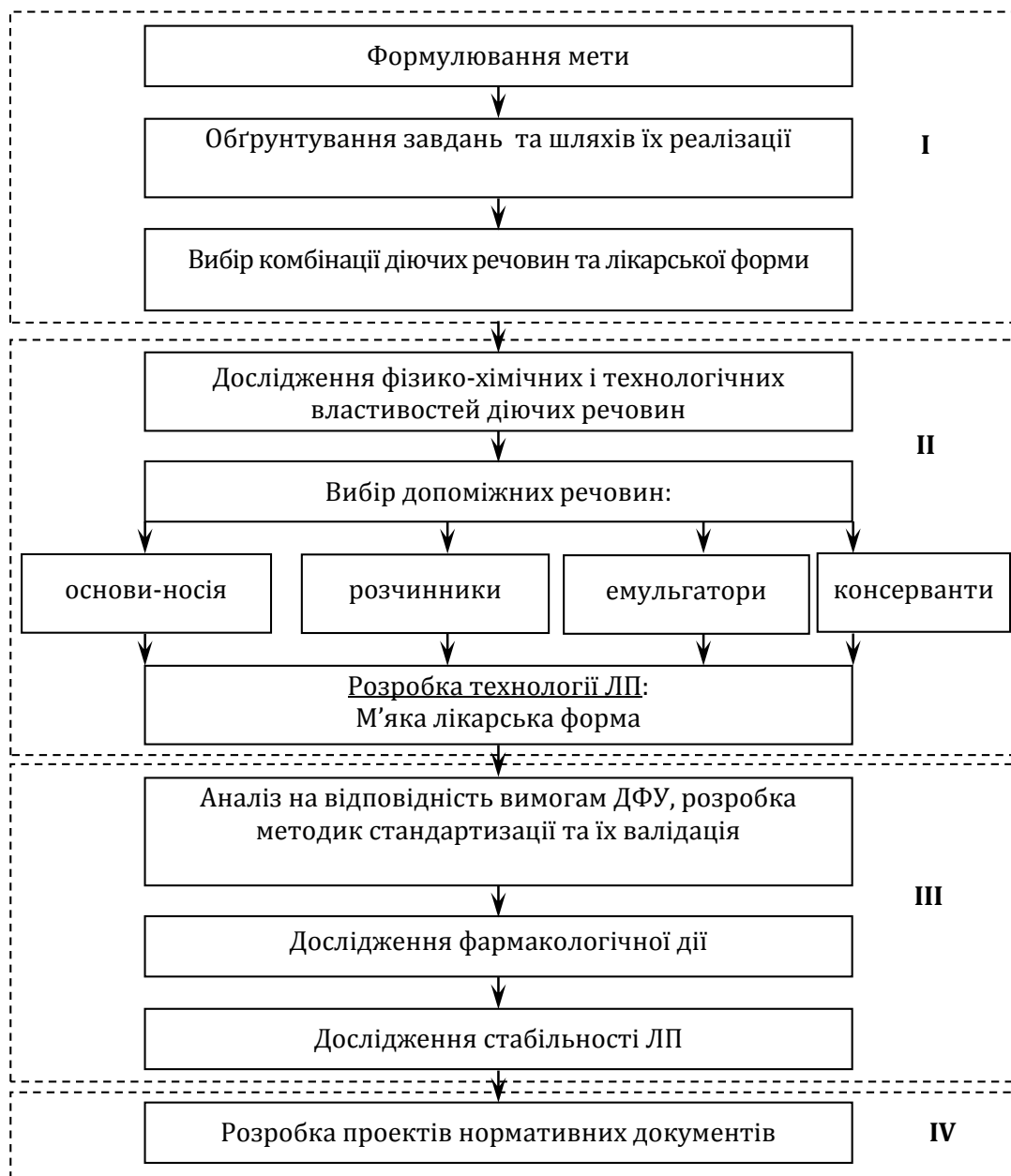


Рисунок 1. Загальна методологія до розробки комбінованого препарату у формі м'якої лікарської форми

і
З метою визначення концентрації мірамістину у складі м'якої лікарської форми були проведені мікробіологічні дослідження, які були виконані в лабораторії біохімії та біотехнології ДУ

«ІМІ ім. І. І. Мечникова НАМН України » під керівництвом канд. біол. н., с. н. с. Осолодченко Т.П.

