

На правах рукописи

ПАПАЗОВА НАТАЛЬЯ АЛЕКСАНДРОВНА

**РАЗРАБОТКА СОСТАВОВ И ТЕХНОЛОГИИ
ГЕЛЯ КЛОТРИМАЗОЛА И ГЕЛЯ КЕТОКОНАЗОЛА**

15.00.01 — технология лекарств
и организация фармацевтического дела

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Санкт-Петербург - 2004 г

Работа выполнена в институте токсикологии Минздрава РФ

Научные руководители:

доктор фармацевтических наук, ст.научный сотрудник К.В. Алексеев
доктор медицинских наук, профессор С.П. Нечипоренко

Официальные оппоненты:

доктор фармацевтических наук К.С. Гузев
доктор фармацевтических наук, профессор Л.П. Истратов

Ведущая организация:

Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия

Защита состоится 29 октября 2004 года в 14.00 на заседании диссертационного совета Д212.203.19 при Российском университете дружбы народов (117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8, к.1)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Российского университета дружбы народов (117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6)

Автореферат разослан: 28 сентября 2004г

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 212.203.19
кандидат фармацевтических наук, доцент



И.В. Косова

2005-У
19190

875047

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность **темы**. В последние годы во всем мире наблюдается увеличение числа случаев микотической патологии, что связывают с ростом урбанизации, развитием промышленности, туризма, увеличением продолжительности жизни человека, учащением опухолевых, иммуноэндокринных заболеваний, болезней крови и др. Широкое распространение грибковых заболеваний среди людей разных возрастных групп, длительное и часто хроническое их течение, трудности их лечения обуславливают все более пристальное внимание исследователей к этой проблеме медицины. В последние годы широкое применение при лечении микозов получили синтетические средства.

Среди синтетических противогрибковых лекарственных препаратов одними из наиболее эффективных являются производные имидазола. Для них характерны высокая активность против дерматофитов, плесеней и дрожжеподобных организмов; фунгистатический тип действия; достаточно хорошее проникновение в роговой слой эпидермиса; незначительная токсичность; отсутствие у грибов природной устойчивости к этим препаратам. Клотримазол и кетоконазол получили наибольшую известность и распространение из всей группы имидазолов. Достоинством препаратов клотримазола является его хорошая проникающая способность с поверхности кожи в роговой слой эпидермиса. Также положительной стороной является способность клотримазола накапливаться в глубоких слоях эпидермиса, где его концентрация может достигать значения выше минимальной подавляющей концентрации (МПК) для дерматофитов. При нанесении препарата на ногти, клотримазол может проникать в слои кератина. Важной особенностью кетоконазола является его влияние, как на поверхностные, так и на системные микозы. Это делает возможным его применение в комплексной терапии микозов.

В настоящее время препараты клотримазола и кетоконазола для местного применения выпускаются в виде мазей, кремов и растворов. Лечебный эффект лекарственного средства обеспечивается комплексным взаимодействием лекарственных и вспомогательных веществ. Недостатком жидких форм являются - высокая текучесть препарата и летучесть растворителя. Мази, вследствие своей липофильности, не дают наиболее полного высвобождения лекарственного вещества из основы. Таким образом, актуальным является вопрос разработки высокоэффективных лекарственных препаратов кетоконазола и клотримазола наружного применения в форме гелей.

Цели и задачи исследования. Целью диссертационной работы является разработка научно-обоснованных составов и технологии получения стабильных и высокоэффективных лекарственных форм клотримазола и кетоконазола для лечения поверхностных микозов.

Для достижения поставленной цели предусматривалось решить задачи:



- теоретически и экспериментально обосновать и разработать составы и технологию геля клотримазола и геля кетоконазола;
- модифицировать методики стандартизации геля клотримазола и геля кетоконазола;
- определить условия хранения и установить сроки годности геля клотримазола и геля кетоконазола в процессе длительного хранения;
- изучить биологическую активность разработанных препаратов *in vitro*;
- изучить безвредность разработанных препаратов *in vivo*;
- на основании полученных результатов исследования составить нормативную документацию и представить в Фармакологический Комитет МЗиСР РФ с целью получения разрешения на клинические испытания геля клотримазола и геля кетоконазола.

Научная новизна. Разработаны составы и способ получения геля клотримазола и геля кетоконазола. Новизна результатов исследований подтверждена заявкой на патент «Противогрибковая гелевая фармацевтическая композиция. Способ ее получения» (приоритет №2003125209 от 12 августа 2003 г.)

На основании физико-химических свойств клотримазола и кетоконазола (плохо растворимы в воде) и технологических свойств структурообразователя - Карбопола NF 974P (набухаемость) подобрана оптимальная система растворителей (для клотримазола ПЭО-400: ПГ: вода (1:4:1,5), для кетоконазола ПЭО-400: ПГ: вода (4:1:1,5)), соответствующая максимальной растворимости лекарственных веществ и обеспечивающая набухание полимера.

Методом ротационной вискозиметрии выявлены факторы, влияющие на процесс структурообразования Карбопола NF 974P: концентрация полимера, степень нейтрализации, температура. Установлено, что разработанные лекарственные препараты обладают слабыми тиксотропными свойствами и являются структурированными и стабильными системами.

