

На правах рукописи

Бариев Эдуард Альфитович

**РАЗРАБОТКА СОСТАВА И ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА
ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НАЛОКСОНА ГИДРОХЛОРИДА В ВИДЕ
СПРЕЯ**

14.04.01 – технология получения лекарств

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Москва – 2018

Диссертационная работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Научный руководитель:

кандидат фармацевтических наук

Бардаков Александр Иванович

Официальные оппоненты:

Алексеев Константин Викторович – доктор фармацевтических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва, заместитель директора по инновационной деятельности, главный научный сотрудник лаборатории готовых лекарственных форм

Пантюхин Андрей Валерьевич – доктор фармацевтических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Смоленск, кафедра фармацевтической химии и фармакогнозии с курсом фармации ДПО, доцент кафедры

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Воронеж

Защита диссертации состоится «___» _____ 2018 г. в ___ часов на заседании диссертационного совета Д.208.040.09 при ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) по адресу: 119019, г. Москва, Никитский бульвар, д. 13.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бул., д. 37/1 и на сайте организации <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2018 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета Д208.040.09
доктор фармацевтических наук,
профессор

Демина Наталья Борисовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Наркомания является серьезной медико-социальной проблемой, имеющей широкое распространение и приводящая к тяжелым последствиям. Одним из таких последствий является интоксикация наркотическими веществами, чаще всего приводящая к летальному исходу. На сегодняшний день задача эффективной неотложной помощи при интоксикациях наркотическими веществами стоит достаточно остро. По данным Всемирной организации здравоохранения число лиц, страдающих опиоидной зависимостью, в мире составляет примерно 15 миллионов человек. В России по сообщению экс-главы Федеральной службы Российской Федерации по контролю за оборотом наркотиков В.П. Иванова ежегодно от передозировки наркотическими веществами умирают 70 тысяч человек, а наркозависимыми становятся 86 тысяч россиян. Средний возраст подростка, начинающего употреблять наркотики, - от 15 до 17 лет и постепенно сдвигается в сторону омоложения.

Основная доля наркотических веществ, приводящих к интоксикациям и, как следствие, к летальному исходу наркозависимых, относится к опиоидам. Данная группа наркотических веществ вызывает быстрое привыкание. Наиболее быстро зависимость развивается при употреблении героина – уже после 3-5-го применения. Лечение тяжёлых форм наркомании (пристрастие к героину) в большинстве случаев не приводит к успеху, что объясняет частые случаи интоксикации у героиновых наркоманов.

В клинической наркологии и токсикологии в качестве антидота при тяжелой интоксикации опиоидами широко используется налоксон – антагонист опиоидных рецепторов. В настоящее время налоксон применяется в форме инъекционного раствора для внутривенного и внутримышечного введения. При инъекционном применении налоксон устраняет действие как эндогенных опиоидных пептидов, так и экзогенных опиоидных анальгетиков; при этом налоксон снимает симптомы угнетения дыхания, уменьшает седативное и эйфоризирующее действие, ослабляет гипотензивный эффект, вызванные применением героина и других опиатов.

При необходимости оказания быстрой доврачебной неотложной помощи при острой интоксикации опиоидами инъекционный способ введения налоксона не всегда доступен и технически сложен, кроме того связан с высоким риском ВИЧ-

инфицирования медицинских работников. Пероральное применение налоксона малоперспективно, ввиду его низкой биодоступности.

Актуальной проблемой является разработка лекарственной формы, содержащей в качестве действующего вещества налоксон, обладающей системным действием при введении ее не парентеральным путем. Одним из подходящих путей введения лекарственного средства, способным вызвать системное действие является интраназальное применение. Данный путь введения технически прост и лишен рисков, возникающих при парентеральном пути введения. В связи с этим, перспективным становится разработка состава и технологии производства назальной лекарственной формы налоксона.

Степень разработки темы исследования

До проведения настоящих исследований работа по созданию интраназального препарата налоксона гидрохлорида в отечественной практике не проводилась.

На фармацевтическом рынке представлено незначительное количество лекарственных средств с интраназальным путем введения, обладающих системным действием. Данные лекарственные средства применяются при вакцинопрофилактике, лечение мигрени, заместительной гормонотерапии. Несмотря на простоту введения данных лекарственных форм, лишь небольшое количество активных фармацевтических субстанций было включено в их состав. Как следствие этого – недостаточно систематизированы критерии включения фармацевтических субстанций в назальные лекарственные формы.

Цель и задачи исследования

Целью диссертационной работы является проведение комплекса исследований по разработке состава и технологии производства лекарственной формы налоксона гидрохлорида в виде назального спрея.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Обосновать возможность получения лекарственной формы с интраназальным путем введения – назального спрея налоксона;
2. Обосновать выбор вспомогательных веществ с учётом их физико-химических характеристик и разработать состав налоксона спрея назального;
3. Разработать технологию получения назального спрея налоксона;
4. Обосновать выбор упаковки лекарственной формы;

5. Разработать методики анализа и исследовать показатели качества разработанной лекарственной формы налоксона спрея назального;
6. Разработать нормативную документацию на лекарственную форму налоксона спрея назального (лабораторный регламент на производство, проект нормативной документации на препарат).

Научная новизна

С использованием экспериментальных методов впервые разработан и научно обоснован состав лекарственной формы налоксона гидрохлорида в виде назального спрея. Подобраны вспомогательные вещества, обеспечивающие наиболее полное высвобождение налоксона гидрохлорида из лекарственной формы *invitro*. Исследованы физико-химические свойства разработанного состава налоксона спрея назального и по полученным результатам подобрана упаковка для готовой лекарственной формы.

Разработана технологическая схема производства налоксона спрея назального. Согласно требованиям GMP выявлены и оценены все критические точки технологического процесса.

Invitro изучено высвобождение налоксона гидрохлорида из разработанной лекарственной формы – назального спрея, что позволит в дальнейшем получить примерную модель высвобождения налоксона гидрохлорида *invivo*. На основании проведенных исследований определено содержание фармацевтической субстанции налоксона гидрохлорида в одной дозе назального спрея. Разработана методика определения микробиологической чистоты и эффективности антимикробного действия консервантов в составе назального спрея налоксона гидрохлорида. Оценена стабильность назального спрея налоксона и определен его срок годности.

