

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені О. О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**АЛЕЙНИК СВІТЛАНА ЛЕОНІДІВНА**

УДК 615.454.2:615.014.22:579.864:618.15: 615.256.56

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**РОЗРОБКА СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ПЕСАРІЇВ З**  
**ПРОБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ**

226 «Фармація, промислова фармація»

22 «Охорона здоров'я»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_ С. Л. Алейник

Науковий керівник: Полова Жанна Миколаївна,

докторка фармацевтичних наук, професорка

Київ - 2023

## АНОТАЦІЯ

*Алейник С.Л.* Розробка складу та технології песаріїв з пробіотичною активністю. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація. Промислова фармація» (галузь знань 22 «Охорона здоров'я»). – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, Київ, 2023.

Дисертаційна робота присвячена теоретичному та експериментальному обґрунтуванню раціонального складу, розробці оптимальної технології та методів контролю якості (МКЯ) лікарського засобу (ЛЗ) з пробіотичною активністю у формі песаріїв для лікування та профілактики дисбіотичних станів жіночого урогенітального тракту.

*Перший розділ* дисертації присвячений огляду сучасних джерел літератури стосовно розповсюдженості бактеріального вагінозу (БВ) та вульвовагінального кандидозу (ВВК) як найпоширеніших патологій жіночого урогенітального тракту, що супроводжуються дисбіотичними процесами піхви на фоні різкого зниження або відсутності бактерій *Lactobacillus spp.* та появою і збільшенням патогенної й умовно-патогенної флори. Основними методами лікування даних патологій є використання антибактеріальних ЛЗ, що часто не призводить до очікуваного клінічного ефекту та спричиняє велику кількість рецидивів. Ефективним з позиції доказової медицини є застосування пробіотичних препаратів, зокрема лактобактерієвмісних, у лікуванні та профілактиці дисбіотичних процесів піхви. Пробіотичні властивості штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 зумовлені продуктами метаболізму та структурою пептидоглікану клітинної стінки, під впливом якої змінюються показники імунореактивності організму, їхньою антагоністичною дією відносно патогенних мікроорганізмів, що пов'язано із

синтезом молочної кислоти, перекису водню, бактеріоцинів, антибіотикоподібних речовин, а також із здатністю адгезуватися до клітин організму людини. Штам використовується для отримання ліофілізованої біомаси, яка є активним фармацевтичним інгредієнтом (АФІ) для одержання ЛЗ із імуномодулювальними та інтерферогенними властивостями. Для лікування та профілактики дисбіотичних процесів піхви необхідним є використання лікарської форми (ЛФ) для місцевого (вагінального) застосування, що дозволяє забезпечувати рівномірне вивільнення, розподіл та всмоктування АФІ у місці введення, володіти адгезивними властивостями для збільшення контакту із слизовою оболонкою піхви, забезпечувати точність дозування АФІ, бути зручною у використанні для пацієнта. Песарії з раціональним складом АФІ та допоміжних речовин є оптимальною ЛФ для вагінального застосування для досягнення терапевтичного або профілактичного ефекту. На фармацевтичному ринку України відсутні ЛЗ з пробіотичною активністю, що випускаються у формі песаріїв. Фармацевтична розробка нового живого біотерапевтичного лікарського засобу (ЖБЛЗ) з пробіотичним компонентом для вагінального застосування у формі песаріїв є актуальним завданням сучасної фармацевтичної галузі.

У другому розділі наведено загальну концепцію, окреслено методологію, алгоритм та етапи фармацевтичної розробки ЖБЛЗ у формі песаріїв. Визначено та охарактеризовано властивості об'єктів дослідження: субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 та допоміжних речовин, що використовувались при розробці ЖБЛЗ у формі песаріїв. Наведено комплекс органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, біологічних, мікробіологічних, фармакологічних досліджень та їх методики, застосування яких дало змогу визначити оптимальний склад, розробити раціональну технологію та МКЯ нового ЖБЛЗ у формі песаріїв.

У третьому розділі дисертації наведено маркетингове дослідження асортименту фармацевтичного ринку ЛЗ для вагінального застосування з деталізацією сегменту пробіотичних препаратів. Песарії є домінуючою ЛФ

(46,2 %) на ринку вагінальних препаратів. Встановлено, що зареєстровано лише 3 торговельні найменування (ТН) ЛЗ, що містять штами мікроорганізмів в якості АФІ у формі вагінальних капсул та таблеток іноземного виробництва, проте відсутні ЛЗ з пробіотичною активністю у формі песаріїв.

За результати дослідження фізико-хімічних властивостей субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 визначено оптимальний спосіб введення АФІ в основу – у вигляді водного розчину з додаванням поверхнево-активної речовини (ПАР) з попереднім подрібненням до 0,5-1,0 мкм.

Розроблено склади модельних зразків песаріїв на гідрофобних, гідрофільних та дифільних основах. Основними критеріями вибору оптимального складу були: кількість живих лактобактерій у складі основи як після виготовлення, так і за умов зберігання зразків протягом 6 місяців у холодильнику (2-8°C) та при кімнатній температурі; відповідність показникам контролю якості: опис, однорідність, середня маса, розпадання, температура плавлення (для гідрофобних основ) та відсутність контамінації патогенними мікроорганізмами. На підставі органолептичних, фармако-технологічних та мікробіологічних досліджень обрано зразки з оптимальними параметрами на різних основах: гідрофобна основа (твердий жир, емульгатор, вода очищена), гідрофільна основа (поліетиленгліколь (ПЕГ) 400 і 1500, емульгатор, вода очищена), дифільна основа (твердий жир, ПЕГ 400, 1500, 4000, емульгатор, вода очищена).

Проведено дослідження із вибору оптимальної поверхнево-активної речовини (ПАР) та її концентрації у складі зразків песаріїв на різних основах. Визначено, що оптимальною ПАР є полісорбат-80, який доцільно використовувати у концентрації 5 % для зразків на гідрофобній основі, 2,5-3 % - на гідрофільній та дифільній основах.

На підставі комплексних результатів проведених досліджень розроблено та обґрунтовано оптимальний склад нового ЖБЛЗ у формі

песаріїв: субстанція *Lactobacillus casei* IMB B-7280, дифільна основа: твердий жир, ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000, полісорбат-80, вода очищена.

Розроблено раціональну технологію виробництва песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», встановлено основні критичні технологічні параметри виробництва: приготування гідрофільної фази: температура -  $(40\pm 2)$  °С, тривалість перемішування – 45 хвилин, швидкість перемішування – 50 обертів/хвилину; приготування супозиторної маси: температура -  $(40\pm 2)$  °С, тривалість перемішування – 30 хвилин, швидкість перемішування – 75 обертів/хвилину; дозування супозиторної маси –  $(40\pm 2)$  °С; охолодження песаріїв: температура –  $(10-12)$ °С, тривалість – 22-25 хвилин.

Розроблено та запропоновано технологічну блок-схему виробництва вагінального препарату у формі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін».

*Четвертий розділ* дисертаційної роботи присвячений теоретичній оцінці ризиків якості ЛЗ для вагінального застосування на етапі фармацевтичної розробки згідно концепції «Якість шляхом розробки». Побудовано діаграму Ішикави показників якості розроблених песаріїв.

Розроблено проєкт МКЯ на песарії під умовною назвою «Лактовагін». До специфікації увійшли наступні розділи: опис, однорідність, ідентифікація, середня маса, рН, розпадання, кількісне визначення, мікробіологічна чистота (МБЧ).

Розроблено методику визначення МБЧ песаріїв з *Lactobacillus casei* IMB B-7280. Розроблений препарат відповідає критеріям прийнятності: числу забруднювальних аеробних мікроорганізмів (АМСС), числу забруднювальних дріжджових та плісневих грибів (УМСС) та відсутністю *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans* для ЖБЛЗ для вагінального застосування.

Проведено дослідження стабільності розроблених песаріїв при двох температурних режимах за всіма показниками контролю якості. Експериментально встановлено термін придатності розробленого ЛЗ – 12

місяців при температурі 2-8°C, з можливим зберігання протягом 6 місяців при кімнатній температурі.

*П'ятий розділ* стосується обговорення результатів фармакологічних та біологічних досліджень песаріїв під умовною назвою «Лактовагін».

Дослідження специфічної (місцевої) дії песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» на мишах-самицях лінії BALB/c на моделі БВ (експериментальної стафілококової інфекції) продемонструвало, що розроблений ЛЗ ефективно пригнічує ріст стафілококів, стрептококів, грибів, коліморфних бактерій, нормалізує якісний та кількісний склад мікрофлори піхви в моделі *in vivo* у мишей. Розроблений ЛЗ за ефективністю не поступається препарату порівняння «Біоселак».

Результати дослідження біологічних властивостей штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі песаріїв: здатності до кислотоутворення, адгезивних властивостей, антагоністичної активності, чутливості до антибактеріальних та протигрибкових препаратів свідчать про високу здатність даного штаму до утворення молочної кислоти та зниження значення рН у вагінальному середовищі, про високу адгезивність даного штаму, що дає змогу забезпечувати високий ступінь адгезії при інтравагінальному введенні ЛЗ у формі песаріїв, про помірну антагоністичну активність відносно патогенних та умовно-патогенних штамів мікроорганізмів, що є допустимим для ЖБЛЗ, можливість застосування у комплексному лікуванні дисбіотичних порушень піхви одночасно з антибіотиками та антимікотиками, що є ефективним для досягнення терапевтичного ефекту та запобігання появи рецидивів.

На підставі отриманих результатів дослідження гострої токсичності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» доведено, що даний ЛЗ є відносно безпечним та нешкідливим.

За результатами проведених досліджень отримано патент України на корисну модель № 141286 «Супозиторії з пробіотичною активністю для вагінального застосування» від 25.03.2020 року.

Результати дисертаційної роботи впроваджено в навчальний процес кафедр технологічного спрямування фармацевтичних та медичних закладів вищої освіти України.

*Ключові слова:* бактеріальний вагіноз, вульвовагінальний кандидоз, лікарський засіб, лактобактерії, лікарська форма, песарії, фармацевтична розробка, склад, технологія, пробіотики, стабільність, місцеве застосування, антибактеріальна активність.

## ANNOTATION

*Aleinyk S.L.* Development of the composition and technology of pessaries with probiotic activity. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The thesis for the PhD degree in the specialty 226 «Pharmacy. Industrial pharmacy» (the field of knowledge 22 «Healthcare»). – O.O. Bogomolets National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Kyiv, 2022.

The dissertation is devoted to the theoretical and experimental substantiation of the rational composition, the development of optimal technology and quality control methods of new drug with probiotic activity in the form of pessaries for the treatment and prevention of dysbiotic conditions of the female urogenital tract.

The first chapter of the dissertation is regarded to the literature review about the prevalence of bacterial vaginosis (BV) and vulvovaginal candidiasis (VVC) as the most common pathologies of the female urogenital tract, which are accompanied by dysbiotic processes in vagina with significant decrease or absence of *Lactobacillus spp.* bacteria and the presence and increase of pathogens and opportunistic strains. The basic therapy of these pathologies includes the use of antibacterial drugs, which often do not cause the expected clinical effect and lead to a large number of recurrences. From the position of evidence-based medicine the use of probiotic preparations (especially containing lactobacilli) is effective in the treatment and prevention of dysbiotic processes of the vagina. The probiotic properties of the *Lactobacillus casei* IMB B-7280 strain consist in the products of metabolism and the peptidoglycan structure of the cell wall, which change the indicators of the body's immunoreactivity, their antagonistic action against pathogenic microorganisms, which is associated with the synthesis of lactic acid, hydrogen peroxide, bacteriocins, antibiotic-like substances and their ability to



adhere to the cells of the human body. This strain is used to obtain lyophilized biomass as an active pharmaceutical ingredient (API) for the preparation of drugs with immunomodulatory and interferonogenic properties. Use of a dosage form for local (vaginal) application is necessary for the treatment and prevention of vaginal dysbiotic processes. It allows to ensure uniform release, distribution and absorption of API at the administration zone, to have adhesive properties for increase contact with the vaginal mucosa, to ensure dosage accuracy of API, to be convenient in use for the patient. Pessaries with a rational composition of API and excipients are the optimal dosage form for vaginal use to achieve a therapeutic or prophylactic effect. There are no drugs with probiotic activity in the pharmaceutical market of Ukraine, which are produced in the form of pessaries. The pharmaceutical development of a new live biotherapeutic product (LBP) with a probiotic component for vaginal use in the form of pessaries is an actual task of the modern pharmaceutical industry.

The general concept, methodology, algorithm and stages of pharmaceutical development of LBP in the form of pessaries are described in the second chapter. The properties of the research objects substance *Lactobacillus casei* IMB B-7280 and excipients, which are used in the development of LBP in the form of pessaries, were determined and characterized. The complex of organoleptic, physico-chemical, pharmaco-technological, biological, microbiological, pharmacological researches and their methods are given, their application enable to determine the optimal composition, develop a rational technology and the quality control methods of the new LBP in the form of pessaries.

The marketing research of the assortment of the pharmaceutical market of drugs for vaginal use detailing the segment of probiotic drugs is described in the third chapter of the dissertation. Pessaries are the dominant dosage form (46,2 %) on the market of vaginal preparations. It was established that only 3 trade names of drugs containing strains of microorganisms as API in the form of foreign-made vaginal capsules and tablets are registered, but there are no drugs with probiotic activity in the form of pessaries.

According to the results of the study of the physico-chemical properties of the substance *Lactobacillus casei* IMB B-7280, the optimal method of introduction of API into the base was determined - in the form of an aqueous solution with the addition of surfactant with preliminary grinding to 0,5-1,0  $\mu\text{m}$ .

Compositions of pessaries model samples on hydrophobic, hydrophilic and diphilic bases have been developed. The main criteria for choosing the optimal composition were the number of live lactobacilli in the composition of the base both after production and under conditions of storage of samples for 6 months in a refrigerator (2-8°C) and at room temperature; meet the requirements of quality control indicators description, uniformity, average weight, disintegration, melting point (for hydrophobic bases) and absence of contamination by pathogenic microorganisms. Samples with optimal parameters due to the results of organoleptic, pharmaco-technological and microbiological researches were chosen on different bases: hydrophobic base (hard fat, emulsifier, purified water), hydrophilic base (polyethylene glycol (PEG) 400 and 1500, emulsifier, purified water), diphilic base (hard fat, PEG 400, 1500, 4000, emulsifier, purified water).

The research of optimal surface-active substance and its concentration choice in the composition of pessaries samples on different bases was conducted. It was determined that the optimal surfactant is polysorbate-80, which should be used in the concentration of 5 % for samples on a hydrophobic basis, 2,5-3 % - on hydrophilic and diphilic bases.