Для количественного и качественного определения клотримазола и кетоконазола модифицирован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием в качестве внешнего стандарта субстанции клотримазола (НД 42-9851-99) и субстанции кетоконазола (НД 42-10696-00).

Выявлена зависимость между количеством примесей, образующихся в результате деструкции клотримазола и кетоконазола в процессе хранения, и температурой хранения. Исходя из полученных результатов исследования, выбрана оптимальная температура хранения геля клотримазола и геля кетоконазола (не выше 15°C). По показателям: описание, подлинность, рН водного извлечения, количественное определение лекарственного вещества установлены сроки годности препаратов (2 года).

При исследовании биологической активности разработанных нами препаратов *in vitro* в сравнении с препаратами-аналогами (Клотримазол крем 1% (Шрея Лайф Саенсиз Пвт Лтд, Индия) и Низорал крем 2% (Янсен

Фармацевтика, Бельгия)), наибольшая антимикробная активность выявлена для геля клотримазола и геля кетоконазола.

Изучение биологической безвредности *in vivo* в сравнении с препаратами-аналогами показало, что присутствие лекарственного вещества в растворенном виде не влияет на повышение токсичности препарата, а разработанные нами препараты и препараты-аналоги являются биоэквивалентными в отношении токсичности.

Практическая значимость работы. На основании проведенных исследований разработаны и внедрены:

- состав и показатели качества геля клотримазола (проект ФСП на гель клотримазола 1% - представлен в Фармакопейный комитет, письмо ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» от 25.08.04)
- технология получения геля клотримазола (Лабораторный регламент ЛР05768527-08-2004 утвержден 18.08.2004 г. ОАО «Фармакон», акт наработки серийных образцов от 18.08.2004 г.);
- состав и показатели качества геля кетоконазола (проект ФСП на гель кетоконазола 2% - представлен в Фармакопейный комитет, письмо ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» от 25.08.04)
- технология получения геля кетоконазола (Лабораторный регламент ЛР05768527-09-2004 утвержден 18.08.2004 г. ОАО «Фармакон», акт наработки серийных образцов от 18.08.2004 г.).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 4 работы.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института токсикологии Минздрава РФ (№ гос. регистрации темы 024/072/001)

Положения, выносимые на защиту:

результаты теоретических и экспериментальных исследований по обоснованию состава и технологии получения геля клотримазола и геля кетоконазола;

результаты изучения физико-химических, реологических, биофармацевтических характеристик геля клотримазола и геля кетоконазола; показатели качества геля клотримазола и геля кетоконазола в процессе длительного хранения;

методики стандартизации геля клотримазола и геля кетоконазола (метод ВЭЖХ для количественного и качественного определения клотримазола и кетоконазола)

Объём и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, трех экспериментальных глав, общих выводов, библиографии и приложений. Работа изложена на 154 страницах машинописного текста и содержит 28 таблиц, 35 рисунков и 4 фото. Библиография включает 121 источник, из них 20 на иностранных языках.

Приложение содержит: проект ФСП на Клотримазол гель для наружного применения 1%, проект ФСП на Кетоконазол гель для наружного применения 2%, лабораторные регламенты на производство геля клотримазола 1% и геля кетоконазола 2%, отчеты об экспериментальном сравнительном изучении препаратов Клотримазол гель и Кетоконазол гель и зарегистрированных препаратов-аналогов, акты о наработке серийных образцов геля клотримазола 1% и геля кетоконазола 2%.

Разработка состава и технологии геля клотримазола.

С биофармацевтической точки зрения наиболее оптимальным является присутствие лекарственного вещества (ЛВ) в наружной лекарственной форме в виде раствора. В связи с этим, нами изучена растворимость клотримазола (табл.1) в чистых растворителях: вода очищенная, пропиленгликоль (ПГ), полиэтиленоксид-400 (ПЭО -400), а также в смесях: ПГ - ПЭО-400, вода - ПГ - ПЭО-400 с различными соотношениями компонентов.

Таблица 1

Растворимость клотримазола в различных растворителях

Растворители	Температура ра, °С	Кол-во раство- ля (г) для растворения 1 г клотримазола.	Примечание
Вода очищенная	22	»	Практически не растворим
ПГ	22	37,0	Умеренно растворим
ПЭО-400	22	19,0	Растворим
ПЭО-400 -ПГ(1:1)	22	25,0	Растворим
ПЭО-400 -ПГ (1:2)	22	30,0	Растворим
ПЭО-400 -ПГ (1:3)	22	37,5	Умеренно растворим
Вода - ПГ -ПЭО-400 (1:2:1)	22	188,0	Мало растворим
Вода - ПГ -ПЭО-400 (1:2:1)	75	92,0	Умеренно растворим
Вода - ПГ -ПЭО-400 (1:4:1)	22	129,4	Мало растворим
Вода - ПГ -ПЭО-400 (1:4:1)	75	50,0	Умеренно растворим
ПЭО-400 -ПГ -вода (1:4:1,5)	75	63,0	Умеренно растворим

Анализ данных табл. 1 показал, что система растворителей ПЭО-400:ПГ:вода (1:4:1,5) является наиболее пригодной как для растворения клотримазола, так и для набухания полимера.