Приоритет исследований подтверждает патент на изобретение «Фармацевтическая композиция в виде назального спрея на основе налоксона гидрохлорида и способ ее получения» (№ 2572217 от 21.10.2013 года).

Теоретическая значимость исследования

Произведена оценка литературных данных, касающихся применения налоксона для купирования симптомов передозировки опиоидами. Определены подходы к выбору пути введения налоксона гидрохлорида и технологии получения спреев назальных, оказывающих системное действие. Определены подходы к выбору упаковки для назальных спреев.

Практическая значимость исследования

На основании проведенных исследований разработаны:

- Состав назального спрея налоксона гидрохлорида (НД на «Налоксон спрей назальный»);
- Методики анализа лекарственной формы налоксона (отчеты о валидации аналитических методик);
- Технология получения лекарственного препарата «Налоксон спрей назальный» (лабораторный регламент на производство, апробирован на опытно-промышленном производстве ОАО «Мосхимфармпрепараты» имени Н.А. Семашко», подтверждено актом о внедрении от 14.11.2016 года).

Основные положения, выносимые на защиту:

- Результаты исследования физико-химических свойств и показателей качества модельных растворов налоксона гидрохлорида;
- Результаты исследований по разработке, обоснованию состава и технологии получения назального спрея налоксона;
- Результаты изучения профилей высвобождения назального спрея Налоксона гидрохлорида;
- Результаты изучения микробиологической чистоты и эффективности антимикробного действия вспомогательных веществ в составе назального спрея налоксона;
- Результаты разработки методик анализа лекарственной формы.

Методология и методы исследования

Методологическую основу исследования составили труды российских и украинских ученых в области разработки научных основ получения лекарственных форм в виде аэрозолей – Ляпунова Н.А., Мизиной П.Г., Рудаковой И.П., Павлова В.М., Митькиной Л.И. и др. В работе использованы методы фармакопейного анализа, включенные в Государственную Фармакопею РФ XIII издания. Также были учтены требования и рекомендации, представленные в руководствах под редакцией В.В. Береговых: «Валидация аналитических методик для производителей лекарств», Н.В. Юргеля и др.: «Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств», С.Н. Быковского и др.: «Руководство по инструментальным методам исследований при разработке и экспертизе качества лекарственных препаратов».

При проведении исследования использованы:

- метод создания и редактирования документов, объектно-документальный анализ, патентный поиск;

- химико-фармацевтические методы: потенциометрия, УФ-спектрофотометрия, высокоэффективная жидкостная хроматография, газовая хроматография, ротационная вискозиметрия;
- фармакопейные методы анализа лекарственных форм;
- статистические методы анализа и обработки результатов, полученных в ходе экспериментальной работы.

Достоверность научных положений и выводов

При проведении экспериментальной работы использовано сертифицированное современное оборудование, методом статистической обработки установлена воспроизводимость и правильность результатов исследований, что позволяет считать их достоверными.

Апробация результатов исследования

Материалы научных исследований по теме диссертации были представлены на IV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» Санкт-Петербург, 9-10 ноября 2016 года и на I Международной научно-практической конференции «Современная медицина: Традиции и инновации» Ставрополь, 30 ноября 2016 г. Работа прошла апробацию на кафедре фармацевтической технологии образовательного департамента Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (29 марта 2017 года, г. Москва).

Личный вклад автора

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от постановки задач и их реализации до обсуждения результатов в научных публикациях. Диссертантом проведены исследования технологических характеристик модельных смесей; определены технологические показатели качества назального спрея; проведена обработка результатов при обосновании состава лекарственной формы. Разработан состав и технология производства назального спрея. Определены показатели качества лекарственной формы.

Внедрение результатов исследования

Научно-практические результаты исследования внедрены в работу ОАО «Мосхимфармпрепараты» им. Н.А. Семашко», лабораторный регламент на производство назального спрея и НД апробированы на опытно-промышленном производстве в ОАО «Мосхимфармпрепараты» им. Н.А. Семашко» (акт о внедрении

от 14.11.2016 года). Результаты работы внедрены в учебный процесс на кафедре фармацевтической технологии образовательного департамента Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (акт № 09/2017 от 01.09.2017 года).

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертация соответствует формуле специальности 14.04.01 – технология получения лекарств. Результаты проведенного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пунктам 3 и 4 паспорта специальности технология получения лекарств.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтической науки

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планами научно-исследовательских работ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России и является фрагментом исследования по теме «Развитие научных и научно-методических основ, базовых и инновационных подходов при разработке, внедрении и применении лекарственных средств» (номер государственной регистрации 01201261653).

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 189 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (материалы и методы, результаты исследований и их обсуждение), выводов, списка литературы, а также Приложения. Работа иллюстрирована 43 таблицами и 18 рисунками. Библиографический указатель включает 142 источника, из них 114 на иностранных языках.

Публикации

Материалы диссертации опубликованы в 9 научных работах, из которых 3 являются статьями в журналах, включенных в перечень ведущих периодических изданий ВАК РФ, получен патент на изобретение № 2572217 от 21.10.2013 года.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследований

Объектом исследования являлась субстанция налоксона гидрохлорида (ЛСР-004169/08-300508, НД 42-14673-07 производитель «АспенОсс Б.В.», Нидерланды). При разработке состава и технологии назального спрея налоксона использовали следующие вспомогательные вещества, разрешенные к медицинскому применению и

отвечающие требованиям соответствующей нормативной документации: пропиленгликоль (JLC-ChemieHandelsGmbH, Германия), диметилсульфоксид (TorayFineChemicals, Китай), N-метилпирролидон Pharmasolve® (ISP, США), полиэтиленгликоль 400 (Макрогол 400®, Merck, Германия), полоксамер 407 (Kolliphor® P 407, BASF, Германия), кислота лимонная моногидрат (Merck, Германия).

