

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА
ДИЗАЙНУ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Попова Марія Едуардівна

УДК 615.014.2:615.458:615.454:615.33:616-001.4

ДИСЕРТАЦІЯ

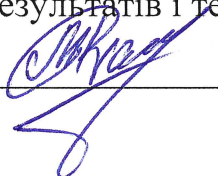
**РОЗРОБЛЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ
ТА РАНОЗАГОЮВАЛЬНОЇ ДІЇ У ФОРМІ ПІНИ НАШКІРНОЇ**

Спеціальність 226 Фармація, промислова фармація

Галузь знань 22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття ступеня доктора філософії

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


_____ М. Е. Попова

Науковий керівник Страшний Владислав Володимирович, доктор
фармацевтичних наук, професор

Київ – 2026

АНОТАЦІЯ

Попова М. Е. Розроблення фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 Фармація, промислова фармація. – Київський національний університет технологій та дизайну, м. Київ, 2026.

Рани різної етіології, зокрема інфіковані, хронічні, опікові, травматичні та вогнепальні ураження шкіри, залишаються актуальною медико-фармацевтичною проблемою. Перебіг ранового процесу часто ускладнюється мікробною контамінацією, формуванням біоплівки, надмірною запальною реакцією, порушенням ремоделювання позаклітинного матриксу, підвищеною трансепідермальною втратою води та зниженням ефективності репаративних механізмів. Особливої актуальності це питання набуває з огляду на зростання кількості травматичних та інфікованих ранових уражень, для яких важливими є швидкість надання місцевої допомоги, зручність застосування лікарського засобу та мінімізація контакту з ушкодженою поверхнею, що обґрунтовує доцільність розроблення фармацевтичної композиції з поєднаною антибактеріальною і репаративною дією, спрямованою на контроль мікробної контамінації, запальної реакції та підтримку відновлення ушкоджених тканин.

Наявні лікарські форми для місцевого лікування ран представлені переважно мазями, кремами, гелями, розчинами, пов'язками, пластирами та спреями. Значна частина таких засобів потребує контактного нанесення або додаткових маніпуляцій із рановою поверхнею, що може супроводжуватися дискомфортом, ризиком додаткового травмування тканин і утрудненням застосування при болісних, набряклих, інфікованих або підвищено чутливих ушкодженнях шкіри. У зв'язку з цим перспективною лікарською формою для реалізації антибактеріальної та ранозагоювальної дії є піна нашкірна у контейнері під тиском, яка забезпечує безконтактне нанесення, рівномірний

розподіл препарату на ушкодженій поверхні, зменшення механічного впливу на рану та зручність застосування.

Перспективною комбінацією для створення такої фармацевтичної композиції для місцевого застосування є поєднання доксицикліну хіклату та декспантенолу. Доксицикліну хіклат характеризується антибактеріальною активністю, а також додатковими протизапальними, антиоксидантними та інгібувальними властивостями матриксних металопротеїназ, що є важливим для контролю мікробного фактора та надмірної протеолітичної активності у рановому середовищі. Декспантенол є речовиною репаративної дії, що підтримує гідrataцію, відновлення бар'єрної функції шкіри та процеси реепітелізації. Отже, поєднання цих активних фармацевтичних інгредієнтів у формі піни нашкірної є фармацевтично обґрунтованим для місцевої терапії інфікованих і потенційно інфікованих ранових уражень шкіри.

Об'єкт дослідження – процеси розроблення фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної.

Предметом дослідження є технологія виготовлення фармацевтичної композиції у формі піни нашкірної на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу з антибактеріальними та ранозагоювальними властивостями.

Метою дисертаційної роботи є розроблення складу, технології та підходів до методів контролю якості фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної з доксицикліну хіклатом і декспантенолом для місцевого застосування при ранах різної етіології.

У дисертаційній роботі вирішено важливе науково-практичне завдання з розроблення фармацевтичної композиції у формі піни нашкірної на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу, що дозволило теоретично обґрунтувати та експериментально підтвердити доцільність поєднання антибактеріального впливу із підтримкою репаративних процесів у єдиній фармацевтичній композиції для місцевого застосування при ранових ураженнях шкіри.

Вперше обґрунтовано склад матричної системи для введення зазначених активних фармацевтичних інгредієнтів, визначено оптимальні фармако-

технологічні характеристики пінної системи, встановлено вплив пропеленту на процес формування та стабільність піни, а також розроблено технологію виготовлення й підходи до контролю якості фармацевтичної композиції, призначеної для місцевого застосування при ранових ураженнях.

Обґрунтовано вибір системи розчинників для введення доксицикліну хіклату до складу матричного розчину та встановлено, що найбільш доцільною є система етанол : пропіленгліколь : вода у співвідношенні 2 : 10 : 88.

Розроблено склад піни нашкірної, обґрунтовано вибір допоміжних речовин матричної системи та доведено доцільність застосування суміші пропан-бутан-ізобутан у співвідношенні 30:60:10 як пропеленту, що забезпечує досягнення необхідного тиску в контейнері, повноту виходу його вмісту та утворення стабільної піни.

Реологічними дослідженнями матричних розчинів підтверджено їх псевдопластичний характер течії. За результатами аналізу кривих течії встановлено, що найбільш оптимальним є склад № 4, для якого характерний максимальний ступінь відновлення структури після руйнування під дією напруги зсуву (88,24 %), що свідчить про його високу структурну стабільність і технологічну придатність.

Досліджено структурно-механічні властивості та мікроструктуру зразків піни нашкірної. Встановлено, що найбільш стабільну та структурно впорядковану пінну систему мав зразок № 4, для якого об'ємне розширення піни становило $210 \pm 2,88$ %, об'ємна стабільність – $90 \pm 1,52$ %, відносна густина – 0,6012, час розширення – 100-110 с, а мінімальне руйнування піни – 10-15 %.

На основі підходу Quality by Design розроблено цільовий профіль якості фармацевтичної композиції під умовною назвою «Доксипант», визначено критичні показники якості та сформовано проєкт специфікації на готовий продукт.

Розроблено технологію виробництва піни нашкірної «Доксипант», визначено критичні етапи технологічного процесу та критичні параметри процесу, що мають істотне значення для забезпечення якості готового продукту.

Розроблено методики визначення вмісту доксицикліну хіклату та декспантенолу у складі піни нашкірної методом високоефективної рідинної хроматографії. Крім того, розроблено та валідовано методику кількісного визначення доксицикліну хіклату методом УФ-спектрофотометрії.

Проведено дослідження стабільності та підтверджено відповідність піни нашкірної «Доксипант» вимогам специфікації за умов довгострокового зберігання при 25 ± 2 °C протягом 24 місяців і прискореного зберігання при 40 ± 2 °C протягом 6 місяців. За результатами досліджень встановлено термін придатності композиції – 2 роки.

Підтверджено антимікробну активність піни нашкірної «Доксипант» щодо бактеріальних штампів, асоційованих з інфікованими ранами. Для *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, і *Klebsiella pneumoniae* мінімальна інгібуюча концентрація становила 1,5625 мкг/мл, а для *Escherichia coli* – 3,125 мкг/мл, однак штамп *Pseudomonas aeruginosa* виявився резистентним (концентрація 100 мкг/мл). Отримані результати підтверджують доцільність використання доксицикліну хіклату у концентрації 10 мг/мл у складі розробленої композиції.

Досліджено профілі *in vitro* вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу через мембрану та встановлено лінійний характер вивільнення активних речовин. Концентрація доксицикліну хіклату в рецепторному середовищі збільшувалася від $0,8104 \pm 0,0072$ мг/мл через 0,5 год до $2,5812 \pm 0,0016$ мг/мл через 6 год, а його кумулятивна кількість – від $1,6848 \pm 0,0138$ до $5,3664 \pm 0,0033$ мг/см². Для декспантенолу відповідні значення становили від $2,6225 \pm 0,0015$ до $15,8648 \pm 0,0012$ мг/мл та від $5,4522 \pm 0,0032$ до $32,9830 \pm 0,0027$ мг/см².

Проведено *in vitro* оцінку впливу піни нашкірної «Доксипант» та окремих активних фармацевтичних інгредієнтів – доксицикліну хіклату і декспантенолу – на кількість клітин і морфологічний стан мезенхімальних мультипотентних стовбурових клітин шкіри. Встановлено, що доксицикліну хіклат як монокомпонент чинив найбільш виражений токсичний вплив на клітинну культуру, знижуючи кількість клітин до 37,6-54,4 % відносно контролю.

Декспантенол характеризувався менш вираженим токсичним впливом і забезпечував збереження 59,4-73,0 % клітин, тоді як комбінований склад доксицикліну хіклату з декспантенолом мав показники 55,7-67,1 % від контролю. Отримані результати підтверджують, що введення декспантенолу до фармацевтичної композиції з доксицикліну хіклатом зменшує токсичний вплив антибактеріального компонента на культуру клітин.

Наукова новизна одержаних результатів полягає у тому, що автором вперше теоретично встановлено і експериментально обґрунтовано склад матричної системи, що забезпечує стабільність розчинного доксицикліну, вперше запропоновано композицію з доксицикліном для місцевого застосування у формі піни нашкірної для лікування ран. Новизна досліджень захищена патентом України на корисну модель № 159275 «Спосіб отримання фармацевтичної композиції для лікування ран».

Практичне значення одержаних результатів полягає у розробленні складу, технології та проекту специфікації контролю якості фармацевтичної композиції у формі піни нашкірної «Доксипант», що може бути використано при подальшому впровадженні у виробництво. За результатами проведених досліджень розроблено та апробовано технологію виготовлення композиції, а також напрацьовано дослідно-промислові зразки піни нашкірної «Доксипант» в умовах виробництва ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Васильків, Київська область.

Результати дисертаційної роботи можуть бути використані у фармацевтичній розробці комбінованих композицій для місцевого застосування, при створенні препаратів у формі піни нашкірної в контейнері під тиском, а також у подальших дослідженнях локальних систем доставки антибактеріальних і репаративних активних фармацевтичних інгредієнтів.

Ключові слова: активний фармацевтичний інгредієнт, доксицикліну хіклат, декспантенол, піна нашкірна, система доставки лікарських засобів, рани, лікування ран, антибактеріальна дія, антимікробні властивості, фармацевтична розробка, технологія, реологія, кінетика вивільнення, стабільність, валідація.

ABSTRACT

Popova M. E. Development of an Antibacterial and Wound-Healing Pharmaceutical Composition in the Form of a Topical Foam. – Qualification scientific work submitted as a manuscript.

Dissertation submitted for the degree of Doctor of Philosophy in Specialty 226 Pharmacy, Industrial Pharmacy. – Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, 2026.

Wounds of various etiologies, including infected, chronic, burn, traumatic, and gunshot wounds, remain a significant medical and pharmaceutical challenge. The wound-healing process is often complicated by microbial contamination, biofilm formation, excessive inflammation, impaired extracellular matrix remodeling, increased transepidermal water loss, and insufficient tissue repair.

This issue has become particularly relevant due to the increasing incidence of traumatic and infected wounds, where rapid local treatment, ease of administration, and minimal contact with the damaged surface are critically important. These factors substantiate the need to develop a pharmaceutical composition with combined antibacterial and wound-healing activity aimed at controlling microbial contamination and inflammation while supporting the restoration of damaged tissues.

Currently available dosage forms for topical wound treatment include ointments, creams, gels, solutions, dressings, patches, and sprays. Many of these formulations require direct contact with the wound surface during application or involve additional manipulations, which may cause discomfort, increase the risk of further tissue injury, and complicate the treatment of painful, edematous, infected, or highly sensitive skin lesions.

In this context, a cutaneous foam in a pressurized container is a promising dosage form for achieving antibacterial and wound-healing effects. It enables non-contact application, uniform distribution of the product over the damaged area, reduced mechanical impact on the wound, and improved convenience of use.

A promising combination for the development of such a pharmaceutical composition for topical application is doxycycline hyclate and dexpanthenol.

Doxycycline hyclate exhibits antibacterial activity as well as additional anti-inflammatory, antioxidant, and matrix metalloproteinase-inhibitory properties, which are important for controlling microbial contamination and excessive proteolytic activity within the wound environment. Dexpanthenol is a reparative agent that supports hydration, restoration of the skin barrier function, and re-epithelialization processes. Therefore, the combination of these active pharmaceutical ingredients in the form of a cutaneous foam is pharmaceutically justified for the topical treatment of infected and potentially infected skin wounds.

The object of the study was the process of developing an antibacterial and wound-healing pharmaceutical composition in the form of a cutaneous foam.

The subject of the study was the technology for manufacturing a pharmaceutical composition in the form of a cutaneous foam based on doxycycline hyclate and dexpanthenol with antibacterial and wound-healing properties.

The aim of the dissertation research was to develop the composition, manufacturing technology, and approaches to quality control methods for an antibacterial and wound-healing pharmaceutical composition in the form of a cutaneous foam containing doxycycline hyclate and dexpanthenol intended for topical application in wounds of various etiologies.

The dissertation solved an important scientific and practical task involving the development of a pharmaceutical composition in the form of a cutaneous foam based on doxycycline hyclate and dexpanthenol. This made it possible to theoretically substantiate and experimentally confirm the feasibility of combining antibacterial action with support of reparative processes within a single dosage form for topical application in skin wounds.

The choice of the solvent system for incorporating doxycycline hyclate into the matrix solution was substantiated, and it was established that the ethanol : propylene glycol : water system at a ratio of 2 : 10 : 88 is the most appropriate.

The composition of the cutaneous foam was developed, the choice of excipients for the matrix system was substantiated, and the appropriateness of using a propane–butane–isobutane mixture at a ratio of 30 : 60 : 10 as a propellant was demonstrated,

as it ensures achievement of the required pressure in the container, complete discharge of its contents, and formation of a stable foam.

Rheological studies of the matrix solutions confirmed their pseudoplastic flow behaviour. Based on the analysis of flow curves, it was established that composition No. 4 was the most optimal, being characterised by the maximum degree of structural recovery after destruction under the action of shear stress (88.24%), which indicates its high structural stability and technological suitability.

The structural-mechanical properties and microstructure of the cutaneous foam samples were investigated. Sample No. 4 exhibited the most stable and structurally organized foam system, characterized by a foam expansion ratio of $210 \pm 2.88\%$, volumetric stability of $90 \pm 1.52\%$, relative density of 0.6012, expansion time of 100-110 s, and minimal foam collapse of 10-15%.

Based on the Quality by Design (QbD) approach, the Quality Target Product Profile for the pharmaceutical composition under the provisional name “Doxy pant” was developed, critical quality attributes were identified, and a draft finished product specification was prepared.

The manufacturing technology for “Doxy pant” cutaneous foam was developed, and the critical process stages and critical process parameters essential for ensuring finished product quality were identified.

Methods for the determination of doxycycline hyclate and dexpanthenol content in the cutaneous foam using high-performance liquid chromatography were developed. In addition, a UV spectrophotometric method for the quantitative determination of doxycycline hyclate was developed and validated.

Stability studies were conducted, confirming compliance of the “Doxy pant” cutaneous foam with specification requirements under long-term storage conditions at 25 ± 2 °C for 24 months and accelerated storage conditions at 40 ± 2 °C for 6 months. Based on the obtained results, the shelf life of the composition was established as two years.

The antimicrobial activity of “Doxy pant” cutaneous foam against bacterial strains associated with infected wounds was confirmed. For *Staphylococcus aureus*,

Staphylococcus epidermidis, and *Klebsiella pneumoniae*, the minimum inhibitory concentration was 1.5625 µg/mL, whereas for *Escherichia coli* it was 3.125 µg/mL. However, *Pseudomonas aeruginosa* demonstrated resistance, with a minimum inhibitory concentration of 100 µg/mL. These findings confirm the appropriateness of using doxycycline hyclate at a concentration of 10 mg/mL in the developed composition.

The *in vitro* release profiles of doxycycline hyclate and dexpanthenol through a membrane were investigated, demonstrating a linear release pattern for both active substances. The concentration of doxycycline hyclate in the receptor medium increased from 0.8104 ± 0.0072 mg/mL after 0.5 h to 2.5812 ± 0.0016 mg/mL after 6 h, while its cumulative amount increased from 1.6848 ± 0.0138 to 5.3664 ± 0.0033 mg/cm². For dexpanthenol, the corresponding values increased from 2.6225 ± 0.0015 to 15.8648 ± 0.0012 mg/mL and from 5.4522 ± 0.0032 to 32.9830 ± 0.0027 mg/cm², respectively.

An *in vitro* assessment of the effects of “Doxypant” topical foam and its individual active pharmaceutical ingredients, doxycycline hyclate and dexpanthenol, on the number and morphological status of skin-derived mesenchymal multipotent stem cells was performed. Doxycycline hyclate as a monocomponent exerted the most pronounced toxic effect on the cell culture, reducing cell numbers to 37.6–44.4% relative to the control. Dexpanthenol demonstrated a less pronounced toxic effect, preserving 59.4–73.0% of cells, whereas the combined composition containing doxycycline hyclate and dexpanthenol maintained 55.7–67.1% of cells compared with the control. These results confirm that the incorporation of dexpanthenol into the pharmaceutical composition mitigates the toxic effect of the antibacterial component on cell cultures.

The scientific novelty of the obtained results lies in the fact that, for the first time, the author theoretically established and experimentally substantiated the composition of a matrix system capable of ensuring the stability of soluble doxycycline. Furthermore, a novel doxycycline-containing pharmaceutical composition for topical wound treatment in the form of a cutaneous foam was proposed. The novelty of the research is protected by Ukrainian Utility Model Patent

No. 159275, “Method for Obtaining a Pharmaceutical Composition for Wound Treatment”.

The practical significance of the obtained results consists in the development of the composition, manufacturing technology, and draft quality control specification for the “Doxy pant” cutaneous foam pharmaceutical composition, which may be used for subsequent industrial implementation. Based on the conducted studies, the manufacturing technology was developed and tested, and pilot-industrial batches of “Doxy pant” cutaneous foam were produced under manufacturing conditions at LLC BIOTESTLAB, Vasylkiv, Kyiv Region, Ukraine.

The results of the dissertation research may be applied in the pharmaceutical development of combined topical formulations, in the creation of medicinal products in the form of cutaneous foams in pressurized containers, and in further investigations of local delivery systems for antibacterial and reparative active pharmaceutical ingredients.

Keywords: active pharmaceutical ingredient, doxycycline hyclate, dexpanthenol, cutaneous foam, drug delivery system, wounds, wound treatment, antibacterial activity, antimicrobial properties, pharmaceutical development, technology, rheology, release kinetics, stability, validation.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

Статті у наукових фахових виданнях України

Особистий внесок здобувача: [3-5] – інформаційний пошук; [3] – планування та проведення експериментальних досліджень; [4,5] – узагальнення отриманих результатів та підготовка статті до публікації; [6] – участь у розробленні технічного рішення, експериментальному обґрунтуванні складу та технології фармацевтичної композиції, узагальненні отриманих результатів і підготовці матеріалів заявки на патент.

1. **Попова, М. Е.** (2026). Розроблення стратегії контролю піни нашкірної ранозагоювальної дії зі застосуванням підходу Quality by Design. Фармацевтичний журнал, (2), С. 43-56. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.26.04> (Категорія Б)

2. **Попова М. Е.** (2026). Дослідження впливу допоміжних речовин на фізико-хімічні та структурні властивості лікарського засобу у формі піни нашкірної. Health & Education, Вип. 1, 2026. – С.150-159. <https://doi.org/10.32782/health-2026.1.19>. (Категорія Б)

3. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Товстига А. Р., Страшний В. В. (2025). Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболювальної дії. Вісник фармації 2025:1 (109) – С.80-87. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.160> (Категорія Б)

4. Салій О. О., **Попова М. Е.,** Тарасенко Г. В., Яровенко В. С. (2022). Аналіз основних тенденцій розвитку ринку лікарських засобів під тиском у фармацевтичній та ветеринарній практиці // Соціальна фармація в охороні здоров'я. – 2022. – Т. 8, № 3. – С.60-70. <https://doi.org/10.24959/sphhcj.22.26> (Категорія Б)

Статті в Іноземних виданнях

5. Saliy Olena, **Popova Mariia,** Tarasenko Hanna, Getalo Olga. Development strategy of novel drug formulations for the delivery of doxycycline in the treatment of

wounds of various etiologies, European Journal of Pharmaceutical Sciences (2024), Vol.195, 06636 <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106636> (Scopus Q1)

Патенти

6. Пат. 159275 Україна, МПК (2025.01) А61К9/12, (2006.01) А61К31/00, А61Р17/02 (2006.01). Спосіб отримання фармацевтичної композиції для лікування ран / О. О. Салій, **М. Е. Попова**, Г. В. Тарасенко, О. І. Ковалевська, В. В. Страшний; власник Київський національний університет технологій та дизайну. – № u202405804 ; заявл. 09.12.2024; опублік. 07.05.2025, Бюл. № 19/2025. – 5 с. <https://stud.knutd.edu.ua/handle/123456789/31403> (патент на корисну модель)

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації

Особистий внесок здобувача: [6, 7, 14–17] – інформаційний пошук та аналіз літературних даних; [1, 8, 10] – підбір умов аналітичного контролю та оцінка стабільності доксицикліну; [2, 4, 5, 11] – обґрунтування складу, показників якості та технологічних параметрів фармацевтичної композиції; [3, 9, 12, 13] – планування і проведення експериментальних досліджень, обробка та узагальнення результатів; [2-13, 15-17] – підготовка тез доповідей до публікації.

1. **Попова М. Е.**, Ковалевська О. І., Салій О. О. Вибір умов пробопідготовки при кількісному визначенні доксицикліну в піні нашкірній. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: матеріали VIII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 10 квітня 2026 р.). – Електрон. дані. – Х.: НФаУ, 2026 - С.269-271.

2. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Страшний В. В. Визначення критичних параметрів технологічного процесу при розробці аерозолі місцевого застосування, що містить доксициклін. *PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА*: матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю (Київ, 23 січня 2026 р.). Київ: Паливода А. В., 2026. Т.1. - С.56-59.

3. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Рибачук О. А. Вплив доксицикліну на життєздатність клітин та оцінка цитотоксичного впливу *in vitro* на етапі доклінічних досліджень. *Сучасні досягнення експериментальної, клінічної екологічної біохімії та молекулярної біології*: збірник публікацій II Міжнародної науково-практичної online конференції (м. Харків, 07 листопада 2025 р.). – Х. : НФаУ, 2025. – С. 431-436. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/33599>

4. **Попова Марія,** Салій Олена, Тарасенко Ганна. Розробка специфікації контролю показників якості антибактеріального засобу у формі піни нашкірної. *Modern chemistry of medicines*: матеріали Міжнародної Internet-конференції (7 листопада 2025 р., м. Харків) – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2025. – С.152.

5. **Попова М.,** Салій О., Страшний В. Оптимізація технологічних параметрів кількісного співвідношення введених компонентів до складу аерозолі для лікування ранових інфекцій. *Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів*: збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Запоріжжя, 20–21 листопада 2025 р. Запоріжжя: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, 2025. С. 113. https://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/23876/1/ZFF-2025_Zbirnyk_tez.pdf

6. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Страшний В. В. Дослідження асортименту та доступності лікарських засобів, що містять доксициклін. *Соціальна фармація: стан, проблеми та перспективи* : матер. X Міжнар. наук.-практ. конференції (28 тр. 2025 р., м. Харків) / ред. кол.: А. А. Котвіцька та ін. – Х.: НФаУ, 2025. – С.743-746. https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/33487/1/sotsialna-farmatsiia_materialy-2025-1_743.pdf

7. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Страшний В. В. Шляхи та механізми стабілізації доксицикліну при розробці парентеральних лікарських форм. *Фармацевтичні технології, стандартизація та забезпечення якості лікарських засобів / Pharmaceutical technologies, standardization and quality assurance of medicines* : матеріали II Internet-конф. з міжнар. участю (22 трав. 2025 р., м. Харків) / редкол.: А. А. Котвіцька, В. Ю. Кузнєцова, І. М. Владимірова [та ін.].

– Харків : НФаУ, 2025. – С. 199-200.

<https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/33486>

8. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Тарасенко Г. В. Підбір умов визначення ступеню деградації доксицикліну у рідких лікарських засобах для нашкірного застосування. *XVII Всеукраїнська наукова конференція студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання - 2025"*, (ХКЧ'25), 29 квітня 2025 року, Харків. – С.88-89. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/32939>

9. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Страшний В. В. Дослідження розчинності та стабільності розчинів доксицикліну для зовнішнього застосування. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали V міжнародної наук.-практ. конф.* (28 березня 2025 р., м. Харків). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2025. – С. 326-329.

10. **Попова М.Е.**, Салій О.О., Страшний В.В. Вплив утворення домішок доксицикліну у складі нашкірної піни на якість лікарського засобу. *«Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині»* : матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції (м. Харків, 21 березня 2025 р., м. Харків) / – Х. : НФаУ, 2025. – С.134-135. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/31611>

11. **Попова М.** Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболюючої дії. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* / М. Попова, О. Салій, А. Товстига // Матеріали X наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармацевції з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового (17 – 18 жовтня 2024 р.). – Тернопіль : ТНМУ, 2024. – С.188-189. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/29318>

12. **Mariia Popova**, Olena Saliy. Selection of optimal concentration of Doxycycline hyclate in a composition of Topical Foam Aerosol. *Interdisciplinary Conference on Drug Sciences, ACCORD 2024*, May 23rd-25th, Warsaw, Poland – P.167-168.

https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/27031/1/ACCORD_CONFERENCE_A_bstract_2024.pdf

13. **Mariia Popova**, Olena Saliy. Propellant selection for enhanced drug delivery in wound-healing topical aerosols. *67th International Conference for Students of Physics and Natural Sciences "Open Readings 2024"*: book of abstracts, Vilnius, Lithuania, April 23-26, 2024. – Vilnius, Lithuania : Vilnius University Press, 2024 – P.205. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/26941>

14. Салій О. О., Саченко Є. В., **Попова М. Е.** Дослідження раціональності застосування комбінації доксицикліну з анестетиком / *Сучасні досягнення фармацевтичної технології* : матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 60-річчю з дня народж. д-ра фармацевт. наук, проф. Гладуха Євгенія олодимировича, м. Харків, 10-11 трав. 2023 р. – Харків : НФаУ, 2023. – С.95-96. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/23950>

15. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Тарасенко Г. В. Лікарські форми доксицикліну в лікуванні ран різної етіології. «*Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині*» : матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції (м. Харків, 24 березня 2023 р., м. Харків) / – X. : НФаУ, 2023. – С.48-50. <https://test.knutd.edu.ua/handle/123456789/24432>

16. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Пашенко І. О. Перспективи створення аерозолів для зовнішнього застосування / *Сучасні досягнення фармацевтичної справи: збірник наукових праць* (Матеріали X Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (10-11 листопада 2022 р.), випуск 1. – X.: Вид-во НФаУ, 2022. – С.193-196. <https://test.knutd.edu.ua/handle/123456789/21232>

17. Салій О. О., **Попова М. Е.**, Яровенко В. С. Деякі аспекти розробки та сучасних методів контролю якості лікарських засобів, що знаходяться під тиском / *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції* (м. Харків, 13 жовтня 2022 р.). X.: Вид-во НФаУ, 2022.- С.183-186. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/21195>

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	21
ВСТУП	23
РОЗДІЛ 1 ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЛІКУВАННЯ РАН РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ	33
1.1 Лікування ран та ранової інфекції.....	33
1.2 Механізми ранозагоювальної дії доксицикліну.....	38
1.3 Шляхи доставки доксицикліну хіклату для лікування ран різної етіології.....	46
1.4 Комбіновані лікарські засоби у формі піни нашкірної	67
1.5 Пропеленти у фармацевтичних аерозольних препаратах.....	71
Висновки до розділу 1	79
РОЗДІЛ 2 ОБГРУНТУВАННЯ МЕТОДОЛОГІЇ ДОСЛІДЖЕННЯ. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	80
2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень комбінованих лікарських засобів із різним типом дисперсійного середовища для лікування ран	80
2.2 Маркетингові дослідження лікарських засобів, що знаходяться під тиском на ринку України.....	85
2.3 Об'єкти дослідження	94
2.3.1 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів	94
2.3.2 Характеристика допоміжних речовин	97
2.4 Методи дослідження.....	101
Висновки до розділу 2	114
РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ У ФОРМІ ПІНИ НАШКІРНОЇ З ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТОМ І ДЕКСПАНТЕНОЛОМ.....	115
3.1 Розробка цільового профілю якості піни нашкірної	115

3.2 Обґрунтування вибору розчинників для отримання матричних розчинів на основі доксицикліну хіклату.....	124
3.3 Обґрунтування оптимальної концентрації доксицикліну хіклату за результатами мікробіологічних досліджень <i>in vitro</i>	136
3.4 Обґрунтування вибору підсилювачів піноутворення, ПАР, стабілізатору стійкості піни та антимікробних консервантів.	138
3.5 Реологічні дослідження матричних розчинів	143
3.6 Вибір пропеленту та дослідження його впливу на технологічні властивості піни нашкірної.....	147
3.7 Макроскопічна оцінка піни нашкірної	152
3.8 Мікроскопічний аналіз піни нашкірної	155
3.9 Фізико-хімічні дослідження піни нашкірної.....	160
Висновки до розділу 3	163
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ У ФОРМІ ПІНИ НАШКІРНОЇ З ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТОМ ТА ДЕКСПАНТЕНОЛОМ.....	
4.1 Проект специфікації контролю готового продукту «ДОКСИПАНТ», піна нашкірна.....	165
4.2 Розробка аналітичної методики кількісного визначення доксицикліну хіклату	167
4.3 Розробка аналітичної методики кількісного визначення декспантенолу	176
4.4 Валідація методики кількісного визначення доксицикліну хіклату у складі піни нашкірної методом УФ-спектрофотометрії.....	181
4.5 Опис технологічного процесу виготовлення піни нашкірної	187
4.6 Аналіз ризиків для якості при виробництві піни нашкірної «ДОКСИПАНТ».....	191

4.7 Дослідження стабільності та встановлення терміну придатності піни нашкірної.....	198
Висновки до розділу 4	200
РОЗДІЛ 5 РЕЗУЛЬТАТИ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ, ФАРМАКО-ТЕХНОЛОГІЧНИХ І ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ КОМБІНОВАНОЇ ПІНИ НАШКІРНОЇ «ДОКСИПАНТ»	201
5.1 Мікробіологічні дослідження та вивчення антибактеріальної дії піни нашкірної «ДОКСИПАНТ»	201
5.2 Кінетика вивільнення активних фармацевтичних інгредієнтів (<i>in vitro</i>) із піни нашкірної «Доксипант»	203
5.3 Кількісна оцінка впливу препарату «Доксипант» на ММСК.....	211
Висновки до розділу 5	225
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	226
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	230
ДОДАТОК А Список публікацій здобувача	258
ДОДАТОК Б Висновок комісії з питань етики та біоетики наукових досліджень	262
ДОДАТОК В Патент на корисну модель.....	263
ДОДАТОК Г Технологічний регламент	265
ДОДАТОК Д Методики контролю якості	266
ДОДАТОК Е Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження в освітньо-науковому процесі кафедри токсикологічно та неорганічної хімії ЗДМФУ.....	267
ДОДАТОК Ж Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження в освітньо-науковому процесі кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків ТНМУ імені І. Я. Горбачевського.....	268

ДОДАТОК К Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження в освітньо-науковому процесі кафедри промислової фармації КНУТД.....	269
ДОДАТОК Л Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження в освітньо-науковому процесі кафедри аптечної та промислової технології ліків НМУ імені О. О. Богомольця.....	270
ДОДАТОК М Дослідження стабільності	271

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ANOVA	–	Дисперсійний аналіз
CLSI	–	Інститут клінічних та лабораторних стандартів
CPP	–	Критичний параметр процесу
CQA	–	Критичний показник якості
DE	–	Час розширення піни
DOXH	–	Доксицикліну хіклат
DP	–	Декспантенол
EMA	–	Європейське агентство з лікарських засобів
EUCAST	–	Європейський комітет з визначення чутливості до антимікробних препаратів
FDA	–	Управління з контролю за харчовими продуктами і лікарськими засобами США
FE	–	Об'ємне розширення піни
FLD	–	Стійкість піни
FVS	–	Об'ємна стабільність піни
ICH	–	Міжнародна рада з питань гармонізації
IL	–	Інтерлейкін
IVRT	–	Тест вивільнення <i>in vitro</i>
QbD	–	Якість шляхом розробки
QTPP	–	Цільовий профіль якості лікарського засобу
RFD	–	Відносна густина піни
TAMC	–	Загальна кількість аеробних мікроорганізмів
TNF- α	–	Фактор некрозу пухлин альфа
TYMC	–	Загальна кількість дріжджових і пліснявих грибів
USP	–	Фармакопея США
VEGF	–	Фактор росту ендотелію судин
ATC/ATX	–	Анатомо-терапевтично-хімічна класифікація
АФІ	–	Активний фармацевтичний інгредієнт
ВЕРХ	–	Високоєфективна рідинна хроматографія

ДФУ	–	Державна фармакопея України
ЄФ / Ph. Eur.	–	Європейська фармакопея
КУО	–	Колонієутворювальні одиниці
ЛЗ	–	Лікарський засіб
МІК	–	Мінімальна інгібуюча концентрація
МКЯ	–	Методи контролю якості
ММП	–	Матриксні металопротейнази
ММСК	–	Мезенхімально мультипотентні стовбурові клітини
ПАР	–	Поверхнево-активна речовина
ПГ	–	Пропіленгліколь
ПЕГ	–	Поліетиленгліколь
СДА	–	Сабуро-декстрозний агар
СКА	–	Соєво-казеїновий агар

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Рани різної етіології, такі як опіки другого ступеня, хронічні рани та виразки, вражають мільйони людей і залишаються значною проблемою охорони здоров'я в усьому світі. Епідеміологія травм включає дорожньо-транспортні пригоди, спорт, воєнні конфлікти, хронічні запальні та інфекційні захворювання, тощо. Воєнні дії на території України, зумовлені повномасштабною агресією Російської Федерації, призвели до зростання кількості пацієнтів із відкритими вогнепальними, травматичними та інфікованими ранами, що потребують своєчасного й ефективного лікування із застосуванням лікарських засобів антибактеріальної та регенеративної дії.

Незважаючи на різноманіття існуючих методів лікування та ранозагоювальних засобів, не завжди вдається негайно обробити рану та застосувати лікарські засоби у випадку надзвичайних ситуацій та бойових травм в польових умовах при відсутності швидкої медичної допомоги, медичного персоналу, чистих умов амбулаторних приміщень, тощо.

Із метою симптоматичного лікування різних видів ранових інфекцій найчастіше застосовуються гелі, мазі, креми, ранові пов'язки, пластири, розчини для зовнішнього застосування, плівкоутворювальні спреї, що потребують контактної взаємодії лікарського засобу та поверхні рани, або допоміжного персоналу. Широке використання означених лікарських форм обумовлено простотою застосування, тому парентеральна доставка та місцеве застосування залишається пріоритетним у лікуванні ранових інфекцій. Незважаючи на велику кількість препаратів на фармацевтичному ринку, пошук зручних лікарських форм має тенденцію до збільшення, а саме аерозольні форми, піни на шкірні привертають науковий інтерес завдяки зручному та безконтактному застосуванню.

Комбіновані лікарські засоби займають невелику кількість асортименту парентеральних форм для лікування ран різної етіології, і у більшості складають комбінації антибактеріальних, антисептичних та протизапальних засобів. Однак для комплексного впливу пригнічення інфекції та швидкого загоєння рани

раціональною є комбінація антибактеріального засобу та компоненту що регенерує і відновлює тканин та прискорює перебіг ранового процесу.

Питанням розробки лікарських засобів для місцевого застосування в терапії ран різної етіології присвячені дослідження відомих вчених Є. В. Гладуха, Л. Л. Давтян, В. В. Гладишева, В. О. Тарасенко, О. О. Салій та інших. Перспективною сировиною для створення піни нашкірної для зовнішнього застосування є доксицикліну хіклат (антибактеріальний компонент) та декспантенол (компонент, що сприяє регенерації і відновленню тканин).

З огляду на обмеженість асортименту зареєстрованих нашкірних лікарських форм на основі доксицикліну хіклату, розроблення місцевої форми доставки антибіотику для лікування інфікованих ран у комбінації з речовиною, що прискорює ранозагоєння є актуальним напрямом сучасної фармацевтичної розробки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана у відповідності до наукового напрямку Київського національного університету технологій та дизайну № 21-1/26 «Використання методів *in silico* моделювання, комплексної хемоінформатики, обчислювальної біохімії, фармакології, фармацевтичної хімії та експертизи на ранніх стадіях проектів пошуку нових лікарських препаратів» та ініціативної НДР «Розробка нових форм доксицикліну для антибактеріальної терапії» (№ державної реєстрації НДР 0123U100469 (2022-2028 рр.)).

Мета та завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є наукове обґрунтування складу, розроблення технології та підходів до контролю якості фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу.

Для досягнення поставленої мети вирішувались наступні завдання:

– аналіз та узагальнення даних наукової літератури щодо сучасних підходів до місцевого лікування ран різної етіології, механізмів ранозагоювальної дії доксицикліну та шляхів його доставки до ушкоджених тканин;

– маркетинговий аналіз асортименту лікарських засобів під тиском на фармацевтичному ринку України та визначення перспективності розроблення піни нашкірної для місцевої терапії ранових уражень;

– обґрунтування доцільності поєднання доксицикліну хіклату та декспантенолу та розроблення складу матричної системи піни нашкірної з урахуванням фізико-хімічних, фармако-технологічних і реологічних властивостей досліджуваних зразків;

– визначення типу пропеленту та обґрунтування його оптимального співвідношення для забезпечення необхідного внутрішнього тиску в контейнері, повного виходу вмісту та формування стабільної пінної структури;

– проведення комплексу фармако-технологічних досліджень піни нашкірної (визначення відносної густини піни, часу розширення, об'ємного розширення та об'ємної стабільності, мікроскопічний аналіз пінної системи) для оцінки дисперсності та структурної однорідності піни; дослідження реологічних властивостей матричних систем і встановлення їх впливу на технологічні характеристики композиції, формування стабільної піни та забезпечення належного нанесення на шкіру;

– розроблення методик кількісного визначення доксицикліну хіклату та декспантенолу у складі піни нашкірної;

– проведення біофармацевтичних досліджень *in vitro* для оцінки вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу з розробленої піни нашкірної;

– дослідження стабільності одержаних зразків піни нашкірної в контейнері під тиском за умов довгострокового зберігання;

– вивчення *in vitro* впливу доксицикліну хіклату, декспантенолу та їх комбінації на кількість клітин і морфологічний стан мезенхімальних мультипотентних стовбурових клітин шкіри;

– розроблення технології виробництва нашкірної піни з визначенням критичних параметрів процесу та аналізу ризиків для якості.

Об'єкт дослідження – процеси розроблення фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної.

Предметом дослідження є технологія виготовлення фармацевтичної композиції у формі піни наскірної на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу з антибактеріальними та ранозагоювальними властивостями.

Методи дослідження. Для виконання поставлених завдань у дисертаційній роботі використано аналіз, систематизацію та узагальнення даних наукової літератури, нормативно-правових документів і фармакопейних вимог; органолептичні методи для оцінки зовнішнього вигляду; фізико-хімічні методи (визначення рН, динамічної в'язкості, кількісного вмісту доксицикліну хіклату і декспантенолу та показників стабільності); фармако-технологічні методи для дослідження піноутворювальної здатності (стабільність піни, відносна густина, час розширення та структурно-механічні властивості); біофармацевтичні методи для оцінки *in vitro* вивільнення активних фармацевтичних інгредієнтів із пінної системи; мікробіологічні методи для визначення антимікробної активності та мікробіологічної чистоти; біологічні методи *in vitro* для оцінки впливу композиції на кількість клітин та морфологічний стан мезенхімальних мультипотентних стовбурових клітини шкіри; математичні та графічні методи для статистичної обробки результатів та наукової інтерпретації отриманих даних з метою об'єктивної оцінки якісних та кількісних показників розробленої піни наскірної.

Наукова новизна одержаних результатів. Розроблено, теоретично обґрунтовано та експериментально реалізовано підходи до створення фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни наскірної на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу. Вперше обґрунтовано склад матричної системи для введення зазначених активних фармацевтичних інгредієнтів, встановлено оптимальні фармако-технологічні параметри пінної системи, визначено вплив пропеленту на формування та стабільність піни, розроблено технологію виготовлення та підходи до контролю якості фармацевтичної композиції, яка може бути застосована для лікування ранових уражень.

При цьому вперше:

– теоретично обґрунтовано та експериментально підтверджено доцільність поєднання доксицикліну хіклату і декспантенолу у складі

фармацевтичної композиції у формі піни нашкірної для місцевого лікування ранових уражень;

– обґрунтовано вибір системи розчинників для введення доксицикліну хіклату до складу матричного розчину та встановлено, що найбільш доцільною є система етанол : пропіленгліколь : вода у співвідношенні 2 : 10 : 88.

– розроблено склад піни нашкірної, обґрунтовано вибір допоміжних речовин матричної системи та використання суміші пропан-бутан-ізобутан у співвідношенні 30 : 60 : 10 як пропеленту, що забезпечує досягнення необхідного тиску в контейнері, повноти виходу вмісту та формування стабільної піни;

– реологічними дослідженнями матричних розчинів підтверджено їх псевдопластичний характер течії, а за результатами аналізу кривих течії встановлено, що найбільш оптимальним є склад № 4, для якого ступінь відновлення структури після руйнування під дією напруги зсуву становив 88,24 %, що підтвердило його структурну стабільність та технологічну придатність;

– досліджено структурно-механічні властивості й мікроструктуру зразків піни нашкірної та встановлено, що найбільш стабільну та структурно впорядковану пінну систему мав зразок № 4, об'ємне розширення якого становило $210 \pm 2,88$ %, об'ємна стабільність – $90 \pm 1,52$ %, відносна густина – 0,6012, час розширення – 100-110 с, а руйнування піни було мінімальним і становило 10-15 %;

– розроблено цільовий профіль якості фармацевтичної композиції під умовною назвою «Доксипант» на основі підходу Quality by Design, визначено критичні показники якості та сформовано проєкт специфікації на готовий продукт;

– розроблено технологію виробництва піни нашкірної «Доксипант», визначено критичні етапи технологічного процесу та критичні параметри процесу;

– розроблено методики визначення вмісту доксицикліну хіклату та декспантенолу у складі піни нашкірної; валідовано методику кількісного визначення доксицикліну хіклату методом УФ-спектрофотометрії;

– проведено дослідження стабільності та підтверджено відповідність піни нашкірної «Доксипант» вимогам специфікації за умов довгострокового

зберігання при 25 ± 2 °C протягом 24 місяців і прискореного зберігання при 40 ± 2 °C протягом 6 місяців; встановлено термін придатності композиції 2 роки;

– підтверджено антимікробну активність піни наскірної «Доксипант» щодо бактеріальних штамів, асоційованих з інфікованими ранами. Для *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, і *Klebsiella pneumoniae* мінімальна інгібуюча концентрація становила 1,5625 мкг/мл, а для *Escherichia coli* - 3,125 мкг/мл, однак штам *Pseudomonas aeruginosa* виявився резистентним (концентрація 100 мкг/мл). Отриманими результатами підтверджено доцільність використання доксицикліну хіклату у концентрації 10 мг/мл у складі розробленої композиції.

– досліджено профілі *in vitro* вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу через мембрану та встановлено лінійний характер вивільнення активних речовин, концентрація доксицикліну хіклату в рецепторному середовищі збільшувалася від $0,8104 \pm 0,0072$ мг/мл через 0,5 год до $2,5812 \pm 0,0016$ мг/мл через 6 год, а кумулятивна кількість – від $1,6848 \pm 0,0138$ до $5,3664 \pm 0,0033$ мг/см². Для декспантенолу відповідні значення становили від $2,6225 \pm 0,0015$ до $15,8648 \pm 0,0012$ мг/мл та від $5,4522 \pm 0,0032$ до $32,9830 \pm 0,0027$ мг/см²;

– проведено *in vitro* оцінку впливу піни наскірної «Доксипант» та окремих активних фармацевтичних інгредієнтів доксицикліну хіклату і декспантенолу на кількість клітин і морфологічний стан мезенхімальних мультипотентних стовбурових клітин шкіри. Встановлено, що доксицикліну хіклат як монокомпонент чинив найбільш виражений токсичний вплив на клітинну культуру, знижуючи кількість клітин до 37,6-54,4 % відносно контролю. Декспантенол характеризувався м'якшим профілем дії, забезпечуючи збереження 59,4-73,0 % клітин, тоді як комбінований склад доксицикліну хіклату з декспантенолом мав показники 55,7-67,1 % від контролю. Отриманими результатами підтверджено, що введення декспантенолу до фармацевтичної композиції з доксицикліну хіклатом зменшує токсичний вплив антибактеріального компонента на культуру клітин.

Наукова новизна досліджень захищена патентом України на корисну модель № 159275 «Спосіб отримання фармацевтичної композиції для лікування ран».

Практичне значення одержаних результатів. На підставі проведених досліджень розроблено і запропоновано для практичної фармації нову фармацевтичну композицію у формі піни нашкірної для місцевого лікування ран різної етіології. Одержані результати науково-практичних досліджень можуть бути фундаментом для апробації, державної реєстрації та впровадження у виробництво на вітчизняних фармацевтичних підприємствах з метою розширення асортименту лікарських засобів для місцевої терапії ранових уражень вітчизняного виробництва.

Розроблено технологічний промисловий регламент лікарського засобу під умовною назвою «Доксипант» (проект від 19.02.2025) та методи контролю якості (МКЯ, проект від 29.07.2025) на виробництво та контроль піни нашкірної.

Технологія виробництва фармацевтичної композиції під умовною назвою «Доксипант» апробована в умовах промислового виробництва на ТОВ «БІОТЕСТЛАБ», м. Васильків, Київська область, і напрацьовані дослідно-промислові зразки розробленої піни нашкірної.

Елементи дисертаційної роботи впроваджено в освітній процес підготовки здобувачів вищої освіти за спеціальностями медичного та фармацевтичного профілю, а саме на кафедрах: токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету (акт впровадження від 01.09.2025); промислової фармації Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (акт впровадження від 26.01.2026); аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О. О. Богомольця (акт впровадження від 23.02.2026); промислової фармації Київського національного університету технологій та дизайну (акт впровадження від 17.02.2026).

Особистий внесок здобувача. Представлена дисертаційна робота є самостійною науковою працею здобувача. Дисертаційне дослідження виконано під науковим керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора В. В.

Страшного. На етапах формування наукової концепції, визначення мети і завдань дослідження, планування окремих експериментальних етапів та підготовки публікацій за темою дисертації здобувач отримувала науково-консультативну підтримку кандидата фармацевтичних наук, доцента О. О. Салій. Автор висловлює щирю вдячність О. О. Салій за фахові консультації, методичну допомогу та підтримку під час виконання дослідження.

Здобувачем особисто:

- проаналізовано літературні джерела та проведено маркетинговий аналіз асортименту фармацевтичного ринку лікарських засобів, що знаходяться під тиском, обґрунтовано актуальність та перспективність розроблення піни нашкірної антибактеріальної та ранозагоювальної дії на основі доксицикліну хіклату і декспантенолу;

- обґрунтовано склад модельних складів матричних розчинів і експериментально досліджено вплив розчинників, поверхнево-активних речовин, піноутворювачів, стабілізаторів та пропеленту на технологічні властивості системи, досліджено їх фармако-технологічні, фізико-хімічні та реологічні властивості, проведено макро- і мікроскопічну оцінку пінної системи;

- визначено оптимальний склад фармацевтичної композиції та сформовано проєкт специфікації готового продукту;

- із застосуванням підходу Quality by Design розроблено цільовий профіль якості, визначено критичні показники якості, критичні параметри технологічного процесу та контрольні точки виробництва;

- розроблено технологію виробництва піни нашкірної, складено технологічну схему виробництва; проведено аналіз ризиків для якості та напрацьовано дослідно-промислові зразки препарату;

- розроблено аналітичні методики кількісного визначення доксицикліну хіклату і декспантенолу у складі піни нашкірної;

- проведено дослідження стабільності піни нашкірної, мікробіологічні дослідження та біофармацевтичні дослідження *in vitro* щодо вивільнення активних речовин;

– здійснено статистичну обробку, інтерпретацію та узагальнення експериментальних результатів, сформульовано положення наукової новизни, практичного значення й висновки, підготовлено матеріали до публікацій, тез доповідей і патенту на корисну модель.

Фармако-технологічні, фізико-хімічні, аналітичні, мікробіологічні дослідження, дослідження стабільності та напрацювання дослідно-промислових зразків препарату «Доксипант» проведено на базі ТОВ «БІОТЕСТЛАБ» м. Васильків із використанням виробничих та експериментальних ресурсів підприємства, де здобувач працює на посаді начальника відділу інформації та реєстрації, спектрофотометричні дослідження матричних розчинів дослідних зразків виконано на базі навчально-наукової лабораторії молекулярної фармакології, хемогеноміки та біогеронтології КНУТД (наук. керівник доктор технічних наук, професор В. І. Бессарабов). Оцінку впливу препарату «Доксипант» на мезенхімальні мультипотентні стовбурові клітини шкіри методом *in vitro* проведено під керівництвом кандидата біологічних наук, наукового співробітника відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України О. А. Рибачук (договір про партнерство, співпрацю та науковий обмін між КНУТД та ДУ Інститутом фармакології та токсикології НАМН України № 59-24 від 23.12.2024).

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на міжнародних і всеукраїнських науково-практичних конференціях: Interdisciplinary Conference on Drug Sciences «ACCORD 2024» (Варшава, Польща, 2024); 67th International Conference for Students of Physics and Natural Sciences «Open Readings 2024» (Вільнюс, Литва, 2024); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «PLANTA+. Наука, практика та освіта» (Київ, 2026); II Міжнародній науково-практичній online конференції «Сучасні досягнення експериментальної, клінічної екологічної біохімії та молекулярної біології» (Харків, 2025); Міжнародній Internet-конференції «Modern chemistry of medicines» (Харків, 2025); X Міжнародній науково-практичній конференції «Соціальна фармація: стан,

проблеми та перспективи» (Харків, 2025); II Internet-конференції з міжнародною участю «Фармацевтичні технології, стандартизація та забезпечення якості лікарських засобів / Pharmaceutical technologies, standardization and quality assurance of medicines» (Харків, 2025); XVII Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів «Хімічні Каразінські читання – 2025» (Харків, 2025); V Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 2025); III науково-практичній міжнародній дистанційній конференції «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині» (Харків, 2025); X науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2024); III науково-практичній міжнародній дистанційній конференції «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині» (Харків, 2023); X Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології» (Харків, 2023); III науково-практичній міжнародній дистанційній конференції «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині» (Харків, 2023); X Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної справи» (Харків, 2022); II Міжнародній науково-практичній конференції «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (Харків, 2022).

Публікації. Результати дослідження опубліковано в 23 наукових працях, з яких: 4 статті у наукових фахових виданнях України; 1 стаття у іноземному виданні, що входить до науково-метричної бази Scopus (Q1); 1 патент України на корисну модель; 17 тез доповідей на наукових конференціях, з них 16 – на міжнародних конференціях.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається із вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел (221 найменування на 28 сторінках), 10 додатків (на 31 сторінках), містить 39 таблиць та 30 рисунків. Основний текст роботи викладено на 204 сторінках. Загальний обсяг роботи становить 288 сторінок.

РОЗДІЛ 1 ФАРМАЦЕВТИЧНЕ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ЛІКУВАННЯ РАН РІЗНОЇ ЕТІОЛОГІЇ

1.1 Лікування ран та ранової інфекції

Рани різної етіології, такі як опіки другого ступеня, хронічні рани та виразки, вражають мільйони людей і залишаються серйозною проблемою для здоров'я в усьому світі, часто пов'язані з високою вартістю та неефективним лікуванням та/або з обмеженою ефективністю [1]. В умовах повномасштабної війни в Україні істотно зросла актуальність лікування відкритих вогнепальних, мінно-вибухових та уламкових ушкоджень шкіри й м'яких тканин. Подібні ушкодження зазвичай характеризуються високим рівнем мікробної обсімененості, присутністю некротизованих або нежиттєздатних тканин, сторонніх тіл, що створює передумови для розвитку ранової інфекції та інших інфекційних ускладнень. За даними Prevaldi та співавторів [2], травматичні рани належать до поширених причин звернення пацієнтів до відділень невідкладної допомоги, а їх ведення потребує оцінки характеру ушкодження, ступеня мікробної контамінації та ризику розвитку інфекційних ускладнень. Хронічні рани, зокрема венозні виразки, характеризуються порушеннями структури та функції позаклітинного матриксу, що обмежує його здатність підтримувати нормальне відновлення тканин. Саме тому великі ушкодження шкіри та хронічні рани зазвичай загоюються повільно, важко піддаються лікуванню та супроводжуються підвищеним ризиком інфікування і втрати ранової рідини [3]. Фізіологічний процес загоєння рани відбувається як послідовність взаємопов'язаних і чітко регульованих стадій: гемостазу, запалення, проліферації та ремоделювання тканин [4]. Порушення регуляції будь-якої з цих стадій може спричинити патологічне рубцювання, затримку репаративних процесів і перехід рани у хронічний стан, який асоціюється з підвищеним ризиком інфекційних ускладнень [5]. До основних чинників, що негативно впливають на процес загоєння, належать супутні захворювання та патологічні

стани, зокрема цукровий діабет, нейропатія, імуносупресія, артеріальна або венозна недостатність, а також інші порушення, що супроводжуються зниженням ефективності імунної відповіді [6].

Сучасні стандарти лікування ран орієнтовані на прискорення репаративних процесів, скорочення термінів закриття ранового дефекту та зниження ризику ускладнень. У цьому контексті актуальним напрямом є створення терапевтичних засобів, які поєднують здатність стимулювати відновлення шкіри з контролем мікробної контамінації та інфекційного процесу в зоні ушкодження [7]. Розроблення нових стратегій лікування ран базується на розумінні біологічних механізмів загоєння, зокрема регуляції запалення, проліферації клітин, ремоделювання тканин і відновлення бар'єрної функції шкіри. Серед основних принципів створення сучасних лікарських форм для лікування ран виділяють цільову доставку активних речовин до ураженої ділянки, формування біосумісних матриксів або каркасів для підтримки регенерації тканин, а також створення захисного покриття, що ізолює ранову поверхню від зовнішніх чинників [8].

На даний час глобальне зростання резистентності мікроорганізмів до широко застосовуваних антибіотиків зумовлює необхідність переоцінки терапевтичного потенціалу класичних антибактеріальних препаратів, які зберегли клінічну активність, а також пошуку нових підходів до доставки антибіотиків безпосередньо в зону локалізації інфекційного процесу. У цьому контексті актуальним є розроблення лікарських форм, здатних забезпечувати ефективну локальну концентрацію антимікробної речовини в осередку ураження та водночас зменшувати ризик небажаних системних ефектів [9].

Доксицикліну хіклат (DOXH) є напівсинтетичним антибіотиком широкого спектра дії, що належить до групи тетрациклінів. Незважаючи на тривале застосування в клінічній практиці (більше ніж 40 років), DOXH залишається терапевтично значущим антибактеріальним засобом зі збереженою активністю щодо низки чутливих мікроорганізмів [10]. Препарати доксицикліну хіклату загалом добре переносяться, а в клінічній практиці його найчастіше

застосовують перорально, зокрема у дозі 100 мг один або два рази на добу залежно від показань і схеми лікування [10].

При цьому асортимент лікарських засобів на основі DOXH на фармацевтичному ринку є обмеженим і представлений переважно твердими пероральними лікарськими формами: таблетками та капсулами негайного вивільнення, диспергованими таблетками, порошками для приготування оральної суспензії, сиропами, а також твердими формами з модифікованим або відстроченим вивільненням [12]. Пероральний шлях введення залишається найпоширенішим для препаратів DOXH, однак у разі лікування поверхневих інфікованих уражень шкіри та ран доцільним є пошук альтернативних шляхів доставки, зокрема місцевого нашкодженню застосування.

Розроблення лікарських форм для локальної доставки DOXH може бути обґрунтоване необхідністю створення високої концентрації антибіотика безпосередньо в зоні ураження при мінімізації системної експозиції. Такий підхід є особливо важливим з огляду на відомі небажані реакції, характерні для перорального застосування доксицикліну, зокрема подразнення шлунково-кишкового тракту, диспептичні явища, біль у животі, езофагіт, виразкові ураження слизової оболонки ротової порожнини, а також інші прояви непереносимості [13, 14]. Отже, розробка лікарських форм на основі DOXH для нашкодженню застосування є фармацевтично обґрунтованим напрямом, спрямованим на підвищення локальної ефективності антибактеріальної терапії та покращення профілю безпеки лікування інфікованих ушкоджень шкіри.

Фармакологічна дія доксицикліну не обмежується його антибактеріальною активністю. У літературі описано низку додаткових механізмів, які можуть мати значення для лікування запальних та інфікованих ушкоджень шкіри. Зокрема, Rusu та співавторами [10] узагальнено дані щодо протизапальної дії доксицикліну, яка пов'язана з пригніченням активації та міграції нейтрофілів, модуляцією активації і проліферації Т-лімфоцитів, пригніченням активності фосфоліпази, ангіогенезу, синтезу оксиду азоту, утворення гранульоми,

вивільнення прозапальних цитокінів, зокрема TNF- α , IL-1 β , IL-6 та IL-8, а також зі зменшенням утворення активних форм кисню.

Особливе значення має здатність доксицикліну інгібувати активність матриксних металопротеїназ (ММП), оскільки цей механізм може бути пов'язаний із регуляцією процесів ремоделювання тканин під час загоєння ран. У науковій літературі DOXH описано як інгібітор ММП, здатний пригнічувати їхню активність навіть у субантимікробних дозах. Liu та співавторами [14] зазначено, що доксициклін є єдиним інгібітором ММП, схваленим Food and Drug Administration (FDA). З огляду на поєднання антибактеріальної, протизапальної та ММП-інгібувальної активності, доксицикліну хіклат можна розглядати як перспективний активний фармацевтичний інгредієнт для розроблення лікарських засобів, спрямованих на лікування ран різної етіології, зокрема ушкоджень із ризиком інфікування та порушенням репаративних процесів.

На фармацевтичному ринку парентеральні лікарські форми доксицикліну хіклату представлені переважно порошками або ліофілізатами для приготування розчину для ін'єкцій, що застосовуються за обмеженими клінічними показаннями. Водночас для лікування інфікованих або контамінованих ушкоджень шкіри доцільним є пошук альтернативних підходів до доставки DOXH, зокрема створення лікарських форм для місцевого нашкірного застосування. Такий шлях введення має низку переваг: забезпечує безпосереднє нанесення препарату на ділянку ураження, є неінвазивним і безболісним, полегшує дотримання пацієнтом режиму лікування та може застосовуватися самостійно без обов'язкового залучення медичного персоналу [15].

Місцева доставка активної речовини має особливе значення при лікуванні ран, оскільки дозволяє створити терапевтично значущу концентрацію препарату безпосередньо в зоні ушкодження та зменшити системну експозицію. На відміну від системного введення, яке не забезпечує вибіркового надходження препарату до ранової поверхні та може бути недостатньо ефективним за умов порушеного кровопостачання, зокрема при тяжких опіках і хронічних ранах, нашкірне застосування орієнтоване на локальний вплив у межах патологічного осередку

[16]. Отже, пошук та розроблення місцевих лікарських форм для лікування інфікованих ран, зокрема на основі DOXH, є науково обґрунтованим і актуальним напрямом фармацевтичних досліджень.

Сучасні дослідження щодо розробки ефективних систем доставки спрямовані на підвищення ефективності вже відомих фармакологічних властивостей доксицикліну хіклату (DOXH), зокрема його антибактеріальної, протизапальної та потенційної противірусної активності, а також на подолання або зниження ризику формування антибіотикорезистентності [17]. Водночас з перспективністю створення форм для парентеральної доставки DOXH, розроблення таких лікарських форм є технологічно складним, оскільки доксициклін має перебувати не у твердому стані, характерному для порошків або таблеток, а в розчиненому вигляді у відповідному носії. У цьому випадку основними факторами, що обмежують створення нових рецептур, є забезпечення достатньої розчинності доксицикліну хіклату та стабільності його розчинів протягом зберігання. Сіль доксицикліну хіклат, згідно з Європейською фармакопеею, класифікується як речовина, легкорозчинна у воді [18]. Різні форми солей доксицикліну, зокрема хіклат і моногідрат, характеризуються терапевтичною еквівалентністю, водночас хіклат має вищу розчинність порівняно з моногідратом, що робить його більш придатним для розроблення рідких і парентеральних лікарських форм. Разом із тим водні розчини доксицикліну хіклату мають обмежену стабільність при тривалому зберіганні. Зокрема, для таких розчинів описано зміну забарвлення та зміни рН, що свідчить про перебіг фізико-хімічних перетворень активної речовини [20].

Проблема стабільності DOXH у розчинах має істотне фармацевтичне значення, оскільки деградація активної речовини може супроводжуватися утворенням домішок і продуктів розпаду, потенційно пов'язаних із зазначено ризиком небажаних або токсичних ефектів [20]. Для доксицикліну хіклату характерна висока фоточутливість, що потребує обов'язкового врахування під час розроблення на його основі стабільних лікарських форм [21], він схильний до деградації шляхом окиснення та епімеризації. У науковій літературі

зазначено, що у водних розчинах доксицикліну внаслідок процесів його деградації можливе утворення домішок, зокрема 4-епідоксицикліну (4-EDOX), 4,6-епідоксицикліну (4,6-EDOX) та 4-епіметацікліну (4-EMTC), що може супроводжуватися зміною забарвлення розчинів [22].

Таким чином, існує обґрунтована потреба у пошуку та розробленні нових стабільних лікарських форм на основі доксицикліну хіклату (DOXH), здатних забезпечити ефективне лікування ранових уражень. Розроблення лікарської форми має бути спрямоване не лише на забезпечення терапевтичної ефективності, а й на наукове обґрунтування складу, технології виробництва та показників якості препарату. Основними критеріями фармацевтичної розробки є науково обґрунтований рецептурний склад, відтворюваність технологічного процесу, стабільність активної речовини та готового лікарського засобу, а також прийнятність і зручність лікарської форми для пацієнта. Сукупність цих характеристик визначає можливість розробки ефективного, безпечного та якісного лікарського засобу, придатного для промислового виробництва, належного зберігання і транспортування [23].

1.2 Механізми ранозагоювальної дії доксицикліну

Механізми ранозагоювальної дії доксицикліну хіклату мають комплексний характер і не обмежуються його антибактеріальною активністю. У сучасній літературі доксициклін розглядають як активну речовину з плеїотропними властивостями, що поєднує антимікробну дію, протизапальний ефект, антиоксидантну активність, здатність модулювати клітинні процеси та впливати на синтез і ремоделювання колагенового матриксу. Саме така сукупність механізмів обґрунтовує інтерес до доксицикліну як потенційного компонента лікарських форм для лікування ран різної етіології [15].

Антибактеріальна дія доксицикліну залишається важливою складовою його доцільності для лікування інфікованих або контамінованих ран. Як антибіотик широкого спектра дії, доксициклін пригнічує синтез білка в

бактеріальних клітинах, що дозволяє контролювати мікробний фактор у зоні ушкодження. Для ранових уражень це має принципове значення, оскільки наявність мікроорганізмів у рановому середовищі, формування та збереження біоплівкових структур, а також вторинне інфікування підтримують запальну реакцію та уповільнюють перебіг репаративних процесів.

Інгібування матриксних металопротеїназ (ММП).

Хронічні рани характеризуються формуванням патологічного молекулярного мікросередовища, у якому спостерігаються підвищені рівні прозапальних цитокінів, зокрема фактора некрозу пухлин- α (TNF- α) та інтерлейкіну- 1β (IL- 1β), а також надмірна активність ММП. Такі зміни сприяють підтриманню запалення, деградації компонентів позаклітинного матриксу та порушенню нормального перебігу загоєння. У цьому контексті застосування доксицикліну хіклату (DOXH) розглядається як потенційно обґрунтоване завдяки поєднанню протизапальної, антиоксидантної, антимікробної та ММП-інгібувальної активності, а також його впливу на клітинні процеси і ремоделювання колагенового матриксу [24].

Матриксні металопротеїнази відіграють важливу роль у ремоделюванні тканин під час загоєння ран. Водночас їх надмірна активність може призводити до посиленої деградації компонентів позаклітинного матриксу, що порушує перебіг репаративних процесів. Встановлено, що DOXH пригнічує активність ММП, зокрема ММП-1, ММП-2 і ММП-9, які беруть участь у деградації колагену та інших компонентів позаклітинного матриксу. Пригнічення активності ММП сприяє збереженню структурної цілісності позаклітинного матриксу та створює умови для більш упорядкованого загоєння ран [25]. Інгібування ММП доксицикліном також може запобігати надмірній деградації колагену та сприяти його відкладенню, що пов'язують із покращенням загоєння ран і зменшенням надмірного рубцювання [26].

Цей напрям був додатково обґрунтований Golub та співавторами, які показали, що тетрацикліни здатні пригнічувати розпад сполучної тканини не лише завдяки антибактеріальній активності, а й через низку неантимікробних

механізмів. Зокрема, авторами описано здатність тетрациклінів інгібувати колагеназну та матриксну металопротеїназну активність, що має значення для зменшення деградації колагену та стабілізації позаклітинного матриксу в умовах запального або ранового процесу [27].

Одним із механізмів інгібування ММП доксицикліном є хелатування іонів металів, зокрема цинку, присутнього в каталітичному домені цих ферментів. Зв'язування доксицикліну з іоном цинку може перешкоджати ферментативній активності ММП і, відповідно, зменшувати деградацію компонентів позаклітинного матриксу [28]. У дослідженні Chin та співавторів показано, що DOXH дозозалежно зменшував протеолітичну деградацію азоколу рідиною хронічної рани, досягаючи 89 % зниження при концентрації 2,3 мг/мл [29]. Отримані дані свідчать, що доксициклін здатний регулювати активність ММП і запобігати надмірній деградації тканин під час загоєння ран, що особливо важливо для хронічних ранових уражень.

Модуляція активності фібробластів.

Фібробласти є ключовими клітинами, які беруть участь у процесах загоєння ран, формування позаклітинного матриксу та утворення рубцевої тканини [30]. Доксициклін здатний впливати на активність фібробластів і процеси відкладення колагену в рановому ложі, що може мати значення для регуляції ремоделювання тканин і зменшення надмірного рубцювання.

Одним із механізмів такого впливу є дія доксицикліну на пролідазу – фермент, залучений до метаболізму колагену, зокрема до рециркуляції проліну, амінокислоти, необхідної для синтезу колагену. Karna та співавторами показано, що доксициклін пригнічує активність пролідази та біосинтез колагену у культивованих фібробластах шкіри людини. Авторами встановлено координоване інгібування активності пролідази, біосинтезу колагену та желатинолітичної активності при значенні IC_{50} близько 150 мкг/мл [28]. Пригнічення активності пролідази доксицикліном свідчить про можливий вплив препарату на рециркуляцію проліну, що, у свою чергу, може знижувати

інтенсивність біосинтезу колагену та модулювати процеси ремоделювання позаклітинного матриксу.

Інгібувальний вплив доксицикліну на пролідазну активність і біосинтез колагену не слід розглядати як ізольований або виключно прямий ефект. У роботі Karna та співавторів обґрунтовано, що він може бути пов'язаний також із хелатувальними властивостями доксицикліну, зокрема його здатністю взаємодіяти з іонами металів. Оскільки для активності пролідази необхідні іони Mn^{2+} , комплексоутворення з такими іонами може бути одним із механізмів зниження ферментативної активності та подальшого впливу на метаболізм колагену [28].

Отже, у культурі фібробластів шкіри людини доксициклін здатний пригнічувати активність пролідази та модулювати біосинтез колагену, що може мати значення для регуляції процесів ремоделювання позаклітинного матриксу. Водночас цей ефект потребує обережної інтерпретації, оскільки дія доксицикліну на колагеновий матрикс є концентраційно- та модель-залежною. Якщо в умовах *in vitro* високі концентрації доксицикліну можуть пригнічувати біосинтез колагену у фібробластах, то в експериментальних моделях ранового процесу доксициклін, навпаки, може сприяти більш упорядкованому ремоделюванню тканин, зменшенню надмірної протеолітичної активності та покращенню закриття рани.

Це підтверджується даними Altoé та співавторів, якими в моделі загоєння шкірних ран вторинним натягом у щурів показано, що доксицикліну хіклат модулює антиоксидантний захист, активність ММП і циклооксигенази-2, що супроводжується прискоренням загоєння шкірних ран. У цьому дослідженні ранозагоювальний ефект доксицикліну пов'язували не лише з його антимікробною дією, а й із регуляцією оксидативного стресу, запальної відповіді та процесів ремоделювання позаклітинного матриксу [31].

Додаткове узагальнення цих даних наведено у роботі Sivakumar та співавторів, у якій проаналізовано експериментальні дослідження впливу доксицикліну на загоєння ран. Авторами встановлено, що застосування

доксидцикліну достовірно покращувало показники загоєння ран порівняно з контролем. Ранозагоювальний ефект доксидцикліну пов'язують зі зниженням активності ММП і рівнів прозапальних цитокінів, посиленням антиоксидантного захисту, зокрема підвищенням активності каталази та супероксиддисмутази, а також зі збільшенням вмісту колагену I типу й еластичних волокон [32].

Протизапальна дія.

Хронічне запалення може погіршити загоєння ран, подовжуючи фазу запалення та гальмуючи перехід до фаз проліферації та ремоделювання [30]. Доксидциклін має протизапальні властивості та здатний модулювати імунну відповідь. Зокрема, показано, що він може зменшувати залучення запальних клітин, таких як нейтрофіли та макрофаги, до ділянки ушкодження. Зниження інтенсивності запальної реакції сприяє формуванню більш сприятливого мікросередовища для репаративних процесів і може зменшувати надмірне ушкодження тканин [25].