The optimal composition of the new LBP in the form of pessaries was developed and substantiated: *Lactobacillus casei* IMB B-7280 substance, diphilic base: hard fat, PEG-400, PEG-1500, PEG-4000, polysorbate-80, purified water due to the complex results of the conducted researches.

The rational technology for the production of pessaries with the conditional name «Lactovagin» has been developed, the main critical technological parameters of production have been established: preparation of the hydrophilic phase: temperature - (40 $\pm$ 2) °C, duration of mixing - 45 minutes, speed of mixing - 50 revolutions/minute; preparation of suppository mass: temperature - (40 $\pm$ 2) °C,

duration of mixing - 30 minutes, speed of mixing - 75 revolutions/minute; dosing of the suppository mass – (40±2) °C; cooling of pessaries: temperature – (10-12)°C, duration – 22-25 minutes.

The technological flowchart for the production of drug for vaginal use in the form of pessaries with the conventional name «Lactovagin» has been developed and proposed.

The fourth chapter of the dissertation is devoted to the theoretical assessment of the quality risks of drugs for vaginal use at the stage of pharmaceutical development according to the «Quality by Design» concept. The Ishikawa diagram of quality indicators of developed pessaries was constructed.

The quality control methods project on a pessary with the conventional name «Lactovagin» has been developed. The specification includes the following chapters: description, homogeneity, identification, average weight, pH, disintegration, quantitative determination, microbiological purity.

A method for determining the microbiological purity of pessaries with *Lactobacillus casei* IMB B-7280 has been developed. The developed drug meets acceptance criteria: aerobic microbial contamination count (AMCC), yeasts and moulds contamination count (YMCC) and the absence of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* for LBP for vaginal use.

The study of the stability of the developed pessaries at two temperature regimes was conducted according to all quality control indicators. The shelf life of the developed drug was experimentally established - 12 months at a temperature of 2-8°C, with possible storage for 6 months at room temperature.

The fifth chapter describes the discussion of the results of pharmacological and biological studies of pessaries with the conventional name «Lactovagin».

The study of the specific (local) effect of pessaries with the conventional name «Lactovagin» on female mice of the BALB/c line in the BV (experimental staphylococcal infection) model demonstrated that the developed drug effectively suppresses the growth of staphylococci, streptococci, fungi, and coliformic bacteria, normalizes qualitative and quantitative the composition of the vaginal

microflora in the *in vivo* model in mice. The developed drug is not worse in the effectiveness to the comparison drug «Bioselac».

The studies of the biological properties of the strain *Lactobacillus casei* *IMB B-7280* in the composition of pessaries: the capacity for lactic acid production, adhesive properties, antagonistic activity, sensitivity to antibacterial and antifungal drugs were conducted. Their results testify about the high ability to produce lactic acid and reduce the pH value in the vagina, the high adhesiveness of this strain, which ensure a high degree of adhesion during intravaginal administration of drug in the form of pessaries, moderate antagonistic activity against pathogenic and opportunistic strains of microorganisms, which meet the LBP characteristics, the possibility of use in the combined treatment of vaginal dysbiotic disorders with antibiotics and antimycotics, which is effective in better therapeutic effect and preventing recurrences.

According to the results of the study of the acute toxicity of pessaries with the conventional name «Lactovagin», it was determined developed drug is relatively safe and harmless.

The patent of Ukraine for the utility model No. 141286 «Suppositories with probiotic activity for vaginal use» dated March 25, 2020 was obtained according to the research results.

The results of the dissertation thesis have been implemented in the educational process of the departments of technological direction of pharmaceutical and medical institutions of higher education of Ukraine.

*Key words:* bacterial vaginosis, vulvovaginal candidiasis, drug, lactobacilli, dosage form, pessaries, pharmaceutical development, composition, technology, probiotics, stability, local application, antibacterial activity.

*Список публікацій здобувачки  
Статті (Scopus/Web of Science)*

1. Polova Z., Aleinyk S., Kazak A. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. *Ceska a Slovenska farmacie*. 2020. No. 69(2). P. 90–99. (Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення дослідних зразків, участь у проведенні експерименту, узагальненні результатів, підготовка статті до публікації).

*Статті у фахових виданнях*

2. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Вимоги до якості супозиторіїв як лікарської форми у відповідності до світових фармакопей. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 3. С. 123–130. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.3.10443>. (Особистий внесок: аналіз і обробка літературних даних, узагальнення, підготовка статті до публікації).

3. Алейник С.Л. Дослідження асортименту фармацевтичного ринку лікарських засобів для вагінального застосування з деталізацією сегменту препаратів з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2021. Т. 127. № 4. С. 55-67. URL: [https://doi.org/10.32345/USMYJ.4\(127\).2021.55-67](https://doi.org/10.32345/USMYJ.4(127).2021.55-67). (Особистий внесок: планування дослідження, проведення маркетингових досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

4. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки песаріїв із пробіотичною активністю. *Фармацевтичний часопис*. 2021. № 4. С. 5–11. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.4.12670> (Особистий внесок: планування експерименту, участь у проведенні експерименту, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

5. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження гострої токсичності песаріїв «Лактовагін». *Фармацевтичний часопис*. 2022. № 2. С. 21–26. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.2.13329> (Особистий внесок:

планування експерименту, участь у проведенні експерименту, статистична обробка даних, підготовка статті до публікації).

#### *Статті у інших виданнях*

6. Aleinyk S., Polova Z. The Ukrainian pharmaceutical market assortment of dietary supplements with probiotic activity for the treatment and prevention of the female genitourinary system diseases. *Annali d'Italia*. 2020. Vol. 1, no. 5. P. 20–23. (Особистий внесок: планування дослідження, проведення маркетингових досліджень, узагальнення результатів, підготовка статті до публікації).

#### *Патенти*

7. Супозиторії з пробіотичною активністю для вагінального застосування : пат. 141286 Україна : А61К9/02 А61К35/74 А61К35/66 А61Р15/02. № u201910960 ; заявл. 06.11.2019 ; опубл. 25.03.2020, Бюл. № 9. 9 с (Особистий внесок: участь у патентному пошуку, участь у плануванні і проведенні експериментальних досліджень, узагальнення результатів, участь у підготовці опису та формули до патенту на корисну модель).

#### *Тези доповідей конференцій*

8. Алейник С. Л., Полова Ж. М., Глущенко О. М. Лікарські засоби для вагінального застосування: аналіз фармацевтичного ринку України. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних, алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : Зб. наук. пр. Вип. 3, м. Харків, 1 берез. 2019 р. Харків, 2019. С. 22–25.

9. Aleinyk S., Polova Z. Development of suppositories for the correction of vaginal dysbiosis. *Scientific achievements of modern society* : Abstracts of the 1st International scientific and practical conference, Liverpool, 11–13 September 2019. 2019. P. 70–76.

10. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Лікарські засоби з лактобактеріями: аналіз фармацевтичного ринку України. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали IV Міжнар. науково-практ. інтернет - конф., м. Харків, 14–15 листоп. 2019 р. Харків, 2019. С. 28–31.

11. Aleinyk S., Polova Z. Auxiliary substances in compositions of drugs for vaginal usage. *Perspectives of science and education* : Proceedings of the 7th International youth conference, New York, 15 February 2019. 2019. P. 375–380.

12. Aleinyk S., Polova Z. Development actuality of vaginal suppositories with *Lactobacillus casei*. *Science progress in European countries: new concepts and modern solutions* : Papers of the 5th International Scientific Conference, Stuttgart, 28 February 2019. 2019. P. 845–850.

13. Aleinyk S., Polova Z. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. *Science and society* : Proceedings of the 12th International conference., Hamilton, 7 June 2019. 2019. P. 404–410.

14. Aleinyk S., Polova Z. Determination of melting point in experimental samples of suppositories with probiotic activity. *Topical issues in pharmacy and medical sciences* : Abstracts of the 2nd International scientific and practical conference, Tokyo, 18–19 November 2019. 2019. P. 81–85.

15. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Актуальність створення лікарських засобів з пробіотичною активністю у формі супозиторіїв для вагінального застосування. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23–24 верес. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 62–63.

16. Алейник С. Л. Визначення температури плавлення дослідних зразків песаріїв з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец випуск 4(120) 4* : Annual Young Medical Scientists` Conference 2020, м. Київ, 27–28 листоп. 2020 р. Київ, 2020. С. 4.

17. Aleinyk S. L., Polova Z. M. Effect of surface-active substances concentration on the viability of *Lactobacilli* in composition of pessaries. *Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation* : collection of scientific papers «SCIENTIA» with Proceedings of

the I International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 4), Pisa, 12 February 2021. 2021. P. 63–65.

18. Алейник С., Полова Ж. *Lactobacillus casei* як перспективний штам для створення лікарських засобів з пробіотичною активністю. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матеріали I міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 25 берез. 2021 р. Харків, 2021. С. 62–63.

19. Aleinyk S. Development of combined pessaries with probiotic activity. *Vestnik of the South-Kazakhstan Medical Academy*. 4(94) : the VIII International Scientific Conference of young scientists and students “Prospects for the development of biology, medicine and pharmacy”, Shymkent, 9–10 December 2021. 2021. P. 33–34.

20. Алейник С., Полова Ж. Обґрунтування концентрації поверхнево-активної речовини у складі песаріїв з пробіотичною активністю. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : матеріали II Міжнар. науково-практ. конф., м. Харків, 13 жовт. 2022 р. Харків, 2022. С. 110–111.

21. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження здатності штаму *Lactobacillus casei* IMB В- 7280, що входить до складу песаріїв «Лактовагін», до кислотоутворення. *Запорізький фармацевтичний форум - 2022* : матеріали Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 17–18 листоп. 2022 р. Запоріжжя, 2022. С. 3.



## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	20
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО РОЗРОБКИ ПЕСАРІЇВ З ПРОБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ТА ПРОФІЛАКТИКИ ВАГІНАЛЬНИХ ДИСБІОЗІВ (огляд літератури)	29
1.1. Мікрофлора урогенітального тракту у жінок в нормі та при патології	29
1.2. Сучасне уявлення про фармакотерапевтичну корекцію вагінальних дисбіозів	36
1.3. Застосування пробіотиків. Штам <i>Lactobacillus casei</i> - перспективний активний фармацевтичний інгредієнт для виробництва живих біотерапевтичних лікарських засобів	40
1.4. Песарії як лікарська форма, що застосовується для лікування та профілактики порушень вагінального біотопу	45
Висновки до розділу 1	53
РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ	55
2.1. Обґрунтування вибору загальної методології дослідження	55
2.2. Характеристика об'єктів дослідження	57
2.2.1. Активний фармацевтичний інгредієнт	57
2.2.2. Допоміжні речовини	58
2.3. Методи дослідження	63
2.3.1. Органолептичні дослідження	64
2.3.2. Фізичні та фізико-хімічні дослідження	64
2.3.3. Фармако-технологічні дослідження	65
2.3.4. Мікробіологічні та біологічні дослідження	66
2.3.5. Фармакологічні дослідження	72
Висновки до розділу 2	75

РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ПЕСАРІЇВ З ПРОБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ	76
3.1. Аналіз фармацевтичного ринку України лікарських засобів для вагінального застосування	76
3.2. Обґрунтування складу песаріїв з пробіотичною активністю	88
3.2.1. Обґрунтування способу введення субстанції <i>Lactobacillus casei</i> IMB B-7280 до складу песаріїв	88
3.2.2. Обґрунтування вибору основи та допоміжних речовин при розробці живого біотерапевтичного лікарського засобу	94
3.2.3. Обґрунтування вибору та концентрації поверхнево-активних речовин у складі вагінального препарату	112
3.3. Обґрунтування раціональної технології песаріїв з <i>Lactobacillus casei</i> IMB B-7280	119
3.3.1. Дослідження реологічних властивостей розроблюваної лікарської форми	119
3.3.2. Дослідження гомогенності і обґрунтування температури охолодження супозиторної маси	124
3.3.3. Розробка технології та визначення критичних параметрів промислового виробництва песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»	128
Висновки до розділу 3	133
РОЗДІЛ 4. СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ПЕСАРІЇВ ПІД УМОВНОЮ НАЗВОЮ «ЛАКТОВАГІН»	138
4.1. Загальне оцінювання ризиків для якості на етапі фармацевтичної розробки песаріїв	138
4.2. Розробка методів контролю якості песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»	140
4.3. Дослідження стабільності розробленого вагінального препарату	147
Висновки до розділу 4	152

РОЗДІЛ 5. МІКРОБІОЛОГІЧНІ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕСАРІЇВ ПІД УМОВНОЮ НАЗВОЮ «ЛАКТОВАГІН»	153
5.1. Дослідження місцевої дії песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»	153
5.2. Дослідження здатності штаму <i>Lactobacillus casei</i> IMB B-7280 у складі песаріїв до кислотоутворення	160
5.3. Дослідження адгезивних властивостей штаму <i>Lactobacillus casei</i> IMB B-7280 у складі песаріїв з пробіотичною активністю	161
5.4. Дослідження антагоністичної активності штаму <i>Lactobacillus casei</i> IMB B-7280 у складі живого біотерапевтичного лікарського засобу	162
5.5. Дослідження чутливості до антибактеріальних та протигрибкових препаратів штаму <i>Lactobacillus casei</i> IMB B-7280 у складі розробленого вагінального препарату	164
5.6. Вивчення гострої токсичності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»	167
Висновки до розділу 5	171
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	173
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	175
ДОДАТКИ	203

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

- АМСС – aerobic microbial contamination count  
АТС – anatomical therapeutical chemical (анатомо-терапевтично-хімічна)  
УМСС – yeasts and moulds contamination count  
АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт  
БАР – біологічно активна речовина  
БВ – бактеріальний вагіноз  
ВВК – вульвовагінальний кандидоз  
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я  
ГМС – гліцеролу моностеарат  
ДФУ – Державна фармакопея України  
ЖБЛЗ – живий біотерапевтичний лікарський засіб  
ДД – дієтична добавка  
ІАМ – індекс адгезивності мікрорганізму  
КУЕ - коефіцієнт участі епітеліоцитів  
КУО – колонієутворювальні одиниці  
ЛЗ – лікарський засіб  
ЛФ – лікарська форма  
МБЧ – мікробіологічна чистота  
МНН – міжнародна непатентована назва  
МКЯ – методи контролю якості  
ОВЦ – оптово-відпускна ціна  
ПАР – поверхнево-активна речовина  
ПВХ - полівінілхлорид  
ПЕГ - поліетиленгліколь  
ПЕО – поліетиленоксид  
СПА - середній показник адгезії  
ТН – торговельна назва

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Мікробіоценоз організму людини є чутливим індикатором, що реагує кількісними та якісними змінами на будь-які порушення зовнішнього і внутрішнього середовища.