Були використані тест-культури різних таксономічних груп мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia*

coli ATCC 25922, *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Протигрибкову дію зразка досліджено на штамі *Candida albicans* ATCC 885-653.

При оцінці антибактеріальних властивостей враховували наступні критерії: відсутність зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки, а також зони затримки до 10 мм вказують на те, що мікроорганізм не чутливий до внесеного в лунку зразка;

зони затримки росту діаметром 10-15 мм вказують на малу чутливість культури до випробовуваної концентрації антибактеріальної речовини;

зони затримки росту діаметром 15-25 мм характеризуються як показник чутливості мікроорганізму до випробовуваного зразку;

зони затримки росту, діаметр яких перевищує 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваних зразків.

Досліджували антибактеріальну активність експериментальних зразків на основі олії вазелінової та парафіну з вмістом ацикловіру 5 % та мірамістину: зразок № 1 – 0,25 %, № 2 – 0,5 %, № 3 – 0,75 %. Концентрація основної діючої речовини ацикловіру 5 %, яку обрано на підставі даних літератури [5].

Результати дослідження показали, що зразок № 2 має достатньо високий показник чутливості у порівнянні з даними діаметрів зон затримки росту для зразку № 1 по відношенню до усіх тест-штамів культур мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* 26,2±0,4 мм і 21,6±0,5 мм, *Bacillus subtilis* 24,6±0,5 мм і 21,2±0,4 мм, *Escherichia coli* 23,4±0,5 мм і 19,6±0,5 мм та *Candida albicans* 16,6±0,5 мм і 13,4±0,5 мм відповідно.

Підвищення концентрації мірамістину у складі зразку до 0,75 % недоцільно, тому що не впливає на показники чутливості.

Враховуючи результати проведених мікробіологічних досліджень встановлена оптимальна концентрація мірамістину у складі м'якої лікарської форми – 0,5 % [4].

Для лікування герпесвірусних захворювань бажано використовувати гідрофобні основи, тому що вони здатні довгий час утримуватись на поверхні шкіри та слизових оболонок, не змиваються водою і біологічними рідинами організму, не

володіють високою осмотичною активністю, а також пом'якшують і захищають шкіру від пересушування.

В результаті проведених реологічних досліджень [6] визначено, що зразок на основі парафіну та олії вазелінової, має стабільний однорідний потік на всьому діапазоні швидкостей зсуву, система легко піддається рушійній силі. Введення до складу допоміжної речовини спирту цетостеарилового за рахунок зміни концентрації якого від 1,5 %, до 3 % надає можливість коригувати в'язко-пружні властивості м'якої лікарської форми.

Технологія нової фармацевтичної розробки у вигляді м'якої лікарської форми розроблена з урахуванням фізико-хімічних властивостей діючих і допоміжних речовин. Її виробництво складається з процесів плавлення, перемішування, розчинення, гомогенізації та охолодження. Технологічна схема виробництва фармацевтичного продукту має 10 стадій (рис. 2).

В результаті проведених досліджень складено специфікацію [7] для фармацевтичної розробки з ацикловіром та мірамістином (табл.1).

Вивчення протівірусної активності діючих речовин проводили на базі лабораторії експериментальної хіміотерапії вірусних інфекцій Національної Академії медичних наук України Державна установа «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського» під керівництвом д.мед.н., проф. Рибалко С. Л. Для порівняння використовували референтний препарат 5 % крем «Зовіракс» (Глаксо Оперейшнс ЮК Лімітед, Велика Британія).

У результаті проведених досліджень встановлено, що нова фармацевтична розробка з ацикловіром та мірамістином 1 раз на добу на протязі 5 днів знижувала вираженість симптоматики до 4,0 балів, що відповідає індексу лікувальної дії на рівні 94,2 % і достовірно скорочувала тривалість лікування до 1 доби [8].