Физико – химические характеристики и показатели качества модельных растворов налоксона гидрохлорида – pH, вязкость, плотность раствора определяли по стандартным методикам, описанным в ГФ XIII, при помощи pH-метра «Metrohm 827 lab» (Швейцария) со стеклянным электродом, вискозиметра Убеллоде и пикнометра. Определение поверхностного и натяжения проводили на границе жидкость/воздух по методу наибольшего давления пузырька на приборе Ребиндера, определение межфазного натяжения – сталагмометрически на границе водных растворов и вазелинового масла: по массе и объёму капли.

Для изучения кинетики адсорбции воды растворами использовали метод равновесного диализа через полупроницаемую мембрану (целлофан (ГОСТ 7730-89)).

Микробиологическую чистоту и эффективность антимикробного консервирующего действия определяли согласно методикам ГФ XIII. Испытания модельных растворов налоксона гидрохлорида на микробиологическую чистоту проводили согласно ОФС 1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота» категория 2. Для разработки и проверки пригодности методики использовали следующие штаммы тест-микроорганизмов: *Bacillus cereus* ATCC10702, *Escherichia coli* ATCC25922, *Salmonella typhimurium* 55, *Staphylococcus aureus* ATCC6538-P, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027, *Candida albicans* NCTC885-653, *Aspergillus niger* ATCC16404.

Для проведения испытаний эффективности антимикробного действия консерванта в составе препарата налоксон спрей назальный использовали следующее оборудование: термостат суховоздушный с охлаждением ТСО-1/80 СПУ от +5°C до +60°C; $\Delta = \pm 1,5^\circ\text{C}$ (хранение инокулированных образцов, инкубация питательных сред для выращивания грибов); термостат суховоздушный ТС-80М-2 от +28°C до +55°C; $\Delta = \pm 1,0^\circ\text{C}$ (инкубация питательных сред для выращивания бактерий); баня водяная L 32 до +150°C; $\Delta = \pm 0,8^\circ\text{C}$ (хранение расплавленных питательных сред при высевах двухслойным методом). В соответствии с требованиями ОФС 1.2.4.00011.15 «Определение эффективности антимикробных консервантов» в качестве питательных сред для подготовки рабочих культур тест – штамм бактерий и определения числа

бактерий использовали соево – казеиновый агар, для подготовки рабочих культур и определения общего числа грибов – сабуро-глюкозный агар.

Реологические исследования проводили в соответствии с требованиями ОФС 1.2.1.00015.15 «Вязкость» на ротационном вискозиметре с коаксиальными цилиндрами «Rheolab QC – AntonPaar» (Германия). Строили реограммы, отражающие зависимость касательного напряжения сдвига τ_r от градиента скорости сдвига D_r . По кривой текучести определяли тип течения системы, нижний, верхний и экстраполированный пределы текучести, кинетическую и динамическую вязкость.

Согласно требованиям современной нормативной документации, для лекарственного препарата налоксона гидрохлорида в форме назального спрея оценивали следующие показатели качества: определение подлинности и количественное определение налоксона гидрохлорида и пропиленгликоля методами ВЭЖХ и ГХ, посторонние примеси методом ВЭЖХ, определение высвобождения налоксона гидрохлорида и пропиленгликоля из модельных растворов методом диализа через полупроницаемую мембрану, определение содержания пропиленгликоля в диализате методом ГХ, определение осмоляльности раствора.

Для идентификации лекарственных веществ и количественного определения методом ВЭЖХ согласно ОФС 1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография» использовали хроматограф Shimadzu в следующей комплектации: насос LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат CTO-20AS, системный контролер CBM-20 ALITE; методом ГХ в соответствии с требованиями ОФС 1.2.1.2.0004.15 «Газовая хроматография» на хроматографе Shimadzu GC-2014 с FID-детектором, оснащенный авто-инжектором AOC-5000. Определение осмоляльности растворов проводили по снижению температуры их замерзания на миллиосмометре-криостате термоэлектрическом МТ-5 (ОАО НПП «Буревестник», Россия) в соответствии с требованиями ОФС 1.2.1.0003.15 «Осмоляльность».

Для препарата налоксона гидрохлорида в форме назального спрея в первичной упаковке проводили также следующие испытания: проверка упаковки на герметичность, проверка насоса дозатора, средняя масса дозы, определение массы доставляемой дозы, определение однородности массы доставляемой дозы, определение количества извлекаемых доз (ОФС 1.4.1.0002.15 «Аэрозоли и спреи»), а также определение распределения капель по размерам (ОФС 1.2.1.0008.15 «Определение распределения частиц по размеру методом лазерной дифракции света») на лазерном дифрактометре «Spraytec laser-diffraction system»

(«Malvern Instruments», Великобритания) и определение качества распыления по статическим отпечаткам факела распыления.

Валидацию аналитических методик количественного определения налоксона гидрохлорида и пропиленгликоля в лекарственной форме проводили по следующим показателям: специфичность, правильность, прецизионность (сходимость), линейность, диапазон применения.

Статистическую обработку данных проводили в программе MS Office Excel 2013. Для оценки различий средних использовали критерии на основе t–статистики Стьюдента.

Результаты исследований

На первом этапе исследования проводилось обоснование выбора пути введения лекарственной формы налоксона. Путь введения налоксона должен быть пригодным для оказания первой помощи немедицинским персоналом на уровне общественных организаций. Кроме того, разработанная лекарственная форма должна иметь больший срок годности, ввиду предоставления данной лекарственной формы семьям наркозависимых и внебольничным организациям. Также, учитывая ситуацию оказания первой помощи пострадавшему, необходимо, чтобы данная лекарственная форма налоксона быстро абсорбировалась и оказывала системное действие достаточное для устранения угнетения дыхания, вызванного передозировкой опиоидами. Для выбора и обоснования пути введения налоксона в разрабатываемой лекарственной форме, был проведен отбор, проходивший в три этапа: 1) оценка всех 112 путей введения лекарственных средств, приведенных в рекомендациях FDA. Для каждого из 112 возможных путей введения, рассматривали потенциальную применимость в качестве неинъекционного пути введения налоксона для оказания первой помощи при передозировке опиоидами лицами без медицинского образования; 2) оценка пригодности путей введения, выбранных путем первичного скрининга; 3) отбор путей введения, согласно критериям включения: а) Пригодность для проведения неотложной помощи при передозировке; б) Отсутствие риска возникновения осложнений при передозировке; и проведено сравнение отобранных путей введения с эталоном – инъекционным раствором налоксона. Таким образом, входе проведенного отбора, интраназальный путь введения был выбран, как удовлетворяющий всем требованиям, предъявляемым к разрабатываемой новой неинъекционной лекарственной форме налоксона.