При выборе РАП, который обеспечивал бы как оптимальные физико-химические характеристики геля, так и наиболее оптимальный путь

ведения технологического процесса производства геля, изучали набухающую способность РАП в выбранной системе растворителей (рис. 1) Скорость достижения предельной степени набухания карбопола марки 974P NF превышала скорости достижения предельной степени набухания карбопола марки 934P NF, Ареспола и Марса-6. С учетом полученных результатов, выбрана система растворителей ПЭО-400:ПГ:вода в соотношении компонентов 1:4:1,5, в качестве структурообразователя Карбопол марки 974P NF.

Определение зависимости логарифма эффективной вязкости от концентрации полимера (рис. 2) показало, что концентрация Карбопола 974P NF 1% является оптимальной и позволяет получить гелевые системы, соответствующие реологическому оптимуму консистенции для гидрофильных мазей.

В качестве нейтрализующего агента при разработке геля клотримазола использовали триэтанолмин. При изучении влияния степени нейтрализации на реологические свойства геля Карбопола 974P NF эффективная вязкость возрастала в диапазоне значений pH 4,0 до 7,0

Кинетика набухания РАП в системе раств-лей
ПЭО-40:ПГ:вода (1:4:1,5)

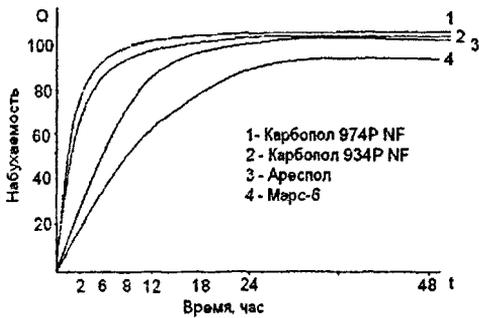
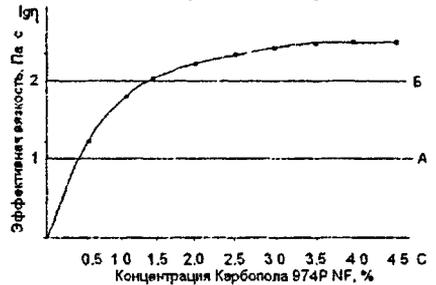


Рис. 1

Зависимость эффективной вязкости
геля Карбопола 974P NF в системе
растворителей ПЭО-400:ПГ:вода (1:4:1,5)
от концентрации полимера



А-Б – границы реологического оптимума

Рис. 2

С учетом результатов физико-химических и реологических исследований подобран оптимальный состав геля клотримазола (в процентах): клотримазола - 1,0; полиэтиленоксида-400 - 15,0; пропиленгликоля - 60,0; Карбопола 974P NF - 1,0; триэтанолamina - 0,5 ; воды очищенной - 22,5 г.

Для изучения тиксотропных свойств геля строили кривые кинетики деформации геля в координатах скорость сдвига - напряжение сдвига. Наличие восходящих и нисходящих кривых петли гистерезиса на реограмме (рис.3) указывает на то, что исследуемая система обладает тиксотропными свойствами. Ширина петли гистерезиса свидетельствует о структурированности и стабильности геля.

Изучение экструзионной способности 1% геля клотримазола показало, что реологические параметры разработанного геля полностью укладываются в границы оптимума консистенции и характеризуются удовлетворительной экструзией (рис. 4).

Реограмма течения геля клотримазола

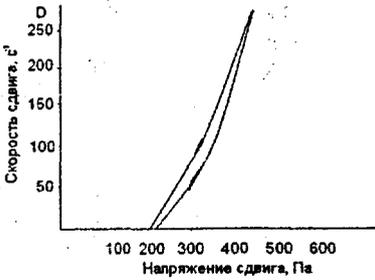


Рис. 3

Реограмма течения геля клотримазола, характеризующая экструзию из туб в сопоставлении с оптимумом



Рис. 4

Изучено изменение реологических характеристик продукта в зависимости от производимой операции (рис 5). Участок АБ - изменение эффективной вязкости (η) продукта в процессе диспергирования и набухания карбопола 974Р NF в воде; участок БВ - изменение η при нейтрализации водной суспензии карбопола 974Р NF триэтанолламином; участок ВГ - изменение η при введении раствора клотримазола в смеси растворителей (ПГ и ПЭО-400); участок ДЕ - стабилизация вязкости системы (окончание процесса приготовления геля). При оценке кинетической кривой можно выявить все параметры технологического процесса производства геля и выбрать необходимое технологическое оборудование

Кинетическая кривая изменения эффективной вязкости системы в процессе приготовления геля клотримазола