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

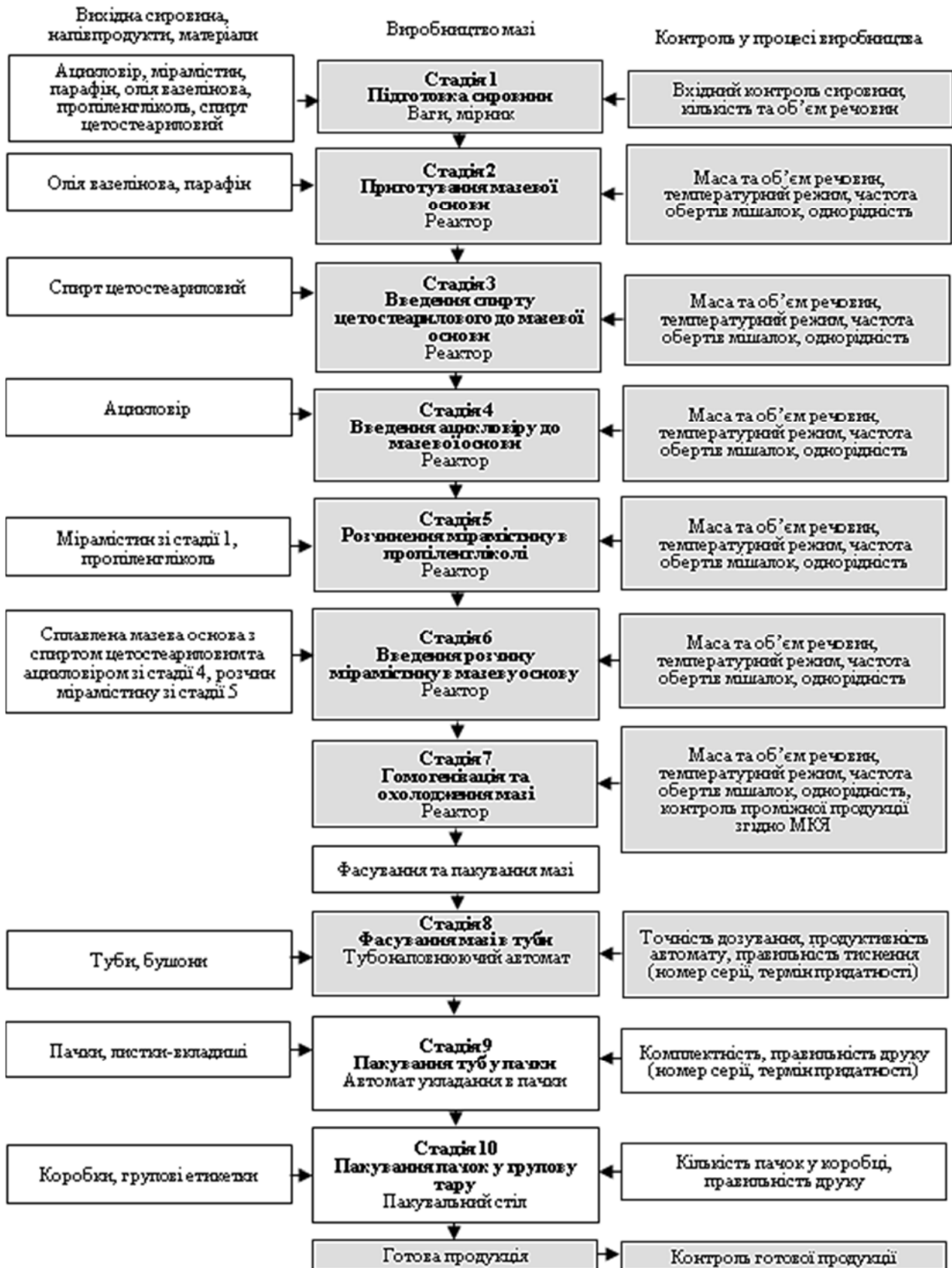


Рисунок 2. Технологічна схема виробництва фармацевтичного продукту

Специфікація для нової фармацевтичної розробки

Показники	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Препарат білого або майже білого кольору	За п. 1 Візуально
Ідентифікація ацикловіру та мірамістину	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманих в розділі «Кількісне визначення», час утримання основних піків ацикловіру та мірамістину мають співпадати з часом утримування цих піків на хроматограмі розчину порівняння	За п. 2, 8 МКЯ, ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 (метод рідинної хроматографії)
Однорідність	Препарат має бути однорідним	За п. 3 МКЯ Візуально
pH	Від 5,0 до 8,5	За п. 4 МКЯ ДФУ, 2.2.3
Розмір часток	У 10 полях зору мікроскопу основна маса часток має бути розміром не більше ніж 0,05 мкм; допускається наявність не більше 10 часток розміром до 100 мкм і не більше 5 часток розміром більше 100 мкм	За п. 5 МКЯ (метод мікроскопії)
Гуанін (супровідна домішка ацикловіру)	Не більше 1,0 %	За п. 6 МКЯ (метод ТШХ)
Маса вмісту упаковки	Маса вмісту кожної туби має бути не менше 5,0 г	За п. 7 МКЯ (ваговий метод)
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – 10^2 КУО/г Загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС) – 10^1 КУО/г Відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 г Відсутність <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 г	За п. 8 МКЯ ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4
Кількісне визначення Ацикловіру ($C_8H_{11}N_5O_3$)	В 1 г препарату: Від 47,5 мг до 52,5 мг	За п. 9 МКЯ, ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 (метод рідинної хроматографії)