Вагінальна мікробіота – це динамічна екосистема, у якій в нормі переважають бактерії *Lactobacillus spp.*, що становлять 95-98 % від всього пулу мікроценозу [1]. Проте динамічна рівновага може порушуватись під впливом як екзогенних факторів (використання тампонів, часті вагінальні душі і спринцювання, зміна статевого партнера та ступінь статевої активності), так і ендогенних (нейроендокринні захворювання, цукровий діабет, гіпотиреоз), і спричиняти виникнення дисбіотичних станів мікрофлори піхви [2].

БВ - найпоширеніше захворювання жіночої статевої системи, на яке страждають жінки у різному фізіологічному стані (поширеність від 5 % до 50 %) [3]. Важливим є те, що у 50 % жінок спостерігається безсимптомний перебіг БВ [4, 5].

ВВК – це інфекційне ураження слизової оболонки вульви і піхви, що викликане дріжджеподібними грибами роду *Candida*. За останні роки частота виявлення рецидивуючого ВВК зросла удвічі, близько 138 млн жінок у світі страждають на дану патологію, а у 75 % статево активних жінок хоча б раз у житті діагностували ВВК, у 40–50 % з них відбувався хоча б один рецидив [6].

Основними методами лікування БВ та ВВК є антибіотикотерапія та застосування хіміотерапевтичних ЛЗ. Проте дане лікування часто є неефективним та призводить до збільшення частоти рецидивів [4, 7]. Застосування пробіотичних штамів *Lactobacillus spp.* може покращувати ефективність традиційного лікування, виступати в ролі альтернативної терапії, а також використовуватись з профілактичною метою.

Науковими дослідженнями доведено, що певні пробіотичні штами *Lactobacillus casei* мають антибактеріальні, протизапальні та імуномодулювальні властивості, механізм їхньої дії пов'язаний з нормалізацією мікробіоти різних біотопів організму і запальної реакції, а також вибіркоким впливом на фактори вродженого імунітету, клітинну ланку імунітету та цитокіновий профіль [8].

Пробіотичні ЛЗ можуть застосовуватись як системно (перорально), так і місцево (вагінально). Ефект при вагінальному застосуванні ЛЗ досягається за рахунок рівномірного розподілу по всій порожнині піхви. Для досягнення місцевого ефекту необхідне застосування м'якої або твердої ЛФ, що швидко всмоктується. Такою ЛФ є песарії, що призначені для розчинення у вагінальній порожнині та вивільнення АФІ протягом декількох годин та широко застосовуються у гінекологічній практиці.

На фармацевтичному ринку України не зареєстровано жодного ЛЗ з пробіотичною активністю у формі супозиторіїв або песаріїв, що містить пробіотичні компоненти.

Тому, розробка нового ефективного ЖБЛЗ з пробіотиком для лікування та профілактики дисбіотичних порушень є актуальним завданням сучасної фармацевтичної науки.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами.** Дисертаційна робота є фрагментом фундаментальної науково-дослідної теми: «Розробка складу, технології та організаційні дослідження лікарських засобів для застосування в косметології, ветеринарній та гуманній медицині» ( № держреєстрації 0134U001926).

Тема дисертаційного дослідження є частиною гранту МОН України «Розроблення пробіотиків для профілактики та лікування інфекційно-запальних захворювань» ( у рамках договору № ДЗ/48-2018 від 05.10.2018).

**Мета і завдання дослідження.** Мета даної роботи – обґрунтування складу, розробка технології та МКЯ песаріїв з оптимальними

характеристиками для забезпечення профілактичного та терапевтичного ефекту у жінок, що мають дисбіотичні порушення вагінальної мікрофлори.

Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні завдання:

- провести аналіз та узагальнення сучасних літературних джерел стосовно дисбіотичних порушень вагінального середовища, етіопатогенезу БВ та ВВК, сучасних підходів до фармакотерапії та профілактики даної патології, актуальності застосування пробіотиків, зокрема *Lactobacillus spp.*;

- здійснити аналіз фармацевтичного ринку України пробіотичних препаратів для визначення актуальності розробки нового вітчизняного ЖБЛЗ;

- обґрунтувати спосіб введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 до складу композиції дослідних зразків;

- провести вибір оптимального складу песаріїв з пробіотичною активністю на підставі органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних та мікробіологічних досліджень;

- розробити раціональну технологію виробництва ЖБЛЗ у формі песаріїв;

- встановити основні показники якості ЖБЛЗ у формі песаріїв та розробити проєкт МКЯ;

- дослідити стабільність розробленого ЖБЛЗ при зберіганні та встановити термін придатності;

- провести фармакологічні та мікробіологічні дослідження розробленого ЖБЛЗ для підтвердження ефективності та безпечності застосування.

**Об'єкти дослідження:** субстанція *Lactobacillus casei* IMB B-7280, допоміжні речовини, компоненти гідрофобних, гідрофільних, дифільних супозиторних основ, дослідні зразки песаріїв з пробіотичною активністю, песарії під умовною назвою «Лактовагін».

**Предмет дослідження:** експериментальне обґрунтування складу песаріїв з пробіотичною активністю, технології їх виробництва та МКЯ на підставі проведення органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних та мікробіологічних досліджень; вивчення стабільності розробленого ЛЗ та встановлення терміну придатності; специфічна фармакологічна активність та безпечність песаріїв з пробіотичною активністю.

**Методи дослідження.** Для вирішення поставлених завдань застосовувались наступні методи дослідження: загальнонаукові – аналіз, порівняння, узагальнення та систематизація, органолептичні (опис, однорідність), фізико-хімічні (кристалографічні властивості порошків, розчинність, рН, середня маса, температура плавлення), фармако-технологічні (розпадання, стійкість песаріїв до руйнування, реологічні властивості, швидкість та час перемішування), мікробіологічні (адгезивні властивості, антагоністична активність, здатність до кислотоутворення, чутливість до антибіотиків та протигрибкових препаратів, МБЧ, ідентифікація та кількісне визначення лактобактерій), фармакологічні (специфічна активність (місцева дія) та гостра токсичність), математичні (статистична обробка результатів згідно вимог ДФУ 2.0 та використання ліцензійного програмного забезпечення MedStat).

**Наукова новизна результатів дослідження.** Уперше на підставі органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, мікробіологічних та фармакологічних досліджень теоретично й експериментально обґрунтовано оптимальний склад та розроблено раціональну технологію ЛЗ з пробіотичною активністю у формі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» на дифільній основі для лікування та профілактики дисбіотичних порушень у жінок.

Обґрунтовано спосіб введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дифільну основу песаріїв та визначено технологічні умови проведення процесу виробництва.



Уперше на підставі комплексу досліджень встановлено показники якості песаріїв, що включені в проєкт МКЯ, визначено стабільність розробленого ЖБЛЗ у процесі зберігання.

Визначено умови та термін зберігання препарату - 12 місяців при температурі 2-8°C, з можливим зберіганням протягом 6 місяців при кімнатній температурі у первинній упаковці - контурних чарунках з полівінілхлоридної (ПВХ) -плівки.

На підставі фармакологічних та мікробіологічних досліджень доведено специфічну місцеву дію та пробіотичну активність песаріїв під умовною назвою «Лактовагін».

Наукова новизна підтверджена патентом України на корисну модель «Супозиції з пробіотичною активністю для вагінального застосування» № 141286 від 25.03.2020 р.

**Практичне значення результатів дослідження.** У результаті проведеного дослідження розроблено новий оригінальний ЖБЛЗ під умовною назвою «Лактовагін» у формі песаріїв для забезпечення профілактичного та терапевтичного ефекту при дисбіотичних патологіях у жінок.

Розроблено проєкт МКЯ на виробництво песаріїв під умовною назвою «Лактовагін».

Фрагменти дисертаційного дослідження впроваджені у навчальний процес технологічних кафедр провідних закладів вищої освіти фармацевтичного та медичного спрямування: кафедри аптечної та промислової технології ліків Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (акт впровадження від 06.09.2022 р.), кафедри технології ліків та біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (акт впровадження від 13.10.2022 р.), кафедри органічної хімії та фармації Волинського національного університету імені Лесі Українки (акт впровадження від 17.10.2022 р.), кафедри фармації Буковинського державного медичного університету (акт впровадження від

14.11.2022 р.), кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 17.11.2022 р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертація є самостійною завершеною науковою працею. Безпосередньо автором проведено пошук, аналіз та систематизацію інформаційних джерел стосовно вирішуваної проблеми. Дисертантом спільно із науковим керівником визначено мету дослідження, завдання для її вирішення. Автором самостійно розроблено методологію та алгоритм виконання даного дослідження, планування експериментальних досліджень, проведено маркетинговий аналіз ринку ЛЗ та ДД з пробіотичною активністю, експериментально обґрунтовано і розроблено склад пєсаріїв під умовною назвою «Лактовагін», технологію їх виробництва, розроблено проєкт МКЯ, отримано та узагальнено результати експериментальних досліджень та проведено їх статистичну обробку.

Мікробіологічні та фармакологічні дослідження виконані на базі відділу проблем інтерферону та імуномодуляторів інституту мікробіології на вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України під керівництвом академіка НАН України М.Я. Співака.

У наукових публікаціях, опублікованих за темою дисертації, у співавторстві автором визначено алгоритм, виконано планування та проведення експериментальних досліджень, аналіз, систематизацію, узагальнення та статистичну обробку отриманих результатів, підготовку матеріалів до друку.

Співавторами наукових публікацій є науковий керівник та вчені, спільно з якими були проведені експериментальні дослідження: Ж. М. Полова, М. Я. Співак, Л. М. Лазаренко, О. М. Глущенко, А. В. Казак.

Співавторами наукових праць дисертанта захищені наступні дисертації: Полова Ж. М. «Теоретичне та експериментальне обґрунтування складу та технології лікарських препаратів антимікробної дії для застосування у ветеринарії», Харків, 2019 р.; Співак М.Я. «Антибактериальная эффективность препаратов интерферона и его

индуктора в разных биологических системах», Київ, 1988 р.; Лазаренко Л. М. «Роль системи інтерферону в імунопатогенезі папіломавірусної інфекції», Київ, 2006 р.; Глущенко О.М. «Науково-методичні підходи до удосконалення системи цін і тарифів на лікарські засоби, що виготовляються аптеками», Київ, 2009 р.; Казак А.В. «Синдром хронічного тазового болю в гінекологічній практиці, діагностика, методи корекції», Київ, 2012 р.

**Апробація результатів дисертаційної роботи.** Основні положення дисертаційної роботи було обговорено та апробовано на наступних науково-практичних заходах: III Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних, алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 2019 р.), The 7th International youth conference «Perspectives of science and education» (Нью-Йорк, 2019 р.), the 5th International Scientific Conference «Science progress in European countries: new concepts and modern solutions» (Штудгарт, 2019 р.), the 12th International conference «Science and society» (Гамільтон, 2019 р.), the 1st International scientific and practical conference «Scientific achievements of modern society» (Ліверпуль, 2019 р.), the 2nd International scientific and practical conference «Topical issues in pharmacy and medical sciences» (Токіо, 2019 р.), IV Міжнародна науково-практична інтернет – конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2019 р.), VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2020 р.), Щорічна міжнародна конференція молодих науковців «Annual Young Medical Scientists' Conference 2020, AYMSCConf 2020» (Київ, 2020 р.), the I International Scientific and Theoretical Conference «Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation» (Піза, 2021 р.), I міжнародна науково-практична конференція «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 2021 р.), the VIII International Scientific Conference of young scientists and students «Prospects for the

development of biology, medicine and pharmacy» (Шимкент, Казахстан, 2021 р.), II міжнародна науково-практична конференція «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (Харків, 2022 р.), Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум- 2022» (Запоріжжя, 2022 р.).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 21 наукова праця, зокрема 5 статей у фахових наукових виданнях, з них 1 стаття, що індексується базою даних Scopus, 4 статті у виданнях категорії Б, 1 стаття у міжнародному виданні, 14 тез доповідей і статей на науково-практичних заходах, 1 патент на корисну модель.

**Обсяг і структура дисертації.** Дисертаційна робота викладена на 219 сторінках та складається зі вступу, огляду літератури (розділ 1), характеристики методології, об'єктів дослідження та використаних методів (розділ 2), експериментальної частини (розділи 3-5), загальних висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту становить 165 сторінок. Робота містить 35 таблиць та ілюстрована 21 рисунком. Список використаних джерел налічує 233 позиції, з яких 78 кирилицею та 155 латиницею.

**РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО РОЗРОБКИ ПЕСАРІЇВ З  
ПРОБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ТА  
ПРОФІЛАКТИКИ ВАГІНАЛЬНИХ ДИСБІОЗІВ  
(огляд літератури)**

1.1. Мікрофлора урогенітального тракту у жінок в нормі та при патології

Репродуктивний тракт жінки визначається як сукупність біотопів, кожен з яких є середовищем існування або екологічної нішею, заселеною кількома видами мікроорганізмів [9]. Відносна постійність вагінальної мікрофлори забезпечується комплексом гомеостатичних механізмів. У свою чергу, вагінальний мікробіоценоз є однією з ланок механізму, що регулює гомеостаз репродуктивного тракту шляхом пригнічення патогенних мікроорганізмів [3, 10, 11, 12, 13].

Склад нормоценозу піхви неоднозначний для різних вікових, етнічних груп та навіть географічних зон [1, 2, 14]. У нормі вагінальний мікроценоз жінок складається з постійно заселених мікроорганізмів (індигенна, облігатна, аутохронна мікрофлора) і транзиторних (алохтонна, випадкова мікрофлора), чисельність яких не перевищує 2-5 % мікробної біомаси [13]. У практично здорових жінок загальна кількість мікроорганізмів у вагінальному секреті становить  $10^8$ - $10^{12}$  КУО/мл і складається з різноманітних видів мікробів, кількість яких може досягати 40-60 видів [1, 2, 10, 12, 13, 15, 16]. Склад нормоценозу піхви має порівняно низьку різноманітність, проте він може змінюватись протягом життя жінки та залежить від різних фаз менструального циклу (табл. 1.1) [17].

Мікрофлора піхви складається з аеробних та анаеробних мікроорганізмів у динамічному балансі [3]. Кількість аеробних бактерій досягає  $10^3$ - $10^9$  КУО/мл, а анаеробних -  $10^5$ - $10^{10}$  КУО/мл [1, 12]. Оптимальне для нормобіотичного стану співвідношення анаеробів до аеробів за даними авторів становить від 2:1 -5:1 до 10:1 (у репродуктивний період) [2, 10, 13,

18]. У складі мікрофлори піхви постійно присутні більше 30 видів мікроорганізмів. Облігатна мікрофлора представлена, в основному, родом *Lactobacillus spp.* яка складає 95-98 % від всього пулу, що є мікроценозом [1, 2, 7, 11, 13, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26].