На основании сравнительных фармакокинетических исследований установлено, что при интраназальном введении биодоступность налоксона в среднем составляет 30%, поэтому была выбрана концентрация лекарственного вещества в спрее 1,2% в пересчете на чистое вещество.

На следующем этапе проводили разработку состава интраназального спрея налоксона гидрохлорида. Для обеспечения хорошей смачиваемости слизистой оболочки, а также равномерного распределения раствора налоксона, в состав разрабатываемого раствора налоксона вводили полоксамер 407, обладающий мукоадгезивными свойствами. Для модельного раствора, содержащего 1% полоксамера 407 изучали поверхностно-активные свойства и сравнивали полученные результаты с водой очищенной, модельным раствором без добавления полоксамера 407 и 1% водным раствором полоксамера. Было показано, что для воды и водного раствора налоксона, не содержащего ПАВ, краевой угол смачивания гидрофобной поверхности превышает 90 °, работа когезии оказывается в несколько раз больше работы адгезии, что препятствует растеканию раствора налоксона по слизистой оболочке носа. В присутствии 1 % полоксамера 407 краевой угол смачивания уменьшается примерно до 70 °, значения работы когезии и работы адгезии становятся сопоставимы, вследствие чего значительно увеличивается коэффициент растекания. Таким образом, была показана целесообразность введения в состав лекарственной формы полоксамера 407 в концентрации 1%.

Затем изучали диализ налоксона из экспериментальных образцов с целью обоснования введения в состав лекарственной формы активаторов всасывания. Модельные составы представлены в табл. 1, а результаты эксперимента на рис. 1.

Таблица 1. Составы модельных растворов налоксона гидрохлорида

Наименование вещества	Номер образца					
	1	2	3	4	5	6
Налоксона гидрохлорид (в пересчете на 100 % безводное вещество)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Полиэтиленгликоль 400	20,0	15,0	5,0	10,0	10,0	10,0
Пропиленгликоль	—	5,0	15,0	10,0	10,0	10,0
N-метилпирролидон	—	—	—	—	5,0	—
Диметилсульфоксид	—	—	—	—	—	5,0
Полоксамер 407	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Кислота лимонная моногидрат	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Вода очищенная	до 100 г					

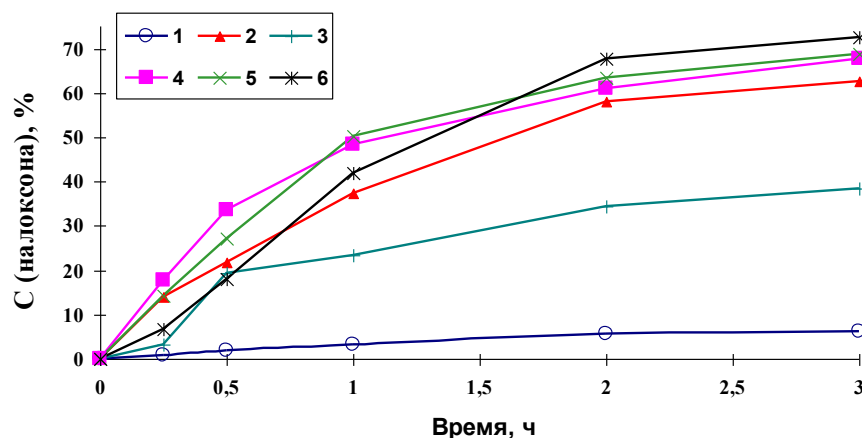


Рисунок 1. Кинетика диализа налоксона гидрохлорида через полупроницаемую мембрану при проведении теста высвобождения

Как видно из представленных данных, наименьшая скорость и степень диализа налоксона гидрохлорида наблюдается при содержании полиэтиленгликоля 400 (ПЭО 400) 20 %. Замена 5 % ПЭО 400 на 5 % пропиленгликоля приводит к резкому увеличению скорости диализа налоксона гидрохлорида, о которой можно судить по углу наклона начального участка кривой к оси абсцисс, и степени его диализа в течение 3 часов с 6,24 % до 62,60%. Замена 10 % ПЭО 400 на 10 % пропиленгликоль приводит к дальнейшему повышению скорости диализа налоксона гидрохлорида и степени его высвобождения до 67,66 %. При увеличении содержания пропиленгликоля до 15 % резко уменьшается скорость диализа налоксона гидрохлорида и снижается степень его высвобождения с 67,77 % до 38,47 %. При дополнительном введении в состав препарата 5% N-метилпирролидона скорость диализа налоксона гидрохлорида в первые 30 мин несколько уменьшается, а степень его диализа остается примерно на том же уровне 68,88 %. Дополнительное введение 5 % диметилсульфоксида уменьшило в первый час исследования скорость диализа налоксона гидрохлорида и мало повлияло на степень его диализа. Таким образом, результаты исследований свидетельствуют, что оптимальными концентрациями ПЭО 400 и пропиленгликоля является 10%, которые обеспечивают максимальные скорость и степень диализа.

Затем изучали степень проникновения ПЭО 400 и пропиленгликоля через полупроницаемую мембрану методом газовой хроматографии. Показано, что ПЭО 400 не проникает через полупроницаемую мембрану и в диализате не обнаруживается. Пропиленгликоль быстро переходит из раствора в камеру с водой: 0,25 ч – 13,54 %, 0,5

ч – 23,78 %, 1,0 ч – 33,25 %, 2,0 ч – 51,62 %, 3,0 ч – 70,65 %. Затем диализ пропиленгликоля замедляется; через 4 часа переходит в раствор 72,15 %.