Мірамістину ($C_{26}H_{47}ClN_2O$)	Від 4,75 мг до 5,25 мг	

Висновки

1. Уперше на підставі фізико-хімічних, мікробіологічних, біофармацевтичних та фармако-технологічних досліджень розроблено склад і технологію виробництва м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином для лікування асоційованих герпес-вірусних інфекцій.

2. Запропоновано методологічні підходи до розробки комбінованого препарату у формі м'якої лікарської форми.

3. Для визначення терапевтичної концентрації другої діючої речовини мірамістину проведено мікробіологічні дослідження і встановлено її вміст на рівні 0,5 %.

4. На підставі проведених фізико-хімічних, мікробіологічних та фармако-технологічних досліджень розроблено склад, технологію та складено технологічну схему

виробництва фармацевтичного продукту, яка має 10 стадій.

5. За розробленими методиками проведено оцінку якості препарату та складено специфікацію для нової фармацевтичної розробки з ацикловіром та мірамістином.

6. Результати проведених фармакологічних досліджень підтвердили, що противірусна активність м'якої лікарської форми з ацикловіром та мірамістином вища, ніж засобу порівняння – крему «Зовіракс».

7. Раціональна комбінація ацикловіру з мірамістином є новим підходом в лікуванні асоційованих герпес-вірусних інфекцій. Розроблений вітчизняний препарат буде діяти не тільки на вірусну інфекцію, а також буде посилювати антимікробний ефект, при цьому знімати запалення, і в цілому сприятливо впливати на одужання і якість життя пацієнта.

Перспективи подальших досліджень.
Планується проведення апробації технології

та методів контролю якості в промислових умовах.