Таблиця 1.1

**Переважаючі мікроорганізми мікрофлори піхви в залежності від вікової періодизації жіночого організму [17]**

<b>Віковий період</b>	<b>Переважаючі мікроорганізми</b>
Дитинство	Грам-негативні анаеробні бактерії ( <i>Bacteroides, Fusobacterium, Veillonella</i> ) Грам-позитивні анаеробні бактерії ( <i>Actinomyces, Bifidobacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Propionibacterium</i> ) Аеробні бактерії ( <i>Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus viridans, Enterococcus faecalis</i> )
Препубертантний	Низький рівень лактобактерій, <i>Gardnerella vaginalis, Prevotella bivia</i>
Статеве дозрівання (пубертантний)	Домінуючими видами є <i>Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus iners, Lactobacillus jensenii</i>
Статева зрілість	Подібно до пубертантного періоду, <i>Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus iners, Lactobacillus jensenii</i>
Менопауза	Домінуючими видами є <i>Lactobacillus crispatus, Lactobacillus iners, Gardnerella vaginalis, Prevotella</i> , низький рівень <i>Candida, Mobiluncus, Staphylococcus, Bifidobacterium, Gemella</i>

Окрім лактобактерій, у піхві присутні й інші види мікроорганізмів, що знаходяться в малих концентраціях та заселяють близько 5-10 % від усієї вагінальної флори. До них відносяться: дифтероїди, коринебактерії, ентерококи і стафілококи, представники родини *Bacteroidaceae* - фузобактерії, превотели, порфіромонади, рідше - бактероїди, гарднерела, кишкова паличка, анаеробні грампозитивні коки (*Peptococcus* і *Peptostreptococcus*), еубактерії, пропіонібактерії, кампілобактерії, лептотріхії, мікоплазми, гриби роду *Candida* [1, 11, 12,13, 24, 26, 27].

Перше масштабне дослідження вагінальної мікробіоти було опубліковано Додерляйном у 1892 р., який вважав, що вагінальну екосистему становлять тільки грампозитивні бацили [19, 27, 28, 29]. Згідно його гіпотези, ці бактерії виконують первинну захисну функцію піхви відносно патогенних бактерій [1]. Саме тому рід *Lactobacillus spp.* також об'єднують під загальною назвою «палички Додерляйна». Види лактобацил, що заселяють слизову оболону піхви, відрізняються у жінок в період перед та після менопаузи. У мікробіоті здорової жінки репродуктивного віку, як правило, найпоширенішими є наступні види: *L. iners*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. jenesenii*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. vaginalis*, *L. delbrueckii*, *L. salivarius*, *L. reuteri* та *L. rhamnosus* [13, 14, 15, 17, 19, 28, 30, 31, 32, 33], а також *L. paracasei*, *L. crispatum*, *L. leishmanii*, *L. cillabiosus*. Такі види як *L. gallinarium*, *L. amylolyticus*, *L. amylovorus* та *L. johnsoni* зустрічаються значно рідше [13]. Загалом відомо понад 200 видів лактобактерій [34], проте в мікробіоті кожної жінки індивідуально домінує переважно 1-4 види [1, 20, 33].

Лактобактерії підтримують гомеостаз мікрофлори піхви шляхом наступних основних механізмів: аутоагрегація; утворення молочної та оцтової кислот, пероксиду водню, бактеріоцинів та біологічно активних речовин (БАР); спільна агрегація з патогенними мікроорганізмами; адгезія до епітеліальних клітин; імуномодулюючий ефект [3, 14, 21, 32, 33, 35-45].

Епітелій піхви забезпечує стійкість організму до впливу патогенних мікроорганізмів. Важливим показником резистентності піхвового епітелію є кількість глікогену в поверхневих клітинах. Ці клітини постійно змінюються на нові, при руйнуванні старих клітин вивільняється глікоген, який служить субстратом для нормофлори. Кількість глікогену в клітинах піхвового епітелію коливається у однієї і тієї ж жінки протягом року, а також в залежності від фази менструального циклу [1].

В нормі рН піхви дорослої жінки становить 3,8-4,4. Проте його значення коливається від 6,6 ( $\pm 0,3$ ) до 4,2 ( $\pm 0,2$ ) між 2 та 14 днем

менструального циклу. Палички Додерляйна використовують у якості джерела поживних речовин вагінальний глікоген, який вони трансформують у молочну кислоту шляхом ферментації. Молочна кислота сприяє стабільному зрушенню рН вагінального середовища в кислу сторону до 3,8-4,4, що створює несприятливі умови для росту і розмноження решти мікрофлори [13, 15, 19, 30, 41, 43].

Лактобактерії також виявляють адгезивні властивості, що дозволяє конкурувати з патогенною та умовно-патогенною мікрофлорою за поживні середовища. Адгезином є ліптейхоева кислота. Молочнокислі бактерії піддаються фізико-хімічній взаємодії з піхвовим епітелієм, що допомагає в колонізації молочнокислих бактерій, утворенні біоплівки в слизовій оболонці та епітеліальному шарі піхви. Біоплівка - це конгломерат мікроорганізмів, розташованих на будь-якій поверхні, клітини яких прикріплені один до одного. Тобто біоплівка складається з шару (клітин) бактерій та клітин секреторних компонентів піхви. Прикріплюючись до епітеліоцитів, лактобактерії вкривають стінку піхви суцільним шаром і перешкоджають адгезії до рецепторів епітеліоцитів інших мікроорганізмів [1, 13, 17, 27, 43, 46]. Більшість лактобактерій (70- 96 %) здатні продукувати пероксид водню, що взаємодіє з пероксидазою цервікального слизу, пригнічують ріст і попереджують розмноження облігатних анаеробів та умовно-патогенних мікроорганізмів [3, 13, 30, 41, 43].

Відомо, що бактерії роду *Lactobacillus* здатні продукувати антибіотикоподібні субстанції - бактеріоцини (нізин, диплоцин, лактострепцин, гелветицин, каліцин, мікроцин, пестицин, піоцини та інші), які є низькомолекулярними білками, що здатні фіксуватися на специфічних рецепторах мікробної клітини і викликати дестабілізацію їхньої мембрани, витік ендоплазми і руйнування патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, грибів [13, 19]. Лактоцидин, ацидолін і лактацин В беруть участь у підтримці нормального стану піхвового середовища. Лактоцини В, F, J, M, ацидолін і лактоцидин, болгаріцин, лактобревін, гелветицин,



лактолін, реутерін інгібують ріст і розмноження бацил, клостридій, сахароміцетів, стрептококів, стафілококів, ентеробактерій, псевдомонад, лістерій, грибів роду *Candida* [1, 42]. Захисна функція лактобактерій також здійснюється за рахунок утворення різноманітних БАР, до яких належать гліколіпіди, ліпопептиди, полісахаридно-білкові комплекси, фосфоліпіди, жирні кислоти та нейтральні ліпіди, що пригнічують ріст патогенів, перешкоджаючи адгезії мікроорганізмів на епітеліальні клітини [43]. Імуностимулюючий ефект лактобактерій проявляється в активації макрофагів, накопиченні фагоцитів, синтезі цитокінів і підвищенні рівня імуноглобулінів [1, 13].

Лактобактерії є переважаючими мікроорганізмами піхви в період статевого дозрівання внаслідок дії естрогенів на епітелій піхви та збільшення кількості глікогену [13, 17, 19, 47, 48]. Період менопаузи відзначається різким зниженням утворення естрогену, внаслідок чого атрофується піхвовий епітелій. А внаслідок зниження рівня естрогену, вміст глікогену у піхвовому епітелії також знижується, що призводить до виснаження лактобактерій. Зменшення ж їхньої кількості, в свою чергу, призводить до подальшого збільшення рН піхви, оскільки глюкоза не перетворюється на молочну кислоту. А високі значення рН сприяють росту патогенних бактерій, зокрема колонізації мікроорганізмів, що присутні у кишечнику. Клінічно у жінок це проявляється сухістю слизової оболонки піхви [15, 17, 19, 47, 49].

У період вагітності гормональні зміни впливають на стан епітелію піхви (відбувається його потовщення), що супроводжується прогресуючим зменшенням рН піхвового вмісту та більш інтенсивним синтезом глікогену. Це, в свою чергу, сприяє активному росту лактобактерій та зменшенню кількості популяцій аеробів та анаеробів [1, 33]. Мікроекологія піхви в післяпологовому періоді ж характеризується суттєвим збільшенням чисельності умовно-патогенних бактерій і зниженням кількості *Lactobacillus spp.* Такі зміни зумовлені інгібуванням утворення естрогенів та травмуванням пологових шляхів [1].

Мікрофлора жіночих статевих органів може змінюватись під дією як екзогенних факторів (використання тампонів, часті вагінальні душі і спринцювання, зміна статевого партнера та ступінь статевої активності), так і ендогенних (нейроендокринні захворювання, цукровий діабет, гіпотиреоз). На мікроценоз впливають фізіологічні і гормональні зміни (пубертатний період, вагітність, менопауза), фази менструального циклу та їх порушення; стан нервової та імунної систем (фактори, які послаблюють імунну систему - переохолодження, стрес, незбалансоване харчування, недостатність вітамінів і мікроелементів, професійні шкідливості); різні інфекційні агенти; екологічні та санітарно-епідеміологічні фактори; використання ЛЗ (особливо антибіотиків, гормонів), а також хірургічні втручання [1, 13].

Для оцінювання стану мікрофлори піхви Є. Ф. Кіра розробив класифікацію вагінального біоценозу, у якій представлена мікроскопічна характеристика чотирьох типів біоценозу піхви відповідно до основних нозологічних форм: нормоценоз (характеризується домінуванням лактобактерій, відсутністю грамнегативної мікрофлори, дріжджеподібних грибів) - типовий стан нормального біотопу піхви; проміжний тип (помірна або знижена кількість лактобактерій, наявність грампозитивних коків, грамнегативних паличок) - може діагностуватися у практично здорових жінок; дисбіоз піхви (незначна кількість або повна відсутність лактобактерій, значна грамнегативна і грампозитивна паличкова та кокова мікрофлора) – нозологічною формою є БВ; вагініт (полімікробна картина мазка з великою кількістю лейкоцитів, макрофагів, епітеліальних клітин) – нозологічними формами є неспецифічний вагініт, гонорея, трихомоніаз, мікотичний вагініт [46, 50, 51].

Скарги, що стосуються вульвовагінальних симптомів, є одними з найбільш поширених проблем, на які страждають жінки у світі [52, 53]. У жінок у період пременопаузи найчастіше виявляють такі захворювання: БВ (40-50 %), ВВК (20-25 %) та трихомоніаз (15-20 %). Неінфекційні патології,

що включають атрофічний, алергічний та запальний вагініт зустрічаються значно рідше (10-50 %) [14, 47, 52, 54].

БВ – найпоширеніше захворювання жіночої статеві системи, на яке страждають жінки у пременопаузі та після менопаузи, а також вагітні (поширеність від 5 % до 50 %) [3, 55-57]. Дане захворювання характеризується комплексною зміною мікрофлори піхви та зниженням концентрації лактобактерій або повним їх зникненням на фоні збільшення анаеробних або факультативно-анаеробних бактерій (*Gardnerella vaginalis* та *Atopobium vaginae*, *Prevotella species*, *Mobiluncus species*), що супроводжуються зміною нормального рН [2, 3, 14, 17, 21, 33, 35, 38, 39, 43, 52, 57-65]. Одним із основних тригерів даної патології є психо-емоційний стрес [66].

Співвідношення анаеробів до аеробних бактерій при БВ становить – 100:1–1000:1, що різко відрізняється від нормобіотичного стану [18]. Анаероби, що переважають у вагінальній флорі при даному захворюванні, виділяють летючі аміни (путресцин, триметиламін та кадаверин). Дані речовини відповідають за характерний «рибний запах» та продукуються у піхвове середовище в результаті руйнації пептидів клітин слизової оболонки піхви протеолітичними ферментами анаеробів – карбоксилазами [16].

БВ збільшує ризик запальних захворювань жіночних статевих шляхів, таких як ендометрит, сальпінгіт та безпліддя. Жінки, що хворіють на БВ, особливо в хронічній формі, більш схильні до зараження іншими інфекціями, що передаються статевим шляхом, зокрема, гонореею, хламідіозом, сифілісом, вірусом імунодефіциту людини, папіломавірусом, вірусом простого герпесу 2 типу та цитомегаловірусною інфекцією [27, 30, 33, 52, 57, 58, 61, 62, 67]. Проте у 50 % жінок спостерігається безсимптомний перебіг БВ, який часто пов'язаний з ураженням шийки матки, матки, її придатків, та є потенційною причиною цервікального канцерогенезу та розвитку вірусної інфекції [46]. У вагітних жінок БВ призводить до збільшення частоти плацентарної недостатності, невиношування вагітності, хоріоамніоніту,

синдрому затримки розвитку плода і внутрішньоутробного інфікування, післяпологового ендометриту [58, 30, 52, 57, 61, 62, 67, 68].

ВВК – це інфекційне ураження слизової оболонки вульви і піхви, що викликане дріжджеподібними грибами роду *Candida*. За останні роки частота виявлення рецидивуючого ВВК зросла вдвічі, близько 138 млн жінок у світі страждають на дану патологію, у 75 % статевих активних жінок хоча б раз у житті діагностували ВВК, а у 40–50 % з них відбувався рецидив. Кандидоносійство спостерігається у 3-5 % обстежуваних жінок [6, 47, 53, 57, 69].

БВ та ВВК також є найпоширенішими вагінальними інфекціями, що діагностуються у період після менопаузи та тісно пов'язані з дисбалансом у складі мікрофлори піхви через зменшення рівня естрогенів [47, 68].

Отже, склад піхвової екосистеми не є постійним. Фізіологічні (вікові, гормональні стани) або патологічні фактори, здатні викликати якісні або кількісні зміни, що підвищують чутливість до грибкових та бактеріальних вагінальних інфекцій.

## 1.2. Сучасне уявлення про фармотерапевтичну корекцію вагінальних дисбіозів

Терапія БВ потребує комплексного підходу та спрямована на елімінацію збудника, полегшення симптомів запалення, нормалізацію мікробіоценозу піхви та на підвищення захисних сил організму [16].

Лікування урогенітальних інфекцій, зазвичай, вимагає застосування антибактеріальних препаратів [4]. Метронідазол та кліндаміцин є препаратами вибору у лікуванні БВ [14, 43, 45, 47, 70, 71]. Також ефективним є тинідазол [71, 72]. Препарати з даними АФІ можуть застосовуватись як системно, так і місцево [4]. Інші антибіотики, такі як офлоксацин, азитроміцин або еритроміцин, практично не застосовуються у лікуванні БВ [71].