У дослідженнях показано, що доксидциклін пригнічує продукцію прозапальних цитокінів, зокрема фактора некрозу пухлин- α (TNF- α), інтерлейкіну-1 β (IL-1 β) та інтерлейкіну-6 (IL-6). Ці цитокіни відіграють важливу роль в ініціації та підтриманні запальної відповіді. Фактор некрозу пухлини-альфа (TNF- α) є прозапальним цитокіном, який відіграє вирішальну роль в імунній відповіді та запаленні. TNF- α реалізує свою дію шляхом зв'язування з рецепторами клітинної поверхні, рецептором TNF 1 (TNFR1) і рецептором TNF 2 (TNFR2) [33]. Після зв'язування з TNFR1 запускається сигнальний каскад, що призводить до активації ядерного фактора κ B (NF- κ B), який регулює експресію генів, пов'язаних із запаленням та імунною відповіддю. Активація NF- κ B індукує синтез прозапальних медіаторів, включаючи цитокіни, хемокіни, молекули адгезії та ферменти, зокрема циклооксигеназу-2, що сприяє залученню й активації імунних клітин [33].

Зменшення окислювального стресу.

Оксидативний стрес сприяє підтриманню запалення та може погіршувати перебіг загоєння ран. Доксидциклін має антиоксидантні властивості та здатний

зменшувати рівень активних форм кисню (АФК) [34]. Зниження оксидативного стресу може сприяти послабленню запальної реакції та формуванню сприятливішого середовища для репарації тканин.

Оксидативний стрес визначають як дисбаланс між утворенням активних форм кисню та здатністю антиоксидантних систем організму їх нейтралізувати. У фізіологічних умовах ферментативні системи антиоксидантного захисту, зокрема супероксиддисмутаза (СОД), каталаза та глутатіонпероксидаза, підтримують редокс-баланс. Однак за умов надмірного утворення активних форм кисню або зниження антиоксидантної здатності тканин формується оксидативний стрес, який може підтримувати запалення і пошкодження клітин [34].

У дослідженні Altoé та співавторів показано, що місцеве застосування DOXH у дозах 10 і 30 мг/кг/добу покращувало оксидативний баланс за рахунок зменшення рівнів білкових карбонілів, малонового діальдегіду, оксиду азоту та перекису водню. Крім того, після 21 дня застосування DOXH спостерігалось підвищення активності антиоксидантних ферментів, зокрема каталази та супероксиддисмутази, що підтверджує антиоксидантний потенціал доксицикліну [31].

Ангіогенез.

Ангіогенез є важливим процесом у загоєнні ран, оскільки забезпечує утворення нових кровоносних судин, необхідних для постачання кисню та поживних речовин до тканин, що відновлюються. Водночас надмірний або патологічно змінений ангіогенез може порушувати нормальне ремоделювання тканин, тому його регуляція має значення для перебігу ранового процесу.

У літературі наведено дані щодо антиангіогенних властивостей доксицикліну, які можуть реалізовуватися через декілька механізмів. Одним із них є інгібування матриксних металопротеїназ, які беруть участь у розщепленні компонентів позаклітинного матриксу [35]. ММП відіграють роль в ангіогенезі, оскільки деградація позаклітинного матриксу є необхідною умовою міграції клітин і формування нових судин. Крім того, показано, що доксициклін може впливати на сигнальні шляхи, залучені до ангіогенезу, зокрема знижувати

експресію фактора росту ендотелію судин (VEGF), який є одним із ключових стимуляторів утворення нових кровоносних судин [35].

Також встановлено, що доксициклін може пригнічувати проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин, які беруть участь у формуванні судинної стінки. Отже, доксициклін здатний модулювати ангіогенез через пригнічення активності MMP, зниження експресії VEGF, а також вплив на проліферацію і міграцію ендотеліальних клітин. У контексті ранового процесу цей ефект доцільно розглядати не як повне пригнічення судиноутворення, а як потенційну регуляцію надмірного або аномального ангіогенезу [35]. Загалом доксициклін демонструє здатність пригнічувати активність MMP, знижувати експресію VEGF та пригнічувати проліферацію та міграцію ендотеліальних клітин. Ці механізми сприяють його здатності регулювати ангіогенез і запобігати надмірному або аномальному утворенню кровоносних судин.

Антибактеріальна дія.

Ранова інфекція є одним із важливих чинників, що сповільнюють загоєння, оскільки мікроорганізми підтримують запальну реакцію, ушкоджують тканини та конкурують із захисними механізмами організму. Збудниками раневої інфекції є умовно-патогенні аеробні або анаеробні мікроорганізми, що постійно співіснують з організмом людини – стафілококи, стрептококи, кишкова паличка, протей, ксебсієли, синегнійна паличка, клостридії, бактероїди, фузобактерії, тощо [36].

Доксициклін має широкий спектр дії та ефективний проти грампозитивних та грамнегативних, аеробних та анаеробних бактерій, спірохет та мікоплазм. До доксицикліну чутливі збудники гнійних ран: стафілококи, стрептококи, в тому числі пневмококи, *Escherichia coli*; збудники гнійних ран як клостридії (*Clostridium tetani*), *Bacillus anthracis*, клебсієли, збудники ранової форми дифтерії *Corynebacterium diphtheriae* та деякі грибки [37].

Окремо в літературі описано чутливість до доксицикліну пародонтопатогенів, залучених до прогресування пародонтальних уражень, зокрема *Porphyromonas gingivalis* та *Bacteroides forsythus*, *Actinobacillus*

actinomyces temcomitans, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus* та *Fusobacterium nucleatum* [38]. Ці дані підтверджують активність доксицикліну щодо мікроорганізмів, асоційованих із хронічним запаленням і деструкцією тканин, однак у контексті ранових уражень шкіри їх варто використовувати як додаткове, а не основне обґрунтування.

Доксицикліну хіклат характеризується високою ліпофільністю порівняно з деякими іншими тетрациклінами, що сприяє його проникненню крізь біологічні мембрани. У грамнегативних бактерій тетрацикліни можуть проходити через поринові канали OmpF і OmpC, тоді як у грампозитивних бактерій електронейтральна ліпофільна форма здатна проникати крізь цитоплазматичну мембрану. Подальше надходження через цитоплазматичну мембрану є енергозалежним процесом і пов'язане з протон-рушійною силою [39].

Бактеріостатична дія доксицикліну хіклату спрямована на зупинку росту бактерій шляхом алостеричного зв'язування з 30S рибосомною одиницею прокариот під час синтезу білка. Доксицикліну циклат запобігає зв'язуванню зарядженої аміноацил-тРНК (aa-тРНК) з ділянкою А рибосоми, зупиняючи фазу елонгації, що призводить до непродуктивного циклу синтезу білка. Доксициклін впливає на швидкість зв'язування потрібного комплексу (що складається з фактора елонгації Tu (EF-Tu), ГТФ та aa-тРНК) з рибосомою [40].

Сприяння розвитку стійкості мікробів до антибіотика є потенційним ризиком. Однак місцеве застосування доксицикліну 1% має значно вищий рівень (тобто 10 мг/мл), ніж МІК, необхідна для 50% зниження патогенного росту, тим самим зводячи до мінімуму ймовірність розвитку бактерій, стійких до доксицикліну (Рівень IV) [41].

Таким чином, доксициклін можна розглядати як речовину з багатофакторним впливом на рановий процес. Його потенційна ранозагоювальна дія пов'язана з пригніченням надмірної активності ММП, модуляцією пролідазозалежного метаболізму колагену, зменшенням запальної реакції, антиоксидантним ефектом і впливом на ремоделювання позаклітинного матриксу. Така сукупність механізмів обґрунтовує доцільність подальшого

дослідження доксицикліну хіклату як активного фармацевтичного інгредієнта для створення місцевих лікарських форм, спрямованих на лікування інфікованих або контамінованих ранових уражень шкіри.

1.3 Шляхи доставки доксицикліну хіклату для лікування ран різної етіології

Екстемпоральні розчини на основі доксицикліну хіклату

Доксициклін у формі розчину для місцевого застосування досліджували для лікування ран, що не загоюються, у пацієнтів із цукровим діабетом. Порушення загоєння таких ушкоджень, зокрема діабетичної виразки стопи та гострих шкірних ран, пов'язане зі складними фізіологічними механізмами. До них належать постійно підвищені концентрації цитокінів у рановому середовищі, які підтримують запальну реакцію та індукують високі рівні протеаз, здатних руйнувати фактори росту, рецептори та матриксні білки, необхідні для належного загоєння рани. DOXH проявляє інгібувальну дію щодо ММП-9 через хелатування каталітичного цинку [42].

Доведено, що місцеве застосування DOXH знижує протеолітичну активність ранової рідини хронічних венонних виразок нижніх кінцівок. Клінічне застосування місцевого лікування 1 % розчином DOXY показало сприятливий вплив на загоєння, тоді як пероральне застосування DOXY, яке досліджували для лікування хронічних виразок нижніх кінцівок, виявилось менш ефективним у часі через недостатній рівень DOXH у рані для інгібування активності ММП [43].

Відомо застосування 2%-го розчину DOXH при хронічних виразках стопи забезпечує достатній рівень препарату для інгібування ММП безпосередньо в рановому середовищі. Клінічну оцінку дії 2%-го розчину DOXH проводили у дослідженні рани, яка не лише не закрилася протягом перших 55 днів стандартного лікування (SOC), а й збільшилася в розмірах у цей період. Додавання 2 % розчину DOXH місцево до схеми SOC мало позитивний ефект:

рана зменшилася в розмірах протягом перших двох тижнів застосування і продовжувала гоїтися до повного загоєння [42].

Досліджено вплив місцевого застосування DOXH на рубцювання шкіри *in vivo* на моделі ранового пошкодження шкіри. DOXH вводили одноразово у концентрації 3,90 мМ, що відповідало 2 мг/мл. Протягом 12 годин після травми застосування препарату сприяло значному зменшенню товщини рубця на 24,8 % ($P < 0,0001$). У ділянці рани вміст колагену I був значно знижений ($P = 0,0317$), а волокна мали сприятливе розташування зі значно підвищеною хаотичністю структури ($P = 0,0115$), що свідчить про перспективність такого підходу в лікуванні травматичних ран [30].

В літературі описано місцеве застосування розчину доксицикліну, 2 мг/мл у фосфатно-сольовому буферному розчині, 4 рази на день, досліджували на різних фазах лікування ерозій рогівки після ураження сірчистим іпритом. У всіх відкритих очах і рогівках дослідної групи було виявлено високу активність ММП-9 і незначну активність ММП-2. У гострій фазі лікування доксициклін зменшував активність ММП-9. Тривале місцеве лікування доксицикліном знижувало активність ММП-9 у слізній рідині та рогівці, а також зменшувало тяжкість ушкодження. Встановлено, що доксициклін був клінічно ефективним лише за умови початку лікування до появи неоваскуляризації [44].

Отже, тривале місцеве застосування низьких доз DOXH здатне суттєво знижувати експресію ММП-9 і NGAL у ранових тканинах.

Гелі на основі доксицикліну хіклату для місцевого застосування

Перспективним напрямом доставки доксицикліну хіклату є розробка м'яких лікарських форм на основі полімерів, які можуть застосовуватися нашкірно, на слизові оболонки або безпосередньо в зоні ранового ураження. До цієї групи належать традиційні гелі, гелеутворювальні системи *in situ*, гелі-емульсії, гідрогелі та інші полімерні системи місцевої доставки.

Гелеутворювальні системи in situ

Гелеутворювальні системи *in situ* – це полімерні композиції, які до введення в організм перебувають у формі золю, але за фізіологічних умов

переходять у форму гелю. Різні природні та синтетичні полімери здатні до гелеутворення *in situ* і потенційно можуть бути використані для різних шляхів доставки лікарських речовин, зокрема буккального, ректального, вагінального, очного, внутрішньоочеревинного та інших [45]. Деякі з таких лікарських форм представлені на ринку як комерційні продукти, зокрема Atridox (Atrix Laboratories), що містить DOXH у гелевій системі *in situ* [46].

Одним із прикладів застосування DOXH у формі гелю *in situ* є препарати для лікування пародонтиту – запального захворювання, що уражає тканини, які утримують зуби, а також відкритих пародонтальних та слизово-кісткових ран. Такі системи застосовують шляхом прямого внутрішньокишечкового введення у пародонтальну ділянку [47, 48].

У дослідженнях готували гелі та оцінювали вплив різних допоміжних речовин, зокрема етилцелюлози, Eudragit® RS, шелаку, вибіленого шелаку, холестерину, бензилбензоату та N-метилпіролідону [49]. Препарати на основі DOXH у формі гелю *in situ* досліджували за фізико-хімічними та мікробіологічними властивостями, зокрема за в'язкістю, реологічними характеристиками, придатністю для введення зі шприца, швидкістю дифузії води в гель, гелеутворенням, профілем вивільнення DOXH, розкладанням і деградацією гелю *in vitro*, а також антимікробною активністю.

Таку систему легко вводити в цільову ділянку завдяки мінімальній силі введення зі шприца. Доксидиклін-навантажена холестерин-вмісна система, що утворює гель *in situ* і містить 10 % бензилбензоату, виявилася найбільш придатною для тривалого вивільнення протягом 10 днів. Вона проявляла антимікробну дію щодо *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* ATCC 27175 та *P. gingivalis* ATCC 33277, і була рекомендована як лікарська форма для лікування запальних і ранових процесів при пародонтиті [50].

Відомий термооборотний гель *in situ* з доксицикліну гідрохлоридом, який може переходити із золю в гель у відповідь на зміну температури навколишнього середовища. До його складу входили галова кислота (GA) та полісахарид насіння тамаринда (TSP). Оптимізовану композицію гелю (DT8)

оцінювали за температурою гелеутворення, в'язкістю, часом гелеутворення та вивільненням ДГ *in vitro* протягом 12 годин. Встановлено швидшу епітелізацію та вищу швидкість скорочення рани у щурів порівняно з контрольною групою [51].

Отже, відповідними критеріями для гелеутворюючих систем *in situ* з DOXH є належний профіль безпеки, прийнятні споживчі властивості та ефективна протимікробна дія щодо збудників ранової інфекції, зокрема *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* і *Porphyromonas gingivalis*.

Гелі-емульсії

Забезпечення тканин ліпідами є важливим напрямом лікування ран. Окремі ліпіди, зокрема поліненасичені жирні кислоти (ПНЖК), відіграють важливу роль у структурі клітинних мембран і є необхідними для реалізації анаболічних процесів під час відновлення тканин. ПНЖК не можуть синтезуватися в достатній кількості, тому мають надходити відповідним шляхом введення. Очікується, що поєднання диспергованої біодоступної масляної та водної фаз в одній фармацевтичній формі може бути важливим для ефективного загоєння ран [52].

Для забезпечення локалізованої системи доставки антибіотиків у ділянки ран з обмеженою доступністю були розроблені мікрочастинки, що формуються *in situ* (ISM), утворення яких індукується обміном розчинників. Загалом ISM є неводною емульсією, що складається з полімерних неводних крапель, наповнених антибіотиком і диспергованих у зовнішній масляній фазі. Після введення та контакту з водним середовищем фізіологічної рідини внутрішня фаза емульсії твердіє за механізмом преципітації, зумовленої обміном розчинника, і захоплює діючу речовину всередині сформованих мікрочастинок [53].

Доксицикліну хіклат було обрано як модельну лікарську речовину для оцінки активності щодо збудників пародонтальних інфекцій. У складі системи мікрочастинок, що формуються безпосередньо на місці введення, полімер

Eudragit® RS PO включали до внутрішньої фази як матрицеутворювальний агент, а диметилсульфоксид або 2-піролідон використовували як розчинники. Як зовнішні масляні фази застосовували оливкову олію та олію камелії. Система мікрочастинок, навантажених доксицикліну хіклатом, мала переваги щодо ін'єкційної придатності порівняно з гелем, що формується безпосередньо на місці введення, завдяки мастильному ефекту зовнішньої масляної фази та нижчій в'язкості. Мікрочастинки, до складу яких входили зазначені рослинні олії, характеризувалися доброю здатністю до ін'єкційного введення, відповідною фазовою трансформацією та забезпечували тривале вивільнення доксицикліну хіклату протягом 7 днів. Отримані мікрочастинки мали сферичну форму, пористу структуру та продемонстрували ефективність щодо досліджуваних мікроорганізмів [54].

Мікросфери хітозану, наповнені DOX, були розроблені у формі емульсії типу «вода в олії» та отримані методом іонного гелеутворення в масляній фазі. Мікросфери готували з використанням 6 % об'єму хітозану, суміші соєвої олії та n-октанолу у співвідношенні 1:2 як безперервної фази та 5 % Span 80 як емульгатора. DOXH вводили методом рівноважного набухання із загальним захопленням 8,4 %. Мікросфери, до складу яких було включено DOXH, демонстрували мінімальну інгібувальну концентрацію 16,5; 17,4; 11,2 і 98,3 мкг щодо *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 15380), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 91 44) та *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 25619), відповідно [55].

Singh та співавторами [56] розроблено гелеву композицію контрольованого вивільнення, що містила 10 % доксицикліну хіклату (DOXH), на основі моноолеату гліцерину (GMO) з додаванням 5 % кунжутної олії. Гель був призначений для введення шприцом; після внесення у пародонтальну кишеню він переходив у напівтверду форму, адгезував до слизової оболонки та утримувався в ділянці введення. В роботі авторів Puyathorn та ін. [57] описано застосування водонерозчинної гідрофобної протизапальної речовини – ібупрофену – як матрицеутворювального агента для створення

гелеутворювальної системи *in situ* з доксицикліну хіклатом. Гелеутворення такої системи індукувалося видаленням розчинника, а як розчинники використовували диметилсульфоксид та N-метилпіролідон.

Таким чином, при розробленні гелів-емульсій та споріднених гелеутворювальних систем *in situ* з DOXH використовували неводні розчинники й носії, що забезпечували формування полімерної або ліпідної матриці, фазовий перехід системи та контрольоване вивільнення доксицикліну хіклату. Зокрема, як розчинники застосовували диметилсульфоксид, N-метилпіролідон і 2-піролідон, а як зовнішні масляні фази або ліпідні компоненти: кунжутну, оливкову, камелієву, соєву та інші рослинні олії. Використання таких неводних і ліпідовмісних носіїв може розглядатися як один із підходів до підвищення фізико-хімічної стабільності DOXH, регулювання його вивільнення та посилення локальної дії в ділянці ураження.

Гідрогелі

В роботі Tavakoli та ін. [58] зазначено, що гідрогелі як зшиті мережі гідрофільних полімерів протягом останнього десятиліття широко досліджуються для лікування дермальних та очних ран. Гідрогелі являють собою тривимірні в'язкопружні полімерні системи, здатні поглинати й утримувати значну кількість води, що багаторазово перевищує їхню суху масу, а також набухати у фізіологічних середовищах зі збереженням просторової структури.

Firlar та співавторами [59] показано, що гідрогелі мають низку властивостей, важливих для лікування ран, зокрема здатність поглинати ранову рідину, підтримувати зволоження ранового ложа та охолоджувати поверхню ушкодження. Це може сприяти зменшенню еритеми, печіння, свербіжжю, болю та інших проявів шкірного ушкодження, що обґрунтовує використання гідрогелів у системах доставки лікарських речовин, ранових пов'язках, засобах гігієни та регенеративній медицині. Залежно від вмісту води у тканинах гідрогелі можуть як поглинати, так і вивільняти воду в ранове середовище.

Підтримання вологого ранового ложа вважається одним із найбільш сприятливих чинників для ефективного перебігу процесу загоєння [60].

Anumolu та співавторами досліджено гідрогелі доксицикліну на основі поліетиленгліколю (PEG) та оцінено їхню ефективність у загоєнні ран шкіри й очей після впливу сірчаного іприту. Для формування гідрогелю використовували полімер із восьми ланцюгів PEG, що містив декілька тіольних (-SH) груп; зшивання проводили за допомогою перекису водню з утворенням H_2O_2 -гідрогелю або із застосуванням 8-плечового S-тіопіридилу з утворенням S-TP-гідрогелю. Авторами встановлено, що введення до рецептури гліцерину, полівінілпіролідону (PVP) і PEG 600 сприяло утриманню гідрогелю на шкірі до 24 годин. За результатами гістологічних досліджень, гідрогелі, навантажені доксицикліном у концентрації 0,25 % мас./об., забезпечували вищий ступінь загоєння шкірних ран після впливу сірчаного іприту порівняно з необробленою шкірою та шкірою, обробленою плацебо-гідрогелями [61].

У подальших дослідженнях Anumolu та співавторами показано, що проникнення доксицикліну через везикантно ушкоджену рогівку було у 2,5–3,4 рази вищим, ніж через неушкоджену рогівку. Дані гістологічного та імунофлуоресцентного аналізу засвідчили значне зниження рівня матриксної металопротеїнази-9 (ММП-9) і покращення загоєння рогівки після везикантної травми при застосуванні гідрогелів із DOXH порівняно з аналогічною дозою DOXH, доставленою у фосфатно-сольовому буферному розчині (PBS, pH 7,4) [62].

Ghica та співавторами розроблено гідрогель на основі колагену та DOXH, призначений для профілактики та/або лікування інфекцій, що виникають унаслідок шкірних ран, зокрема поверхневих опіків і хірургічних ушкоджень. Як зшивальний агент використовували глутаровий альдегід у концентрації 0,30 %. Перехресне зшивання глутаровим альдегідом зменшувало вивільнення DOXH із системи, однак гель на основі колагену та доксицикліну характеризувався стійкістю до ферментативного розкладання [63].

Таким чином, гідрогелі на основі DOXH маючи неньютонівський псевдопластичний тип течії, продемонстрували здатність до контрольованого вивільнення активної речовини та біосумісність із фібробластами шкіри людини й ендотеліальними клітинами. Сукупність цих властивостей обґрунтовує перспективність їх подальшого використання у місцевій терапії для лікування ран.

Аерогелі

Аерогелі отримують шляхом надкритичного сушіння гелів – методу, який дає змогу зберегти наноструктуру сухого нанопористого матеріалу з високою пористістю. У літературі аерогелі та їх комбінації розглядають як перспективні системи для лікування ран завдяки високій водопоглинальній здатності та можливості використання як носіїв лікарських речовин [64]. Зокрема, альгінатні та пектинові аерогелі у багатошаровій структурі можуть застосовуватися як полімерні матриці для контрольованої доставки активних речовин [65].

De Cisso та співавторами розроблено аерогелеві полімерні мікрокапсули зі структурою «ядро–оболонка» на основі альгінату та амідованого пектину, що містили доксициклін. Композицію отримували методом коаксіального прилінгу з подальшим надкритичним сушінням. Оболонку формували з альгінату з високим вмістом мануронової кислоти, який розглядався не лише як структурний компонент, а й як потенційний чинник підтримки процесу загоєння. Ядро мікрокапсули отримували на основі амідованої пектинової матриці, що містила DOXH. Така багатошарова структура забезпечувала інкапсуляцію доксицикліну та його пролонговане вивільнення в ділянці ранового ураження. У джерелі зазначено, що вивільнення доксицикліну тривало до 48 годин і залежало від співвідношення доксициклін/пектин та концентрації альгінату. [66].

Різний ступінь зшивання між альгінатом і пектином у складі мікрокапсул зумовлював відмінності нанопористої структури полімерної матриці. Здатність частинок типу «ядро–оболонка» набухати й переходити в гелеподібний стан

при контакті з рановою рідиною залежала від концентрації альгінату. Усі досліджені склади переходили у гелеподібний стан протягом 40–50 хвилин [66].

Водночас широке застосування аерогелів обмежується складністю та багатоетапністю технологічного процесу їх одержання. Зокрема, формування таких систем може передбачати послідовне створення багатошарової структури, зшивання полімерів, нанесення покриття, проведення етапів гелеутворення та подальше надкритичне сушіння. Це зумовлює тривалі терміни виготовлення, ускладнює масштабування технології та може обмежувати практичне впровадження аерогелевих лікарських форм.

Нановолокна

Електроспінінг є поширеною технологією в біомедицині, яку активно досліджують для створення систем доставки лікарських речовин, матеріалів тканинної інженерії та ранових пов'язок [67].

Електросформовані нановолокна розглядають як перспективні біомедичні системи завдяки їхній структурній гнучкості, можливості надання специфічних функціональних властивостей, здатності забезпечувати контрольоване вивільнення активних речовин і потенційній придатності до промислового виготовлення на основі біополімерів та їх сумішей. До таких полімерів належать полімолочна кислота (polylactic acid, PLA), полілактид-когліколід (polylactide-co-glycolide), PLGA), поліетилен-вінілацетат (polyethylene-vinylacetate PEVA) і полікапролактон (polycaprolactone, PCL). Інкапсуляція антибіотиків в електросформовані волокна з полімолочної кислоти має значення для лікування локальних ран і реконструкції тканин, оскільки цей метод дозволяє зберігати біоактивність діючої речовини [68].

У роботі Farkas та співавторів одержано електросформовані нановолокна у системі полімолочна кислота–гідроксиапатит–доксциклін (PLA-HAP-DOXY), які автори розглядали як перспективну систему доставки лікарської речовини. Для включення DOXY у нановолокна використовували два підходи: іммобілізацію на поверхні електросформованого волокнистого полотна та інкапсуляцію у структурі волокна. Найбільш прийнятними виявилися

нановолокна PLA-НАР із низьким вмістом DOXY, 3 і 7 мас. %, одержані шляхом фізичної адсорбції, оскільки вони забезпечували пролонговане, а не негайне, вивільнення препарату при лікуванні локальних ран і відновленні тканин [69].

Відомо одержання полілактидних нановолокон, що містили DOXH, методом електроспінінгу. Вміст DOXH у нановолокнах варіював у діапазоні 5–30 % [70]. Авторами показано, що механічні властивості, паропроникність і поглинальна здатність отриманих нановолокон відповідали вимогам до ранових пов'язок. Регулювання вмісту DOXH дозволяло змінювати змочуваність нановолокон від гідрофобної до гідрофільної та контролювати вивільнення доксицикліну протягом періоду від трьох днів до двох тижнів. Нановолокна DOXH/PLA продемонстрували цитосумісність, антибактеріальну активність і кращу ранозагоювальну ефективність порівняно з місцевим нанесенням препарату.

В роботі Dadashi та ін. досліджено нановолокна на основі кефірану – мікробного біополімеру, здатного утворювати волокнисті структури методом електроформування. Було виготовлено вісім зразків із варіюванням концентрації кефірану та технологічних параметрів. Для нановолокон, що містили DOXH, зона інгібування становила 22 мм для *S. aureus* і 20 мм для *E. coli*. Додатково нановолокна кефірану оцінювали за цитотоксичністю щодо клітинної лінії L929. DOXH у концентрації 1200 мкг/мл забезпечував 33,2 % життєздатності клітин через 72 години. Отримані дані свідчать, що нановолокна кефірану в поєднанні з DOXH можуть зменшувати цитотоксичність активної речовини та є перспективними для лікування і загоєння ран [71].

Узагальнюючи наведені дані можна зробити висновок, що нановолокна, до складу яких введено DOXH, можна розглядати як перспективні аналоги ранових пов'язок для лікування хронічних ран. Їхня перевага полягає у здатності забезпечувати тривале вивільнення активної речовини, підтримувати локальну концентрацію DOXH у ділянці ураження та зменшувати ризик

побічних ефектів, пов'язаних із неконтрольованим місцевим нанесенням препарату.

Буккальні плівки

Буккальна доставка лікарських речовин передбачає нанесення препарату на слизову оболонку щоби, розташовану на внутрішній поверхні ротової порожнини. Такий шлях введення може забезпечувати як місцеву, так і системну доставку активних речовин, дозволяючи уникнути метаболізму першого проходження та частково зменшити ферментативну деградацію препарату. Лікарські засоби у формі буккальних плівок наразі обмежено представлені на фармацевтичному ринку, однак у науковій літературі описано їхні терапевтичні та технологічні можливості, зокрема для локального лікування уражень слизової оболонки ротової порожнини [72].

Стратегія застосування таких плівок пов'язана з їх використанням як захисних покриттів, які відокремлюють ушкоджену ділянку слизової оболонки від середовища ротової порожнини. Буккальні плівки можуть захищати поверхню рани, зменшувати біль і підвищувати ефективність місцевого лікування захворювань порожнини рота [73].

Авторами Dinte та ін. досліджено мукоадгезивні буккальні плівки, що містили доксицикліну хіклат, для місцевого застосування при пародонтиті. Плівки виготовляли методом лиття з використанням сумішей гідроксипропілметилцелюлози НРМС Е3, НРМС К4 та поліакрилової кислоти Carborol 940. Формула, що містила НРМС К4 у поєднанні з Carborol 940 у співвідношенні 5:3, була найбільш ефективною *in vitro*; надалі її перевіряли *in vivo* на моделі експериментально індукованого пародонтиту. Авторами показано покращення клінічних параметрів і зниження рівня ММП-8 у слині. Завдяки мукоадгезивним властивостям плівка забезпечувала тісний контакт із м'якими тканинами ясен і локальне вивільнення антибіотика [74].

В роботі Patlolla та ін. описано підхід до удосконалення мукоадгезивних буккальних плівок із доксицикліну хіклатом, спрямований на забезпечення ефективності субантимікробних концентрацій активної речовини як інгібітора

матричних металопротеїназ (ММП), а також на підвищення стабільності лікарської форми при температурі 25 °С. Досліджена плівка містила мікрочастинки з DOXH у комбінації з β -циклодекстрином, $MgCl_2$, тіосульфатом натрію, НРМС і Eudragit® RS 12.5. Авторами встановлено, що така система зберігала стабільність при 25 °С протягом 26 тижнів. Водночас введення мікрочастинок до складу плівок знижувало їх мукоадгезивну здатність, максимальну силу від'єднання, міцність на розрив та еластичність, проте підвищувало стабільність при кімнатній температурі [75].

Таким чином, буккальні плівки з DOXH демонструють здатність забезпечувати тривале місцеве вивільнення антибіотика, що є перспективним напрямом для локальної терапії уражень слизової оболонки, особливо у випадках, коли необхідна тривала дія препарату та покращення прихильності пацієнта до лікування.

Біополімери

Біоактивні полімери набувають дедалі більшого значення у розробленні лікарських форм і матеріалів для лікування ран. Біополімери є природними біомолекулами, що синтезуються мікроорганізмами, рослинами або тваринами та характеризуються високою біосумісністю. Їхні біологічно активні властивості, зокрема антимікробна, імуномодулювальна, клітинно-проліферативна та ангіогенна дія, сприяють формуванню мікросередовища, сприятливого для загоєння. До біополімерів, які застосовують при створенні лікарських форм і матеріалів для лікування ран, належать целюлоза, альгінат, гіалуронова кислота, колаген, хітозан, желатин, хітин і фібрин [76].

Функціональні та структурні властивості біополімерів сприяють створенню сприятливих умов для загоєння ран, регенерації тканин, відновлення їхньої цілісності та зменшення надмірного рубцювання. Накопичення мікробної біоплівки на поверхні рани може підвищувати ризик інфікування та механічно перешкоджати репарації тканин. Тому при гострих і хронічних ранах перспективним є поєднання біоматеріалів з антимікробними засобами [77].

У роботі Sanapalli та співавторів досліджено незшиті (DOX-NCL) і зшиті (DOX-CL) колаген-хітозанові каркаси, до складу яких було введено DOXH, та оцінено їх ранозагоювальний потенціал при лікуванні діабетичних ран. За результатами досліджень *in vitro* встановлено, що каркас DOX-CL характеризувався біосумісністю та сприяв росту клітин порівняно з каркасом CL і контрольними групами. Це свідчить про перспективність такої системи для місцевого лікування діабетичних ран [78]

Отже, біополімерні системи, до складу яких введено DOXH, можна розглядати як перспективні матеріали для регенерації та відновлення шкіри при лікуванні ранових ушкоджень.

Імпланти

Імпланти є перспективними системами доставки лікарських речовин і демонструють новий підхід до лікування пародонтальних ран, регенерації кісткової тканини та періімплантного загоєння [79]. Після встановлення в альвеолярну кістку імпланти запускають каскад репаративних процесів, що починається з утворення тромбу та завершується дозріванням кісткової тканини у прямому контакті з поверхнею імплантату. Вони також можуть взаємодіяти з м'якими тканинами, зокрема епітелієм і сполучною тканиною [80].

Незважаючи на значний прогрес у розробленні імплантатів, інфекційні ускладнення залишаються однією з частих проблем після імплантаційних втручань. Тому нанесення антибіотиків на поверхню імплантата розглядається як перспективний підхід до зменшення ризику інфекції шляхом локального вивільнення препарату в ділянці хірургічного втручання. Такий підхід не потребує додаткового видалення системи доставки та не затримує закриття рани [81]. У дослідженні Rahmati та ін. показано застосування доксициклінового покриття на титанових імплантатах у двох *in vivo* моделях.

Дослідження локальних носіїв DOXH для застосування в імплантатах охоплюють різні технологічні підходи. Зокрема, дослідниками Korytynska-Kasperczyk та ін. запропоновано використання сополімерів триметиленкарбонату/ε-капролактону (trimethylene carbonate/ε-caprolactone,

TMC/CL) і гліколіду/ε-капролактону (glycolide/ε-caprolactone, GL/CL) у формі невеликих еластичних кілець із вмістом DOXH 5 і 10 мас. %, а також у формі електросформованих пластівців [82]. Авторами Rahmati та ін. описано нанесення покриття з розчину DOXH на поверхню титано-цирконієвих сплавів під дією постійного струму 0,65 мА [81]. В роботі Metsemakers та ін. досліджено нанесення DOXH на титановий сплав із використанням технології полімерно-ліпідної інкапсуляційна матриці (Polymer-Lipid Encapsulation MatriX, PLEX) [83].

Отримані експериментальні дані свідчать, що системи з DOXH здатні зменшувати вираженість імплантат-асоційованої інфекції. Водночас стабільність таких систем залишається важливим технологічним питанням, оскільки контакт із повітрям може сприяти деградації доксицикліну на поверхні імпланта. У зв'язку з цим більшість експериментальних зразків зберігали в герметичних умовах або під газовою атмосферою для забезпечення стабільності активної речовини.

Дентикапи

Дентикапи – це м'які полімерні лікарські форми з відповідною консистенцією для адгезії до зуба, призначені для тривалого локального вивільнення лікарських речовин і полегшення стану стоматологічних пацієнтів. У більшості випадків такі системи містять антибіотики та знеболювальні компоненти, а до їх складу вводять Eudragit L, карбополи, камедь карайя, трагакантову камедь, етилцелюлозу, гідроксипропілцелюлозу (ГПЦ), ПЕГ-400 та інші допоміжні речовини [84].

Birtia та Mahapatra досліджували нову стоматологічну лікарську форму пролонгованого вивільнення, що містила доксициклін і лідокаїн, для місцевої антибактеріальної та знеболювальної дії. Для приготування дентикапа у вигляді м'якого формувального гумоподібного матеріалу використовували етилцелюлозу, трагакантову камедь, гідроксипропілцелюлозу, ПЕГ-400 і карбопол 934. Антимікробну активність оцінювали методом дискової дифузії; найвищу зону інгібування спостерігали при концентрації 100 мкг/мл [85].

Дослідження вивільнення показало, що кумулятивний відсоток вивільнення доксицикліну хіклату становив приблизно 99,58 % протягом 12 годин. Дентикап був охарактеризований як стабільна та прийнятна система за показниками вивільнення лікарських речовин для тривалої місцевої ранозагоювальної та знеболювальної дії.

Трансдермальний пластир

Трансдермальні пластирі являють собою адгезивні лікарські системи, призначені для нанесення на шкіру та доставки визначеної дози активної речовини через шкірний бар'єр. Їх основною функцією є контрольоване вивільнення препарату з підтриманням терапевтично значущої концентрації у цільовій ділянці. Такі переваги, як безболісність застосування, менша частота заміни та можливість гнучкого дозування, зумовлюють інтерес до використання трансдермальних пластирів у лікуванні шкірних ран. Біополімери розглядають як перспективну основу для створення таких систем завдяки їхній безпечності, біосумісності, низькій токсичності та здатності до контрольованого ферментативного розкладання [86].

При створенні трансдермальних пластирів із контрольованим вивільненням для речовин із полярними властивостями та значною молекулярною масою, таких як доксицикліну гідрохлорид, необхідне розроблення спеціалізованих систем доставки. Авторами Fan та ін. досліджено транспорт DOXH через пористі мембрани у водно-органічних системах розподілу: спочатку у 1-октанол, а потім у мінеральне масло з використанням відповідних коефіцієнтів органо-водного розподілу. Модель пластиру створювали із застосуванням шкіри миші та мікропористої мембрани за відсутності або наявності підсилювачів проникнення, зокрема лінолевої кислоти [87]. Результати показали, що пориста мембрана з полівініліденфториду (polyvinylidene fluoride, PVDF) і мінеральне масло були придатними для *in vitro* тестування DOXH із довготривалим вивільненням протягом 120 годин. Після оптимізації було досягнуто задовільних профілів вивільнення полярного антибіотика доксицикліну гідрохлориду.

Відомо дослідження систем з контрольованим вивільненням для трансдермального застосування на основі хітозанового каркаса, до складу якого було введено наночастинки селену з DOXH. Хітозанова основа трансдермального пластиру може сприяти утриманню вологи у глибших шарах шкіри та формуванню сприятливого мікросередовища для місцевої дії активної речовини. Введення наночастинок селену до складу такої системи розглядалося як технологічний підхід до підвищення ранозагоювальної активності лікарської форми та забезпечення більш контрольованого вивільнення DOXH [88]. У роботі Altememy та співавторів показано, що розроблений трансдермальний пластр мав однорідну м'яку поверхню без бульбашок, непрозорий фіолетовий зовнішній вигляд і прийнятні фармакотехнологічні характеристики, зокрема час розпаду, товщину, здатність до набухання, рН поверхні, адгезивні властивості та профіль вивільнення *in vitro*. За результатами дослідження автори розглядали цю систему як перспективну для подальшого застосування при лікуванні шкірних ушкоджень, зокрема ран. [89].

Гідрогелеві плівки (антибактеріальні)

Відомі антибактеріальні/антимікробні гідрогелеві плівки, які використовують для догляду за ранами, здатні поглинати надлишок ексудату, підтримувати вологе мікросередовище для росту клітин і захищати рану від патогенів. Такі системи мають значний потенціал для контролю мікробних інфекцій, пов'язаних із порушенням загоєння ран. Їхні функціональні властивості значною мірою залежать від полімерного складу та взаємодій усередині полімерної сітки [90].

Для виготовлення плівок застосовують широкий асортимент синтетичних і природних полімерів, зокрема хітозан, карбоксиметильовані похідні полімерів, зшитий полівініловий спирт (ПВС), поліакриламід та інші гідрофільні полімери [91].

Авторами Nedayatyanfard та ін. досліджено плівки й нановолокна на основі хітозану, полівінілового спирту та доксицикліну у моделі діабетичної рани у щурів. Авторами встановлено, що такі системи збільшували швидкість

закриття ран, об'єм колагену, дерми та епідермісу, а також кількість фібробластів і базальних клітин епідермісу. Крім того, вони сприяли збільшенню довжини судин і зменшенню кількості нейтрофілів. Рівні прозапальних цитокінів і ММП-2 знижувалися, тоді як рівні протизапального ІЛ-10 і тканинного інгібітора металопротеїназ ТІМР-1 підвищувалися. Це дозволило авторам розглядати комбінацію хітозан/ПВС/доксидиклін як перспективну систему для загоєння діабетичних ран [92].

Плівкові системи здатні поглинати значну кількість біологічних рідин, що робить їх перспективними матеріалами для доставки антибіотиків у складі засобів для догляду за ранами.

Окремим напрямом досліджень є створення бактеріально-чутливих систем доставки, розроблення яких пов'язане з необхідністю подолання біоплівкового бар'єра у хронічних ранах. Наявність біоплівок у рановому середовищі є однією з ключових причин затримки загоєння, оскільки вони обмежують проникнення антимікробних речовин і підтримують персистенцію інфекційного процесу.

Дослідниками Permana та ін. запропоновано підхід, що передбачав використання наночастинок, чутливих до бактеріального середовища, до складу яких було введено доксидиклін, з подальшим включенням таких наночастинок у розчинні мікроголки. Така система була спрямована на покращення проникнення активної речовини у біоплівку та забезпечення локальної доставки антибіотика безпосередньо до осередку інфекції. Як полімерні матриці для наночастинок використовували полімолочно-ко-гліколеву кислоту (PLGA) та полі-ε-капролактон (PCL), а поверхню частинок модифікували хітозаном. Наночастинки отримували методом подвійної емульсії вода-олія-вода (W/O/W) з подальшим випаровуванням розчинника. Вивільнення DOXH із наночастинок оцінювали за наявності та відсутності бактерій, які часто асоціюються з хронічними ранами, зокрема *Staphylococcus aureus* та *Pseudomonas aeruginosa*. Встановлено, що за наявності біоплівкоутворювальних бактерій вивільнення DOXH підвищувалося до 7 разів. Подальше включення таких наночастинок у

розчинні мікроголки сприяло покращенню дерматокінетичних профілів DOX, зокрема збільшенню часу його утримування порівняно з безголковими пластирами [93].

Ранові пов'язки

Різноманітність клінічних типів ран стала підґрунтям для створення широкого спектра ранових пов'язок з антибіотиками, які застосовують для контролю мікробного фактора, захисту ранової поверхні та підтримки окремих етапів загоєння [94]. Для ефективного клінічного застосування ранові пов'язки мають забезпечувати оптимальні умови для перебігу репаративних процесів: підтримувати вологе середовище рани, поглинати або відводити надлишок ексудату, зберігати газопроникність, захищати ранову поверхню від мікробної інвазії та зовнішньої травматизації. Крім того, вони повинні легко видалятися або біодеградувати без пошкодження новоутвореної тканини, підтримувати життєздатність клітин, зменшувати некроз і больові відчуття та бути економічно доцільними [59].

Ранові пов'язки можуть бути доцільними для покращення загоєння ушкоджень шкіри й очей, спричинених іпритом (гірчичним газом), токсичною хімічною речовиною бойового типу [95]. Ранові пов'язки також можуть застосовуватися як основний метод лікування у пацієнтів, для яких проведення шкірної пластики є недоцільним або неможливим. Для їх виготовлення використовують різні полімерні та біополімерні матеріали, зокрема гідроколоїди, альгінати, поліуретан, гідрогелі, колаген, гіалуронову кислоту [96], а також поліетиленоксидні полімери Polyox™ та карагінан [94].

Так дослідниками Adhirajan та ін. було розроблено одну з перших ранових пов'язок з DOXH на основі колагену. До її складу входили желатинові мікросфери, модифіковані 2,3-дигідроксибензойною кислотою, з інкапсульованим DOXH. Потенційні переваги такої системи досліджували на моделі ексцизійної рани у щурів, інфікованих *Pseudomonas aeruginosa*. Встановлено, що розроблена пов'язка знижувала вираженість інфекційного

процесу та рівень матриксних металопротеїназ, що свідчило про її потенційну придатність для лікування ран [97].

В роботі авторів Ну та ін. описано розроблення біoadгезивної гідрогелевої пов'язки для лікування опікових ушкоджень. Формування системи здійснювали шляхом зшивання модифікованого гіалуронату та желатину динамічними боронатними ефірними зв'язками, а доксициклін інкапсулювали в гідрогелеву матрицю з метою локальної доставки антибіотика в рану. Розроблена пов'язка продемонструвала біосумісність, антибактеріальну активність щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій та здатність прискорювати процесу загоєння опікової рани. Її застосування також супроводжувалося зменшенням запальної реакції, посиленням відновлення колагену, регенерацією судин і формуванням волосяних фолікулів [98].

Перспективною у загоєнні ран є розроблена тришарова ранова пов'язка на основі нановолокон. Перший і другий шари сформовані з нановолокон альгінату натрію та хітозану відповідно. Третій шар був сформований коаксіальними нановолокнами: серцевина містила 1 % полікапролактону і 4,5 % колагену, а оболонка – 2,5 % DOXH і 2,5 % поліетиленоксиду. Розроблена пов'язка характеризувалася контактним кутом 38° , роботою біoadгезії $0,485 \text{ мДж/см}^2$ на шкірі щура, міцністю на розрив $2,76 \text{ МПа}$, подовженням при розриві 7,65 %, питомою поверхнею $9,65 \text{ м}^2/\text{г}$ і пористістю 52,3 %. Вміст DOXH становив 260 мкг/см^2 , а повне вивільнення препарату досягалося через 15 хвилин. Морфологічні, механічні та біoadгезивні властивості, а також вміст DOXH залишалися стабільними протягом 12 місяців при температурі 4°C [99]. У подальшій роботі Tort та співавтори оцінювали тришарову нановолокнисту біополімерну ранову пов'язку з DOXH за антибактеріальними та протизапальними властивостями у моделях гострих і хронічних ран. За результатами імуногістохімічних досліджень встановлено зниження рівнів матриксних металопротеїназ і підвищення рівнів тканинного інгібітора металопротеїназ, що пов'язували із застосуванням антибіотика. Також

показано, що пов'язка покращувала ангіогенез і сприяла скороченню фази запалення [100].

В роботі Cao та ін. описано розроблення та дослідження *in vitro* та *in vivo* ранової пов'язки з імуномодулюючими й електропровідними властивостями. 2-акрилоїлоксиетилтриметиламоній хлорид (Bio-IL) і желатину метакрилат (GelMA) наносили методом 3D-друку на нановолокнисту мембрану, що містила доксицикліну гідрохлорид і поліуретан, здатний розкладатися під дією активних форм кисню (reactive oxygen species, ROS), з подальшим УФ-опроміненням для отримання електропровідних гідрогелевих смужок. Розроблена пов'язка сприяла міграції ендотеліальних клітин і поляризації макрофагів у напрямку протизапального фенотипу M2 *in vitro* [101].

Таким чином, ранові пов'язки з DOXH демонструють значний потенціал у прискоренні загоєння ран завдяки поєднанню антибактеріальної дії, контрольованого вивільнення активної речовини, підтримки відкладення колагену, реваскуляризації та повторної епітелізації. Додатково їхній ефект пов'язують зі зниженням рівнів активних форм кисню та прозапальних факторів, а також зі збільшенням частки макрофагів протизапального фенотипу M2.

Мазі

Мазі є м'якими лікарськими формами, призначеними для зовнішнього нанесення на шкіру або слизові оболонки. Класичні мазі здебільшого мають гідрофобну природу, повільно всмоктуються та традиційно застосовуються як засоби для місцевого лікування поверхневих ушкоджень. Через напівоклюзійні властивості мазі не завжди є оптимальними для всіх типів ран, зокрема мокнучих дерматозів, однак вони залишаються поширеною формою для лікування поверхневих уражень шкіри [102].

Авторами El-Ela та ін. досліджено мазі з нанокompозитами подвійного гідроксиду магнію та алюмінію, до складу яких було введено доксициклін (DOX) і амоксицилін (AMOX). DOXH і AMOX вводили до складу нанокompозиту на основі гідроксиду магнію та алюмінію (Mg/Al LDH,

magnesium–aluminium layered double hydroxide) методом співосадження. Експериментальну рану асептично формували на передньо-спинній ділянці щурів. Після місцевого застосування мазей оцінювали гостру токсичність, швидкість загоєння рани, відсоток загоєння, індекс виразки, рівень захисту та гістопатологічні показники. У тварин, яким місцево наносили мазі з нанокompозитами DOX/LDH та AMOX/LDH, спостерігали значне збільшення відсотка загоєння і площі закриття рани на 4-й ($p < 0,001$, $p < 0,001$), 8-й ($p < 0,001$, $p < 0,001$), 12-й ($p < 0,001$, $p < 0,001$) і 16-й ($p < 0,001$, $p < 0,001$) день порівняно з контрольною групою без лікування. Отримані результати свідчать, що нанокompозити Mg/Al LDH з DOXH і AMOX у формі мазі можуть бути перспективними для скорочення тривалості лікування ран [103].

Ін'єкційні форми системної дії

Ін'єкційні лікарські форми системної дії, зокрема болюсні форми DOXH, можуть мати важливе значення при лікуванні інфекцій, що швидко прогресують, зокрема сибірської виразки та чуми, коли необхідне швидке системне введення антибіотика [104]. Водночас водні розчини DOXH характеризуються обмеженою стабільністю, тому одержання препарату у формі ліофілізованого порошку є технологічно обґрунтованим підходом, що дозволяє забезпечити стабільність лікарського засобу під час довготривалого зберігання та комерційного розміщення на ринку.

В роботі авторів Kiss та ін. розроблено нову внутрішньовенну болюсну лікарську форму доксицикліну, призначену для приготування шляхом розчинення безпосередньо перед застосуванням, яку отримували за допомогою методу електроспінінгу [105]. Для підвищення розчинності DOXH у воді як солюбілізатор використовували 2-гідроксипропіл- β -циклодекстрин (HP- β -CD). Отримані зразки містили 100 мг DOX, що відповідає дозуванню препаратів, представлених на фармацевтичному ринку. Додавання 1,5 мл води до електросформованих і ліофілізованих зразків забезпечувало одержання розчинів без видимих часток. Авторами показано, що безперервний

високошвидкісний процес електроспінінгу може бути перспективною високопродуктивною альтернативою сублімаційному сушінню.

1.4 Комбіновані лікарські засоби у формі піни нашкірної

З позиції лікування інфікованих або потенційно інфікованих ушкоджень шкіри науково обґрунтованим є створення комбінованих лікарських засобів, у яких антибактеріальний компонент поєднується з речовиною, здатною підтримувати відновлення бар'єрної функції та репарацію тканин. Такий підхід відповідає патогенезу поверхневих ран, оскільки в зоні ушкодження одночасно можуть бути наявні мікробна контамінація, запальна реакція, порушення цілісності епідермального бар'єра, підвищена трансепідермальна втрата води, ризик вторинного інфікування та потреба у прискоренні реепітелізації. Наявність біоплівки у ранах є окремим чинником, що ускладнює загоєння, оскільки біоплівкові структури підтримують персистенцію інфекційного процесу та пов'язані з антимікробною резистентністю [106].

Доксицикліну хіклат є перспективним активним фармацевтичним інгредієнтом для створення місцевих лікарських форм, спрямованих на лікування інфікованих або контамінованих ран. Його значення не обмежується антибактеріальною активністю. У сучасній літературі доксициклін розглядають як речовину з плейотропними властивостями, що поєднує антимікробний ефект, протизапальну дію, антиоксидантний потенціал, здатність модулювати клітинні процеси та впливати на ремоделювання позаклітинного матриксу [15, 31].

Як уже було зазначено, доцільність місцевої доставки доксицикліну хіклату при ранових ураженнях зумовлена не лише його антибактеріальною активністю, а й здатністю впливати на ключові патогенетичні механізми порушеного загоєння. Доксициклін пригнічує ріст чутливих мікроорганізмів, що має значення для контролю мікробної колонізації, вторинного інфікування та біоплівкоутворення у рановому середовищі. Крім того, у літературі обґрунтовано його здатність інгібувати матриксні металопротеїнази,

зменшувати надмірну протеолітичну активність, модулювати запальну відповідь, оксидативний стрес і процеси ремоделювання позаклітинного матриксу [15, 24, 27, 31, 32].

Водночас застосування лише антибактеріального компонента не забезпечує повного впливу на процес відновлення ушкодженої шкіри. Для ефективного перебігу репарації важливими є не тільки контроль мікробного фактора, а й підтримка реепітелізації, відновлення бар'єрної функції, нормалізація гідратації рогового шару та зниження трансепідермальної втрати води. Саме тому поєднання доксицикліну хіклату з речовиною репаративної дії є патогенетично обґрунтованим підходом до створення місцевої лікарської форми для лікування інфікованих або потенційно інфікованих ранових уражень шкіри.

Декспантенол є одним із найбільш вивчених компонентів для нашкірного застосування. Він є стабільним спиртовим аналогом пантотенової кислоти, яка входить до складу коензиму А і має значення для нормальної функції епітелію. Ebner та співавторами показано, що місцеве застосування декспантенолу ґрунтується на його доброму проникненні у шкіру та здатності створювати високі локальні концентрації за умови використання відповідного носія. Автори зазначили, що декспантенол покращує гідратацію рогового шару, знижує трансепідермальну втрату води, підтримує м'якість і еластичність шкіри, а також може активувати проліферацію фібробластів і прискорювати реепітелізацію під час загоєння [182].

Дані клінічних і експериментальних досліджень підтверджують значення декспантенолу для відновлення шкірного бар'єра. Gehring і Gloor у рандомізованому подвійному сліпому плацебо-контрольованому дослідженні показали, що 7-денне місцеве застосування декспантенолу покращувало гідратацію рогового шару та знижувало трансепідермальну втрату води, причому активне лікування статистично відрізнялося від контролю-носія за обома показниками [107].

В дослідженнях Gorski та ін. проаналізовано опубліковані клінічні та *in vitro* дані щодо застосування декспантенолу при постпроцедурному загоєнні ран. У цьому огляді зазначено, що місцево нанесений декспантенол сприяє загоєнню поверхневих і постпроцедурних ушкоджень, прискорює реепітелізацію та відновлення бар'єрної функції шкіри після ушкодження. Автори також підкреслили, що декспантенол впливає на експресію генів, важливих для процесу загоєння, що дозволяє розглядати його не лише як зволожувальний компонент, а як біологічно активну речовину, залучену до регуляції репаративних процесів. [167].

В дослідженнях авторів Heise та ін. репаративну дію декспантенолу підтверджено за результатами клінічного дослідження, у якому аналізували профіль експресії генів у біоптатах попередньо ушкодженої шкіри після застосування декспантенолу порівняно з плацебо. Авторами показано, що декспантенол може модулювати експресію генів, пов'язаних із процесом загоєння шкіри *in vivo* [108].

Таким чином, доксицикліну хіклат і декспантенол мають різні, але взаємодоповнювальні фармакологічні профілі. Доксициклін спрямований на контроль мікробного фактора, пригнічення надмірної активності матриксних металопротеїназ, зменшення запального компонента та оксидативного стресу. Декспантенол, в свою чергу, підтримує бар'єрну функцію шкіри, покращує гідратацію рогового шару, знижує трансепідермальну втрату води, сприяє проліферативним процесам, фібробластичній активності та реепітелізації. Така комбінація є патогенетично обґрунтованою для місцевого лікування поверхневих ранових уражень, де одночасно необхідні контроль інфекції та підтримка репарації тканин.

Доцільність поєднання антибактеріальної або антисептичної дії з декспантенолом підтверджується світовою практикою створення комбінованих препаратів для нашкірного застосування. Одним із прикладів є крем Бепантен Плюс (Bepanthen First Aid Cream, Bayer, Німеччина), що містить хлоргексидин як антисептичний компонент і декспантенол як речовину, що підтримує загоєння

та регенерацію шкіри. Препарат призначений для лікування поверхневих або незначних ран із ризиком інфікування, зокрема саден, невеликих порізів, подряпин, тріщин, легких опіків, виразок і поверхневих хірургічних ушкоджень. [109]. Також відомий препарат на основі декспантенолу і хлоргексидину у формі спрею *Veranthen Plus Spray* (Bayer Austria GmbH, Австрія), призначений для первинної обробки поверхневих ран із ризиком інфікування; його можна наносити на ушкоджену ділянку шкіри без дотику до рани. Основною перевагою лікарських засобів у формі піни нашкірної або спрею є можливість нанесення на ушкоджену поверхню шкіри з мінімальним механічним контактом.

Особливої уваги заслуговують препарати, у яких декспантенол поєднується саме з антибіотиком. Наприклад, комбінований препарат *Cortimycine[®]* (Drossapharm AG, Basel, Швейцарія) представлений на ринку як дермальний крем/мазь, що поєднує протизапальні властивості гідрокортизону з антибактеріальною дією неоміцину. Препарат також містить декспантенол, який сприяє загоєнню ран. *Cortimycine[®]* застосовують при бактеріально зумовлених ураженнях шкіри, опіках, ранах, післяопераційних ранах та екземах різного походження за призначенням лікаря [110].

Слід зазначити, що у світовій практиці приклади саме пінної лікарської форми, яка одночасно містить антибактеріальний компонент і декспантенол, є нетиповими. Натомість зареєстровані або представлені на ринку піни нашкірні антибактеріальної чи протимікробної дії підтверджують можливість реалізації антибактеріальної терапії саме у формі аерозолу. Наприклад, *Clindamycin Phosphate Foam 1 %* (Glenmark Pharmaceuticals Inc., США) є лікарською формою для місцевого лікування акне у пацієнтів віком від 12 років і містить 1 % кліндаміцину у вигляді кліндаміцину фосфату [111].

Піни нашкірні є одним із раціональних підходів до терапії поверхневих уражень шкіри, інфікованих ран, запальних дерматозів та інших патологічних станів, за яких необхідне локальне надходження активних фармацевтичних інгредієнтів без створення високої системної експозиції. У сучасній дерматологічній практиці особливого значення набуває не лише вибір активної

речовини, а й вибір лікарської форми та носія, оскільки саме основа препарату визначає рівномірність нанесення, розподіл по поверхні шкіри, суб'єктивну переносимість, прихильність пацієнта до лікування та потенційну здатність активної речовини долати бар'єр рогового шару. У цьому контексті піна для нашкірного застосування розглядається як перспективна лікарська форма, що поєднує окремі переваги рідких, емульсійних і м'яких систем: легке нанесення, швидкий розподіл, можливість покриття значної площі ураження та мінімізацію механічного травмування uszkodженої ділянки. За даними авторів Kotwiski та ін., піни для місцевого застосування досліджуються як перспективні носії активних фармацевтичних інгредієнтів завдяки зручності нанесення, високій прийнятності для пацієнтів, добрій переносимості та потенційній здатності покращувати проникнення активних речовин крізь роговий шар [112]. Автори підкреслюють, що лікарські препарати у формі піни нашкірної мають технологічні й клінічні переваги порівняно з лікарськими засобами для нашкірного застосування, зокрема кремами, мазями або гелями.

1.5 Пропеленти у фармацевтичних аерозольних препаратах

Фармацевтичні аерозольні препарати належать до лікарських форм, у яких спосіб доставки активної речовини визначається не лише складом препарату, а й конструкцією контейнерно-клапанної системи та властивостями пропеленту. Пропелент у таких системах виконує функцію джерела тиску, забезпечує вихід препарату з контейнера, впливає на характер диспергування, форму розпилення, швидкість випуску, дозованість, залишкову кількість препарату в контейнері, а у випадку пін нашкірної також бере участь у формуванні газорідної структури лікарської форми після вивільнення з упаковки [112, 113, 114, 115].

Відповідно до положень настанови ІСН Q8(R2), фармацевтична розробка має бути спрямована на обґрунтування складу, технологічного процесу та контролю якості на основі розуміння впливу якісного складу препарату і параметрів технологічного процесу на якість готового лікарського засобу. Для

аерозольних препаратів це означає, що пропелент необхідно розглядати як функціональний компонент, який може впливати на критичні показники якості: тиск у контейнері, однорідність випуску, масу дози або кількість препарату, що випускається, фізичну стабільність системи, характер піноутворення, мікроструктуру піни, а також стабільність активних речовин у матричному розчині або емульсійній основі [116].

За фізико-хімічними властивостями пропеленти, що застосовують у фармацевтичних аерозолях, поділяють на дві основні групи: зріджені гази та стиснені гази. До зріджених під тиском газів належать вуглеводневі пропеленти, зокрема пропан, н-бутан, ізобутан та їх суміші, диметиловий ефір, а також фторвмісні пропеленти хлорфторвуглеводень (ХФВ), гідрофторвуглеводень (ГФВ), які традиційно використовувалися переважно в інгаляційних системах [138]. До стиснених газів належать азот, вуглецю діоксид, азоту оксид та інші гази, які створюють тиск у вільному просторі контейнера, але не перебувають у зрідженому стані в рівновазі з рідкою фазою препарату. Принципова відмінність між цими групами полягає в характері підтримання тиску: зріджені пропеленти зазвичай забезпечують більш стабільний тиск у контейнері завдяки рівновазі між рідкою та паровою фазами, тоді як у системах зі стисненим газом тиск поступово знижується у міру витрачання вмісту контейнера [117].

Для пінних аерозольних препаратів найбільшого значення набувають саме зріджені пропеленти, оскільки вони можуть бути дисперговані або емульговані у матричній основі й після випуску з контейнера швидко випаровуються, формуючи газові бульбашки у рідкій або напівтвердій системі. Авторами Kealy та ін. показано, що фармацевтична піна є багатофазною лікарською формою, властивості якої всередині контейнера відрізняються від властивостей піни після виходу [113].

Особливістю пінних систем є те, що пропелент у контейнері може перебувати не просто як газова фаза над препаратом, а як внутрішня дисперсна фаза або компонент, емульгований у матричному розчині. Якщо пропелент знаходиться у внутрішній дисперсній фазі системи типу «олія у воді», після

випуску з контейнера зазвичай формується стабільніша піна. Якщо ж пропелент перебуває у зовнішній безперервній фазі системи типу «вода в олії», препарат може вивільнятися як спрей або швидкокоруйнівна піна. Отже, для аерозольних пін важливим є не лише загальний вміст пропеленту, а і його фазовий розподіл у системі, сумісність з основою, здатність до емульгування та взаємодія з поверхнево-активними речовинами [113].

Вуглеводневі пропеленти є одними з найпоширеніших у наскірних фармацевтичних пінах. Вуглеводень має такі переваги, як низька токсичність, екологічність, відсутність реакційної здатності, сумісність з матеріалами первинного пакування та з самим ЛЗ [138]. При цьому співвідношення компонентів суміші має технологічне значення, оскільки пропан, н-бутан та ізобутан відрізняються за леткістю і тиском насиченої пари. Зміна їх співвідношення дозволяє регулювати внутрішній тиск контейнера, швидкість виходу препарату, інтенсивність піноутворення та характер руйнування піни після нанесення [113, 117].

Підтвердженням практичного застосування вуглеводневих пропелентів є склад зареєстрованих наскірних пін. Так, у препараті Clindamycin Phosphate Foam 1 % (Glenmark Pharmaceuticals Inc., США) контейнер наповнений вуглеводневим пропелентом – сумішшю пропан/бутан; препарат призначений для місцевого лікування акне і містить 1 % кліндаміцину у вигляді кліндаміцину фосфату. [111].

Засіб Betamethasone Valerate Foam 0,12 % (Padagis Israel Pharmaceuticals Ltd, Ізраїль) містить бетаметазону валерат у термолабільній гідроетанольній пінній основі, і заповненій вуглеводневим пропелентом пропан/бутан. У складі основи зазначені етиловий спирт, цетиловий і стеариловий спирти, пропіленгліколь, полісорбат 60, цитратний буфер та вода очищена. Отже, вуглеводневий пропелент може застосовуватися у гідроетанольних пінних системах, де стабільність препарату залежить від балансу між леткістю, розчинністю, емульгуванням, реологічними властивостями та поведінкою піни після нанесення [118].

Препарат Calcipotriene Foam (Mayne Pharma, Raleigh, NC, США) є водно-емульсійною пінною системою, що вивільняється з алюмінієвого контейнера, заповненого сумішшю пропан/н-бутан/ізобутан. У складі препарату активна речовина міститься у водно-емульсійній основі, до складу якої входять цетиловий спирт, стеариловий спирт, ізопропілміристат, легка мінеральна олія, білий вазелін, пропіленгліколь, поліоксил 20 цетостеариловий ефір та вода очищена [118].

Стиснені гази можуть бути доцільними для розчинів або спреїв, однак для пін вони мають обмеження. Такі системи можуть бути доцільними для розчинів або спреїв, однак для пін вони мають обмеження. На відміну від зріджених пропелентів, стиснений газ здебільшого перебуває у вільному просторі контейнера і поступово розширюється у міру витрачання продукту, що може супроводжуватися зниженням тиску протягом використання [117, 121].

Для фармацевтичної аерозольної піни принципове значення має не тільки хімічна природа пропеленту, а й його кількість. Недостатній вміст пропеленту може призводити до неповного виходу вмісту препарату з контейнера, слабкого піноутворення, нестабільної структури піни або надмірно вологого залишку після нанесення. Надмірний вміст пропеленту, навпаки, може спричиняти надто інтенсивне розширення піни, швидке руйнування бульбашкової структури, надмірне охолодження поверхні при випаровуванні, підвищення внутрішнього тиску контейнера та ризики, пов'язані з безпекою пакування. Тому оптимізація вмісту пропеленту повинна здійснюватися не лише за технологічним критерієм «утворюється/не утворюється піна», а за сукупністю показників якості: маса випуску, повнота випуску, стабільність піни, щільність, кратність піноутворення, руйнування піни, однорідність структури, споживчі характеристики та стабільність препарату під час зберігання [113, 117, 122].

Вибір пропеленту безпосередньо пов'язаний із показником внутрішнього тиску контейнера. Для аерозольних препаратів тиск є функціональним параметром, що впливає на здатність системи евакуювати вміст через клапан, на швидкість випуску, форму струменя або піни та на відтворюваність

застосування. У зріджених пропелентів тиск визначається тиском насиченої пари та температурою; тому підвищення температури зберігання або експлуатації може суттєво збільшувати тиск у контейнері. Саме цим пояснюється необхідність контролю температурних умов зберігання, випробувань контейнерів на герметичність і стійкість до тиску, а також попереджувального маркування щодо недопущення нагрівання, проколювання або спалювання контейнера [113, 117, 121].

Вплив пропеленту на фізичну стабільність препарату особливо важливий для емульсійних і суспензійних аерозолів. У таких системах пропелент може змінювати розчинність активної речовини, розподіл фаз, густину дисперсної системи, швидкість седиментації або кремування, а також взаємодію з поверхнево-активними речовинами. Для пінних емульсій, де матричний розчин містить водну фазу, ліпофільну фазу, емульгатори, структуроутворювачі та активні речовини, пропелент може впливати на фазову рівновагу в контейнері. Несумісність пропеленту з основою може проявлятися розшаруванням, нестабільним випуском, неоднорідністю піни, зміною розміру бульбашок, прискореним руйнуванням піни в рідину або утворенням спрею замість стабільної піни.

Реологічні властивості матричного розчину є одним із ключових чинників, що визначають поведінку піни після випуску. Авторами Kealy та ін. встановлено, що реологічні параметри дозволяють розрізнити гідроетанольні, емульсійні та водні аерозольні піни і дають уявлення про макроструктуру спіненого матеріалу. Це має практичне значення для розробки піни нашкірної, оскільки саме реологічні властивості впливають на здатність піни утримувати форму, рівномірно розподілятися по шкірі, не стікати з поверхні, але водночас легко наноситися без надмірного механічного розтирання [113].

Для нашкірних препаратів критичним є також вплив пропеленту на споживчі властивості. Піна повинна мати прийнятну консистенцію, швидко й рівномірно розподілятися по поверхні шкіри, не спричиняти надмірного охолодження або подразнення, не залишати надмірно липкого чи жирного шару,

а також бути зручною для нанесення на болючі або травматизовані ділянки. В роботі Kotwiski та ін. узагальнено клінічні дані щодо topical foam і зроблено висновок, що піна має технічні переваги порівняно з традиційними нашкірними формами, а також може підвищувати прихильність пацієнтів до лікування [112].

Клапанно-розпилувальна система є ще одним чинником, який визначає реалізацію властивостей та характеристик пропеленту. Навіть за однакового складу препарату зміна клапана, отвору актуатора або наявності/відсутності занурювальної трубки може змінювати швидкість виходу препарату, характер піни, дисперсність, залишкову кількість препарату в контейнері та відтворюваність дози. Kealy та співавтори підкреслюють, що контейнер, клапан і актуатор можуть впливати на структуру піни. Отже, у фармацевтичній розробці пропелент не може оцінюватися окремо від пакування; він є частиною єдиної системи «склад – контейнер – клапан – актуатор – спосіб застосування» [113].

Оцінка нашкірних пін повинна враховувати і регуляторні підходи до локально діючих лікарських форм. У керівництві FDA щодо фізико-хімічної та структурної характеристики топічних лікарських засобів зазначає, що такі продукти можуть потребувати Q3-характеристики для опису властивостей, які є критичними для їхньої дії та біоеквівалентності. Хоча документ орієнтований переважно на генеричні топічні продукти, його рекомендації важлива і для розробки нової фармацевтичної композиції у формі піни нашкірної: характеристики основи, мікроструктури, реології, фізичного стану активної речовини та показники *in vitro* можуть визначати клінічну ефективність і безпеку препарату для місцевого застосування [123].

Для пін нашкірних до таких показників доцільно відносити зовнішній вигляд препарату до та після випуску, внутрішній тиск контейнера, герметичність, масу вмісту, відсоток випуску з контейнера, масу одноразового випуску або дозу, однорідність випуску, швидкість випуску, кратність піноутворення, стабільність піни, руйнування рідини, розподіл розміру бульбашок, рН, в'язкість матричного розчину, мікробіологічну чистоту, кількісний вміст активних речовин і стабільність препарату протягом терміну

зберігання. Для комбінованої піни нашкірної додаткового значення набуває контроль сумісності пропеленту з обома активними речовинами та допоміжними компонентами, оскільки зміна фазового стану або рН середовища може впливати на стабільність антибіотика, репаративного компонента та емульсійної системи в цілому.

Стабільність активних речовин у присутності пропеленту залежить від хімічної природи АФІ, складу основи, вмісту води, рН, наявності кисню, світлочутливості та матеріалів пакування. Для антибіотиків, зокрема доксицикліну хіклату, важливими є ризики деградації у водних середовищах, фоточутливість, можливе утворення домішок та зміна забарвлення. Тому при розробці піни нашкірної з DOXH пропелент має бути оцінений не лише за здатністю утворювати піну, а й за впливом на стабільність активної речовини, рН матричного розчину, фазову стабільність емульсії та сумісність із контейнером. Якщо пропелент або його домішки сприяють зміні рН, окисненню, розшаруванню або екстракції компонентів із полімерних елементів клапана, це може позначатися на якості препарату.

Екологічний аспект вибору пропеленту також набуває дедалі більшого значення. Історично у фармацевтичних аерозолях, особливо інгаляційних, широко застосовували хлорфторвуглецеві пропеленти, які були замінені гідрофторалканами у зв'язку з озоноруйнівним потенціалом; у США AIM Act передбачає скорочення виробництва і споживання HFC на 85 % від історичного базового рівня до 2036 року [125].