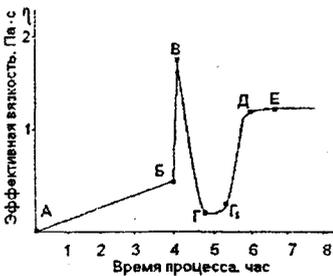
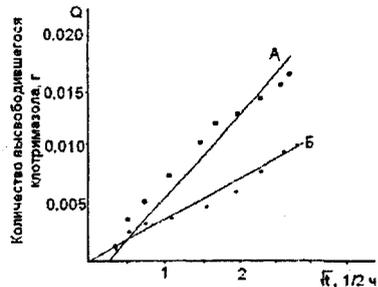


Рис. 5

Кинетика высвобождения клотримазола



А – высвобождения клотримазола из геля;
Б – высвобождения клотримазола из препарата – аналога Клотримазол крем (Шрея Лайф Саенсиз ПВД ЛТД, Индия)

Рис. 7

На основании проведенных исследований разработана технология получения геля данного состава, технологическая схема производства которого представлена на рис. 6.

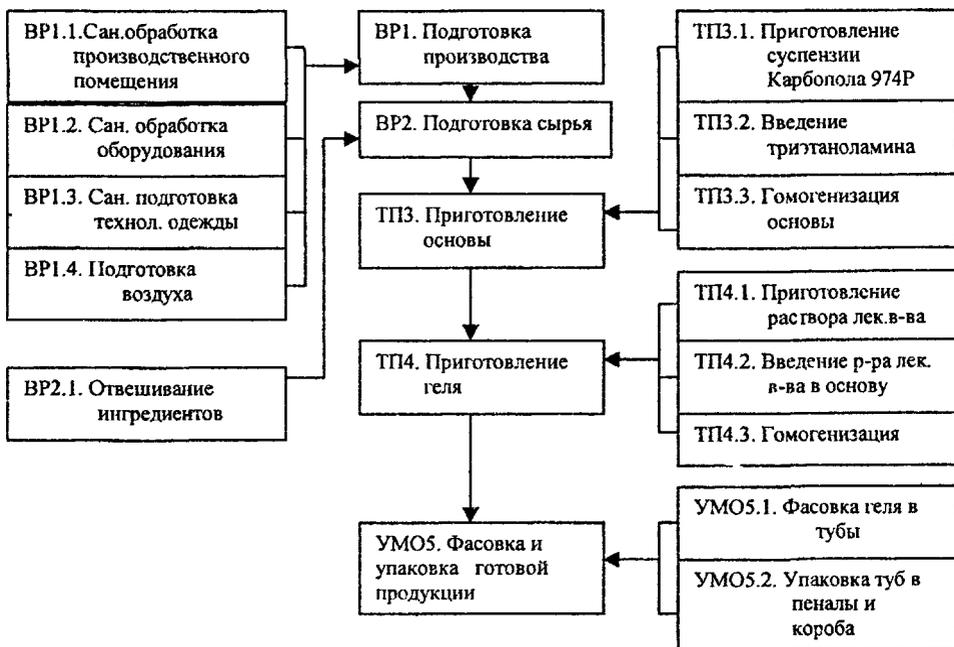


Рис. 6 Технологическая схема производства геля клотримазола

Методом равновесного диализа изучена фармацевтическая доступность клотримазола из геля и препарата-аналога Клотримазол крем 1% (Шрея Лайф Саенеиз ПВТ ЛТД, Индия). Кажущийся коэффициент диффузии (D) оценивали с помощью упрощенной модели Higuchi и вычисляли по тангенсу угла наклона прямых зависимости количества высвободившегося клотримазола (v г) от корня квадратного из времени высвобождения (рис.7). Для геля D составил $1,8714 \cdot 10^{-7}$ г см²/с (83% высвободившегося в-ва к 24 час эксперимента), для препарата-аналога - $1,2215 \cdot 10^{-7}$ г см²/с (54%).

Изучение стабильности количественных и качественных характеристик геля клотримазола в процессе хранения проводили модифицированным методом ВЭЖХ с использованием в качестве внешнего стандарта субстанцию клотримазола (НД 42-9851-99). Результаты изучения хранения геля клотримазола с показателем рН от 6; 7 и 8 при температурах хранения 10°C, 15°C, 20°C и 40°C в течение 2,5 лет показали (табл. 2), что при хранении гелей клотримазола с рН $7 \pm 0,5$ при температуре не выше 15°C не происходило значительной деструкции клотримазола и содержание ЛВ в

экспериментальных образцах, прошедших срок хранения, было не менее 95% от первоначального.

Таблица 2

Результаты количественного анализа геля клотримазола 1% (рН7) в процессе хранения при 10°С, 15°С, 20°С и 40°С