Рекомендовані три основні схеми лікування БВ та чотири альтернативні, що включають застосування метронідазолу, кліндаміцину та тинідазолу у вигляді ЛФ для вагінального або орального застосування. Про це свідчать міжнародні гайдлайни та рекомендації ведення пацієнтів із БВ [16, 17, 52, 54, 60, 73-78].

Європейське керівництво щодо ведення пацієток з вагінальними виділеннями Міжнародного союзу проти інфекцій, які передаються статевим шляхом/ВООЗ також у якості альтернативних методів лікування БВ містить схему застосування метронідазолу 2 г 1 день у вигляді пероральних ЛФ та використання деквалінію хлориду у вигляді вагінальних таблеток по 10 мг 1 раз на добу протягом 6 днів [66].

У лікуванні ВВК використовують ітраконазол та флуконазол як пероральні ЛФ. Як ЛЗ місцевої дії застосовуються препарати ністатину та похідні імідазолу (клотримазол, еконазол, міконазол тощо) [4, 43, 47, 69]. Також як альтернатива можливе застосування ніфурателу вагінально. У східній Європі проводились дослідження, які показали його ефективність проти *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* і *Atopobium vaginae* та неактивність проти лактобактерій у дослідженнях *in vitro* [71].

Згідно Міжнародних гайдлайнів лікування неускладненого ВВК рекомендується використання клотримазолу, міконазолу, тіоконазолу, бутаконазолу, ністатину, терконазолу, еконазолу, фентіконазолу у ЛФ для вагінального застосування; ітраконазолу та флуконазолу у ЛФ для орального прийому [53, 54, 74, 79, 80].

Метронідазол є препаратом вибору для лікування БВ, дана субстанція є похідним нітроімідазолу I-го покоління. Для метронідазолу характерні такі побічні реакції як нудота, біль у шлунку та дисульфірамоподібний ефект при вживанні алкоголю. Тинідазол - похідне нітроімідазолу II-го покоління, для якого характерним є більш тривалий період напіввиведення у порівнянні з метронідазолом (12–14 год проти 6–7 год) та меншою частотою побічних ефектів. Кліндаміцин – це лінкозамін, який за ефективністю подібний

метронідазолу, що випускається у ЛФ для місцевого (вагінального) та системного застосування [17, 81].

Основними методами терапії БВ і ВВК є застосування антибіотиків та хіміотерапевтичних ЛЗ, проте найчастіше таке лікування має лише короткотривалий ефект, і відбувається значна кількість рецидивів захворювання (у 15-64 % випадків). За даними деяких авторів, лікування гінекологічних захворювань, що супроводжуються розвитком дисбіотичних порушень, обов'язково повинно включати застосування ЛЗ, що коригують кількісний і якісний склад мікрофлори під час або після антибіотикотерапії, тобто пробіотичних препаратів, що також можуть застосовуватись для профілактики [4, 10, 19, 28, 35, 82] (рис. 1.1).

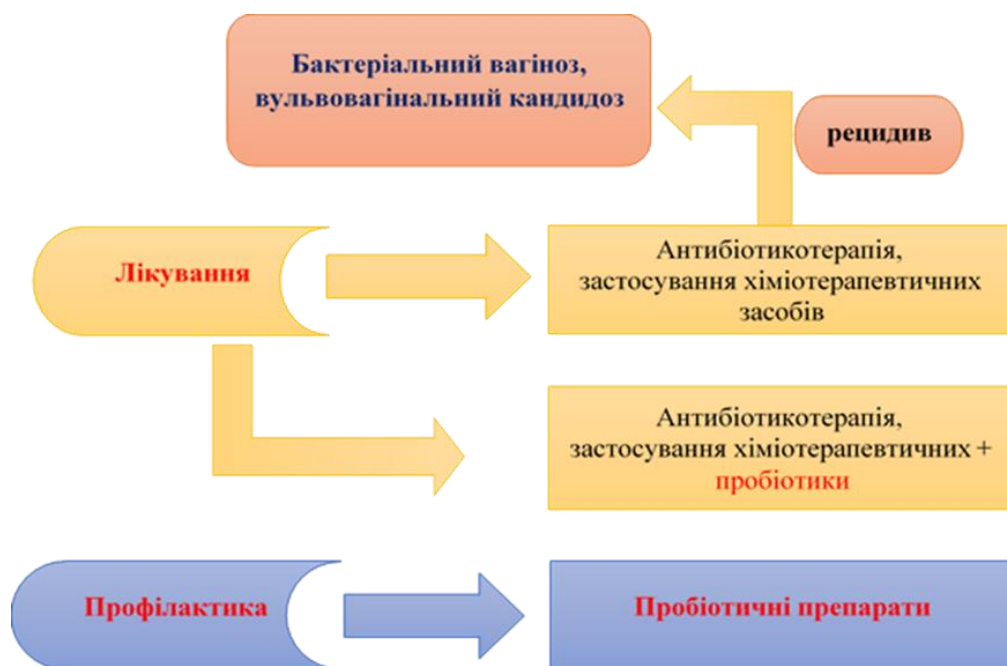


Рис. 1.1. Актуальність застосування пробіотиків у лікуванні БВ і ВВК

Гайдлайн «Бактеріальний вагіноз у гінекології та акушерстві» Асоціації наукових медичних спільнот Німеччини містить інформацію, що результати досліджень з використанням пробіотичних штамів *Lactobacillus* та клінічних досліджень, що вивчають способи зниження частоти рецидивів БВ після стандартного лікування із застосуванням пробіотиків, показали, що

дані методи можуть бути ефективними, і виявили, що вони зменшили частоту рецидивів БВ приблизно на 50 % [75]. Національна настанова стосовно ведення пацієнтів з БВ Великобританії спирається на результати клінічних досліджень, що підтверджують ефективність застосування вагінальних ЛФ з пробіотиками в якості профілактики та після антибіотикотерапії у зменшенні частоти рецидивів БВ [76].

Замісна терапія вагінітів та вагінозів лактобактеріями була вперше описана у США ще у 1933 р. Мольхером і Брауном [38]. У 1973 р. у піхві жінок, що не мали в анамнезі хвороби сечостатевої системи, було виявлено лактобактерії, що також стало основою для застосування пробіотиків у лікуванні БВ [43]. З того часу увагу науковців привернула роль пробіотиків у лікуванні та профілактиці урогенітальних інфекцій [38, 43].

Оптимальним є проведення двоетапної терапії. Перший етап полягає у санації піхви від патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів із застосування ЛЗ з орнідазолом, метронідазолом, кліндаміцином, тернідазолом топічно або у вигляді ЛФ для системного застосування із тривалістю терапії, зазвичай, від 3 до 10 днів. Другий етап полягає у відновленні нормального біотопу піхви. З цією метою протягом 7–10 днів місцево призначають різні пробіотичні препарати [2, 46, 83].

Систематичні огляди Кокранівської бібліотеки свідчать про наявність рандомізованих клінічних досліджень, що демонструють позитивні результати у лікуванні БВ шляхом застосування пробіотиків та метронідазолу у вигляді оральної ЛФ, а також пробіотиків та естріолу [62, 85]. Існують випробування, що демонструють здатність пробіотичних препаратів порівняно з традиційними методами терапії підвищувати швидкість короткотермінового клінічного та мікологічного лікування та зменшити частоту рецидивів [53, 85].

Отже, пошук нових ефективних ЛЗ з пробіотичною активністю для лікування та профілактики дисбіотичних порушень урогенітального тракту у жінок є актуальним питанням сучасної фармацевтичної галузі.

1.3. Застосування пробіотиків. Штам *Lactobacillus casei* як перспективний активний фармацевтичний інгредієнт для виробництва живих біотерапевтичних лікарських засобів

Для лікування дисбіотичних станів часто використовують засоби замісної терапії — імунобіологічні ЛЗ. Існуючі препарати з пробіотичною активністю для орального, ректального та вагінального способу використання, дієтичні добавки (ДД) та продукти функціонального харчування, в тому числі на основі живих молочнокислих бактерій, широко використовуються у медичній практиці для корекції дисбіозів та стабілізації нормальної мікрофлори людини [86].

Ще у 1907 р. нобелівський лауреат І. Мечников припускав, що прийом мікроорганізмів може виявляти лікувальний ефект для організму людини, особливо при розладах травлення [42]. Вперше ж термін «пробіотик» було використано у 1953 р. німецьким бактеріологом, гігієністом танутрицевником Вернером Коллатом (1892-1970 рр.) для визначення органічних і неорганічних добавок, необхідних для відновлення здоров'я пацієнтів, які страждали від недостатнього харчування внаслідок введення до раціону надлишкової кількості високо очищених продуктів [87]. У 1954 році Фердинандо Верджін в своїй монографії «Anti und Probiotika» описував пробіотики як визначення протилежності шкідливого впливу антибіотиків та інших протимікробних речовин на «корисні» бактерії із сприятливими ефектами [13, 88]. У 1965 р Ліллі і Стіллуелл згадували термін «пробіотики» в контексті протилежності антибіотикам, тоді пробіотики були описані як мікробні фактори, що стимулюють ріст інших мікроорганізмів [13, 49, 88-92]. У наш час даним терміном користуються переважно для позначення лікарських препаратів або ДД, що містять культуру нормальної мікрофлори людини або мікробні метаболіти зі сприятливим впливом на організм людини [10].



Згідно з визначенням ВООЗ, пробіотики – це апатогенні для людини бактерії, які мають антагоністичну активність щодо патогенних і умовно патогенних бактерій та забезпечують відновлення нормальної мікрофлори [13, 87, 93]. Всесвітня гастроентерологічна організація визначає пробіотики як живі мікроорганізми, які при введенні у відповідній кількості здійснюють позитивний ефект на організм господаря (людини) [6, 29, 38, 43, 47, 55, 57, 62, 63, 71, 93- 95].

Термін «пробіотики» має синонім «еубіотики», також деякі автори окремо виділяють наступні групи ЛЗ: пребіотики, синбіотики та симбіотики. Пребіотики – це препарати немікробного походження, здатні здійснювати позитивний ефект на організм людини через селективну стимуляцію росту або метаболічну активність нормальної мікрофлори кишечника. Синбіотики – це препарати, отримані в результаті раціональної комбінації пробіотиків та пребіотиків. Часто це ДД, які входять до складу пробіотичних продуктів, збагачених одним або декількома штамми *Lactobacillus* та/або *Bifidobacterium*. Симбіотики – це засоби, які поєднують два та більше пробіотики, що посилює їх ефективність [13, 42, 93, 96-98].

ВООЗ, Управління по контролю харчових продуктів і лікарських засобів США (FDA), Організація з продуктів харчування і сільського господарства ООН (FAO), підтверджують, що в цілому пробіотики є безпечними. Даній групі ЛЗ був наданий статус GRAS (generally recognised as safe), що означає, що фармацевтична і харчова промисловість можуть використовувати їх без обмежень [99].

Основні ефекти пробіотичних препаратів можна розділити на імунологічні та неімунологічні. До імунологічних механізмів позитивного впливу належать наступні: активізація локальних макрофагів для збільшення презентації антигенів В-лімфоцитам; збільшення синтезу секреторного імуноглобуліну А місцево і системно; модулювання вмісту цитокінових профілів; індукція розвитку гіпореактивності до харчових антигенів. Серед неімунологічних ефектів виділяють зміну локального рН для створення

несприятливого середовища для розвитку патогенів; продукцію бактеріоцинів для пригнічення патогенної мікрофлори; усунення супероксидних радикалів; стимуляцію продукції епітеліального муцину; покращення функціонування інтестинального бар'єра; конкуренцію за адгезію з патогенами; модифікацію патогенних бактеріальних ендотоксинів [94, 100-102].

До ефективного пробіотика висуваються наступні вимоги: непатогенність та нетоксичність; здатність виявляти позитивний ефект на організм господаря; у складі повинні бути життєздатні клітини або продукти їх метаболізму; спроможність до виживання та життєдіяльності в умовах мікрооточення у місці дії; стабільність життєздатності бактерій протягом тривалого терміну зберігання [49].

Препарати з пробіотичною активністю, що використовуються в клінічній практиці, умовно можна поділити на сім поколінь: I покоління – монокомпонентні препарати на основі облігатної нормофлори, що містять один штам бактерій («Колібактерин», «Біфідумбактерин», «Лактобактерин», «Мутафлор» і т.д.) ; II покоління – 2-4 компонентні пробіотики на основі облігатної або факультативної нормфлори («Біфіформ», «Біфінорм», «Лінекс», «Лацидофіл», «Біфілонг» та ін.); III покоління – пробіотики на основі транзиторних мікроорганізмів, що не властиві нормофлорі людини («Біоспорин», «Ентерол», «Лактовіт форте», «Бактисубтил», «А-бактерин», «Ентерожерміна» і т.д.); IV покоління – синбіотики: комбінація пробіотичного і пребіотичного компоненту («Біфілакт-екстра», «Вітабаланс-3000», «Хілак форте», «Аципол» тощо); V покоління – пробіотики, створені на основі рекомбінантних генно-інженерних штамів мікроорганізмів («Субалін»); VI покоління – полікомпонентні пробіотики на основі комплексу ліофілізатів штамів лактобацил і біфідобактерій («Полібактерин», «Біфідуммульти» та ін.); VII покоління – мультипробіотики на основі «живих» мутуалістичних симбіозів фізіологічних сахаролітичних бактерій (групи Симбітер та Апібакт) [13, 26, 88, 96, 98, 100].

Найважливішою властивістю пробіотичних бактерій є забезпечення колонізаційної резистентності, тобто захисту від проникнення у внутрішнє середовище організму як бактерій, так і токсинів та токсичних продуктів різного походження. У механізмі колонізаційної резистентності важливу роль відіграє антагоністична активність пробіотиків, тобто здатність колонізувати слизову оболонку, яка складається з адгезії мікроорганізмів до епітеліальних клітин, конкуренції за рецептори зв'язування і блокади адгезії та колонізації слизової оболонки патогенними і умовно-патогенними мікроорганізмами за участі гуморальних і клітинних факторів захисту макроорганізму [103].

Основними є наступні вимоги до пробіотичних штамів мікроорганізмів: штами повинні бути виділені від здорових людей і ідентифіковані щодо виду за фено- і генотиповими ознаками; мати генетичний паспорт; мати природну стійкість до антибактеріальних препаратів; повинні мати колонізаційний потенціал; володіти широким спектром антагоністичної активності відносно патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів; не повинні пригнічувати активність нормальної мікрофлори; бути безпечними для людей, включаючи імунологічну безпеку; виробничі штами повинні бути стабільними у біологічній активності і задовольняти технологічні вимоги [42, 87, 90, 102].