З позиції розробки піни нашкірної найбільш раціональним є поетапне обґрунтування вибору пропеленту. На першому етапі доцільно оцінювати придатність потенційних пропелентів або їх сумішей за базовими критеріями: хімічна інертність щодо активних речовин і допоміжних компонентів, здатність створювати необхідний тиск, сумісність із контейнерно-клапанною системою, безпечність для нашкірного застосування, відсутність неприйняттого запаху або подразнювальної дії, а також технологічна доступність. На другому етапі оцінюють функціональні властивості: здатність формувати піну, однорідність

випуску, кратність піноутворення, стабільність піни, дренажу рідини, повноту евакуації, розмір і розподіл газових бульбашок. На третьому етапі проводять стабільність: контроль фізичної однорідності, тиску, рН, кількісного вмісту активних речовин, продуктів деградації, мікробіологічної чистоти та збереження пінних властивостей під час зберігання [215].

Для комбінованої піни з доксицикліну хіклатом і декспантенолом вибір пропеленту має враховувати специфіку обох активних речовин і емульсійної основи. Доксицикліну хіклат потребує контролю хімічної стабільності, захисту від світла та небажаних процесів деградації, тоді як декспантенол є гідрофільним компонентом, що передбачає наявність водної фази або водно-спиртового середовища. Отже, пропелент повинен забезпечувати формування стабільної піни без руйнування емульсійної системи, без небажаної зміни рН і без погіршення стабільності антибіотика. З урахуванням практики зареєстрованих на шкірних пін, вуглеводневі суміші пропан/бутан/ізобутан можуть розглядатися як технологічно релевантний варіант для пінної форми, однак їх застосування потребує обов'язкової оцінки займистості, тиску, сумісності та стабільності препарату.

Отже, пропелент у пінах на шкірних слід розглядати як критично важливий функціональний компонент, що забезпечує не лише створення тиску в контейнері, а й формування споживчих, технологічних і біофармацевтичних характеристик лікарської форми. Для нашкої піни пропелент визначає характер піноутворення, стабільність піни, рівномірність випуску, повноту евакуації, зручність застосування та частково безпеку препарату. Науково обґрунтований вибір пропеленту має базуватися на оцінці фізико-хімічних властивостей пропеленту, сумісності з матричною основою і активними речовинами, впливу на критичні показники якості, безпечності для пацієнта, технологічної відтворюваності та регуляторних вимог. Для комбінованої піни нашкої з доксицикліну хіклатом і декспантенолом такий підхід є необхідною передумовою створення стабільного, ефективного та зручного для застосування лікарського засобу.

Висновки до розділу 1

1. Узагальнено сучасні підходи до лікування ран та ранової інфекції і встановлено, що ранозагоєння ускладнюється мікробною контамінацією, формуванням біоплівки, надмірною запальною реакцією, порушенням ремоделювання позаклітинного матриксу, підвищеною трансепідермальною втратою води та зниженням ефективності репаративних механізмів.

2. Визначено фармацевтичні передумови для розробки фармацевтичної композиції з доксицикліну хіклатом місцевої доставки, зокрема необхідність створення терапевтично значущої концентрації антибіотика безпосередньо в зоні ушкодження, підвищення локальної ефективності антибактеріальної терапії та зменшення небажаної системної експозиції порівняно із системним застосуванням. Встановлено основні обмеження при створенні рідких і напівтвердих лікарських форм із доксицикліну хіклатом: забезпечення його розчинності, стабільності у водно-спиртових та емульсійних системах, а також захист від фотодеградації, окиснення, епімеризації та утворення продуктів деградації.

3. Обґрунтовано доцільність комбінації доксицикліну хіклату з декспантенолом та вибір піни нашкірної в контейнері під тиском, оскільки така комбінація спрямована на різні ланки ранового процесу: контроль мікробної контамінації та запалення, підтримку бар'єрної функції шкіри, гідратації та реепітелізації. Обґрунтовано вибір піни нашкірної в контейнері під тиском як раціональної лікарської форми, оскільки така форма може забезпечувати безконтактне нанесення, рівномірний розподіл препарату по ушкодженій поверхні, мінімізацію механічного травмування рани та зручність застосування.

4. Визначено пропелент як критично важливий функціональний компонент піни нашкірної, який визначає не лише тиск у контейнері та повноту евакуації вмісту, а й характер піноутворення, стабільність піни, рівномірність випуску, споживчі властивості та частково безпеку лікарської форми.

РОЗДІЛ 2 ОБГРУНТУВАННЯ МЕТОДОЛОГІЇ ДОСЛІДЖЕННЯ. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень комбінованих лікарських засобів із різним типом дисперсійного середовища для лікування ран

Ранові ураження часто характеризуються тривалим загоєнням, що погіршує функціональний стан і якість життя пацієнтів. [126]. Для ефективної терапії ранових інфекцій доступний широкий спектр традиційних препаратів місцевої дії як мазі, креми, гелі та пасти, порошки, ранові пов'язки та пластирі, але рідкі форми як розчини, аерозолі, піни, здатні досягти більш ефективного трансдермального проникнення, оскільки вони містять активні речовини з відповідною розчинністю та проникністю [127]. Впровадження воєнного стану та бойові дії призводять до появи великої кількості пацієнтів з відкритими вогнепальними та інфікованими ранами, які потребують негайного та ефективного лікування, що потребують швидкого, зручного, без допомоги стороннього персоналу, безконтактного місцевого застосування лікарських засобів з антибактеріальною і репаративною дією у формі піни нашкірної.

На українському фармацевтичному ринку асортимент лікарських засобів (ЛЗ) на основі доксицикліну дуже обмежений та представлений лише твердими пероральними лікарськими формами – таблетками та капсулами негайного вивільнення і встановлена відсутність на світовому ринку лікарських форм місцевого застосування для лікування ран, що спонукає на пошук нових шляхів доставки, націлених на обмеження системних побічних ефектів, пов'язаних з високою дозою препарату, та уникнення антибіотикорезистентності [12].

Піни нашкірні вважаються ефективною системою доставки (ЛЗ) для покращення загоєння та лікування ран [130], але створення стабільних аерозольних форм та пін, які містять високов'язкий розчини, чутливі активні речовини, тощо, потребує глибокого розуміння взаємозв'язку між властивостями

активних фармацевтичних інгредієнтів, допоміжних речовин та визначених критичних параметрів технологічного процесу, від яких залежить стабільність та якість ЛЗ [131].

Доксициклін у фармації застосовується у вигляді моногідрату або хіклату. Відомо про хімічну чутливість молекули доксицикліну, її лабільності в кислих та лужних середовищах. Доксицикліну хіклат і моногідрат однаково терапевтично ефективні, але хіклат має більшу розчинність [19]. Також відомо, що розчини DOXH на водній основі нестабільні під час тривалого зберігання, включаючи зміни кольору, зсув рН, утворення домішок та продуктів розпаду [20]. Складність технологічного процесу формування піни, що містить комбінацію DOXH та DP, визначає, що практично всі його стадії є критичними, а отже, потребують постійного моніторингу, перевірки та підтвердження стабільності, що може бути забезпечено впровадженням сучасних інструментів управління якістю, таких як Quality by Design (QbD) та Quality Risk Management (QRM) [132].

Обґрунтування методологічних підходів до фармацевтичної розробки лікарського засобу ґрунтується на сучасних концепціях раціонального дизайну лікарських форм, орієнтованих на забезпечення їх якості, ефективності та безпечності. З огляду на складність багатокомпонентних дисперсних систем і підвищені вимоги до дерматологічних лікарських засобів, доцільним є застосування системного підходу до планування досліджень [133].

В роботі запропоновано методологію розробки комбінованого лікарського засобу, що містить DOXH та DP у формі засобу під тиском – піні нашкірної, для лікування ран різної етіології. Методологічний підхід базується на реалізації комплексу теоретичних, фізико-хімічних, фармакотехнологічних, мікробіологічних досліджень, що забезпечує виготовлення оптимальної композиції лікарського засобу. Загальна схема методології фармацевтичної розробки включає 4 етапи досліджень: інформаційно-пошуковий, експериментально-дослідницький, технологічно-аналітичний та фармако-

біологічний. Кожний етап завершується отриманням проміжного продукту, який стає предметом дослідження для наступного етапу.

На першому етапі досліджень проводили аналіз наукової літератури щодо сучасних підходів до лікування ран; вивчення фізико-хімічних та фармакологічних властивостей доксицикліну хіклату та декспантенолу; маркетингові дослідження лікарських засобів, що знаходяться під тиском на ринку України; обґрунтування вибору лікарської форми (піна нашкірна); формування цільового профілю якості лікарського засобу. Результатом даного етапу було теоретичне обґрунтування складу, лікарської форми та основних параметрів якості майбутнього препарату.

На другому етапі здійснювали вибір діючих речовин, та їх концентрації; вибір допоміжних речовин; вибір пропеленту та його вмісту, розробили оптимальний склад піни нашкірної [116]. Вибір допоміжних речовин здійснювали із урахуванням функціонального призначення лікарського засобу, що розробляється (піноутворювачів, емульгаторів, стабілізаторів, розчинників), оскільки саме вони забезпечують стабільність розчиненого доксицикліну; визначали структурно-механічні властивості піни, її стабільність та споживчі характеристики готового лікарського засобу [134]. При розроблюванні складу піноутворювальної основи та вибору концентрацій компонентів, досліджували фармако-технологічні показники (час розширення, відносна густина, руйнування піни, рН, в'язкість).

Використання сучасних поверхнево-активних речовин і піноутворювальних компонентів дає змогу розробити стабільну лікарську форму, придатну для введення гідрофільних та сполук із подвійними властивостями (гідрофільно-ліпофільних), що характеризуються високою розчинністю у воді та здатністю взаємодіяти як із водною, так і з ліпідною фазами. Така система сприяє підвищенню біодоступності компонентів, пролонгації їх дії та покращенню фармакотерапевтичного ефекту

На третьому етапі здійснювали розроблення технології виготовлення та визначали критичні параметри технологічного процесу. Провели розробку

аналітичних методик визначення активних речовин в розчині-основі та готовому продукті, дослідили оптимальні умови пробопідготовки для екстракції діючих речовин. Розробили проект специфікації для стандартизації зразків препарату, провели оцінку стабільності препарату при довготривалому зберіганні.

На четвертому етапі проводили оцінку ранозагоювальної дії, вивчення безпечності та підтвердження ефективності обраного складу лікарського засобу. За результатами досліджень отримано експериментальне підтвердження фармакологічної активності та обґрунтовано доцільність застосування розробленого препарату.

Методологія створення і дослідження комбінованої піни нашкірної з доксицикліну хіклатом та декспантенолом для лікування ран наведено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 – Методологічна схема дослідження з розробки піни нашкірної з доксицикліну хіклатом та декспантенолом

Задачі дослідження	Методи дослідження	Джерела інформації
Етап 1. Інформаційно-пошуковий		
1. Провести аналіз ринку лікарських засобів, що знаходяться під тиском, у фармацевтичній та ветеринарній практиці. 2. Проаналізувати сучасні підходи до лікування ран різної етіології та визначити місце доксицикліну хіклату у терапії ранового процесу. 3. Вивчити фізико-хімічні, фармакокінетичні та фармакологічні властивості доксицикліну хіклату та декспантенолу. 4. Обґрунтувати вибір лікарської форми (піна нашкірна / аерозоль під тиском). 5. Сформувати цільовий профіль якості лікарського засобу (QTPP). 6. Ідентифікувати критичні показники якості (CQA), критичні властивості матеріалів (CMA) та критичні параметри процесу (CPP).	– системно-структурний аналіз; – бібліографічний та патентний пошук; – порівняльний аналіз; – методи QbD (формування QTPP, ідентифікація CQA, CMA, CPP); – узагальнення та систематизація даних.	– наукові публікації (Scopus, Web of Science); – ДФУ, ЕМА, ІСН (Q8–Q10); – нормативна документація; – матеріали власних попередніх досліджень –

Продовження таблиці 2.1

Етап 2. Дослідницький (фармацевтична розробка)		
<p>1. Обґрунтувати вибір допоміжних речовин (емульгаторів, піноутворювачів, стабілізаторів, розчинників).</p> <p>2. Провести підбір складу піноутворювальної основи та оптимізацію концентрацій компонентів (багатофакторний експеримент).</p> <p>3. Розробити модельні склади лікарського засобу з доксицикліном хіклатом та декспантенолом.</p> <p>4. Дослідити фізико-хімічні та фармако-технологічні властивості:</p> <ul style="list-style-type: none"> – рН – в'язкість – стабільність емульсії – кратність та стійкість піни – час розширення піни 	<ul style="list-style-type: none"> – фізико-хімічні методи (рН-метрія, віскозиметрія); – методи статистичної обробки результатів; 	<ul style="list-style-type: none"> – експериментальні дані; – фармакопейні методики (ДФУ); – нормативні документи щодо якості ЛЗ; – наукові публікації з фармацевтичної технології
Етап 3. Технологічно-аналітичний		
<p>1. Розробити технологію виготовлення лікарського засобу (послідовність введення компонентів, температурні режими, швидкість перемішування, гомогенізація).</p> <p>2. Провести дослідження стабільності (коротко- та довгострокові).</p> <p>3. Розробити методики контролю якості (кількісне визначення ДОХН, МБЧ).</p> <p>4. Провести валідацію аналітичних методик.</p>	<ul style="list-style-type: none"> – експериментальне моделювання та оптимізація складу (DoE). – методи статистичної обробки результатів; – технологічні методи (гомогенізація, емульгування); – спектрофотометрія / ВЕРХ; – мікробіологічні методи; 	<ul style="list-style-type: none"> – експериментальні дані; – фармакопейні методики (ДФУ); – нормативні документи щодо якості ЛЗ;
Етап 4. Фармако-біологічний		
<p>1. Задачі дослідження:</p> <p>2. Оцінити ранозагоювальну дію розробленої фармацевтичної композиції.</p> <p>3. Дослідити безпечність препарату.</p> <p>4. Підтвердити ефективність обраного складу.</p> <p>Провести узагальнення експериментальних результатів та сформулювати висновки щодо доцільності застосування препарату.</p>	<ul style="list-style-type: none"> – in vitro дослідження; – клітинні методи (оцінка життєздатності клітин, морфологія); – статистичний аналіз результатів; 	<ul style="list-style-type: none"> – результати власних експериментальних досліджень; – дані літератури; – фармакологічні дослідження аналогічних препаратів

2.2 Маркетингові дослідження лікарських засобів, що знаходяться під тиском на ринку України

За останні кілька років технологія лікарських засобів під тиском стрімко розвивається. Лікарські засоби під тиском – це ЛЗ, що містяться в спеціальних контейнерах під тиском газу, мають одну або більше діючих речовин і становлять собою розчини, емульсії або суспензії, які внаслідок натискання на клапан виходять з контейнера у вигляді аерозолі (дисперсії твердих або рідких частинок у газі, розмір яких має відповідати призначенню ЛЗ), рідини або м'якої піни [135].

Піни на шкірні вважають новинкою в галузі дерматології. Зокрема, вони корисні для лікування захворювань шкіри, коли пацієнти мають сильно запалену, набряклу, інфіковану та чутливу шкіру, бо нанесення піни на поверхню шкіри, що підлягає лікуванню, мінімізує потребу в контакті зі шкірою [130].

З огляду на це, створення та подальше впровадження нової композиції у формі піни на шкірної обумовила необхідність проведення комплексного маркетингового дослідження сучасного стану засобів під тиском.

У ході дослідження ринку було використано методи системного підходу, бібліографічного, інформаційного пошуку, аналізу, порівняння та узагальнення, статистичного оброблення, табличних і графічних засобів наочної презентації отриманих даних. Зареєстровані в Україні лікарські препарати під тиском було проаналізовано на основі даних Державного реєстру лікарських засобів України [140], інформаційно-пошукової програми «Моріон», класифікаційної системи АТХ електронного ресурсу «Compendium.online» [141]. На першому етапі було проведено аналіз офіційних джерел інформації щодо лікарських засобів, зареєстрованих та дозволених до застосування в Україні. Встановлено, що станом на період проведення дослідження на вітчизняному фармацевтичному ринку представлено 58 торгових найменувань лікарських засобів, що знаходяться під тиском, для медичного застосування та 7 препаратів для

ветеринарної медицини. Порівняно з даними попередніх маркетингових досліджень, за якими у 2015 році було зареєстровано 21 торгове найменування таких препаратів для медичної практики, отримані результати свідчать про розширення цього сегмента ринку [142]. Для систематизації зареєстрованих препаратів було використано АТХ-класифікацію, що дало змогу розподілити лікарські засоби за фармакотерапевтичними групами з урахуванням їх складу, механізму дії та сфери застосування. Результати аналізу наведено в таблиці 2.2.

Таблиця 2.2 – Розподіл асортименту зареєстрованих лікарських засобів під тиском за АТХ-класифікацією [139].

АТХ-код групи	АТХ-код підгрупи	Діюча речовина (ЛЗ)	Кількість ЛЗ	Частка ЛЗ, %	Частка ЛЗ за категорією, %
1	2	3	4	5	6
Лікарські засоби під тиском для медичної практики					
A01 – Засоби для застосування в стоматології	A01AB11	Прополіс	2	3,45	5,17
	A01AB12	Гексетидин	1	1,73	
D03 – Засоби для лікування ран та виразкових уражень	D03AX	Суміш: олії обліпихової ; хлорамфеніколу; бензокаїну; кислоти борної	1	1,73	13,79
	D03AX03	Декспантенол	7	12,07	
D06 – Антибіотики і хіміотерапевтичні препарати для застосування в дерматології	D06AX04	Неоміцин	1	1,73	1,73
D07 – Кортикостероїди для застосування в дерматології	D07CA01	Гідрокортизон та окситетрацикліну гідрохлорид	1	1,73	3,45
	D07CB01	Тріамцінолон ацетонід та тетрацикліну гідрохлорид	1	1,73	
D11 – Інші дерматологічні препарати	D11AX12	Піритіон цинк	1	1,73	1,73
G01 – Протимікробні та антисептичні засоби, що застосовують у гінекології	G01AX	Декаметоксин	1	1,73	1,73

Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4	5	6
R02 – Препарати, що застосовують у разі захворювань горла	R02AA20	Хлорбутанол гемігідрату; камфора рацемічна; левоментол; олія евкаліптова	7	12,07	12,07
R03 – Засоби для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів	R03AC02	Сальбутамол	5	8,62	60,35
	R03AC04	Фенотерол	5	8,62	
	R03AC12	Салметерол	1	1,73	
	R03AC13	Формотерол	1	1,73	
	R03AK06	Салматерол та флутиказон	8	13,79	
	R03AK07	Формотерол та будесонід	1	1,73	
	R03AK08	Формотерол та беклометазон	1	1,73	
	R03AL01	Фенотерол та іпатропію бромід	1	1,73	
	R03BA01	Беклометазон	7	12,07	
	R03BA02	Будесонід	2	3,45	
	R03BA05	Флутиказон	2	3,45	
R03BB01	Іпатропію бромід	1	1,73		
Ветеринарні лікарські засоби під тиском					
QD03 – Препарати для лікування ран та виразок	QD03AX	Циміналь	1	14,29	14,29
QD06 – Антибіотики та хіміотерапевтичні препарати для місцевого застосування	QD06AA03	Окситетрациклін	1	14,29	42,86
	QD06A	Флуорфенікол	1	14,29	
	QD06AX02	Хлорамфенікол	1	14,29	
QG51 – Протимікробні та антисептичні ветеринарні препарати для внутрішньоматкового застосування	QG51AD30	Йод+калію йодид	2	28,57	42,86
	QG51AA06	Рифаксимін	1	14,29	

З наведених даних під час структурного та внутрішньо-групового аналізу відповідно до класифікації АТХ визначено, що досліджувані ЛЗ у формі аерозолів представлені 8-ма анатомічними групами, які є різні за складом, спрямованістю впливу та основним ефектом від їх застосування. Найбільший сегмент (60,35 %) серед препаратів під тиском для людини належить групі R03 «Засоби для лікування обструктивних захворювань дихальних шляхів».

Також провідні позиції посідають анатомічні групи D03 «Засоби для лікування ран та виразкових уражень» (13,79 %) та R02 «Препарати, що застосовують у разі захворювань горла» (12,07 %). Питома вага лікарських препаратів зазначених 3-х груп становить 86,21 % від загальної кількості асортименту ЛЗ. [139].

Ветеринарні препарати представлені трьома анатомічними групами, серед яких є такі групи: QD06 «Антибіотики та хіміотерапевтичні препарати для місцевого застосування» (42,86 %), QG51 «Протимікробні та антисептичні ветеринарні препарати для внутрішньоматкового застосування» (42,86 %), QD03 «Препарати для лікування ран та виразок» (14,29 %) [139].

Аналіз сегмента зареєстрованих лікарських засобів для медичної практики за діючою речовиною свідчить, що найбільш застосованими діючими речовинами є салматерол та флутиказон (13,79 %), декспантенол (12,07 %), бекламетазон (12,07 %), а також комбінації різних антисептиків (хлорбутанолу гемігідрат; камфора рацемічна; левоментол; олія евкаліптова) (12,07 %) (рис. 2.1) [139].

У репрезентованих на ринку ветеринарних препаратів у площині пропозицій за окремою діючою речовиною переважає комбінація діючих речовин йод + калію йодид, максимальна частка якої становить 28,57 %, інші діючі речовини становлять однакову кількість по одному препарату (14,29 %) (рис. 2.2) [139].

Серед чинників, що впливають на системи доставляння аерозолів, суттєвим є вибір певного пропеленту, що вивільнятиме лікарський засіб у системах під тиском. Сегрегація українського ринку лікарських засобів під тиском для людини та ветеринарних препаратів за пропелентами, якими наповнені аерозольні системи, виявила, що гідрофторвуглеці (ГФВ) (HFA-134a, HFA 227) переважають, їхня частка становить 72,3 %, а частка фторвуглеців (трихлормонофторметан, дихлордифторметан), стиснених газів та вуглеводнів пропанового ряду становить лише 27,7 %. (рис. 2.3) [139].

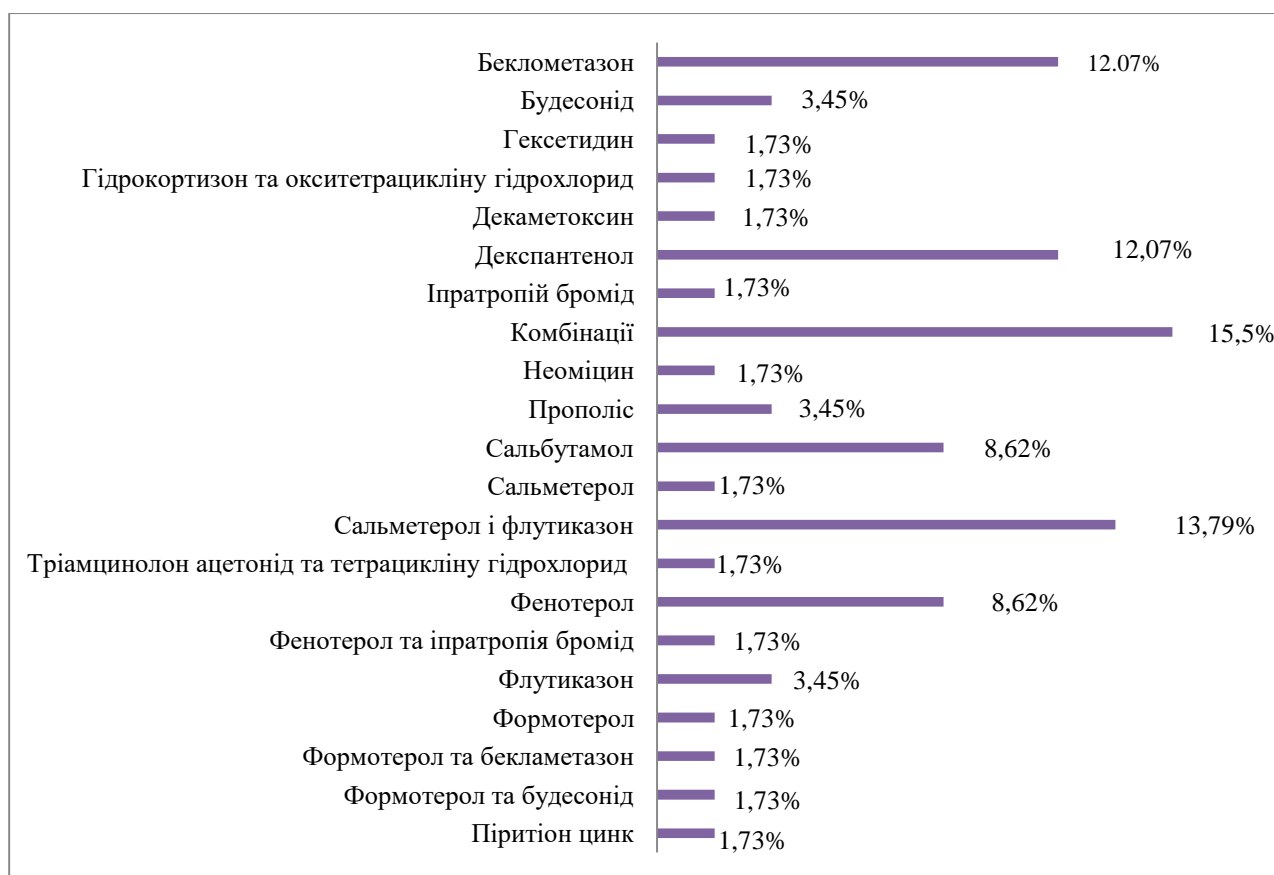


Рис. 2.1 – Розподіл діючих речовин, що містяться в препаратах під тиском для медичної практики

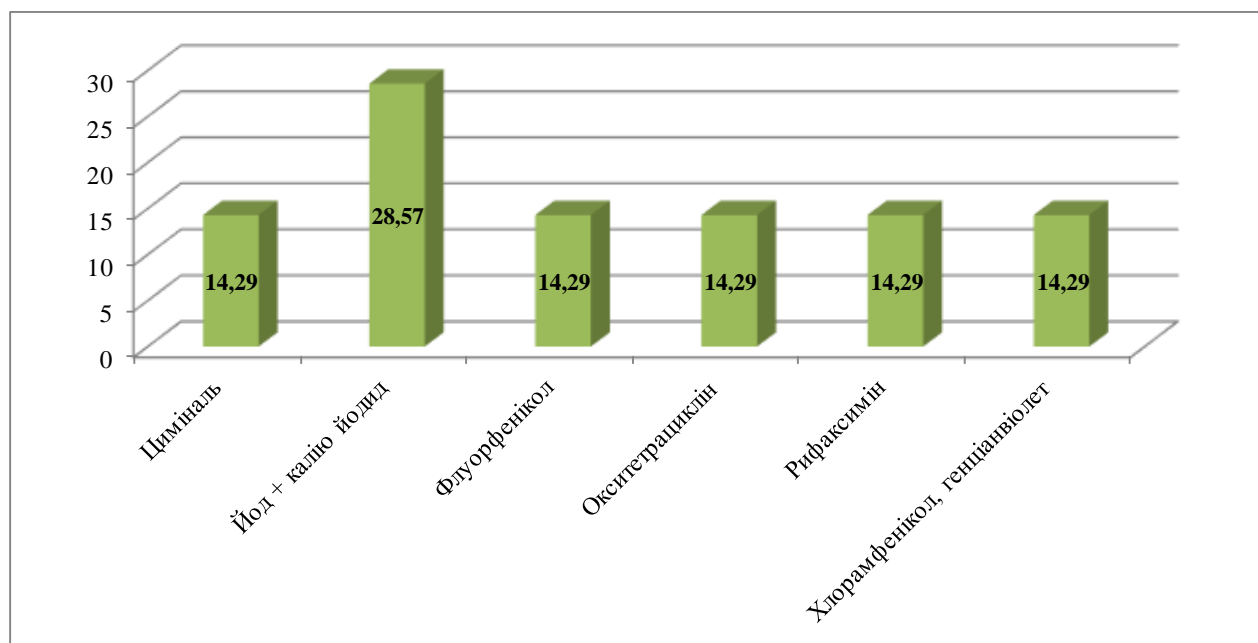


Рис. 2.2 – Розподіл діючих речовин, що містяться у ветеринарних препаратах під тиском

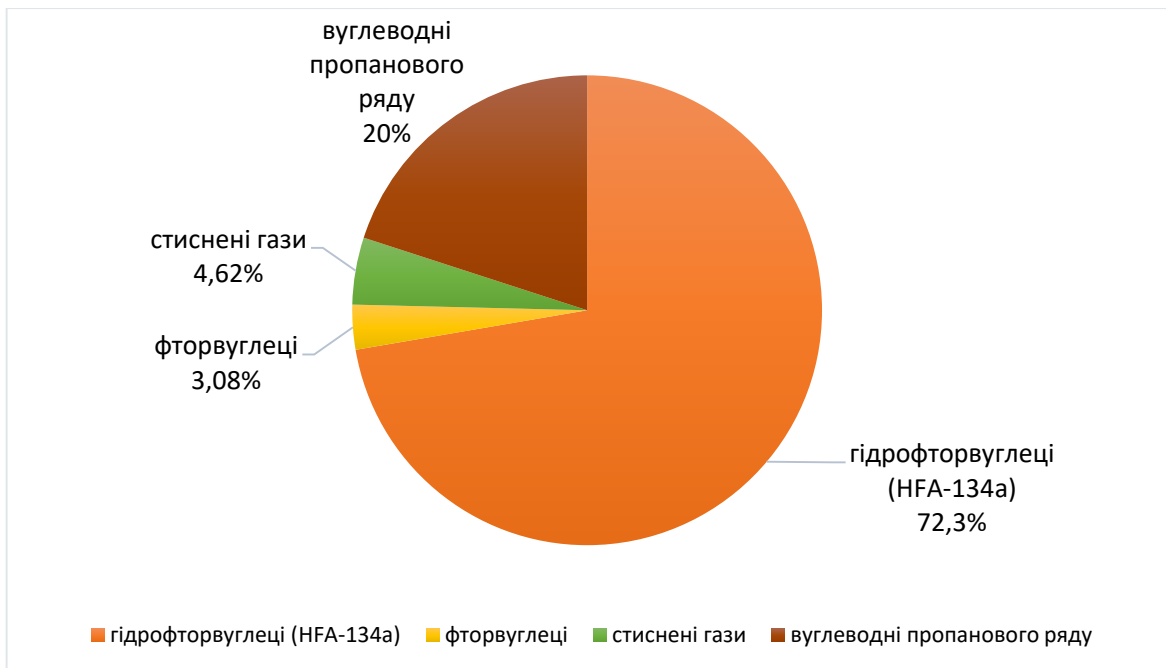


Рис. 2.3 – Розподіл лікарських засобів під тиском для медичної та ветеринарної практики за типом пропеленту

З'ясовано, що пропеленти HFA 227 (гептафторпропан; апафлуран) і HFA 134a (тетрафторетан; норфлуран) використовують у фармацевтичній промисловості як пропеленти для медичних аерозолів, зокрема для лікування астми. За даними IPAC (International Pharmaceutical Aerosol Consortium – Міжнародного фармацевтичного аерозольного консорціуму), 2015 рік був останнім роком використання фреонів у рецептурах аерозолів, а ХФВ були замінені на ГФВ (95 % HFC-134a, 5 % HFC-227ea) у нових рецептурах засобів під тиском. Завдяки переходу від ХФВ до ГФВ зменшилась їхня дія на озоновий шар та знизився на 90 % вплив пропелентів на клімат [144].

Дослідження загальної кількості вибірки за сферою застосування лікарського засобу свідчить, що ЛЗ під тиском випускають у лікарських формах: аерозолів для інгаляцій (протиастматичні засоби) (53,85 %), аерозолів для застосування у ротовій порожнині (15,38 %), аерозолів для місцевого застосування (12,3 %), пін на шкірних (препарати для лікування ран та виразок) (10,8 %), аерозолів для внутрішньоматкового застосування (4,62 %) та протимікробних і антисептичних засобів, що застосовують у гінекології (1,54%).

Під час сегментації ринку досліджуваних препаратів за ознакою країни-виробника визначено, що із 58 зареєстрованих препаратів, що належать до вибірки ЛЗ для медичної практики, лише 21 найменування виробляють в Україні. Інші 37 препаратів на фармацевтичному ринку України представлені іноземними компаніями (рис. 2.4) [139].

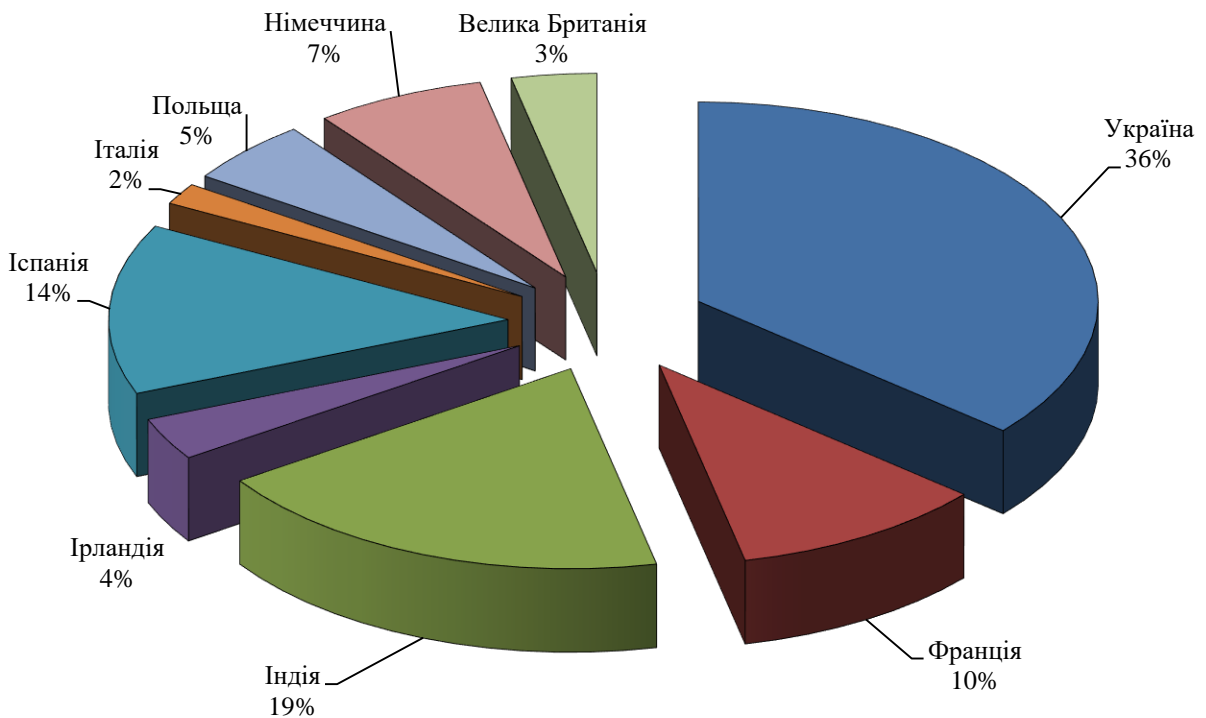


Рис. 2.4 – Розподіл лікарських засобів під тиском для медичного призначення закордонного та вітчизняного виробництва за країнами-виробниками

Виконаний аналіз свідчить, що основну частку групи препаратів, близько 91%, виробляють у 6 країнах: Україна (36 %), Індія (19 %), Іспанія (14 %), Франція (10 %), Німеччина (7 %), Польща (5 %). Інші 9 % ЛЗ, що увійшли до досліджуваної вибірки, випускають підприємства 3-х країн – Ірландії, Великої Британії, Італії. Серед закордонних компаній незмінно найбільшу кількість лікарських засобів під тиском репрезентують компанії «Гленмарк Фармасьютикалз Лтд» (Індія) – 7 препаратів та «ГлаксоВеллком Продакшн» (Франція) – 5 препаратів [139].

Український сегмент виробництва досліджуваних препаратів забезпечують 4 компанії-виробники (рис. 2.5).

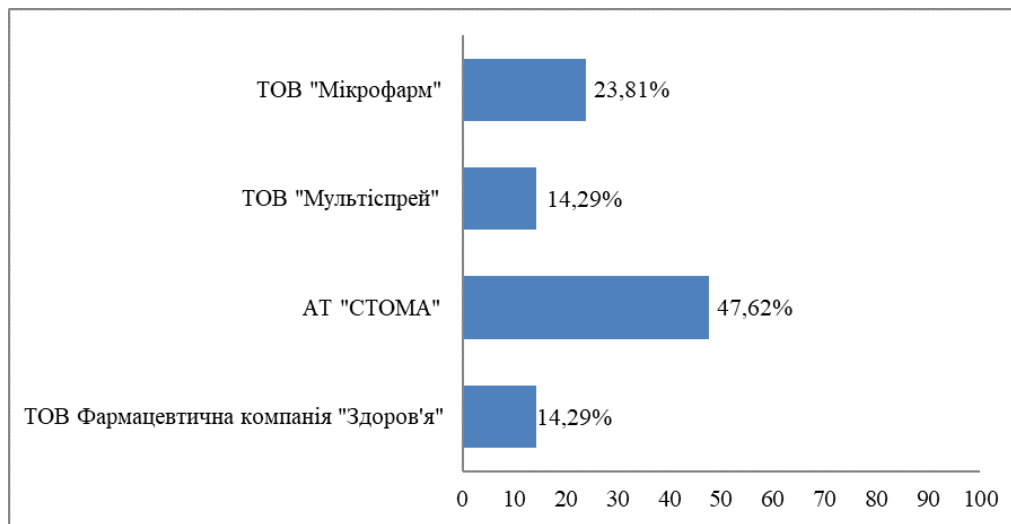


Рис. 2.5 – Розподіл лікарських засобів під тиском за виробниками на українському ринку

За результатами аналізу українських виробників ЛЗ під тиском з'ясовано, що АТ «Стома» виготовляє найбільшу номенклатуру (10 найменувань), що становить понад 50 % від виготовлення продукції серед інших фірм України. Наразі ТОВ «Мікрофарм» виготовляє 23,81 % (5 найменувань), ТОВ «Мультиспрей» та ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»» виготовляють лише по 14,29 % (по 3 найменування) продукції [139].

Проведені дослідження за ознакою країни-виробника серед зареєстрованих ветеринарних препаратів демонструють, що із 7 зареєстрованих препаратів вибірки ЛЗ лише 3 найменування виробляють вітчизняні виробники, частка яких складає 42,86 %. Іноземні виробники ветеринарних препаратів постачають на ринок України по 1 аерозолію з Італії, Німеччини, Іспанії, Угорщини (по 14,28 %). Різноманіття виробників лікарських засобів під тиском серед ветеринарних препаратів, зареєстрованих в Україні, наведено в таблиці 2.3 [139].

Таблиця 2.3 – Розподіл закордонних і вітчизняних компаній-виробників ветеринарних препаратів під тиском, представлених на українському фармацевтичному ринку

№	Найменування препарату	Виробник	Країна	Відсотковий вміст, %
1.	Йодозол	ТОВ «ДЕВІЕ»	Україна	42,86 %
2.	Флокси-спрей	ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»	Україна	
3.	Цидісепт-гель	ТОВ «Зооветеринарний центр»	Україна	
4.	Йодофоам ендофоам	Пернікс Фарма Лтд	Угорщина	14,28 %
5.	Тераміцин аерозоль, спрей	АйДжіЕс Аерозолс ГмбХ	Німеччина	14,28 %
6.	Фатроксимін	Фатро С.п.А.	Італія	14,28 %
7.	Чемі-спрей	Індустріал Ветерінарія, С.А.;	Іспанія	14,28 %

Отримані дані свідчать, що вітчизняний ринок ЛЗ під тиском демонструє зростання в кількості найменувань і медичних показань застосування як ЛЗ, так і ветеринарних препаратів. Важливим чинником зростання ринку залишається наявність сучасних виробничих потужностей та розроблення сучасних технологій виробництва дозованих аерозолів. Основні виробничі потужності промислового випуску ЛЗ під тиском для медичної практики зосереджено у м. Харкові. Перше виробництво аерозолів засновано на заводах АТ «Стома» і ФФ «Здоров'я». Завдяки впровадженню сучасних технологій та обладнання компанія «Мікрофарм» (м. Харків) стала однією з небагатьох, хто пропонує українському споживачеві високоякісні ЛЗ у сегменті протиастматичних аерозолів. Для забезпечення ринку ефективними засобами для зовнішнього застосування впроваджено виробництво ЛЗ під тиском на ТОВ «БІОТЕСТЛАБ» (м. Київ), що є лідером з виробництва ветеринарних препаратів. Також визначено низку підприємств, що постачають продукцію на ринок за рахунок контрактного виробництва: ТОВ «Мультіспрей» (м. Харків), ТОВ «Зооветеринарний центр» (Харківська обл.), ТОВ «ДЕВІЕ» (Вінницька обл.). Отже, наявність виробничих потужностей є підґрунтям для розроблення та

впровадження на ринок нових ЛЗ. Аерозолі, використовувані в медичній практиці і для лікування тварин, потребують постійного моніторингу основних тенденцій розвитку ринку у фармацевтичній та ветеринарній практиці.

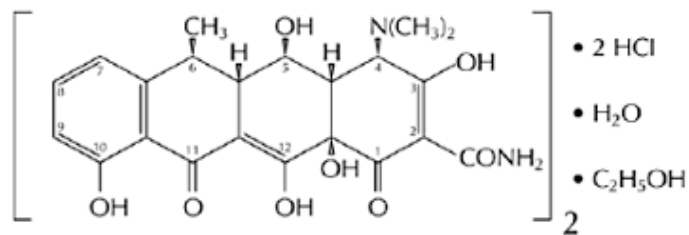
Отримані дані свідчать, що попит на засоби під тиском продовжуватиме зростати, а розширення асортименту сегменту ЛЗ групи D03 «Засоби для лікування ран та виразкових уражень» є перспективним напрямком формування за рахунок створення комбінованих препаратів вітчизняного виробництва.

2.3 Об'єкти дослідження

2.3.1 Характеристика активних фармацевтичних інгредієнтів

ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТ (ДФУ 2.0, Т. 2, С. 214-216)

Doxycycline Hyclate



$(C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl)_2 \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$ М.м. 512.9

[CAS 2430-16-5]

Опис: Кристалічний порошок жовтого кольору. Гігроскопічний.

Розчинність: Легко розчинний у воді *P*, малорозчинний в етанолі (96 %) *P*.

Розчиняється в розчинах гідроксидів і карбонатів лужних металів. Основні фармакопейні, фізико-хімічні та фармакологічні характеристики доксицикліну хіклату, що були враховані під час фармацевтичної розробки піни на шкірній, наведено в таблиці 2.4.

Доксициклін хіклат (DOXH) є напівсинтетичним аналогом окситетрацикліну широкого спектра дії.

DOXH є перспективним для лікування ран за рахунок опосередкованих його механізмів дії, а саме, інгібує матриксні металопротеїнази (ММП), регулює

Таблиця 2.4 – Характеристика доксицикліну хіклату як активного фармацевтичного інгредієнта

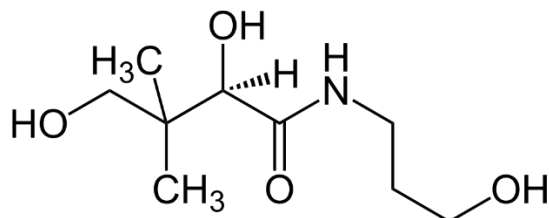
1) Опис активної речовини.	
2) Міжнародна непатентована назва (INN)	Доксицикліну хіклат <i>Doxycycline hyclate</i>
3) International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) назва	Гідрохлорид геміетанолат гемігідрат (4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)-4-(диметиламіно)-3,5,10,12,12a-пентагідрокси-6-метил-1,11-діоксо-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-октагідротетрацен-2-карбоксамід.
4) CAS номер	CAS 2430-16-5
5) Класифікація:	
терапевтична	антибіотик
фармакологічна	J01A – тетрацикліни; J01AA02 - доксициклін
6) Синоніми і скорочення	2-Naphthacenecarboxamide, 4-(dimethylamino)-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydro-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-, (4S-(4alpha,4aalpha,5alpha,5aalpha,6alpha,12aalpha))- alpha 6 Deoxyoxytetracycline
7) Молекулярна формула	$C_{22}H_{25}ClN_2O_8, \frac{1}{2}C_2H_6O, \frac{1}{2}H_2O$
8) Опис фізичних властивостей:	
зовнішній вигляд	Порошок жовтого кольору
температура плавлення	206 - 209°C
значення рН	2,0 – 3,0
розчинність у воді	Легко розчинна
розчинність в органічних розчинниках	Помірно розчинна у 96% етанолі
коефіцієнт співвідношення октанол: вода (Pow)	0,63
питомий показник поглинання	Від 300 до 335
кут обертання	Від -120 до -105

активність фібробластів та відкладення колагену в рановому ложі, що призводить до загоєння зі зменшенням утворення рубців, зменшує залучення запальних клітин, таких як нейтрофіли та макрофаги, до місця рани і створює сприятливіше середовище для загоєння ран, має антиоксидантні властивості та

поглинає активні форми кисню, який сприяє запаленню та погіршує загоєння ран, пригнічує штами і володіє антибактеріальними властивостями [10, 24].

ДЕКСПАНТЕНОЛ (Eur. Ph.10, С. 2375-2376)

Dexpanthenolum



$C_9H_{19}NO_4$

М.м. 205.3

[CAS 81-13-0]

Безбарвна або злегка жовтувата, в'язка гігроскопічна рідина, або білий чи майже білий кристалічний порошок, дуже розчинний у воді, легко розчинний в етанолі (96 відсотків).

Декспантенол (Dexpanthenol, DP) є стабільною спиртовою формою пантотенової кислоти.

Завдяки здатності проникнення та високій локальній концентрації DP використовується в багатьох місцевих формах, як мазі, лосьйони, спреї для лікування дерматологічних захворювань, щоб полегшити свербіж або сприяти загоєнню. Місцеве застосування DP забезпечує посилення проліферації фібробластів і прискорену повторну епітелізацію при загоєнні ран [11, 145]. Основні фармакопейні, фізико-хімічні та фармакологічні характеристики декспантенолу, що були враховані під час фармацевтичної розробки піни на шкірній, наведено в табл. 2.5.

Таблиця 2.5 – Характеристика декспантенолу як активного фармацевтичного інгредієнта

1) Опис активної діючої речовини.	
2) Міжнародна непатентована назва (INN)	Декспантенол / Dexpanthenol.
3) International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) назва	(2R)-2,4-dihydroxy-N-(3-hydroxypropyl)-3,3-dimethylbutanamide.

Продовження таблиці 2.5

4) Chemical Abstract Service (CAS) назва	81-13-0.
5) Класифікація:	
терапевтична	D03 Засоби для лікування ран та виразкових уражень. D03AX03 – декспантенол
фармакологічна	спиртовий аналог D-пантотенової кислоти; попередник коензиму А
6) Синоніми і скорочення	D-panthenol; D-(+)-panthenol; pantothenol; pantothenyl alcohol; provitamin B5; Dexpanthenolum. Скорочення: DP.
7) Молекулярна формула	$C_9H_{19}NO_4$.
8) Відносна молекулярна маса	205.3 г/моль.
9) Опис фізичних властивостей:	
зовнішній вигляд	Безбарвна або злегка жовтувата, в'язка гігроскопічна рідина, або білий чи майже білий кристалічний порошок; декспантенол є D-формою пантенолу, спиртовим аналогом D-пантотенової кислоти (провітаміну B5).
температура плавлення	близько 64–69 °C або 66–69 °C;
значення рН	не більше 10,5 для розчину S (2,500 г у воді, вільній від CO ₂ , доведено до 50,0 мл).
розчинність у воді	дуже розчинний.
розчинність в органічних розчинниках	легко розчинний в етанолі (96 %).
коефіцієнт співвідношення октанол: вода (Pow)	приблизно –1,0;
кут обертання	+29,0 до +32,0 для розчину S у перерахунку на безводну речовину.

2.3.2 Характеристика допоміжних речовин

ГІДРОФОБНА ФАЗА

ЦЕТОСТЕАРИЛОВИЙ СПИРТ (*Alcohol cetylicus et stearylicus; cetearyl alcohol; cetyl stearyl alcohol*).

Опис: Цетостеариловий спирт являє собою білі або кремового кольору жирні маси, пластівці, гранули або пелети. Має слабкий характерний

солодкуватий запах. При нагріванні плавиться з утворенням прозорої безбарвної або блідо-жовтої рідини без завислих часток. Функціональна група: емульгувальний агент; агент, що підвищує в'язкість. Фізико-хімічні властивості: Температура плавлення: 49-56 °С. Насипна густина: приблизно 0,8 г/см³ при 20 °С. Розчинність: розчинний в етанолі (95 %), ефірі та оліях; практично нерозчинний у воді. Застосування у фармацевтичних препаратах або технології: Цетостеариловий спирт використовують у топічних фармацевтичних формах для підвищення в'язкості та як емульгатор як у емульсіях вода-в-олії, так і в емульсіях олія-у-воді. Він стабілізує емульсію і також діє як співемульгатор, зменшуючи загальну кількість ПАР, необхідну для утворення стабільної емульсії [146].

СТЕАРИНОВА КИСЛОТА (*Stearic Acid, acidum stearicum; octadecanoic acid; 1-heptadecanecarboxylic acid; stearine acid*).

Стеаринова кислота являє собою білі або майже білі кристалічні пластинки, порошок або гранули зі слабким характерним запахом. Зовнішній вигляд розплаву: прозора або злегка опалесцентна рідина. Функціональна категорія: Емульгувальний агент; агент, що підвищує в'язкість; стабілізатор емульсій; консистентний агент; змащувальна речовина. Застосування у фармацевтичних препаратах і технології: Стеаринову кислоту широко застосовують у топічних лікарських формах, зокрема в кремах, мазях, емульсіях і пінних системах, для підвищення в'язкості, формування структури дисперсної системи та покращення стабільності емульсії. У поєднанні з лужними компонентами або неіоногенними емульгаторами вона може брати участь у формуванні стабільної емульсійної основи. Температура плавлення: близько 69–70 °С. Розчинність: практично нерозчинна у воді; розчинна в етанолі при нагріванні, ефірі, хлороформі та в оліях [146].

ГІДРОФІЛЬНА ФАЗА

ПРОПІЛЕНГЛІКОЛЬ (*Propylenglycolum, E1520; propane-1,2-diol*)

Пропіленгліколь являє собою прозору, безбарвну, в'язку, практично без запаху рідину із солодкуватим, злегка пекучим смаком, подібним до смаку гліцерину. Розчинність: змішується з ацетоном, хлороформом, етанолом (95 %),

метанолом, гліцерином і водою; розчиняється в ефірі у співвідношенні 1:6; не змішується з легкими мінеральними та жирними оліями, хоча здатний розчиняти деякі ефірні олії. Застосування у фармацевтичних препаратах і технології: Пропіленгліколь широко застосовують у парентеральних лікарських формах як розчинник, екстрагент, зволожувач і консервант. Пропіленгліколь є полярним співрозчинником, який широко застосовується у дермальних лікарських формах завдяки розчинювальним, зволожувальним і пенетраційним властивостям. Його здатність впливати на проникність шкіри пов'язують із взаємодією з ліпідними структурами рогового шару та кератином, що може сприяти транспорту активних речовин через шкірний бар'єр. Водночас пропіленгліколь не слід розглядати як повністю індиферентний компонент, оскільки у чутливих осіб він може спричинити подразнювальні або алергічні реакції; тому його концентрація у складі наскірної лікарської форми має бути технологічно обґрунтованою [146, 147, 148, 149, 150].

ЕТАНОЛ 95% (*Ethanolum (95 per centum)*) Являє собою прозору, безбарвну, рухливу та летку рідину зі слабким характерним запахом і пекучим смаком. Функціональна категорія: Антимікробний консервант; пенетрант; розчинник. Розчинність: змішується з хлороформом, ефіром, гліцерином і водою; при змішуванні з водою спостерігаються підвищення температури та зменшення об'єму суміші. Застосування у фармацевтичних препаратах і технології: У топічних і трансдермальних системах етанол застосовують як пенетрант, а також як співповерхнево-активну речовину при створенні систем доставки діючих речовин через шкіру [146].

ВОДА ОЧИЩЕНА (*Aqua purificata*)

Вода очищена являє собою прозору, безбарвну рідину без запаху і смаку. Співрозчинник, що формує водну фазу матричного розчину.

ТВІН (ПОЛІСОРБАТ) 80 (*Polysorbatum 80, polyoxyethylene 20 sorbitan monooleate; sorbimacrogol oleate 300; Tween 80*)

Полісорбат-80 являє собою безбарвну, оранжево-жовту або коричнювато-жовту маслянисту в'язку рідину зі слабким характерним запахом і гіркуватим

смаком. Функціональна категорія: Диспергувальний агент; пом'якшувальна речовина; емульгувальний агент; неіоногенна поверхнево-активна речовина; пластифікатор; солюбілізатор; суспендуєчий агент. Розчинність: диспергується у воді; диспергується в етанолі. Застосування у фармацевтичних препаратах і технології: Полісорбат 80 широко застосовують у фармацевтичних препаратах як неіоногенну поверхнево-активну речовину, емульгатор, солюбілізатор і диспергувальний агент. У топічних лікарських формах полісорбат 80 сприяє утриманню води у складі препарату та стабілізації дисперсної системи [146].

МЕТИЛПАРАГІДРОКСИБЕНЗОАТ (*Methylis parahydroxybenzoas, Aseptoform M; CoSept M; E218; 4-hydroxybenzoic acid methyl ester; metagin*)

Метилпарабен являє собою безбарвні кристали або білий кристалічний порошок. Речовина є без запаху або майже без запаху, має слабкий пекучий смак. Синоніми: Розчинність: розчинний в етанолі; в етанолі (95 %) – 1:3; в етанолі (50 %) – 1:6; в ефірі – 1:10; у гліцерині – 1:60; у пропіленгліколі – 1:5; у воді – 1:400 при 25 °С, 1:50 при 50 °С і 1:30 при 80 °С; у мінеральній олії практично нерозчинний. Застосування у фармацевтичних препаратах і технології. Метилпарабен широко застосовують як антимікробний консервант. Парабени проявляють активність у широкому інтервалі рН, мають широкий спектр антимікробної дії та є особливо ефективними щодо дріжджів і пліснявих грибів. Оскільки зі збільшенням довжини алкільного радикала антимікробна активність зростає, а водна розчинність зменшується, у практиці часто застосовують суміші парабенів. Ефективність консервування може також посилюватися при додаванні пропіленгліколю в концентрації 2-5 %. Метилпарабен у концентрації 0,18 % у поєднанні з пропілпарабеном у концентрації 0,02 % використовували для консервування різних парентеральних лікарських форм [146].

ПРОПІЛПАРАГІДРОКСИБЕНЗОАТ (*Aseptoform P; CoSept P; E216; 4-hydroxybenzoic acid propyl ester; Nipagin P; Nipasol M; propagin; Propyl Aseptoform*).

Пропілпарабен являє собою білий кристалічний порошок без запаху і смаку. Розчинність: в ацетоні та ефірі – вільно розчинний; в етанолі (95 %) –

1:1,1; в етанолі (50 %) – 1:5,6; у гліцерині – 1:250; у пропіленгліколі – 1:3,9; у пропіленгліколі (50 %) – 1:110; у воді – 1:4350 при 15 °С, 1:2500 при 20 °С і 1:225 при 80 °С; у мінеральній олії – 1:3330. Застосування у фармацевтичних препаратах і технології: пропілпарабен часто застосовують разом з метилпарабеном в топічних і парентеральних лікарських формах у співвідношенні «золотого стандарту» 0.02% : 0,18 % (9:1) [146].

2.4 Методи дослідження

У роботі для оцінки якості розроблених модельних зразків та контролю якості готового ЛЗ було використано фізико-хімічні, структурно-механічні, фармако-технологічні та біологічні методи дослідження відповідно до вимог ДФУ 2.0, зокрема розділу «Лікарські засоби, що знаходяться під тиском» (Т.1, С. 1096) та «Піни лікувальні» (Т.1, С. 1112), USP (607) «Pharmaceutical Foams – Product Quality Tests» з урахуванням специфіки пін як лікарських форм.

Визначення органолептичних властивостей і контроль зовнішнього вигляду ЛЗ проводили візуальними та органолептичними методами у відповідності до методик ДФУ 2.0 [153]. Зовнішній вигляд препарату визначали візуально при денному освітленні: Піна від білого до світло-жовтого кольору.

Визначення рН проводили за методикою згідно методу 2.2.3 ДФУ 2.0, (Т. 1, С. 29) [153].

Вимірювання тиску всередині контейнера (ДФУ 2.0, Т. 1, С. 1097)[153]. Контейнери звільняли від захисних ковпачків і занурювали у термостатовану водяну баню для встановлення сталого внутрішнього тиску за температури 25 °С. Після цього контейнери виймали з бані, струшували, знімали актуатор і видаляли залишки води зі штока клапана за наявності. Кожен контейнер встановлювали у вертикальному положенні та визначали тиск за допомогою каліброваного манометра, встановленого на шток клапана. Манометр щільно фіксували на штоку та активували клапан у повністю відкритому положенні. Показники тиску зчитували безпосередньо зі шкали манометра. Манометр має

бути відкалібрований у діапазоні, що відповідає очікуваному тиску, та оснащений адаптером, сумісним із розмірами штока конкретного клапана. Тиск має бути 0,4 МПа.

Перевірка контейнера на герметичність (ДФУ 2.0, Т. 1, метод 2, С. 1097) [153]. Відбирали дванадцять контейнерів із препаратом і записували дату та час проведення випробування з точністю до $\pm 0,5$ год. Кожний контейнер зважували із точністю $\pm 1,0$ мг і записували масу (W_1 , в мг). Витримували контейнери в вертикальному положенні за температури (25 ± 2) °С не менше 3 діб і знову зважували кожний контейнер (W_2 , в мг), записували дату та час із точністю до $\pm 0,5$ год. Визначали час проведення випробування (T , в год) та розраховували швидкість витоку (мг/рік) для кожного контейнера за формулою 2.1:

$$X = \frac{365 \cdot 24 (W_1 - W_2)}{T}, \quad (2.1)$$

Препарат витримував випробування, якщо середній витік з 12 контейнерів не перевищував 3,5 % за рік і витік з жодного контейнера не перевищував 5 % за рік. Якщо витік із одного контейнера був більше 5 % за рік, але з жодного контейнера не перевищував 7 % за рік, випробування повторювали для додаткових 24 контейнерів.

Визначення виходу вмісту контейнера (ДФУ 2.0, Т. 1, С. 1098) [153]. Не менше ніж чотири контейнери витримували за температури 25 °С до врівноваження внутрішнього тиску та зважували кожен окремо з точністю до 0,01 г. Видаляли вміст кожного контейнера шляхом періодичного натискання на клапан протягом 5 секунд з інтервалом між кожним натисканням, щоб запобігти значному охолодженню контейнера, до припинення виходу лікарського засобу. Зважували кожний контейнер знову. Розраховували масу вмісту від номінальної маси, що зазначена на етикетці.

Відносна густина піни. Відносну густина піни (RFD, *Relative Foam Density*) визначали згідно з ДФУ 2.0 (Т. 1, С. 1112), загальна стаття «Піни лікувальні». Контейнери витримували за температури близько 25 °С протягом не менше 24 год. Стежачи за тим, щоб не нагріти контейнер, устанавлювали на насадку натискного типу жорстку трубку завдовжки від 70 мм до 100 мм і

внутрішнім діаметром близько 1 мм, струшували контейнер для одержання однорідного вмісту, випускали і відкидали від 5 мл до 10 мл піни. Зважували плоскодонну чашку місткістю близько 60 мл і заввишки близько 35 мм. Поміщали кінець жорсткої трубки, установленної на насадці натискного типу, в куток чашки, натискували насадку і рівномірно заповнювали чашку за допомогою колових рухів. Після того як піна цілком розширилася, згладжували її рівень шляхом видалення зайвої піни придатним плоским предметом. Зважували і визначали масу такого самого об'єму води P , наповнивши ту саму чашку водою P . Відносну густину піни обчислювали за формулою 2.2:

$$RFD = \frac{m_{\text{піни}}}{m_{\text{води}}}, \quad (2.2)$$

де $m_{\text{піни}}$ – маса випробовуваного зразка піни, у грамах;

$m_{\text{води}}$ – маса того самого об'єму води P , грамах.

Проводили три паралельні визначення.

Час розширення піни (DE, *Duration of Expansion*) визначали згідно з ДФУ 2.0 (Т. 1, С. 1113), загальна стаття «Піни лікувальні». Контейнер витримували за температури близько 25 °С протягом не менше 24 год. Контейнер струшували для одержання однорідного вмісту так, щоб не нагріти його, і відкидали перші від 5 мл до 10 мл піни. Сполучали насадку і носик бюретки. Натискали на насадку і за один раз випускали близько 30 мл піни. Закривали кран і одночасно вмикали хронометр. Спостерігали за об'ємом піни у бюретці, кожні 10 с відмічали збільшення об'єму піни доти, поки не було досягнуто максимального об'єму. Проводили три паралельні визначення.

Руйнування піни (FLD, *Foam Liquid Drainage*) визначали відповідно до вимог USP (607) «Pharmaceutical Foams – Product Quality Tests» [154]. Контейнери з препаратом витримували за температури близько 25 °С протягом не менше 24 год. Перед проведенням випробування контейнер струшували для одержання однорідного вмісту, не допускаючи його нагрівання, перші 5–10 мл піни відкидали. У попередньо зважену суху градуйовану скляну ємність або мірний циліндр об'ємом 100 мл вносили піну і повторно зважували. Масу внесеного зразка фіксували з точністю до 0,01 г. Ємність залишали у

вертикальному положенні за температури 25 ± 2 °C без механічного впливу протягом 30 хв. Після закінчення 30 хв визначали кількість рідини, що відокремилася з піни. Для цього рідку фазу обережно відбирали або зливали у попередньо зважену ємність і визначали її кількість. Не допускається руйнування основного об'єму піни під час відбору рідкої фази. Руйнування піни оцінювали за показником відділення рідкої фази FLD_{30} , %, який обчислювали за формулою 2.3:

$$FLD (\%) = \frac{V_{\text{рідини 30 хв}}}{V_{\text{піни}}} \times 100, \quad (2.3)$$

де $V_{\text{рідини 30 хв}}$ – об'єм рідини через 30 хв, у мл;

$V_{\text{піни}}$ – об'єм піни, у мл;

Проводили три паралельні визначення.

Об'ємне розширення піни (FE, *Foam Expansion*) визначали відповідно до вимог USP (607) «Pharmaceutical Foams – Product Quality Tests» [154]. Контейнери з препаратом витримували за температури близько 25 °C протягом не менше 24 год. Перед проведенням випробування контейнер струшували для одержання однорідного вмісту, не допускаючи його нагрівання. Перші порції піни відкидали. У попередньо зважений сухий мірний циліндр місткістю 100 мл протягом 2 с випускали піну з аерозольного контейнера за допомогою дозатора. Після внесення піни циліндр зважували і визначали масу випущеного зразка. Об'єм піни фіксували безпосередньо за шкалою мірного циліндра після завершення її розширення. Об'єм піни фіксували безпосередньо за шкалою мірного циліндра після завершення її розширення, після чого розраховували FE за формулою 2.4:

$$FE (\%) = \frac{V_{\text{піни}} - V_{\text{розчину}}}{V_{\text{розчину}}} \times 100, \quad (2.4)$$

де $V_{\text{піни}}$ – об'єм піни через 30 хв після формування, у мл;

$V_{\text{розчину}}$ – об'єм піни після розширення, у мл;

Проводили три паралельні визначення.

Об'ємна стабільність піни. Об'ємну стабільність піни (FVS, *Foam Volume Stability*) визначали відповідно до вимог USP (607) «Pharmaceutical Foams –

Product Quality Tests» [154]. Контейнери з препаратом витримували за температури близько 25 °С протягом не менше 24 год. Перед проведенням випробування контейнер струшували для одержання однорідного вмісту, не допускаючи його нагрівання. Перші порції піни відкидали. У попередньо зважений сухий мірний циліндр місткістю 100 мл протягом 2 с випускали піну з аерозольного контейнера за допомогою дозатора. Об'ємну стабільність піни оцінювали за показником FVS, %, який обчислювали за формулою 2.5:

$$FVS (\%) = \frac{V_{\text{піни 30 хв}}}{V_{\text{піни}}} \times 100, \quad (2.5)$$

де $V_{\text{піни 30 хв}}$ – об'єм піни через 30 хв після формування, у мл;

$V_{\text{піни}}$ – об'єм піни після формування, у мл;

Проводили три паралельні визначення.

Перевірка клапана і насадки. Випробування проводили відповідно до загальної статті «Лікарські засоби, що знаходяться під тиском» (ДФУ 2.0, Т. 1, С. 1097).

Придатність розпилювачів перевіряли наступним чином: знімали захисний ковпачок з контейнера, з зусиллям натискали на кнопку (насадку) для розпилення, при цьому відбувалося розпилення засобу та повна фіксація кнопки на штоку аерозольного клапана. Після першого натискання перевіряли утримування насадки на штоку клапана – насадка має бути щільно зафіксована. Проводили не менше ніж по 3 послідовних розпилень засобу тривалістю 5-10 секунд для кожного з контейнерів, що контролюються. Струмінь препарату при виході з контейнера має бути рівномірним, направленим в одну область (відсутнє розприскування у різні сторони), не має бути протікання засобу з клапана у вигляді крапель.

Визначення динамічної в'язкості методом ротаційної віскозиметрії. Динамічну в'язкість зразків визначали згідно методу 2.2.10 ДФУ 2.0 (Т. 1, С. 58-59) на ротаційному віскозиметрі DVPlus-II (Brookfield Engineering Laboratories, США). Реологічні властивості досліджуваних систем оцінювали за різних швидкостей обертання циліндричного шпинделя LV-2С. Динамічну в'язкість визначали в діапазоні швидкостей зсуву від 5,0 с⁻¹ до 100,0 с⁻¹ за умови, що

показник крутного моменту приладу перебував у межах 10-90 % від повної шкали вимірювання. Перед початком дослідження зразки термостатували до температури 23-25 °С, кожне вимірювання виконували після стабілізації показника крутного моменту і проводили у трьох паралельних повторях для забезпечення точності та відтворюваності результатів.

Оцінка мікроструктури та дисперсності пінних систем методом оптичної мікроскопії. Мікроскопічний аналіз проводили згідно методу 2.9.37 ДФУ 2.0 (Т. 1, С. 481-482) з використанням світлового бінокулярного мікроскопа ZEISS Primo Star (Carl Zeiss, Німеччина) у режимі світлого поля при загальних збільшеннях $\times 40$ та $\times 100$ (об'єктиви $\times 4$ та $\times 10$ відповідно). Отримання, обробку та збереження мікрофотографій здійснювали з використанням програмного забезпечення ZEISS ZEN (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Німеччина). Вимірювання здійснювали в контрольованому температурному діапазоні 23-25°C, що підтримувався протягом усього експерименту.

Ідентифікацію доксицикліну хіклату проводили за одним із методів:

А. Метод абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області (ДФУ, 2.2.25). Вимірювали спектри випробуваного розчину та розчину порівняння на спектрофотометрі у діапазоні довжини хвиль від 225 нм до 400 нм, в кюветі з товщиною шару 1 см, використовуючи як компенсаційний розчин розчинник.

Б. Метод високоефективної рідинної хроматографії (ДФУ, 2.2.29). Ідентифікацію проводили шляхом порівняння часу утримування основного піку на хроматограмі випробуваного розчину з часом утримування основного піку на хроматограмі стандартного розчину доксицикліну хіклату, УФ-детектування проводили при 270 нм.

Ідентифікацію декспантенолу проводили одночасно з кількісним визначенням методом високоефективної рідинної хроматографії (ДФУ, 2.2.29).

Кількісне визначення вмісту доксицикліну хіклату визначали методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ області згідно з ДФУ, 2.2.25.

Кількісне визначення доксицикліну хіклату у складі піни нашкірної проводили методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області відповідно до вимог ДФУ, 2.2.25. У дослідженні використовували субстанцію доксицикліну хіклату виробництва Hebei Jiupeng Pharmaceutical Co., Ltd. (Китай), зразки піни нашкірної та розчин-плацебо. Як розчинник і компенсаційний розчин застосовували 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти, приготовлений із використанням води очищеної, отриманої на установці Milli-Q виробництва Millipore Corporation (Німеччина). Вимірювання проводили на спектрофотометрі OPTIZEN POP (Mecasys, Південна Корея) при довжині хвилі 270 нм у кюветах із товщиною шару 1 см.

Кількісний вміст декспантенолу у складі нашкірної піни визначали методом ВЕРХ відповідно до вимог ДФУ, 2.2.29 з урахуванням багатокомпонентного складу лікарської форми та необхідності селективного визначення декспантенолу в присутності доксицикліну хіклату, допоміжних речовин пінної основи та компонентів плацебо. agilent 1260 infinity ii deacx40077

Хроматографування проводили на рідинному хроматографі Agilent 1260 Infinity II (Німеччина) на колонці RP-18 з використанням рухомої фази буферний розчин – ацетонітрил (95:5) або буферний розчин – метанол (95:5), детектування проводили при довжині хвилі 210 нм з попередньою підготовкою випробуваного розчину препарату, звільненого від пропеленту.

Для підтвердження придатності методики було передбачено контроль специфічності шляхом аналізу холостого розчину, плацебо та розчину порівняння доксицикліну хіклату. Відсутність піків із часом утримання декспантенолу на хроматограмах свідчило про відсутність впливу допоміжних речовин пінної основи та доксицикліну хіклату на результати визначення. Придатність хроматографічної системи оцінювали за коефіцієнтом симетрії піку, ефективністю колонки та відносним стандартним відхиленням площ піків.

Дослідження кінетики вивільнення *in vitro* АФІ проводили за методом *In Vitro Release Testing* (IVRT), який є поширеним підходом для оцінки кінетики

вивільнення активних фармацевтичних інгредієнтів із лікарських форм для наскірного застосування.

Дослідження за методом IVRT проводили з використанням вертикальної дифузійної камери з діаметром отвору 35 мм, ефективною площею дифузії 9,62 см² та об'ємом рецепторної камери 20 мл. Як мембранний бар'єр використовували целюлозну мембрану Sartorius 11106 (Sartorius, Німеччина) діаметром 100 мм із розміром пор 0,45 мкм. Як рецепторне середовище використовували 0,05 М фосфатний буферний розчин рН 7,0 (ДФУ 2.0, 4012400, Т. 1, С. 756). Мембрани попередньо замочували в рецепторному середовищі протягом 24 годин. Випробування проводили за температури (32±0,5) °С. Середовище в камері-діалізаторі перемішували магнітною мішалкою зі швидкістю перемішування 600 об/хв. Проби діалізату об'ємом 2,0 мл відбирали піпеткою з камери-рецептора через 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 та 6 годин після внесення досліджуваного продукту, а відібраний об'єм замінювали вихідним середовищем-рецептором. Результати оцінювали відповідно до вимог Загального розділу USP (1724) [155].