№ п/п	Номер серии	Содержание клотримазола перед испытанием, мг/г	Содержание клотримазола после испытания, мг/г	Содержание (о-хлорфенил)дифенил-метанола после испытания, мг/г	№ п/п	Номер серии	Содержание клотримазола перед испытанием, мг/г	Содержание клотримазола после испытания, мг/г	Содержание (о-хлорфенил)дифенил-метанола
1	020102	9,9874	9,8075	0,1211	3	020102	9,9874	9,7425	0,2187
	030202	10,2304	10,0976	0,1291		030202	10,2304	9,9101	0,2322
	040202	10,0653	9,9286	0,1215		040202	10,0653	9,7527	0,2385
	030302	10,2150	10,0912	0,1280		030302	10,2150	9,9248	0,2542
	040302	9,9951	9,9011	0,1172		040302	9,9951	9,6939	0,2269
	020402	9,9821	9,8518	0,1151		020402	9,9821	9,6983	0,2355
2	020102	9,9874	9,8034	0,1157	4	020102	9,9874	8,9951	0,6847
	030202	10,2304	10,0932	0,1228		030202	10,2304	9,2788	0,7018
	040202	10,0653	9,9102	0,1197		040202	10,0653	9,0748	0,6315
	030302	10,2150	10,0882	0,1239		030302	10,2150	9,2844	0,6731
	040302	9,9951	9,8950	0,1196		040302	9,9951	9,0545	0,7496
	020402	9,9821	9,8251	0,1198		020402	9,9821	9,0516	0,6572

Таблица 3.

Результаты анализа геля клотримазола 1% при хранении в тубах при 15°С

Вид упаковки	Срок хранения	Описание	Подлинность	рН водного извлечения	Количественное содержание клотримазола	Микробиолог. чистота	Масса содержимого упаковки						
Тубы алюминиевые	нач 0,5 1,0 1,5 2,0 2,5	Бесцветная прозрачная желеобразная масса, характерного запаха	ВЖЭХ; время выхода пика р-ра клотримазола должно соответствовать времени выхода пика	6,5 – 7,5	В 1 г препарата 9,50 – 10,50 мг клотримазола	ГФ XI, вып. 2 с. 193 нзм. № 3	В каждой тубе д. б. 9,5 – 10,5 г, 14,25 – 15,75 г, 23,75 – 26,25 г						
Тубы								Соответствует	Соответствует	7,10 7,08 7,10 6,83 6,86 6,84	9,9874 9,9702 9,9042 9,8717 9,8312 9,8034	Соответствует	Соответствует

С целью установления сроков годности геля клотримазола, образцы пяти серий препарата были заложены на длительное хранение при температуре 15°C в тубах алюминиевых с внутренним лаковым покрытием на основе клея БФ-2 и с бутонами из полиэтилена низкого давления, (табл. 3).

Полученные результаты позволяют сделать вывод о стабильности геля клотримазола в течение всего срока хранения и установить срок годности препарата - 2 года.

Изучение активности клотримазола биологическим методом *in vitro* с использованием трехдозного варианта метода диффузии в агар на чашках Петри показало, что в отношении *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus* препарат обладает сильновыраженным антимикробным действием. Величина средней активной концентрации для геля клотримазола - 10425 мкг/мл, превышение которой не целесообразно, так как антимикробное действие препарата практически не изменяется. Таким образом, для разработанного нами препарата оптимальной концентрацией является содержание клотримазола 1%.

Сравнительное изучение биологической активности геля клотримазола и препарата-аналога показало, что диффузия ЛВ из геля происходит активнее, чем из препарата-аналога и антимикробное действие разработанного нами препарата выше антимикробного действия препарата-аналога Клотримазол крем 1% (Шрея Лайф Саенеиз ПВТ ЛТД, Индия).

Результаты токсикометрии, данные наблюдений за экспериментальными животными на протяжении 14 дней после острого введения, а также данные некропии позволили отнести гель клотримазола к IV классу малотоксичных лекарственных веществ. Проведенные исследования подострой токсичности не выявили сколько-нибудь значимого влияния препаратов на основные витальные показатели животных. При кожном применении препарат не оказывает никакого заметного негативного действия на организм подопытных животных и не обладает аллергенными свойствами.

Разработка состава и технологии геля кетоконазола.

Первым этапом исследований при разработке технологии геля кетоконазола явилось изучение растворимости кетоконазола (табл. 4). Анализ данных, представленных в табл. 4 показал, что система растворителей ПЭО-400:ПГ:вода (4:1:1,5) является наиболее пригодной как для растворения кетоконазола, так и для набухания полимера.

Изучение набухающей способности РАП в выбранной нами системе растворителей показало, что скорость достижения предельной степени набухания для карбопола марки 974P NF превышала скорости достижения предельной степени набухания для карбопола марки 934P NF, Ареспола и Марса-6 (рис. 8). С учетом полученных результатов, нами выбрана система растворителей ПЭО-400:ПГ:вода в соотношении компонентов 4:1:1,5, в качестве структурообразователя карбопол марки 974P NF.

Таблица 4.

Растворимость кетоназола в различных растворителях

Растворители	Т-ра, °С	Кол-во раств-ля (г) для раств. 1 г кетоназола.	Примечание
Вода очищенная	22	»	Практически не растворим
ПГ	22	35,0	Умеренно растворим
ПЭО-400	22	20,0	Растворим
ПЭО-400:ПГ (1:1)	22	35,0	Умерено растворим
ПЭО-400:ПГ (2:1)	22	22,0	Растворим
Вода-ПГ-ПЭО-400 (1:1:2)	22	176,0	Мало растворим
Вода-ПГ-ПЭО-400 (1:1:4)	22	120,0	Мало растворим
Вода-ПГ-ПЭО-400 (1:1:4)	75	40,0	Умерено растворим
Вода-ПГ-ПЭО-400 (1,5:1:4)	75	45,0	Умеренно растворим

Концентрацию Карбопола 974Р NF для разработки состава геля определяли при изучении зависимости логарифма эффективной вязкости от концентрации полимера (рис.9). При анализе кинетической кривой видно, что концентрация 1% в выбранной нами системе растворителей является оптимальной и позволяет получить гелевые системы, соответствующие реологическому оптимуму консистенции для гидрофильных мазей.