Більшість бактерій, що мають пробіотичні властивості та застосовуються в практичній медицині, є представниками сімейств *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*. Численні наукові дослідження вказують на високу клінічну ефективність застосування ЛЗ та ДД на основі даних штамів мікроорганізмів [87, 104, 105].

Рід *Lactobacillus* (родина *Lactobacillaceae*) – факультативні анаероби, грампозитивні бактерії, оптимальні значення рН 5,5-5,8, температура 30-40°C. Ферментують вуглеводи з утворенням, в основному, молочної кислоти. Пригнічують ріст та розмноження бацил, клостридій, стрептококів, ентеробактерій, псевдомонад, лістерій, кандид. Значущість даних мікроорганізмів по відношенню до організму людини зводиться до двох

взаємопов'язаних функцій: участь в обмінних процесах і захисту від проникнення інфекцій із зовнішнього середовища [42].

У якості субстанцій з пробіотичною активністю можуть виступати наступні штами: *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. salivarius* [53].

Група *Lactobacillus casei* (LCG), що складається в основному зі споріднених *L. casei*, *L. paracasei* та *L. rhamnosus* - одна із часто застосовуваних штамів у харчовій та фармацевтичній промисловості [14, 34]. *L. casei* вперше був запропонований як новий вид у 1971 р. Хенсеном і Леселом [34].

Препарати на основі даного штаму мікроорганізмів першочергово були розроблені для лікування та профілактики діареї [13, 14]. Крім того, за даними деяких досліджень була доведена їхня ефективність у лікуванні хронічних закрепів у дітей [14]. Пізніше стали відомими наукові роботи стосовно продукції LCG бактеріоцину лактоцину 160, що здатний пригнічувати ріст *Garganella vaginalis*. Окрім того, даний бактеріоцин руйнує клітинну стінку бактерій і спричинює витік АТФ, таким чином, пригнічуючи бактерії, що є причиною виникнення БВ, при цьому не порушуючи функціонування нормальної мікрофлори піхви [14].

Ефект *L. casei* та інших лактобактерій як імуномодуляторів полягає у попередженні цитокін-індукованого апоптозу. Доведена їхня здатність знижувати рівень CD4<sup>+</sup>- та CD3<sup>+</sup>-клітин та безпосередньо змінювати продукцію фактору некрозу пухлин- $\alpha$  та ряду протизапальних цитокінів, що полегшують перебіг запальних процесів. У Японії проводились дослідження, згідно яких доведено, що пробіотик на основі *L. casei* зменшував ризик рецидивів раку сечового міхура у післяопераційних хворих при пероральному прийомі. Наукові праці свідчать про високу уреазну активність *L. casei* та можливість застосування пробіотиків як альтернативної терапії для полегшення «уремічного» стану при ниркових захворюваннях. У

дослідженнях з моделювання експериментального ревматоїдного артриту було встановлено, що *L. casei* пригнічує дану патологію шляхом зниження Th1 типу запалення, а спільне застосування даного штаму з колагеном 2 типу та глюкозаміном знижує експресію запальних цитокінів і металопротеїназ, що їх активізують. Для бактерій групи LGG підтверджена безпечність та ефективність у лікуванні пацієнтів дитячого та дорослого віку з проявами екземи, алергічного риніту та бронхіальної астми [15, 68, 106].

Згідно загальної теорії, пробіотик повинен мати два критерії для вибору як ефективного штаму при лікуванні інфекцій уrogenітального тракту: можливість колонізувати господаря без будь-яких несприятливих побічних ефектів та здатність інгібувати уrogenітальні збудники, попереджувати наслідки, що пов'язані з прийомом антибіотиків та попередження рецидивів [43]. А штаму лактобактерій повинен володіти наступними характеристиками: життєздатність, здатність до росту (при певному значенні рН), утворення молочної кислоти та бактеріоцинів, здатність до колонізації [103]. Дані властивості характерні для *L. casei*.

Отже, враховуючи мікробіологічні властивості та критерії, що висувуються для мікробних штамів, *L. casei* є часто використовуваним АФІ для виробництва пробіотичних ЛЗ для лікування і профілактики БВ та ВВК [107].

1.4. Песарії як лікарська форма, що застосовується для лікування та профілактики порушень вагінального біотопу

Серед різних шляхів введення ЛЗ вагінальний шлях введення є анатомічно вигідним варіантом як для місцевої, так і для системної доставки ЛЗ завдяки наявності густої та щільної мережі кровоносних судин у піхві.

Основними перевагами вагінального шляху введення у порівнянні з іншими є: здатність частково оминати першу стадію метаболізму у печінці; простий спосіб введення, при якому пацієнти можуть самостійно ввести або

вилучити дозу препарату; висока проникність для низькомолекулярних препаратів; можливість введення макромолекулярних сполук; відносно велика площа поверхні для всмоктування; значне кровопостачання; зниження ризику виникнення алергічних реакцій; можливість застосування ЛЗ при нудоті та блюванні; уникнення подразнення органів шлунково-кишкового тракту інактивації ферментами; менша ймовірність болю, пошкодження тканин чи інфікування, наприклад, у порівнянні з парентеральним введенням [17, 108-115].

При вагінальному шляху введення ЛЗ можуть всмоктуватись трансцелюлярно за рахунок дифузії, що відбувається завдяки різниці концентрацій, парацелюлярно, тобто опосередковано між клітинними зв'язками та везикулярно (за рахунок рецепторного транспорту). Абсорбція ЛЗ слизовою оболонкою піхви відбувається шляхом двох основних механізмів: розчинення ліків у вагінальному просвіті та проникнення в мембрану [109, 111-114].

Ефективність вагінального введення залежить від таких фізіологічних факторів як рН, склад, в'язкість та кількість вагінального секрету, товщина вагінального епітелію, що змінюється протягом менструального циклу, ферментативний метаболізм, рівень гормонів, кліренс тощо. У зв'язку з цим фармакокінетика багатьох ЛЗ, що є слабкими електrolітами, модулюється їхнім іонізованим станом, який визначається рН у місці введення. Стосовно препаратів для вагінального застосування, у середовищі піхви більшість слабких основ знаходяться в іонізованій формі (більше 50 % мають  $pK_a = 8,5-10,5$ ), слабкі кислоти (близько 40 % мають  $pK_a$  менше 5,5) у вагінальному рН перебувають у неіонізованому стані. Враховуючи це, можна зробити висновок, що слабкі кислоти будуть краще всмоктуватись, ніж слабкі основи, у нормальному середовищі піхви. Проте абсорбція може бути змінена внаслідок зміни рівня рН при певних патологіях.

У практично здорових жінок, вагінальна рідина складається з секрету цервікального каналу та ексудату кровоносних судин, епітеліальних клітин і

лейкоцитів, а також ферментів, білків, амінокислот, вуглеводів та інших молекул. Об'єм та в'язкість вагінального секрету також можуть впливати на вивільнення та всмоктування препарату. При великому об'ємі рідини у піхві абсорбція погано розчинних у воді препаратів зростає. Проте висока в'язкість цервікального секрету може слугувати своєрідним бар'єром для всмоктування ліків, а збільшення його кількості може спричинити самовільне витікання ЛЗ із порожнини піхви та відповідного зниження абсорбції [17, 109, 112-116]. Фізико-хімічні властивості ЛЗ, такі як молекулярна маса, ліпофільність, ступінь іонізації, поверхневий заряд, хімічна природа також можуть впливати на абсорбцію при вагінальному введенні [109, 112-114].

ЛЗ з пробіотичною активністю для корекції патологій жіночого уrogenітального тракту можна вводити вагінально або перорально, оскільки лактобактерії можуть потрапляти з прямої кишки до піхви за рахунок пасивного транспорту [19, 43]. Вагінальні ЛФ широко застосовуються у всьому світу. До них належать креми, гелі, мазі, таблетки, капсули, піни, спреї, плівки для вагінального застосування, песарії, тампони, вагінальні кільця і спринцювання [19].

Наукові дослідження підтверджують ефективність та перспективність використання різних штамів лактобактерій для лікування та профілактики порушень мікрофлори піхви у вигляді ЛФ для вагінального застосування (додаток А) [19, 117-125].

Наприклад, Anukam K. S. et al. досліджували використання вагінальних капсул, що містять *L. rhamnosus* та *L. reuteri*. У працях Mastromarino P. et al. описано вагінальні таблетки, що містять у складі *L. brevis*, *L. salivarius* та *L. plantarum*. Parent D. et al. вивчали вагінальні таблетки із *L. acidophilus*. Hallén A. et al. досліджували вагінальні супозиторії, що містять *L. acidophilus*. Ehrström S. et al. проводили рандомізовані випробування з використанням вагінальних капсул, що містять *L. gasseri*, *L. fermentum*, *L. casei subsp. rhamnosus* and *P. acidi lactici* для лікування БВ та ВВК. Maggi L. et al. займались дослідженням вагінальних таблеток, що

містять *L. brevis*, *L. salivarius*, *L. crispaius*, *L. gasseri*. Burton J. P. et al. проводили випробування з використанням вагінальних капсул з *L. fermentum* та *L. rhamnosus*. Eriksson K. et al. вивчали використання тампонів, що містять суміш ліофілізованих *L. fermentum*, *L. casei var. rhamnosus* та *L. gasseri*. Czaja S. A. et al., а також Uehara S. et al. проводили рандомізовані дослідження з використанням вагінальних супозиторіїв, що містять *L. crispatus* для профілактики рецидивів інфекцій уrogenітального тракту. Drago L. et al. вивчали ефективність спринцювань із *L. acidophilus* у лікуванні БВ. Kale V. et al. розробили склад та технологію вагінальних таблеток із ліофілізатом лактобактерій та супозиторіїв із *L. sporogenes*. Larsson P. G. et al. проводили рандомізовані дослідження із використанням желатинових капсул, що містять штами *L. gasseri* та *L. rhamnosus*. S. Kaewnopparat and N. Kaewnopparat займались розробкою вагінальних супозиторіїв із штамом *L. paracasei*. Rodrigues F. Et al. мають наукові роботи стосовно розробки вагінальних супозиторіїв із штамом *L. acidophilus*. Ozkinay et al. проводили дослідження з використанням вагінальних таблеток, що містять штам *L. acidophilus*. Ya W. et al. проводили рандомізовані дослідження з використанням вагінальних капсул, що містять *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* та *St. thermophilus*. J. Kaewsrichan et al. займались розробкою вагінальних таблеток та супозиторіїв зі штамми *L. jensenii* and *L. crispatus*. Fazeli M. R. et al. займались розробкою вагінальних таблеток, що містять штам *L. acidophilus* [19, 117-125].

Згідно із статтею ДФУ «Вагінальні препарати» ЛЗ для вагінального застосування класифікують на: песарії; вагінальні таблетки; вагінальні капсули; вагінальні розчини, емульсії та суспензії; таблетки для приготування вагінальних розчинів і суспензій; м'які ЛЗ для вагінального застосування; вагінальні піни; вагінальні медичні тампони [126].

ЛФ для вагінального застосування повинні володіти наступними властивостями: плавитися при температурі близько 36°C, бути не токсичними та не подразливими, не мати мета-стабільних форм, містити достатню



кількість води, мати змочувальні та емульгуючі властивості, не змінюватись під впливом рН піхви, бути стабільними при зберіганні, мати невеликий інтервал між температурою плавлення та затвердіння, мати достатню в'язкість, володіти мукоадгезивними властивостями для збільшення часу контакту між ЛЗ та слизовою [112, 114, 116].

Ефект при вагінальному застосуванні ЛЗ досягається за рахунок рівномірного розподілу по всій порожнині піхви. Вибір ЛФ буде залежати від очікуваного лікувального ефекту. Для топічного ефекту, як правило, використовуються системи доставки з біоадгезивними властивостями або інтравагінальні кільця. Для досягнення місцевого ефекту необхідне застосування м'якої або твердої ЛФ, що швидко всмоктується. Такими ЛФ є пєсарії (вагінальні супозиторії) та вагінальні таблетки, що широко застосовуються у гінекологічній практиці. Дані форми препаратів призначені для розчинення у вагінальній порожнині та вивільнення АФІ протягом декількох годин [109, 111].

Супозиторії – дисперсні системи, що складаються з основи (дисперсійного середовища) і АФІ (дисперсної фази). Вони є твердими при кімнатній температурі, а при температурі тіла розплавляються для вивільнення діючих речовин. Такі системи є складними багатокомпонентними гетерогенними системами, так як містять одну або більше АФІ, диспергованих або розчинених у простій або складній основі, яка може розчинятися або диспергуватися у воді [117, 127, 128].

Супозиторні основи, як правило, входять до складу супозиторіїв у кількості 80-99 %, тому виявляють значний вплив на терапевтичну ефективність ЛЗ. До супозиторних основ висуваються наступні вимоги: фармакологічна і фізіологічна індиферентність, відсутність місцево подразнюючої дії; хімічна індиферентність і фізична стабільність; твердість при кімнатній температурі і розпадання при температурі тіла (розплавлення, розчинення); певна швидкість і тривалість вивільнення ЛЗ; забезпечення високого ступеня вивільнення, біодоступності і терапевтичної ефективності

ЛЗ; певні структурно-механічні властивості (пластичність, пружність, щільність, в'язкість в рідкому стані); доступність; технологічність, тобто придатність для виготовлення певним методом [129, 130].

Наразі у різних країнах запропоновано кілька класифікацій супозиторних основ, що базуються, головним чином, на їхніх фізико-хімічних властивостях [129]. Загальноприйнятою є поділ супозиторних основ в залежності від гідрофільності на гідрофільні, гідрофобні та дифільні [111, 127, 129, 131].

До гідрофільних основ належать желатино-гліцеринові, мильно-гліцеринові, поліетіленоксидні (ПЕО), поллоксамерні основи, а також гліцерогелі похідних целюлози, колагену і ін. Комбінуючи ПЕО, можна отримати основи з різною температурою плавлення. У США вони відомі під назвою Carbowax, у Франції – Scuroil, в Німеччині – Postonal, Supporpharm. Серед поллоксамерних основ відомі: Pluronic L44, L62, L64 і F68. Характерною особливістю гідрофільних основ є добра розчинність у воді і, як наслідок, їхня водопоглинаюча дія, а також здатність змішуватися з секретом слизової [129, 130].

До ліпофільних основ належать жири та жироподібні речовини природного, напівсинтетичного та синтетичного походження: масло какао та його сплави, гідрогенізовані жири та їх сплави, твердий жир у різних модифікаціях. Основи даної групи відомі під такими назвами та торговими марками: Бутирол, Себівунол, Імхаузен (Естаринум), Массупол (Massupol), Новата (Novata), Ертикоат (Erticoat), Кува (Couva) 300 Н, 500 Н; Суппосир (Suppocire®) А, В, С, D N; Massa Estarinum типи 299, В, С; Естарам (Estaram™) типи Н, W, S, E; Супповайс (Supoweiss™) Н, W, S, E; Вітепсол (Witepsol); Суппорин-М (Supporinum-M) [129].