Кількісне визначення доксицикліну хіклату у діалізаті проводили методом абсорбційної УФ-спектрофотометрії відповідно до ДФУ 2.2.25 «Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовому й видимому діапазоні» за методикою наведеною вище.

Декспантенол визначали методом ВЕРХ відповідно до ДФУ 2.2.29 «Рідинна хроматографія», що наведена вище.

Мікробіологічна чистота. Випробовування мікробіологічної чистоти проводили методом мембранної фільтрації згідно методу 2.6.12 ДФУ 2.0 (Т. 1, С. 251-256).

Відбір проб: 3 контейнери (балони) з препаратом.

Підготовка проб: Перед проведенням досліджень контейнери витримували за температури 25 °С до врівноваження внутрішнього тиску. Відбір та підготовку проби проводили в асептичних умовах ламінарного боксу класу А. Перед відбором контейнери (балони) добре струшували (не менше 10 разів) і

розпилювали препарат тримаючи контейнер (балон) під нахилом 45 градусів у стерильну ємкість, шляхом періодичного натискання для отримання не менше 10 г піни з кожного балону для взяття об'єднаної проби.

Матеріали та умови: Випробування проводили у асептичних умовах ламінарного боксу класу А. Конструкція фільтраційної установки має забезпечувати асептичні умови при внесенні, фільтрації лікарського засобу та видаленні мембранного фільтра для переносу його у живильне середовище. Стакани фільтраційної установки з кришками мають бути закриті та попередньо простерилізовані.

- фільтраційна установка, яка забезпечує створення вакууму.
- целюлозно-нітратні мембранні фільтри – 3 шт.

Промивна рідина:

- м'ясний/казеїновий пептон – 5 г
- полісорбат-80 – 10 г
- вода очищена – 1000 мл

pH після стерилізації – 7.2 ± 0.2 .

Живильні середовища:

Соево-казеїновий агар (СКА) по 15-20 мл у чашках Петрі діаметром 9 см, кожна партія готового середовища має відповідати за показниками стерильність та ростові властивості вимогам ДФУ 2.0;

Сабуро-декстрозний агар (СДА) по 15-20 мл у чашках Петрі діаметром 9 см, кожна партія готового середовища має відповідати за показниками стерильність та ростові властивості вимогам ДФУ 2.0;

Методика проведення випробування. 3 контейнери витримували за температури 25 °С до врівноваження внутрішнього тиску, струшували не менше 10 разів і відбирали по 10 г препарату з кожного балону, формуючи об'єднану пробу. Пробу відбирали у стерильну колбу місткістю 100 мл шляхом періодичного натискання на клапан протягом 5 секунд з інтервалом між кожним натисканням. У колбу додавали 30-50 мл фосфатного буферного розчину pH 7.2,

у який попередньо був внесений полісорбат-80 у концентрації 1 г/л, перемішували та доводили до мітки тим же розчинником.

Випробування методом мембранної фільтрації. Для фільтрації використовували мембранні фільтри діаметром 50 мм з номінальним розміром пор не більше 0.45 мкм. В кожен стакан установки поміщали стерильні фільтри. Кількість досліджуваного зразку для висіву на один мембранний фільтр становила 1 мл.

По 1 мл зразку переносили на мембранні фільтри в два стакани, давали можливість проникнути в пори фільтра самопливом, вмикали установку, вносили промивну рідину в кожен з трьох стаканів та відразу фільтрували, третій стакан слугував контролем. Загальний об'єм промивної рідини не менше трьох порцій по 100 мл на один мембранний фільтр. Після відмивання мембранні фільтри з досліджуваним зразком, дотримуючись правил асептики, стерильним пінцетом переносили на живильні середовища.

Для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) один мембранний фільтр поміщали на поверхню СКА. Для визначення загального числа дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) другий мембранний фільтр поміщали на поверхню СДА.

Інкубування:

СКА - інкубували за температури від 30 до 35 °С від 3 до 5 діб.

СДА - інкубували за температури від 20 до 25 °С від 5 до 7 діб.

В кінці періоду інкубації розраховували число КУО в грамі або мілілітрі зразку. Визначали загальну кількість бактерій та грибів шляхом підрахунку колоній мікроорганізмів, які виростили у чашках з СКА та СДА.

За загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) приймали число КУО, розраховане для СКА; якщо на цьому середовищі виявлені колонії грибів, їх враховували при визначенні ТУМС. За загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) приймали число КУО, розраховане для СДА; якщо на цьому середовищі виявлені колонії бактерій, їх враховували при визначенні ТАМС.

Допустимі межі: Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): не більше 10^3 КУО/мл. Загальне число дріжджів та плісневих грибів (ТУМС): не більше 10^2 КУО/мл.

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК).

МІК досліджуваного зразка піни нашкірної визначали методом послідовних серійних розведень у рідкому поживному середовищі. Як тест-культури використовували еталонні штами *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 14990) *Escherichia coli* (ATCC 25922), *P.aeruginosa* (ATCC 9027), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 10031). Для культивування мікроорганізмів застосовували стерильне рідке соєво-казеїнове поживне середовище.

Досліджуваний зразок піни нашкірної розводили стерильним рідким соєво-казеїновим середовищем із отриманням послідовного ряду розведень від 1:2 до 1:256. До кожної пробірки з відповідним розведенням зразка вносили по 0,1 мл суспензії тест-штаму з концентрацією 10^7 КУО/мл.

Для приготування суспензії тест-штамів культури попередньо висівали на СКА. Після інкубації при температурі 35-37 °С протягом 18-24 год із добовою культури готували мікробну суспензію у стерильному рідкому соєво-казеїновому середовищі. Щільність отриманої суспензії стандартизували за показником оптичної густини при довжині хвилі 550 нм із використанням нефелометра «Денситометр DEN-1 McFarland Densitometer» (BioSan, Латвія).

Пробірки з досліджуваними розведеннями та внесеними тест-культурами інкубували у термостаті при температурі 35-37 °С протягом п'яти діб із візуальним контролем росту мікроорганізмів. Результати оцінювали за станом поживного середовища: відсутність помутніння свідчила про пригнічення росту тест-штаму, тоді як поява помутніння вказувала на наявність мікробного росту. Рівень мутності поживного середовища визначали за показником оптичної густини при довжині хвилі 550 нм із використанням нефелометра «Денситометр DEN-1 McFarland».

За МІК приймали найнижчу концентрацію доксицикліну у досліджуваному розведенні, за якої не спостерігали видимого росту тест-штаму. У разі появи помутніння на другу або третю добу інкубації результат розцінювали як відстрочений ріст мікроорганізмів, що свідчило про недостатнє пригнічення тест-культури у відповідному розведенні.

Кількісні показники культивованих ММСК, лазерна скануюча конфокальна мікроскопія. Оцінку стану ММСК проводили з використанням флуоресцентного забарвлення та подальшого аналізу на конфокальному лазерному скануючому мікроскопі FluoViewTМFV1000 (Olympus, Японія) з використанням об'єктива x20. Усі конфокальні зображення отримували на 8 різних фокальних площинах із подальшим аналізом зображень за допомогою програмного забезпечення ImageJ ручним підрахунком ядер клітин.

Для візуалізації ядер ММСК використовували флуоресцентний барвник Hoechst 33342, який зв'язується з ДНК та забарвлює ядра клітин у синій колір. Після фіксації ММСК 4% розчином формаліну, клітини інкубували з барвником протягом 4-5 хвилин при кімнатній температурі у темряві. Оцінку кількості ядер клітин проводили з використанням флуоресцентного забарвлення ядер та аналізу на лазерному скануючому конфокальному мікроскопі. Флуоресцентні зображення отримували за допомогою конфокального лазерного скануючого мікроскопа при довжині хвилі збудження 350–405 нм та реєстрації емісії у діапазоні 460–480 нм[216, 217].

Об'єкт дослідження. Об'єктом дослідження були культивовані ММСК шкіри людини (n=2, P5-6). Клітини утримували у стандартних умовах за температури 37°C у зволоженій атмосфері з 5% CO₂. Зображення отримували при збільшенні ×20 після фарбування ядер барвником Hoechst 33342.

Приготування культурального середовища. Стандартним культивувальним середовищем було середовище DMEM-F12 (Carpicorn-scientific, Німеччина), доповнене bFGF (PanBiotech, Німеччина), фетальною бичачою сироваткою (Sigma-Aldrich, США), та 1% пеніциліну-стрептоміцину (PanBiotech, Німеччина). Контролювали рН (7,2–7,4) та відсутність контамінації.

Dulbecco's phosphate-buffered saline (Biowest, Франція), Hanks' balanced salt solution (HBSS) без кальцію та магнію (Biowest, Франція) використовували для промивання і допоміжних маніпуляцій.

Культивування клітин. Клітини культивували у флаконах (175 см²) до досягнення 70–80% конфлюентності. Культуральне середовище видаляли, клітини промивали PBS. Додавали 0,05% розчин трипсину-ЕДТА та інкубували протягом 2–5 хв при 37°C. Після відшарування клітин реакцію зупиняли додаванням середовища з FBS. Клітинну суспензію центрифугували при 300g протягом 10 хв. Осад ресуспендували у свіжому культуральному середовищі. Життєздатність клітин визначали методом виключення трипанового синього.

Підготовка культуральної системи. У кожну лунку 24-лункового планшета розміщували стерильне покривне скло діаметром 12 мм та додавали незначну кількість середовища культивування.

Культивування ММСК перед додаванням досліджуваних розчинів. Суспензію клітин поміщали у 24-лункові планшети зі щільністю 4×10^3 клітин/см²; об'ємом культурального середовища – 0,5 мл/лунку. Протягом доби ММСК культивували для адгезії та стабілізації за стандартних умов.

Культивування ММСК після додавання досліджуваних розчинів. Після 24 год культивування до ММСК додавали досліджувані розчини: 12 модельних варіантів та культивували 48 год. Перед фіксацією, ММСК двічі промивали фосфатно-сольовим буфером PBS.

Забарвлення ядер ММСК. Після фіксації та промивання клітини забарвлювали барвником для візуалізації ядер. Після інкубації з барвником його надлишок видаляли шляхом промивання PBS.

Мікроскопія. Після забарвлення покривні скельця з клітинами покривали бальзамом (AquaMount, США) та переносили на предметні скельця; аналізували з використанням лазерного скануючого конфокального мікроскопу FluoViewTMFV1000 (Olympus, Японія).

Обробка результатів. Кількість клітин визначали шляхом підрахунку ядер, забарвлених у синій колір, у декількох (n=8) випадково обраних полях зору.

Висновки до розділу 2

1. Обґрунтовано методологію досліджень із розробки піни нашкірної з доксицикліну хіклатом та декспантенолом, яка базується на послідовному проведенні інформаційно-пошукових, фармакотехнологічних, фізико-хімічних, біофармацевтичних, мікробіологічних і фармакологічних досліджень.

2. За результатами маркетингового аналізу встановлено, що сегмент лікарських засобів під тиском на фармацевтичному ринку України є обмеженим: зареєстровано 65 найменувань, з яких 58 – для медичного застосування та 7 – для ветеринарної медицини; препарати групи D03 «Засоби для лікування ран та виразкових уражень» становлять 13,79 % асортименту .

3. Обґрунтовано вибір активних фармацевтичних інгредієнтів: доксицикліну хіклату як антибактеріального компонента з додатковими протизапальними та ММП-інгібувальними властивостями і декспантенолу як речовини репаративної дії.

4. Визначено склад допоміжних речовин для формування матричної системи піни нашкірної: цетостеариловий спирт, твін 80, стеаринова кислота, пропіленгліколь, етанол 95 %, вода очищена, метилпарабен, пропілпарабен, гідроксид натрію та суміш пропан-бутан-ізобутан як пропелент.

5. Сформовано комплекс взаємодоповнювальних методів дослідження, придатний для об'єктивної оцінки якості та функціональних властивостей розроблюваної піни нашкірної, зокрема органолептичних, фармакотехнологічних, фізико-хімічних, реологічних, біофармацевтичних, мікробіологічних, клітинних і статистичних методів.

РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ У ФОРМІ ПІНИ НАШКІРНОЇ З ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТОМ І ДЕКСПАНТЕНОЛОМ

3.1 Розробка цільового профілю якості піни нашкірної

Нашкірні піни мають низку переваг порівняно з традиційними системами доставки лікарських засобів, а саме: зручність застосування, естетичність, гігієнічність; наявність високої ефективності дії за порівняно малих витрат лікарських речовин [137]. Швидке об'ємне розширення пін забезпечує ефективне покриття великих поверхонь шкіри. Це особливо важливо для пацієнтів із сильно запаленою, набряклого, пошкодженою або чутливою шкірою, оскільки нанесення піни мінімізує контакт із шкірою, що сприяє кращому дотриманню режиму лікування [130]. Однак основним обмеженням використання пін є те, що вони термодинамічно нестабільні, унаслідок чого вони схильні до руйнування. Їх склад, як допоміжні речовини, так і активні фармацевтичні інгредієнти, можуть впливати на стабільність та якість пін [138].

Піни нашкірні отримують шляхом диспергування газоподібної речовини у твердому або рідкому дисперсійному середовищі. При розробленні складу рецептури важливо вибрати відповідні допоміжні речовини, які суттєво впливають на стабільність піни. Зазвичай вони містять поверхнево-активні речовини, розчинники, стабілізатори піни, консерванти, а також можуть включати підсилювачі проникнення [130]. Розчин, що знаходиться під тиском у балонах, за допомогою дозуючого клапану утворює піну в міру потреби.

Піни для місцевого застосування характеризуються доброю розподільною здатністю, зручністю нанесення, можливістю покриття нерівних або чутливих поверхонь без інтенсивного механічного втирання, що є особливо важливим при ушкодженій або болючій шкірі. Водночас піна нашкірна є складною лікарською формою, якість якої визначається не лише складом активних речовин, а й

властивостями основи, піноутворювальної системи, пропеленту, контейнерно-клапанної системи та технологічних параметрів виробництва [168].

Тому під час розроблення складу та технології нашкірної піни першочерговим етапом є обґрунтування складу основи, а також способу введення активних фармацевтичних інгредієнтів. У цьому випадку основа має виконувати декілька функцій одночасно: забезпечувати рівномірний розподіл доксицикліну хіклату і декспантенолу, бути сумісною з піноутворювальними компонентами та пропелентом, формувати стабільну піну після евакуації з балона, а також підтримувати фізико-хімічну стабільність препарату впродовж зберігання. Відповідно до принципів фармацевтичної розробки ICH Q8(R2), склад лікарського засобу та технологічний процес мають бути обґрунтовані з урахуванням цільового профілю якості, критичних показників якості, властивостей активної речовини та функціонального призначення допоміжних речовин [137].

Для розроблюваної нашкірної піни як антибактеріальний компонент було обрано доксицикліну хіклат. У хронічних ранах надмірна активність матриксних металопротеїназ, прозапальних цитокінів та інших медіаторів запалення сприяє деградації позаклітинного матриксу і порушує нормальну репарацію тканин. Для доксицикліну описано здатність інгібувати матриксні металопротеїнази, що дозволяє розглядати його не лише як антибактеріальний агент, а й як потенційний компонент, здатний впливати на мікросередовище рани [24].

Другим активним компонентом розроблюваної лікарської форми є декспантенол, включення якого до складу нашкірного засобу пов'язане з його репаративною дією. У дослідженнях показано, що місцеве застосування декспантенолу сприяє відновленню шкірного бар'єра, реепітелізації та загоєнню поверхневих ушкоджень шкіри. Таким чином, поєднання доксицикліну хіклату і декспантенолу у складі нашкірної піни є фармакологічно логічним: доксициклін забезпечує антибактеріальний та потенційно матрикс-модулювальний вплив, тоді як декспантенол підтримує репаративні процеси у тканинах [167].

Отже, для розроблюваної нашкірної піни з доксицикліну хіклатом і декспантенолом логічною послідовністю фармацевтичної розробки є спочатку вибір системи розчинників для доксицикліну хіклату, а вже потім – формування остаточного складу емульсійної піноутворювальної основи, вибір кількості піноутворювальних компонентів, пропеленту та параметрів технологічного процесу. Такий підхід дозволяє пов'язати фармакологічне обґрунтування вибору активних речовин із технологічними вимогами до лікарської форми та забезпечити науково обґрунтоване створення стабільної, однорідної і придатної до застосування нашкірної піни.

Зміна парадигми від постійного тестування кінцевого продукту для підтвердження його якості на «Проектування параметрів» та «Якість за проектуванням» дозволяє управляти виробничим процесом для досягнення цільових характеристик ЛЗ, гарантувати та забезпечувати його якість [199].

Запропоновано розроблення комбінованого лікарського засобу ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної, що містить доксицикліну хіклат і декспантенол та призначений для місцевого лікування ран, опіків, трофічних уражень шкіри та інших дерматологічних пошкоджень.

При обґрунтуванні складу та технології лікарського засобу було визначено цільові характеристики препарату, відповідно до яких фізико-хімічні властивості діючих і допоміжних речовин, а також фармако-технологічні властивості готового продукту мають забезпечувати належне вивільнення, стабільність і прогнозовану ефективність препарату, а також оптимальність технологічного процесу його виробництва.

Піна нашкірна повинна відповідати вимогам ДФУ/ЄФ до м'яких лікарських форм для дерматологічного застосування та аерозольних препаратів, зокрема за показниками дисперсності, стабільності піни, рН, мікробіологічної чистоти та рівномірності дозування. Лікарський засіб має забезпечувати комбіновану дію – антимікробну (за рахунок доксицикліну хіклату), протизапальну та репаративну (за рахунок декспантенолу), а також сприяти оптимальному зволоженню ранової поверхні. Реологічні та піноутворювальні

властивості повинні забезпечувати зручність нанесення, рівномірний розподіл і достатню тривалість контакту з ураженою ділянкою. Упаковка (аерозольний балон із клапанно-розпилювальним пристроєм) має відповідати вимогам до упаковки і забезпечувати мікробіологічну чистоту та стабільність препарату протягом усього терміну придатності.

Розроблення наскірної аерозольної піни з доксицикліну хіклатом і декспантенолом потребує системного підходу до забезпечення якості, оскільки лікарська форма поєднує рідку емульсійну основу, активні фармацевтичні інгредієнти різної хімічної природи, пропелент і контейнерно-клапанну систему. Якість такого препарату залежить не лише від відповідності готового продукту специфікації, а й від правильного вибору складу, властивостей вихідних матеріалів, параметрів технологічного процесу та стабільності пінної системи.

З цією метою під час розроблення складу та технології виробництва було застосовано підхід Quality by Design, який передбачає формування якості лікарського засобу вже на етапі фармацевтичної розробки. Такий підхід дає змогу встановити взаємозв'язок між цільовими характеристиками препарату, критичними показниками якості, властивостями матеріалів і параметрами технологічного процесу.

Розроблення складу піни наскірної здійснювали із застосуванням зразків активного фармацевтичного інгредієнта DOXH виробництва «Hebei Jiupeng pharmaceutical Co., Ltd», Китай та DP «Alfa Chemical», Китай. Під час розроблення складу лікарської форми застосовували допоміжні речовини цетостеариловий спирт, твін-80, метилпарабен, пропілпарабен, пропіленгліколь, етанол 95 %, гідроксид натрію, суміш газів пропан-бутан-ізобутан (30:60:10), вода очищена [169].

Цільовий профіль якості продукту (Quality Target Product Profile, QTPP) та узагальнення його якісних характеристик як ефективність, шлях доставки, лікарську форму, упаковку, зовнішній вигляд, терапевтичні показання тощо, розроблено на підставі підходів міжнародних настанов ICH [200, 201], огляду

літератури та попередніх власних досліджень з вибору концентрації діючих речовин [169], концентрації пропеленту, системи упаковки/укупорки.

Визначення критичних показників якості продукту (Critical Quality Attributes, CQAs) проводили шляхом аналізу ризиків для всіх показників якості за питаннями: чи впливає зміна цього показника на ефективність або силу дії продукту. У випадку лікарських пінних рецептур, співвідношення рідини/газ в балоні, тиск всередині контейнера, утворення і стабільність піни, тощо також можуть бути критичними параметрами якості.

Відомо, що розчини DOXH на водній основі не стабільні під час тривалого зберігання, включаючи зміни кольору, зсув рН, утворення домішок та продуктів розпаду [20]. Складність технологічного процесу формування піни, що містить комбінацію DOXH та DP, визначає, що практично всі його стадії є критичними, а отже, потребують постійного моніторингу, перевірки та підтвердження стабільності, що може бути забезпечено впровадженням сучасних інструментів управління якістю, таких як Quality by Design (QbD) та Quality Risk Management (QRM) [132]. Зміна парадигми від постійного тестування кінцевого продукту для підтвердження його якості на «Проектування параметрів» та «Якість за проектуванням» дозволяє управляти виробничим процесом для досягнення цільових характеристик ЛЗ, гарантувати та забезпечувати його якість [199].

На першому етапі дослідження нами розроблено QTRP піни нашкірної, який включає визначення шляху введення, лікарської форми, місця дії, зовнішнього вигляду системи доставки ліків, стабільність рідкої системи та системи піни, зовнішній вигляд піни, а також вміст діючих речовин та первинне пакування. Елементи QTRP наведено в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Цільовий профіль якості продукту (QTPP) піни нашкірної на основі DOXH та DP

Елемент QTPP	Цільове значення	Обґрунтування
1	2	3
Спектр застосування в медичній практиці	Застосовується для лікування ран, інфікованих збудниками, чутливими до лікарського засобу: інфіковані хірургічні рани (післяопераційні нагноєння, флегмони, абсцеси); травматичні інфіковані рани різної локалізації та генезу; трофічні виразки; пролежні; рани, при яких знижуються регенеративні процеси (діабетична стопа, променеве ураження, посттромботичні рани). Профілактика сепсису при поширених гнійних процесах. Попередження утворення келоїдних рубців.	Нашкірна піна сприяє ранозагоєнню та лікування інфікованих ран. Містить антибіотик та протизапальний засіб, ефективний щодо широкого спектра грампозитивних і грамнегативних бактерій та деяких інших мікроорганізмів. Місцеве застосування, не проявляє абсорбцію в системний кровотік.
Лікарська форма	Піна нашкірна	Рівномірний розподіл піни на шкірі, негайне вивільнення активного інгредієнта. Нанесення піни зводить до мінімуму потребу в торканні та терті шкіри, що особливо корисно для лікування інфікованих запалених ран.
Шлях введення препарату	Місцевий, дермальний, безпосереднє нанесення на рану	Дермальне введення ліків дає можливість уникнути системних побічних ефектів. Дермальний шлях є неінвазивним, що сприяє дотриманню пацієнтом режиму застосування.
Активний фармацевтичний інгредієнт	Доксицикліну хіклат; декспантенол	Доксициклін чинить бактеріостатичну дію; його антимікробний ефект реалізується шляхом пригнічення синтезу білків. Пантотенова кислота є необхідною для формування і загоєння пошкоджених шкіри і слизових оболонок.
Дозування	Лікарський засіб рівномірно розпиляти на ушкоджену ділянку один або кілька разів на добу.	Тривалість лікування залежить від виду та перебігу захворювання та визначається після консультації з лікарем.
Критерії якості	Опис, ідентифікація, кількісне визначення АФІ, мікробіологічна чистота, герметичність контейнеру, вихід вмісту контейнера, перевірка клапана і насадки, тиск всередині контейнера	Згідно з вимогами EP, ДФУ та USP.

Продовження таблиці 3.1

Стабільність готового лікарського засобу	2 роки за температури не вище 25°C. Не заморожувати	Стабільність є важливим параметром рідкої системи, оскільки вона може впливати на піноутворення та стабільність піни. Заморожування може змінити структуру та в'язкість розчину
Стабільність пінної системи.	Достатня стабільність для шкірного шляху введення	Щоб отримати якісну піну, потрібно енергійно струшувати контейнер перед кожним застосуванням, особливо якщо його не використовували протягом тривалого часу. Якщо лікарський засіб застосовується вперше, спочатку може розпилюватися лише пропелент, перш ніж утвориться піна. Достатня стабільність пінної системи необхідна для того, щоб піна залишалася в місці нанесення.
Система упаковки / укупорки	У балоні, укомплектованому клапаном піноутворювальним з розпилювачем та захисним ковпачком, у коробці.	Розпилюючи препарат, тримати балон вертикально, клапаном догори. Щоб отримати якісну піну, потрібно енергійно струшувати балон перед кожним застосуванням, особливо якщо його не використовували протягом тривалого часу. Якщо лікарський засіб застосовується вперше, спочатку може розпилюватися лише газ, перш ніж утвориться піна.

Отже, важливими параметрами QTPP є такі фармакологічні аспекти, як шлях введення, доза, сила дії, а також споживчі властивості продукту, система пакування та маркування, якість і стабільність ЛЗ, умови й режим зберігання тощо.

Властивості рідкої системи та утвореної піни залежать від характеристик використаних допоміжних речовин. На властивості пін впливають кілька допоміжних речовин, з яких до складу були введені ПАР, підсилювач піноутворення, стабілізатор піни. CQAs були визначені з урахуванням характеристик рідкого розчину концентрату, готової лікарської форми та утвореної піни.

Результати визначення впливу критичних показників якості продукту (CQA) наведено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2 – Критичні показники якості (CQAs) піни нашкірної на основі DOXH та DP

Показник якості	Цільове значення	Критичність				Обґрунтування
		S	O	D	RPN	
1	2	3	4	5	6	7
рН розчину концентрату	Від 5,1 до 5,7	3	2	2	12	рН місцевих засобів у діапазоні 4–7 наближений до фізіологічного рівня шкіри, для збереження її бар'єрної функції і мікробіому, та мінімізує ризик подразнення.
Густина розчину концентрату	Від 0,99 до 1,05 г/мл	3	2	2	12	Густина впливає на дозування, структуру, стабільність пінних систем та споживчі властивості. Відхилення можуть призвести до некоректної терапевтичної дози.
Опис препарату	Препарат при виході з балона утворює піну від білого до світло-жовтого кольору.	4	2	1	8	Зміна зовнішнього вигляду часто є першою ознакою порушення стабільності або мікробного забруднення.
Ідентифікація	Доксицикліну хіклат – п. 2.2.25. (ДФУ 2.0) Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях декспантенол –ВЕРХ	5	3	3	45	Є критичною для безпеки та терапевтичного ефекту.
Кількісний вміст АФІ	Доксициклін - від 9,5 мг до 10,5 мг в 1 мл (95-105 %) Декспантенол - від 47,5 мг до 52,5 мг в 1 мл. (95-105 %)	5	4	3	60	Зміна цього показника є критичною: недостача знижує ефективність, а надлишок може збільшувати ризик токсичності та подразнення шкіри.
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): не більше 10^3 КУО/мл. Загальне число дріжджів та плісневих грибів (ТУМС): не більше 10^2 КУО/мл.	5	4	3	60	Присутність контамінації становить прямий ризик для здоров'я пацієнта.

Продовження таблиці 3.2

1	2	3	4	5	6	7
Вихід вмісту контейнера	Має бути не менше номінального – 93 г.	4	4	2	32	Нестабільність дозування призводять до неконтрольованої терапевтичної дози.
Герметичність контейнеру	Контейнери мають бути герметичні	5	3	2	30	Порушення герметичності може вплинути на дозування, стабільність препарату, мікробіологічну чистоту та якість розпилення
Перевірка клапана і насадки	Клапан повинен відкриватися при натисканні пальцем на насадку і негайно герметично закриватися після припинення натискання на неї. Вміст контейнеру повинен виходити тільки через отвір насадки.	4	2	3	16	Зміна цього показника впливає на споживчі властивості препарату
Тиск всередині контейнера	Має бути 0,4 МПа	3	1	3	9	Зміна цього показника впливає на споживчі властивості препарату, на якісне розпилення продукту та точність дозування, занижкий чи завищений тиск впливає на повноту вивільнення вмісту контейнера
Діаметр розпилення піни	8,0-10,0 см	3	2	2	12	Самостійне розподілення піни свідчить про стабільність та однорідність структури
Маса вивільнення вмісту за натиск	0,4-0,5 г	3	2	3	18	Свідчить про стабільність та однорідність утвореної піни і рівномірний розподіл АФІ у системі
Статична стабільність утвореної піни	20-30 хв.	3	2	3	18	Цей параметр вказує на швидкість руйнування піни. Стабільність важлива для забезпечення достатнього часу контакту активних речовин з місцем ураження

З аналізу даних таблиці 3.2 видно, що показники якості перебувають у відповідних межах, діапазоні або розподілі для забезпечення бажаної якості продукції, отриманої з QTPP та попередніх знань. Визначено, що кількісний вміст DOXH та DP є одним зі суттєвих CQAs для гарантії ефективності лікарського засобу та забезпечення стабільності на протязі життєвого циклу. Мікробіологічна чистота також є одним зі суттєвих CQAs, оскільки багатодозовий контейнер має забезпечувати відповідну якість піни при нанесенні на уражені або відкриті ділянки ранової поверхні.

Таким чином, у межах підходу Quality by Design було сформовано цільовий профіль якості наскірної аерозольної піни, визначено критичні показники якості та розроблено стратегію контролю, яка охоплює всі ключові етапи життєвого циклу препарату. Запропонований підхід дозволяє забезпечити стабільну якість лікарського засобу не лише шляхом контролю готового продукту, а й через управління критичними параметрами складу, матеріалів і технологічного процесу.

3.2 Обґрунтування вибору розчинників для отримання матричних розчинів на основі доксицикліну хіклату

Доксицикліну хіклат, зокрема, є речовиною, що вільно розчиняється у воді [18]. На ринку DOXH представлений у формі твердих лікарських форм і за умови зберігання в належних умовах протягом тривалого періоду доксициклін не зазнає істотних змін [170]. Водночас у літературі описано труднощі, пов'язані з одержанням довготривало стабільних розчинів тетрациклінів загалом і доксицикліну зокрема, що зумовлено утворенням продуктів деградації [171].

Незважаючи на те, що Британська (BP), Японська (JP) та Фармакопея США (USP) містять монографії на лікарські форми доксицикліну, жодна з них не описує доксициклін у формі розчину; єдиною рідкою лікарською формою, наведеною в USP, є суспензія [172, 174]. В літературі описані домішки, зокрема 4-епідоксициклін (4-EDOX), 4,6-епідоксициклін (4,6-EDOX) та 4-епіметациклін

(4-EMTC), які зазвичай утворюються під час перебування доксицикліну в розчині [22].

Особливе значення на початковому етапі розробки має вибір розчинників або співрозчинників для введення доксицикліну хіклату до складу основи. Незважаючи на те, що доксицикліну хіклат належить до водорозчинних солей доксицикліну, його розчини не можна розглядати як гарантовано стабільні системи. Для доксицикліну характерні деградаційні перетворення, зокрема епімеризація та окиснення, а стабільність речовини істотно залежить від складу розчинника, вмісту води, рН, температури та умов зберігання. У дослідженнях стабільності концентрованих розчинів доксицикліну показано, що система розчинників суттєво впливає на швидкість деградації, а використання етанолу та пропіленгліколю може бути корисним для зниження швидкості утворення продуктів розпаду [114].

Для обґрунтування складу лікарської форми проводили експериментальний вибір розчинників та співрозчинників, які забезпечували б розчинення доксицикліну хіклату, фізичну стабільність матричних розчинів, однорідність системи та подальшу сумісність з емульсійною основою лікарської форми. З урахуванням відомої нестабільності доксицикліну у водних середовищах, особливу увагу приділяли системам розчинників із мінімізованим вмістом води або системам, у яких вода поєднувалася зі стабілізуючими компонентами [20, 175-178].

Доксицикліну хіклат є водорозчинною сіллю доксицикліну, однак наявність достатньої розчинності у воді не є підставою для вибору води як основного розчинника при розробці рідкої лікарської форми. Для доксицикліну характерні деградаційні перетворення, зокрема епімеризація, швидкість якої залежить від складу розчинника, вмісту води, рН та умов зберігання. У зв'язку з цим вибір розчинника розглядали не лише з позиції розчинення АФІ, а й з урахуванням здатності системи зберігати стабільність розчину протягом визначеного часу [175, 177].

В літературі описано, що застосування безводних розчинників позитивно

впливає на стабільність доксицикліну, оскільки відсутність води уповільнює гідролітичні реакції розпаду. Зокрема, дослідження описують, що для одержання стабільних розчинів доксицикліну можуть застосовуватися пропіленгліколь, етанол, N-метил-2-піролідон, поліетиленгліколь 400, а також системи з магнію оксидом та антиоксидантами [20, 175- 178].

Пропіленгліколь розглядали як один із основних перспективних розчинників, оскільки у дослідженнях висококонцентрованих розчинів доксицикліну хіклату його використання сприяло зменшенню зміни забарвлення, втрати кількісного вмісту та утворення супровідних домішок [176]. Комбінацію пропіленгліколю з етанолом також вважали доцільною для скринінгу, оскільки така система може зменшувати негативний вплив залишкової води та уповільнювати деградаційні процеси [175].

N-метил-2-піролідон і поліетиленгліколь 400 були включені до переліку модельних розчинників як фармацевтично застосовувані співрозчинники з потенційною солюбілізуювальною здатністю. Водночас літературні дані свідчать, що наявність високої розчинювальної здатності не завжди супроводжується достатнім стабілізуювальним ефектом щодо доксицикліну. Тому ці розчинники розглядали як порівняльні модельні системи, а не як апіорно оптимальні варіанти для подальшої розробки [175-177].

У патентних джерелах описано композиції доксицикліну з магнієвими сполуками, співрозчинниками та антиоксидантами при рН, близькому до слабокислого або нейтрального діапазону [177-179]. Тому, завдяки здатності іонів магнію утворювати комплекси з доксицикліном, що може позитивно впливати на стабільність розчину, досліджували вплив додавання MgO до складу розчинників.

Метою експерименту було оцінити вплив розчинників та концентрації доксицикліну хіклату на фізичну стабільність модельних розчинів під час зберігання за різних температурних умов. Зокрема оцінювався вплив розчинника і допоміжних речовин на хімічну стабільність розчинів доксицикліну при зберіганні.

За результатами літературного аналізу та з урахуванням попередніх власних досліджень щодо розчинності й стабільності розчинів доксицикліну для зовнішнього застосування було обрано вісім модельних розчинів доксицикліну хіклату: пропіленгліколь, n-метилпіролідон, поліетиленгліколь 400, співвідношення пропіленгліколь:етанол, поліетиленгліколь 400:пропіленгліколь дикаприлокапрат, співвідношення натрію гідроксиметансульфінат:магнію оксид: етанол:вода ($\text{NaHMS}:\text{MgO}:\text{EtOH}:\text{H}_2\text{O}$) 1:2:10:87, етанол:пропіленгліколь:вода (2:10:88). Вибір цих систем був зумовлений необхідністю порівняти розчинники з різною полярністю, різним вмістом водної фази та різною потенційною здатністю стабілізувати доксициклін у розчині.

Для дослідження були приготовані модельні розчини доксицикліну хіклату з концентраціями 3,0 %, 5,0 %, 7,5 % та 10,0 %. Зазначені концентрації перевищували передбачуваний вміст (0,25-1%) доксицикліну хіклату у майбутній лікарській формі, і були використані як навантажувальні модельні системи. Такий підхід дозволив посилити прояв можливих ознак нестабільності, полегшити візуальну оцінку змін та швидше виявити нестабільні розчини.

Модельні зразки готували шляхом розчинення розрахованої кількості доксицикліну хіклату у відповідній системі розчинників до отримання однорідного розчину або суспендувальної системи. Для кожного типу розчинника були підготовлені зразки з концентраціями доксицикліну хіклату 3,0 %, 5,0 %, 7,5 % та 10,0 % у 4 повторах (табл. 3.3). Після приготування зразки переносили у прозорі скляні флакони, герметично закривали та зберігали у захищеному від світла місці.

Критеріями оцінки модельних розчинів були прозорість, забарвлення, відсутність осаду, помутніння або ознак фазового розшарування протягом періоду спостереження. Придатними вважали розчини, які зберігали однорідність і не мали видимих ознак фізичної нестабільності. Такий підхід дозволив попередньо оцінити придатність розчинників для введення доксицикліну хіклату до складу матричного розчину та визначити напрям подальшої розробки основи наскірної аерозольної піни.

Таблиця 3.3 – Склад модельних зразків

Система розчинників	DOXH 5 %	DOXH 10 %	DOXH 3 %	DOXH 7,5 %
Пропіленгліколь (ПГ)	DOXH:ПГ			
	A1B1	A2B1	A3B1	A4B1
	5:95	10:90	3:97	7,5:92,5
N-метилпіролідон (NMP)	DOXH:NMP			
	A1B2	A2B2	A3B2	A4B2
	5:95	10:90	3:97	7,5:92,5
Поліетиленгліколь (ПЕГ-400)	DOXH:ПЕГ-400			
	A1B3	A2B3	A3B3	A4B3
	5:95	10:90	3:97	7,5:92,5
Пропіленгліколь: Етанол (ПГ:ЕС) (9:1)	DOXH:ПГ:ЕС			
	A1B4	A2B4	A3B4	A4B4
	5:85,5:9,5	10:81:9	3:87,3:9,7	7,5:83,25:9,25
Поліетиленгліколь 400:пропіленгліколь дикаприлокапрат (ПЕГ-400:ПГДКК) (1:1)	DOXH:ПЕГ-400:ПГДКК			
	A1B5	A2B5	A3B5	A5B5
	5:47,5:47,5	10:45:45	3:48,5:48,5	7,5:46,25:46,25
Пропіленгліколь: Етанол (ПГ:ЕС) (1:9)	DOXH:ПГ:ЕС			
	A1B6	A2B6	A3B6	A6B6
	5:9,5:85,5	10:9:81	3:9,7:87,3	7,5:9,25:83,25
Натрію гідроксиметансульфінат: магнію оксид: етанол:вода (NaHMS:MgO:EtOH:H ₂ O) 1:2:10:87	DOXH:NaHMS:MgO:EtOH:H ₂ O			
	A1B7	A2B7	A3B7	A7B7
	5:0,95:1,90:92,15	10:0,9:1,8:87,3	3:0,97:1,94:94,09	7,5:0,93:1,85:89,72
Етанол:пропіленгліколь: H ₂ O (ЕС:ПГ:вода) 2:10:88	DOXH:H ₂ O:ЕС:ПГ			
	A1B8	A2B8	A3B8	A4B8
	5:1,9:9,5:83,60	5:1,9:9,5:83,60	5:1,9:9,5:83,60	5:1,9:9,5:83,60

Дослідження проводили протягом 28 діб за трьох температурних режимів: за кімнатної температури (25 °C), у прискорених умовах (40 °C) та в температурному діапазоні 2-8 °C у темному місці для мінімізації деградації доксицикліну під впливом світла. Результати проведених випробувань наведено в таблицях 3.4-3.6.

Таблиця 3.4 – Протокол дослідження стабільності розчину доксицикліну (25±2) °С

АФІ	Дні в	РОЗЧИННИКИ							
		PG	NMP	PEG-400	PG:EtOH (9:1)	PEG-400: PGDCC	PG:EtOH (1:9)	NaHMS:MgO: EtOH: H ₂ O	EtOH:PG: H ₂ O
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
DOXH 5% (A1)	0	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий
	7	Світло-жовтий	Жовтий	Жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Випав осад	Жовтий мутний	Світло-жовтий
	14	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Випав осад	Жовтий мутний	жовтий
	28	Жовтий	Коричневий	Жовтий	жовтий	Світло-жовтий	Випав осад	Випав осад	жовтий
DOXH 10% (A2)	0	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий мутний	Жовтий мутний	Жовтий
	7	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий мутний	Жовтий мутний	Жовтий
	14	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Жовтий
	28	Світло-коричневий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Жовтий
DOXH 3% (A3)	0	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
	7	Блідо-жовтий	Жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий мутний	Блідо-жовтий
	14	Блідо-жовтий	Коричневий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий мутний	Жовтий
	28	Блідо-жовтий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Блідо-жовтий	Випав осад	Блідо-жовтий мутний	Жовтий
DOXH 7,5% (A4)	0	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий
	7	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий мутний	Випав осад	Жовтий
	14	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Світло-коричневий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Жовтий
	28	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Жовтий

Таблиця 3.5 – Протокол дослідження стабільності розчину доксицикліну (40±2) °C

АФІ	Дн ів	РОЗЧИННИКИ							
		PG	NMP	PEG-400	PG:EtOH (9:1)	PEG-400: PGDCC	PG:EtOH (1:9)	NaHMS:MgO: EtOH: H ₂ O	EtOH:PG: H ₂ O
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
DOXH 5% (A1)	0	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий
	7	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий мутний	Випав осад	Світло-жовтий	Світло-жовтий
	14	Жовтий	Коричневий	Коричневий	Світло-жовтий	Світло-жовтий мутний	Випав осад	Випав осад	жовтий
	28	Жовтий	Коричневий	Коричневий	жовтий	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Світло- коричневий
DOXH 10% (A2)	0	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий мутний	Жовтий мутний	Жовтий
	7	Світло- коричневий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий мутний	Жовтий мутний	Жовтий
	14	Світло- коричневий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Світло- коричневий
	28	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Світло- коричневий
DOXH 3% (A3)	0	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
	7	Блідо-жовтий	Жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Жовтий мутний	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
	14	Блідо-жовтий	Коричневий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Випав осад	Блідо-жовтий	Жовтий
	28	Блідо-жовтий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Блідо-жовтий	Випав осад	Блідо-жовтий	Жовтий
DOXH 7,5% (A4)	0	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий
	7	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Жовтий
	14	Жовтий	Коричневий	Жовтий	Світло- коричневий	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Жовтий
	28	Жовтий	Коричневий	Світло- коричневий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Випав осад	Світло- коричневий

Таблиця 3.6 – Протокол дослідження стабільності розчину доксицикліну (5±2) °С

АФІ	Днів	РОЗЧИННИКИ							
		PG	NMP	PEG-400	PG:EtOH (9:1)	PEG-400: PGDCC	MgO:EtOH: H2O	NaHMS:MgO : EtOH: H2O	EtOH:PG: H2O
		B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8
DOXH 5% (A1)		Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Світло-жовтий
	0	Світло-жовтий	Жовтий	Випав осад	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Випав осад	Жовтий мутний	Світло-жовтий
	7	Світло-жовтий	Жовтий	Випав осад	Світло-жовтий	Світло-жовтий	Випав осад	Жовтий мутний	Світло-жовтий
	14	Світло-жовтий	Жовтий	Випав осад	Світло-жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	жовтий
DOXH 10% (A2)	28	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий мутний	Жовтий мутний	Жовтий
	0	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Жовтий
	7	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Жовтий
	14	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Випав осад	Жовтий
DOXH 3% (A3)	28	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
	0	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
	7	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
	14	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Випав осад	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий	Блідо-жовтий
DOXH 7,5% (A4)	28	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий
	0	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Жовтий
	7	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Жовтий	Жовтий
	14	Жовтий	Жовтий	Випав осад	Жовтий	Коричневий	Випав осад	Випав осад	Жовтий

Оцінку зразків здійснювали у контрольні терміни: одразу після приготування, через 7, 14 та 28 діб зберігання. Критерієм оцінки модельних розчинів була візуальна характеристика їх фізичної стабільності, а саме прозорість, забарвлення та відсутність видимих ознак нестабільності. Придатним вважали прозорий розчин від світло-жовтого до світло-коричневого кольору, без осаду, помутніння або ознак фазового розшарування.

Візуальна оцінка модельних розчинів доксицикліну хіклату показала, що стабільність досліджуваних систем суттєво залежала як від природи розчинникової системи, так і від концентрації активного фармацевтичного інгредієнта. Основними критеріями оцінки були зміна забарвлення розчину, поява помутніння та утворення осаду. Як задовільний результат розглядали збереження прозорого розчину від світло-жовтого до жовтого кольору без ознак помутніння або випадіння осаду.

За умов зберігання при підвищеній температурі – (40 ± 2) °C – найбільш виражені зміни спостерігалися у розчинах, що містили N-метилпіролідон, системи з високим вмістом етанолу, а також композиції з натрію гідроксиметансульфінатом і магнію оксидом. Для зразків на основі N-метилпіролідону вже на 7-му добу було зафіксовано перехід забарвлення у коричневий колір, що надалі зберігалось протягом усього періоду дослідження незалежно від концентрації доксицикліну хіклату. Така динаміка свідчить про низьку придатність цієї розчинникової системи для стабілізації доксицикліну в умовах теплового навантаження. Потемніння розчинів доксицикліну у літературі розглядається як непряма ознака утворення продуктів деградації та погіршення стабільності активної речовини .

Розчини на основі пропіленгліколю характеризувалися кращою візуальною стабільністю порівняно з N-метилпіролідонем. У зразках із концентрацією DOXH 3 %, 5 % та 7,5 % протягом 28 діб не спостерігали випадіння осаду, однак відмічалось поступове посилення жовтого забарвлення. Водночас для 10 % розчину на основі пропіленгліколю на 28-у добу зберігання при 40 °C випав осад, що свідчило про непридатність розчинника.

Порівняно стабільною виявилася система пропіленгліколь : етанол у співвідношенні 9:1. У більшості зразків цієї групи протягом усього періоду спостереження не фіксували випадіння осаду або вираженого помутніння. Для розчинів із концентрацією 3 % і 5 % забарвлення залишалося від світло-жовтого до жовтого. У зразках з вищим вмістом DOXH – 7,5 % відмічали незначне потемніння до світло-коричневого відтінку на пізніх термінах зберігання, однак без порушення фізичної однорідності системи. Водночас для 10 % розчину на основі пропіленгліколь:етанол 9:1 на 28-у добу зберігання при 40 °C випав осад, що свідчило про непридатність розчинника.

Система поліетиленгліколь-400: пропіленгліколь дикаприлокапрат продемонструвала неоднозначні результати. Для 3 % розчину вона залишалася візуально стабільною протягом 28 діб, тоді як у зразках із концентраціями 5 %, 7,5 % і 10 % спостерігалися ознаки нестабільності: зеленуватий відтінок, помутніння або випадіння осаду. Особливо небажаним є поява зеленуватого відтінку, оскільки така зміна кольору може вказувати на зміну хімічного стану доксицикліну або взаємодію активної речовини з компонентами розчинникової системи. Тому, попри відносну стабільність окремих зразків, ця система потребує додаткового аналітичного підтвердження методом ВЕРХ перед розглядом як базової для лікарської форми.

Найменш придатними за результатами випробування при 40 ± 2 °C були системи пропіленгліколь:етанол у співвідношенні 1:9 та натрію гідроксиметансульфінат:магнію оксид:етанол:вода. Для них характерним було раннє помутніння та випадіння осаду, яке в окремих зразках фіксували вже на 7-му добу. Це свідчить про недостатню розчинювальну здатність таких систем щодо доксицикліну хіклату або про розвиток фізико-хімічної несумісності між компонентами. Отже, надлишковий вміст етанолу не забезпечував стабілізуючого ефекту, а навпаки призводив до втрати фізичної стабільності розчинів.

Частина модельних розчинів доксицикліну хіклату характеризувалася випадінням осаду в різні терміни зберігання: на 7-му добу для зразків у системі

ПЕГ-400 та у системі ПГ:етанол 1:9, що свідчить про непридатність цих розчинникових систем для стабілізації доксицикліну хіклату у концентрації 10 %. У системі NaHMS:MgO:EtOH:H₂O ознаки нестабільності мали відстрочений характер: для зразка A2B7 осад утворювався на 14-ту добу, а для A3B7 – на 28-му добу. Це свідчить, що зазначена багатокомпонентна система не забезпечує достатньої фізичної стабільності доксицикліну хіклату протягом усього періоду спостереження, незважаючи на відмінності у концентрації АФІ (рис. 3.1 та 3.2).



Рисунок 3.1 – Результати дослідження стабільності: 7 день випав осад (A2B3)



Рисунок 3.2 – Результати дослідження стабільності: справа наліво: 7 день випав осад (A2B6), 28 день випав осад (A3B7), 7 день випав осад (A2B6), 14 день випав осад (A2B7)

За умов зберігання при (5 ± 2) °C загальна інтенсивність зміни забарвлення була менш вираженою, однак для частини систем спостерігали випадіння осаду. Це свідчить, що зниження температури уповільнює процеси, пов'язані з потемнінням розчинів, але водночас може погіршувати розчинність доксицикліну хіклату в окремих розчинникових системах. Найбільш показовим було випадіння осаду у зразках на основі ПЕГ-400, яке спостерігали для більшості концентрацій під час зберігання при низькій температурі. Такий результат обмежує використання ПЕГ-400 як самостійного розчинника, оскільки ризик кристалізації або випадіння осаду є критичним для рідких лікарських форм.

Розчини на основі пропіленгліколю при 5 ± 2 °C зберігали однорідність і не демонстрували ознак випадіння осаду протягом 28 діб. Аналогічно, система пропіленгліколь : етанол 9:1 залишалася фізично стабільною для всіх досліджених концентрацій DOXH. Ці зразки зберігали світло-жовте або жовте забарвлення без помутніння, що підтверджує їхню технологічну придатність у широкому концентраційному діапазоні. На відміну від цього, системи з магнію оксидом та натрію гідроксиметансульфінатом виявили нестабільність навіть при зниженій температурі, що проявлялося випадінням осаду або появою мутності.

Отримані результати дозволили зробити висновок, що стабільність модельних розчинів доксицикліну хіклату не визначається лише температурою зберігання, а значною мірою залежить від балансу розчинювальної здатності, полярності середовища та наявності води або додаткових реакційноздатних компонентів. Підвищена температура переважно інтенсифікувала зміну забарвлення розчинів, тоді як знижена температура частіше проявляла ризик фізичної нестабільності у вигляді випадіння осаду.

Таким чином, результати візуального скринінгу дозволили ранжувати досліджені системи розчинників за їхньою придатністю для створення стабільного розчину доксицикліну хіклату. Найбільш доцільним напрямом подальших досліджень є поглиблена оцінка системи етанол:пропіленгліколь: вода(2:10:88) із використанням кількісного визначення вмісту доксицикліну та

продуктів деградації методом ВЕРХ, а також перевірка її сумісності з іншими компонентами майбутньої лікарської форми.

Таким чином, дослідження показали, що додавання невеликої кількості органічних співрозчинників до води сприяє підвищенню фізичної стабільності розчинів доксицикліну хіклату завдяки поєднанню достатньої полярності водного середовища з солюбілізуючими властивостями пропіленгліколю та етанолу. У такій системі вода забезпечує гідратацію та сольватацію іонізованої форми доксицикліну хіклату, тоді як пропіленгліколь і невелика кількість етанолу покращують змочування, однорідність розчину та знижують ризик перенасичення системи з подальшим випадінням осаду.

Отже для подальших досліджень вирішено використати розчинник етанол:пропіленгліколь:вода(2:10:88).

3.3 Обґрунтування оптимальної концентрації доксицикліну хіклату за результатами мікробіологічних досліджень *in vitro*

Наступним етапом досліджень стало обґрунтування оптимальної концентрації доксицикліну хіклату на підставі результатів мікробіологічних досліджень. Концентрація доксицикліну хіклату в модельних зразках становила 0,25 %, 0,5 % та 1,0 % і двукратним кроком збільшення. Доксицикліну хіклат вводили до складу концентрату у вигляді розчину в системі пропіленгліколь–етанол–вода очищена. Антимікробну активність модельних зразків оцінювали за діаметром зон затримки росту тест-мікроорганізмів *E. coli* та *S. aureus*. Результати дослідження наведено в таблиці 3.7.

Аналіз отриманих даних показав, що підвищення концентрації доксицикліну хіклату від 0,25 % до 1,0 % супроводжувалося поступовим збільшенням зон затримки росту тест-культур. За концентрації 0,25 % діаметр зон затримки росту становив $19,26 \pm 0,34$ мм для *E. coli* та $23,86 \pm 0,52$ мм для *S. aureus*. Збільшення концентрації доксицикліну хіклату до 0,5 % призводило до

Таблиця 3.7 – Зони затримки росту тест-мікроорганізмів залежно від концентрації доксицикліну хіклату у модельних зразках, мм (n = 5; P = 95 %)

Концентрація доксицикліну, %	Діаметр зон затримки росту тест-мікроорганізмів, мм	
	Концентрація тест-мікроорганізмів – 10 ⁷ КУО/мл у верхньому шарі поживного середовища	
	<i>E. coli</i> (СКА)	<i>S. aureus</i> (СКА)
0,25	19.1	23.3
	19.4	23.6
	18.9	24.3
	19.6	23.9
	19.3	24.2
X ±ΔX	19.26±0.34	23.86±0.52
0,5	20.1	24
	20.7	24.6
	20.9	25
	21.3	24.3
	21.5	24.7
X ±ΔX	20.9±0.68	24.5±0.46
1,0	24.1	28
	23.7	28.6
	23.9	28.3
	23.3	27.9
	23.5	28.2
X ±ΔX	23.7±0.39	28.2±0.34

помірного підвищення антимікробної активності: діаметр зон затримки росту становив $20,90 \pm 0,68$ мм для *E. coli* та $24,50 \pm 0,46$ мм для *S. aureus*.

Найбільш виражене збільшення антимікробної активності спостерігали при підвищенні концентрації доксицикліну хіклату до 1,0 %. За цієї концентрації діаметр зон затримки росту становив $23,70 \pm 0,39$ мм для *E. coli* та $28,20 \pm 0,34$ мм для *S. aureus*. Порівняно зі зразком, що містив 0,5 % доксицикліну хіклату, зони затримки росту збільшилися відповідно в 1,13 раза для *E. coli* та в 1,15 раза для *S. aureus*. Порівняно з мінімальною дослідженою концентрацією 0,25 %, підвищення концентрації до 1,0 % забезпечило збільшення зон затримки росту в 1,23 раза для *E. coli* та в 1,18 раза для *S. aureus*.

Отже, за результатами мікробіологічних досліджень встановлено концентраційну залежність антимікробної активності модельних зразків нашкірної піни. Найбільші зони затримки росту тест-мікроорганізмів спостерігали для зразка з концентрацією доксицикліну хіклату 1,0 %, що обґрунтовує доцільність вибору цієї концентрації для подальшої фармацевтичної розробки.

3.4 Обґрунтування вибору підсилювачів піноутворення, ПАР, стабілізатору стійкості піни та антимікробних консервантів.

Для обґрунтування складу нашкірної піни проводили експериментальний вибір допоміжних речовин, які забезпечували б необхідні технологічні та споживчі властивості лікарської форми: однорідність матричного розчину, здатність до піноутворення, руйнування піни, належні реологічні характеристики та рівномірний розподіл активних фармацевтичних інгредієнтів після евакуації з аерозольного контейнера. Відомо, що фармацевтичні піни є дисперсними системами, у яких газова фаза розподілена в рідкій або напівтвердій фазі, а їхня стабільність залежить від складу основи, природи поверхнево-активних речовин, в'язкості системи та здатності компонентів стабілізувати міжфазну поверхню [137, 168].

Аналіз літературних джерел і складу аналогічних нашкірних пін показав, що як функціональні компоненти таких лікарських форм можуть використовуватися жирні спирти, неіоногенні поверхнево-активні речовини, жирні кислоти, поліоли, емоленти, буферні речовини, консерванти, очищена вода та вуглеводневі пропеленти [137, 168]. Функціональні групи допоміжних речовин, що застосовуються у складі нашкірних пін наведено в таблиці 3.8.

Таблиця 3.8 – Функціональні групи допоміжних речовин, що застосовуються у складі наскірних пін

Компонент	Хімічна природа	Роль у формулі	Вплив на якість і стабільність піни
Твін 80 (Polysorbate 80)	Ненасичений неіонний ПАВ, полісорбат	Піноутворювач / емульгатор	Покращує текстуру піни, підвищує її стійкість, кремоподібність, забезпечує однорідність
Цетилстеариловий спирт (Cetostearyl Alcohol)	Суміш насичених жирних спиртів (C16–C18)	Піноутворювач / стабілізатор	Підвищує стійкість, щільність і м'якість піни, покращує кремоподібність і стабільність
Спирт цетиловий (Cetyl Alcohol)	Жирний спирт (C16)	Піноутворювач / емульгатор	Стабілізує форму бульбашок, підвищує щільність і м'якість піни; підвищує в'язкість
Макроголу стеариловий ефір (PEG-100 Stearate)	Поліетилен-гліколевий ефір жирного спирту	Емульгатор	Стабілізує однорідність піни, формує тонку плівку навколо бульбашок
Макроголгліцерол кокоат (PEG-20 Glyceryl Cocoate)	Поліетилен-гліколевий ефір гліцеролу та кокосової кислоти	Емульгатор / стабілізатор / пом'якшувач	Підвищує стійкість піни, робить її кремоподібною, пом'якшує шкіру
Стеаринова кислота (Stearic Acid)	Жирна кислота (C18)	Емульгатор / загусник	Підвищує щільність піни, стабілізує бульбашки - забезпечує стабільність формули та зволоження шкіри
Віск рідкий легкий (Light Liquid Wax / Mineral Oil Wax)	Рідкий воскоподібний мінеральний компонент	Стабілізатор піни / загусник	Емульгатор та стабілізатор. Допомагає створювати структуру та консистенцію піни, покращуючи її текстуру.
Пропіленгліколь (Propylene Glycol)	Поліол	Стабілізатор піни / пом'якшувач	Зволожувач, робить піни м'якими і стабільними
Олія мінеральна легка (Light Mineral Oil)	Ненасичена мінеральна олія	Стабілізатор піни / пом'якшувач	Покращує ковзання і кремоподібність піни. Забезпечує зволоження та пом'якшення шкіри, покращуючи тактильні властивості препарату.
Ізопропілпальмітат (Isopropyl Palmitate)	Естер ізопропанолу та пальмітинової кислоти	Стабілізатор піни / пом'якшувач	Робить піни легкими і ніжними, полегшує ковзання

Зокрема, у складі термолабільних гідроетанольних пін для нашкірного застосування описано використання цетилового або стеарилового спирту, етанолу, полісорбатів, пропіленгліколю, очищеної води та пропан-бутанового пропеленту [180, 181].

На першому етапі дослідження встановлювали оптимальний діапазон концентрацій компонентів емульсійної основи з метою одержання стабільних модельних зразків, які мали б прийнятну в'язкість, однорідність, кремоподібну структуру та здатність до утворення стійкої піни. Як основні змінні компоненти було обрано цетостеариловий спирт, твін-80, стеаринову кислоту та пропіленгліколь. Їх кількісне співвідношення варіювали для оцінки впливу на структурно-механічні властивості матричного розчину та характеристики піни.

Цетостеариловий спирт було введено до складу як структуроутворювач, емульгатор і підсилювач піноутворення. Його функціональне призначення полягало у підвищенні в'язкості матричного розчину, формуванні кремоподібної консистенції та стабілізації структури піни. Доцільність включення жирних спиртів до складу пінних основ підтверджується складом зареєстрованих нашкірних пін, у яких цетиловий або стеариловий спирт використовують разом із полісорбатами, пропіленгліколем та водною фазою [180, 181].

Твін 80 використовували як неіоногенну поверхнево-активну речовину, емульгатор і стабілізатор пінної системи. Введення ПАР до складу піни є необхідним для зниження поверхневого натягу, полегшення диспергування фаз та стабілізації газових бульбашок після евакуації препарату з контейнера. Неіоногенні ПАР широко застосовують у дермальних системах завдяки здатності формувати та стабілізувати емульсійні основи [137, 168].

Стеаринову кислоту було включено як компонент, що сприяє формуванню структури емульсійної основи, підвищує щільність піни та уповільнює її руйнування. У поєднанні з жирними спиртами та поверхнево-активними речовинами вона може впливати на в'язкість, консистенцію і стабільність пінної системи [145].

Пропіленгліколь використовували як співрозчинник, зволожувач і компонент, що покращує однорідність матричного розчину та технологічні властивості основи. Його наявність у складі зареєстрованих нашкірних пін також підтверджує доцільність включення до експериментального скринінгу [180, 181].

Оскільки інфекційні ураження шкіри супроводжуються не лише мікробною контамінацією, а й порушенням бар'єрної функції та репаративних процесів, до складу всіх модельних зразків було включено декспантенол у концентрації 5 %. Топічне застосування декспантенолу пов'язують із поліпшенням гідратації рогового шару, зменшенням трансепідермальної втрати води, підтримкою бар'єрної функції шкіри та стимуляцією процесів епітелізації [182]. У клінічних дослідженнях 5 % декспантенол вмісні препарати застосовували для відновлення шкірного бар'єра після поверхневого ушкодження шкіри, що обґрунтовує вибір цієї концентрації для нашкірної лікарської форми [167].

Метилпарабен і пропілпарабен було введено до складу як антимікробні консерванти для забезпечення мікробіологічної стабільності препарату під час зберігання. Антимікробні консерванти метилпарабен та пропілпарабен ефективні в широкому діапазоні рН 4-8 і мають широкий спектр антимікробної активності, хоча вони найбільш ефективні проти дріжджів і пліснявих грибів. Ефективність консервантів підвищували за рахунок додавання розчинника пропіленгліколю.

Етанол 95 % використовували як додатковий розчинник, що сприяє розчиненню окремих компонентів основи та швидкому випаровуванню після нанесення. Крім того, етанол відомий як підсилювач проникнення через шкіру та антисептичний агент. Його пенетраційна дія пов'язана з впливом на ліпідні структури рогового шару, тоді як антимікробна активність спиртів найбільш виражена у водних розчинах із концентрацією близько 60–90 %. У складі піни нашкірної етанол також може впливати на швидкість висихання і споживчі властивості препарату [184, 185, 186].

Гідроксид натрію застосовували як регулятор рН для забезпечення необхідних фізико-хімічних характеристик матричного розчину.

Таким чином, для подальших досліджень було розроблено сім модельних складів матричних розчинів, у яких постійними залишалися концентрації доксицикліну хіклату, декспантенолу, консервантів, етанолу та гідроксиду натрію, а кількість основних функціональних допоміжних речовин варіювала. Це дозволило оцінити вплив цетостеарилового спирту, твіну 80, стеаринової кислоти та пропіленгліколю на формування, стабільність і структурні властивості нашкірної піни.

Для розробки складу матричного розчину піни нашкірної до складу формули були включені компоненти, що мають забезпечувати піноутворення, стабільність, емульгувальні властивості та антимікробну активність. Цетостеариловий спирт було введено до складу як емульгатор, що допомагає розчиняти та змішувати між собою інгредієнти, є регулятором в'язкості та стабільності емульсій і виконує функцію структуроутворювача та емоленга. За функціональним призначенням цетостеариловий спирт збільшує густину матричного розчину, здатність продукту пінитися та є підсилювачем піноутворення [183].

Діючі речовини (DOXH та DP) присутні у всіх варіантах. Вміст допоміжних речовин, таких як цетостеариловий спирт, твін 80, стеаринова кислота та пропіленгліколь, варіювали між складами для оцінки їхнього впливу на стійкість, стабільність та текстурні характеристики піни. Консерванти (метилпарабен і пропілпарабен) запобігають росту мікроорганізмів у готовому продукті та не впливають безпосередньо на піноутворення, проте забезпечують мікробіологічну стабільність, що критично для довготривалого зберігання піни. Етанол 95% було включено до складу як розчинник, що забезпечує легке випаровування при нанесенні на шкіру, сприяє утворенню дрібнодисперсних і стійких бульбашок за рахунок зменшення поверхневого натягу, але високі концентрації можуть знижувати густину піни та її кремоподібність. Гідроксид

натрію (NaOH) є регулятором рН, який застосували у складі формули для забезпечення необхідного значення рН.

Співвідношення компонентів в матричних розчинах №1–№7 наведено в таблиці 3.9 із зазначенням їхніх концентрацій або наявності у складі.

Таблиця 3.9 – Компоненти та кількісний склад матричних розчинів

Вихідні компоненти	Склад №1	Склад №2	Склад №3	Склад №4	Склад №5	Склад №6	Склад №7
Доксицикліну хіклат	1	1	1	1	1	1	1
Декспантенол	5	5	5	5	5	5	5
Цетостеариловий спирт	2	1,5	1	1,5	2	1	–
Твін 80	1,5	1	0,5	1	0,5	1	1,5
Стеаринова кислота	–	3,5	4	5	3	4	5
Пропіленгліколь	20	15	12	10	12	15	20
Метилпарабен	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36	0,36
Пропілпарабен	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04	0,04
Вода очищена	67,808	70,308	73,808	73,808	73,808	70,308	64,808
Етанол 95%	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2
Гідроксид натрію	1,092	1,092	1,092	1,092	1,092	1,092	1,092

Далі модельні зразки заклали на дослідження стабільності протягом 1 місяця за температури 25 °С. Всі модельні зразки виявились стабільними, зберігали свої властивості та не розрашовувались. Для вибору оптимального складу 7 зразків були досліджені на реологічні властивості, фізико-хімічні властивості та вивчення піноутворювальних властивостей.

3.5 Реологічні дослідження матричних розчинів

Наступним етапом досліджень було визначення реологічних властивостей семи модельних матричних розчинів. Для аерозольних систем оптимальна динамічна в'язкість забезпечує баланс між легкістю утворення піни, її стабільністю та здатністю утримувати рідину. Занадто низька в'язкість зумовлює

формування нестійкої піни, тоді як надмірно висока – ускладнює процеси дозування та розпилення.

За даними літератури, в'язкість композицій для утворення піни у фармацевтичних аерозольних системах може знаходитись у межах 2,0–20,0 мПа·с, при цьому більш бажаними є значення від 6,0–7,0 мПа·с до 9,0–12,0 мПа·с. Нижчі значення можуть бути недостатніми для формування структурованої пінної системи, тоді як надмірне підвищення в'язкості може ускладнювати дозування, евакуацію вмісту з контейнера та рівномірність формування піни [113, 187].

В'язкість зразків визначали на ротаційному віскозиметрі DVPlus-II (Brookfield Engineering Laboratories, США). Вимірювання проводили при декількох швидкостях обертання шпинделя серії LV з метою оцінки реологічної поведінки системи. Перед початком дослідження зразки термостатували до заданої температури, кожне вимірювання виконували після стабілізації показника крутного моменту і проводили у трьох паралельних повторах для забезпечення точності та відтворюваності результатів.

В результаті попередньої оцінки впливу структуроутворювачів на в'язкість напівпродукту було проведено аналіз динамічної в'язкості матричних систем, який показав її залежність від складу та вмісту піноутворювачів, емульгаторів і стабілізаторів. Для аерозольних пінних систем важливим є досягнення оптимального реологічного балансу, оскільки надто низька в'язкість може зумовлювати недостатню структурованість піни, прискорювати дренаж рідкої фази, що буде зменшувати стабільність піни. Водночас надмірно висока в'язкість може ускладнювати проходження композиції через актуатор, знижувати рівномірність дозування, погіршувати змішування з пропелентом і перешкоджати формуванню однорідної пінної структури. Результати залежності динамічної в'язкості матричних систем від швидкості зсуву наведено на рисунку 3.3.

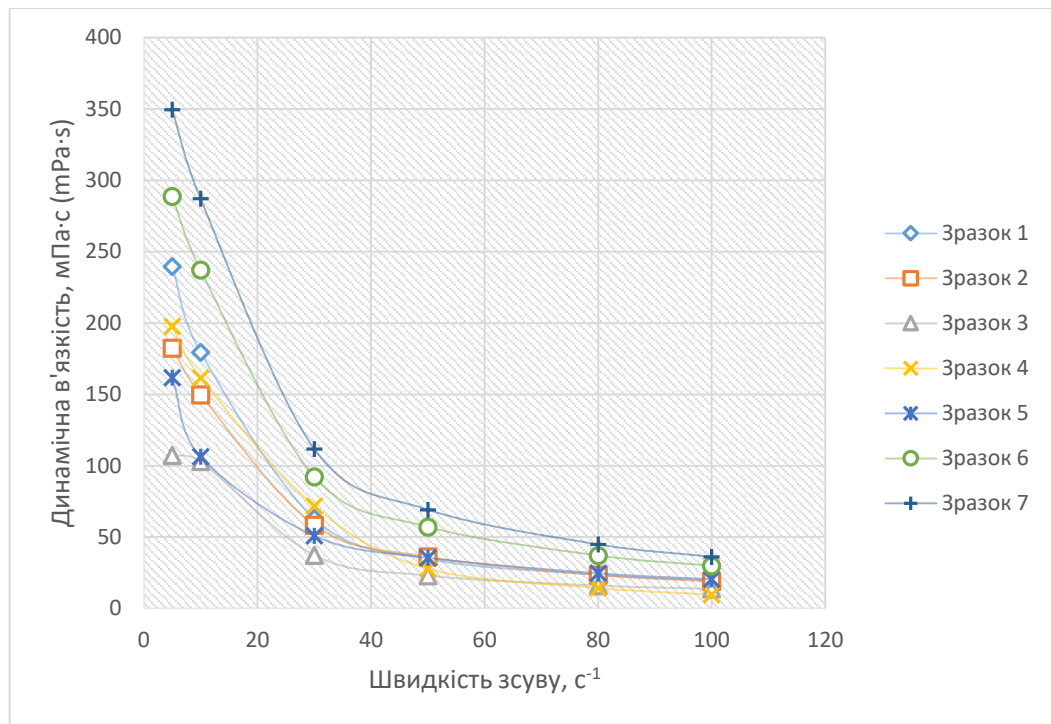


Рис. 3.3 – Залежність динамічної в'язкості матричних систем від швидкості зсуву

Для всіх зразків в'язкість зменшувалася зі збільшенням швидкості зсуву, що характерно для структурованих дисперсних систем. Склад №1 мав помірну в'язкість через низький вміст твіну 80, відсутність стеаринової кислоти та підвищену частку пропіленгліколю. Склад №2 характеризувався середнім рівнем в'язкості через більшу кількість стеаринової кислоти та меншу твіну 80, при цьому пропіленгліколь, виступаючи як пластифікатор, забезпечував пластичність піни та її здатність до деформації, що сприяло збереженню стабільної структури. Склад №5 мав найнижчу в'язкість, а склад №4 показав оптимальні структурні властивості: збалансований вміст твіну-80 і стеаринової кислоти забезпечував стабільну структуру, а помірний вміст пропіленгліколю – оптимальну в'язкість системи, при цьому зберігаючи стабільність бульбашок піни та сприяючи її ефективному утворенню. Склад №5 мав найнижчу в'язкість завдяки помірному вмісту емульгатора та стабілізатора. Склади №6 і №7 відзначалися високою в'язкістю, що обмежувало їхню деформаційну здатність при високих швидкостях зсуву.