Одними из значимых характеристик назальных препаратов являются осмотические свойства. На рис. 2 представлена кинетика увеличения массы (m) камеры с растворами (кинетика абсорбции воды растворами) при разных концентрациях гидрофильных компонентов лекарственной формы пропиленгликоля и ПЭО 400, взятых в равных массовых соотношениях 1:1.

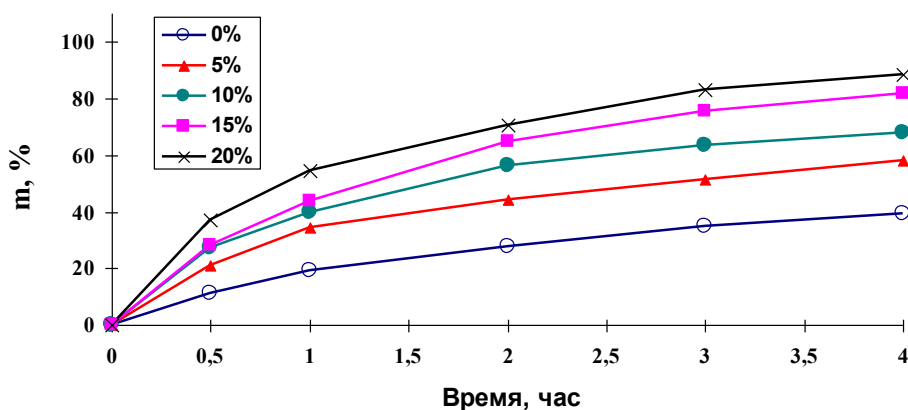


Рисунок 2 Кинетика адсорбции воды модельными растворами, содержащими разные концентрации смеси гидрофильных растворителей пропиленгликоля и ПЭО.

Препарат, не содержащий пропиленгликоля и ПЭО 400, обладает определенной осмотической активностью и абсорбирует воду во времени, что связано с наличием полуксамера 407 и налоксона гидрохлорида. Через 3 часа эксперимента раствор с 5 % смеси пропиленгликоля и ПЭО 400 абсорбирует на 16,5 % больше воды, чем раствор без этих гидрофильных растворителей; добавление еще 5 % смеси растворителей увеличивает абсорбцию еще на 12,4 %, добавление еще 5 % – на 11,8 % и еще 5 % – на 7,6 %. При наличии смеси пропиленгликоля и ПЭО 400 в концентрации 20 % препарат абсорбирует в течение 3 часов около 83 % воды, то есть обладает достаточно умеренной осмотической активностью, чтобы не оказывать выраженного дегидратирующего действия на слизистую оболочку полости носа. Кроме того, слизистую оболочку будет предохранять от избыточного пересушивания комбинированное применение непроникающего ПЭО 400 и проникающего пропиленгликоля, который связывает внутриклеточную воду.

Следующим этапом разработки состава назального спрея налоксона стало обоснование выбора регулятора величины pH. Значимым фактором для химической стабилизации налоксона гидрохлорида в препарате является pH среды. Диапазон pH

раствора должен составлять от 3,0 до 4,0, в соответствии с требованиями USP 38, BPh, а также НД 42-10711-05 (Налоксона гидрохлорид).

В качестве регулятора величины pH использовали кислоту лимонную моногидрат. Было показано, что с увеличением содержания кислоты лимонной моногидрата pH препарата понижается. При концентрации лимонной кислоты моногидрата 0,01 % pH находится на верхнем пределе около 4,0, а при 0,03 % – на нижнем пределе около 3,0. Оптимальную величину $pH \approx 3,5$ обеспечивает 0,02 % кислоты лимонной моногидрата.

В таблице 2 представлен состав разработанной лекарственной формы налоксона.

Таблица 2. Состав лекарственной формы налоксона гидрохлорида

Компоненты	Количество (г) на 100,0 г раствора
Налоксона гидрохлорид	1,2
Пропиленгликоль	10,0
Макрогол (ПЭГ) 400	10,0
Полоксамер 407	1,0
Кислота лимонная	0,02
Воды очищенной	до 100,0

Далее обосновывали эффективность консервирующего антимикробного действия вспомогательных веществ лекарственного препарата без введения дополнительного консерванта, результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3. Эффективность антимикробного консервирующего действия в препарате Налоксон спрей назальный

Экспозиция	Требования ГФ XIII (категория 2)		Число микроорганизмов, КОЕ/г (log снижения)				
	Число бактерий КОЕ/г, log снижения	Число грибов КОЕ/г, log снижения	<i>S. aureus</i> ATCC C 6538-R	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> NCTC 885-653	<i>A. niger</i> ATCC 16404
Исходная нагрузка	$1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$	$1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$	$1,17 \times 10^5$	$9,05 \times 10^5$	$8,50 \times 10^5$	$1,05 \times 10^5$	$5,45 \times 10^5$

Экспозиция	Требования ГФ XIII (категория 2)		Число микроорганизмов, КОЕ/г (log снижения)				
	Число бактерий КОЕ/г, log снижения	Число грибов КОЕ/г, log снижения	<i>S. aureus</i> ATC С 6538- Р	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>C. albicans</i> NCTC 885- 653	<i>A. niger</i> ATCC 16404
Исходный высев	—	—	9,65×10 ⁵ (0,08)	8,35×10 ⁵ (0,03)	9,15×10 ⁴ (0,97)	7,40×10 ⁴ (0,15)	5,40×10 ⁵ (0,004)
2 сут	—	—	НО	НО	НО	НО	4,35×10 ⁵ (0,10)
7 сут	—	—	НО	НО	НО	НО	3,75×10 ⁵ (0,16)
14 сут	2	НУ	НО	НО	НО	НО	2,90×10 ⁵ (0,27)
28 сут	НУ	НУ	НО	НО	НО	НО	2,10×10 ⁵ (0,41)

НО – жизнеспособные клетки тест-микроорганизмов не обнаружены (менее 5 КОЕ/г для *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans* и менее 10 КОЕ/г для *A. niger*);

НУ – число жизнеспособных клеток тест-микроорганизмов не увеличивается.