Окремо виділяють дифільні основи, що також називають змішаними основами або воднодиспергованими. Дифільні основи можна розглядати як емульсійні системи, котрі складаються з гідро- та ліпофільних речовин та емульгаторів, котрі застосовують для отримання стійких емульсійних систем

за рахунок зниження міжфазного поверхневого натягу та забезпечення дисперсності АФІ, його рівномірного розподілу у супозиторній масі та точності дозування [127, 132]. Найчастіше у технології супозиторіїв застосовуються наступні ПАР: естери поліоксіетиленсорбітану і жирних кислот (полісорбат), поліоксіетилен стеарати (Myrj) та складні етери жирних кислот сорбіту (Span і Arlacel) [131].

Особливий інтерес становлять адсорбційні дифільні основи, що представляють собою стабільні композиції ліпофільного компонента і емульгатора, котрі при виробництві ЛФ легко перетворюються у дифільну структуру. Відомі такі дифільні основи: Witepsol S, твердий жир тип В, С, Е; Fattibase, Wecobee W, R, S, M, FS, Massa Estarinum BC, Suppocire® BP, P, S, S2, L, а також ті, що мають в назві символи X і N. Також було розроблено прописи дифільних основ під умовною назвою Emulsogel на базі Запорізького державного медичного університету [111, 127, 129, 130].

Супозиторії на ліпофільних основах легко розчиняють типові нерозчинні низькомолекулярні сполуки і не потребують наявності рідини у місці введення для розплавлення, всмоктування та вивільнення АФІ. Супозиторії на гідрофільних основах потребують наявності води для їхнього розчинення та всмоктування ЛЗ внаслідок гігроскопічності. На відміну від гідрофобних, гідрофільні супозиторії забезпечують кращу доставку водорозчинних компонентів завдяки розчиненню у фізіологічних рідинах [111, 116].

Окрім основ, до складу супозиторіїв вводять допоміжні речовини різних груп: емульгатори, пластифікатори, консерванти, стабілізатори, солюбілізатори, пенетранти тощо.

На біодоступність та якість ЛЗ впливає не лише вид ЛФ, а й технологічний процес виробництва. При застосуванні різних технологічних операцій можна отримати ЛЗ, що містять однакову дозу АФІ, але відрізняються за швидкістю вивільнення та повнотою всмоктування. В залежності від обраної технології на якість супозиторіїв та песаріїв впливає

тип обладнання, температура виробництва, на процес затвердіння готової продукції впливає час протікання процесу, вид пакування тощо. Тобто одним з найнеобхідніших умов отримання якісного ЛЗ є підбір оптимальних технологічних стадій його виробництва [111, 133-135].

Технологія виробництва супозиторіїв в промислових умовах здійснюється виливанням або пресуванням. При отриманні методом пресування супозиторії формуються без нагрівання, шляхом стиснення охолодженої супозиторної маси, що містить суміш основи і АФІ.

Метод виливання більш широко використовується. Він включає наступні стадії: плавлення основи, введення в неї АФІ, виливання супозиторіїв у форми (первинну упаковку), охолодження, термозварювання упакування [111, 133-135]. Контроль якості песаріїв згідно ДФУ проводиться за показниками, що представлені в таблиці 1.2. Деякі показники є специфічними в залежності від типу основи песаріїв.

Таблиця 1.2

**Показники якості, що визначаються для песаріїв**

№ п/п	Показник	Методика	Норми
1	2	3	4
1	Однорідність вмісту	2.9.6 тест В	При вмісті діючої речовини менше 2 мг або менше 2 % ЛЗ витримує випробування, якщо вміст не більш як в одній одиниці виходить за межі 85—115 % і в жодній одиниці не виходить за межі 75—125 % від середнього вмісту ЛЗ
2	Однорідність маси	2.9.5	+ - 5 %
3	Однорідність дозованих одиниць	2.9.40	Обчислюють за показниками прийнятності
4	Середня маса	2.9.5	+ - 5 %
5	Розчинення	2.9.3, 2.9.42	За 45 хв у середовище розчинення повинно перейти не менше ніж 75 % діючої речовини, супозиторії та песарії на гідрофільній основі повинні розчинитися не більше ніж за 60 хв
6	Розпадання*	2.9.2	Для гідрофобних основ – не більше ніж 30 хв, для гідрофільних основ та песаріїв – не більше ніж 60 хв
7	Температура плавлення	2.2.15	Лише для ліпофільних основ Не більше ніж 37° С
8	Час повної деформації	2.9.22	Не більше ніж 15 хв

продовження таблиці 1.2

1	2	3	4
9	Стійкість до руйнування	2.9.37	Вказано в окремій статті
10	Розмір частинок	2.9.37	Не більше 10 мкм
11	МБЧ	5.1.4	ТАМС $10^2$ КУО/г, ТУМС $10^1$ КУО/г, відсутність <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Candida albicans</i> в 1г

Отже, песарії є оптимальною ЛФ для розробки ЛЗ з пробіотичною активністю для вагінального застосування, що дозволяє досягти місцевої дії за рахунок вивільнення живих лактобактерій, рівномірного розподілу та адгезії на слизовій оболонці піхви. Для забезпечення максимального вивільнення АФІ та досягнення терапевтичного і профілактичного ефектів необхідним є вибір оптимальної основи песаріїв та допоміжних речовин на етапі фармацевтичної розробки.

## Висновки до розділу 1

1. Проаналізовано та узагальнено сучасні літературні дані щодо кількісного та якісного складу мікрофлори жіночого урогенітального тракту в нормі та при патології. При БВ та ВВК спостерігається різке зниження або повна відсутність лактобактерій на фоні появи та збільшення кількості умовно-патогенної та патогенної флори. Традиційними методами лікування є застосування антибактеріальних ЛЗ, що часто є неефективним та призводить до збільшення частоти рецидивів.

2. Згідно результатів сучасних досліджень, що відповідають вимогам доказової медицини, ефективним є застосування пробіотичних препаратів, зокрема тих, що містять штамами *Lactobacillus spp.* у якості АФІ, для лікування та профілактики БВ та ВВК.

3. Штам *Lactobacillus casei* – перспективний АФІ у складі ЖБЛЗ для вагінального застосування, оскільки має оптимальні мікробіологічні

характеристики та відповідає сучасним критеріям, що висуваються до мікробних штамів.

4. Оптимальним для лікування та профілактики дисбіотичних процесів піхви є використання ЛФ для місцевого застосування, що дозволяє забезпечити рівномірний розподіл, вивільнення та всмоктування АФІ, тривалий контакт із слизовою піхви та є зручною для пацієнта. Дані параметри характерні для песаріїв як оптимальної ЛФ для вагінального застосування. Раціональний вибір основи та допоміжних речовин у комбінації з АФІ на етапі фармацевтичної розробки, дає змогу отримати ЛЗ для вагінального застосування із заданими параметрами для досягнення терапевтичного та профілактичного ефекту.

*Результати досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях [136-139]:*

1. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Вимоги до якості супозиторіїв як лікарської форми у відповідності до світових фармакопей. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 3. С. 123–130. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.3.10443>.

2. Алейник С., Полова Ж. *Lactobacillus casei* як перспективний штам для створення лікарських засобів з пробіотичною активністю. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матеріали I міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 25 берез. 2021 р. Харків, 2021. С. 62–63.

3. Aleinyk S., Polova Z. Auxiliary substances in compositions of drugs for vaginal usage. *Perspectives of science and education* : Proceedings of the 7th International youth conference, New York, 15 February 2019. 2019. P. 375–380.

4. Aleinyk S., Polova Z. Development actuality of vaginal suppositories with *Lactobacillus casei*. *Science progress in European countries: new concepts and modern solutions* : Papers of the 5th International Scientific Conference, Stuttgart, 28 February 2019. 2019. P. 845–850.

## РОЗДІЛ 2. ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

### 2.1. Обґрунтування вибору загальної методології дослідження

Згідно вимог сучасного законодавства розробка нового ЛЗ та впровадження у промислове виробництво повинна включати комплекс наукових експериментальних досліджень, що становлять повну фармацевтичну розробку.

Основною метою фармацевтичної розробки є створення ефективного та безпечного ЛЗ та організація процесу виробництва, що дозволяє одержати готовий продукт із заданими характеристиками та є відтворюваним. Адже якість не можливо повністю перевірити у ЛЗ, її необхідно закладати при розробці та забезпечувати в процесі виробництва [140, 141].

Об'єктами дослідження фармацевтичної розробки є компоненти ЛЗ (АФІ та допоміжні речовини), ЛФ, технологічний процес виробництва, пакувальні матеріали тощо [140]. Тому, важливо на початку експерименту раціонально і оптимально спланувати всі його етапи, тобто окреслити загальну методологію даного дослідження.

Згідно визначення ДФУ ЖБЛЗ (Live biotherapeutic product) – це ЛЗ, що містять живі мікроорганізми (бактерії або дріжджі) та призначені для застосування людиною, доступні у різних фармацевтичних формах та призначені для перорального або вагінального застосування [142].

Методологія розробки ЖБЛЗ для застосування людиною у формі пеларіїв включає ряд досліджень, що, в цілому, поділяються на три етапи: інформаційно-пошуковий, дослідницький та біологічний, які є взаємопов'язаними та дають змогу одержати якісний ЛЗ із заданими характеристиками (рис. 2.1).



Рис. 2.1. Методологія розробки ЖБЛЗ у формі пеларіїв

На першому етапі необхідно обґрунтувати вибір АФІ (субстанції з пробіотичною активністю) та ЛФ, що призначена для лікування та профілактики БВ і ВВК, провести маркетингові дослідження фармацевтичного ринку ЛЗ, асортименту ДД з метою визначення пропозиції ЛЗ та ДД з лактобактеріями. Даний етап є важливим для прогнозування конкурентоспроможності препарату, що розробляється, адже відсутність як вітчизняних аналогів, так і ЛЗ імпортного виробництва на ринку зумовлює актуальність впровадження нового економічно доступного препарату для забезпечення потреб різних верств населення.



Наступний дослідницький етап складається з комплексу фізико-хімічних, фармако-технологічних, структурно-механічних, мікробіологічних досліджень з метою обґрунтування вибору допоміжних речовин та основи, оптимального складу ЛЗ, способу введення АФІ, раціональної технології виробництва, визначення критичних параметрів виробництва, контролю якості та стандартизації готового продукту, дослідження стабільності та встановлення терміну придатності, прогнозування ризиків для якості ЛФ на етапі фармацевтичної розробки.

Третій біологічний етап включає фармакологічні та мікробіологічні дослідження з метою визначення основних біологічних властивостей, які характерні для даного штаму мікроорганізмів, що використовується як АФІ та входить до складу песаріїв з пробіотичною активністю, таких як антагоністична активність, адгезивні властивості, здатність до кислоутворення, стійкість до антибактеріальних та протигрибкових препаратів, а також оцінки специфічної активності ЛЗ, його гострої токсичності в умовах досліджень *in vivo*.

Таким чином, за рахунок використання системного підходу розроблено алгоритм фармацевтичної розробки ЖБЛЗ для застосування людиною у формі песаріїв.

## 2.2. Характеристика об'єктів дослідження

### 2.2.1. Активний фармацевтичний інгредієнт

Об'єктом даного дослідження є *Lactobacillus casei* IMB B-7280 – штам, що самостійно виділений в лабораторних умовах із асоційованої культури під час лабораторних досліджень ферментованого біологічного матеріалу в Інституті мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України під керівництвом академіка НАН України Співака М.Я. Даний штам є непатогенним, нетоксичним, генетично однорідним; не піддавався мутагенним впливам та генетичним трансформаціям, нерухливий, має

паличкоподібну форму, не утворює спор, позитивно фарбується за Грамом; факультативний анаероб, каталазонегативний (рис. 2.2).

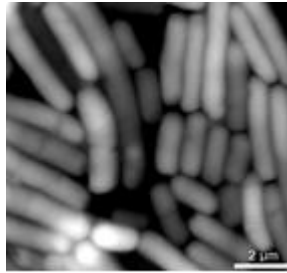


Рис. 2.2. Мікрофотографія атомно-силового мікроскопа висот моношарів бактерій на слюдяній підкладці

Тинкториальні, культурально-морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості даного штаму відповідають тим, які наведені у визначнику бактерій Bergey для *Lactobacillus casei*. Визначення нуклеотидної послідовності гена 16S рДНК методом секвенування також ідентифікувало належність штаму до даного виду. Штам вирощують при температурі  $38,0 \pm 1,0$  °С протягом 18–24 год на середовищі MRC або на капустияному середовищі. Його життєздатність зберігається на середовищах з широким діапазоном рН від 1,0 до 8,5; а також у присутності жовчі, холестерину, шлункового соку, ферментів травлення, фенолу *Lactobacillus casei* IMB B-7280 зброджує широкий спектр вуглеводів і спиртів. Довготривало зберігається у ліофілізованому стані в запаяних скляних ампулах.

На підставі досліджень, проведених вченими Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, штам *Lactobacillus casei* IMB B-7280 рекомендується використовувати для розробки ЛЗ з імуномодулюючими властивостями медичного та ветеринарного призначення, а також ДД [8, 143, 144].

### 2.2.2. Допоміжні речовини

З метою вибору оптимального складу використовувались допоміжні речовини із груп супозиторних основ, розчинників та емульгаторів, що

відповідали вимогам нормативно-технічної документації (НТД) та дозволені до медичного застосування.

*Олія персикова (Oleum persicorum)* – жирна олія, яку одержують холодним пресуванням насіння рослин підродина *Prunoideae*. За фізико-хімічними властивостями - прозора рідина світло-жовтого кольору, без запаху, з приємним олійним смаком, що не висихає на повітрі. Розчинна в спирті, легкорозчинна в етері, хлороформі, густина – 0,914-0,920, показник заломлення – 1,470-1,473, кислотне число – не більше 2,5, йодне число – 96-103, число омилення -185-195 [145, 146].

*Пропіленгліколь, 1,2-пропандіол (Propylenglycolum, Propylene glycol, 1,2-Propanediol, CAS № 57-55-6, № 4254-14-2, № 4254-15-3)*, що має формулу  $C_3H_6(OH)_2$  (М.м. = 76,10) – двоатомний спирт аліфатичного ряду, що має густину 1,035-1,037 г/см<sup>3</sup> та широко використовується у фармацевтичній промисловості. За фізико-хімічними властивостями – прозора густа рідина із солодким смаком, яка легко змішується з водою, етиловим та бензиловим спиртами та більшістю органічних розчинників, не змішується з жирними оліями [145, 146].