Для подальшої оцінки впливу складу на характер течії, тиксотропні властивості та прогнозовані технологічні характеристики композиції при виході

з аерозольного контейнера через клапан-актуатор було обрано матричні розчини №2, №4, №6 і №7. Результати дослідження тиксотропних властивостей, представлені у вигляді висхідної та низхідної кривих течії матричних розчинів у координатах «динамічна в'язкість – швидкість зсуву», наведено на рисунку 3.4.

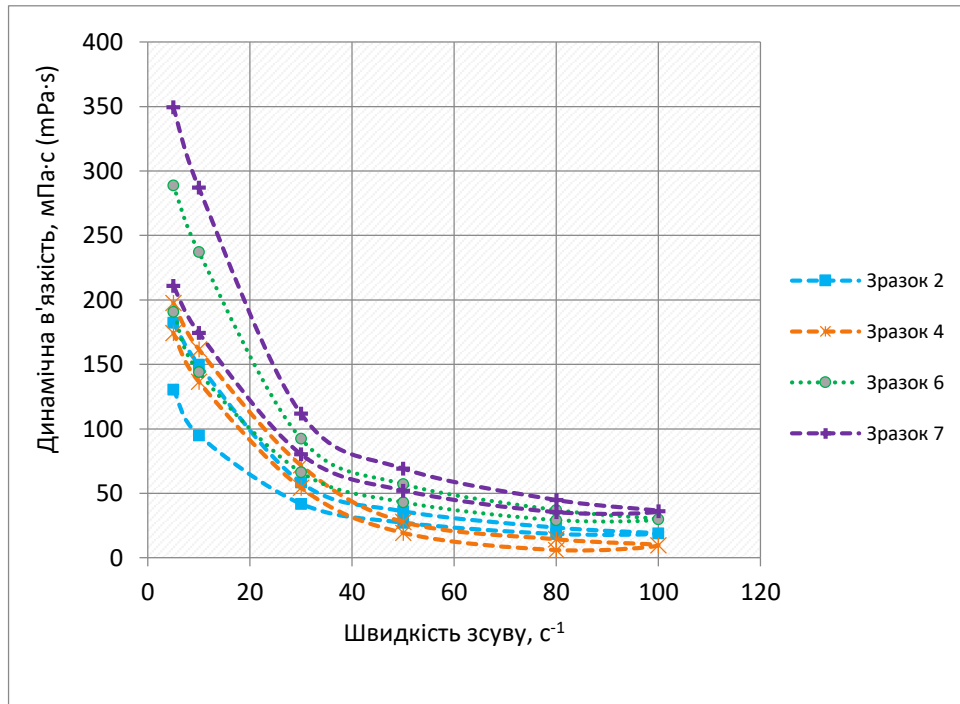


Рис. 3.4 – Криві течії матричних розчинів №2, №4, №6 і №7

Для всіх досліджуваних зразків встановлено зниження динамічної в'язкості зі збільшенням швидкості зсуву, що свідчить про псевдопластичний характер течії. Така реологічна поведінка є необхідною для аерозольних піноутворювальних систем, оскільки за умов високого зсуву під час проходження через клапан-актуатор композиція розріджується, що полегшує її евакуацію з контейнера. Після виходу з актуатора, за нижчих швидкостей зсуву, збереження або максимальне відновлення структурованості системи може забезпечити формування стабільної пінної структури.

За здатністю до відновлення після дії напруги зсуву досліджувані матричні розчини можна розташувати в такій послідовності: №7 < №6 < №2 < №4. Найвище значення відновлення системи встановлено для складу №4 – 88,24 %, що свідчить про найбільш ефективне відновлення структури після механічного навантаження у порівнянні з іншими досліджуваними зразками. Для складу №2

цей показник становив 71,57 %, що вказує на помірну здатність системи до відновлення, і ймовірно обумовлено нижчим вмістом стеаринової кислоти. Для складів №6 і №7 значення відновлення були нижчими – 66,08 % і 60,36 % відповідно, що свідчить про більш виражене порушення структури після дії зсуву та може бути пов'язано збільшеним вмістом стеаринової кислоти, твіну 80 та пропіленгліколю. Водночас найбільш оптимальним встановлено саме співвідношення компонентів у складі №4, що забезпечувало достатню структурованість матричної системи при низьких швидкостях зсуву, виражене розрідження при високому зсуві та найкращу здатність до структурного відновлення після припинення навантаження.

З урахуванням реологічних характеристик, здатності до деформації та прогнозованої технологічності евакуації з аерозольного контейнера, склад № 4 було обрано як найбільш перспективний для подальших досліджень піноутворювальних властивостей.

3.6 Вибір пропеленту та дослідження його впливу на технологічні властивості піни нашкірної

Пропелент є ключовим функціональним компонентом лікарського засобу, що знаходиться під тиском, оскільки забезпечує внутрішній тиск у контейнері, евакуацію вмісту через клапанно-розпилювальну систему та формування необхідного типу видачі препарату. Для пінних лікарських форм описано кілька груп пропелентів: зріджені вуглеводневі гази, стиснені гази, гідрофторалкани/гідрофторвуглеводні та історично – хлорфторвуглеводні (CFC) [187].

Хлорфторвуглеводні не є раціональним вибором для сучасної фармацевтичної розробки через їх озоноруйнівний потенціал. CFC належать до озоноруйнівних речовин, а їх виробництво і споживання регулюються Монреальським протоколом щодо речовин, які руйнують озоновий шар [117].

Для нашкірних аерозолів доцільними пропелентами є вуглеводневі пропеленти – пропан, бутан, ізобутан або їх суміші, оскільки вони мають низьку реакційну здатність, технологічно придатні для водовмісних систем і дозволяють регулювати тиск пари та характер видачі продукту. Основним обмеженням цієї групи є займистість, що потребує відповідних заходів безпеки. Перевагою суміші пропан-бутан-ізобутан є можливість поєднати властивості компонентів із різною леткістю: пропан забезпечує необхідний тиск і повнішу евакуацію вмісту, бутан пом'якшує видачу, а ізобутан додатково стабілізує газову фазу та характер формування піни. Саме тому така суміш є технологічно обґрунтованою для нашкірної піни [117, 190].

З урахуванням технологічних вимог для модельних зразків як пропелент було обрано суміш насичених вуглеводнів - пропан-бутан-ізобутан. Доцільність використання такої суміші обумовлена можливістю регулювання тиску пари, густини, ступеня займистості та характеру евакуації вмісту з контейнера. У патентних джерелах для фармацевтичних піноутворювальних композицій описано застосування суміші бутану, ізобутану та пропану як переважного пропеленту; рекомендований вміст такої суміші може становити 20-60% w/w [189].

Кількість пропеленту розглядали як один із критичних технологічних параметрів, що визначає якість функціонування готового аерозолу. Недостатня його кількість може призводити до неповного витиснення препарату, різкої або нестабільної видачі та зниження відсотка виходу вмісту з балона. Надмірний вміст пропеленту, навпаки, може порушувати оптимальне співвідношення рідкої та газової фаз, спричиняти шумний або переривчастий вихід піни, а також зменшувати ефективність евакуації препарату з контейнера [191].

Для експериментального обґрунтування кількості пропеленту використовували аерозольні балони об'ємом 200 мл. У кожен контейнер вносили 93 г основного розчину, після чого встановлювали аерозольний клапан із занурювальною трубкою та проводили герметизацію методом вальцювання. Для оптимізації вмісту пропеленту було обрано склад №7, який характеризувався

найбільшою в'язкістю серед досліджуваних матричних розчинів. Вибір найбільш в'язкої системи як модельного об'єкта обумовлений тим, що високов'язкі емульсійні композиції створюють найбільш критичні умови для евакуації препарату з контейнера та формування стабільної піни. Таким чином, забезпечення належних пінних та технологічних характеристик для складу №7 дозволяло розглядати обраний вміст пропеленту як придатний і для менш в'язких систем, які мають нижчий гідродинамічний опір при виході з аерозольного контейнера.

Заповнення балонів сумішшю пропану, бутану та ізобутану здійснювали через клапан за допомогою газового насоса. У процесі виготовлення дослідних зразків контролювали масу основного розчину, кількість внесеного пропеленту, тиск у контейнері, якість закупорювання та герметичність балонів.

З метою встановлення оптимального співвідношення між матричним розчином і газовою фазою було виготовлено серію зразків із різним вмістом пропеленту – від 29,75 до 40,25 г на контейнер. Оцінювання проводили за такими показниками: тип видачі піни, тиск у балоні, відсоток видачі вмісту та загальна технологічна характеристика системи. Результати дослідження наведено в таблиці 3.10.

Аналіз отриманих результатів показав, що зміна кількості пропеленту в контейнері істотно впливає на функціональні характеристики аерозольної системи. При внесенні 29,75 г пропеленту спостерігали різкий характер видачі піни та недостатньо високий відсоток евакуації вмісту – $79,86 \pm 3,76$ %. Такий результат свідчить про те, що за мінімальної кількості газової фази система не забезпечує повноцінного й рівномірного витиснення матричного розчину з контейнера.

Збільшення маси пропеленту до 31,50 г супроводжувалося зростанням відсотка видачі до $87,84 \pm 6,89$ %, однак характер виходу залишався різким і переривчастим. Отже, зазначена кількість пропеленту частково покращує евакуацію препарату, але ще не забезпечує стабільної роботи клапанно-розпилювальної системи.

Таблиця 3.10 – Залежність технологічних характеристик піни нашкірної від кількості пропеленту в аерозольному контейнері, $n = 3$

№	Вміст пропеленту, г	Тиск у балоні, МПа	Тип видачі піни	Відсоток видачі, %	Характер розпилення	Споживчі властивості
1	29,75	0,4	Різкий	$79,86 \pm 3,76$	Нестабільна видача	Мала площа розпилення; пляма розтікається, площа розпилення 2 см
2	31,50	0,4	Різкий, переривчастий	$87,84 \pm 6,89$	Нерівномірна евакуація	Мала площа розпилення; пляма розтікається, площа розпилення 2 см
3	33,25	0,4	Плавний	$93,89 \pm 2,99$	Прийнятний	Площа розпилення 4 см
4	35,00	0,4	Плавний	$94,02 \pm 1,44$	Оптимальний	Площа розпилення 5 см
5	36,75	0,4	Плавний	$93,49 \pm 2,53$	Прийнятний	Площа розпилення 5 см
6	38,50	0,4	Шумний, переривчастий	$76,99 \pm 7,41$	Нерівномірна евакуація	Низький вихід піни з контейнера, площа розпилення 7 см
7	40,25	0,4	Шумний, переривчастий	$78,87 \pm 6,79$	Нерівномірна евакуація	Низький вихід піни з контейнера, площа розпилення 7 см

Найбільш раціональні технологічні показники були встановлені для зразків, що містили 33,25–36,75 г пропеленту. У цьому діапазоні видача піни була плавною, без виражених ознак переривчастості, а відсоток виходу вмісту становив $93,89 \pm 2,99$ % та $94,02 \pm 1,44$ % відповідно. Максимальне значення показника видачі було отримано для зразка з 35,00 г пропеленту. Цей варіант також характеризувався найбільш стабільним типом виходу піни, що свідчить про оптимальне співвідношення між матричним розчином, зрідженою газовою фазою та вільним об'ємом контейнера.

Подальше збільшення вмісту пропеленту до 38,50-40,25 г не призводило до покращення технологічних характеристик. Навпаки, за цих умов спостерігали шумну та переривчасту видачу, а відсоток евакуації вмісту знижувався до

76,99 ± 7,41 % і 78,87 ± 6,79 %. Імовірно, надлишкова кількість пропеленту спричиняє надто інтенсивне утворення газової фази після виходу препарату з контейнера, що порушує плавність видачі та знижує контрольованість процесу формування піни.

Таким чином, залежність між кількістю пропеленту та відсотком видачі вмісту мала нелінійний характер. Збільшення вмісту пропеленту до певного рівня покращувало евакуацію препарату, однак перевищення оптимального діапазону супроводжувалося погіршенням роботи аерозольної системи. Це підтверджує необхідність вибору пропеленту не лише за величиною тиску в контейнері, а й за сукупністю технологічних показників, зокрема характером видачі, рівномірністю виходу піни та повнотою евакуації продукту.

Додатково було проведено оцінку сумісності основного розчину з обраною сумішшю пропелентів. Для цього основний розчин розфасовували у прозорі скляні контейнери, заповнювали пропелентом, герметично закупорювали та витримували за різних температурних умов. Візуальну оцінку здійснювали протягом 14 діб за показниками зміни кольору, наявності осаду та утворення кристалів. Результати наведено в таблиці 3.11.

Таблиця 3.11 – Візуальна оцінка сумісності системи «основний розчин – пропелент» впродовж 14 діб

Умови зберігання	Опис системи	Зміна кольору розчину	Наявність осаду	Наявність кристалів
25 ± 0,5 °C	Піна від білого до світло-жовтого кольору, статично стабільна на поверхні	Відсутня	Відсутній	Відсутні
37 °C	Піна від білого до світло-жовтого кольору, статично стабільна на поверхні	Відсутня	Відсутній	Відсутні

За результатами спостереження встановлено, що за температури 25 °C та 37 °C система «основний розчин-пропелент» зберігала фізичну стабільність. У дослідних зразках не виявляли зміни кольору, осаду або кристалізації компонентів. Це свідчить про сумісність обраної суміші пропелентів із

компонентами основного розчину за умов кімнатного зберігання та помірного температурного навантаження.

Отже, за результатами проведеного експерименту встановлено, що найбільш доцільним для піни нашкірної є використання суміші пропану, бутану та ізобутану в кількості 35,00 г на контейнер об'ємом 200 мл, що містить 93,0 г основного розчину. За такого співвідношення забезпечується плавна видача піни, стабільна робота клапанно-розпилювальної системи, робочий тиск близько 0,4 МПа та максимальний відсоток виходу вмісту – $94,02 \pm 1,44$ %. Обраний вміст пропеленту був використаний у подальших дослідженнях фізико-хімічних, реологічних, макроскопічних та мікроскопічних властивостей піни нашкірної.

3.7 Макроскопічна оцінка піни нашкірної

Макроскопічна оцінка утвореної піни є важливим етапом фармацевтичної розробки нашкірної аерозольної лікарської форми, оскільки об'ємне розширення, однорідність, густина та стабільність піни визначають її здатність рівномірно розподілятися на поверхні шкіри, утримувати активні речовини в місці нанесення та забезпечувати прийнятні споживчі властивості. За даними літератури, макроскопічні зміни піни, зокрема зменшення її об'єму, виділення рідини та руйнування пінної структури, безпосередньо пов'язані з процесами дренажу, коалесценції та втрати газової фази. Тому для характеристики пінних систем доцільно оцінювати не лише візуальні ознаки, а й кількісні показники: об'ємне розширення піни, руйнування піни, об'ємну стабільність, відносну густину та час досягнення максимального об'єму. Європейська фармакопея для пін лікувальних передбачає визначення відносної густини піни та часу розширення, що підтверджує доцільність включення цих показників до програми контролю якості розроблюваної нашкірної піни [168, 193, 192].

Стабільність піни можна збільшити шляхом додавання поверхнево-активних речовин (ПАР), а також допоміжних речовини, що стабілізують піну

[194, 195]. Збільшення в'язкості рідкої фази за допомогою полімерних сполук може призвести до стабілізації структури піни. Наприклад, полімери, що використовуються в пінах, можуть бути природними полімерами (ксантанова камедь, агар-агар, трагакант); кислотними полімерами (пальмітинова кислота, стеаринова кислота) та напівсинтетичними полімерами (ефіри целюлози тощо) [196]. Стабільність піни, а отже і забезпечення її належної якості, є ключовою та першочерговою вимогою при розробці лікарських засобів, що знаходяться під тиском [197, 198].

Макроскопічну оцінку піни проводили шляхом візуального оцінювання за висотою, однорідністю, стабільністю та кольором [196]. Піноутворювальні властивості аерозольних розчинів оцінювали за наступними параметрами: об'ємне розширення (*Foam Expansion, FE*); руйнування піни (*Foam Liquid Drainage, FLD*); об'ємна стабільність піни (*Foam Volume Stability, FVS*); відносна густина піни (*Relative Foam Density, RFD*) та час розширення (*Duration of Expansion, DE*) на приладі для визначення часу розширення за ДФУ 2.0 [130, 152].

Результати проведених випробувань наведено в таблиці 3.12.

Таблиця 3.12 – Піноутворювальні властивості досліджуваних зразків

Склад	Об'ємне розширення FE, (%)	Руйнування піни, FLD (%)	Об'ємна стабільність піни, FVS (%)	Відносна густина піни, RFD	Час розширення, DE, с
№1	180±3,12	25±0,3	75±2,31	0,3554	30–40
№2	190±4,27	22±0,4	78±1,84	0,4037	60–70
№3	195±5,63	20±0,2	80±2,18	0,4568	90–100
№4	210±2,88	10±0,2	90±1,52	0,6012	100–110
№5	188±3,72	23±0,4	77±0,19	0,3861	60–70
№6	192±4,05	21±0,6	79±2,07	0,4271	70–80
№7	185±9,20	24±0,3	76±3,75	0,3622	20–30

Проведеними дослідженнями було встановлено, що показник об'ємного розширення піни FE варіював у межах від $180 \pm 3,12$ % для складу №1 до $210 \pm 2,88$ % для складу №4. Це свідчить, що склад №4 формував найоб'ємнішу піну, тоді як склад №1 мав найменше розширення. Середні значення FE у інших складів (№2, №3, №5, №6 та №7) були проміжними, з тенденцією до підвищення в міру оптимізації рецептурних компонентів. Показник стійкості піни FLD був найнижчим у складі №4 ($10 \pm 0,2$ %), що вказує на найменше руйнування піни та найвищу стабільність піни. У порівнянні з ним склади №1 і №7 мали більше руйнування піни ($25 \pm 0,3$ % та $24 \pm 0,3$ % відповідно), що свідчить про менш стабільну піну. Інші склади (№2, №3, №5, №6) проявили помірні значення FLD в межах 20–23 %, що відповідає середній стабільності піни. Показник стабільності піни FVS для зразку № 4 мав $90 \pm 1,52$ % початкового об'єму, що є найвищим значенням серед усіх. Склад №1 показав $75 \pm 2,31$ %, а №7 – $76 \pm 3,75$ %, що вказує на менш стійку структуру піни. Інші склади проявили проміжні значення FVS (78–80 %), що свідчить про середній рівень стабільності. Результати вимірювання відносної густини піни (RFD) показали, що для складу №4 (0,6012) формується структурно впорядкована та щільна пінна структура. Нижчі значення RFD спостерігалися для складів №1 (0,3554) і №7 (0,3622), що відповідає меншій здатності утримувати рідину у матриці піни. Інші склади (№2, №3, №5, №6) мали проміжні значення RFD у межах 0,38–0,45. Таким чином, серед досліджуваних складів зразок №4 виявився оптимальним, поєднуючи максимальне об'ємне розширення піни, мінімальне руйнування піни, найвищу стабільність та відносну густину. Інші склади демонстрували проміжні значення піноутворювальних властивостей, що свідчить про вплив рецептурного складу на фізико-хімічну поведінку піни. Аналіз отриманих результатів часу розширення DE показав, що тривалість розширення піни для досліджуваних зразків знаходилась у межах 20-10 с, усі зразки досягали максимального об'єму менш ніж за 5 хв, що відповідає фармакопейним вимогам та підтверджує належні піноутворювальні властивості розроблених композицій.

3.8. Мікроскопічний аналіз піни нашкірної

Мікроскопічний аналіз пінної структури є важливим показником до макроскопічної оцінки піни, оскільки дозволяє встановити зв'язок між рецептурним складом, розміром і розподілом газових бульбашок, однорідністю пінної системи та її стабільністю. За даними літератури, розмір бульбашок і ширина їх розподілу впливають на фізичну стабільність піни, оскільки процеси дренажу рідкої фази, коалесценції та диспропорціонування супроводжуються укрупненням бульбашок, зменшенням однорідності структури та подальшим руйнуванням піни. Дисперсність є важливою характеристикою пінних систем, оскільки вона відображає особливості розподілу газової фази у рідкому дисперсійному середовищі. Цей показник характеризується розмірами газових бульбашок, їх фракційним складом, однорідністю розподілу та ступенем полідисперсності системи. Дрібнодисперсна та відносно однорідна пінна структура зазвичай свідчить про ефективне диспергування газової фази, тоді як надмірна полідисперсність і поява великих бульбашок можуть бути ознаками нестійкості міжфазних плівок і прискореного руйнування пінної системи [168, 193, 192].

Тому при розробці нашкірної аерозольної піни мікроскопічне дослідження доцільно використовувати для підтвердження результатів макроскопічної оцінки, зокрема показників об'ємного розширення, відтоку рідини, об'ємної стабільності та відносної густини піни.

Мікроскопічний аналіз проводили за допомогою світлового бінокулярного мікроскопа ZEISS Primo Star (Carl Zeiss, Німеччина) у режимі світлого поля при загальних збільшеннях $\times 40$ та $\times 100$ (об'єктиви $\times 4$ та $\times 10$ відповідно). Отримання, обробку та збереження мікрофотографій здійснювали з використанням програмного забезпечення ZEISS ZEN (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Німеччина). Вимірювання здійснювали в контрольованому температурному діапазоні 23-25°C, що підтримувався протягом усього експерименту.

Мікроскопічне дослідження структури досліджуваних зразків піни наведено на рисунку 3.5 показало, що її фізико-механічні властивості визначаються як типом і концентрацією піноутворювачів емульгаторів та стабілізаторів, а також їх рецептурами. Для складу №1 було встановлено найбільшу кількість бульбашок та переважання дрібнодисперсної фракції

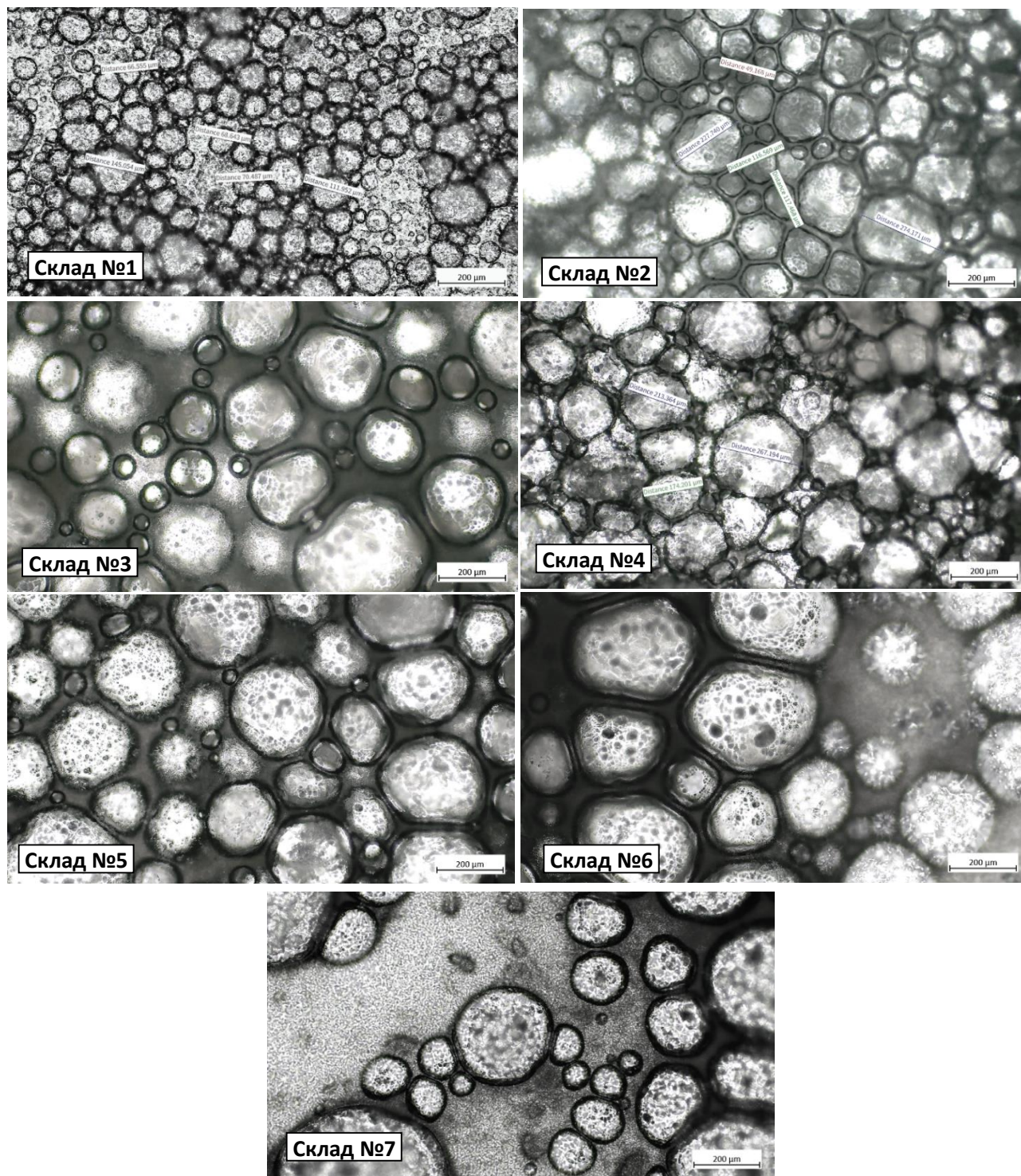


Рис. 3.5 – Мікроскопічні дослідження структури досліджуваних зразків піни

10-100 мкм, що свідчить про інтенсивне диспергування газової фази. Водночас цей склад мав найвищий показник руйнування – 25% та найнижчу об'ємну стабільність піни – 75%, що може вказувати на недостатню міцність міжфазних плівок і швидше руйнування пінної структури. Це означає, що піна добре аерується, але її міжфазні плівки або структурна в'язкість рідкої фази недостатні для утримання водної фази між бульбашками.

Для складів №5 і №6 спостерігалось зменшення загальної кількості бульбашок та збільшення частки великих газових включень. Такий мікроструктурний профіль може бути пов'язаний із коалесценцією, утворенням рідкої фази та недостатнім стабілізуванням межі «газ–рідина». Особливо це помітно для складу №6, де середній діаметр бульбашок був найбільшим, а частка бульбашок понад 200 мкм – найвищою.

Спостерігається чітка залежність між об'ємним розширенням піни FE, відносною густиною RFD, стійкістю FLD та об'ємною стабільністю FVS. Зразок №1 характеризується невеликими бульбашками розміром від 50 мкм до 150 мкм, що забезпечує помірну стабільність (FVS 75%) і стійкість (FLD 25%). У зразків №2 та №3 зростає об'єм піни та розмір бульбашок (від 50 мкм до 300 мкм), що призводить до зменшення стійкості (FLD 22% та 20%) при одночасному збільшенні стабільності (FVS 78% та 80%). У зразку №4 встановлено розмір бульбашки в межах від 100 мкм до 300 мкм, що визначає високу стабільність FVS 90 %, проте найнижчу стійкість FLD 10 %, а відносна густина піни досягає максимальних 0,6012, що свідчить про щільну структуру. Склади №5 та №6 демонстрували проміжні значення розміру бульбашок від 50 мкм до 250 мкм, забезпечуючи баланс між стійкістю (FLD 23% та 21%) і стабільністю (FVS 77% та 79%), тоді як зразок №7 має невеликі бульбашки розміром від 20 мкм до 250 мкм, що забезпечує помірну стійкість (FLD 24%) і стабільність (FVS 76%) (табл. 3.13).

Найбільш оптимальне співвідношення мікроскопічних і макроскопічних характеристик встановлено для складу №4. Його структура не є максимально дрібнодисперсною, однак вона характеризується помірною кількістю бульбашок, відносно низькою часткою великих включень і найкращими

показниками стабільності. Це свідчить, що стабільність піни визначається не лише розміром бульбашок, а й властивостями дисперсійного середовища: в'язкістю, міцністю міжфазної плівки, здатністю ПАР та структуроутворювачів формувати стабільну пінну матрицю. Для топічних пін такі параметри мають значення, оскільки вони впливають на час контакту зі шкірою, рівномірність нанесення та здатність утримувати лікарські речовини в зоні аплікації, а для дермальних пін розмір бульбашок, кількість бульбашок, об'ємне розширення піни та об'ємна стабільність піни розглядаються як важливі показники якості.

Таблиця 3.13 – Вплив компонентного складу на стабільність піни

Склад	Мікроструктура бульбашок	Середній діаметр, мкм	Щільність, бульб./мм ²	Пояснення
№1	Найбільша кількість дрібних бульбашок, середній діаметр $\approx 57,6$ мкм	57,6	123	Добре спінювання, але слабка стабілізація плівок. Відсутність стеаринової кислоти й високий пропіленгліколю сприяють швидкому руйнуванню
№2	Дрібнодисперсна структура, середній діаметр $\approx 68,7$ мкм	68,7	69	Стабільність вища, ніж у №1, завдяки вмісту стеаринової кислоти та зниженню вмісту пропіленгліколю
№3	Менша кількість бульбашок, середній діаметр $\approx 101,2$ мкм	101,2	48	Формується щільніша й повільніше руйнована піна, але низький вміст твіну 80 обмежує диспергування газової фази
№4	Помірно дрібна, збалансована структура, середній діаметр $\approx 93,7$ мкм	93,7	61	Найкращий баланс емульгування, структуроутворення та утримання рідкої фази
№5	Більші бульбашки, середній діаметр $\approx 113,8$ мкм	113,8	41	Надлишок цетостеарилового спирту без достатньої кількості твіну 80 не забезпечує оптимального покриття міжфазної поверхні
№6	Найбільший середній діаметр $\approx 121,8$ мкм; значна частка великих бульбашок	121,8	31	Високий вміст пропіленгліколю і незначний вміст цетостеарилового спирту послаблюють структурну стабілізацію
№7	Нерівномірна структура, середній діаметр $\approx 87,0$ мкм	87	42	Високий вміст твіну 80 забезпечує швидке спінювання, але відсутність цетостеарилового спирту не дає стабільної дисперсної структури

Найоптимальніші властивості встановлено для складу №4: відсутні бульбашки розміром ≥ 300 мкм та найкращі функціональні показники: FE 210%, FLD 10%, FVS 90%, RFD 0,6012, DE 100–110 с. Це вказує на те, що в цьому складі сформована більш стійка пінна система: газова фаза добре утримується, дренаж рідкої фази мінімальний, а піна не руйнується швидко після утворення. Розподіл модельних зразків пінних систем за розмірами газових бульбашок наведено на рисунку 3.6.

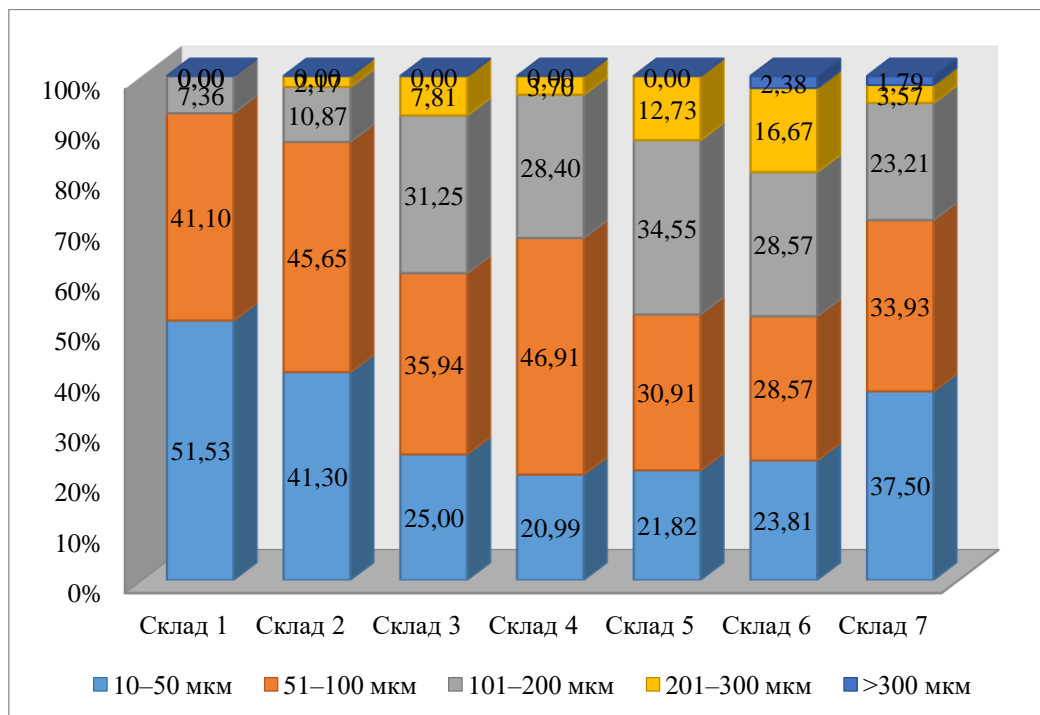


Рис. 3.6 – Розподіл модельних пінних систем за розмірами газових бульбашок

Загалом, проведення мікроскопічного аналізу показало оптимальне співвідношення між механічною нестійкістю, стабільністю та стійкістю спостерігається у зразках із середнім об'ємом розширення (склади №2, №4 та №5), що з технологічної та колоїдно-хімічної точки зору забезпечує найбільш раціональний баланс між піноутворенням, стабільністю, дисперсністю бульбашок та сенсорними характеристиками піни та відповідає вимогам до наскірних пін фармацевтичного призначення. Таким чином, тип і вміст піноутворювачів, емульгаторів та стабілізаторів є визначальними факторами, що

формують мікроструктуру та фізико-механічні властивості піни, дозволяючи прогнозувати її поведінку, зокрема легкість формування, структурну стійкість та здатність утримувати рідину. Це забезпечує ефективне нанесення на шкіру при збереженні стабільності піни після формування.

В результаті дослідження піноутворювальних властивостей (FE, FLD, FVS, RFD, DE) встановлено, що склад №4 характеризується максимальним об'ємним розширенням піни (210%), найнижчим виділенням рідини (10%), найвищою стабільністю (90%) та відносною густиною (0,6012), що свідчить про формування найбільш стабільної та структурно впорядкованої пінної системи.

3.9. Фізико-хімічні дослідження піни нашкірної

Завершальним етапом дослідження 7 розроблених складів нашкірної піни було проведення органолептичної оцінки та фізико-хімічних досліджень з подальшою фіналізацією та узагальненням результатів експерименту.

Для цієї фармацевтичної композиції важливими є не лише фізико-хімічна стабільність композиції, а й здатність вмісту рівномірно евакуюватися з контейнера, формувати стабільну піну з належними органолептичними характеристиками та забезпечувати коректну роботу клапанно-розпилювальної системи.

У зв'язку з цим дослідження включало оцінку зовнішнього вигляду зразків, вимірювання внутрішнього тиску в контейнері, перевірку герметичності, визначення виходу вмісту з контейнера, контроль функціонування клапана і насадки, а також органолептичну характеристику утвореної піни. З метою порівняльної оцінки розроблених складів нашкірної піни отримані результати було систематизовано та наведено в таблиці 3.14.

За результатами контролю модельних складів піни нашкірної встановлено, що всі зразки мали світло-жовтий колір, внутрішній тиск у контейнері 0,4 МПа, були герметичними та забезпечували вихід вмісту лише через отвір насадки.

Таблиця 3.14 – Результати оцінки фізико-хімічних і функціональних показників досліджуваних складів нашкірної піни

Показники контролю	Склад №1	Склад №2	Склад №3	Склад №4	Склад №5	Склад №6	Склад №7
Опис	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору
Вимірювання тиску всередині контейнера	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа
Перевірка контейнера на герметичність	Герметичні	Герметичні	Герметичні	Герметичні	Герметичні	Герметичні	Герметичні
Визначення виходу вмісту контейнера	87,6 %	91,2 %	86,7 %	94,1 %	82,6 %	88,4 %	80,5 %
Перевірка клапана і насадки	Вміст контейнеру виходить тільки через отвір насадки	Вміст контейнеру виходить тільки через отвір насадки	Вміст контейнеру виходить тільки через отвір насадки	Вміст контейнеру виходить тільки через отвір насадки	Вміст контейнеру виходить тільки через отвір насадки	Вміст контейнеру виходить тільки через отвір насадки	Вміст контейнеру виходить тільки через отвір насадки
Органолептичні і показники	Висока в'язкість через 20 % пропіленгліколю, піна м'яка, але нестійка	Збалансований склад, густа стабільна кремopodobна піна	Піна більш щільна, менш об'ємна, повільно формується	Оптимальна текстура, стабільна, еластична, кремopodobна піна	Дуже щільна піна, ускладнене рівномірне розпилення з клапана	Стабільна, але менш щільна піна; вихід з контейнера має бути достатній	Легка, менш структурована піна, швидко осідає

Вихід вмісту контейнера становив 80,5-94,1 %. Найвище значення цього показника встановлено для складу №4 - 94,1 %, найнижче – для складу №7 – 80,5 %.

За результатами органолептичної оцінки досліджуваних 7 зразків піни було встановлено, що високий вміст пропіленгліколю (20%) у складі №1 призводить до підвищення в'язкості розчину, вміст цетостеарилового спирту (2%) дозволяє отримати кремopodobну структуру, а відсутність стеаринової кислоти призводить до швидкої дестабілізації бульбашок, піна утворюється м'яка, але не стійка. Збалансований вміст цетостеарилового спирту (1,5%) та стеаринової кислоти (3,5%), а також вміст твіну 80 (1%) і пропіленгліколю (15%) дозволяє одержувати густу, стабільну та кремopodobну структуру піни. Для

складу №3 високий вміст стеаринової кислоти (4%), низький вміст твіну 80 (0,5%) та зменшення вмісту пропіленгліколю (12%) призводить до утворення менш об'ємної та більш щільної піни, яка повільно формується. Для складу №4 було встановлено, що вміст стеаринової кислоти (5%), цетостеарилового спирту (1,5%) та пропіленгліколю (10%) дозволяє одержувати стабільну, еластичну, кремоподібну піну з оптимальною текстурою. Було встановлено, що утворена піна складу №5 дуже щільна, що заважає рівномірному розпиленню з клапана балона аерозолі. Для складу №6 встановлено, що одержана піна стабільна, але менш щільна. Відсутність цетостеарилового спирту (ключового стабілізатора піни) у складі №7 призвело до утворення легкої піни, але менш структурованої, яка швидко осідає. Таким чином, найбільш раціональним за сукупністю реологічних та піноутворювальних характеристик є склад №4, що містить збалансований вміст компонентів, які дозволяють забезпечити формування стабільної, кремоподібної та стійкої піни з оптимальною текстурою. Встановлено, що щільність, стабільність, кремоподібність та стійкість піни зумовлюються збалансованим співвідношенням функціональних допоміжних речовин, а саме: піноутворювача-емульгатора (твін-80), піноутворювача-стабілізатора (цетостеарилового спирту), емульгатора-загусника (стеаринової кислоти), а також в'язкістю дисперсійного середовища, яку формують пропіленгліколь, етанол 95% та вода очищена.

Таким чином, за сукупністю досліджуваних показників оптимальним визначено склад № 4 розробленої піни на шкірної під умовною назвою «ДОКСИПАНТ», технічне рішення щодо одержання якої захищено патентом України на корисну модель № 159275 «Спосіб отримання фармацевтичної композиції для лікування ран» [169].

Висновки до розділу 3

1. Розроблено цільовий профіль якості піни нашкірної на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу із застосуванням підходу Quality by Design; визначено цільові характеристики лікарського засобу, критичні показники якості та стратегію контролюю.

2. Обґрунтовано вибір системи розчинників для введення доксицикліну хіклату до складу матричного розчину; за результатами візуального скринінгу восьми модельних систем із концентраціями доксицикліну хіклату 3,0 %, 5,0 %, 7,5 % і 10,0 % протягом 28 діб за температур 25 ± 2 °C, 40 ± 2 °C та 5 ± 2 °C встановлено, що найбільш доцільною для подальших досліджень є система етанол : пропіленгліколь : вода у співвідношенні 2 : 10 : 88, яка забезпечувала стабільність розчину та знижувала ризик випадіння осаду.

3. Встановлено концентраційну залежність антимікробної активності модельних зразків піни нашкірної від вмісту доксицикліну хіклату; найбільші зони затримки росту тест-мікроорганізмів визначено для зразка з концентрацією доксицикліну хіклату 1,0 %, а саме $23,70 \pm 0,39$ мм для *E. coli* та $28,20 \pm 0,34$ мм для *S. aureus*.

4. Обґрунтовано вибір допоміжних речовин для формування піноутворювальної основи, зокрема цетостеарилового спирту як структуроутворювача, емоленга і підсилювача піноутворення, твіну 80 як неіоногенної поверхнево-активної речовини, стеаринової кислоти як емульгатора-загусника, пропіленгліколю як компонента дисперсійного середовища, метилпарабену і пропілпарабену як антимікробних консервантів, етанолу 95 % як розчинника та гідроксиду натрію як регулятора рН.

5. Реологічними дослідженнями модельних матричних розчинів підтверджено псевдопластичний характер їх течії, що є технологічно доцільним для пін нашкірних; серед досліджених зразків найбільш оптимальним визначено склад №4, для якого встановлено найвище відновлення структури після дії напруги зсуву – 88,24 %, тоді як для складів №2, №6 і №7 цей показник становив 71,57 %, 66,08 % і 60,36% відповідно.

6. Обґрунтовано вибір пропеленту для піни нашкірної; встановлено, що найбільш доцільним є використання суміші пропану, бутану та ізобутану в кількості 35,00 г на контейнер об'ємом 200 мл, що містить 93,0 г основного розчину, оскільки за такого співвідношення забезпечується плавна видача піни, стабільна робота клапанно-розпилювальної системи, робочий тиск близько 0,4 МПа та максимальний відсоток виходу вмісту – $94,02 \pm 1,44$ %.

7. Макроскопічною оцінкою утвореної піни за показниками об'ємного розширення, руйнування, об'ємної стабільності, відносної густини та часу розширення визначено оптимальний склад №4, для якого об'ємне розширення становило $210 \pm 2,88$ %, руйнування – $10 \pm 0,2$ %, об'ємна стабільність – $90 \pm 1,52$ %, відносна густина – 0,6012, а час розширення – 100–110 с, що підтверджує формування найбільш стабільної та структурно впорядкованої пінної системи.

8. Мікроскопічним аналізом підтверджено, що оптимальні властивості складу № 4 пов'язані зі збалансованою дисперсністю газових бульбашок, відсутністю бульбашок розміром ≥ 300 мкм, достатньою в'язкістю дисперсійного середовища та стабілізацією міжфазної плівки.

9. Розроблено та експериментально обґрунтовано склад піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» на основі доксицикліну хіклату 1,0 % і декспантенолу 5,0 % із застосуванням підходу Quality by Design; встановлено оптимальну систему розчинників етанол : пропіленгліколь : вода у співвідношенні 2 : 10 : 88, обґрунтовано вибір функціональних допоміжних речовин, визначено склад №4 як оптимальний за реологічними, піноутворювальними, мікроскопічними та фізико-хімічними показниками, а також підтверджено доцільність використання суміші пропану, бутану та ізобутану в кількості 35,00 г для забезпечення стабільного формування, контрольованої видачі та належних споживчих властивостей піни нашкірної.

РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ У ФОРМІ ПІНИ НАШКІРНОЇ З ДОКСИЦИКЛІНУ ХІКЛАТОМ ТА ДЕКСПАНТЕНОЛОМ

4.1. Проєкт специфікації контролю готового продукту «ДОКСИПАНТ», піна нашкірна

За результатами комплексу фармакотехнологічних, фізико-хімічних і мікробіологічних досліджень було розроблено склад та обґрунтовано технологію одержання піни нашкірної під умовною назвою «ДОКСИПАНТ». Основні показники якості розробленого піни нашкірної наведено в табл. 4.1.

Таблиця 4.1 – Специфікація якості готового продукту піни нашкірної «ДОКСИПАНТ»

№	Показник якості	Допустимі межі	Методики контролю
1	2	3	4
1	Опис	Піна від білого до світло-жовтого кольору	п. 1. МКЯ Візуально
2	Відносна густина піни	Має бути в межах 0,4810 до 0,7214.	П.2 МКЯ ДФУ 2.0, т. 2, загальна стаття «Піни лікувальні».
3	Час розширення	Час досягнення максимального об'єму в кожному визначенні не має перевищувати 5 хв.	п.3 МКЯ ДФУ 2.0, т. 2, загальна стаття «Піни лікувальні».
4	Ідентифікація		п. 4.1 мкя
	4.1 Доксидиклін	А. Спектр випробуваного розчину має бути візуально подібним спектру розчину порівняння, відповідні максимуми не мають відрізнятися більше ніж на 2 нм В. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння.	А. Абсорбційна спектрофотометрія в УФ області (ДФУ 2.0, 2.2.25). В. ВЕРХ (ДФУ, 2.2.29)
	4.2 Декспантенол	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманого при кількісному визначенні, час утримання піку декспантенолу має співпадати з	п. 4.2 мкя ВЕРХ (ДФУ, 2.2.29)

Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4	5
		часом утримування відповідного піку на хроматограмах розчину порівняння.		
5	Кількісне визначення 5.1 доксициклін 5.2 декспантенол	При випуску: Від 9,5 мг до 10,5 мг в 1 г Від 47,5 мг до 52,5 мг в 1 г.	Протягом терміну зберігання: Від 9,0 мг до 10,5 мг в 1 г Від 45,0 мг до 52,5 мг в 1 г.	п. 5.1 МКЯ, Абсорбційна спектрофотометрія в УФ області (ДФУ 2.0, 2.2.25). п. 5.2 МКЯ, ДФУ, 2.2.29, метод ВЕРХ
6	Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – не більше 10^2 КУО/мл; загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) – не більше 10^1 КУО/мл.		п. 7 МКЯ, ДФУ, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4.
7	Тиск всередині контейнера	Має бути 0,4 МПа.		п. 8 МКЯ ДФУ 2.0, т. 2, загальна стаття «Лікарські засоби, що знаходяться під тиском».
8	Вихід вмісту контейнеру	Критерій прийнятності: вихід має бути не менше 90 % від маси вмісту контейнера, що вказано на етикетці		п. 9 МКЯ ДФУ 2.0, т. 2, загальна стаття «Лікарські засоби, що знаходяться під тиском».
9	Герметичність контейнеру	Має бути герметичним		п. 10 МКЯ ДФУ 2.0, т. 2, загальна стаття «Лікарські засоби, що знаходяться під тиском».
10	Перевірка клапана і насадки	Клапан повинен відкриватися при натисканні пальцем на насадку і негайно герметично закриватися після припинення натискання на неї. Вміст контейнеру повинен виходити тільки через отвір насадки.		п. 11. МКЯ Візуально ДФУ 2.0, т. 2, загальна стаття «Лікарські засоби, що знаходяться під тиском».
11	Упакування та маркування	Контейнери мають бути без зовнішніх дефектів, клапани в робочому стані; з етикетками відповідно до затвердженого графічного макета.		п. 12 МКЯ
12	Термін і умови зберігання	2 роки. У контейнерах (балонах) алюмінієвих у пачці з картону.		П.13 Візуально

4.2. Розробка аналітичної методики кількісного визначення доксицикліну хіклату

У монографії Європейської фармакопеї на доксицикліну хіклат застосовується визначення питомого поглинання методом абсорбційної спектрофотометрії відповідно до Ph. Eur. 2.2.25, що підтверджує фармакопейну прийнятність УФ-спектрофотометричного підходу для характеристики цієї речовини [156, 157]. Крім того, у фармакопейних методиках USP для препаратів доксицикліну використовується УФ-детекція при 270 нм у складі рідинно-хроматографічного визначення, що додатково підтверджує аналітичну значущість цієї ділянки спектра для доксицикліну [158, 159].

Так, Nguyen і співавт. [160] застосовували УФ-спектрофотометричне визначення доксицикліну, тоді як Osman [161] розробив і валідував УФ-спектрофотометричну методику кількісного визначення доксицикліну хіклату у водному середовищі та фармацевтичних зразках.

Дослідження умов пробопідготовки при кількісному аналізі нашкірної піни (гель-маски, аерозольні піни, муси) є критично важливим етапом, оскільки такі лікарські форми є багатофазними системами, що містять високу кількість допоміжних речовин як: поверхнево-активні речовини (ПАР), піноутворювачі, розчинники та співрозчинники, стабілізатори, консерванти, підсилювачі проникнення, тощо, які заважають визначенню діючих речовин [145]. Для визначення доксицикліну у лікарських засобах найбільш застосовані хроматографічні методи, які є специфічними, але більшість описаних методів є трудомісткими та вимагають багатоступневих процедур екстракції [162].

Для оцінки вмісту доксицикліну у піні нашкірній розроблено метод УФ-спектрометрії, де важливим етапом стало обґрунтування процедури пробопідготовки. Складність цього етапу зумовлена специфікою матриці препарату, а саме піна нашкірна – складна дисперсійна система, утворена рідкою (основний розчин) та газовою (пропелент) фазами, багатодозова лікарська форма, що має забезпечити рівномірне видання піни з контейнеру та її стійкість.

Тому пробопідготовка при визначенні вмісту потребує повної деструкції піни та кількісного вилучення доксицикліну з багатокомпонентної основи.

Метою досліджень було вибір умов пробопідготовки при кількісному визначенні доксицикліну в піні нашкірній.

Оскільки піна нашкірна є комбінованою композицією, що містить доксициклін та декспантенол, то вирішували наступні задачі: підтвердження відсутності/незначного поглинання ультрафіолетового спектру для декспантенолу в межах від 200 нм до 320 нм; підтвердження відсутності/незначного поглинання ультрафіолетового спектру плацебо (допоміжних речовин) в межах від 200 нм до 320 нм; дослідження застосування різних розчинників (0,1 М НСІ, 0,05 М НСІ, вода очищена Р) для вилучення доксицикліну; підбір оптимальної концентрації досліджуваних розчинів доксицикліну; дослідження стабільності розчинів пробопідготовки.

Кількісне визначення вмісту доксицикліну хіклату визначали методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ області згідно з ДФУ, 2.2.25.

Розчин стандартного зразку доксицикліну хіклату. Близько 60,0 мг (точна наважка) стандартного зразку доксицикліну хіклату поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняли в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували. 1,0 мл приготовленого розчину поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. Вимірювали ультрафіолетовий спектр приготовленого розчину в межах від 200 нм до 320 нм використовуючи в якості компенсаційного розчину 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти в кюветі завдовжки 1 см.

Розчин стандартного зразку/субстанції декспантенолу. Близько 95,0 мг (точна наважка) стандартного зразку або субстанції декспантенолу поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняли у воді Р, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували. 1,0 мл приготовленого розчину поміщали в мірну колбу ємністю 25 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. Вимірювали

ультрафіолетовий спектр приготовленого розчину в межах від 200 нм до 320 нм використовуючи в якості компенсаційного розчину 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти в кюветі завдовжки 1 см.

Розчин плацебо. 5,0 мл розчину плацебо поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. Отриманий розчин фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату. 1,0 мл приготовленого розчину поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. Отриманий розчин фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату. Отриманий розчин повинен бути прозорим та придатним для проведення спектрофотометричного визначення. Вимірювали ультрафіолетовий спектр приготовленого розчину плацебо в межах від 200 нм до 320 нм використовуючи в якості компенсаційного розчину 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти в кюветі завдовжки 1 см.

Розчин порівняння доксицикліну хіклату. Близько 60,0 мг (точна наважка) стандартного зразку доксицикліну хіклату (РСЗ) поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняли в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували. 1,0 мл приготовленого розчину поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували.

Розчин А (декспантенол). Близько 95,0 мг (точна наважка) стандартного зразку або субстанції декспантенолу поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, розчиняли у воді Р, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували.

Розчин В (плацебо). 5,0 мл розчину плацебо поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. Отриманий розчин фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату.

Розчин С (матричні модельні розчини). Готували п'ять матричних модельних розчинів (№1, №2, №3, №4, №5). В кожену з п'яти мірних колб ємністю 50 мл поміщали по 60,0 мг (точна наважка) стандартного зразку (РСЗ) доксицикліну хіклату, розчиняли в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували.

У п'ять мірних колб ємністю 50 мл поміщали по:

- 1,0 мл приготовленого розчину С (№1 - №5);
- 2,0 мл розчину А;
- 1,0 мл розчину В;

доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. Отримані розчини фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату. Отримані розчини повинні бути прозорими та придатними для проведення спектрофотометричного визначення. Вимірювали оптичне поглинання розчину порівняння доксицикліну хіклату та кожного з п'яти матричних модельних розчинів в максимумі поглинання при довжині 270 нм. В якості компенсаційного розчину використовували 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти, вимірювання проводили в кюветі завдовжки 1 см. Обчислювали кількісний вміст доксицикліну хіклату для кожного з п'яти матричних модельних розчинів за формулою:

$$X_i = \frac{A_i \cdot m_{ст}}{A_{ст}}, \quad (4.1)$$

- де: A_i - середнє значення оптичної густини і-го матричного розчину;
 $m_{ст}$ - маса РСЗ доксицикліну хіклату, внесена для приготування розчину С для і-го матричного розчину, в міліграмах;
 $A_{ст}$ - середнє значення оптичної густини розчину порівняння доксицикліну хіклату;

Відомо, що вибір розчинника суттєво впливає на стабільність та кінетику деградації DOX [151]. Отже критичними параметрами було визначення ефективності вилучення DOX з піни нашкірної за допомогою різних розчинників та відсутність деградації DOX у пробі при проведенні визначення. Були

приготовані наступні розчини: стандартного зразку DOX, стандартного зразку DP, розчину плацебо з використанням розчинників 0,1 М HCl, 0,05 М HCl, воді очищеній Р (етап 1), розчину порівняння DOX, п'ять модельних розчинів з DOX різної концентрації для оцінки відтворення (етап 2).

На першому етапі провели вимірювання ультрафіолетових спектрів приготовлених розчинів в межах від 200 нм до 320 нм. Експериментально визначено, що оптимальним розчинником для вилучення DOX є 0,1 М HCl, в якому максимум поглинання DOX становить 270 нм. Поглинання отриманого ультрафіолетового спектру розчину стандартного зразку DP та поглинання отриманого ультрафіолетового спектру розчину плацебо в максимумі поглинання DOX є незначним, що дозволяє проводити дослідження кількісного вмісту DOX в обраних умовах пробопідготовки.

На другому етапі провели вимірювання оптичного поглинання розчину порівняння DOX та кожного з 5 модельних розчинів в максимумі поглинання 270 нм одразу після приготування та повторно через 60 хв. В якості компенсаційного розчину використали 0,1 М HCl. Визначали кількісний вміст DOX для кожного з модельних розчинів. Розраховано кількість наважки та оптимальну концентрацію для вимірювання оптичної густини DOX. Встановлено, що DOX у кінцевому розведенні через 60 хв піддається незначній деградації, тому вимірювання оптичної густини необхідно проводити після приготування проби.

Результати спектрів поглинання в діапазоні від 200 нм до 320 нм для доксицикліну хіклату, декспантенолу та розчину плацебо (суміш всіх допоміжних речовин) в трьох розчинниках різної концентрації: 0,1М HCl; 0,05М HCl та вода очищена Р представлено на рисунках 4.6-4.8.

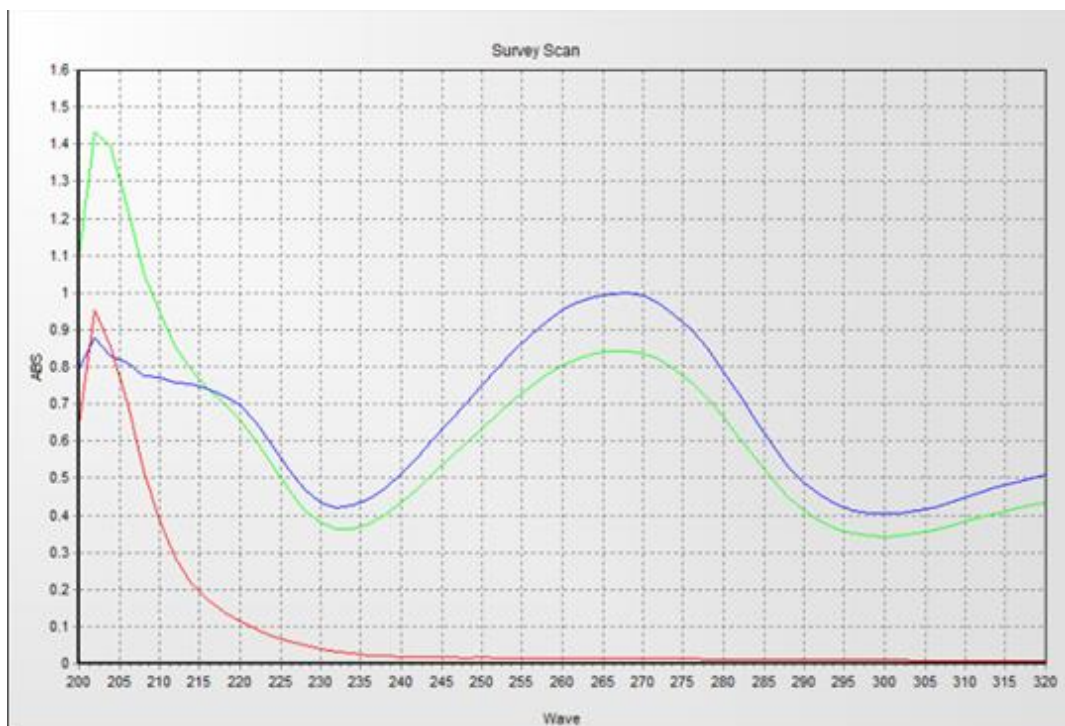


Рисунок 4.6 – УФ спектри поглинання в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти: розчин доксицикліну хіклату (синій); розчин препарату (зелений); розчин декспантенолу (червоний).

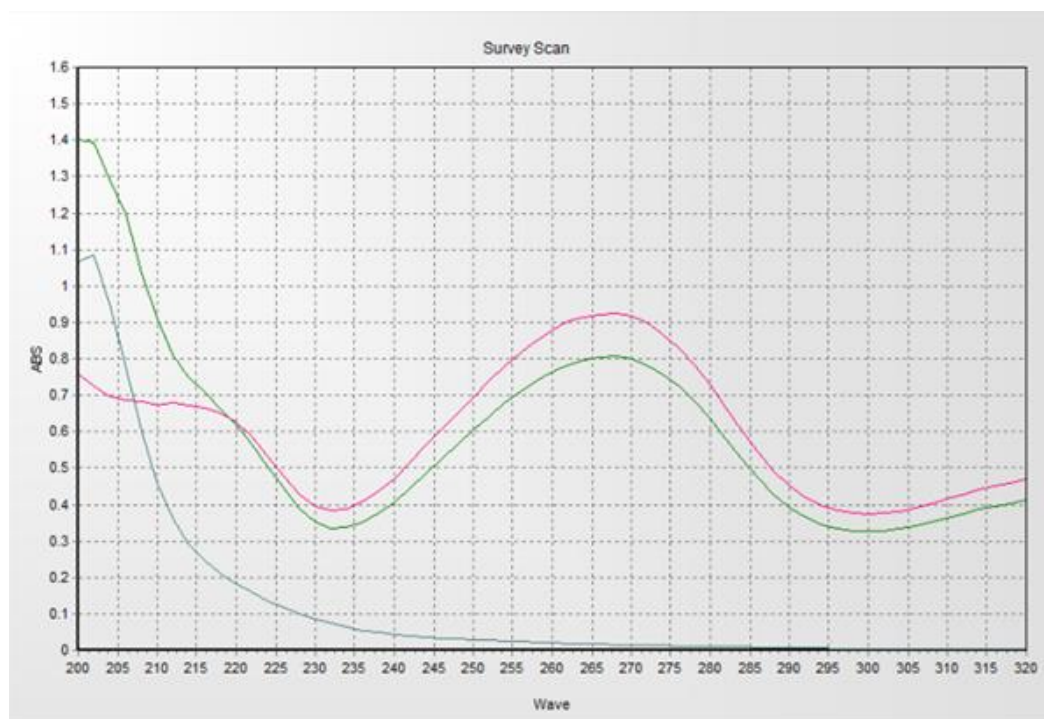


Рисунок 4.7 – УФ спектри поглинання в 0,05 М розчині хлористоводневої кислоти: розчин доксицикліну хіклату (рожевий); розчин препарату (зелений); розчин декспантенолу (голубий).

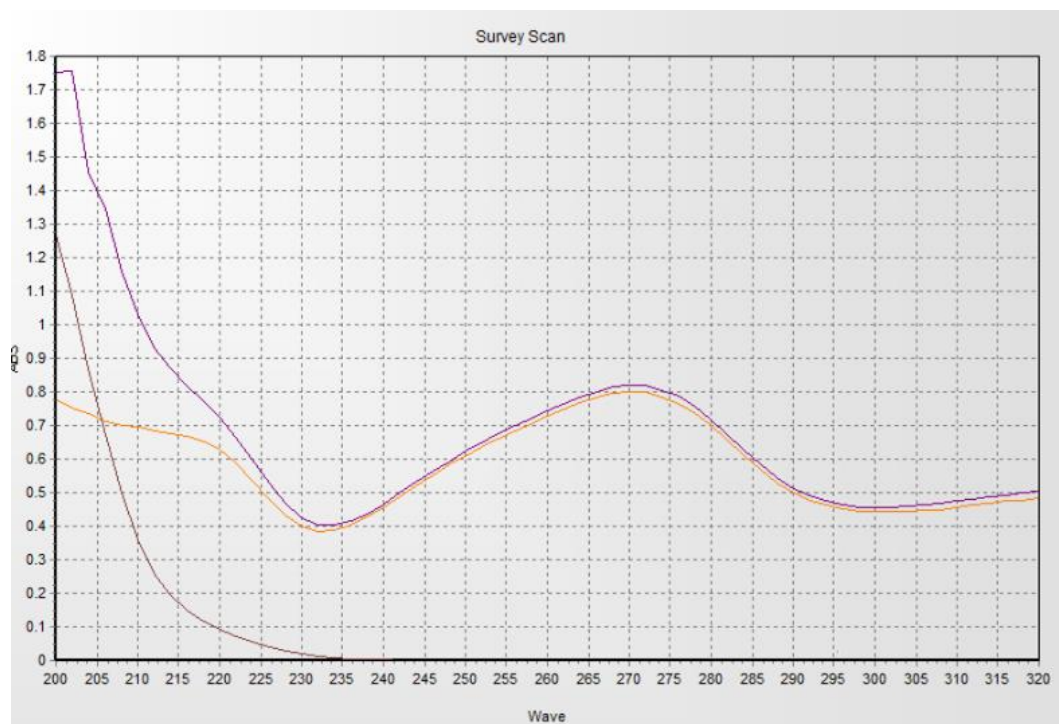


Рисунок 4.8 – УФ спектри поглинання у воді очищених: розчин доксицикліну хіклату (фіолетовий); розчин препарату (оранжевий); розчин декспантенолу (коричневий).

Як видно з наведених рисунків 3.2-3.4, максимум поглинання для декспантенолу спостерігається в діапазоні 200-205 нм, тоді як для доксицикліну хіклату характерний максимум поглинання в області 265-270 нм. Зміна середовища розчинення не здійснює суттєвого впливу на положення максимумів поглинання, однак більш інтенсивний та стабільний аналітичний сигнал для доксицикліну хіклату та декспантенолу спостерігається у 0,1 М розчині хлоридної кислоти. Тому, для подальших досліджень нами було обрано як оптимальне середовище 0,1 М розчин HCl в ультрафіолетовій області спектра за довжини хвилі 270 нм. Дослідження проводили відповідно до методики, наведеної у розд. 2, п. 2.4. Результати кількісного визначення доксицикліну хіклату в матричних розчинах наведено в таблиці 4.2

Отримані значення відсоткового вмісту знайденої кількості доксицикліну хіклату в матричних розчинах знаходяться в межах 99,46–100,12 %, середнє значення – $99,84 \pm 0,27$ %, при RSD – 0,27 %. Отримані результати свідчать про відсутність суттєвого впливу компонентів матриці на спектрофотометричне

Таблиця 4.2 – Кількісний вміст доксицикліну хіклату в матричних розчинах (n = 5; P = 95%)

Матричний розчин	Маса РСЗ доксицикліну хіклату, внесена для і-го матричного розчину С, мг	Знайдена кількість доксицикліну хіклату в матричному розчині, мг	
		мг	%
№ 1	60,12	60,01	99,82
№ 2	59,48	59,55	100,12
№ 3	61,14	60,97	99,72
№ 4	60,57	60,24	99,46
№ 5	60,27	60,31	100,07
$X_{\text{сер}} \pm SD$	$60,32 \pm 0,61$	$60,22 \pm 0,52$	$99,84 \pm 0,27$
RSD, %	1,01	0,86	0,27

визначення доксицикліну хіклату та підтверджують придатність УФ-спектрофотометричного методу для його кількісного визначення в присутності декспантенолу і допоміжних речовин пінної основи.

Випробуваний розчин (піна на шкірні). Близько 0,5 г (точна наважка) препарату, еквівалентного 5,0 мг доксицикліну хіклату, звільненого від пропеленту, поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. 5,0 мл приготовленого розчину поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, доводили об'єм розчину 0,1 М розчином хлористоводневої кислоти до мітки та перемішували. Отриманий розчин фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату. Отриманий розчин повинен бути прозорим та придатним для проведення спектрофотометричного визначення.

Вимірювали оптичне поглинання для розчину порівняння доксицикліну хіклату та випробуваного розчину в максимумі поглинання 270 нм в кюветі завдовжки 1 см. В якості компенсаційного розчину використовували 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти. Для кожного розчину отримували не менше ніж по 3 значення оптичної густини з перевстановленням або з перенаповненням кювети. Результати вважалися придатними, якщо для кожного розчину відносно стандартне відхилення значень оптичної густини було: не більше 0,6% для трьох

визначень, не більше 0,9% для чотирьох визначень, не більше 1,2% для п'яти визначень.

Вміст доксицикліну хіклату (X), мг/г обчислювали за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 5 \cdot P_0 \cdot 100}{A_0 \cdot 50 \cdot m_1 \cdot 50 \cdot 10}, \quad (4.2)$$

де: A_1 - середнє значення оптичної густини випробуваного розчину;

m_0 - маса наважки РСЗ доксицикліну хіклату, в міліграмах;

P_0 - кількісний вміст основної речовини доксицикліну хіклату в РСЗ доксицикліну хіклату за сертифікатом, %. Якщо в сертифікаті вказаний кількісний вміст доксицикліну хіклату у перерахунку на суху речовину, то P_0 визначають за формулою:

$$P_0 = \frac{P_{dry} \cdot (100 - W - RS)}{100},$$

де: P_{dry} - вміст основної речовини (доксицикліну хіклату) у РСЗ у перерахунку на суху речовину згідно з сертифікатом, %; W - вміст води в РСЗ за сертифікатом, або визначений відповідним методом, %; RS - вміст етанолу та інших органічних розчинників в РСЗ за сертифікатом, або визначений відповідним методом, %;

A_0 - середнє значення оптичної густини розчину порівняння;

m_1 - маса наважки препарату, в грамах.

Результати кількісного визначення доксицикліну хіклату в піні нашкірній наведено в табл. 4.3.

Таблиця 4.3 – Кількісний вміст доксицикліну хіклату в піні нашкірній ($n=5$; $P 95\%$)

Проба	Маса зразка, яку взято на аналіз, мг	Визначена кількість, мг/г
1	512	10,18
2	504	10,04
3	496	9,90
4	515	10,25
5	502	10,06
$X \pm \Delta X$	$505,8 \pm 9,4$	$10,086 \pm 0,163$

Відповідно до результатів експериментальних досліджень щодо визначення доксицикліну хіклату, його вміст в 1 г піни нашкірної складає $10,086 \pm 0,163$ мг (при допустимих межах під час випуску від 9,5 мг до 10,5 мг, протягом терміну зберігання – від 9,0 мг до 10,5 мг).

4.3 Розробка аналітичної методики кількісного визначення декспантенолу

Кількісний вміст декспантенолу у готовому продукті визначали методом ВЕРХ згідно з ДФУ, 2.2.29.

Буферний розчин. 7,0 г калію дигідрофосфату поміщали в мірну колбу місткістю 1000 мл, розчиняли у воді, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували. Фільтрували крізь мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм (після приготування контролювали значення рН отриманого розчину).

Розчин порівняння декспантенолу. 80 мг (точна наважка) стандартного зразку декспантенолу (РСЗ) поміщали в мірну колбу ємністю 25 мл, розчиняли у метанолі, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували.

Розчин порівняння доксицикліну хіклату. 25 мг (точна наважка) стандартного зразку доксицикліну хіклату (РСЗ) поміщали в мірну колбу ємністю 25 мл, розчиняли у метанолі, доводили об'єм розчину тим же розчинником до мітки та перемішували.

Розчин плацебо. 5,0 мл розчину плацебо поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, добавляли 10,0 мл метанолу та перемішували, доводили об'єм розчину метанолом до мітки та перемішували. Отриманий розчин фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату. Отриманий розчин повинен бути прозорим та придатним для проведення хроматографічного визначення.

Випробувальний розчин (піна на шкірні). Близько 0,5 г (точна наважка) препарату, еквівалентного 25,0 мг декспантенолу, звільненого від пропеленту, поміщали в мірну колбу ємністю 50 мл, добавляли 10,0 мл метанолу, перемішували, доводили об'єм розчину метанолом до мітки та перемішували. Отриманий розчин фільтрували через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм,

відкидаючи перші порції фільтрату. Отриманий розчин повинен бути прозорим та придатним для проведення хроматографічного визначення.

Холостий розчин. Метанол.

Рухома фаза: буферний розчин – ацетонітрил (95:5).