В ходе проведенного исследования было показано, что вспомогательные вещества в препарате налоксон спрей назальный обладают высокой эффективностью антимикробного консервирующего действия в отношении бактерий и дрожжеподобных грибов, так как через 28 суток после инокуляции не наблюдалось увеличения числа жизнеспособных клеток *A. niger* по сравнению с исходной нагрузкой. Однако антимикробное консервирующее действие в отношении *A. niger* оказывается менее эффективным, поскольку логарифм снижения числа жизнеспособных клеток *A. niger* через 14 и 28 суток составил всего 0,27 и 0,41 соответственно. Надлежащая эффективность антимикробного консервирующего действия позволяет сохранять препарату налоксон спрей назальный требуемую микробиологическую чистоту как после изготовления, так и при хранении в течение срока годности.

Для оптимизации процессов производства необходимо было дополнительно изучить физические свойства лекарственного препарата, такие как плотность, вязкость и реологические характеристики. Плотность раствора налоксона гидрохлорида при температуре 20°C составляет около 1,028 г/см³. В ходе эксперимента было показано,

что колебания температуры в пределах от 15°C до 25°C несущественно влияют на точность дозирования препарата в баллоны; отклонения от массы дозы входит в установленные пределы и не превышает массы одной дозы. Реологические свойства раствора влияют на процесс дозирования. Если модельный раствор налоксона по типу течения близок к неньютоновским жидкостям, то возможно возникновение отклонений при наполнении баллонов. Тип течения препарата близок к типу ньютоновской жидкости, однако это пластический тип течения, характеризующийся следующими пределами текучести: нижний предел текучести 0,15 Па; экстраполированный предел текучести 0,24 Па; верхний предел текучести 2,05 Па. Также было показано, что раствор налоксона имеет низкую кинематическую ($3,28-2,03 \text{ мм}^2 \cdot \text{с}^{-1}$) и динамическую вязкость ($3,39-2,08 \text{ мПа} \cdot \text{с}$) и сохраняет жидкую консистенцию в интервалах температур от 15°C до 30°C, значимых при ведении технологического процесса.

Следующим этапом исследований являлось обоснование упаковки для разрабатываемой лекарственной формы. В экспериментальных исследованиях использовали следующие насосы-дозаторы и насадки-распылители: дозирующие насосы типа 20 MSP 6/50, снабженные насадкой-распылителем для назального впрыскивания с защитным колпачком типа V04.1450 + V16.83 производства фирмы «Coster Technologie Speciali S.p.a.» (Италия); дозирующие насосы типа SP270/J/S/20mm/ARGT/D50/ BD50I/BD50/TR100, снабженные насадкой-распылителем для назального впрыскивания с защитным колпачком типа EMBTPPE/NASALBI.AB3959/ BLC/CAP 792 производства фирмы «Rexam Dispensing Systems» (Швейцария). Препарат дозировали по 10,0 г в баллоны алюминиевые моноблочные фирмы «Linhard GmbH & Co KG» (Германия) типа D 22.0 DDG – 28 (диаметром 22 мм и высотой 58 мм) с внутренним лаковым покрытием Gold tubalac E/P 716.050. Эти баллоны герметизировали указанными дозирующими насосами.

Выбранные виды упаковки сравнивали по следующим параметрам: масса доставляемой дозы, однородность масс доставляемых доз, количество извлекаемых доз – при первом использовании и после перерыва в 24 часа и 7 дней; исследование функционирования при смене температур; обоснование минимального наполнения; осаждение препарата на насадке-распылителе; определение распределения капель по размерам в аэрозольной струе; определение факела распыления. По результатам исследований нами обоснован выбор упаковки для налоксона спрея назального: баллоны алюминиевые моноблочные, герметизированные насосом-дозатором типа 20

MSP 6/50 и снабженные насадкой-распылителем с защитным колпачком типа V04.1450 + V16.83.

Следующим этапом была разработка методик показателей качества готовой лекарственной формы. В основу были взяты методики общих фармакопейных статей, адаптированные применительно к разработанному препарату. Предложены методики идентификации и количественного определения налоксона гидрохлорида в лекарственном препарате методами ВЭЖХ и УФ-спектрофотометрии, методика определения пропиленгликоля методом газожидкостной хроматографии, определение посторонних примесей методом ВЭЖХ. Все разработанные методики были валидированы в соответствии с действующими требованиями нормативной документации по следующим валидационным характеристикам: специфичность; правильность; прецизионность (сходимость); линейность; диапазон применения.

Далее проводили исследование стабильности назального спрея налоксона в процессе хранения. На хранение закладывались три серии препарата. Контролировали следующие показатели качества, представленные в таблице 4, с периодичностью 3 месяца. Лекарственный препарат стабилен в течение 27 месяцев, что согласно ОФС 1.1.0009.15 «Сроки годности лекарственных средств», позволяет сделать заключение о сроке годности 2 года.

Технологическая схема производства препарата Налоксон спрей назальный представлена на рисунке 4.

Таблица 4. –Показатели и нормы качества препарата Налоксон спрей назальный

Показатель	Метод	Нормы
Описание	Визуальный	Прозрачная бесцветная жидкость, которая находится в аэрозольном баллоне, герметизированном насосом-дозатором, укомплектованным насадкой-распылителем с защитным колпачком. Препарат выдается из баллона через насадку-распылитель в виде аэрозольной струи, представляющей собой диспергированные в газовой среде жидкие частицы
Подлинность Налоксона гидрохлорид	ВЭЖХ ОФС 1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография»	На хроматограммах испытуемого раствора, полученных в разделе «Количественное определение. Налоксона гидрохлорид», должен обнаруживаться пик, время удерживания которого совпадает со временем удерживания пика налоксона на