References

1. Kienko, L.S., Bobritska, L.O., Spiridonov, S.V., & Gritsenko, V.I. (2021). Aktualnist kombinovanih preparativ dlya likuvannya mikst-Infektsiy [The relevance of combination drugs to overcome multidrug-resistant infections]. Proceedings from: *Vidkrivaemo nove storichchya: zdobutki ta perspektivi: materiali naukovo-praktichnoyi konferentsiyi z mizhnarodnoyu uchastyu, prisvyachenoyi 100-richchyu Natsionalnogo farmatsevtichnogo universitetu* - Opening a new history: achievements and prospects: materials of the scientific and practical conference with international participation dedicated to the 100th anniversary of the National Agrarian University, Harkiv, 10.09.2021: NFaU. S. 72-73 [in Ukrainian].
2. Інструкція крем «Зовіракс». Retrieved from: <https://helsi.me/liki/sumy/zovirax/7583/instruction> [in Ukrainian].
3. Kienko, L., Hrytsenko, V., Iakovlieva, L., & Bobrytska, L. (2020). Marketing analysis of the assortment of drugs for the treatment of herpes viral diseases at the pharmaceutical market of Ukraine. *Pharmacology, Toxicology and Pharmaceutical Science*, 3(27), 70-76. DOI: <https://doi.org/10.21303/2504-5679.2020.001285>.
4. Gritsenko, V.I., Kienko, L.S., Bobritska, L.O., Shpichak, O.S., Germanyuk, T.A., & Nazarova O.S. (2019). Farmatsevtichna kompozitsiya m'yakoyi likarskoyi formi z protivirusnoyu dieyu [Pharmaceutical composition of soft dosage form with antiviral effect]: pat. 134507 Ukrayini na korisnu model: MPK A61P 31/04. u 201811079 ; zayavl. 09.11.18 ; opubl. 27.05.19, Byul. № 10. [in Ukrainian].
5. Інструкція крем «Ліпстер». Retrieved from: <https://helsi.me/liki/sumy/lipster/330119/instruction> [in Ukrainian].
6. Ivko, T., Hrytsenko, V., Kienko, L., Bobrytska, L., Kukhtenko, H., & Germanyuk, T. (2021). Investigation of the rheological properties of ointment bases as a justification of the ointment composition for herpes treatment. *Turk J Pharm Sci*, 18(5), 628-636. DOI:10.4274/tjps.galenos.2021.93457.
7. Gritsenko, V.I., Kienko, L.S., Bobritska, L.O., & Nazarova, O.S. (2020). Rozrobka i validatsiya metodiki kilknogo viznachennya atsikloviru ta miramistinu u skladi m'yakoyi likarskoyi formi [Development and validation of a methodology for the quantitative determination of acyclovir and miramistin in the following similar form]. *Upravlinnya, ekonomika ta zabezpechennya yakosti v farmatsiyi - Management, economics and quality assurance in pharmacy*, 4(64), 10-17 [in Ukrainian].
8. Hrytsenko, V.I., Kienko, L.S., Bobrytska, L.A., Rybalko, S.L., Starosila, D.B. (2020). Study of anti-herpetic activity of a soft dosage form with acyclovir and miramistin, *Journal of Global Pharma Technology*, 12 (6), 397-404.

TECHNOLOGICAL AND BIOPHARMACEUTICAL ASPECTS TO THE CREATION OF A SOFT DOSAGE FORM FOR THE TREATMENT OF ASSOCIATED HERPES VIRUS INFECTIONS

O.S. Shpychak¹, V.I. Hrytsenko¹, L.O. Bobrytska¹, A.V. Kabachna²,
V.S. Zlahoda³, O.S. Nazarova⁴

¹ National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

² Shupyk National University of Health, Kyiv, Ukraine

³ National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya, Ukraine

⁴ Limited Liability Company «Biolik Pharma», Kharkiv, Ukraine

Introduction. Given the etiology and pathogenesis of infections caused by herpes viruses, the effectiveness of treatment is increased by the use of combination products, especially in case of mixed infections, when a fungal or bacterial infection is involved, which interact and enhance the effect on each other. The Ukrainian market is dominated by single-component products (94%), but combination products, such as Zovirax Duo-Active cream, combine the antiviral effect of acyclovir with the anti-inflammatory effect of hydrocortisone. At the same time, a new combination ointment with acyclovir and miramistin is being offered for the treatment of mono- and mix-herpesvirus infections, which has an antimicrobial effect on various types of microflora.

The purpose of the study: substantiation of technological and biopharmaceutical aspects for a soft dosage form containing acyclovir and miramistin for the treatment of associated herpes virus infections.