Кинетика набухания РАП в системе растворителей ПЭО-400:ПГ:вода (4:1:1,5)

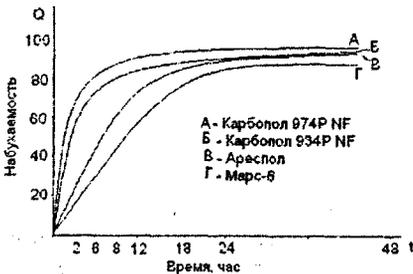
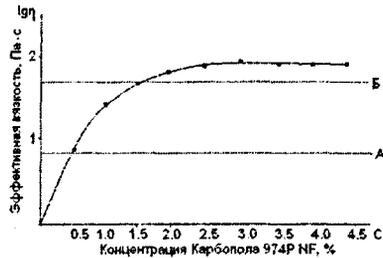


Рис. 8

Зависимость эффективной вязкости геля Карбопола 974Р NF в системе раств-лей ПЭО-400:ПГ:вода (4:1:1,5) от концентрации полимера

А-Б — границы реологического оптимума
Рис. 9

С учетом результатов физико-химических и реологических исследований подобран оптимальный состав геля кетоназола (в процентах): кетоназола - 2,0; полиэтиленоксида-400 - 60,0;

пропиленгликоля - 15,0; Карбопола 974P NF - 1,0; триэтаноламина - 0,1 ; воды очищенной - 21,9 г. Реологические исследования показали, что полученный гель является структурированной и стабильной системой, а также обладает тиксотропными свойствами.

При изучении экструзионной способности и намазываемоеTM геля кетоконазола получены данные, что реологические параметры разработанного геля полностью укладываются в границы оптимума консистенции и характеризуются удовлетворительной экструзией (рис.10) и намазываемостью (рис.11).

Реограмма течения геля кетоконазола, характеризующая экструзию из туб в сопоставлении с оптимумом

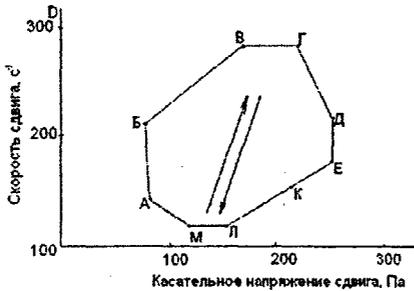


Рис.10

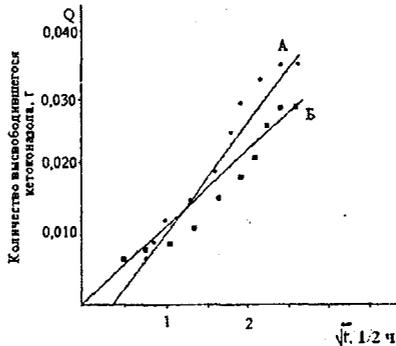
Реограмма течения геля кетоконазола, характеризующая намазываемость на кожу в сопоставлении с оптимумом для гидрофильных масел.



Рис.11

Изучение фармацевтической доступности кетоконазола из геля производили в сравнении с зарегистрированным в России препаратом-аналогом (рис.12). Для геля кетоконазола кажущийся коэффициент диффузии составил $1,3147 \cdot 10^{-7}$ г см²/с (85% высвободившегося в-ва к 24 час. эксперимента), а для препарата Низорал крем 2% (Янсен Фармацевтика, Бельгия) $1,1141 \cdot 10^{-7}$ г см²/с (68%).

Кинетика высвобождения кетоконазола



Высвобождение кетоконазола А - из геля; Б - из Низорал крем 2%

Рис.12

Изучение стабильности количественных и качественных характеристик геля кетоконазола в процессе хранения проводили модифицированным методом ВЭЖХ с использованием в качестве внешнего стандарта субстанции кетоконазола (НД 42-10696-00) при разных температурах хранения. Результаты анализа образцов геля кетоконазола 2% в процессе хранения представленные в табл. 5 показали, что при хранении экспериментальных образцов геля кетоконазола при температуре не выше 15°C среднее содержание энантомера R053165 ((±)-цис-1-ацетил-4-[4-[[2-(2,4-дихлорденил)-2-(1H-имидазол-1-илметил)-1,3-диоксолан-4-ил]метокси]фенил]-пипепиразина N⁴ окись) к концу срока экспериментального хранения не превышало 0,5%, а энантомера R039519 ((±)-цис-1-ацетил-4-[4-[[2-(2,4-дихлорденил)-2-(1H-имидазол-1-илметил)-1,3-диоксолан-4-ил]метокси]фенил]-пипепиразин)-1,0%.