Показатель	Метод	Нормы
Пропиленгликоль	УФ-спектрофотометрия ОФС 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» Качественная реакция на хлориды ОФС 1.2.2.2.0009.15 «Хлориды» ГХ ОФС 1.2.1.2.0004.15 «Газовая хроматография»	хроматограммах раствора сравнения с точностью $\pm 2\%$ На УФ-спектре испытуемого раствора препарата должен быть максимум оптического поглощения при длине волны (281 ± 2) нм 2 мл препарата должны давать качественную реакцию на хлориды На хроматограммах испытуемого раствора, полученных в разделе «Количественное определение. Пропиленгликоль», должен обнаруживаться пик, относительное время удерживания которого (относительно внутреннего стандарта) должно совпадать с относительным временем удерживания пика пропиленгликоля (относительно внутреннего стандарта) на хроматограммах раствора сравнения
рН	Потенциометрический ОФС 1.2.1.0004.15 «Ионометрия»	От 3,0 до 4,0
Прозрачность	ОФС 1.2.1.2.0007.15 «Прозрачность и степень мутности»	Препарат должен быть прозрачным
Цветность	ОФС 1.2.1.2.0006.15 «Степень окраски жидкостей»	Препарат должен быть бесцветным
Испытание упаковки: 1. Проверка упаковки на герметичность	Визуальный	Не должно быть мокрых пятен на фильтровальной бумаге
2. Проверка насоса-дозатора	Визуальный	Появление аэрозольной струи должно происходить после нажатия на насадку-распылитель не более чем 5 раз. Допускается при отсутствии струи нажать на насадку-распылитель еще один раз. В дальнейшем появление аэрозольной струи должно происходить после первого нажатия на насадку-распылитель
3. Средняя масса доставляемой дозы	Расчетно-весовой метод	От 0,0476 г до 0,0644 г

Показатель	Метод	Нормы
4. Однородность массы доставляемой дозы	Европейская фармакоп. Расчетно-весовой метод	При испытании на 9 баллонах индивидуальная масса доставляемой дозы только для двух баллонов может отклоняться от средней массы доставляемой дозы более чем на ($\pm 25\%$), но не более чем на ($\pm 35\%$)
5. Количество извлекаемых доз	Метод подсчета	Не менее 150
Микробиологическая чистота	ОФС 1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота»	В препарате допускается общее число жизнеспособных аэробных бактерий и грибов (суммарно) не более 10^2 в 1 мл. Допускается наличие энтеробактерий и других грамотрицательных бактерий не более 10^1 в 1 мл Не допускается наличие <i>Staphylococcus aureus</i> в 1 мл Не допускается наличие <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в 1 мл
Посторонние примеси Любая индивидуальная не идентифицированная примесь Сумма примесей	ВЭЖХ ОФС 1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография»	<i>При выпуске:</i> не более 0,5 %; <i>в течение срока хранения:</i> не более 1,0 % <i>При выпуске:</i> не более 1,0 %; <i>в течение срока хранения:</i> не более 2,5 %
Количественное определение		
Налоксона гидрохлорид ($C_{19}H_{22}ClNO_4$)	ВЭЖХ ОФС 1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография»	От 11,4 мг до 12,6 мг в 1 г препарата
Пропиленгликоль ($C_3H_8O_2$)	ОФС 1.2.1.2.0004.15 «Газовая хроматография»	От 95,0 мг до 105,0 мг в 1 г препарата
Упаковка	По 10 г в баллоны алюминиевые моноблочные с внутренней защитой, герметизированные насосом-дозатором, снабженные насадкой-распылителем с защитным колпачком. Каждый баллон вместе с насадкой-распылителем и защитным колпачком, а также инструкцией по медицинскому применению помещают в пачку из картона	
Маркировка	В соответствии с НД	
Хранение	При температуре от 15°C до 25°C. Не замораживать	