Хроматографічна колонка: заповнена силікагелем для хроматографії октадецилсилільним ендкепованим, довжиною 150 мм, діаметром 4,6 мм, з розміром часток 5 мкм (Xterra RP 18 або аналогічна).

Швидкість рухомої фази: 1,5 мл/хв.

Температура колонки: 30 °С.

Довжина хвилі: 210 нм.

Об'єм інжекції: 5 мкл.

Час хроматографування: 12 хв.

Хроматографували 5 мкл холостого розчину три рази. На отриманих хроматограмах повинні бути відсутні будь-які піки окрім системних.

Хроматографували 5 мкл розчину порівняння декспантенолу три рази. Хроматографічна система вважається придатною, якщо на всіх хроматограмах виходить пік декспантенолу з наступними характеристиками: коефіцієнт симетрії 0,8–1,5, ефективність колонки – не менше 1000 теоретичних тарілок, RSD з трьох хроматограм – у відповідності до вимог ДФУ/Ph.Eur.

Хроматографували 5 мкл розчину порівняння доксицикліну хіклату два рази. На хроматограмах повинен бути відсутній пік, час утримання якого співпадає з часом утримання піку декспантенолу.

Хроматографували 5 мкл розчину плацебо, отримуючи дві хроматограми. На отриманих хроматограмах повинен бути відсутній пік, час утримання якого співпадає з часом утримання піку декспантенолу.

Хроматографували 5 мкл випробуваного розчину, отримуючи три хроматограми. На отриманих хроматограмах час виходу піку декспантенолу повинен співпадати з часом утримання піку декспантенолу на хроматограмах розчину порівняння декспантенолу.

З урахуванням спектральних властивостей декспантенолу для детектування було обрано довжину хвилі 210 нм. Декспантенол не має вираженої хромофорної групи, тому його УФ-поглинання є більш інтенсивним у короткохвильовій ділянці спектра і саме тому використання довжини хвилі 210 нм дозволяє забезпечити достатню чутливість визначення.

Хроматограми розчину порівняння декспантенолу та випробуваного розчину (піна нашкірна) наведено на рис. 4.1 та рис. 4.2. За обраних умов час утримування декспантенолу становив близько 9,8 хв.

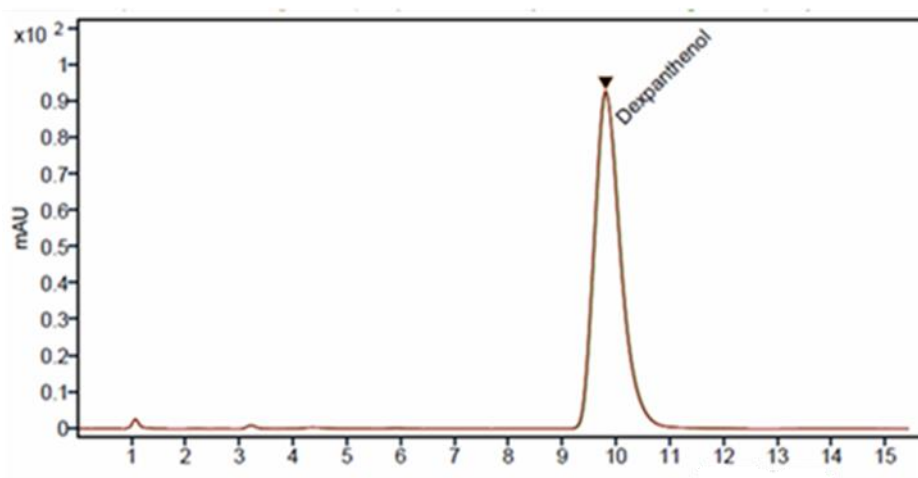


Рис. 4.1 – Хроматограма розчину порівняння декспантенолу (рухома фаза: буфер : ацетонітрил (95:5))

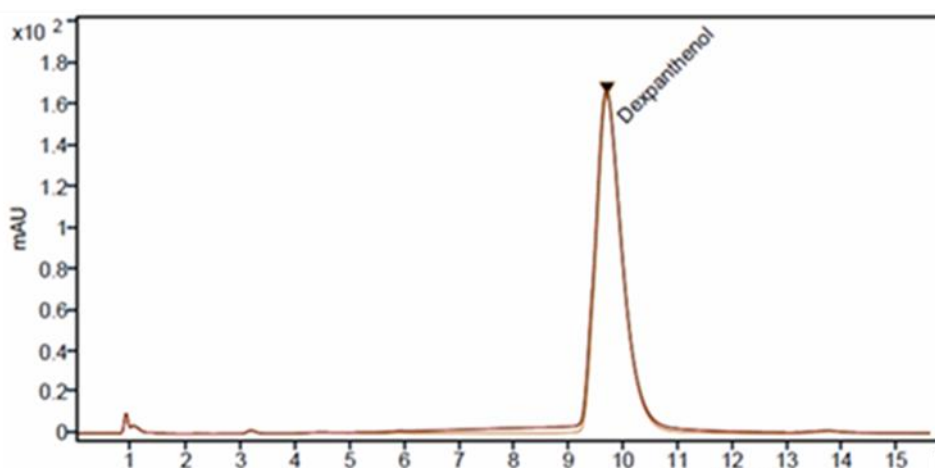


Рис. 4.2– Хроматограма випробуваного розчину (піна нашкірна) (рухома фаза: буфер : ацетонітрил (95:5))

На хроматограмах розчину порівняння та випробуваного розчину (піна нашкірна) спостерігали основний пік декспантенолу з однаковим часом утримування, що підтверджує можливість його ідентифікації та кількісного визначення у складі препарату. Водночас доксициклін і плацебо не заважали визначенню, оскільки за обраних хроматографічних умов їхні піки не збігалися з часом утримування декспантенолу.

З метою оптимізації розробленої методики, а саме зменшення часу елюювання піку декспантенолу, були підібрані актуалізовані умови хроматографування. Хроматографування проводили на колонці 150×4,6 мм із розміром часток сорбенту 5 мкм, заповненій октадецилсилільним силікагелем. Як рухома фаза використовували суміш буфера та метанолу у співвідношенні 95:5. Швидкість рухомої фази становила 1,5 мл/хв, температура колонки – 30 °С, об'єм інжекції – 5 мкл.

Хроматограми розчину порівняння декспантенолу та випробуваного розчину (піна нашкірна) з використанням суміші буфера та метанолу у співвідношенні 95:5 наведено на рис. 4.3 та рис. 4.4.

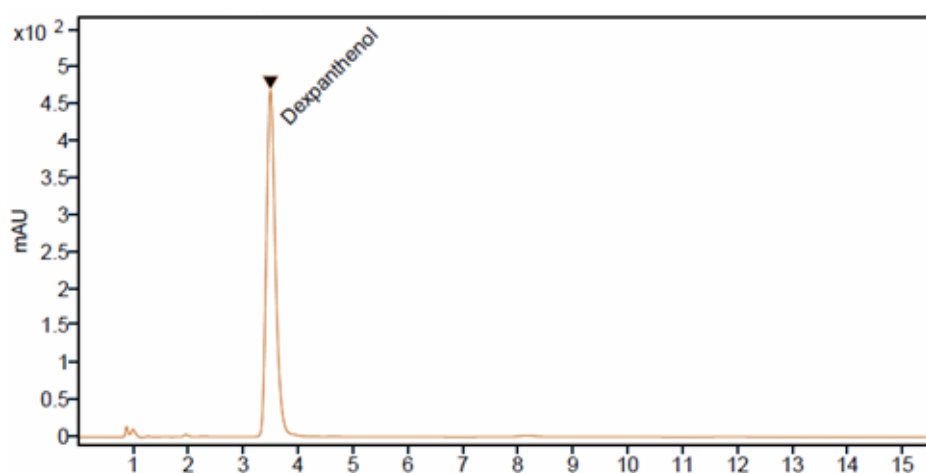


Рис. 4.3 – Хроматограма розчину порівняння декспантенолу (рухома фаза: буфер : метанол (95:5))

На хроматограмах розчину порівняння декспантенолу та випробуваного розчину препарату спостерігали основний пік із однаковим часом утримування, що підтверджує можливість ідентифікації та кількісного визначення декспантенолу у складі розробленої композиції. За обраних умов доксициклін та

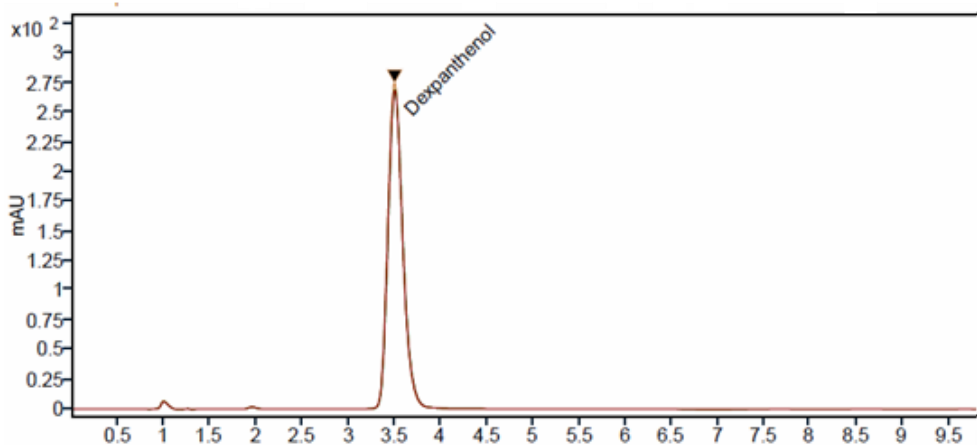


Рис. 4.4 – Хроматограма випробуваного розчину (піна нашкірна)
(рухома фаза: буфер : метанол (95:5))

компоненти плацебо не заважали визначенню, оскільки їхні піки не збігалися з часом утримування декспантенолу. Це підтверджує селективність методики та її придатність для контролю кількісного вмісту декспантенолу в препараті.

За оптимізованих умов час утримування декспантенолу становив близько 3,5 хв, тоді як за попередньо підібраних умов він становив близько 9,8 хв. Отже, оптимізація складу рухомої фази дозволила скоротити час хроматографування майже у три рази без втрати селективності визначення.

Вміст декспантенолу X , мг/г обчислювали за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot P_0}{S_0 \cdot m_1 \cdot 25 \cdot 100}, \quad (4.3)$$

де: S_1 - середнє значення площі піку декспантенолу на хроматограмі випробуваного розчину;

m_0 - маса наважки РСЗ декспантенолу, в міліграмах;

P_0 - кількісний вміст декспантенолу в РСЗ декспантенолу за сертифікатом, %. Якщо в сертифікаті вказаний кількісний вміст у перерахунку на безводну речовину, то P_0 визначають за формулою:

$$P_0 = \frac{P_{dry} \cdot (100 - W)}{100},$$

де: P_{dry} - вміст основної речовини декспантенолу у РСЗ у перерахунку на безводну речовину згідно з сертифікатом, %; W - вміст вологи або води в РСЗ за сертифікатом, або визначений відповідним методом, %;

S_0 - середнє значення площі піку декспантенолу на хроматограмі розчину порівняння;

m_1 - маса наважки препарату, в грамах.

Результати кількісного визначення декспантенолу в піні нашкірній наведено в табл. 4.4.

Таблиця 4.4 – Кількісний вміст декспантенолу в піні нашкірній (n=5; P 95 %)

Проба	Маса зразка, яку взято на аналіз, мг	Визначена кількість, мг/г
1	507	50,34
2	516	51,20
3	504	50,18
4	497	48,90
5	514	51,34
$X \pm \Delta X$	$507,6 \pm 9,0$	$50,392 \pm 1,231$

Відповідно до результатів експериментальних досліджень щодо визначення декспантенолу, його вміст в 1 г піни нашкірної складає $50,392 \pm 1,231$ мг (при допустимих межах під час випуску від 47,5 мг до 52,5 мг, протягом терміну зберігання – від 45,0 мг до 52,5 мг).

4.4 Валідація методики кількісного визначення доксицикліну хіклату у складі піни нашкірної методом УФ-спектрофотометрії.

Відповідно до вимог ДФУ 2.0 та настанови ICH Q2(R1/R2), перед впровадженням методики у систему рутинного контролю якості вона повинна бути валідована з метою підтвердження її придатності для кількісного визначення діючої речовини у готовому продукті.

Під час валідації оцінювали такі характеристики, як специфічність, лінійність та претензійність: збіжність та відтворюваність, що дозволяє підтвердити відсутність впливу компонентів основи піни на результати аналізу та забезпечити достовірність визначення вмісту доксицикліну хіклату у межах норм, визначених в специфікації на готовий продукт.

Кількісне визначення доксицикліну хіклату відповідно до монографій ДФУ, USP або Ph.Eur. проводять методом ВЕРХ з ультрафіолетовим детектуванням при довжині хвилі 350 нм [153]. Вміст діючої речовини

встановлюють шляхом порівняння площі хроматографічного піка випробовуваного розчину зі стандартним розчином доксицикліну хіклату за ідентичних умов хроматографування.

Для визначення специфічності методики було встановлено межі діапазону застосування методики в інтервалі від 80 % до 120 % від номінального вмісту відповідно до вимог [162] для методик кількісного визначення (табл. 4.5). У межах зазначеного діапазону здійснювали також оцінку інших валідаційних характеристик.

Таблиця 4.5 – Номінальний вміст, межі вмісту доксицикліну хіклату в препараті та діапазон застосування методики

Найменування препарату	Номінальний вміст DOX, мг/мл	Регламентовані межі вмісту, мг/мл	Регламентовані межі вмісту, % від номінального	Діапазон застосування методики, % від номінального вмісту
Доксипант	10	9,0 – 11,0	90 – 110	80 – 120

Для оцінки методики на лінійність були приготовані 5 модельних розчинів у діапазоні застосування аналогічно приготуванню розчину порівняння за аналітичною методикою. Експериментальні дані наведено в таблиці 4.6, а хроматограми модельних розчинів із номінальним вмістом доксицикліну хіклату 80–120 % представлено на рисунку 4.5.

Таблиця 4.6 – Результати вивчення лінійності на модельних зразках доксицикліну хіклату методом ВЕРХ

Модельний розчин	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5
Номінальна концентрація розчину (у %)	80	90	100	110	120
Номінальна наважка РСЗ, мг	40	45	50	55	60
Фактична наважка РСЗ, мг	39,4	45,2	50,3	56,2	61,3
Об'єм розчину, мл	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0
Фактична концентрація доксицикліну хіклату у модельному розчині, мг/мл	0,3853	0,4421	0,4919	0,5496	0,5995
Середні значення площ піків доксицикліну хіклату	6104,1	7054,4	7901,2	8836,5	9564,3

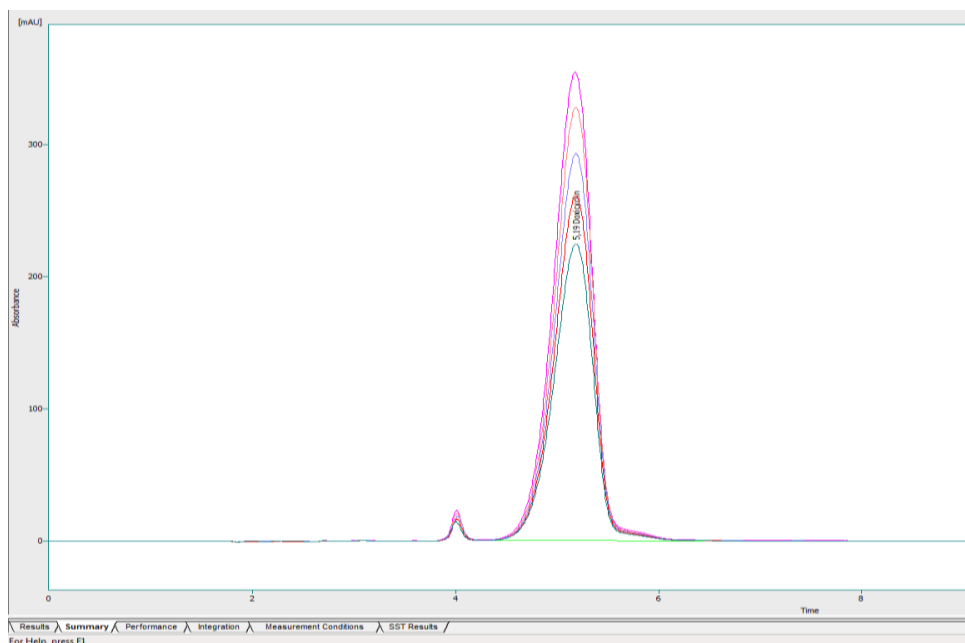


Рисунок 4.5 – Хроматограми модельних розчинів з номінальним вмістом доксицикліну хіклату 80 – 120%

Також у ДФУ, USP або Ph.Eur. наведено рекомендації щодо проведення тесту розчинення таблеток доксицикліну із застосуванням апарата для випробування на розчинення, очищеної води як середовища розчинення та детектування методом УФ-спектрофотометрії за довжини хвилі 276 нм [153].

Для оцінки сумарної невизначеності результатів кількісного визначення доксицикліну хіклату у піні нашкірній було проаналізовано складові похибки, зокрема невизначеність пробопідготовки (Δ_{SP}) та невизначеність завершальної аналітичної стадії. При цьому враховували результати вимірювання оптичної густини як досліджуваного розчину, так і розчину порівняння не менше як трьох паралельних визначень із повторним внесенням розчинів в кювети між вимірюваннями.

За результатами розрахунків встановлено, що сумарна невизначеність аналізу (Δ_{AS}) становить 0,86 %, що не перевищує прийнятний критерій 3,0 % і відповідає вимогам до валідованих спектрофотометричних методик.

Для підтвердження специфічності методики було досліджено можливий вплив компонентів основи піни нашкірної (плацебо) на аналітичний сигнал. З цією метою готували розчин препарату (A_{standart}) та розчин плацебо (A_{placebo}), що

містив усі допоміжні речовини лікарського засобу без активних фармацевтичних інгредієнтів. Далі проводили паралельне визначення оптичної густини розчину плацебо (A_{placebo}) та стандартного розчину доксицикліну хіклату (A_{standart}), виконуючи по три повторні вимірювання. Отримано такі результати дослідження специфічності методики: $A_{\text{standart}} = 0,5919$; $A_{\text{placebo}} = 0,0017$:

$$\delta_{\text{esc}} = \frac{100 \cdot A_{\text{placebo}}}{A_{\text{standart}}} = \frac{100 \cdot 0,0017}{0,5919} = 0,28 \% \leq 0,32 \cdot 3 = 0,96$$

Отримане значення відповідає умові прийнятності: $0,28 \% \leq 0,96 \%$.

Визначення лінійності проводили у п'яти точках у межах робочого діапазону методики (80-120 %), із кроком 10 %. Для кожного рівня концентрації виконували по три паралельні вимірювання оптичної густини як досліджуваних розчинів, так і розчину порівняння. Отримані експериментальні дані обробляли із застосуванням методів математичної статистики відповідно до вимог ДФУ 2.0 [164]. На рис. 4.9 наведено графік в нормалізованих координатах залежності оптичної густини від концентрації доксицикліну хіклату.

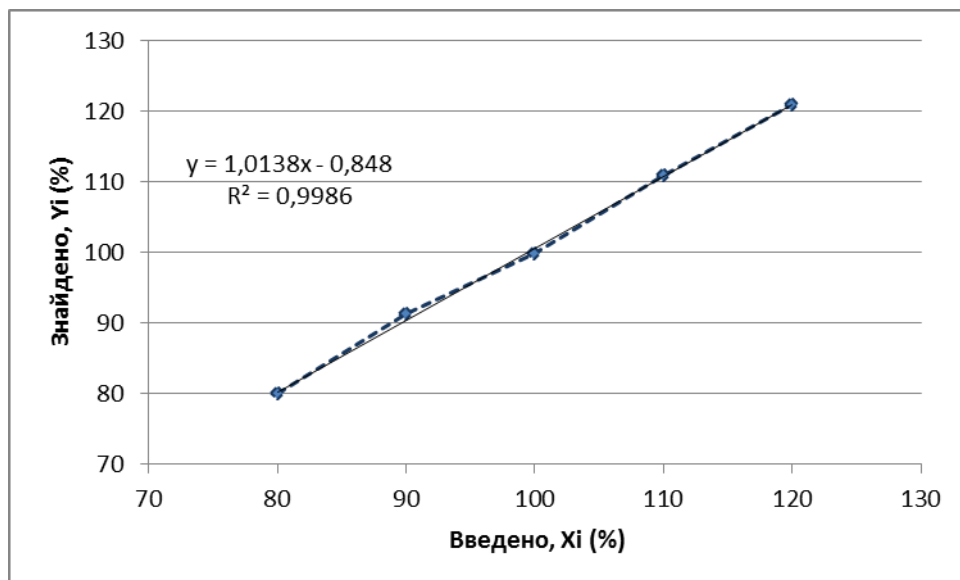


Рисунок 4.9 – Графік в нормалізованих координатах залежності оптичної густини від концентрації доксицикліну хіклату

Результати визначення лінійності та метрологічні характеристики модельних розчинів доксицикліну хіклату наведено в таблиці 4.7-4.8.

Таблиця 4.7 – Визначення лінійності на модельних розчинах DOXH

Модельний розчин	Введено до номінального вмісту X_i , у %	Оптична густина A_i	Знайдено Y_i , у %	$Y_i=1,0138 \cdot x - 0,848$
№1	80	0,472	79,74	80,00
№2	80	0,471	79,57	79,82
№3	80	0,473	79,91	80,17
№4	100	0,588	99,34	99,86
№5	100	0,591	99,85	100,38
№6	100	0,590	99,68	100,21
№7	120	0,709	119,78	120,59
№8	120	0,711	120,12	120,93
№9	120	0,708	119,61	120,42

Таблиця 4.8 – Характеристики лінійної залежності модельних розчинів DOXH

Величина	Значення	Критерій (відповідно до ДФУ), $n = 9$	Висновок
a	1,0134	1) $\leq 1,8946 \cdot S_a = 3,1174$; 2) якщо не виконується 1), то $\leq 2,56$	Відповідає
b	-0,7842	–	–
S_a	0,0127	–	–
S_b	1,1628	–	–
S_o	0,9486	$0,9786 \leq 1,5834$;	Відповідає
r	0,9996	$\geq 0,9924$	Відповідає

Для оцінки прецизійності методики було визначено її збіжність, яка характеризує ступінь узгодженості результатів, отриманих за однакових умов виконання аналізу протягом короткого проміжку часу [162]. Збіжність аналітичної методики зазвичай оцінюють за величиною стандартного відхилення, відносного стандартного відхилення або довірчого інтервалу серії паралельних вимірювань. Визначення збіжності результатів аналізу на модельних розчинах доксицикліну хіклату, а також їхня статистична характеристика наведена в таблиці 4.7.

В результаті проведених розрахунків було одержано статистичні характеристики методики: середнє значення \bar{Z} та відносне стандартне відхилення S_z , які становили 99,72 % та 0,2364 % відповідно. Згідно з встановленими вимогами, відносний довірчий інтервал ΔZ не повинен

Таблиця 4.9 – Визначення збіжності результатів аналізу на модельних розчинах доксицикліну хіклату

Модельний розчин	Введено до номінального вмісту X_i , у %	Оптична густина A_i	Знайдено Y_i , у %	Знайдено у % до введеного номінального вмісту X_i $Z_i = 100 \cdot \frac{Y_i}{X_i}$
№1	80	0,472	79,74	99,68
№2	80	0,471	79,57	99,46
№3	80	0,473	79,91	99,89
№4	100	0,588	99,34	99,34
№5	100	0,591	99,85	99,85
№6	100	0,59	99,68	99,68
№7	120	0,709	119,78	99,82
№8	120	0,711	120,12	100,10
№9	120	0,708	119,61	99,68
Середнє значення, \bar{Z} , %				99,72
Відносне стандартне відхилення, S_Z , %				0,2364
Відносний довірчий інтервал, ΔZ , % = $t(95\%;8) \cdot S_Z$				0,4396
Критичне значення для збіжності, Δ_{AS} , %				3,0
Систематична похибка, δ , %				0,28
Критерій статистичної невизначеності систематичної похибки, δ , %				0,44
Критерій практичної невизначеності систематичної похибки, δ , %				0,96
Загальний висновок про методику				Коректна

перевищувати максимально допустиму невизначеність аналізу Δ_{AS} :

$$\Delta Z = S_Z (\%) \cdot t(95\%; n-1) \leq \max \Delta_{AS}; \quad \Delta Z = 0,2364 \cdot 1,8595 = 0,4396 \leq 3,0$$

Отримані результати свідчать про належну збіжність методики, оскільки довірчий інтервал не перевищує встановлений критерій прийнятності. Систематична похибка δ становила 0,28 %, що є меншим за критерій статистичної невизначеності систематичної похибки (0,44 %) та критерій практичної невизначеності (0,96 %). Це свідчить про відсутність статистично та практично значущої систематичної похибки. Таким чином, запропонована методика є коректною, характеризується належною прецизійністю та правильністю і може бути рекомендована для рутинного контролю якості препарату.

4.5 Опис технологічного процесу виготовлення піни нашкірної

Підготовка сировини та матеріалів

При виробництві препарату використовують сировину, яка пройшла вхідний контроль ВКЯ і відповідає всім показникам якості згідно нормативної документації для вхідного контролю та дозволена до використання. Процедуру розтарювання та зважування сировини проводять згідно відповідної СОП. На електронних вагах в збірниках послідовно відважують доксицилін, декспантенол, цетостеариловий спирт, твін-80, метилпарабен, пропілпарабен, пропіленгліколь, стеаринову кислоту, етанол 95% та передають в щільно закритих ємностях на наступні стадії. Воду очищену відміряють мірником.

Стадія 1. Приготування ліпофільної фази

Розраховану кількість стеаринової кислоти та цетостеарилового спирту завантажують в реактор з паровою сорочкою, включають обігрів і розплавляють за температури 65-70 °С при постійному перемішуванні впродовж 30-40 хвилин, режим роботи мішалки – 35-40 об/хв. Візуально контролюють повноту розплавлення, має бути прозорий розплав без твердих часточок.

Стадія 2. Приготування гідрофільної фази

У реактор-гомогенізатор завантажують розраховану кількість води очищеної, включають обігрів та нагрівають до температури 65-70 °С. До реактора послідовно завантажують відважену кількість пропіленгліколю і твіну 80 та проводять перемішування до отримання однорідного прозорого розчину впродовж 15-20 хвилин, режим роботи мішалки – 35-40 об/хв. В реактор до отриманого розчину додають попередньо приготований водно-спиртовий розчин консервантів (метил- і пропілпарабен) та за допомогою мішалки (35-40 об/хв) за температури 65-70 °С перемішують впродовж 10-15 до отримання однорідного розчину. Контролюють час перемішування і повноту розчинення компонентів.

Стадія 3. Приготування розчину доксициліну хіклату та декспантенолу

У реактор-змішувач завантажують розраховану кількість води очищеної та

додають відважену кількість доксицикліну хіклату. Проводять розчинення доксицикліну хіклату розчину при за температури 20-25 °С та постійному перемішуванні (55-60 об/хв) впродовж 15-20 хвилин до отримання прозорого світло-жовтого розчину. До отриманого розчину додають відважену кількість декспантенолу та перемішують впродовж 15-20 хвилин до однорідності, режим роботи мішалки – 55-60 об/хв. Проводять контроль (візуально) повноти розчинення компонентів.

Стадія 4. Гомогенізація та охолодження емульсійної основи

У реактор-гомогенізатор до гідрофільної фази одержаної на стадії 2 за однакової температури обох фаз 65-70 °С та при безперервному перемішуванні поступово додають ліпофільну фазу зі стадії 1 та проводять гомогенізацію впродовж 20-25 хв за 3000 об/хв. Потім проводять контрольоване охолодження одержаної емульсії впродовж 50-60 хв до температури 25-30 °С. Проводять візуальний контроль однорідності емульсійної основи.

Стадія 5. Введення розчину доксицикліну хіклату та декспантенолу до емульсійної основи

У реактор-гомогенізатор до емульсійної основи при безперервному перемішуванні поступово додають розчин доксицикліну хіклату та декспантенолу одержаного на стадії 3 при 25-30 °С та продовжують гомогенізацію при 3000 об/хв впродовж 10-15 хв до отримання стабільної однорідної емульсії. Проводять вимірювання значення рН та коригують 1М розчином натрію гідроксиду. Після коригування рН перемішують не менше 10 хвилин, після чого повторно вимірюють рН. Значення рН після корекції повинно знаходитися в межах $5,4 \pm 0,3$. Проводять контроль проміжного продукту шляхом відбору проб з реактора відповідно до МКЯ та вивантажують у проміжну ємність.

Стадія 6. Фасування, герметизація та заповнення пропелентом

З проміжної ємності проміжний продукт подають за допомогою насоса на напівавтоматичну машину наповнення, де здійснюється дозоване наповнення аерозольних балонів встановленого об'єму. Контролюють точність дозування.

Після наповнення у кожен балон встановлюють аерозольний клапан із занурювальною трубкою. Клапан запресовують методом вальцювання на закупорювальному напівавтоматі до утворення герметичного з'єднання. Контролюють якість вальцювання та герметичність балона. Потім здійснюють заповнення балонів зрідженим газом-витискувачем (пропан-бутан-ізобутан). Подача пропеленту здійснюється через клапан за допомогою газового насоса в автоматичному режимі, робочий тиск в балоні в межах 0,4–0,5 МПа. Контролюють масу пропеленту, тиск та герметичність балонів. Після заповнення на балони встановлюють розпилювачі та захисні ковпачки. Проводять контроль проміжного продукту відповідно до МКЯ.

Стадія 7. Маркування та пакування

Аерозольні балони подають на етикетувальну машину, де здійснюється нанесення самоклеючих етикеток. Контролюють правильність маркування, чіткість друку та позиціонування етикетки.

Промарковані аерозольні балони з інструкціями для медичного застосування подають на автоматичну машину для пакування балонів у картонні пачки із застосуванням технології «Pick & Place». Контролюють комплектність упаковки (балон – інструкція – пачка). Проводять контроль відповідно до вимог специфікації на готовий продукт.

Укомплектовані пачки упаковують у групову тару. Контролюють правильність укладання та цілісність упаковки. Групову тару маркують із зазначенням номера серії, терміну придатності та кількості упаковок у коробі. У процесі пакування здійснюють відбір зразків для архіву відділу контролю якості. Усі стадії документують в технологічному протоколі із фіксацією параметрів процесу та результатів виготовлення серії.

Для візуалізації технологічного процесу в промислових умовах розроблена технологічна схема виготовлення фармацевтичної композиції у формі піни на шкірній на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу (рис. 4.10).

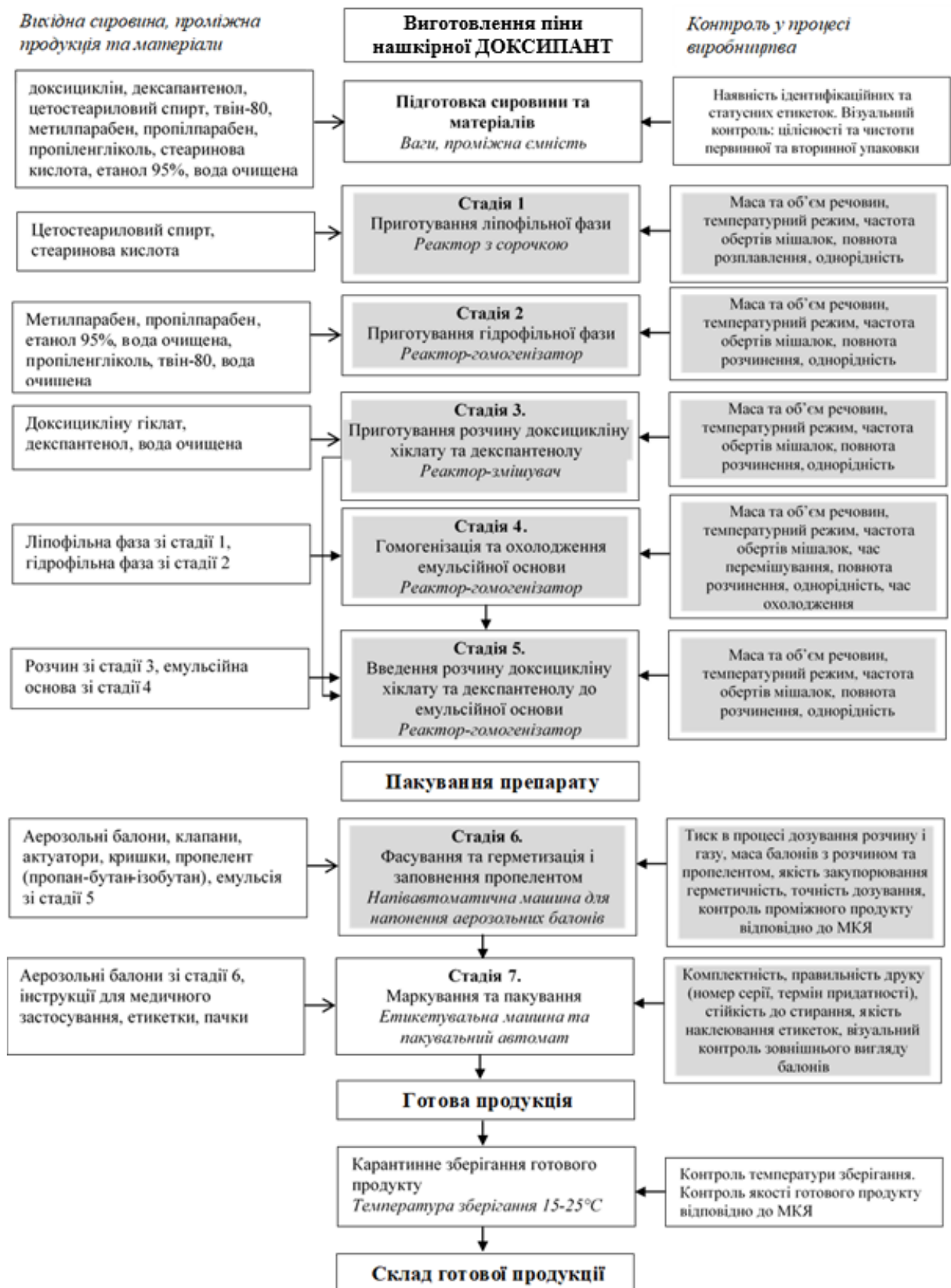


Рисунок 4.10 – Технологічна схема виготовлення фармацевтичної композиції у формі піни нашкірної на основі доксидикліну хіклату та декспантенолу

4.6. Аналіз ризиків для якості при виробництві піни нашкірної «ДОКСИПАНТ»

Виробництво нашкірної піни з доксицикліну хіклатом і декспантенолом є багатостадійним технологічним процесом, у якому якість готового лікарського засобу залежить від властивостей вихідних матеріалів, режимів приготування розчину концентрату, параметрів фільтрації, наповнення аерозольних контейнерів, введення пропеленту, герметизації балонів і контролю тиску. З огляду на це аналіз ризиків для якості є необхідним етапом розробки технології та формування системи контролю виробництва.

Оцінювання ризиків проводили відповідно до підходу Quality Risk Management із використанням методу аналізування видів, наслідків і критичності відмов – FMECA. Для кожного потенційного ризику оцінювали тяжкість наслідків, ймовірність виникнення та можливість виявлення. Кількісну оцінку ризику проводили за показником RPN, який розраховували як добуток значень S, O та D. Такий підхід дозволяє ранжувати ризики, визначити найбільш критичні етапи виробництва та встановити необхідні точки контролю.

На етапі розробки ЛЗ з DOXH та DP кожний показник якості оцінювали із застосуванням методу аналізування видів, наслідків і критичності відмов (Failure Mode, Effects and Criticality Analysis, FMECA) з прийнятими кількісними значеннями оцінки тяжкості наслідків (S), ймовірності виникнення (O) та можливість виявлення (D). Кількісну оцінку величини ризику (R) проводили за значенням пріоритетності рівня ризику RPN (Risk Priority Number), яке розраховували за формулою (4.7.1):

$$RPN = S \times O \times D, \quad (4.4)$$

де

S (Severity) – тяжкість наслідків, бали від 1 (незначна) до 5 (катастрофічна);

O (Occurrence) – ймовірність виникнення, бали від 1 (практично неможливо) до 5 (дуже часто);

D (Detectability) – можливість виявлення, бали від 1 (велика) до 5 (дуже мала).

Для RPN було визначено відповідні категорії ризику, а саме: RPN від 0 до 10 – неістотний ризик – категорія 1; RPN від 11 до 39 – прийнятний ризик – категорія 2; RPN від 40 до 69 – значний ризик – категорія 3; RPN від 70 і вище – неприйнятний ризик – категорія 4.

Ідентифікацію критичних атрибутів матеріалу (Critical Material Attributes, CMAs) та визначення критичних параметрів процесу (Critical Process Parameters, CPPs) здійснювали шляхом аналізу всіх параметрів технологічного процесу та всіх показників якості сировини. Визначали вірогідність впливу цих параметрів на зміну хоча б одного критичного показника якості. Визначення цих параметрів допомагає встановити зв'язок між властивостями вхідної сировини та параметрами процесу, які пов'язані з критичними параметрами якості продукту. Усі параметри технологічного процесу виробництва піни нашкірної на основі DOXH та DP, які впливають на CQA, вважали критичними параметрами.

Розробку стратегії контролю проводили на основі доступних літературних даних за допомогою інструментів оцінки ризиків, аналізуючи періодичність та етапи, на яких необхідно контролювати ті чи інші параметри, щоб гарантувати стабільну якість готового продукту. Управління ризиками якості (Quality Risk Management, QRM) під час дослідження складу й технології піни нашкірної розроблено за діаграмою Ісікави, яка допомагає зібрати можливі вхідні параметри, що впливають на якість піни.

Діаметр розпилення, масу вивільнення вмісту за один натиск, статичну стабільність випробовували шляхом перевірки якості розпилення вмісту контейнера, що виконували після струшування та натискання на актуатор.

Технологію препарату розроблено з урахуванням властивостей компонентів, що входять до складу, та визначено критичні атрибути матеріалу (CMAs). Під час розробки технології виробництва піни нашкірної визначили критичні параметри процесу (CPPs), що наведено в таблиці 4.10.

Таблиця 4.10 – Критичні атрибути матеріалу (СМAs) та критичні параметри процесу (СРPs)

Атрибути матеріалів (СМAs)		
Атрибути	Вплив на СQA	Критичні показники контролю
Доксицикліну (у формі доксицикліну хіклату)	Діюча речовина. Антибіотик.	Оптичне обертання, розчинність, важкі метали, Кількісне визначення, вологість, рН, мікробіологічна чистота
Декспантенол	Діюча речовина. Провітамін В5, сприяє швидшому загоєнню ран.	Оптичне обертання, розчинність, важкі метали, Кількісне визначення, вологість, рН, мікробіологічна чистота
Цетостеариловий спирт	Допоміжна речовина. Емолієнт. Підсилювач піноутворення.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Твін 80	Допоміжна речовина. Неіоногенний ПАР, піноутворювач	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Метилпарабен	Допоміжна речовина. Консервант.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Пропілпарабен	Допоміжна речовина. Консервант.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Пропіленгліколь	Допоміжна речовина. Розчинник.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Стеаринова кислота	Допоміжна речовина. Стабілізатор піни.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Вода очищена	Допоміжна речовина. Розчинник.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Етанол 95%	Допоміжна речовина. Розчинник.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Гідроксид натрію	Допоміжна речовина. Регулятор рН.	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ
Пропан-бутан-ізобутан (30:60:10)	Допоміжна речовина. Пропелент.	Згідно з вимогами USP
Критичні параметри процесу (СРPs)		
Стадія технологічного процесу	Критичний параметр	Метод контролю
Зважування компонентів	Кількість DOX, DP, цетостеариловий спирт, твін 80, метилпарабен, пропілпарабен, пропіленгліколь, стеаринова кислота, вода очищена, етанол 95%, гідроксид натрію, суміш пропан-бутан-ізобутан (30:60:10).	Розрахунковий Об'ємний Ваговий

Продовження табл. 4.10

Атрибути матеріалів (СМAs)		
Атрибути	Вплив на СQA	Критичні показники контролю
Приготування розчину концентрату	Час Температура Порядок завантаження Швидкість перемішування Повнота розчинення Однорідність рН розчину	Хронометричний Візуальний Автоматичний Візуальний Потенціометрично
Фільтрація розчину	Повнота вивантаження розчину Температура розчину Оптимальний тиск Цілісність фільтрів Матеріал мембрани Рейтинг фільтра	Автоматичний з реактора Візуальний Фізичний Фізичний Візуальний Візуальний
Наповнення балонів та герметизація	Налаштування дозатора на об'єм дозування концентрату у балон Якість вальцювання клапанів безперервної дії. Герметизація балону клапаном Маса завантаження пропеленту Маса наповненого баллону Комплектація актуатором, та захисним ковпаком Тиск всередині балону	Об'ємний Візуальний Фізичний Ваговий Ваговий Візуальний Фізичний, згідно МКЯ
Пакування в пачки	Вкладення балонів у пачки Додавання інструкцій для медичного застосування	Візуальний

Проведеним аналізом підтверджено, що природа діючих речовин, умови стабілізації доксицикліну (температура, час змішування, параметри обертів мішалки), фільтрація, тиск в балонах, дозування розчину концентрату та пропеленту, герметичність балону є факторами високого ризику. Отже, визначено критичні параметри технологічного процесу піни нашкірної на основі DOXH та DP та з'ясовано, що під час виробництва піни нашкірної майже всі стадії є критичними, їх потрібно постійно контролювати й перевіряти, щоб отримати якісний продукт.

Проведені дослідження з розробки профілю критичних параметрів технологічного процесу дозволили розробити стратегію контролю для забезпечення постійного виробництва продукції належної якості та мінімізувати

кількість рутинних контролів з метою оптимізації часу виробництва та зменшення собівартості продукту. Стратегію контролю піни нашкірної наведено в таблиці 4.11.

Таблиця 4.11 – Стратегія контролю піни нашкірної на основі DOXH та DP

Етапи контролю	Об'єкти контролю	Періодичність контролю	Методи контролю
Вхідний контроль. Контроль показників якості вхідних матеріалів	Активний фармацевтичний інгредієнт: Доксициклін (у формі доксицикліну хіклату), декспантенол, Допоміжні речовини: цетостеариловий спирт, твін 80, метилпарабен, пропілпарабен, пропіленгліколь, стеаринова кислота, вода очищена, етанол 95%, гідроксид натрію, пропан-бутан-ізобутан(30:60:10). Первинне пакування	Кожна серія для АФІ, ДР, первинного пакування Вода очищена – моніторинг за графіком фізико-хімічних та біологічних показників	Згідно з вимогами ЕР та ДФУ контроль фізико- хімічних та біологічних показників. Отримання якості на кожен об'єкт контролю «Дозволено використання у виробництві»
Контроль у процесі виробництва <i>In-process control</i>	Приготовлений розчин концентрату	Кожна серія	Згідно з вимогами ЕР, ДФУ, USP: Опис, густина, рН, ідентифікація, кількісний вміст АФІ
Контроль готової продукції	Готовий лікарський засіб на момент випуску	Контроль кожної серії за показниками якості специфікації на момент випуску	Контроль маркування та пакування Показники якості, згідно з МКЯ на відпуск продукції Сертифікат якості на серію
Дослідження стабільності	Готовий лікарський засіб у процесі зберігання до визначеного терміну придатності	Дослідні серії Перші 3 промислові серії Не менше 1-ї промислової серії на рік Кожна серія за суттєвої зміни	Згідно зі специфікацією дослідної стабільності Згідно зі специфікацією на термін придатності

Наступним етапом досліджень було визначення ризиків, пов'язаних з утворенням та стабільністю піни. На основі попередніх експериментальних досліджень [169], наукових знань та огляду літератури було розглянуто різні технологічні, матеріальні та екологічні фактори, що впливають на CQAs стабілізованого високов'язкого розчину. За підходом QRM визначено, що температура розчину, режим дегазації, тиск при наповненні балонів впливають

на однорідність дозування та утворення стабільної піни. Отже, проведене дослідження демонструє використання інструмента QbD як QRM, експериментальне проектування і методологію створення цільового профілю якості продукту (QTPP) та критичних показників якості продукту (CQAs) для підвищення якості розробки рецептури ЛЗ, складу та технології отримання. Прозорість, в'язкість, мікробіологічну чистоту та кількісний вміст АФІ було визначено як CQAs для досягнення цілей, зазначених у QTPP. Впровадження такої системи дає можливість забезпечити якість препарату не за рахунок постійного контролю, а за допомогою планування і управління його характеристиками в процесі розробки і виробництва. Проведений аналіз ризиків (QRM) та розроблена діаграма Ісікави для ідентифікації матеріалу та параметрів процесу, які впливають на CQAs комбінації DOXH та DP у формі піни нашкірної, представлено на рис. 4.11.



Рис.4.11 – Діаграма Ісікави, що ілюструє фактори ризику, які можуть вплинути на показники якості піни нашкірної з DOXH та DP.

Отже, проведене дослідження демонструє доцільність застосування підходу Quality by Design під час розроблення складу та технології виробництва піни нашкірної на основі доксицикліну хіклату та декспантенолу для лікування інфікованих ран. Сформовано цільовий профіль якості продукту (QTPP), який визначає основні фармакологічні, технологічні та споживчі характеристики ЛЗ.

Шляхом застосування інструментів управління ризиками якості (QRM) та методу FMECA ідентифіковано критичні показники якості продукту (CQAs), серед яких визначальними є мікробіологічна чистота та кількісний вміст активних фармацевтичних інгредієнтів. Встановлено взаємозв'язок між властивостями вихідних матеріалів (CMAs), критичними параметрами технологічного процесу (CPPs) та забезпеченням цільових значень CQAs, що підтверджує високу чутливість технології виготовлення піни нашкірної до змін умов виробництва.

Показано, що більшість стадій технологічного процесу отримання піни нашкірної є критичними та потребують ретельного контролю, зокрема етапи приготування, стабілізації та дегазації розчину, фільтрації, наповнення та герметизації аерозольних контейнерів. Розроблена стратегія контролю дозволяє забезпечити стабільність якості готового ЛЗ протягом усього життєвого циклу за рахунок управління параметрами процесу, а не виключно шляхом тестування кінцевого продукту.

Застосування інструментів QbD та QRM у процесі розробки та виробництва нашкірної піни на основі доксицикліну хіклату і декспантенолу забезпечує високий рівень керованості процесу, стабільність показників якості готового лікарського засобу. Запропонований підхід зменшує потребу в рутинному контролі та формує основу для інтегрованої системи забезпечення якості.

4.7. Дослідження стабільності та встановлення терміну придатності піни нашкірної

Місце проведення

Випробування проводились в умовах лабораторій Відділу контролю якості, ТОВ «БІОТЕСТЛАБ».

Матеріали і методи

Для дослідження використали серії препарату ДОКСИПАНТ, піна нашкірна згідно з таблицею 4.12.

Таблиця 4.12 – Характеристика серій препарату «ДОКСИПАНТ», використаних у дослідженні

Номер серії	022024Д-1	022024Д-2	032024Д-1
Дата виготовлення серії	02.2024	02.2024	03.2024
Упаковка	Б	Б	Б

1. Умови зберігання:

1.1. Довгострокове випробування стабільності (24 місяці)*.

Температура (25 ± 2) °С.

1.2 Прискорене випробування стабільності (6 місяців)*

Температура (40 ± 2) °С.

1.3. Стабільність після першого використання (24 місяці)*

Температура (25 ± 2) °С.

* Примітка. Рівень вологості не регламентується, оскільки пакування препарату є герметичним.

2. Схема випробувань

2.1. Довгострокове випробування стабільності (25 ± 2) °С.

Препарат досліджувався за показниками якості: «Опис», «Відносна густина піни», «Час розширення», «Ідентифікація. Доксициклін», «Ідентифікація. Декспантенол», «Кількісне визначення. Доксициклін», «Кількісне визначення. Декспантенол», «Мікробіологічна чистота», «Тиск всередині контейнера»,

«Вихід вмісту контейнеру», «Герметичність контейнеру», «Перевірка клапана і насадки», «Упакування та маркування» вказаними в специфікації для контролю готового продукту через 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 місяці.

2.2. Прискорене випробування стабільності (40 ± 2) °C.

Препарат досліджувався за показниками якості: «Опис», «Відносна густина піни», «Час розширення», «Ідентифікація. Доксидиклін», «Ідентифікація. Декспантенол», «Кількісне визначення. Доксидиклін», «Кількісне визначення. Декспантенол», «Мікробіологічна чистота», «Тиск всередині контейнера», «Вихід вмісту контейнеру», «Герметичність контейнеру», «Перевірка клапана і насадки», «Упакування та маркування» вказаними в специфікації для контролю готового продукту через 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 місяці.

2.3. Стабільність після першого використання (25 ± 2) °C.

Препарат досліджувався за показниками якості: «Опис», «Відносна густина піни», «Час розширення», «Ідентифікація. Доксидиклін», «Ідентифікація. Декспантенол», «Кількісне визначення. Доксидиклін», «Кількісне визначення. Декспантенол», «Мікробіологічна чистота», «Тиск всередині контейнера», «Вихід вмісту контейнеру», «Герметичність контейнеру», «Перевірка клапана і насадки», «Упакування та маркування» вказаними в специфікації для контролю готового продукту через 0, 3, 6, 9, 12, 18, 24 місяці.

Результати випробування наведені в Додатках В₁ – В₁₈.

На основі проведених досліджень стабільності наведених у таблицях 2-10, лікарський засіб «ДОКСИПАНТ», піна нашкірна, стабільна протягом 2 років і відповідає вимогам специфікації для контролю готового продукту при зберіганні за температури 25 ± 2 °C в оригінальній упаковці.

Висновки до розділу 4

1. Розроблено проєкт специфікації контролю готового продукту «ДОКСИПАНТ», піна нашкірна, із визначенням критичних показників якості, зокрема: опис, ідентифікація та кількісне визначення доксицикліну хіклату і декспантенолу, мікробіологічна чистота, відносна густина піни, час розширення, тиск у контейнері, вихід вмісту контейнера, герметичність, перевірка клапана і насадки, пакування та маркування.

2. Розроблено аналітичну методику кількісного визначення доксицикліну хіклату методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області при довжині хвилі 270 нм; підтверджено відсутність суттєвого впливу декспантенолу і компонентів основи піни на аналітичний сигнал. Валідаційними дослідженнями підтверджено придатність методики: оцінено специфічність, лінійність, збіжність і відтворюваність методики.

3. Розроблено методику кількісного визначення декспантенолу методом ВЕРХ з детектуванням за довжини хвилі 210 нм; підтверджено селективність методики та відсутність впливу доксицикліну хіклату та компонентів плацебо, оптимізовано хроматографічні умови шляхом заміни рухомої фази на суміш буферного розчину і метанолу (95:5), що дозволило скоротити час утримування декспантенолу з приблизно 9,8 хв до 3,5 хв.

4. Розроблено технологічний процес виготовлення піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» і визначено критичні параметри виробництва: приготування матричного розчину, регулювання рН, гомогенізація, наповнення контейнерів, введення пропеленту, герметизація, перевірка клапана і контроль виходу вмісту.

5. Проведено аналіз ризиків для якості та розроблено стратегію контролю, придатну для застосування під час фармацевтичної розробки, виробництва, контролю якості та досліджень стабільності піни нашкірної.

6. Дослідженнями стабільності трьох серій препарату, підтверджено відповідність препарату специфікації за умов довгострокового зберігання 25 ± 2 °C протягом 24 місяців, прискореного зберігання 40 ± 2 °C протягом 6 місяців і після першого використання 25 ± 2 °C протягом 24 місяців.

РОЗДІЛ 5 РЕЗУЛЬТАТИ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ, ФАРМАКО-ТЕХНОЛОГІЧНИХ І ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ КОМБІНОВАНОЇ ПІНИ НАШКІРНОЇ «ДОКСИПАНТ»

5.1 Мікробіологічні дослідження та вивчення антибактеріальної дії піни нашкірної «ДОКСИПАНТ»

Інфіковані та хронічні рани є складними біологічними системами, у яких мікробна контамінація рідко обмежується одним видом збудника. У рановому вмісті часто виявляють асоціації грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, зокрема *Staphylococcus aureus*, коагулазонегативні стафілококи, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, а також анаеробні бактерії. Для хронічних ран особливо характерним є формування полімікробних біоплівки, що ускладнює елімінацію мікроорганізмів, підтримує запальну реакцію та знижує ефективність антибактеріальної терапії. [203]

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) досліджуваного ЛЗ проводили методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі відповідно до методики, наведеної у розділі 2, п. 2.4. Дослідження виконували з метою оцінки антибактеріальної активності препарату до бактеріальних штамів, асоційованих з інфікованими ранами.

Робочі розведення розробленої піни нашкірної готували безпосередньо перед постановкою досліду у стерильних умовах із використанням стерильного соєво-казеїнового поживного середовища. Розведення проводили послідовно з отриманням діапазону концентрацій, необхідного для встановлення мінімальної концентрації, за якої пригнічувався видимий ріст тест-штаму. Із вихідного розчину доксицикліну з концентрацією 10 000 мкг/мл готували проміжний розчин 100 мкг/мл шляхом розведення 1:100 стерильним поживним середовищем. Далі шляхом двократного розведення готували кінцеву концентрацію 0,390625 мкг/мл.

Результати МІК наводили у перерахунку на концентрацію доксицикліну, мг/мл, концентрацію декспантенолу враховували як супутню відповідну концентрацію у складі розведення, однак основним антибактеріальним компонентом вважали доксициклін.

Після внесення стандартизованої суспензії тест-мікроорганізмів пробірки інкубували при температурі 35–37 °С і визначали мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) до стандартних штамів бактерій, асоційованих з інфікованими ранами (включаючи госпітальну групу): *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* [202]. Інтерпретацію результатів проводили відповідно до меж EUCAST та CLSI [204, 205].

Результати оцінювали за наявністю або відсутністю помутніння поживного середовища. Прозоре поживне середовище свідчило про відсутність видимого росту тест-штаму, тоді як поява помутніння вказувала на ріст мікроорганізмів.

Результати визначення МІК досліджуваних модельних зразків наведено в таблиці 5.1.

За результатами дослідження встановлено, що у діапазоні розведень від 1:2 до 1:128 досліджуваний зразок пригнічував видимий ріст *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* та *Klebsiella pneumoniae*, що відповідало концентрації доксицикліну 1,5625 мкг/мл. Для *Escherichia coli* ріст мікроорганізмів спостерігався у розведенні 1:64. Таким чином чутливість штаму до антибіотику становила 3,125 мкг/мл, що інтерпретуємо як чутливі до доксицикліну.

Штам *Pseudomonas aeruginosa* проявив низьку чутливість до антибіотику – ріст спостерігався у розведенні 1:2, що відповідало чутливості 100 мкг/мл, де відповідно до значень EUCAST та CLSI інтерпретуємо резистентність штаму до доксицикліну.

Таблиця 5.1 – Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) досліджуваного зразка до бактеріальних штамів, асоційованих з інфікованими ранами

Розведення ЛЗ	Концентрація, мкг/мл	Концентрація, мг/мл	Контроль	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Чутливість штамів до антибіотику				S	S	S	R	S
вихідний розчин	100	0,1	+	-	-	-	-	-
1:2	50	0,05	+	-	-	-	+	-
1:4	25	0,025	+	-	-	-	+	-
1:8	12,5	0,0125	+	-	-	-	+	-
1:16	6,25	0,00625	+	-	-	-	+	-
1:32	3,125	0,003125	+	-	-	-	+	-
1:64	1,5625	0,0015625	+	-	-	+	+	-
1:128	0,78125	0,00078125	+	+	+	+	+	+
1:256	0,390625	0,000390625	+	+	+	+	+	+

У контрольних пробірках, що містили поживне середовище з відповідними тест-культурами без додавання досліджуваного зразка, спостерігали ріст мікроорганізмів, що підтверджувало життєздатність використаних тест-штамів та придатність умов інкубації для оцінки антимікробної активності.

Таким чином, за результатами серійних розведень встановлено, що до досліджуваного модельного зразка чутливі *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* та *Klebsiella pneumoniae*, в той час як *Pseudomonas aeruginosa* виявився резистентним до досліджуваного зразка.

Отримані результати дозволяють підтвердити доцільність використання розробленого препарату до бактеріальних штамів, асоційованих з інфікованими ранами.

5.2 Кінетика вивільнення активних фармацевтичних інгредієнтів (*in vitro*) із піни нашкірної «Доксипант»

Необхідним етапом оцінки якості та прогнозування терапевтичної ефективності розробленої піни нашкірної є дослідження кінетики вивільнення

АФІ (доксицикліну хіклату та декспантенолу) із піни нашкірної методом *In Vitro Release Testing* (IVRT). Відповідно до загальної статті (1724) «Semisolid Drug Products – Performance Tests», метод IVRT рекомендований для оцінки швидкості вивільнення активних речовин із лікарських форм для місцевого застосування, зокрема кремів, гелів, мазей, лосьйонів та пін, і базується на визначенні швидкості дифузії активних компонентів через інертну мембрану в рецепторне середовище [155]. Для проведення таких досліджень рекомендовано застосування вертикальних дифузійних комірок типу Franz, використання яких забезпечує відтворюваність результатів та можливість коректного порівняння профілів вивільнення [208, 209].

Застосування IVRT для піни нашкірної з доксицикліном хіклатом та декспантенолом є теоретично обґрунтованим, оскільки дозволяє оцінити вплив компонентів основи, зокрема пропіленгліколю, поверхнево-активних речовин та ліпофільних структуроутворювачів, на швидкість вивільнення активних фармацевтичних інгредієнтів і встановити кінетичні закономірності процесу, що є важливим критерієм при розробці та стандартизації лікарського засобу.

При розробці методики IVRT необхідно враховувати фізико-хімічні властивості активних компонентів та їх здатність вивільнятися з пінної системи. Доксицикліну хіклат є відносно гідрофільною сполукою, розчинність якої залежить від рН середовища, тоді як декспантенол характеризується високою водорозчинністю та здатністю до швидкої дифузії у водних системах [210, 133].

В роботах показано [208, 127], що швидкість вивільнення активних речовин із м'яких лікарських форм та пін нашкірних значною мірою визначається складом основи, зокрема вмістом допоміжних речовин, поверхнево-активних речовин і структуроутворюючих компонентів.

Для доксицикліну хіклату описано застосування дифузійних комірок Franz із використанням целофанових або діалізних мембран при дослідженні його вивільнення з гідрогелевих систем. У роботі Albi та співавт [206] було показано, що швидкість і ступінь вивільнення доксицикліну хіклату залежать від складу та структурно-механічних властивостей основи, зокрема її в'язкості та ступеня

полімерного структурування. У роботі Anumolu та співавт. [61] було показано можливість застосування дермальних гідрогелів на основі доксицикліну для місцевого лікування ран. Оцінку вивільнення та проникнення доксицикліну проводили з використанням дифузійних комірок Franz, що підтверджує доцільність застосування цього підходу для вивчення кінетики вивільнення активної речовини з лікарської форми.

У роботі Bezuglaya та співавт. [207] було досліджено вивільнення 5,0 % декспантенолу з розчинів і нашкірних напівтвердих основ із використанням вертикальних дифузійних комірок. Авторами показано, що профіль вивільнення декспантенолу залежить від типу основи та її реологічних властивостей, а кількісне визначення декспантенолу в рецепторному середовищі проводили методом рідинної хроматографії. У роботі Falusi та співавт. [127] було показано, що пінна нашкірна форма може істотно відрізнитися від гідрогелю та вихідної рідкої основи за швидкістю вивільнення активної речовини. Автори досліджували дермальну піну диклофенаку із застосуванням дифузійних комірок Franz і встановили швидке вивільнення активної речовини з пінної системи.

У зв'язку з цим для забезпечення умов підтримання градієнта концентрації (*sink conditions*) та стабільності активних речовин упродовж експерименту доцільним є використання буферних або кислотних рецепторних середовищ, що узгоджується з даними літератури щодо досліджень IVRT [208, 209]. Важливим є вибір інертної мембрани, яка не повинна обмежувати дифузію активних фармацевтичних інгредієнтів і має забезпечувати оцінку саме процесу їх вивільнення з лікарської форми. У роботах дослідників доведено доцільність використання синтетичних мембран із регенованої целюлози або змішаних ефірів целюлози, які виконують функцію фізичного бар'єра без активної участі в процесах проникнення [208, 212].

Враховуючи компонентний склад розробленої піни, що містить водно-спиртову фазу, пропіленгліколь і неіоногенну поверхнево-активну речовину твін 80 нами було обрано використання целюлозної мембрани Sartorius 11106, яка

характеризується низькою сорбційною здатністю щодо полярних сполук і є суміснією з подібними системами.

Відомо з робіт автора Thomas Higuchi [213], що процес вивільнення лікарських речовин із матричних систем найчастіше підпорядковується законам дифузії, а кумулятивна кількість вивільненої речовини Q є пропорційною квадратному кореню часу \sqrt{t} , що дає можливість оцінити характер кінетики вивільнення та визначити швидкість процесу:

$$Q = k_H \cdot \sqrt{t}, \quad (5.1)$$

де: Q – кумулятивна кількість активної речовини, вивільненої через одиницю площі мембрани (мг/см²);

k_H – константа швидкості вивільнення за Гігучі (мг/см²·√ГОД);

t – час дослідження, год.

У роботах авторів [214], присвячених аналізу м'яких лікарських форм, було доведено, що для кремів, гелів, мазей та пін лінійність залежності між кількістю вивільненої речовини і квадратним коренем часу свідчить про дифузійно-контрольований механізм вивільнення. У дослідженнях Isadore Kanfer та співавторів [208] було показано, що побудова залежності в координатах $Q - \sqrt{t}$ є доцільним підходом для оцінки вивільнення АФІ з м'яких лікарських форм. Такий спосіб представлення результатів дає змогу оцінити здатність методу IVRT, виявити відмінності між досліджуваними композиціями та підтвердити відтворюваність характеристик лікарської форми. Авторами також доведено, що за умов підтримання градієнта концентрації та використання інертної мембрани профілі вивільнення характеризуються високою лінійністю саме у координатах $Q - \sqrt{t}$.

Для піни наскірної з доксицикліном хіклатом та декспантенолом застосування моделі Гігучі є обґрунтованим, оскільки склад лікарської форми включає пропіленгліколь, твін 80, стеаринову кислоту та цетостеариловий спирт, які формують структуровану дисперсну матрицю з переважно дифузійно-контрольованим механізмом вивільнення. Крім того, використання целюлозної мембрани в умовах IVRT дозволяє оцінити саме процес вивільнення активних

речовин із лікарської форми, оскільки мембрана виконує функцію інертного фізичного бар'єра і, за даними сучасних досліджень, не має перешкоджати дифузії активних сполук до рецепторного середовища.

Результати вивчення кінетики вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу наведено в таблицях 5.2 та 5.3 відповідно.

Таблиця 5.2 – Вивільнення доксицикліну хіклату із піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» (n = 5, P 95%).

Зразок	Концентрація доксицикліну хіклату (мг/мл) через, год.						
	0,5	1	2	3	4	5	6
1	0,8023	1,2039	1,5296	1,8509	2,1265	2,3636	2,5810
2	0,8124	1,2092	1,5267	1,8509	2,1279	2,3646	2,5820
3	0,8139	1,2068	1,5315	1,8523	2,1275	2,3636	2,5791
4	0,8167	1,2015	1,5301	1,8514	2,1284	2,3641	2,5825
5	0,8066	1,2083	1,5281	1,8528	2,1255	2,3651	2,5815
$C_n \pm \Delta C$	0,8104 $\pm 0,0072$	1,2059 $\pm 0,0040$	1,5292 $\pm 0,0023$	1,8517 $\pm 0,0011$	2,1272 $\pm 0,0014$	2,3642 $\pm 0,0008$	2,5812 $\pm 0,0016$

Таблиця 5.3 – Вивільнення пантенолу із піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» (n = 5, P 95%).

Зразок	Концентрація пантенолу (мг/мл) через, год.						
	0,5	1	2	3	4	5	6
1	2,6219	5,1164	7,8740	10,2766	12,4319	14,2968	15,8658
2	2,6205	5,1188	7,8696	10,2785	12,4310	14,3006	15,8629
3	2,6229	5,1222	7,8687	10,2780	12,4329	14,2996	15,8653
4	2,6224	5,1193	7,8735	10,2790	12,4324	14,3011	15,8648
5	2,6246	5,1227	7,8660	10,2799	12,4281	14,2980	15,8651
$C_n \pm \Delta C$	2,6225 $\pm 0,0015$	5,1199 $\pm 0,0024$	7,8704 $\pm 0,0036$	10,2784 $\pm 0,0014$	12,4313 $\pm 0,0020$	14,2992 $\pm 0,0015$	15,8648 $\pm 0,0012$

При вивченні кінетики вивільнення через мембрану кумулятивний вміст (або кумулятивну кількість вивільненої речовини, Q) розраховували з урахуванням відбору проб за формулою:

$$Q_n = \frac{C_n \cdot V_r + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \cdot V_s}{A}, \quad (5.2)$$

де: Q_n - кумулятивна кількість вивільненої речовини на одиницю площі, мг/см²;

C_n - концентрація в n -й пробі;

V_r - об'єм рецепторного середовища в комірці, мл;

V_s - об'єм відібраної проби, мл;

A - площа дифузійної мембрани, см²;

$\sum C_i V_s$ - корекція на відбір проб.

Результати дослідження кінетики вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу через мембрану наведено у вигляді кумулятивної кількості вивільненої речовини (Q), розрахованої з урахуванням корекції на послідовний відбір проб, наведено в табл. 5.4 та 5.5 відповідно.

Таблиця 5.4 – Кумулятивний вміст доксицикліну хіклату в препараті «ДОКСИПАНТ» ($n = 5$, $P 95\%$).

Зразок	Кумулятивний вміст доксицикліну хіклату (мг/см ²) через, год.						
	0,5	1	2	3	4	5	6
1	1,668	2,503	3,18	3,848	4,421	4,914	5,366
2	1,689	2,514	3,174	3,848	4,424	4,916	5,368
3	1,692	2,509	3,184	3,851	4,423	4,914	5,362
4	1,698	2,498	3,181	3,849	4,425	4,915	5,369
5	1,677	2,512	3,177	3,852	4,419	4,917	5,367
$Q_n \pm \Delta Q$	1,6848 $\pm 0,0138$	2,5072 $\pm 0,0082$	3,1792 $\pm 0,0048$	3,8496 $\pm 0,0020$	4,4224 $\pm 0,0029$	4,9152 $\pm 0,0015$	5,3664 $\pm 0,0033$

Таблиця 5.5 – Кумулятивний вміст пантенолу в препараті «ДОКСИПАНТ» (n = 5, P 95%).

Зразок	Кумулятивний вміст пантенолу (мг/см ²) через, год.						
	0,5	1	2	3	4	5	6
1	5,451	10,637	16,370	21,365	25,846	29,723	32,985
2	5,448	10,642	16,361	21,369	25,844	29,731	32,979
3	5,453	10,649	16,359	21,368	25,848	29,729	32,984
4	5,452	10,643	16,369	21,370	25,847	29,732	32,983
5	5,457	10,650	16,354	21,372	25,838	29,726	32,984
Q _n ± ΔQ	5,4522 ± 0,0032	10,6442 ± 0,0058	16,3626 ± 0,0072	21,3688 ± 0,0029	25,8446 ± 0,0048	29,7282 ± 0,0041	32,9830 ± 0,0027

В результаті дослідження кінетики вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу із піни наскірної «ДОКСИПАНТ» встановлено поступове зростання концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів у рецепторному середовищі протягом усього періоду дослідження (6 год) (табл. 5.1–5.5). Отримані результати характеризувалися високою відтворюваністю, що підтверджувалося незначними відхиленнями між паралельними визначеннями та вузькими межами довірчих інтервалів.

Для доксицикліну хіклату концентрація в рецепторному середовищі зростала від $0,8104 \pm 0,0072$ мг/мл через 0,5 год до $2,5812 \pm 0,0016$ мг/мл через 6 год. Відповідно кумулятивна кількість вивільненої речовини збільшувалася від $1,6848 \pm 0,0138$ мг/см² до $5,3664 \pm 0,0033$ мг/см². При цьому найбільш інтенсивне збільшення показника спостерігалось на початкових етапах дослідження, тоді як у подальшому швидкість вивільнення поступово знижувалася, що може бути пов'язано зі зменшенням концентраційного градієнта між лікарською формою та рецепторним середовищем.

Для декспантенолу також встановлено поступове та безперервне збільшення концентрації в рецепторному середовищі протягом усього періоду дослідження – від $2,6225 \pm 0,0015$ мг/мл через 0,5 год до $15,8648 \pm 0,0012$ мг/мл через 6 год. Кумулятивна кількість декспантенолу, що вивільнилася через

мембрану, зростала від $5,4522 \pm 0,0032$ мг/см² до $32,9830 \pm 0,0027$ мг/см². Порівняно з доксицикліном хіклатом для декспантенолу були характерні вищі значення параметрів вивільнення, що може бути обумовлено його фізико-хімічними властивостями, зокрема високою розчинністю у водному середовищі.

Графічне представлення результатів (рис. 5.1) демонструє поступове збільшення кумулятивного вмісту вивільнених активних речовин упродовж усього часу дослідження. Для обох активних фармацевтичних інгредієнтів спостерігався закономірний профіль вивільнення без різких коливань показників, що свідчить про стабільний характер процесу дифузії через мембрану.