Таблица 5

Результаты анализа образцов геля кетоконазола 2% в процессе хранения

№ п/п	Наименование испытуемого образца	Номер серии	Содержание кетоконазола в геле до начала испытания, мг/г	Содержание кетоконазола в геле после испытания, мг/г	Содержание энантомера R053165 в геле после испытания, мг/г	Содержание энантомера R039519 в геле после испытания, мг/г
1.	Гель кетоконазола. темп-ра хранения 10°C	100102	21,4571	21,0612	0,1112	0,2210
		100202	21,8541	21,4001	0,1067	0,2091
		110202	20,5171	20,0901	0,1031	0,2015
		120202	21,9715	21,2201	0,1031	0,2127
		130202	21,6822	21,2514	0,1090	0,2113
		140203	20,9725	20,5253	0,1049	0,2018
2.	Гель кетоконазола. темп-ра хранения 15°C	100102	21,4571	21,0592	0,1100	0,2107
		100202	21,8541	21,3942	0,1070	0,2108
		110202	20,5171	20,0855	0,1040	0,2099
		120202	21,9715	21,2175	0,1051	0,2127
		130202	21,6822	21,2493	0,1090	0,2171
		140203	20,9725	20,5221	0,1046	0,2094
3.	Гель кетоконазола. темп-ра хранения 20°C	100102	21,4571	19,4397	0,2701	0,6769
		100202	21,8541	19,6592	0,2864	0,6328
		110202	20,5171	18,4442	0,2459	0,6480
		120202	21,9715	19,5267	0,2765	0,6283
		130202	21,6822	19,5113	0,2853	0,7057
		140203	20,9725	18,8784	0,2640	0,6178
4.	Гель кетоконазола. Темп-ра хранения 40°C	100102	21,4571	15,0755	1,2228	2,2013
		100202	21,8541	15,0699	1,2446	2,1626
		110202	20,5171	14,3944	1,0046	2,1721
		120202	21,9715	15,2895	1,1533	2,5448
		130202	21,6822	14,7990	1,1380	2,3782
		140203	20,9725	14,7120	1,1825	2,4325

С целью установления сроков годности геля кетоконазола 2%, образцы пяти серий препарата были заложены на длительное хранение при температуре 15°C в тубах алюминиевых с внутренним лаковым покрытием на основе клея БФ-2 и с бушонами из полиэтилена низкого давления. (табл.6).

Таблица 6
Результаты хранения геля кетоконазола 2% при хранении в тубах

№ сер.	Вид упаковки	Срок хранения	Описание	Подлинность	м/б чист.	рН	Количество опр-ние
	Тубы алюминиевые						
100202	Тубы алюминиевые	Нач	Соответствует	Соответствует	Соответствует	6,67 6,65 6,63 6,68 6,65 6,65	В 1 г препарата 19,0-22,0 мг кетоконазола
		0,5					
		1,0					
		1,5					
		2,0					
		2,5					

Полученные результаты позволяют сделать вывод о стабильности геля кетоконазола 2% в течение всего срока хранения и установить срок годности препарата - 2 года.

Изучение активности кетоконазола биологическим методом *in vitro* с использованием трехдозного варианта метода диффузии в агар на чашках Петри показало, что в отношении *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus* препарат обладает сильновыраженным антимикробным действием. Величина средней активной концентрации для геля кетоконазола составила 22120 мкг/мл, превышение которой не целесообразно, так как антимикробное действие препарата практически не изменяется. Таким образом, для разработанного нами препарата оптимальной концентрацией является содержание кетоконазола 2%.

Сравнительное изучение биологической активности геля кетоконазола и препарата-аналога показало, что диффузия ЛВ из геля происходит активнее, чем из препарата-аналога, а антимикробное действие разработанного нами препарата выше антимикробного действия препарата-аналога Низорал крем 2%.

Результаты токсикометрии, данные наблюдений за экспериментальными животными на протяжении 14 дней после острого введения, а также данные некропсии позволили отнести гель кетоконазола к IV классу малотоксичных лекарственных веществ. Проведенные исследования подострой токсичности не выявили сколько-нибудь значимого влияния препаратов на основные

витальные показатели животных. При накожном применении препарат не оказывает никакого заметного негативного действия на организм подопытных животных и не обладает аллергенными свойствами.

Выводы:

1. С учетом физико-химических свойств клотримазола и кетоконазола (плохо растворимы в воде) и технологических свойств структурообразователя - РАП (набухаемость) подобрана оптимальная система растворителей (для клотримазола ПЭО-400:ПГ:вода (1:4:1,5), для кетоконазола ПЭО-400:ПГ:вода (4:1:1,5)), соответствующая максимальной растворимости лекарственных веществ и выбран структурообразователь - Карбопол NF 974P.
2. В процессе реологических исследований установлена зависимость структурно-механических свойств (касательное напряжение сдвига, эффективная вязкость) гелевых систем Карбопола NF 974P в выбранных системах растворителей от концентрации полимера, нейтрализующего агента (триэтаноламин) и температуры.
3. Исходя из структурно-механических свойств гелевых систем Карбопола NF 974P в выбранных системах растворителей разработаны составы и технологии получения геля клотримазола 1% и геля кетоконазола 2%. Установлены их реологические характеристики, описывающие лекарственные препараты как структурированные системы, эффективная вязкость которых соответствует реологическому оптимуму консистенции.
4. Для количественного и качественного определения клотримазола и кетоконазола в гелевых препаратах модифицирован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием внешнего стандарта. В качестве внешнего стандарта предложено использовать субстанцию клотримазола (НД 42-9851-99) и субстанцию кетоконазола (НД 42-10696-00).
5. С учетом физико-химических свойств лекарственных веществ подобраны условия хранения геля клотримазола 1% и геля кетоконазола 2% (температура хранения не выше 15°C). На основании результатов физико-химических и микробиологических исследований опытных образцов разработанных нами препаратов в процессе хранения при выбранных условиях, установлены сроки годности для геля клотримазола 1% и геля кетоконазола 2% 2 года.
6. При исследовании биологической активности разработанных нами препаратов *in vitro* установлено, что гель клотримазола 1% и гель кетоконазола 2% обладают сильновыраженным анимикробным действием в отношении *Candida albicans* и *Staphylococcus aureus*. При сравнении биологической активности геля клотримазола 1% и Клотримазол крем 1%, а также геля кетоконазола 2% и Низорал крем 2% установлено, что разработанные нами гели обладают наиболее сильной антимикробной активностью, чем соответствующие препараты-аналоги.

7. В опытах на животных определено, что гель клотримазола и гель кетоконазола не обладают токсичным, местнораздражающим и аллергенным действием. При сравнительной оценке токсичности геля клотримазола 1% и Клотримазол крем 1%, а также геля кетоконазола 2% и Низорал крем 2% установлено, что разработанные нами гели и соответствующие им препараты-аналоги биоэквивалентны.

8. Разработаны проект ФСП «Клотримазол гель для наружного применения 1%» - представлен в Фармакологический комитет (письмо ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» от 25.08.04), проект ФСП «Кетоконазол гель для наружного применения 2%» - представлен в Фармакологический комитет, письмо ФГУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» от 25.08.04), лабораторный регламент на производство геля клотримазола 1% ЛРО5768527-08-2004 утвержден 18.08.2004 г ОАО «Фармакон», лабораторный регламент на производство геля кетоконазола 2% ЛРО5768527-09-2004 утвержден 18.08.2004 г. ОАО «Фармакон».

Список опубликованных работ

1. Папазова Н.А., Абрамович Р.А., Елагина И.А. Доклиническое изучение безопасности гидрогелей с кетоконазолом и клотримазолом // Клинические исследования лекарственных средств: Тезисы международной конференции - М., 2003 г - с.136-137.
2. Папазова Н.А., Горбунова Н.А., Абрамович Р.А. Определение биологической активности гидрогелевых препаратов кетоконазола и клотримазола // Антибиотики и химиотерапия. - 2004 г - № 2 - т.49 - с.8-10.
3. Папазова Н.А., Габитов В.Ф., Абрамович Р.А. Стандартизация новых противогрибковых гидрогелей // Фармация - 2004 г - № 4 - с.32-34.
4. Алексеев К.В., Абрамович Р.А., Папазова Н.А. Изучение аллергенности геля клотримазола и геля кетоконазола // Клинические исследования лекарственных средств: Тезисы международной конференции - М., 2004 г - с.3-4.

Папазова Наталья Александровна (Россия)

Разработка составов и технологии геля клотримазола и геля кетоконазола.

Впервые научно обоснованы и разработаны составы и технология противогрибковых препаратов - геля клотримазола и геля кетоконазола. На основании физико-химических свойств клотримазола и кетоконазола, а также реологических свойств гелевых систем редкосшитого акрилового Карбопола NF 974P подобраны оптимальные концентрации ингредиентов гелей.

Изучена стабильность препаратов в зависимости от температуры хранения.

Изучена биологическая активность и безвредность препаратов в сравнении с препаратами-аналогами (клотримазол крем 1% и кетоконазол крем 2%). Наибольшая противогрибковая активность обнаружена в гелях. Установлена безопасность препаратов и отсутствие аллергизирующих свойств.

Papazova Natalya (Russia)

Gel of Clotrimazole and Gel of Ketokonazole: Composition and Technological Process

Composition and technological process of gel Clotrimazole and gel Ketokonazole have been originally developed to treat mycoses. Optimal concentrations of components have been selected based on compounds of physical and chemical properties of Clotrimazole and Ketokonazole as well as Theological properties of gels based on Carbopol NF 974P.

Stability of gels has been tested. It depends on the temperature of storage.

Biological potency and safety of gels have been tested versus analogous medicines (Clotrimazole cream 1% and Ketokonazole cream 2%). The gels have the most biological potency and inoperative toxic and allergic effects.

Подписано к печати 21.09.2004 г. Заказ № 813. Тираж 100 экз.

ООО «Автограф Люкс» 196084, г. Санкт-Петербург, Лиговский пр., д.270.
т.380-33-98

№ 18034

РНБ Русский фонд

2005-4

14190