Materials and methods: the composition of the soft dosage form for the treatment of mixed herpes virus infections includes the active substances acyclovir with miramistin, as well as auxiliary substances: petroleum jelly, paraffin, propylene glycol, cetostearyl alcohol. The following research methods were used: organoleptic; physical and chemical; pharmacotechnological; microbiological; pharmacological.

Results: methodological approaches to the development of a combined drug in the form of a soft dosage form with acyclovir and miramistin for the treatment of associated herpes virus infections are proposed. Microbiological

studies were conducted and the concentration of miramistin was established at the level of 0.5%. The composition, technology and specification for a new pharmaceutical development with acyclovir and miramistin were developed. Pharmacological studies have confirmed that the antiviral activity of the soft dosage form with acyclovir and miramistin is higher than that of the comparator - Zovirax cream.

Conclusions. A rational combination of acyclovir with miramistin is a new approach in the treatment of associated herpes virus infections. The developed domestic drug will act not only on a viral infection, but will also enhance the antimicrobial effect, at the same time relieve inflammation, and generally have a favorable effect on the patient's recovery and quality of life.

Key words: soft dosage form, technology, biopharmacy, standardization, herpes virus infections.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Шпичак Олег Сергійович ^{A, C, E, F} – доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри промислової фармації та економіки Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації Національного фармацевтичного університету, м. Харків, Україна. ORCID ID: 0000-0002-3015-8584.

Гриценко Віта Іванівна ^{B, D} – доктор фармацевтичних наук, професор кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету, м. Харків, Україна. ORCID ID: 0000-0002-5546-4019.

Бобрицька Лариса Олександрівна ^{B, D} – доктор фармацевтичних наук, професор кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету, м. Харків, Україна. ORCID ID: 0000-0002-4953-077X.

Кабачна Алла Василівна ^{C, E} – доктор фармацевтичних наук, професор, професор кафедри фармації Національного університету охорони здоров'я ім. П.Л. Шупика, ORCID ID: 0000-0002-5809-5298.

Злагода Вікторія Сергіївна ^B – аспірант кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету, м. Харків, Україна; старший викладач кафедри фармації, Вінницький медичний університет ім. М. І. Пирогова, м. Вінниця. ORCID ID: 0000-0002-5206-3279.

Назарова Олена Сергіївна ^{B, E} – кандидат фармацевтичних наук, старший науковий співробітник Товариства з обмеженою відповідальністю «Біолік Фарма», м. Харків, Україна. ORCID ID: 0000-0003-4421-9066.

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті.

Information about authors:

Shpychak O.S. ^{A, C, E, F} – Doctor of Pharmacy (Dr. habil.), professor, head of the Department of Industrial Pharmacy and Economics, Institute for Advanced Training of Pharmacy Specialists (IATPS) of the National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine. ORCID ID: 0000-0002-3015-8584.

Hrytsenko V.I. ^{B, D} – Doctor of Pharmacy, Professor Department of industrial technology of drugs, National University of Pharmacy, ORCID ID: 0000-0002-5546-4019

Bobrytska L.O. ^{B, D} – Doctor of Pharmacy, Professor Department of industrial technology of drugs, National University of Pharmacy, ORCID ID: 0000-0002-4953-077X

Kabachna A.V. ^{C, E} – Doctor of Pharmacy, Professor, Professor of the Department of Pharmacy, Shupyk National University of Health, ORCID ID: 0000-0002-5809-5298.

Zlahoda V.S. ^B – Postgraduate Student, Department of industrial technology of drugs, National University of Pharmacy, senior teacher (lecturer) of the Department of Pharmacy, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya. ORCID ID: 0000-0002-5206-3279

Nazarova O.S. ^{B, E} – Doctor of Philosophy in Pharmacy, Senior Research Officer, Limited Liability Company «Biolik Pharma», Kharkiv, Ukraine. ORCID ID: 0000-0003-4421-9066

A – research concept and design; B – collection and/or assembly of data; C – data analysis and interpretation; D – writing the article; E – critical revision of the article; F – final approval of the article.

Адреса для листування: вул. Пушкінська, 53, 61002, м. Харків