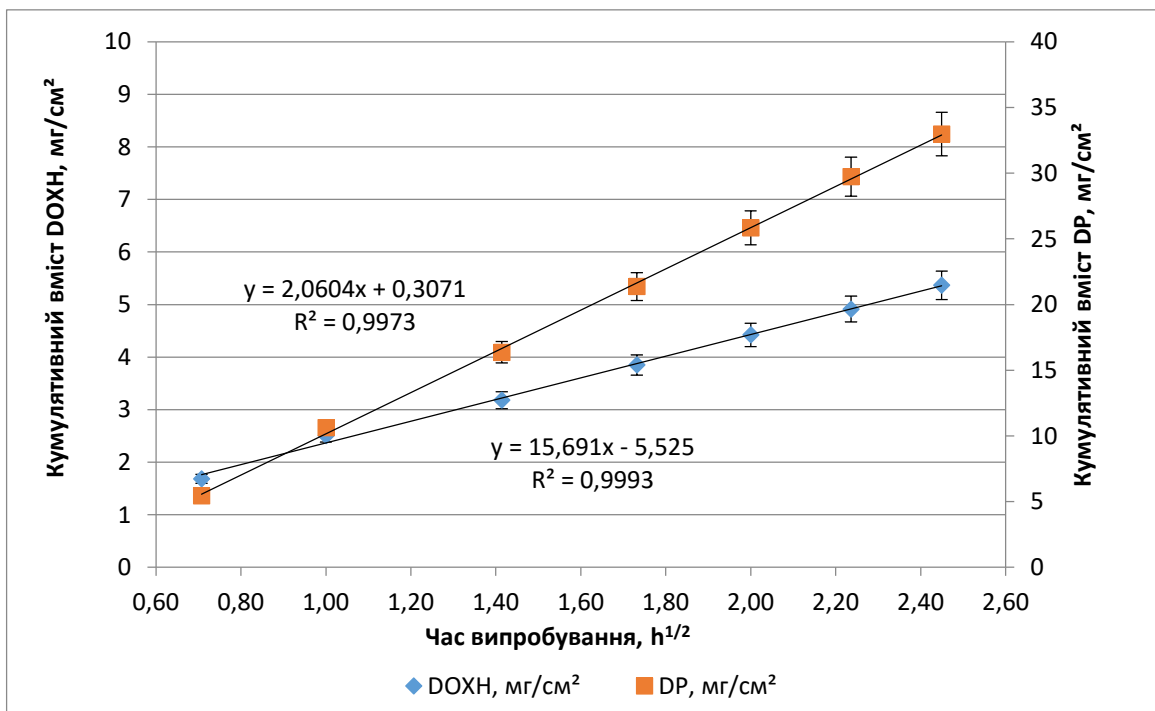


Рис. 5.1 – Профілі кінетики вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу з піни наскірної «ДОКСИПАНТ» *in vitro*

Для доксицикліну хіклату відмічено зростання концентрації з $0,8104 \pm 0,0072$ мг/мл до $2,5812 \pm 0,0016$ мг/мл, тоді як кумулятивний вміст збільшувався з $1,6848 \pm 0,0138$ мг/см² до $5,3664 \pm 0,0033$ мг/см². Для декспантенолу аналогічно встановлено підвищення концентрації з $2,6225 \pm 0,0015$ мг/мл до $15,8648 \pm 0,0012$

мг/мл, а кумулятивного вмісту – з $5,4522 \pm 0,0032$ мг/см² до $32,9830 \pm 0,0027$ мг/см².

Порівняльний аналіз профілів вивільнення показав, що декспантенол характеризується вищими значеннями як концентрації, так і кумулятивного вмісту порівняно з доксицикліном хіклатом, що може бути зумовлено відмінностями їхніх фізико-хімічних властивостей, зокрема розчинністю та здатністю до дифузії через напівпроникну мембрану.

Отримані профілі вивільнення обох активних речовин характеризуються поступовим характером без різких коливань, що може свідчити про однорідність лікарської форми та відтворюваність процесу дифузії.

Встановлено, що піна нашкірна «ДОКСИПАНТ» забезпечує контрольоване вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу в умовах *in vitro*, що підтверджує доцільність подальших досліджень її фармацевтичних та біофармацевтичних властивостей.

5.3 Кількісна оцінка впливу препарату «Доксипант» на ММСК

Для оцінки впливу активних фармацевтичних інгредієнтів на ММСК шкіри людини було використано три експериментальні зразки, виготовлені на ідентичній основі: комбіновану композицію доксицикліну хіклату з декспантенолом, зразок із декспантенолом та зразок із доксицикліну хіклатом. Склад модельних зразків наведено в таблиці 5.6.

З кожного експериментального складу безпосередньо перед додаванням до культурального середовища, готували серію робочих розведень у стерильних умовах. Для дослідження використовували кінцеві концентрації 0,50%, 0,25%, 0,10% та 0,05% від вихідного складу. Такий підхід дозволяв оцінити концентраційно-залежний вплив кожного зі складів на ММСК.

Таблиця 5.6 – Склад модельних зразків для оцінки впливу на ММСК шкіри людини

Діючі та допоміжні речовини	Склад №1	Склад №2	Склад №3
Діючі речовини			
Доксицикліну (у формі доксицикліну хіклату)	10 мг	-	10 мг
Декспантенол	50 мг	50 мг	-
Допоміжні речовини			
Цетостеариловий спирт	15 мг	15 мг	15 мг
Твін 80	10 мг	10 мг	10 мг
Метилпарабен	3,6 мг	3,6 мг	3,6 мг
Пропілпарабен	0,4 мг	0,4 мг	0,4 мг
Пропіленгліколь	100 мг	100 мг	100 мг
Стеаринова кислота	50 мг	50 мг	50 мг
Етанол 95%	0,012 мл	0,012 мл	0,012 мл
Гідроксид натрію	до рН 5,1-5,7	до рН 5,1-5,7	до рН 5,1-5,7
Вода очищена	До 1 мл	До 1 мл	До 1 мл

Розведення проводили безпосередньо перед додаванням у культуральне середовище, що мінімізувало ризик зміни фізико-хімічних властивостей дослідних зразків під час зберігання (табл.5.7).

Таблиця 5.7 – Схема розведення модельних зразків та кінцеві концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів

Група	Розведення	Кінцеві концентрації розведення
1	контроль (клітини без додавання препаратів)	
Склад 1 містить комбінацію доксициклін 10 мг/мл та декспантенол 50 мг/мл		
2	0,50%	50 мкг/мл та 250 мкг/мл
3	0,25%	25 мкг/мл та 125 мкг/мл
4	0,10%	10 мкг/мл та 50 мкг/мл
5	0,05%	5 мкг/мл та 25 мкг/мл
Склад 2 містить декспантенол 50 мг/мл		
6	0,50%	250 мкг/мл
7	0,25%	125 мкг/мл
8	0,10%	50 мкг/мл
9	0,05%	25 мкг/мл
Склад 3 містить доксициклін 10 мг/мл		
10	0,50%	50 мкг/мл
11	0,25%	25 мкг/мл
12	0,10%	10 мкг/мл
13	0,05%	5 мкг/мл

Дизайн експерименту

Для проведення експерименту були сформовані наступні групи:

- (1) – контроль (клітини без додавання препаратів);
- (2) – клітини з додаванням досліджуваного складу №1 у концентрації 0,50 % (кінцеві концентрації доксицикліну та декспантенолу становили 50 мкг/мл та 250 мкг/мл відповідно).
- (3) – клітини з додаванням досліджуваного складу №1 у концентрації 0,25 % (кінцеві концентрації доксицикліну та декспантенолу становили 25 мкг/мл та 125 мкг/мл відповідно).
- (4) – клітини з додаванням досліджуваного складу №1 у концентрації 0,10 % (кінцеві концентрації доксицикліну та декспантенолу становили 10 мкг/мл та 50 мкг/мл відповідно).
- (5) – клітини з додаванням досліджуваного складу №1 у концентрації 0,05 % (кінцеві концентрації доксицикліну та декспантенолу становили 5 мкг/мл та 25 мкг/мл відповідно).
- (6) – клітини з додаванням досліджуваного складу №2 у концентрації 0,50 % (кінцева концентрація декспантенолу становила 250 мкг/мл).
- (7) – клітини з додаванням досліджуваного складу №2 у концентрації 0,25 % (кінцева концентрація декспантенолу становила 125 мкг/мл).
- (8) – клітини з додаванням досліджуваного складу №2 у концентрації 0,10 % (кінцева концентрація декспантенолу становила 50 мкг/мл).
- (9) – клітини з додаванням досліджуваного складу №2 у концентрації 0,05 % (кінцева концентрація декспантенолу становила 25 мкг/мл).
- (10) – клітини з додаванням досліджуваного складу №3 у концентрації 0,50 % (кінцева концентрація доксицикліну становила 50 мкг/мл).
- (11) – клітини з додаванням досліджуваного складу №3 у концентрації 0,25 % (кінцева концентрація доксицикліну становила 25 мкг/мл).
- (12) – клітини з додаванням досліджуваного складу №3 у концентрації 0,10 % (кінцева концентрація доксицикліну становила 10 мкг/мл).

(13) – клітини з додаванням досліджуваного складу №3 у концентрації 0,05 % (кінцева концентрація доксицикліну становила 5 мкг/мл).

Експерименти проводили у трьох незалежних повтореннях.

Вплив експериментальних складів

Після 24 год культивування до ММСК додавали досліджувані розчини ще на 48 год.

Кількісна оцінка ММСК після культивування з досліджуваними розчинами

Через 48 год культивування ММСК з різними варіантами досліджуваних речовин, перші промивали PBS та фіксували 4% формаліном протягом 20-30 хв.

Для візуалізації ядер клітин використовували флуоресцентний барвник Hoechst 33342, який специфічно зв'язується з ДНК та забарвлює ядра клітин у синій колір.

Культури клітини інкубували з барвником протягом 4-5 хвилин у темряві при кімнатній температурі. Після цього надлишок барвника видаляли шляхом промивання PBS.

Конфокальна мікроскопія. Аналіз клітин проводили за допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопа FluoviewTMFV1000 (Olympus, Японія). Аналіз флуоресцентно забарвлених клітин проводили методом конфокальної мікроскопії, що є придатним підходом для візуалізації ядерних структур і морфологічного стану клітинної культури [216, 217, 218].

Збудження флуоресценції здійснювали при довжині хвилі 350 нм, реєстрацію сигналу – у діапазоні 460-480 нм.

Для кожної експериментальної групи отримували серію зображень 2 зразків клітин по 8 випадково обраних полях зору для кожного.

Кількісна оцінка ММСК після культивування з досліджуваними речовинами

Оцінювали шляхом підрахунку кількості ядер клітин у полі зору. Аналіз проведено для двох первинних культур; для кожної групи аналізували 8 випадково обраних полів зору.

Статистична обробка

Усі експерименти проводили у трьох незалежних повтореннях.

Результати представляли у вигляді $M \pm SEM$.

Статистичну значущість визначали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з *post-hoc* HSD Tukey з рівнем значущості $p < 0,05$ [218].

Мезенхімальні мультипотентні стовбурових клітин (ММСК) шкіри культивували в 24-лункових планшетах за стандартних умов (5% CO₂, 37 °C) протягом 48 годин.

Стандартним середовищем культивування було середовище DMEM- F12 (Capricorn-scientific, Німеччина), доповнене bFGF (PanBiotech, Німеччина), фетальною бичачою сироваткою (Sigma-Aldrich, США) та 1% пеніциліну-стрептоміцину (PanBiotech, Німеччина).

Через 48 годин культивування, ММСК шкіри були розділені на 13 експериментальних груп і культивувалися ще 48 годин:

- [1] стандартне культуральне середовище;
- [2] стандартне культуральне середовище + комбінація DOXH+DP у кінцевій концентрації 0,50%;
- [3] стандартне культуральне середовище + комбінація DOXH+DP у кінцевій концентрації 0,25% ;
- [4] стандартне культуральне середовище + комбінація DOXH+DP у кінцевій концентрації 0,10% ;
- [5] стандартне культуральне середовище + комбінація DOXH+DP у кінцевій концентрації 0,05% ;
- [6] стандартне культуральне середовище + DP у кінцевій концентрації 0,50%;
- [7] стандартне культуральне середовище + DP у кінцевій концентрації 0,25%;
- [8] стандартне культуральне середовище + DP у кінцевій концентрації 0,10%;

[9] стандартне культуральне середовище + DP у кінцевій концентрації 0,05%;

[10] стандартне культуральне середовище + DOXH у кінцевій концентрації 0,50%;

[11] стандартне культуральне середовище + DOXH у кінцевій концентрації 0,25% ;

[12] стандартне культуральне середовище + DOXH у кінцевій концентрації 0,10% ;

[13] стандартне культуральне середовище + DOXH у кінцевій концентрації 0,05% .

Загальна тривалість культивування становила 3 доби (72 год, 48 год – з досліджуваними речовинами).

Культури ММСК шкіри фіксували 4% розчином формаліну протягом 30 хвилин, а потім промивали промивним буфером (0,1 М PBS). Забарвлення ядер ММСК проводили флуоресцентним барвником Hoechst протягом 4-5 хв. Зображення були зроблені за допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопа FluoViewTMFV1000 (Olympus, Японія).

Після 48 год культивування ММСК шкіри (n=2) з досліджуваними складами проводили підрахунок Hoechst-позитивних ядер у 8 випадково вибраних полях зору (для обох варіантів клітин). При об'єднаному аналізі клітин, отриманих від двох донорів, у контрольній групі середня кількість клітин у полі зору становила $222,39 \pm 31,49$ (n = 18).

З урахуванням загальноприйнятого підходу до інтерпретації *in vitro* цитотоксичності, за ознаку цитотоксичного впливу приймали зниження відносної життєздатності клітин нижче 70% від показника негативного контролю. Поріг 70% як межу нецитотоксичності широко застосовують в інтерпретації тестів за ISO 10993-5. Морфологічні зміни клітинної культури після інкубації з досліджуваними складами наведено на рисунку 5.2.

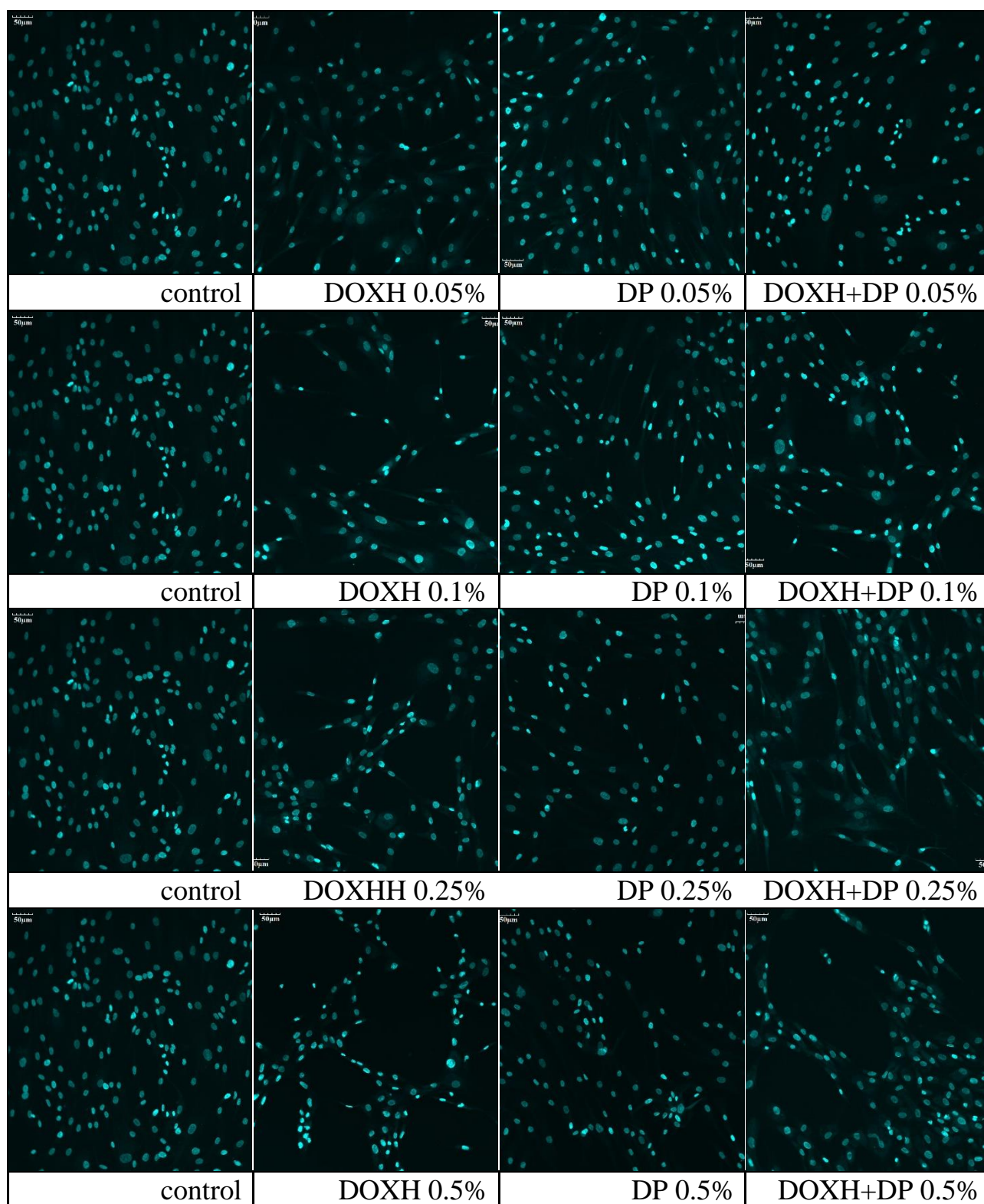


Рисунок 5.2. Мікрофотографії ядер клітин, забарвлених барвником Hoechst; лазерна скануюча конфокальна мікроскопія

Найбільш виражене зниження кількості клітин встановили в групах доксицикліну як монокомпонента (коцентрації 0,05%; 0,1%; 0,25%; 0,5%).

Середня кількість клітин у полі зору становила $117,13 \pm 17,53$ для 0,5% DOXH ($n = 16$), $121,00 \pm 18,29$ для 0,25% DOXH ($n = 16$), $84,81 \pm 12,76$ для 0,1% DOXH ($n = 16$) та $83,56 \pm 12,97$ для 0,05% DOXH ($n = 16$). В усіх випадках різниця порівняно з контролем була статистично значущою ($p < 0,05$), причому найбільш різке зниження спостерігали для 0,1% DOXH і 0,05% DOXH концентрацій. Це свідчить про більш виражений негативний вплив доксицикліну на кількісні характеристики ММСК у використаному діапазоні концентрацій (рис.5.3).

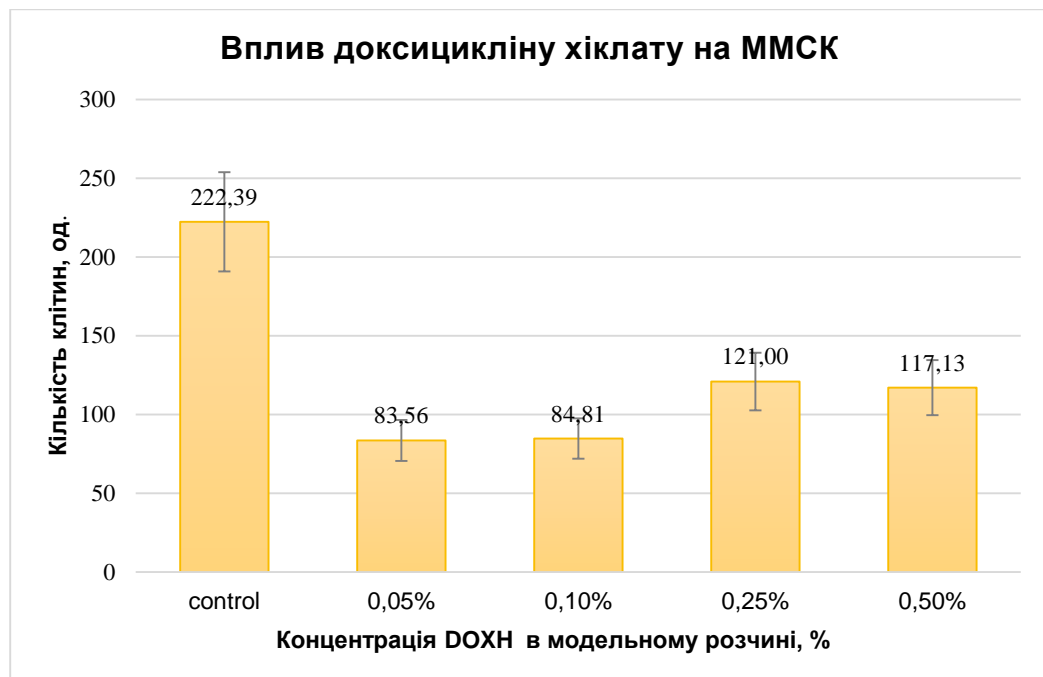


Рисунок 5.3. Кількість клітин у групах (10-13) з додаванням доксицикліну у концентраціях 0,05%; 0,1%; 0,25%; 0,5%

У цих групах кількість клітин становила 37,6–54,4% від контролю, цікаво зазначити, що найвираженіше зменшення кількості клітин спостерігали саме для концентрацій 0,1% та 0,05%.

У групах, де до культурального середовища додавали декспантенол як монокомпонент, середня кількість клітин дорівнювала $132,00 \pm 20,74$ для 0,50% DP ($n = 16$), $133,56 \pm 19,13$ для 0,25% DP ($n = 16$), $151,56 \pm 24,61$ для 0,10% DP ($n = 16$) та $162,44 \pm 25,04$ для 0,05% DP ($n = 16$). Це відповідало 59,4–73,0% від контрольного значення. Таким чином, декспантенол виявляв істотно м'якший

вплив на кількість клітин порівняно з доксицикліном, а в нижчих концентраціях не спричиняв статистично значущого зменшення кількості клітин (рис. 5.4).

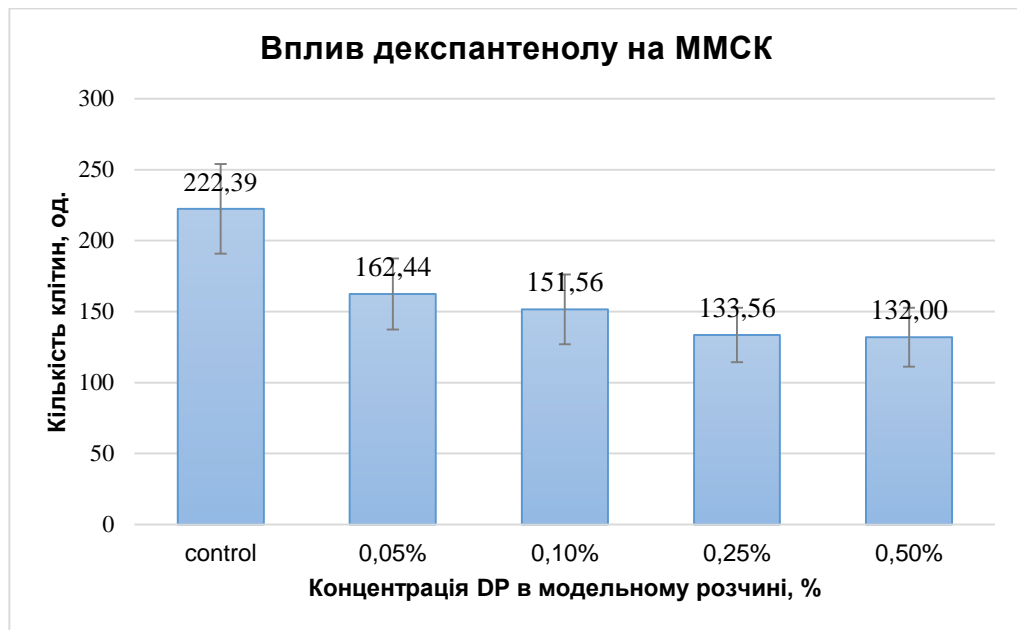


Рисунок 5.4 – Кількість клітин у групах (6-9) з додаванням декспантенолу у концентраціях 0,05%; 0,1%; 0,25%; 0,5%

У групах, до яких додавали комбінацію доксицикліну з декспантенолом спостерігали зменшення кількості ядер клітин до $130,73 \pm 25,17$ клітин у полі зору для 0,50% DOXH+DP ($n = 15$); $123,81 \pm 21,53$ для 0,25% DOXH+DP ($n = 16$); $131,75 \pm 17,20$ для 0,10% DOXH+DP ($n = 16$) та $149,31 \pm 21,43$ для 0,05% DOXH+DP ($n = 16$) порівняно з контролем. Порівняно з контролем зниження цього показника було статистично значущим для концентрацій 0,50%, 0,25%, 0,10% і 0,05 % доксицикліну та декспантенолу. Таким чином, у присутності комбінованого складу кількість клітин становила 55,7–67,1% від контрольного рівня (рис.3).

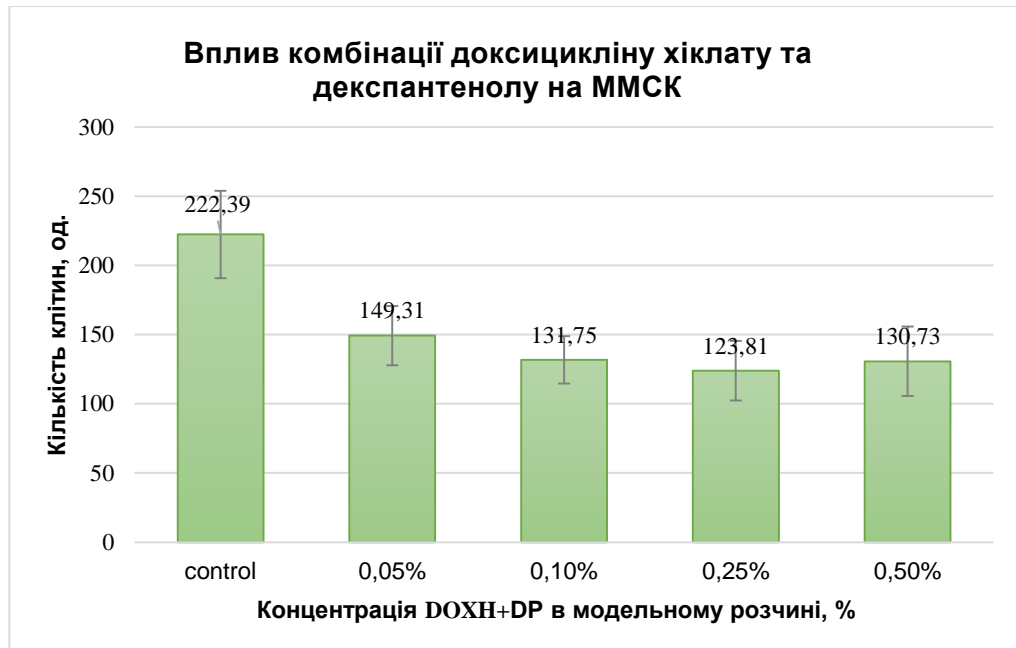


Рисунок 5.5 – Кількість клітин у групах (2-5) з додаванням комбінації доксицикліну та декспантенолу у концентраціях 0,05%; 0,1%; 0,25%; 0,5%

Результати також були проаналізовані у відсотках відносно контролю, прийнятого за 100%. У групах комбінації показник становив приблизно 58,8%, 55,7%, 59,2% та 67,1% для 0,50%, 0,25%, 0,10% і 0,05% відповідно. Для декспантенолу ці значення дорівнювали 59,4%, 60,1%, 68,2% та 73,0%, а для доксицикліну – 52,7%, 54,4%, 38,1% та 37,6%. Отже, за всіх досліджених концентрацій доксициклін забезпечував найнижчу кількість клітин, тоді як декспантенол – найвищу або проміжну, а комбінований склад займав проміжне положення між ними, що вказує на зменшення цитотоксичного комбінації порівняно з доксицикліном як монокомпонентом (рис.5.6).

Додатковий однофакторний дисперсійний аналіз із post-hoc тестом Tukey для порівняння трьох складів у межах однакових концентрацій показав, що для об'єднаної вибірки статистично значущі міжгрупові відмінності в межах однакових концентрацій були для 0,10% та 0,05% розчинів.

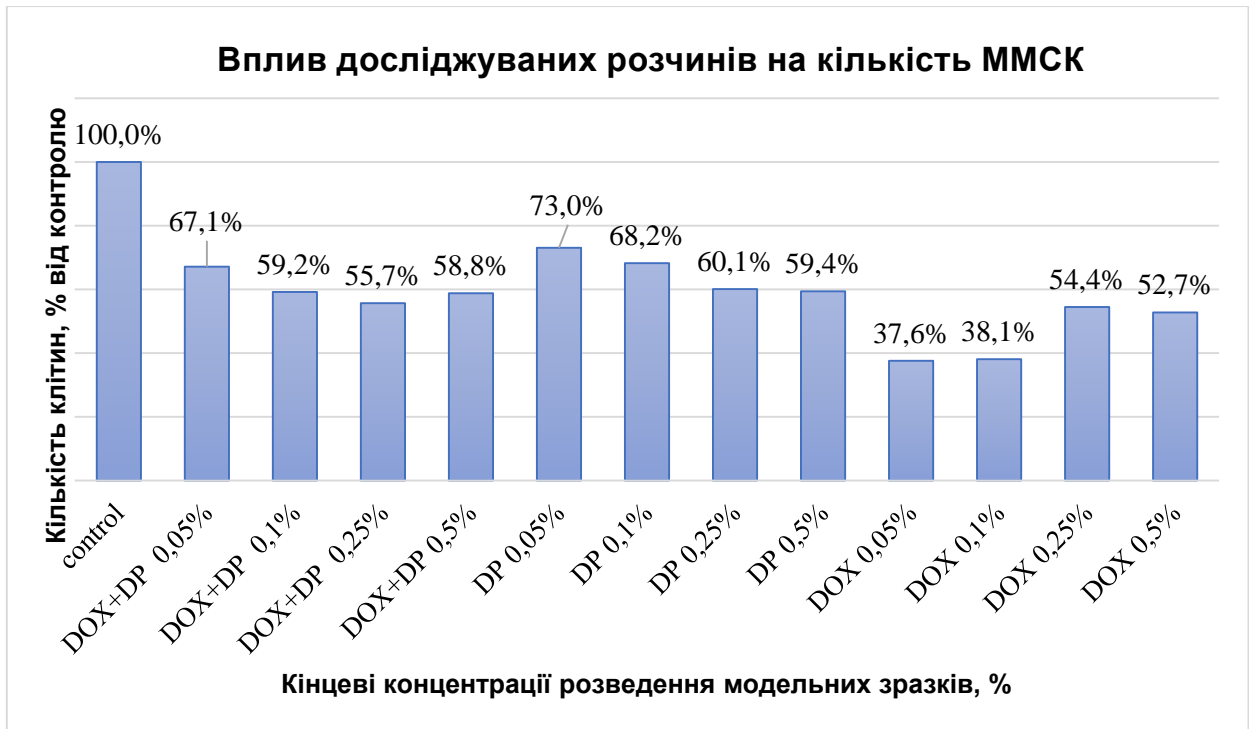


Рисунок 5.6 – Вплив експериментальних сполук на кількісні показники ММСК

Зокрема, при концентрації 0,10% загальний ефект між трьома складами був достовірним (ANOVA $p = 0,045457$), а за результатами post-hoc тесту Tukey статистично значуща різниця встановлена між групою декспантенолу та групою доксицикліну (DP 0,1% та DOXH 0,1%, $p = 0,04127$). При концентрації 0,05% також виявлено загальну міжгрупову різницю (ANOVA $p = 0,020012$); за тестом Tukey достовірною була відмінність між декспантенолом і доксицикліном (DP 0,05% vs DOXH 0,05%, $p = 0,02414$), тоді як різниця між комбінацією та доксицикліном мала лише тенденцію до значущості (DOXH+DP 0,05% та DOXH 0,05%, $p = 0,06997$) (рис. 5.7 та 5.8).

У культурі зразка клітин 1 цей ефект був виражений сильніше: при 0,05% концентрації кількість клітин у групі «доксициклін + декспантенол» була вищою, ніж у групі доксицикліну ($p = 0,03451$), а декспантенол також перевищував доксициклін. Натомість у культурі зразка 2 міжгрупові відмінності в межах однакових концентрацій були менш вираженими, що свідчить про наявність донор-специфічної варіабельності відповіді клітин.

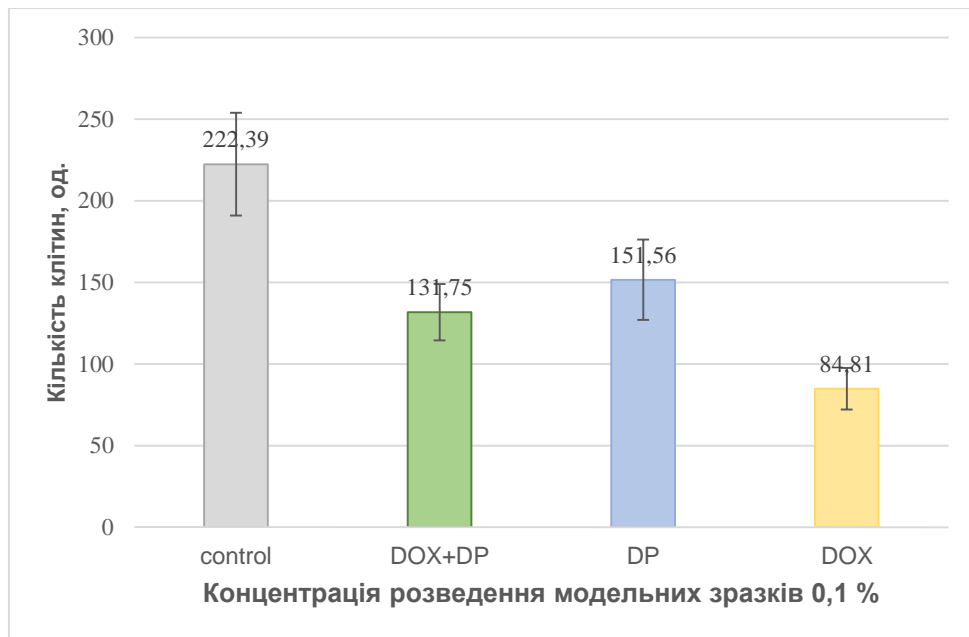


Рисунок 5.7 – Вплив досліджуваних сполук на культуру ММСК у концентрації 0,1%

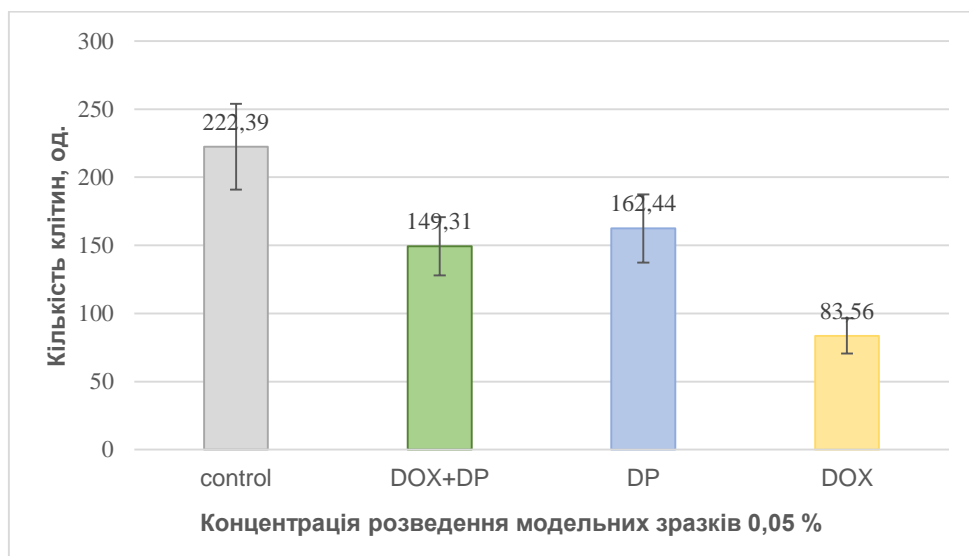


Рисунок 5.8 – Вплив досліджуваних сполук на культуру ММСК у концентрації 0,05%

За критерієм відносної життєздатності клітин (>70% від контролю як межа нецитотоксичності), доксициклін виявляв виражений несприятливий вплив на культуру клітин, тоді як декспантенол характеризувався значно м'якшою дією. Комбіноване застосування доксицикліну з декспантенолом не повністю усувало негативний ефект, однак достовірно зменшувало його

вираженість порівняно з доксицикліном як монокомпонентом. Декспантенол характеризується значно м'якшим впливом, а при нижчих концентраціях не зумовлює статистично значущого зменшення кількості клітин відносно контролю. Комбінація доксицикліну з декспантенолом в усіх досліджених концентраціях впливала на клітини менш негативно, ніж доксициклін окремо, що дає підстави розглядати декспантенол як компонент, здатний частково пом'якшувати небажаний вплив доксицикліну на клітинну культуру (табл.5.8).

Таблиця 5.8 – Числові дані кількості клітин експериментальних складів

Група	Склад	n	Кількість клітин, $M \pm SEM$	% клітин від контролю	Клітини/мм ² , $M \pm SEM$
1	Контроль (без препарату)	18	222,39 ± 31,49	100,0	549,97 ± 77,87
2	Доксициклін + декспантенол 0,50%	15	130,73 ± 25,16	58,8	323,30 ± 62,21
3	Доксициклін + декспантенол 0,25%	16	123,81 ± 21,53	55,7	306,18 ± 53,23
4	Доксициклін + декспантенол 0,10%	16	131,75 ± 17,20	59,2	325,82 ± 42,53
5	Доксициклін + декспантенол 0,05%	16	149,31 ± 21,43	67,1	369,24 ± 52,98
6	Декспантенол 0,50%	16	132,00 ± 20,74	59,4	326,44 ± 51,29
7	Декспантенол 0,25%	16	133,56 ± 19,13	60,1	330,30 ± 47,30
8	Декспантенол 0,10%	16	151,56 ± 24,61	68,2	374,81 ± 60,85
9	Декспантенол 0,05%	16	162,44 ± 25,04	73,0	401,71 ± 61,91
10	Доксициклін 0,50%	16	117,13 ± 17,53	52,7	289,64 ± 43,34
11	Доксициклін 0,25%	16	121,00 ± 18,29	54,4	299,21 ± 45,22
12	Доксициклін 0,10%	16	84,81 ± 12,76	38,1	209,71 ± 31,55
13	Доксициклін 0,05%	16	83,56 ± 12,97	37,6	206,62 ± 32,07

Проведено оцінку впливу розробленої комбінації «ДОКСИПАНТ», а також окремих активних фармацевтичних інгредієнтів – доксицикліну хіклату та декспантенолу – на кількість ММСК шкіри *in vitro*.

Встановлено, що доксицикліну хіклат як монокомпонент чинив найбільш виражений цитотоксичний вплив на кількість клітин особливо в концентраціях 0,10% і 0,05% (серед досліджуваних концентрацій), що супроводжувалося зниженням кількості клітин до 37,6–54,4% відносно контролю.

Декспантенол характеризувався м'якшим впливом на клітинну культуру, забезпечуючи збереження 59,4–73,0 % клітин відносно контролю. Комбінований склад доксицикліну хіклату з декспантенолом забезпечував проміжні показники кількості клітин – 55,7–67,1 % від контролю, що свідчить про здатність декспантенолу частково пом'якшувати несприятливий вплив доксицикліну на клітинну культуру. Ймовірно, більш м'який вплив комбінованого складу на клітинну культуру може бути пов'язаний із репаративними властивостями декспантенолу, зокрема його участю у підтриманні процесів епідермальної диференціації, реепітелізації та проліферації клітин, необхідних для загоєння ран [108, 167, 182]. Водночас дані літератури свідчать, що доксициклін, окрім антибактеріальної дії, може модулювати запальну відповідь, активність матриксних металопротеїназ та оксидативний стрес [31, 34]. Отримані результати дають підстави припустити, що поєднання доксицикліну хіклату з декспантенолом частково зменшує несприятливий вплив доксицикліну на кількісні показники клітинної культури, однак механізм цього ефекту потребує подальшого підтвердження подальшими дослідженнями, зокрема оцінкою ROS, маркерів апоптозу та метаболічної активності клітин.

Таким чином, додавання декспантенолу до складу піни з доксицикліном не лише надає препарату ранозагоювальних властивостей, але й пом'якшує цитотоксичний вплив антибіотика на рівні клітин *in vitro*.

Висновки до розділу 5

1. Підтверджено антимікробну активність піни нашкірної «Доксипант» щодо тест-штамів, асоційованих з інфікованими ранами. Встановлено, що *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* і *Klebsiella pneumoniae* були чутливими до препарату при концентрації доксицикліну 1,5625 мкг/мл, *Escherichia coli* – при концентрації 3,125 мкг/мл, тоді як штам *Pseudomonas aeruginosa* виявив резистентність до доксицикліну при концентрації 100 мкг/мл, що підтверджує антимікробну активність піни нашкірної «ДОКСИПАНТ», щодо бактеріальних штамів асоційованих з інфікованими ранами.

2. Проведеними дослідження кінетики вивільнення доксицикліну хіклату та декспантенолу з піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» методом IVRT встановлено поступове, контрольоване та відтворюване вивільнення обох активних фармацевтичних інгредієнтів упродовж 6 годин, при цьому концентрація доксицикліну хіклату в рецепторному середовищі зростала від $0,8104 \pm 0,0072$ мг/мл через 0,5 год до $2,5812 \pm 0,0016$ мг/мл через 6 год, а його кумулятивний вміст – від $1,6848 \pm 0,0138$ мг/см² до $5,3664 \pm 0,0033$ мг/см²; концентрація декспантенолу зростала від $2,6225 \pm 0,0015$ мг/мл до $15,8648 \pm 0,0012$ мг/мл, а кумулятивний вміст – від $5,4522 \pm 0,0032$ мг/см² до $32,9830 \pm 0,0027$ мг/см², що підтверджує активніше вивільнення декспантенолу порівняно з доксицикліну хіклатом та придатність отриманих профілів для подальшої біофармацевтичної оцінки лікарської форми.

3. Проведено оцінку впливу доксицикліну хіклату, декспантенолу та їх комбінації у вигляді розробленої комбінації «Доксипант» на кількість ММСК. Встановлено, що доксицикліну хіклат як монокомпонент чинить найбільш виражений цитотоксичний вплив, що супроводжується зниженням кількості клітин до 37,6-54,4 % відносно контролю. Декспантенол характеризується м'якшим впливом на клітинну культуру, забезпечуючи збереження 59,4-73,0 % клітин відносно контролю. Комбінований склад доксицикліну хіклату з декспантенолом забезпечував проміжні показники життєздатності клітин – 55,7-67,1 % від контролю, що свідчить про здатність декспантенолу частково пом'якшувати цитотоксичний вплив доксицикліну та підтримувати репаративний потенціал клітин шкіри.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі теоретично обґрунтовано та експериментально вирішено науково-практичне завдання з розроблення складу, технології та методів контролю якості комбінованої піни нашкірної у формі піни нашкірної з доксицикліну хіклатом і декспантенолом для місцевого лікування інфікованих ранових уражень шкіри.

1. За результатами аналізу сучасних підходів до лікування ран обґрунтовано доцільність розробки комбінованої фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії, що зумовлено багатфакторним характером ранового процесу, зокрема мікробною контамінацією, формуванням біоплівки, надмірною запальною реакцією, порушенням ремоделювання позаклітинного матриксу, підвищеною трансепідермальною втратою води та зниженням ефективності природного загоєння.

2. Обґрунтовано доцільність поєднання доксицикліну хіклату та декспантенолу в одній фармацевтичній композиції: доксицикліну хіклат визначено як антибактеріальний компонент із додатковими протизапальними та ММП-інгібувальними властивостями, декспантенол – як речовину репаративної дії, що підтримує гідратацію, бар'єрну функцію шкіри та процеси реепітелізації.

3. За результатами маркетингового аналізу встановлено обмеженість сегмента лікарських засобів під тиском на фармацевтичному ринку України: зареєстровано 65 найменувань, з яких 58 призначені для медичного застосування та 7 – для ветеринарної медицини; препарати групи D03 становлять 13,79 % асортименту лікарських засобів під тиском для медичного застосування, що підтверджує доцільність розроблення нової нашкірної пінної форми для місцевої терапії ранових уражень.

4. Із застосуванням підходу *Quality by Design* розроблено цільовий профіль якості піни нашкірної, визначено критичні показники якості та сформовано стратегію контролю, що охоплює опис, ідентифікацію та кількісне визначення активних речовин, мікробіологічну чистоту, відносну густину піни, час

розширення, тиск у контейнері, вихід вмісту, герметичність, функціонування клапана і насадки, пакування та маркування.

5. Обґрунтовано систему розчинників для введення доксицикліну хіклату до складу матричного розчину: за результатами 28-добового скринінгу восьми модельних систем із концентраціями доксицикліну хіклату 3,0 %, 5,0 %, 7,5 % і 10,0 % за температур 25 ± 2 °C, 40 ± 2 °C та 5 ± 2 °C встановлено доцільність використання системи етанол : пропіленгліколь : вода у співвідношенні 2 : 10 : 88.

6. За результатами мікробіологічного скринінгу модельних зразків встановлено концентраційну залежність антимікробної активності від вмісту доксицикліну хіклату; найбільші зони затримки росту отримано для концентрації 1,0 % – $23,70 \pm 0,39$ мм для *E. coli* та $28,20 \pm 0,34$ мм для *S. aureus*, що обґрунтовує вибір доксицикліну хіклату в концентрації 10 мг/мл.

7. Розроблено склад стабільної піноутворювальної системи та обґрунтовано функціональне призначення допоміжних речовин: цетостеарилового спирту як структуроутворювача, емоленга і підсилювача піноутворення; твіну 80 як неіоногенної поверхнево-активної речовини; стеаринової кислоти як емульгатора-загусника; пропіленгліколю, етанолу 95 % і води очищеної як компонентів дисперсійного середовища; метилпарабену і пропілпарабену як антимікробних консервантів; гідроксиду натрію як регулятора рН.

8. Реологічними дослідженнями модельних матричних розчинів підтверджено псевдопластичний характер їхньої течії, що є технологічно доцільним для аерозольних піноутворювальних систем; оптимальним визначено склад № 4, для якого встановлено найвищий ступінь структурного відновлення після руйнування під дією напруги зсуву – 88,24 %, тоді як для складів № 2, № 6 і № 7 цей показник становив 71,57 %, 66,08 % і 60,36% відповідно.

9. Обґрунтовано вибір суміші пропану, бутану та ізобутану як пропеленту для піни нашкірної; встановлено доцільність використання 35,00 г пропеленту на контейнер об'ємом 200 мл із 93,0 г основного розчину, що забезпечувало

плавну видачу піни, стабільну роботу клапанно-розпилювальної системи, робочий тиск близько 0,4 МПа та вихід вмісту $94,02 \pm 1,44$ %.

10. За результатами макроскопічної та мікроскопічної оцінки піни підтверджено перевагу складу № 4, для якого об'ємне розширення становило $210 \pm 2,88$ %, руйнування піни – $10 \pm 0,2$ %, об'ємна стабільність – $90 \pm 1,52$ %, відносна густина – 0,6012, час розширення – 100-110 с, а мікроскопічно підтверджено відсутність бульбашок розміром ≥ 300 мкм.

11. Розроблено та експериментально обґрунтовано склад піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» на основі доксицикліну хіклату 1,0 % і декспантенолу 5,0 %; склад № 4 визначено оптимальним за сукупністю реологічних, піноутворювальних, мікроскопічних і фізико-хімічних показників.

12. Розроблено проєкт специфікації контролю готового продукту «ДОКСИПАНТ», що охоплює ідентифікацію та кількісне визначення доксицикліну хіклату і декспантенолу, мікробіологічну чистоту, фармако-технологічні властивості піни, герметичність контейнера, функціонування клапанно-насадкової системи, пакування та маркування.

13. Розроблено аналітичні методики кількісного визначення активних речовин у складі піни нашкірної «ДОКСИПАНТ»: доксицикліну хіклату – методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області при 270 нм із підтвердженням відсутності суттєвого впливу декспантенолу та компонентів основи; декспантенолу – методом ВЕРХ при 210 нм із підтвердженням селективності та оптимізацією рухомої фази буферний розчин : метанол 95 : 5, що скоротило час утримування декспантенолу приблизно з 9,8 хв до 3,5 хв.

14. Розроблено технологічний процес виготовлення піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» і визначено критичні параметри виробництва, зокрема приготування матричного розчину, регулювання рН, гомогенізацію, наповнення контейнерів, введення пропеленту, герметизацію, перевірку клапана та контроль виходу вмісту; проведений аналіз ризиків для якості з метою формування стратегії контролю технологічного процесу і готового продукту.

15. Дослідженнями стабільності трьох серій препарату підтверджено відповідність піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» вимогам специфікації за умов довгострокового зберігання при 25 ± 2 °C протягом 24 місяців, прискореного зберігання при 40 ± 2 °C протягом 6 місяців та після першого використання при 25 ± 2 °C протягом 24 місяців, встановлено термін придатності 2 роки.

16. Мікробіологічними дослідженнями підтверджено антимікробну активність піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» щодо штамів, асоційованих з інфікованими ранами: МІК для *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* і *Klebsiella pneumoniae* становила 1,5625 мкг/мл, для *Escherichia coli* – 3,125 мкг/мл; *Pseudomonas aeruginosa* був резистентним за умов дослідження, МІК становила 100 мкг/мл.

17. Методом IVRT встановлено поступове та відтворюване вивільнення доксицикліну хіклату і декспантенолу з піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» протягом 6 год: концентрація доксицикліну хіклату зростала від $0,8104 \pm 0,0072$ до $2,5812 \pm 0,0016$ мг/мл, а кумулятивна кількість – від $1,6848 \pm 0,0138$ до $5,3664 \pm 0,0033$ мг/см²; для декспантенолу відповідні значення становили від $2,6225 \pm 0,0015$ до $15,8648 \pm 0,0012$ мг/мл та від $5,4522 \pm 0,0032$ до $32,9830 \pm 0,0027$ мг/см².

18. *In vitro* оцінкою впливу активних речовин на кількість ММСК шкіри встановлено, що доксицикліну хіклат як монокомпонент чинив найбільш виражений цитотоксичний вплив, знижуючи кількість клітин до 37,6-54,4 % відносно контролю; декспантенол забезпечував збереження 59,4-73,0 % клітин, а комбінований склад доксицикліну хіклату з декспантенолом – 55,7-67,1 %, що свідчить про часткове пом'якшення негативного впливу доксицикліну в присутності декспантенолу.

19. Сукупність фармако-технологічних, фізико-хімічних, аналітичних, мікробіологічних, біофармацевтичних і клітинних результатів підтверджує наукову обґрунтованість складу, технології та підходів до контролю якості піни нашкірної «ДОКСИПАНТ» і доцільність її подальшої апробації, масштабування, реєстраційних досліджень та впровадження у виробництво.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Frykberg, R. G., & Banks, J. (2015). Challenges in the Treatment of Chronic Wounds. *Advances in wound care*, 4(9), 560–582. <https://doi.org/10.1089/wound.2015.0635>
2. Prevaldi, C., Paolillo, C., Locatelli, C., Ricci, G., Catena, F., Ansaloni, L., & Cervellin, G. (2016). Management of traumatic wounds in the Emergency Department: position paper from the Academy of Emergency Medicine and Care (AcEMC) and the World Society of Emergency Surgery (WSES). *In World Journal of Emergency Surgery* (Vol. 11, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1186/s13017-016-0084-3>
3. Raffetto, J. D., & Khalil, R. A. (2008). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochemical pharmacology*, 75(2), 346–359. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.07.004>
4. Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *The Journal of international medical research*, 37(5), 1528–1542. <https://doi.org/10.1177/147323000903700531>
5. Díaz-García, D., Filipová, A., Garza-Veloz, I., & Martinez-Fierro, M. L. (2021). A Beginner's Introduction to Skin Stem Cells and Wound Healing. *In International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Issue 20, p. 11030). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms222011030>
6. Ackermann, P. W., & Hart, D. A. (2013). Influence of Comorbidities: Neuropathy, Vasculopathy, and Diabetes on Healing Response Quality. *Advances in wound care*, 2(8), 410–421. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0437>
7. Kolimi, P., Narala, S., Nyavanandi, D., Youssef, A. A. A., & Dudhipala, N. (2022). Innovative Treatment Strategies to Accelerate Wound Healing: Trajectory and Recent Advancements. *In Cells* (Vol. 11, Issue 15, p. 2439). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/cells11152439>
8. Saghazadeh, S., Rinoldi, C., Schot, M., Kashaf, S. S., Sharifi, F., Jalilian, E., Nuutila, K., Giatsidis, G., Mostafalu, P., Derakhshandeh, H., Yue, K., Swieszkowski, W., Memic, A., Tamayol, A., & Khademhosseini, A. (2018). Drug delivery systems

and materials for wound healing applications. *Advanced drug delivery reviews*, 127, 138–166. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.04.008>

9. Reygaert W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS microbiology*, 4(3), 482–501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>

10. Rusu, A., & Buta, E. L. (2021). The Development of Third-Generation Tetracycline Antibiotics and New Perspectives. *Pharmaceutics*, 13(12), 2085. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122085>

11. Holmes, N. E., & Charles, P. G. P. (2009). Safety and Efficacy Review of Doxycycline // *Clinical Medicine Insights: Therapeutics*. – Rezhym dostupu: <https://doi.org/10.4137/CMT.S2035>

12. Салій О. О., Саченко Ю. В., Пальчевська Т. А., Страшний В. В. Сучасні шляхи доставки доксицикліну та перспективи застосування у фармації. *Фармацевтичний журнал*. 2022. № 4. С. 50–61. DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.4.22.06>

13. Sloan B., Scheinfeld N. The use and safety of doxycycline hyclate and other second-generation tetracyclines // *Expert Opinion on Drug Safety*. 2008; 7: 571–7. <https://doi.org/10.1517/14740338.7.5.571>

14. Liu, J., & Khalil, R. A. (2017). Matrix Metalloproteinase Inhibitors as Investigational and Therapeutic Tools in Unrestrained Tissue Remodeling and Pathological Disorders. *Progress in molecular biology and translational science*, 148, 355–420. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.04.003>

15. Saliy, O., Popova, M., Tarasenko, H., & Getalo, O. (2024). Development strategy of novel drug formulations for the delivery of doxycycline in the treatment of wounds of various etiologies. *European journal of pharmaceutical sciences : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 195, 106636. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106636>

16. Xue, M., Zhao, R., Lin, H., & Jackson, C. (2018). Delivery systems of current biologicals for the treatment of chronic cutaneous wounds and severe burns.

Advanced drug delivery reviews, 129, 219–241.

<https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.03.002>

17. Skwarczynski M, Bashiri S, Yuan Y, Ziora ZM, Nabil O, Masuda K, Khongkow M, Rimsueb N, Cabral H, Ruktanonchai U, Blaskovich MAT, Toth I. Antimicrobial Activity Enhancers: Towards Smart Delivery of Antimicrobial Agents. *Antibiotics*. 2022; 11(3):412. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11030412>

18. European Pharmacopoeia, 9 th Edition (2017), European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare, Council of Europe, Strasbourg, France.

19. Порівняльні дослідження профілів вивільнення доксицикліну хіклату з твердих желатинових капсул при зміні виробників діючої речовини / Салій О. О., Куришко Г. Г., Огеренко З. О., Гетало О. В. // *Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. Серія Технічні науки*. - 2020. - № 3 (146). - С. 165-174. <https://doi.org/10.30857/1813-6796.2020.3.14>

20. Jutglar, M., Foradada, M., Caballero, F., Hoogmartens, J., & Adams, E. (2018). Influence of the solvent system on the stability of doxycycline solutions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* (Vol. 159, pp. 60–65). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.06.054>

21. Kogawa A.C., Zoppi A., Quevedo M.A., Nunes Salgado H.R., Longhi M.R. (2014). Increasing doxycycline hyclate photostability by complexation with β -cyclodextrin. *AAPS PharmSciTech*, pp. 1209-1217 <https://doi.org/10.1208/s12249-014-0150-7>

22. R. Yekkala, J. Diana, E. Adams, E. Roets, J. Hoogmartens, Development of an improved liquid chromatographic method for the analysis of doxycycline, *Chromatographia* 58 (2003) 313-316. <https://doi.org/10.1365/s10337-003-0044-4>

23. Токменко І. І., Гетало О. В., Салій О. О. Перспективи використання доксицикліну в проблематиці антибіотикорезистентності // *Health & Education*. – 2024. – №. 2. – С. 149-156. <https://doi.org/10.32782/health-2024.2.19>

24. Stechmiller, J., Cowan, L., & Schultz, G. (2010). The role of doxycycline as a matrix metalloproteinase inhibitor for the treatment of chronic wounds. *Biological research for nursing*, 11(4), 336–344. <https://doi.org/10.1177/1099800409346333>

25. Samartzis, E.P., Fink, D., Stucki, M. et al. Doxycycline reduces MMP-2 activity and inhibits invasion of 12Z epithelial endometriotic cells as well as MMP-2 and -9 activity in primary endometriotic stromal cells in vitro. *Reproductive Biology and Endocrinology* 17, 38 (2019). <https://doi.org/10.1186/s12958-019-0481-z>
26. Palasuk, J., Windsor, L. J., Platt, J. A., Lvov, Y., Geraldini, S., & Bottino, M. C. (2018). Doxycycline-loaded nanotube-modified adhesives inhibit MMP in a dose-dependent fashion. *Clinical oral investigations*, 22(3), 1243–1252. <https://doi.org/10.1007/s00784-017-2215-y>
27. Golub L. M., Lee H. M., Ryan M. E., Giannobile W. V., Payne J., Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Advances in Dental Research*. 1998;12(1):12–26. <https://doi.org/10.1177/08959374980120010501>
28. Karna, E., Pałka, J., & Wołczyński, S. (2001). Doxycycline-induced inhibition of prolydase activity in human skin fibroblasts and its involvement in impaired collagen biosynthesis. *European Journal of Pharmacology*, 430(1), 25–31. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(01\)01372-3](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)01372-3)
29. Chin GA, G. Thigpin T, J. Perrin K, Moldawer L, Schultz G. (2003). Treatment of Chronic Ulcers in Diabetic Patients with a Topical Metalloproteinase Inhibitor, Doxycycline. *Wounds: a Compendium of Clinical Research and Practice*; 15(10):315-323. https://www.researchgate.net/publication/287522109_Treatment_of_Chronic_Ulcers_in_Diabetic_Patients_with_a_Topical_Metalloproteinase_Inhibitor_Doxycycline
30. Moore, A. L., desJardins-Park, H. E., Duoto, B. A., Mascharak, S., Murphy, M. P., Irizarry, D. M., Foster, D. S., Jones, R. E., Barnes, L. A., Marshall, C. D., Ransom, R. C., Wernig, G., & Longaker, M. T. (2020). Doxycycline Reduces Scar Thickness and Improves Collagen Architecture. *Annals of surgery*, 272(1), 183–193. <https://doi.org/10.1097/SLA.0000000000003172>
31. Altoé, L. S., Alves, R. S., Miranda, L. L., Sarandy, M. M., Bastos, D. S. S., Gonçalves-Santos, E., Novaes, R. D., & Gonçalves, R. V. (2021). Doxycycline Hyclate Modulates Antioxidant Defenses, Matrix Metalloproteinases, and COX-2

Activity Accelerating Skin Wound Healing by Secondary Intention in Rats. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 4681041. <https://doi.org/10.1155/2021/4681041>

32. Sivakumar S. et al. Influence of doxycycline on wound healing: a systematic review, meta-analysis and GRADE assessment of animal experimental trials. *Wound Practice and Research*. 2024;32(3):145–157. <https://doi.org/10.33235/wpr.32.3.145-157>

33. Dos Santos Pereira, M., do Nascimento, G. C., Bortolanza, M., Michel, P. P., Raisman-Vozari, R., & Del Bel, E. (2022). Doxycycline attenuates 1-DOPA-induced dyskinesia through an anti-inflammatory effect in a hemiparkinsonian mouse model. *Frontiers in pharmacology*, 13, 1045465. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1045465>

34. Clemens, D. L., Duryee, M. J., Sarmiento, C., Chiou, A., McGowan, J. D., Hunter, C. D., Schlichte, S. L., Tian, J., Klassen, L. W., O'Dell, J. R., Thiele, G. M., Mikuls, T. R., Zimmerman, M. C., & Anderson, D. R. (2018). Novel Antioxidant Properties of Doxycycline. *International journal of molecular sciences*, 19(12), 4078. <https://doi.org/10.3390/ijms19124078>

35. Merentie, M., Rissanen, R., Lottonen-Raikaslehto, L., Huusko, J., Gurzeler, E., Turunen, M. P., Holappa, L., Mäkinen, P., & Ylä-Herttuala, S. (2018). Doxycycline modulates VEGF-A expression: Failure of doxycycline-inducible lentivirus shRNA vector to knockdown VEGF-A expression in transgenic mice. *PloS one*, 13(1), e0190981. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190981>

36. Reid G, Younes JA, Van der Mei HC, Gloor GB, Knight R, Busscher HJ. Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities. *Nat Rev Microbiol*. 2011;9:27–38. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2473>

37. Xu, D. H., Zhu, Z., & Fang, Y. (2017). The Effect of a Common Antibiotics Doxycycline on Non-Healing Chronic Wound. *Current pharmaceutical biotechnology*, 18(5), 360–364. <https://doi.org/10.2174/1389201018666170519095339>

38. Voronkina, I., Dyachenko, V., Maryuschenko, A., Serdechna, E., & Biryukova, S. (2022). Antibiotic sensitivity in periodontally pathogenic bacteria isolated from patients with purulent inflammatory disorders of the periodontal tissues. *Annals of Mechnikov's Institute*, (1), 103–108. Retrieved from <https://journals.uran.ua/ami/article/view/253752>
39. Connell, S. R., Tracz, D. M., Nierhaus, K. H., & Taylor, D. E. (2003). Ribosomal protection proteins and their mechanism of tetracycline resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(12), 3675–3681. <https://doi.org/10.1128/AAC.47.12.3675-3681.2003>
40. Brodersen DE, Clemons WM, Carter AP, Morgan-Warren RJ, Wimberly BT, Ramakrishnan V. The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. *Cell*. 2000 Dec 22;103(7):1143-54. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)00216-6](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)00216-6)
41. Fluit, A. C., van Gorkum, S., & Vlooswijk, J. (2019). Minimal inhibitory concentration of omadacycline and doxycycline against bacterial isolates with known tetracycline resistance determinants. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 94(1), 78–80. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.11.010>
42. Gabriele, S., Buchanan, B., Kundu, A., Dwyer, H. C., Gabriele, J. P., Mayer, P., & Baranowski, D. C. (2019). Stability, Activity, and Application of Topical Doxycycline Formulations in a Diabetic Wound Case Study. *Wounds: a compendium of clinical research and practice*, 31(2), 49–54. PMID: 30664497
43. Serra, R., Gallelli, L., Buffone, G., Molinari, V., Stillitano, D. M., Palmieri, C., & de Franciscis, S. (2015). Doxycycline speeds up healing of chronic venous ulcers. *International wound journal*, 12(2), 179–184. <https://doi.org/10.1111/iwj.12077>
44. Horwitz, V.; Dachir, S.; Cohen, M.; Gutman, H.; Cohen, L.; Fishbine, E.; Brandeis, R.; Turetz, J.; Amir, A.; Gore, A.; et al. (2014). The beneficial effects of doxycycline, an inhibitor of matrix metalloproteinases, on sulfur mustard-induced ocular pathologies depend on the injury stage. *Current eye research*, 39(8), 803–812. <https://doi.org/10.3109/02713683.2013.874443>

45. Kouchak M. (2014). In situ gelling systems for drug delivery. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 9(3), e20126. <https://doi.org/10.17795/jjnpp-20126>

46. Javali, M. A., & Vandana, K. L. (2012). A comparative evaluation of atrigel delivery system (10% doxycycline hyclate) Atridox with scaling and root planing and combination therapy in treatment of periodontitis: A clinical study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 16(1), 43–48. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.94603>

47. Phaechamud, T., & Mahadlek, J. (2015). Solvent exchange-induced in situ forming gel comprising ethyl cellulose-antimicrobial drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, 494(1), 381–392. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.08.047>

48. Raval, J. P., Chejara, D. R., Ranch, K., & Joshi, P. (2018). Development of injectable in situ gelling systems of doxycycline hyclate for controlled drug delivery system. In book: *Applications of Nanocomposite Materials in Drug Delivery*, pp. 149–162. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813741-3.00006-6>

49. Phaechamud Thawatchai, Setthapong Senarat, Napaphol Puyathorn, Pitsiree Praphanwittaya (2019). Solvent exchange and drug release characteristics of doxycycline hyclate-loaded bleached shellac in situ-forming gel and -microparticle. *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 135, Pages 1261-1272 <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.098>

50. Phaechamud, T., & Setthajindalert, O. (2017). Cholesterol in situ forming gel loaded with doxycycline hyclate for intra-periodontal pocket delivery. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 99, pp. 258–265. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.12.023>

51. Gupta N. Vishal, Shanmuganathan S., Kanna Sandeep, Sastri K. Trideva (2021). A 2³ factorial design for formulation and development of doxycycline hydrochloride in situ gel forming solution for wound healing application. *Int J App Pharm*, Vol 13, Issue 3, P.221-232 <https://dx.doi.org/10.22159/ijap.2021v13i3.39696>

52. Shingel, K. I., Faure, M. P., Azoulay, L., Roberge, C., & Deckelbaum, R. J. (2008). Solid emulsion gel as a vehicle for delivery of polyunsaturated fatty acids: implications for tissue repair, dermal angiogenesis and wound healing. *Journal of*

tissue engineering and regenerative medicine, 2(7), 383–393.
<https://doi.org/10.1002/term.101>

53. Voigt M., Koerber M., Bodmeier R. (2012). Improve physical stability and injectability of non-aqueous in situ PLGA microparticle forming emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 434, Issues 1–2, Pages 251-256
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.05.029>

54. Chuenbarn T, Chantadee T., Phaechamud T. (2022). Doxycycline hyclate-loaded Eudragit® RS PO in situ-forming microparticles for periodontitis treatment. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Volume 71, 103294.
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103294>

55. Shanmuganathan S., Shanumugasundaram N., Adhirajan N, Lakshmi T. S.i, Babu M. (2008). Preparation and characterization of chitosan microspheres for doxycycline delivery. *Carbohydrate Polymers* 73(2):201-211
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.11.039>

56. Singh, G., Gokhale, S.T., Manjunath, S., Al-Qahtani, S.M., Nagate, R.R., Venkataram, V., Joseph, B. Evaluation of locally administered controlled-release doxycycline hyclate gel in smokers and non-smokers in the management of periodontitis: An Indian study. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2021, 20, 1739–1747. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v20i8.X>

57. Puyathorn N., Senarat S., Lertsuphotvanit N., Phaechamud T. (2023) Physicochemical and Bioactivity Characteristics of Doxycycline Hyclate-Loaded Solvent Removal-Induced Ibuprofen-Based In Situ Forming Gel. *Gels*.; 9(2):128.
<https://doi.org/10.3390/gels9020128>

58. Tavakoli J., Wang J., Chuah C., Tang Y. Natural-based Hydrogels: A Journey from Simple to Smart Networks for Medical Examination. *Curr. Med. Chem.* 2020;27:2704–2733. <https://doi.org/10.2174/0929867326666190816125144>

59. Firlar, I., Altunbek, M., McCarthy, C., Ramalingam, M., & Camci-Unal, G. (2022). Functional Hydrogels for Treatment of Chronic Wounds. *Gels* (Basel, Switzerland), 8(2), 127. <https://doi.org/10.3390/gels8020127>

60. Jacob, S., Nair, A. B., Shah, J., Sreeharsha, N., Gupta, S., & Shinu, P. (2021). Emerging Role of Hydrogels in Drug Delivery Systems, Tissue Engineering and Wound Management. *Pharmaceutics*, 13(3), 357.

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030357>

61. Anumolu, S. S., Menjoge, A. R., Deshmukh, M., Gerecke, D., Stein, S., Laskin, J., & Sinko, P. J. (2011). Doxycycline hydrogels with reversible disulfide crosslinks for dermal wound healing of mustard injuries. *Biomaterials*, 32(4), 1204–1217. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.117>

62. Anumolu, S. S., DeSantis, A. S., Menjoge, A. R., Hahn, R. A., Beloni, J. A., Gordon, M. K., & Sinko, P. J. (2010). Doxycycline loaded poly(ethylene glycol) hydrogels for healing vesicant-induced ocular wounds. *In Biomaterials* (Vol. 31, Issue 5, pp. 964–974). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.10.010>

63. Ghica Mihaela Violeta, Albu Mădălina Georgiana, Titorencu Irina, Albu Luminița, Popa Lăcrămioara (2012). Collagen-doxycycline topical hydrogels: rheological, kinetic and biocompatibility studies. *Farmacia*, 2012, Vol. 60, 6., P. 866–876.

https://www.researchgate.net/publication/289389403_Collagen-doxycycline_topical_hydrogels_Rheological_kinetic_and_biocompatibility_studies

64. Yahya, E. B., Jummaat, F., Amirul, A. A., Adnan, A. S., Olaiya, N. G., Abdullah, C. K., Rizal, S., Mohamad Haafiz, M. K., & Khalil, H. P. S. A. (2020). A Review on Revolutionary Natural Biopolymer-Based Aerogels for Antibacterial Delivery. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 9(10), 648.

<https://doi.org/10.3390/antibiotics9100648>

65. Del Gaudio, P., Auriemma, G., Mencherini, T., Porta, G. D., Reverchon, E., & Aquino, R. P. (2013). Design of alginate-based aerogel for nonsteroidal anti-inflammatory drugs controlled delivery systems using prilling and supercritical-assisted drying. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(1), 185-194.