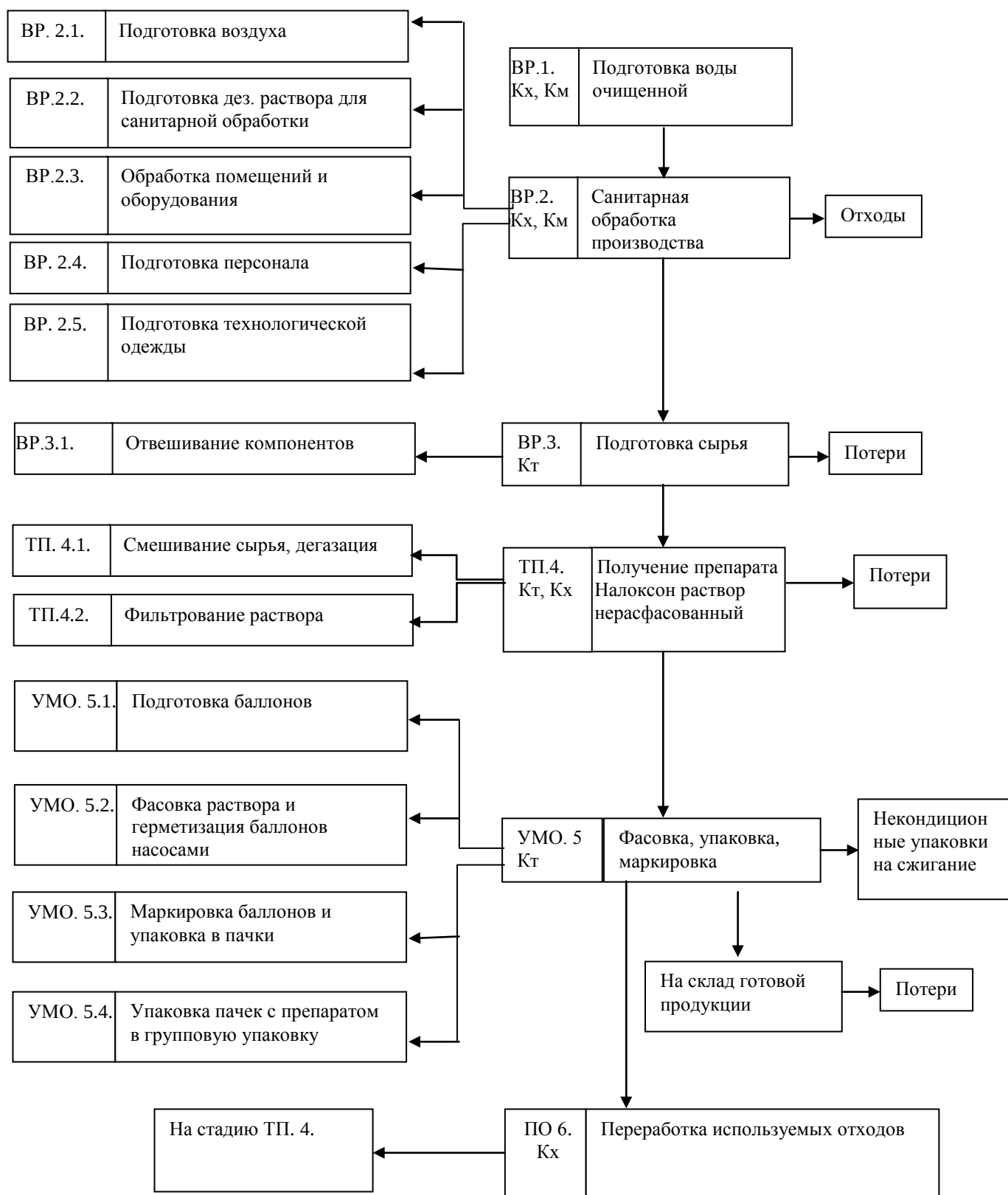


Рисунок.4. Технологическая схема получения лекарственного препарата налоксон спрей назальный

Общие выводы:

- 1) В результате анализа технологических свойств субстанций налоксона гидрохлорида обоснована возможность получения лекарственной формы с интраназальным путем введения – назального спрея налоксона.
- 2) Изучение научных публикаций и технической документации фирм-производителей вспомогательных веществ позволил выявить ассортимент вспомогательных веществ, перспективных для разработки лекарственной формы. На основе изучения физико-химических характеристик действующего и вспомогательных веществ разработан состав назального спрея налоксона, способного равномерно распределяться по слизистой оболочке, обладающего оптимальными осмотическими, реологическими и биофармацевтическими характеристиками.
- 3) Разработана технология получения лекарственной формы налоксона в виде спрея. Апробирование разработанной технологии в условиях опытного производства показало ее воспроизводимость.
- 4) Обоснован выбор упаковки спрея и установлен срок годности лекарственной формы, который составил 2 года.
- 5) Разработаны и валидированы методики анализа лекарственной формы, в том числе определение подлинности спрея налоксона методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, газовой хроматографии и УФ-спектрофотометрии, количественное определение налоксона методом высокоэффективной жидкостной хроматографии, пропиленгликоля – газовой хроматографией. Изучение показателей качества полученного спрея подтвердило, что он соответствует современным требованиям по всем фармакопейным показателям, установленным для данной лекарственной формы.
- 6) На основании результатов исследований разработаны нормативная документация и лабораторный регламент на производство лекарственной формы налоксона спрея назального.

Практические рекомендации

-Рекомендуется внедрение результатов работы в учебный процесс на кафедрах фармацевтической технологии фармацевтических факультетов.

- При производстве лекарственного препарата на фармацевтических предприятиях рекомендованные комплектующие (баллончики, насосы-дозаторы, насадки-распылители) могут быть заменены на комплектующие других производителей и марок при сохранении предложенной рецептуры назального спрея и проведения необходимых исследований стабильности препарата.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Проведение комплекса клинических исследований с целью дальнейшей государственной регистрации лекарственного препарата в Министерстве здравоохранения Российской Федерации.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Тимченко, О.В. Фармакокинетическое обоснование концентрации и дозы налоксона гидрохлорида при фармацевтической разработке препарата Налоксон, спрей назальный / Тимченко О.В., Безуглая Е.П., Орлова И.Н., **Бариев Э.А.** // Фармаком. - 2013. - №2. - С.30-33
2. Фармацевтическая композиция в виде назального спрея на основе налоксона гидрохлорида и способ её получения: пат. 2572217 Рос.Федерация: МПК 61К 31/485, 61К 47/00, 61К 9/12, 61Р 25/36 / **Бариев Э.А.** и др.; заявитель и патентообладатель Российская Федерация. - №2013146906/15; заявл. 21.10.2013; опубл. 27.12.2015, Бюл. №12
3. Ляпунов, Н.А. Микробиологическое изучение назального спрея, содержащего консервант пропиленгликоль / Ляпунов Н.А., Бардаков А.И., **Бариев Э.А.**, Безуглая Е.П., Дунай Е.В., Жемерова Е.Г. // **Фармация.** - 2014. - №8 - С. 16-19
4. **Бариев, Э.А.** Фармацевтическая разработка отечественного препарата «Налоксон спрей назальный» для оказания экстренной медицинской помощи в качестве антидота при остром отравлении (передозировке) опиоидами/ Бариев Э.А., Бубело В.Д., Ляпунов Н.А. // Успехи в химии и химической технологии. - 2015. - Т. 29. - №10. - С.113-114
5. Безуглая, Е.П. Состав и биофармацевтические свойства назального спрея системного действия / Безуглая Е.П., **Бариев Э.А.**, Ляпунов Н.А., Тимченко О.В., Бардаков А.И. // **Фармация.** - 2015. - №7. - С. 35-39
6. **Бариев, Э.А.** Валидация методики количественного определения спрея налоксона по показателям специфичность и линейность / Бариев Э.А., Бардаков А.И., Краснюк И.И. // IV Всероссийская научно–практическая конференция с международным участием «Инновации в здоровье нации». Санкт-Петербург, 9-10 ноября 2016 года. - С. 242-247
7. **Бариев Э.А.** // I Международная научно-практическая конференция «Современная медицина: традиции и инновации». Ставрополь, 30 ноября 2016 г. - С. 104-105

8. **Бариев, Э.А.** Обоснование неинъекционного пути введения налоксона / Бариев Э.А., Бардаков А.И., Ляпунов Н.А., Краснюк И.И. // **Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация.** - 2017. -№1. - С.133-137
9. **Бариев, Э.А.** Обоснование перспективности разработки интраназальной лекарственной формы налоксона для лечения передозировки опиоидами / Бариев Э.А., Ляпунов Н.А., Бардаков А.И. // Электронный научно-образовательный Вестник «Здоровье и образование в XXI веке». - 2017. - Т.19. -№3 - С. 9-10