<https://doi.org/10.1002/jps.23361>

66. De Cicco, Felicetta; Russo, Paola; Reverchon, Ernesto; García-González, Carlos A.; Aquino, Rita Patrizia; Del Gaudio, Pasquale (2016). Prilling and Supercritical Drying: a Successful Duo to Produce Core-Shell Polysaccharide Aerogel

Beads for wound healing. *Carbohydrate Polymers*, S0144861716303927–. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.04.031>

67. Bhattarai RS, Bachu RD, Boddu SHS, Bhaduri S. Biomedical Applications of Electrospun Nanofibers: Drug and Nanoparticle Delivery. *Pharmaceutics*. 2019; 11(1):5. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11010005>

68. Chun Xu, Yuxue Cao, Chang Lei, Zhihao Li, Tushar Kumeria, Anand Kumar Meka, Jia Xu, Jingyu Liu, Cheng Yan, Lihua Luo, Ali Khademhosseini, Amirali Popat, Yan He, and Qingsong Ye (2020). Polymer–Mesoporous Silica Nanoparticle Core–Shell Nanofibers as a Dual-Drug-Delivery System for Guided Tissue Regeneration. *ACS Applied Nano Materials*, 3 (2), 1457-1467 <https://doi.org/10.1021/acsnm.9b02298>

69. Farkas N-I, Marinceş L, Barabás R, Bizo L, Ilea A, Turdean GL, Toşa M, Cadar O, Barbu-Tudoran L. Preparation and Characterization of Doxycycline-Loaded Electrospun PLA/HAP Nanofibers as a Drug Delivery System. *Materials*. 2022; 15(6):2105. <https://doi.org/10.3390/ma15062105>

70. Cui Sisi, Xue Sun, Ke Li, Dongxia Gou, Yifa Zhou, Junli Hu, Yichun Liu (2019). Polylactide nanofibers delivering doxycycline for chronic wound treatment. *Materials Science and Engineering: C*, Volume 104, 109745 <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.109745>

71. Dadashi Sepideh, Boddohi Soheil, Soleiman Neda (2019). Preparation, characterization, and antibacterial effect of doxycycline loaded kefir nanofibers. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Volume 52, Pages 979-985 <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.06.012>

72. Shipp Lewis, Liu Fang, Kerai-Varsani Laxmi, Okwuosa Tochukwu C. (2022). Buccal films: A review of therapeutic opportunities, formulations & relevant evaluation approaches. *Journal of Controlled Release*, Volume 352, Pages 1071-1092 <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.10.058>

73. Stembirek, J.; Danek, Z.; Gadziok, J.; Landova, H.; Vetchy, D. (2013). Buccal Films as the Dressing for Oral Mucosa Treatment – in vivo Study. *Journal of*

- Oral and Maxillofacial Surgery*, 71(9), e69–e70.
<https://doi.org/10.1016/j.joms.2013.06.126>
74. Dinte E, Muntean DM, Andrei V, Boşca BA, Dudescu CM, Barbu-Tudoran L, Borodi G, Andrei S, Gal AF, Rus V, et al. (2023). In Vitro and In Vivo Characterisation of a Mucoadhesive Buccal Film Loaded with Doxycycline Hyclate for Topical Application in Periodontitis. *Pharmaceutics*; 15(2):580.
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020580>
75. Patlolla, V. G. R., Popovic, N., Peter Holbrook, W., Kristmundsdottir, T., & Gizurarson, S. (2021). Effect of Doxycycline Microencapsulation on Buccal Films: Stability, *Mucoadhesion and In Vitro Drug Release*. *Gels* (Basel, Switzerland), 7(2), 51. <https://doi.org/10.3390/gels7020051>
76. Sahana, T. G., & Rekha, P. D. (2018). Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering. *Molecular biology reports*, 45(6), 2857–2867.
<https://doi.org/10.1007/s11033-018-4296-3>
77. Prasathkumar, M., & Sadhasivam, S. (2021). Chitosan/Hyaluronic acid/Alginate and an assorted polymers loaded with honey, plant, and marine compounds for progressive wound healing-Know-how. *International journal of biological macromolecules*, 186, 656–685.
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.07.067>
78. Sanapalli, B. K. R., Chinna Gounder, K., Ambhore, N. S., Kuppaswamy, G., Thaggikuppe Krishnamurthy, P., Karri, V. V. S. R. (2021). Doxycycline Loaded Collagen-Chitosan Composite Scaffold for the Accelerated Healing of Diabetic Wounds. *J. Vis. Exp.* (174), e62184, <https://doi.org/10.3791/62184>
79. Sculean, A., Chapple, I. L., & Giannobile, W. V. (2015). Wound models for periodontal and bone regeneration: the role of biologic research. *Periodontology* 2000, 68(1), 7–20. <https://doi.org/10.1111/prd.12091>
80. Carcuac, O., & Berglundh, T. (2014). Composition of human peri-implantitis and periodontitis lesions. *Journal of dental research*, 93(11), 1083–1088.
<https://doi.org/10.1177/0022034514551754>

81. Rahmati, M., Lyngstadaas, S. P., Reseland, J. E., Andersbakken, I., Haugland, H. S., López-Peña, M., Cantalapiedra, A. G., Guzon Muñoz, F. M., & Haugen, H. J. (2020). Coating doxycycline on titanium-based implants: Two in vivo studies. *Bioactive materials*, 5(4), 787–797.

<https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2020.05.007>

82. Kopytynska-Kasperczyk, A., Dobrzynski, P., Pastusiak, M., Jarzabek, B., & Prochwicz, W. (2015). Local delivery system of doxycycline hyclate based on ϵ -caprolactone copolymers for periodontitis treatment. *International journal of pharmaceutics*, 491(1-2), 335–344. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.06.034>

83. Metsemakers Willem-Jan, Noam Emanuel, Or Cohen, Malka Reichart, Inga Potapova, Tanja Schmid, David Segal, Martijn Riool, Paulus H.S. Kwakman, Leonie de Boer, Anna de Breij, Peter H. Nibbering, R. Geoff Richards, Sebastian A.J. Zaat, T. Fintan Moriarty (2015). A doxycycline-loaded polymer-lipid encapsulation matrix coating for the prevention of implant-related osteomyelitis due to doxycycline-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Controlled Release*, Volume 209, Pages 47-56 <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.04.022>

84. Mukherjee, B., Roy, G., & Ghosh, S. (2009). Development of Denticap, a matrix based sustained release formulation for treatment of toothache, dental infection and other gum problem. *Current drug delivery*, 6(2), 199–207. <https://doi.org/10.2174/156720109787846270>

85. Birtia, G., & Mahapatra, S. K. (2020). Study of the Antibacterial Activity of a New Prolonged-Release Dental Dosage form Containing Doxycycline and Lidocaine. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 32(36): 62-72. <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i3630993>

86. Santos Lúcia F., Silva A. Sofia., Mano João F (2022). Chapter 3 - Natural-based biomaterials for drug delivery wound healing patches. Natural Polymers in Wound Healing and Repair. *From Basic Concepts to Emerging Trends*, Pages 51-73 <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90514-5.00016-X>

87. Fan, Q., Sirkar, K. K., Wang, Y., & Michniak, B. (2004). In vitro delivery of doxycycline hydrochloride based on a porous membrane-based aqueous-organic

partitioning system. *Journal of Controlled Release*, 98(3), 355–365.

<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.05.005>

88. Oyarzun-Ampuero, F., Vidal, A., Concha, M., Morales, J., Orellana, S., & Moreno-Villoslada, I. (2015). Nanoparticles for the Treatment of Wounds. *Current pharmaceutical design*, 21(29), 4329–4341.

<https://doi.org/10.2174/1381612821666150901104601>

89. Altememy D., Javdani M., Khosravian P., Khosravi A., Moghtadaei Khorasgani E. Preparation of Transdermal Patch Containing Selenium Nanoparticles Loaded with Doxycycline and Evaluation of Skin Wound Healing in a Rat Model. *Pharmaceuticals*. 2022; 15(11):1381. <https://doi.org/10.3390/ph15111381>

90. Kamoun Elbadawy A., Kenawy El-Refaie S., Chen Xin (2017). A review on polymeric hydrogel membranes for wound dressing applications: PVA-based hydrogel dressings. *Journal of Advanced Research*, Volume 8, Issue 3, Pages 217-233

<https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.01.005>

91. Zhang Di, Wei Zhou, Bing Wei, Xin Wang, Rupei Tang, Jiemin Nie, Jun Wang (2015). Carboxyl-modified poly(vinyl alcohol)-crosslinked chitosan hydrogel films for potential wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, Volume 125, Pages 189-199 <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.02.034>

92. Hedayatyanfard, K., Bagheri Khoulenjani, S., Abdollahifar, M. A., Amani, D., Habibi, B., Zare, F., Asadirad, A., Pouriran, R., & Ziai, S. A. (2020). Chitosan/PVA/Doxycycline Film and Nanofiber Accelerate Diabetic Wound Healing in a Rat Model. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 19(4), 225–239.

<https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.112620.13859>

93. Permana Andi Dian, Mir Maria, Utomo Emilia, F. Donnelly Ryan (2020). Bacterially sensitive nanoparticle-based dissolving microneedles of doxycycline for enhanced treatment of bacterial biofilm skin infection: A proof of concept study.

International Journal of Pharmaceutics: X, Volume 2, 100047

<https://doi.org/10.1016/j.ijpx.2020.100047>

94. Boateng Joshua S., Pawar Harshavardhan V., Tetteh John (2013). Polyox and carrageenan based composite film dressing containing anti-microbial and anti-

inflammatory drugs for effective wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 441, Issues 1–2, Pages 181-191
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.11.045>

95. Caffin F, Boccara D, Piérard C. The Use of Hydrogel Dressings in Sulfur Mustard-Induced Skin and Ocular Wound Management. *Biomedicines*. 2023; 11(6):1626. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11061626>

96. Dhaliwal, K., & Lopez, N. (2018). Hydrogel dressings and their application in burn wound care. *British journal of community nursing*, 23(Sup9), S24–S27. <https://doi.org/10.12968/bjcn.2018.23.Sup9.S24>

97. Adhirajan Natarajan, Natesan Shanmugasundaram, Seetharaman Shanmuganathan, Mary Babu (2009). Collagen-based wound dressing for doxycycline delivery: in-vivo evaluation in an infected excisional wound model in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Volume 61, Issue 12, December, Pages 1617–1623, <https://doi.org/10.1211/jpp.61.12.0005>

98. Hu Y., Yu B., Jia Y., Lei M., Li Z., Liu H., Huang H., Xu F., Li J., Wei Z. Hyaluronate- and gelatin-based hydrogels encapsulating doxycycline as a wound dressing for burn injury therapy. *Acta Biomaterialia*. 2023. Vol. 164. P. 151–158. DOI: 10.1016/j.actbio.2023.04.021. PMID: 37088160.

99. Tort Serdar , Acartürk Füsün , Beşikci Arzu (2017). Evaluation of three-layered doxycycline-collagen loaded nanofiber wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 529, Issues 1–2, Pages 642-653
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.07.027>

100. Tort S., Demiröz F.T., Coşkun Cevher Ş., Sarıbaş S., Özoğul C., Acartürk F. The Effect of a New Wound Dressing on Wound Healing: Biochemical and Histopathological Evaluation. *Burns*. 2020;46:143–155. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2019.02.013>.

101. Cao Wangbei, Shiqiao Peng, Yuejun Yao, Jieqi Xie, Shifen Li, Chenxi Tu, Changyou Gao (2022). A nanofibrous membrane loaded with doxycycline and printed with conductive hydrogel strips promotes diabetic wound healing in vivo. *Acta Biomaterialia*, Volume 152, Pages 60-73 <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.08.048>

102. Rüter, L., & Voss, W. (2021). Hydrogel or ointment? Comparison of five different galenics regarding tissue breathability and transepidermal water loss. *Heliyon*, 7(1), e06071. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06071>

103. El-Ela, F.I.A., Farghali, A.A., Mahmoud, R.K. et al. New Approach in Ulcer Prevention and Wound Healing Treatment using Doxycycline and Amoxicillin/LDH *Nanocomposites*. *Sci Rep* 9, 6418 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42842-2>

104. Patel RS, Parmar M. Doxycycline Hyclate. [Updated 2023 May 22]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): *StatPearls Publishing*; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555888/>

105. Kiss Krisztina, Vass Panna, Farkas Attila, Hirsch Edit, Szabó Edina, Mező Gábor, Nagy Zsombor Kristóf, Marosi György (2020). A solid doxycycline HP- β -CD formulation for reconstitution (i.v. bolus) prepared by scaled-up electrospinning. *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 586, 119539 <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119539>

106. Goswami, A.G., Basu, S., Banerjee, T. et al. Biofilm and wound healing: from bench to bedside. *Eur J Med Res* 28, 157 (2023). <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01121-7>

107. Gehring W., Gloor M. Effect of topically applied dexpanthenol on epidermal barrier function and stratum corneum hydration. *Arzneimittelforschung*. 2000;50(7):659–663. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1300268>

108. Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Czaja K, Sebastian K, Kurschat P, Gan L, Denecke B, Ekanayake-Bohlig S, Wilhelm KP, Merk HF, Baron JM. Dexpanthenol modulates gene expression in skin wound healing in vivo. *Skin Pharmacol Physiol*. 2012;25(5):241-8. <https://doi.org/10.1159/000341144>. Epub 2012 Jun 29. PMID: 22759998

109. Bepanthen First Aid Cream [Electronic resource]. Bepanthen Malaysia : official website. *Bayer Co. (Malaysia) Sdn Bhd*. URL: <https://www.bepanthen.com.my/products/bepanthen-first-aid-cream> (date of access: 23.05.2026)

110. Cortimycine® Onguent dermique/crème dermique [Electronic resource]. ODDDB.org: Open Drug Database. Reg. No. 20778. Drossapharm AG. Information destinée aux patients; mise à jour: Avril 1993. URL: <https://ch.oddb.org/fr/gcc/print/reg/20778/seq/01/patinfo/> (date of access: 23.05.2026).

111. Clindamycin Phosphate Foam, 1 % [Electronic resource]. *DailyMed. U.S. National Library of Medicine*. URL: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=2e6f96d0-d928-4775-a7db-3e998fce675b> (date of access: 23.05.2026)

112. Kotwiski FO, Albuquerque ECMC, Lucchese AM. Topical foam as a promising carrier system for active pharmaceutical ingredients: review of clinical studies. *Pharm Dev Technol.* 2023 Oct;28(8):768-784. <https://doi.org/10.1080/10837450.2023.2251556>

113. Kealy T., Abram A., Hunt B., Buchta R. The rheological properties of pharmaceutical foam: implications for use. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008. Vol. 355, No. 1–2. P. 67–80. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.11.057>.

114. Hajirasouliha F., McAuley L. Towards sustainable pharmaceutical foams: A comparative review of propellant-containing, propellant-aided and propellant-free foams. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2025;112:107274. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2025.107274>

115. Duke D.J., Rao L., Kastengren A., Myatt B., Cocks P., Stein S., Marasini N., Ong H.X., Young P. Canister valve and actuator deposition in metered dose inhalers formulated with low-GWP propellants. *International Journal of Pharmaceutics*. 2023;648:123569. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2023.123569>

116. ICH Q8 (R2) Pharmaceutical Development: Scientific Guideline [Electronic resource]. European Medicines Agency. Adopted reference number: EMA/CHMP/ICH/167068/2004. Legal effective date: 01.05.2006. First published: 01.06.2009; last updated: 28.05.2014. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q8-r2-pharmaceutical-development-scientific-guideline> (date of access: 23.05.2026)

117. Kulkarni V. S., Shaw C. Aerosols and Nasal Sprays. In: Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages. 2016. Section 6.1.3 Propellants

118. Betamethasone Valerate Foam, 0.12 % [Electronic resource]. DailyMed. U.S. National Library of Medicine. *Padagis Israel Pharmaceuticals Ltd. Rev.* 03-24. URL: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/fda/fdaDrugXsl.cfm?setid=dc5dfd3e-7762-40c8-880e-c7db80d87749> (date of access: 23.05.2026).

119. Calcipotriene Foam, 0.005 % [Electronic resource]. DailyMed. U.S. National Library of Medicine. *Mayne Pharma.* Revised: 04.2024; updated: 09.05.2024. URL: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=26756ac7-a80c-49db-97bb-351f76ad8a71> (date of access: 23.05.2026).

120. ENSTILAR® - Calcipotriene and Betamethasone Dipropionate Aerosol, Foam [Electronic resource]. DailyMed. U.S. National Library of Medicine. LEO Pharma Inc. Revised: 04.2022. URL: <https://www.dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=d1193df2-d53f-4342-bd9d-d9cba7c89709> (date of access: 23.05.2026).

121. Abd-Elbary A., El-Laithy H. M., Tadros M. I. Quality control and testing evaluation of pharmaceutical aerosols. In: Drug Delivery Systems. Academic Press; 2020

122. Augsburger L. L., Shangraw R. F., Giannini R. P., Shah V. P., Prasad V. K., Brown D. Bubble Size Analysis of High Consistency Aerosol Foams and Its Relationship to Foam Rheology: Effects of Container Emptying, Propellant Type, and Time. *Journal of Pharmaceutical Sciences.* 1968;57(4):624–631. <https://doi.org/10.1002/jps.2600570417>

123. U.S. Food and Drug Administration. (2026, March). Physicochemical and structural (Q3) characterization of topical drug products submitted in ANDAs: *Guidance for industry. Center for Drug Evaluation and Research.* <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance->

[documents/physicochemical-and-structural-q3-characterization-topical-drug-products-submitted-andas](#)

124. European Medicines Agency. (2025). Guideline on the pharmaceutical quality of inhalation and nasal medicinal products—Revision 1 (EMA/CHMP/QWP/49313/2005 Rev. 1). <https://www.ema.europa.eu/en/pharmaceutical-quality-inhalation-nasal-products-scientific-guideline>

125. European Commission. (n.d.). F-gas legislation. Directorate-General for Climate Action. Retrieved May 23, 2026, from https://climate.ec.europa.eu/eu-action/fluorinated-greenhouse-gases/f-gas-legislation_en

126. Freedman, B. R., Hwang, C., Talbot, S., Hibler, B., Matoori, S., & Mooney, D. J. (2023). Breakthrough treatments for accelerated wound healing. *Science Advances*, 9(20). <https://doi.org/10.1126/sciadv.ade7007>

127. Falusi, F., Berkó, S., Budai-Szücs, M., Veréb, Z., & Kovács, A. (2024). Foams Set a New Pace for the Release of Diclofenac Sodium. *Pharmaceutics*, 16(2), 287. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16020287>

128. Jin, X., Imran, M., & Mohammed, Y. (2022). Topical Semisolid Products—Understanding the Impact of Metamorphosis on Skin Penetration and Physicochemical Properties. *Pharmaceutics*, 14(11), 2487. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14112487>

129. Singh Malik, D., Mital, N., & Kaur, G. (2016). Topical drug delivery systems: a patent review. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 26(2), 213–228. <https://doi.org/10.1517/13543776.2016.1131267>

130. Falusi, F., Budai-Szücs, M., Csányi, E., Berkó, S., Spaits, T., Csóka, I., & Kovács, A. (2022). Investigation of the effect of polymers on dermal foam properties using the QbD approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 173, 106160. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106160>

131. Iliopoulos, F., Sil, B. C., & Evans, C. L. (2022). The role of excipients in promoting topical and transdermal delivery: Current limitations and future

perspectives. *Frontiers in Drug Delivery*, 2.
<https://doi.org/10.3389/fddev.2022.1049848>

132. Салій О. О., Лось О. В., Пальчевська Т. А., Небилиця К. В. Впровадження підходу Quality by Design для розробки складу та технології виробництва ін'єкційного препарату для внутрішньосуглобового введення. *Вісник фармації*. 2021. № 1 (101). С. 28–37. <https://doi.org/10.24959/nphj.21.44>

133. European Medicines Agency. (2024). Guideline on quality and equivalence of locally applied, locally acting cutaneous products (EMA/CHMP/QWP/708282/2018 Corr.1). *European Medicines Agency*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-quality-equivalence-locally-applied-locally-acting-cutaneous-products_en.pdf

134. Barnes, T. M., Mijaljica, D., Townley, J. P., Spada, F., & Harrison, I. P. (2021). Vehicles for drug delivery and cosmetic moisturizers: Review and comparison. *Pharmaceutics*, 13(12), 2012. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122012>

135. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків, 2015. Т. 1. 1128 с.

136. Стандарт СТ-Н МОЗУ 42-3.8:2013. Лікарські засоби. Фармацевтична якість препаратів для інгаляцій та назальних препаратів / О. Безугла та ін. Київ : МОЗ України, 2013. 53с.

137. Нос D., Naznar-Garbacz D. Foams as unique drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2021. Vol. 167. P. 73-82. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2021.07.012>.

138. Noakes T. Medical aerosol propellants. *Journal of Fluorine Chemistry*. 2002. Vol. 118, № 1. P. 35–45. [https://doi.org/10.1016/S0022-1139\(02\)00191-4](https://doi.org/10.1016/S0022-1139(02)00191-4).

139. Салій О. О., Попова М. Е., Тарасенко Г. В., Яровенко В. С. Аналіз основних тенденцій розвитку ринку лікарських засобів під тиском у фармацевтичній та ветеринарній практиці. *Соціальна фармація в охороні здоров'я*. 2022. Т. 8, № 3. С. 60–70. DOI: <https://doi.org/10.24959/sphhcj.22.263>

140. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua/>.
141. Компендіум – лікарські препарати. Довідник лікарських засобів в Україні № 1. URL: <https://compendium.com.ua/uk/atc/>.
142. Дроздова А. О., Соловійов О. С. Маркетингові дослідження фармацевтичного ринку України на наявність аерозолів. *Фармацевтичний журнал*. 2016. № 1. С. 19-25.
143. Перелік зареєстрованих ветеринарних препаратів. URL: https://dpssukraine-my.sharepoint.com/:x:/g/personal/y_pyshenko_dpss_gov_ua/EYpwfeICJvlOgXsQ_1XjofYBnG4vNJFGU1I4PIAczesQ_Q?rttime=IL0rLTV22kg.
144. Success for the replacement of CFCs by HFCs in pharmaceutical aerosols. URL: <https://www.fluorocarbons.org/news/success-for-the-replacement-of-cfcs-by-hfcs-in-pharmaceutical-aerosols/>.
145. Попова М. Е., Салій О. О., Товстига А. Р., Страшний В. В. Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболювальної дії. *Вісник фармації*. 2025. № 1(109). С. 80–87. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.160>.
146. Sheskey, P. J., Cook, W. G., & Cable, C. G. (Eds.). (2017). Handbook of pharmaceutical excipients (8th ed.). *Pharmaceutical Press*
147. Mathes C., Melero A., Conrad P., Vogt T., Rigoletto G., Selzer D., et al. Glycols: The ubiquitous solvent for dermal formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2024. Vol. 196. Article 114182. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2024.114182>.
148. Mistry J., Notman R. Mechanisms of the Drug Penetration Enhancer Propylene Glycol Interacting with Skin Lipid Membranes. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2024. Vol. 128, No. 16. P. 3885–3897. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.3c06784>.

149. McGowan M. A., Scheman A., Jacob S. E. Propylene Glycol in Contact Dermatitis: A Systematic Review. *Dermatitis*. 2018. Vol. 29, No. 1. P. 6–12. <https://doi.org/10.1097/DER.0000000000000307>.

150. Catanzaro J. M., Smith J. G. Propylene glycol dermatitis. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1991. Vol. 24, No. 1. P. 90–95. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(91\)70018-W](https://doi.org/10.1016/0190-9622(91)70018-W).

151. Попова М. Е., Салій О. О., Страшний В. В. Дослідження розчинності та стабільності розчинів доксицикліну для зовнішнього застосування. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали V міжнародної наук.-практ. конф. (28 березня 2025 р., м. Харків)*. – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2025. – С. 326-329.

152. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – 724 с.

153. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.

154. United States Pharmacopeia. <607> Pharmaceutical Foams – Product Quality Tests. USP–NF. Rockville, MD : *United States Pharmacopeia*, 2020. 2 p. https://doi.org/10.31003/USPNF_M12256_02_01.

155. United States Pharmacopeia. General Chapter <1724> Semisolid Drug Products – Performance Tests. USP-NF. Rockville, MD: *United States Pharmacopeial Convention*; 2023. https://doi.org/10.31003/USPNF_M5695_02_01

156. European Pharmacopoeia. 2.2.25. Absorption Spectrophotometry, Ultraviolet and Visible.

157. European Pharmacopoeia. Doxycycline Hyclate. Doxycyclini hyclas. Monograph

158. United States Pharmacopeia. General Chapter <857>. Ultraviolet-Visible Spectroscopy. USP-NF. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention.

159. United States Pharmacopeia. Doxycycline Capsules / Doxycycline Hyclate dosage form monographs. UV detection at 270 nm in LC methods

160. Nguyen S.H., Tran M.T. A non-enzymatic doxycycline absorbance sensor based on manganese-doped zinc sulfide nanoparticles coated with chitosan. *PLoS One*. 2025;20(7):e0328304 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0328304>

161. Osman, Moawia Babikir Ahmed .Stability Study of Doxycycline Hyclate and Validation of its UV. Spectrophotometric Quantification Method/Moawia Babikir Ahmed Osman;Ahmed Elsadig Mohammed Saeed.-*Khartoum:Sudan University of Science and Technology,College of Science,2013.-111p. : ill. ; 28cm.-Ms.c, <https://repository.sustech.edu/handle/123456789/4240?show=full>*

162. Ramesh, P. J., Basavaiah, K., Divya, M. R., Rajendraprasad, N., Vinay, K. B., & Revanasiddappa, H. D. (2011). Simple UV and visible spectrophotometric methods for the determination of doxycycline hyclate in pharmaceuticals. *Journal of Analytical chemistry*, 66(5), 482-489. <https://link.springer.com/article/10.1134/S1061934811050157>

163. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. С. 910–954.

164. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту // Державна Фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. С. 881–909.

165. Kulikov, A. U., & Zinchenko, A. A. (2007). Development and validation of reversed phase high performance liquid chromatography method for determination

of dexpanthenol in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(3), 983–988. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.09.021>

166. Doxycycline Hyclate capsule. DailyMed : website. URL: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=131af052-0c4f-4a61-ae9a-e6165ae09076> (date of access: 24.05.2026)

167. Gorski J., Proksch E., Baron J. M., Schmid D., Zhang L. Dexpanthenol in Wound Healing after Medical and Cosmetic Interventions: *Postprocedure Wound Healing. Pharmaceuticals*. 2020. Vol. 13, No. 7. Article 138. <https://doi.org/10.3390/ph13070138>

168. Arzhavitina A., Steckel H. Foams for pharmaceutical and cosmetic application. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010. Vol. 394, No. 1–2. P. 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.04.028>

169. Пат. 159275 Україна, МПК (2025.01) А61К9/12, (2006.01) А61К31/00, А61Р17/02 (2006.01). Спосіб отримання фармацевтичної композиції для лікування ран/ О. О. Салій, М. Е. Попова, Г. В. Тарасенко, О. І. Ковалевська, В. В. Страшний; власник Київський національний університет технологій та дизайну. – № u202405804 ; заявл. 09.12.2024; опублік. 07.05.2025, Бюл. № 19/2025. – 5 с.

170. R German, R., Bukowska, B., Pajchel, G., Grzybowska, W., & Tyski, S. (2010). Extremely long time stability study of selected antibiotic standards. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 51(3), 758–763. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.09.031>

171. L.A. Mitscher, B. Slater-Eng, T.D. Sokoloski, Circular dichroism measurements of the tetracyclines, *Antimicrob. Agents Chemother.* 2 (1972) 66-72.

172. British Pharmacopoeia (2016), British Pharmacopoeia Commission, London, UK.

173. Japanese Pharmacopoeia, 17th Edition (2016), Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, Tokyo, Japan.

174. United States Pharmacopeia – National Formulary, USP 39 - NF 34 (2015), United States Pharmacopeia Convention, Rockville, MD, USA

175. EP1902706B1. Stable pharmaceutical compositions of tetracyclines in solution, method for obtaining them and their uses.

176. ES2315123A1. Stable pharmaceutical compositions of tetracyclines in solution, method for obtaining them and their uses.

177. US3846548A. Aqueous doxycycline compositions. Pfizer Inc.

178. US4086332A. Doxycycline compositions.

179. CA1075603A. Stable solutions of doxycycline in aqueous 2-pyrrolidone.

180. DailyMed. Luxiq® (betamethasone valerate) Foam, 0.12 %. Prescribing information. U.S. National Library of Medicine.

181. DailyMed / Prescribing information. Extina® (ketoconazole) Foam, 2 %. Topical foam formulation.

182. Ebner F, Heller A, Rippke F, Tausch I. Topical use of dexpanthenol in skin disorders. *Am J Clin Dermatol*. 2002;3(6):427-433. <https://doi.org/10.2165/00128071-200203060-00005>.

183. Macosko C. W. Rheology: Principles, Measurements, and Applications. New York : Wiley-VCH, 1994. 550 p.

184. Lachenmeier D. W. Safety evaluation of topical applications of ethanol on the skin and inside the oral cavity. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*. 2008. Vol. 3. Article 26. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-3-26>.

185. Gupta R., Badhe Y., Rai B., Mitragotri S. Molecular mechanism of the skin permeation enhancing effect of ethanol: a molecular dynamics study. *RSC Advances*. 2020. Vol. 10. P. 12234–12248. <https://doi.org/10.1039/D0RA01692F>.

186. CDC. Chemical Disinfectants. Alcohol. Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities. Updated 2023.

187. Boutignon F. J.-L. J., Aiache J.-M., Barres T. J. H., Tapissier F. Foam-forming composition. US Patent US8206688B2. 2012.

188. Mariia Popova, Olena Saliy. Propellant selection for enhanced drug delivery in wound-healing topical aerosols. *67th International Conference for Students of Physics and Natural Sciences "Open Readings 2024"*: book of abstracts, Vilnius,

Lithuania, April 23-26, 2024. – Vilnius, Lithuania : Vilnius University Press, 2024 – P.205. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/26941>

189. US20210196631A1. Container system and pharmaceutical foam composition comprising betamethasone. Patent application. Published July 1, 2021.

190. Mariia Popova, Olena Saliy. Selection of optimal concentration of Doxycycline hyclate in a composition of Topical Foam Aerosol. *Interdisciplinary Conference on Drug Sciences, ACCORD 2024*, May 23rd-25th, Warsaw, Poland – P.167-168.

https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/27031/1/ACCORD_CONFERENCE_Abstract_2024.pdf

191. Салій О. О., Попова М. Е, Яровенко В. С. Деякі аспекти розробки та сучасних методів контролю якості лікарських засобів, що знаходяться під тиском / Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (м. Харків, 13 жовтня 2022 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2022.- С.183-186.

<https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/21195>

192. Farkas, Dóra & Kállai, Nikolett & Antal, Istvan. (2019). Foams as carrier systems for pharmaceuticals and cosmetics. *Acta Pharmaceutica Hungarica*. 89. 5-15.

<https://doi.org/10.33892/aph.2019.89.5-15>

193. European Pharmacopoeia. Foams, medicated (1105). General monograph.

194. Langevin D. Aqueous foams and foam films stabilised by surfactants: gravity free studies // *Comptes Rendus Mécanique*. 2017. Vol. 345. P. 47–55. DOI:

<https://doi.org/10.1016/j.crme.2016.10.009>

195. Bureiko A., Trybala A., Kovalchuk N., Starov V. Current applications of foams formed from mixed surfactant–polymer solutions // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2015. Vol. 222. P. 670–677.

<https://doi.org/10.1016/j.cis.2014.10.001>

196. Parsa M., Trybala A., Malik D. J., Starov V. M. Foam in pharmaceutical and medical applications // *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2019. Vol. 44. P. 153–167. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.10.007>

197. Sivaraman A., Banga A. K. Quality by design approaches for topical dermatological dosage forms // *Research Report: Transdermal Drug Delivery*. 2015. Vol. 4. P. 9–21. <https://doi.org/10.2147/RRTD.S82739>

198. Kovács A., Péter-Héderi D., Perei K., Budai-Szűcs M., Léber A., Gácsi A., Csányi E., Berkó Sz. Effects of formulation excipients on skin barrier function in creams used in pediatric care // *Pharmaceutics*. 2020. Vol. 12, No. 8. Art. 729. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12080729>

199. Vasave L. B., Bhamare M. S., Bachhav R. L., Jadhav S. P., Mahajan S. K. Quality by Design (QbD) in pharmaceutical development: a review of principles and case studies. *Research Journal of Pharmaceutical Dosage Forms and Technology*. 2025. Vol. 17(3). P. 203–211. <https://doi.org/10.52711/0975-4377.2025.00029>.

200. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8) : настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 33 с.

201. Лікарські засоби. Управління ризиком для якості (ICH Q9) : настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 26 с.

202. Puca, V.; Marulli, R.Z.; Grande, R.; Vitale, I.; Niro, A.; Molinaro, G.; Prezioso, S.; Muraro, R.; Di Giovanni, P. Microbial Species Isolated from Infected Wounds and Antimicrobial Resistance Analysis: Data Emerging from a Three-Years Retrospective Study. *Antibiotics* 2021, 10, 1162. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10101162>

203. Durand B. A. R. N., Pouget C., Magnan C., Molle V., Lavigne J.-P., Dunyach-Remy C. Bacterial Interactions in the Context of Chronic Wound Biofilm: A Review. *Microorganisms*. 2022. Vol. 10, No. 8. Article 1500. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081500>

204. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically (12th ed.; CLSI standard M07). *Clinical and Laboratory Standards Institute*. <https://clsi.org/shop/standards/m07/>

205. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2024). EUCAST reading guide for broth microdilution (Version 5.0). *EUCAST*. https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/mic_determination

206. Albu M.G., Ghica M.V., Popa L., Leca M., Trandafir V. Kinetics of in vitro release of doxycycline hyclate from collagen hydrogels. *Revue Roumaine de Chimie*. 2009;54(5):373–379

207. Bezuglaya E., Liapunova A., Zinchenko I., Lyapunov N. Study of factors affecting the in vitro release of dexpanthenol from solutions and topical semi-solid preparations. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2023;3(43):4–15 <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2023.279283>

208. Kanfer I., Rath S., Purazi P., Mudyahoto A. In Vitro Release Testing of Semi-Solid Dosage Forms. *Dissolution Technologies*. 2017;24(3):52–60. <https://doi.org/10.14227/DT240317P52>

209. Proniuk S., Dixon S.E., Blanchard J. Investigation of the Utility of an In Vitro Release Test for Optimizing Semisolid Dosage Forms. *Pharmaceutical Development and Technology*. 2001;6(3):469–476. <https://doi.org/10.1081/PDT-100002255>

210. Chattaraj S.C., Das S.K., Kanfer I. In vitro release of acyclovir from semisolid dosage forms: effect of cyclodextrin and polyethylene glycol. *Pharmaceutical Development and Technology*. 1998;3(4):565–570. <https://doi.org/10.3109/10837459809028639>

211. FDA. SUPAC-SS: Nonsterile Semisolid Dosage Forms Scale-Up and Postapproval Changes: Chemistry, Manufacturing, and Controls; In Vitro Release Testing and In Vivo Bioequivalence Documentation. *U.S. Food and Drug Administration*, 1997.

212. Shah, V. P., Elkins, J. S., & Williams, R. L. (1999). Evaluation of the test system used for in vitro release of drugs for topical dermatological drug products. *Pharmaceutical Development and Technology*, 4(3), 377–385. <https://doi.org/10.1081/PDT-100101373>

213. Higuchi T. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *J Pharm Sci.* 1961 Oct;50:874-5. <https://doi.org/10.1002/jps.2600501018>
214. Olejnik A, Goscianska J, Nowak I. Active compounds release from semisolid dosage forms. *J Pharm Sci.* 2012 Nov;101(11):4032-45. <https://doi.org/10.1002/jps.23289>
215. Aerosols in pharmaceutical product development / P. K. Deb at al. Drug Delivery Systems. Advances in Pharmaceutical Product Development and Research. *Academic Press*, 2020. P. 521-577. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814487-9.00011-9>
216. Crowley L. C., Marfell B. J., Waterhouse N. J. Analyzing Cell Death by Nuclear Staining with Hoechst 33342. *Cold Spring Harbor Protocols.* 2016;2016(9):778–781 <https://doi.org/10.1101/pdb.prot087205>
217. Rybachuk O., Kopach O., Pivneva T., Kyryk V. Isolation of Neural Stem Cells from the Embryonic Mouse Hippocampus for in vitro Growth or Engraftment into a Host Tissue. *Bio-Protocol.* 2019;9(4):e3165. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3165>
218. Rybachuk O., Rayevsky A., Styhylias M., Samofalova D., Bulgakov E., Platonov M., Blume Y., Karpov P. Computational and experimental identification of putative α TAT1 modulators: implications for nervous system function. *Frontiers in Pharmacology.* 2025;16:1654114. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1654114>
219. Schneider C. A., Rasband W. S., Eliceiri K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods.* 2012;9:671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
220. ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.
221. ISO 10993-12:2021. Biological evaluation of medical devices – Part 12: Sample preparation and reference materials.

ДОДАТОК А Список публікацій здобувача

1. **Попова, М. Е.** (2026). Розроблення стратегії контролю піни нашкірної ранозагоювальної дії зі застосуванням підходу Quality by Design. Фармацевтичний журнал, (2), С. 43-56. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.26.04>
2. **Попова М. Е.** (2026). Дослідження впливу допоміжних речовин на фізико-хімічні та структурні властивості лікарського засобу у формі піни нашкірної. Health & Education, Вип. 1, 2026. – С.150-159. <https://doi.org/10.32782/health-2026.1.19>.
3. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Товстига А. Р., Страшний В. В. (2025). Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболювальної дії. Вісник фармації 2025:1 (109) – С.80-87. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.160>
4. Салій О. О., **Попова М. Е.,** Тарасенко Г. В., Яровенко В. С. (2022). Аналіз основних тенденцій розвитку ринку лікарських засобів під тиском у фармацевтичній та ветеринарній практиці // Соціальна фармація в охороні здоров'я. – 2022. – Т. 8, № 3. – С.60-70. <https://doi.org/10.24959/sphhcj.22.263>
5. Saliy Olena, **Popova Mariia,** Tarasenko Hanna, Getalo Olga. Development strategy of novel drug formulations for the delivery of doxycycline in the treatment of wounds of various etiologies, European Journal of Pharmaceutical Sciences (2024), Vol.195, 106636 <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106636>
6. Пат. 159275 Україна, МПК (2025.01) А61К9/12, (2006.01) А61К31/00, А61Р17/02 (2006.01). Спосіб отримання фармацевтичної композиції для лікування ран/ О. О. Салій, **М. Е. Попова,** Г. В. Тарасенко, О. І. Ковалевська, В. В. Страшний; власник Київський національний університет технологій та дизайну. – № u202405804 ; заявл. 09.12.2024; опублік. 07.05.2025, Бюл. № 19/2025. – 5 с. <https://stud.knutd.edu.ua/handle/123456789/31403>
7. **Попова М. Е.,** Ковалевська О. І., Салій О. О. Вибір умов пробопідготовки при кількісному визначенні доксицикліну в піні нашкірній. Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження: матеріали VIII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Харків, 10 квітня 2026 р.). – Електрон. дані. – Х.: НФаУ, 2026 - С.269-271.

8. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Страшний В. В. Визначення критичних параметрів технологічного процесу при розробці аерозолі місцевого застосування, що містить доксициклін. PLANTA+. НАУКА, ПРАКТИКА ТА ОСВІТА: матеріали VI науково-практичної конференції з міжнародною участю (Київ, 23 січня 2026 р.). Київ: Паливода А. В., 2026. Т.1. - С.56-59.

9. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Рибачук О. А. Вплив доксицикліну на життєздатність клітин та оцінка цитотоксичного впливу *in vitro* на етапі доклінічних досліджень. Сучасні досягнення експериментальної, клінічної екологічної біохімії та молекулярної біології: збірник публікацій II Міжнародної науково-практичної online конференції (м. Харків, 07 листопада 2025 р.). – Х. : НФаУ, 2025. – С. 431-436. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/33599>

10. **Попова Марія,** Салій Олена, Тарасенко Ганна. Розробка специфікації контролю показників якості антибактеріального засобу у формі піни нашкірної. Modern chemistry of medicines: матеріали Міжнародної Internet-конференції (7 листопада 2025 р., м. Харків) – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2025. – С.152.

11. **Попова М.,** Салій О., Страшний В. Оптимізація технологічних параметрів кількісного співвідношення введених компонентів до складу аерозолі для лікування ранових інфекцій. Запорізький фармацевтичний форум – 2025: Фармація майбутнього – від сучасного стану до глобальних викликів: збірник тез доповідей Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Запоріжжя, 20–21 листопада 2025 р. Запоріжжя: Запорізький державний медико-фармацевтичний університет, 2025. С. 113. https://dspace.zsmu.edu.ua/bitstream/123456789/23876/1/ZFF-2025_Zbirnyk_tez.pdf

12. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Страшний В. В. Дослідження асортименту та доступності лікарських засобів, що містять доксициклін. Соціальна фармація: стан, проблеми та перспективи : С 69 матер. X Міжнар. наук.-практ. конференції (28 тр. 2025 р., м. Харків) / ред. кол.: А. А. Котвіцька та ін. – Х.: НФаУ, 2025. – С.743-746. https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/33487/1/sotsialna-farmatsiia_materialy-2025-1_743.pdf

13. **Попова М. Е.,** Салій О. О., Страшний В. В. Шляхи та механізми стабілізації доксицикліну при розробці парентеральних лікарських форм.

Фармацевтичні технології, стандартизація та забезпечення якості лікарських засобів / Pharmaceutical technologies, standardization and quality assurance of medicines : матеріали II Internet-конф. з міжнар. участю (22 трав. 2025 р., м. Харків) / редкол.: А. А. Котвіцька, В. Ю. Кузнєцова, І. М. Владимірова [та ін.]. – Харків : НФаУ, 2025. – С. 199-200. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/33486>

14. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Тарасенко Г. В. Підбір умов визначення ступеню деградації доксицикліну у рідких лікарських засобах для нашкірного застосування. XVII Всеукраїнська наукова конференція студентів та аспірантів "Хімічні Каразінські читання - 2025", (ХКЧ'25), 29 квітня 2025 року, Харків. – С.88-89. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/32939>

15. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Страшний В. В. Дослідження розчинності та стабільності розчинів доксицикліну для зовнішнього застосування. Проблеми та досягнення сучасної біотехнології: матеріали V міжнародної наук.-практ. конф. (28 березня 2025 р., м. Харків). – Електрон. дані. – Х. : НФаУ, 2025. – С. 326-329.

16. **Попова М.Е.**, Салій О.О., Страшний В.В. Вплив утворення домішок доксицикліну у складі нашкірної піни на якість лікарського засобу. «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині» : матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції (м. Харків, 21 березня 2025 р., м. Харків) / – Х. : НФаУ, 2025. – С.134-135. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/31611>

17. **Попова М.** Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболюючої дії. Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів / М. Попова, О. Салій, А. Товстига // Матеріали X наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої пам'яті зав. каф. управління та економіки фармації з технологією ліків, д-ра фарм. наук, проф. Т.А. Грошового (17 – 18 жовтня 2024 р.). – Тернопіль : ТНМУ, 2024. – С.188-189. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/29318>

18. **Mariia Popova**, Olena Saliy. Selection of optimal concentration of Doxycycline hyclate in a composition of Topical Foam Aerosol. Interdisciplinary Conference on Drug Sciences, ACCORD 2024, May 23rd-25th, Warsaw, Poland –

P.167-168.

https://er.knutd.edu.ua/bitstream/123456789/27031/1/ACCORD_CONFERENCE_Abstract_2024.pdf

19. **Mariia Popova**, Olena Saliy. Propellant selection for enhanced drug delivery in wound-healing topical aerosols. 67th International Conference for Students of Physics and Natural Sciences "Open Readings 2024": book of abstracts, Vilnius, Lithuania, April 23-26, 2024. – Vilnius, Lithuania : Vilnius University Press, 2024 – P.205. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/26941>

20. Салій О. О., Саченко Є. В., **Попова М. Е.** Дослідження раціональності застосування комбінації доксицикліну з анестетиком / Сучасні досягнення фармацевтичної технології : матеріали X міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 60-річчю з дня народж. д-ра фармацевт. наук, проф. Гладуха Євгенія Володимировича, м. Харків, 10-11 трав. 2023 р. – Харків : НФаУ, 2023. – С.95-96. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/23950>

21. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Тарасенко Г. В. Лікарські форми доксицикліну в лікуванні ран різної етіології. «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині» : матеріали III науково-практичної міжнародної дистанційної конференції (м. Харків, 24 березня 2023 р., м. Харків) / – Х. : НФаУ, 2023. – С.48-50. <https://test.knutd.edu.ua/handle/123456789/24432>

22. **Попова М. Е.**, Салій О. О., Пащенко І. О. Перспективи створення аерозолів для зовнішнього застосування / Сучасні досягнення фармацевтичної справи: збірник наукових праць (Матеріали X Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (10-11 листопада 2022 р.), випуск 1. – Х.: Вид-во НФаУ, 2022. – С.193-196. <https://test.knutd.edu.ua/handle/123456789/21232>

23. Салій О. О., **Попова М. Е.**, Яровенко В. С. Деякі аспекти розробки та сучасних методів контролю якості лікарських засобів, що знаходяться під тиском / Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології: матеріали II Міжнародної науково-практичної конференції (м. Харків, 13 жовтня 2022 р.). Х.: Вид-во НФаУ, 2022.- С.183-186. <https://er.knutd.edu.ua/handle/123456789/21195>

ДОДАТОК Б Висновок комісії з питань етики та біоетики наукових досліджень

Міністерство освіти і науки України
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ ТА ДИЗАЙНУ
КОМІСІЯ З ПИТАНЬ ЕТИКИ ТА БІОЕТИКИ НАУКОВИХ ДОСЛІДЖЕНЬ
м. Київ, вул. Мала Шияновська, 2, 01011
e-mail: voloshina.im@knutd.edu.ua

ВИТЯГ

з протоколу № 6

засідання комісії з питань етики та біоетики наукових досліджень
від «08» червня 2026 року

ПРИСУТНІ: доц. Волошина І.М., проф. Галавська Л.Є., проф. Іщенко О.В.,
доц. Роїк О.М., ас. Лісовий В.М.

СЛУХАЛИ: Волошину І. М. про надання висновку щодо дисертаційної роботи аспіранта четвертого року навчання кафедри промислової фармації КНУТД Попової Марії Едуардівни на тему «Розроблення фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної».

УХВАЛИЛИ: Комісія зазначила відсутність зауважень до виконаної дисертаційної роботи згідно міжнародного та національного законодавства з біоетики, оскільки усі процедури, пов'язані з біологічними об'єктами у науковій роботі Попової Марії Едуардівни на тему «Розроблення фармацевтичної композиції антибактеріальної та ранозагоювальної дії у формі піни нашкірної» проведені з дотриманням стандартів академічної доброчесності, задокументовані та описані у звітних матеріалах досліджень.

Дослідження з використанням культивованих мультипотентних мезенхімальних стовбурових клітин (ММСК) шкіри людини були виконані на базі Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України у форматі експериментів *in vitro* під керівництвом кандидата біологічних наук, наукового співробітника відділу фізико-хімічної біології клітинних мембран О.А.Рибачук. Експерименти проводилися виключно у форматі *in vitro*. У зв'язку з відсутністю етапу безпосереднього забору біологічного матеріалу у пацієнтів та повною відмовою від використання лабораторних тварин, додаткове індивідуальне погодження чи отримання дозволу від Комісії з питань етики та біоетики наукових досліджень для цієї роботи не було необхідним.

Етичних порушень або фактів недоброчесного поводження з біологічним матеріалом не виявлено. Відсутні будь-які випробування та дослідження на тваринах, органах людини, а також з залученням пацієнтів та здорових добровольців. Рішення прийнято одногосло.

Голова комісії з питань етики
та біоетики наукових досліджень,
канд. техн. наук, доцент



Ірина ВОЛОШИНА

Секретар комісії з питань етики
та біоетики наукових досліджень,
д-р філософії



Вадим ЛІСОВИЙ

ДОДАТОК В Патент на корисну модель



(11) 159275

(19) UA

(51) МПК (2025.01)
A61K 9/12 (2006.01)
A61K 31/00
A61P 17/02 (2006.01)

(21) Номер заявки: u 2024 05804

(22) Дата подання заявки: 09.12.2024

(24) Дата, з якої є чинними права інтелектуальної власності: 08.05.2025

(46) Дата публікації відомостей про державну реєстрацію та номер Бюлетеня: 07.05.2025, Бюл. № 19

(72) Винахідники:
Салій Олена Олександрівна,
UA,
Попова Марія Едуардівна,
UA,
Тарасенко Ганна Вікторівна,
UA,
Ковалевська Ольга Іванівна,
UA,
Страшний Владислав
Володимирович, UA(73) Володілець:
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ТЕХНОЛОГІЙ
ТА ДИЗАЙНУ,
вул. Мала Шияновська, 2, м.
Київ, 01011, UA

(54) Назва корисної моделі:

СПОСІБ ОТРИМАННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ РАН

(57) Формула корисної моделі:

Спосіб отримання фармацевтичної композиції для лікування ран, який здійснюють шляхом змішування діючих речовин, твіну-80, етанолу, допоміжних речовин і води та фасування отриманої суміші в аерозольні балони, який відрізняється тим, що як діючі активні речовини використовують доксицикліну гіклат і декспантенол 5 %, на першому етапі отримання змішують цетостеариловий спирт та кислоту стеаринову при температурі 60-70 °С, вносять до розплаву пропіленгліколь і твін-80 та охолоджують отриману суміш до 22-30 °С, на другому етапі додають до суміші доксицикліну гіклат та декспантенол 5 %, а потім частинами додають водно-спиртовий розчин метилпарабену, пропілпарабену, гідроксиду натрію, перемішують до однорідності і як пропелент використовують суміш газів пропан-бутан-ізобутан, при цьому співвідношення компонентів складає, мас. %:

доксицикліну гіклат	0,5-3,0
декспантенол 5 %	3,5-6,5
цетостеариловий спирт	1,0-2,0
твін-80	0,5-1,5
метилпарабен	0,34-0,38
пропілпарабен	0,02-0,06
пропіленгліколь	10,0-20,0
стеаринова кислота	3,0-5,0
етанол 95 %	1,0-1,5
гідроксид натрію	1,0-1,2
суміш газів пропан-бутан-ізобутан	30,0-50,0
вода очищена	до 100,0.

ДОДАТОК Г Технологічний регламент



Для службового
користування
екз. № 2

ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»
ГЕНЕРАЛЬНИЙ ДИРЕКТОР
Гродзевиць О.І.

« 18 » « БІОТЕСТЛАБ » 2025 р.



ТЕХНОЛОГІЧНИЙ РЕГЛАМЕНТ

(проект)

виробництво

ДОКСИПАНТ, піна нашкірна

аерозольні балони, 200 мл

ТР № 082/1 від 18.01.2025

ВАСИЛЬКІВ-2025

ДОДАТОК Д Методики контролю якості**Затверджую**Директор департаменту з
наукової роботи

ТОВ «БІОТЕСТЛАБ»

Максим ВОРОХОБІН

Заявник, країна ТОВ „БІОТЕСТЛАБ”, УкраїнаВиробник, країна ТОВ „БІОТЕСТЛАБ”, Україна**ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ****ДОХУРАНТ****ДОКСИПАНТ**

піна нашкірна у аерозольних балонах

ДОДАТОК Е Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження в освітньо-науковому процесі кафедри токсикологічно та неорганічної хімії ЗДМФУ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Запорізького державного медико-фармацевтичного університету
Валерій ГУМАНСЬКИЙ



2025р.

АКТ

про впровадження результатів дисертаційного дослідження
на здобуття ступеня доктора філософії
ПОПОВОЇ МАРІЇ ЕДУАРДІВНИ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Обґрунтування та розроблення складу і технології лікарського засобу з антибактеріальними та ранозагоювальними властивостями у формі аерозолі

2. **Установа, її адреса, виконавці:** Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, 01011, м. Київ, вул. Мала Шияновська, 2, аспірант Попова М. Е.

3. **Джерела інформації:**

3.1 Салій О. О., Попова М. Е., Тарасенко Г. В., Яровенко В. С. (2022). Аналіз основних тенденцій розвитку ринку лікарських засобів під тиском у фармацевтичній та ветеринарній практиці // Соціальна фармація в охороні здоров'я. – 2022. – Т. 8, № 3. – С.60-70. <https://doi.org/10.24959/sphhcj.22.263>

3.2 Попова М. Е., Салій О. О., Товстига А. Р., Страшний В. В. (2025). Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболювальної дії. Вісник фармації 2025:1 (109) – С.80-87. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.160>

3.3 Saliy Olena, Popova Mariia, Tarasenko Hanna, Getalo Olga. Development strategy of novel drug formulations for the delivery of doxycycline in the treatment of wounds of various etiologies, European Journal of Pharmaceutical Sciences (2024), Vol.195, 106636 <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106636>

4. **Термін впровадження:** III квартал 2025р.

5. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри токсикологічної та неорганічної хімії Запорізького державного медико-фармацевтичного університету до курсів лекцій, матеріалів практичних та лабораторних занять з дисциплін: «Токсикологічна та судова хімія», «Охорона праці в галузі».

6. **Ефективність впровадження:** Поглиблено знання здобувачів вищої освіти спеціальності 226 Фармація, промислова фармація щодо розроблення складу та технології виробництва лікарських засобів у формі піни нашкірної (аерозолі).

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри токсикологічної
та неорганічної хімії
д. фарм. н., професор

Олександр ПАНАСЕНКО

**ДОДАТОК Ж Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження
в освітньо-науковому процесі кафедри управління та економіки фармацевції з
технологією ліків ТНМУ імені І. Я. Горбачевського**

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор закладу вищої освіти
з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету імені
І. Я. Горбачевського МОЗ України
д-р біол. н., професор Іван КЛІЩ



«_____» _____ 2026 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Обґрунтування та розроблення складу і технології лікарського засобу з антибактеріальними та ранозагоювальними властивостями у формі аерозолію
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармацевції, 01011, м. Київ, вул. Мала Шияновська, 2, аспірант Попова М. Е.
3. **Джерела інформації:**
 - 3.1 Салій О. О., Попова М. Е., Тарасенко Г. В., Яровенко В. С. (2022). Аналіз основних тенденцій розвитку ринку лікарських засобів під тиском у фармацевтичній та ветеринарній практиці // Соціальна фармацевція в охороні здоров'я. – 2022. – Т. 8, № 3. – С.60-70. <https://doi.org/10.24959/sphhcj.22.263>
 - 3.2 Попова М. Е., Салій О. О., Товстига А. Р., Страшний В. В. (2025). Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболувальної дії. Вісник фармацевції 2025:1 (109) – С.80-87. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.160>
 - 3.3 Saliy Olena, Popova Mariia, Tarasenko Hanna, Getalo Olga. Development strategy of novel drug formulations for the delivery of doxycycline in the treatment of wounds of various etiologies, European Journal of Pharmaceutical Sciences (2024), Vol.195, 106636 <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106636>
4. **Термін впровадження:** 01 лютого 2026 р.
5. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри промислової фармацевції до курсів лекцій, матеріалів практичних та лабораторних занять з дисциплін: «Промислова технологія виробництва лікарських засобів», «Обладнання та проєктування фармацевтичних виробництв», «Фармацевтична розробка лікарських засобів»
6. **Ефективність впровадження:** Поглиблено знання здобувачів вищої освіти спеціальності 226 Фармація, промислова фармацевція щодо розроблення складу та технології виробництва лікарських засобів у формі піни нашкірної (аерозолію).

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри управління та економіки фармацевції
з технологією ліків Тернопільського національного
медичного університету імені І.Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України,
канд. фарм. наук, доцент

Мар'яна ДЕМЧУК

ДОДАТОК К Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження в освітньо-науковому процесі кафедри промислової фармації КНУТД

«ЗАТВЕРДЖЕНО»
 Проректор з наукової та міжнародної діяльності
 Подмила САНУЩАК-ЄФІМЕНКО
 « 17 » лютого 2025



АКТ

про впровадження результатів дисертаційного дослідження
 на здобуття ступеня доктора філософії
 ПОПОВОЇ МАРІЇ ЕДУАРДІВНИ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Обґрунтування та розроблення складу і технології лікарського засобу з антибактеріальними та ранозагоювальними властивостями у формі аерозолію
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, 01011, м. Київ, вул. Мала Шияновська, 2, аспірант Попова М. Е.
3. **Джерела інформації:**
 - 3.1 Салій О. О., Попова М. Е., Тарасенко Г. В., Яровенко В. С. (2022). Аналіз основних тенденцій розвитку ринку лікарських засобів під тиском у фармацевтичній та ветеринарній практиці // Соціальна фармація в охороні здоров'я. – 2022. – Т. 8, № 3. – С.60-70. <https://doi.org/10.24959/sphhcj.22.263>
 - 3.2 Попова М. Е., Салій О. О., Товстига А. Р., Страшний В. В. (2025). Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни наскірної знеболювальної дії. Вісник фармації 2025:1 (109) – С.80-87. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.160>
 - 3.3 Saliy Olena, Popova Mariia, Tarasenko Hanna, Getalo Olga. Development strategy of novel drug formulations for the delivery of doxycycline in the treatment of wounds of various etiologies, European Journal of Pharmaceutical Sciences (2024), Vol.195, 106636 <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106636>
4. **Термін впровадження:** І квартал 2026р.
5. **Впроваджено:** в навчальний процес кафедри промислової фармації до курсів лекцій, матеріалів практичних та лабораторних занять з дисциплін: «Промислова технологія виробництва лікарських засобів», «Обладнання та проєктування фармацевтичних виробництв», «Фармацевтична розробка лікарських засобів»
6. **Ефективність впровадження:** Поглиблено знання здобувачів вищої освіти спеціальності 226 Фармація, промислова фармація щодо розроблення складу та технології виробництва лікарських засобів у формі піни наскірної (аерозолію).

Відповідальний за впровадження

Завідувач кафедри промислової фармації
 д. фарм. н., професор



Владислав СТРАШНИЙ

ДОДАТОК Л Акт впровадження результатів дисертаційного дослідження в освітньо-науковому процесі кафедри аптечної та промислової технології ліків НМУ імені О.О. Богомольця

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.О. Проректор
з наукової роботи та інновацій
Національного медичного
Університету імені О.О. Богомольця
д.мед.н., проф. Кобилjak Н.М.
« 23 » _____ 2026р.



АКТ

про впровадження результатів дисертаційного дослідження на здобуття ступеня доктора філософії ПОПОВОЇ МАРІЇ ЕДУАРДІВНИ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Обґрунтування та розроблення складу і технології лікарського засобу з антибактеріальними та ранозагоювальними властивостями у формі аерозолю
2. **Установа, її адреса, виконавці:** Київський національний університет технологій та дизайну, кафедра промислової фармації, 01011, м. Київ, вул. Мала Шияновська, 2, аспірант Попова М. Е.
3. **Джерела інформації:**
 - 3.1 Салій О. О., Попова М. Е., Тарасенко Г. В., Яровенко В. С. (2022). Аналіз основних тенденцій розвитку ринку лікарських засобів під тиском у фармацевтичній та ветеринарній практиці // Соціальна фармація в охороні здоров'я. – 2022. – Т. 8, № 3. – С.60-70. <https://doi.org/10.24959/sphhcj.22.263>
 - 3.2 Попова М. Е., Салій О. О., Товстига А. Р., Страшний В. В. (2025). Обґрунтування вибору допоміжних речовин у складі піни нашкірної знеболювальної дії. Вісник фармації 2025:1 (109) – С.80-87. <https://doi.org/10.24959/nphj.25.160>
 - 3.3 Saliy Olena, Popova Mariia, Tarasenko Hanna, Getalo Olga. Development strategy of novel drug formulations for the delivery of doxycycline in the treatment of wounds of various etiologies, European Journal of Pharmaceutical Sciences (2024), Vol.195, 106636 <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106636>
4. **Термін впровадження:** 2025 – 2026 н.р.
5. **Впроваджено:** в освітній процес кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О.О. Богомольця до курсів лекцій, матеріалів практичних занять з дисциплін: «Технологія ліків (промислова технологія виробництва лікарських засобів)», «Фармацевтична розробка лікарських засобів» згідно протоколу №2 від 22.01.2026р.
6. **Ефективність впровадження:** використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації. Результати наукових досліджень використовуються здобувачами вищої освіти щодо розроблення складу та технології виробництва лікарських засобів у формі піни нашкірної (аерозолю) на кафедрі аптечної та промислової технології ліків.
7. **Зауваження:** немає.

Відповідальний за впровадження:

завідувачка кафедри аптечної та промислової технології ліків
Національного медичного університету імені О. О. Богомольця,
д.фарм.н., професорка

Жанна ПОЛОВА

ДОДАТОК М₁. Дослідження стабільності
Довгострокове випробування стабільності препарату ДОКСИПАНТ (25±2) °С

Номер серії		022024Д-1						
Дата виготовлення серії		02.2024						
Упаковка		Балони аерозольні, 200 мл						
Показники якості	Допустимі межі згідно зі специфікацією на готовий продукт	Контрольні точки						
		0 місяців 02.2024	3 місяці 05.2024	6 місяців 08.2024	9 місяців 11.2024	12 місяців 02.2025	18 місяців 08.2025	24 місяці 02.2026
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Опис	Препарат при виході з контейнеру утворює піну від білого до світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору
Відносна густина піни	Має бути в межах 0,4810 до 0,7214.	0,5838	0,5874	0,5961	0,6027	0,6145	0,6298	0,6223
Час розширення	Час досягнення максимального об'єму в кожному визначенні не має перевищувати 5 хв.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
<u>Ідентифікація Доксипанту</u>	А. Спектр випробуваного розчину має бути візуально подібним спектру розчину порівняння, відповідні максимуми не мають відрізнятися більше ніж на 2 нм В. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксипанту на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
<u>Декспантенол</u>	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманого при кількісним визначенні, час утримання піку декспантенолу має співпадати з часом утримання відповідного піку на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення								
<u>доксипант</u>	При випуску: Від 9,5 мг до 10,5 мг в 1 г. Протягом терміну зберігання: Від 9,0 мг до 10,5 мг в 1 мл	10,4	10,3	10,2	10,0	10,1	9,8	9,6

ДОДАТОК М₂
Довгострокове випробування стабільності препарату ДОКСИПАНТ (25±2) °С

Номер серії		022024Д-2						
Дата виготовлення серії		02.2024						
Упаковка		Балони аерозольні, 200 мл						
Показники якості	Допустимі межі згідно зі специфікацією на готовий продукт	Контрольні точки						
		0 місяців 02.2024	3 місяці 05.2024	6 місяців 08.2024	9 місяців 11.2024	12 місяців 02.2025	18 місяців 08.2025	24 місяці 02.2026
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Опис	Препарат при виході з контейнеру утворює піну від білого до світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору
Відносна густина піни	Має бути в межах 0,4810 до 0,7214.	0,5638	0,5874	0,5961	0,6027	0,6145	0,6298	0,6423
Час розширення	Час досягнення максимального об'єму в кожному визначенні не має перевищувати 5 хв.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Ідентифікація <u>Доксициклін</u>	А. Спектр випробуваного розчину має бути візуально подібним спектру розчину порівняння, відповідні максимуми не мають відрізнятися більше ніж на 2 нм В. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
<u>Декспантенол</u>	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманого при кількісним визначенні, час утримання піку декспантенолу має співпадати з часом утримування відповідного піку на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення								
<u>доксициклін</u>	При випуску: Від 9,5 мг до 10,5 мг в 1 г. Протягом терміну зберігання: Від 9,0 мг до 10,5 мг в 1 мл	10,5	10,2	10,1	9,9	9,7	9,6	9,4

ДОДАТОК М₄
Довгострокове випробування стабільності препарату ДОКСИПАНТ (40±2) °С

Номер серії		022024Д-1		
Дата виготовлення серії		02.2024		
Упаковка		Балони аерозольні, 200 мл		
Показники якості	Допустимі межі згідно зі специфікацією на готовий продукт	Контрольні точки		
		0 місяців 02.2024	3 місяці 05.2024	6 місяців 08.2024
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Опис	Препарат при виході з контейнеру утворює піну від білого до світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору		
Відносна густина піни	Має бути в межах 0,4810 до 0,7214.	0,5784	0,4974	0,5145
Час розширення	Час досягнення максимального об'єму в кожному визначенні не має перевищувати 5 хв.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Ідентифікація				
<u>Доксициклін</u>	А. Спектр випробуваного розчину має бути візуально подібним спектру розчину порівняння, відповідні максимуми не мають відрізнятися більше ніж на 2 нм В. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
<u>Декспантенол</u>	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманого при кількісним визначенні, час утримання піку декспантенолу має співпадати з часом утримання відповідного піку на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення				
<u>доксициклін</u>	<i>При випуску:</i> Від 9,5 мг до 10,5 мг в 1 г. <i>Протягом терміну зберігання:</i> Від 9,0 мг до 10,5 мг в 1 мл	10,4	10,2	9,7
<u>декспантенол</u>	<i>При випуску:</i> Від 47,5 мг до 52,5 мг в 1 г. <i>Протягом терміну зберігання:</i> Від 45,0 мг до 52,5 мг в 1 г.	51,7	50,7	49,5
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) –не більше 10 ² КУО/мл; загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) –не більше 10 ⁴ КУО/мл.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Тиск всередині контейнера	Має бути 0,4 МПа.	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа

Продовження ДОДАТКУ М₄

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Вихід вмісту контейнеру	Критерій прийнятності: вихід має бути не менше 90 % від маси вмісту контейнера, що вказано на етикетці	94%	95%	91%
Герметичність	Контейнери мають бути герметичні	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Перевірка клапана і насадки	Клапан повинен відкриватися при натисканні пальцем на насадку і негайно герметично закриватися після припинення натискання на неї. Вміст контейнеру повинен виходити тільки через отвір насадки.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Упакування та маркування	Контейнери мають бути без зовнішніх дефектів, клапани в робочому стані; з етикетками відповідно до затвердженого графічного макета.	Відповідає	Відповідає	Відповідає

ДОДАТОК М₅
Довгострокове випробування стабільності препарату ДОКСИПАНТ (40±2) °С

Номер серії		022024Д-2		
Дата виготовлення серії		02.2024		
Упаковка		Балони аерозольні, 200 мл		
Показники якості	Допустимі межі згідно зі специфікацією на готовий продукт	Контрольні точки		
		0 місяців 02.2024	3 місяці 05.2024	6 місяців 08.2024
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Опис	Препарат при виході з контейнеру утворює піну від білого до світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору		
Відносна густина піни	Має бути в межах 0,4810 до 0,7214.	0,5945	0,6174	0,5645
Час розширення	Час досягнення максимального об'єму в кожному визначенні не має перевищувати 5 хв.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Ідентифікація				
<u>Доксициклін</u>	А. Спектр випробуваного розчину має бути візуально подібним спектру розчину порівняння, відповідні максимуми не мають відрізнятися більше ніж на 2 нм В. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
<u>Декспантенол</u>	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманого при кількісним визначенні, час утримання піку декспантенолу має співпадати з часом утримання відповідного піку на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення				
<u>доксициклін</u>	<i>При випуску:</i> Від 9,5 мг до 10,5 мг в 1 г. <i>Протягом терміну зберігання:</i> Від 9,0 мг до 10,5 мг в 1 мл	10,5	10,1	9,6
<u>декспантенол</u>	<i>При випуску:</i> Від 47,5 мг до 52,5 мг в 1 г. <i>Протягом терміну зберігання:</i> Від 45,0 мг до 52,5 мг в 1 г.	52,2	50,1	48,9
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) –не більше 10 ² КУО/мл; загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) –не більше 10 ⁴ КУО/мл.	Відповідає	Відповідає	Відповідає

Продовження ДОДАТКУ М₅

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Тиск всередині Контейнера	Має бути 0,4 МПа.	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа
Вихід вмісту контейнеру	Критерій прийнятності: вихід має бути не менше 90 % від маси вмісту контейнера, що вказано на етикетці	92%	92%	93%
Герметичність	Контейнери мають бути герметичні	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Перевірка клапана і насадки	Клапан повинен відкриватися при натисканні пальцем на насадку і негайно герметично закриватися після припинення натискання на неї. Вміст контейнеру повинен виходити тільки через отвір насадки.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Упакування та маркування	Контейнери мають бути без зовнішніх дефектів, клапани в робочому стані; з етикетками відповідно до затвердженого графічного макета.	Відповідає	Відповідає	Відповідає

ДОДАТОК М₆
Довгострокове випробування стабільності препарату ДОКСИПАНТ (40±2) °С

Номер серії		032024Д-1		
Дата виготовлення серії		03.2024		
Упаковка		Балони аерозольні, 200 мл		
Показники якості	Допустимі межі згідно зі специфікацією на готовий продукт	Контрольні точки		
		0 місяців 03.2024	3 місяці 06.2024	6 місяців 09.2024
1	2	3	4	5
Опис	Препарат при виході з контейнеру утворює піну від білого до світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору	Піна світло жовтого кольору
Відносна густина піни	Має бути в межах 0,4810 до 0,7214.	0,5748	0,6145	0,5874
Час розширення	Час досягнення максимального об'єму в кожному визначенні не має перевищувати 5 хв.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Ідентифікація				
<u>Доксициклін</u>	А. Спектр випробуваного розчину має бути візуально подібним спектру розчину порівняння, відповідні максимуми не мають відрізнятися більше ніж на 2 нм В. Час утримання основного піку на хроматограмах випробуваного розчину має співпадати з часом утримання піку доксицикліну на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
<u>Декспантенол</u>	На хроматограмах випробуваного розчину, отриманого при кількісним визначенні, час утримання піку декспантенолу має співпадати з часом утримання відповідного піку на хроматограмах розчину порівняння.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Кількісне визначення				
<u>доксициклін</u>	<i>При випуску:</i> Від 9,5 мг до 10,5 мг в 1 г. <i>Протягом терміну зберігання:</i> Від 9,0 мг до 10,5 мг в 1 мл	10,1	9.5	9.3
<u>декспантенол</u>	<i>При випуску:</i> Від 47,5 мг до 52,5 мг в 1 г. <i>Протягом терміну зберігання:</i> Від 45,0 мг до 52,5 мг в 1 г.	50,5	50.1	49.8
Мікробіологічна чистота	Загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) –не більше 10 ² КУО/мл; загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) –не більше 10 ⁴ КУО/мл.	Відповідає	Відповідає	Відповідає

Продовження ДОДАТКУ М₆

<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>
Тиск всередині Контейнера	Має бути 0,4 МПа.	0,4 МПа	0,4 МПа	0,4 МПа
Вихід вмісту контейнеру	Критерій прийнятності: вихід має бути не менше 90 % від маси вмісту контейнера, що вказано на етикетці	93%	90%	95%
Герметичність	Контейнери мають бути герметичні	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Перевірка клапана і насадки	Клапан повинен відкриватися при натисканні пальцем на насадку і негайно герметично закриватися після припинення натискання на неї. Вміст контейнеру повинен виходити тільки через отвір насадки.	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Упакування та маркування	Контейнери мають бути без зовнішніх дефектів, клапани в робочому стані; з етикетками відповідно до затвердженого графічного макета.	Відповідає	Відповідає	Відповідає