*Вазелінова олія (Liquid paraffin, Paraffinum liquidum, Mineral oil CAS № 8012-95-1)* – безбарвна олієподібна в'язка рідина, що не флуоресціює та не має смаку і запаху. Вазелінова олія має наступні властивості: питома вага – 0,875-0,890, плинність – від -12,2 до 9,4°C, Т кипіння – більше 360 °С, Т займання – 210-224 °С, Т застигання – не вище -5°C, поверхневий натяг – близько 35 дин/см, динамічна в'язкість – 110-230 мПа\*с. Вазелінова олія розчинна в ацетоні, бензині, хлороформі, практично не розчинна в етилому спирті, гліцерині та воді [145, 146].

*Гліцерин, гліцерол (Glycerolum, Glycerol, Glycerin, Propane-1,2,3-triol, CAS № 56-81-5)*, що має формулу  $C_3H_8O_3$  (М.м. = 92,09) – сироподібна рідина, липка на дотик, солодка на смак, без запаху, прозора, безбарвна та дуже гігроскопічна, поглинає воду з повітря з наступними властивостями: Т плавлення – 17,9 °С, Т кипіння – 290 °С. Гліцерин змішується з водою,

етиловим та метиловим спиртами, малорозчинний в ацетоні та етилацетоні, практично нерозчинний в етері, хлороформі та жирних оліях [145, 146].

*Вода очищена (Aqua purificata, Purified Water, Water CAS № 7732-18-5)*, що має формулу  $H_2O$  (М.м. = 18,02) – прозора безбарвна рідина без смаку і запаху, що має наступні властивості:  $T$  кипіння –  $100^{\circ}C$ , критичний тиск – 22,1 мПа (218,3 атм), питома вага – 0,9971 ( $25^{\circ}C$ ), поверхневий натяг – 71,97 мН/м ( $25^{\circ}C$ ), динамічна в'язкість – 0,89 мПа\*с. Вода очищена змішується з усіма полярними розчинниками [145, 146].

*Полісорбат-80, твін-80 (Полюксіетилен 20 сорбітанмоноолеат, CAS № 9005-65-6)*, за хімічною будовою є полігліколевим естером ангідрсорбіту і вищих жирних кислот, що має формулу  $C_{64}H_{124}O_{26}$  (М.м. = 1310) – в'язка рідина жовто-коричневого кольору з характерним запахом і гіркуватим смаком. Полісорбат-80 має наступні властивості: кислотне число – 2,0, гідроксильне число – 65-80, вологомiсткість – 3,0, точка омилення – 45-104, поверхневий натяг – 42,5 ( $20^{\circ}C$ ), питома вага – 1,08 ( $25^{\circ}C$ ), в'язкість – 425 мПа\*с,  $T$  займання 5 % водного розчину становить  $149^{\circ}C$ , рН – 6,0-8,0. Полісорбат-80 розчинний у етиловому спирті та воді, нерозчинний у мінеральних та рослинних оліях [145, 146].

*Гліцеролу моностеарат (ГМС) (Glyceryl monostearate, Glyceroli monostearas 40-55, Glyceryl monostearate 40-55, octadecanoic acid monoester with 1,2,3-propanetriol, CAS № 31566-31-1)*, що має формулу  $C_{21}H_{42}O_4$  (М.м. = 358,6), одержують шляхом взаємодії гліцерину із гліцеридами тваринного та рослинного походження. За фізико-хімічними властивостями ГМС є гігроскопічним порошком білого кольору з солодким смаком, що має  $T$  плавлення –  $55-60^{\circ}C$ ,  $T$  займання –  $240^{\circ}C$ . ГМС розчинний у етиловому спирті та ацетоні при нагріванні, етері, хлороформі, мінеральних та нелетких оліях, практично нерозчинний у воді [145, 146].

*Ланолін безводний (Adeps Lanae, Lanolin, Woolfar, Anhydrous lanolin, CAS № 8006-54-0)* – густа, в'язка маса коричнево-жовтого кольору, що має

специфічний запах та практично нерозчинна у воді, етиловому спирту, добре розчинний в ацетоні, хлороформі, бензині, Т плавлення – 36-42 °С [145, 146].

*Lanette SX (емульгатор № 1)* – комплексний емульгатор, що містить цетостеариловий спирт (суміш стеарилового  $C_{18}H_{38}O$  і цетилового  $C_{16}H_{34}O$  спиртів), натрію лаурилсульфат  $C_{12}H_{25}NaO_4S$  та натрію цетеарил сульфат. За фізико-хімічними властивостями є твердою масою у вигляді порошку, гранул або лусок або плиток, жирна на дотик білого або злегка жовтуватого кольору із специфічним запахом, розчинний у жирах, етері, хлороформі, практично не розчинний у воді, що має гідроксильне число – 200-220, йодне число – не більше 1, ефірне число – 4-7, Т плавлення – 50-62 °С.

*Емульгатор Т-2 (дистеарат тригліцерин)* за хімічною будовою є сумішшю моно- і дигліцеридів стеаринової кислоти з полігліцерином. За фізико-хімічними властивостями є світло-жовтими гранулами із характерним запахом стеаринової кислоти, що має кислотне число – не більше 5, число омилення – не менше 140, Т плавлення - більше 48 °С [145].

*Токоферолу ацетат (Tocopheryl acetate, 2R-2,5,7,8-Tetramethyl-2-(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl-3,4-dihydro-2H-1-benzopyran-6-yl acetate, CAS № 58-95-7, № 7695-91-2)*, що має формулу  $C_{31}H_{52}O_3$  (М.м. = 472,73) – прозора масляниста рідина жовтого або жовто-зеленого кольору, практично без запаху, Т плавлення – 27,5-28 °С, практично не розчиняється у воді, розчиняється в етиловому спирті, змішується з або розчиняється в ацетоні, хлороформі, етером, рослинними оліями [145, 146].

*Віск аніоноактивний емульгувальний (емульсійний віск, віск, емульгуючий віск)* – штучно отримана суміш, що є твердою однорідною масою або у вигляді лусок чи стружок, що містить цетостеариловий спирт, воду очищену та натрію лаурилсульфат або натрієву сіль сульфоного первинного високомолекулярного аліфатичного спирту. За фізико-хімічними властивостями емульсійний віск є масою білого або світло-жовтого кольору, що при нагрівання стає пластичною, а потім перетворюється на прозору рідину з характерним запахом. Має наступні властивості: густина – 0,97

г/см<sup>3</sup>, Т займання – більше 100 °С, Т плавлення – 52 °С, йодне число – не більше 3,0, число омилення – не більше 2,0, розчинний у хлороформі, етиловому спирті, при нагріванні в оліях, нерозчинний у воді [145, 146].

*ПЕГ, макрогол (Polyethylene glycol, Macrogols, Macrogola,  $\alpha$ -Hydro- $\omega$ -hydroxypoly(oxy-1,2ethanediyl), CAS № 25322-68-3)* – конденсований полімер етиленгліколю або полімеризованих полімерів окису етилену і води та має загальну формулу  $\text{H}(\text{OCH}_2\text{=CH}_2)_n\text{OH}$ , де  $n$  – це кількість оксіетиленових груп +1, що визначає ступінь полімеризації. ПЕГ-400 – в'язка прозора безбарвна рідина з легким характерним запахом та ледь пекучим смаком, гігроскопічна, розчинна у воді, ацетоні, гліцерині, етиловому та метиловому спиртах. ПЕГ-1500 – біла, воскоподібна, гігроскопічна маса з слабким солодкуватим смаком, розчинна у воді, ацетоні, етері, етиловому та метиловому спиртах, практично нерозчинна у жирних оліях. ПЕГ-4000 – біла, воскоподібна, негігроскопічна маса з слабким солодкуватим смаком, розчинна у воді, ацетоні, етиловому та метиловому спиртах, практично нерозчинна у жирних оліях [145, 146].

*Спермацет (Sperma ceti, Cetaceum)* – кашалотовий жир, пластична тверда маса кристалічної будови, білого кольору, жирна на дотик, без запаху та має наступні фізико-хімічні властивості: густина – 0,938-0,994 г/см<sup>3</sup>, Т плавлення – 45-54°С, кислотне число – не більше 10. Спермацет розчинний у хлороформі, етері, етиловому спирті при нагріванні, нерозчинний у воді, легко сплавляється з жирами, восками та вазеліном [145, 146].

*Твердий жир (Adeps solidus, Hard fat)* – суміш тригліцеридів високозаміщених жирних кислот у різних пропорціях та моно- і дигліцеридів. За фізико-хімічними властивостями є білою або злегка жовтуватою воскоподібною масою без запаху, що при нагріванні плавиться. Має наступні властивості: густина – 0,955-0,975 г/см<sup>3</sup>, гідроксильне число – 20-40, йодне число – не більше 3, число омилення – 225-255, перекисне число – не більше 3 %, Т плавлення – 33-38°С, Т затвердіння – 30,5-35°С.

Основу марки Witepsol одержують шляхом гідролізу натуральних рослинних олій з наступною фракційною дистиляцією вільних жирних кислот з гідрогенізацією та реестерифікацією. Witepsol має такі фізико-хімічні властивості: густина – 0,95-0,98 г/см<sup>3</sup>, гідроксильне число – 5-15, або 20-40 або 40-50 йодне число – не більше 3, число омилення – 225-255, перекисне число – не більше 3 %, Т плавлення – 33-38°C, Т затвердіння – варіює від 30 до 39°C [145, 146].

*Масло какао (Theobroma cacao, CAS № 8002-31-1)* – жирова основа природного походження, що є сумішшю тригліцеридів заміщених та незаміщених жирних кислот, яку одержують пресуванням насіння шоколадного дерева з наступним фільтруванням та охолодженням до одержання жовтуватої маси з ароматним специфічним запахом какао та приємним смаком. Т плавлення масла какао – 31-34°C, дана основа розчиняється у хлороформі, етері, розчиняється в етиловому спирті при кип'ятінні [145, 146].

*Гідрогеновану пальмову олію (Hydrogenated palm kernel stearin)* одержують шляхом екстракції плодів олійної пальми з подальшим гідруванням, містить насичені жирні кислоти: лауринову, міристинову, пальмітинову, пальмітоолеїнову, стеаринову, лінолеву, олеїнову, ліноленову, арахінову кислоти (довжина ланцюга C<sub>12</sub>- C<sub>20</sub>). За фізико-хімічними властивостями є жовтуватою воскоподібною масою з легким специфічним запахом, що має Т плавлення 32,5-37°C, перекисне число – не більше 1, йодне число – 51-54 [147].

### 2.3. Методи дослідження

Під час виконання роботи застосовувались методи дослідження, що дозволяли провести експеримент згідно з розробленим алгоритмом. У даному розділі наведені методика, що застосовувались, у органолептичних, фізико-

хімічних, фармако-технологічних, мікробіологічних та фармакологічних методах.

### 2.3.1. Органолептичні дослідження

*Опис.* Песарії повинні бути однакових розмірів та форми.

*Однорідність.* Однорідність визначають на поздовжньому зрізі. На зрізі мають бути відсутні вкраплення, допускається наявність повітряного стрижня або лійкоподібної заглибини.

### 2.3.2. Фізико-хімічні дослідження.

*Кристалографія та розчинність.* Дослідження проводилось згідно методик ДФУ 2.0. Том 1, 2.9.37, ст.481-483 та 1.4, ст. 33 з використанням світлового тринокулярного мікроскопа «Ulab» при збільшенні у 100 разів, оснащеного камерою «Canon» та програмного забезпечення EOS Utility.

Формфактор (К) розраховувався як співвідношення середньої ширини до середньої довжини частинок у мкм:

$$K = \frac{Ш}{Д} \quad (2.1)$$

*Середня маса* визначалась відповідно до методики ДФУ 2.0. Том 1, 2.9.5 с.409 «Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу». Довільно обирали 20 одиниць песаріїв, зважували кожен окремо і розраховували середню масу. Відхилення не має перевищувати  $\pm 5\%$ .

*pH* визначали потенціометрично згідно методики ДФУ 2.0, Т.1, 2.2.3, ст. 51.

Визначення *pH* песаріїв проводили наступним чином: 1 песарій поміщали у мірну колбу на 100 мл, додавали половинну кількість води очищеної та поміщали на водяну баню при температурі 37°C при постійному перемішуванні, потім доводили водою очищеною до об'єму 100 мл, отримані розчини використовували для вимірювання *pH*.



*Температуру плавлення* модельних зразків на гідрофобних основах визначали згідно ДФУ методики, що представлена у статті 2.2.14. «Температура плавлення – капілярний метод» с.63.

### 2.3.3. Фармако-технологічні дослідження

*Розпадання* визначали відповідно до методики ДФУ 2.0, Том 1, с.398-399. Випробування на розпадання дозволяє визначити, розм'якшуються чи розпадаються виготовлені зразки супозиторіїв в межах встановленого часу.

Випробування на розпадання були проведені на приладі для визначення розпадання супозиторіїв PTS 3E (PHARMA TEST, Австрія). По 3 песарії кожної серії поміщали у перфорований кошик, який вміщували на водяну баню і підігрівали до 37°C, обертаючи зразки супозиторіїв на 180°C кожні 10 хв. Визначали час, за який зразки песаріїв розділилися: розплавлені жирові компоненти збирались на поверхні води, розчинні компоненти розчинялися. Стан супозиторіїв на гідрофільній основі досліджують через 60 хв, а на гідрофобній - через 30 хв.

*Стійкість до руйнування* визначали з використанням приладу SBT-2, (Erweka, Німеччина) шляхом вимірювання маси, що необхідна для руйнування 10 песаріїв за методикою ДФУ 1.1, п. 2.9.24, с. 84-85 «Стійкість супозиторіїв і песаріїв до руйнування».

*Реологічні дослідження* проводили методом ротаційної віскозиметрії (ДФУ 2.0, Том 1, п. 2.2.10, с. 58–60).

Вивчення структурно-механічних характеристик супозиторних мас проводили за допомогою ротаційного віскозиметра Брукфільда Viscometer «Viscotech MYR VR 3000», модель R, виробник Viscotech, Hispania, що обладнаний адаптером для дослідження зразків малих об'ємів та набором шпинделів TR (8-11), швидкість обертання від 1 до 200 об/хв.

Метод визначення структурної в'язкості базується на вимірюванні обертового моменту, необхідного для подолання опору, який чинить в'язка система обертанню шпинделя.

Принцип роботи віскозиметра Брукфільда базується на обертанні шпинделя, зануреного у випробувальний зразок. В'язкий опір зразка обертанню шпинделя визначається за зміною швидкості приводу. Вимір швидкості приводу визначається за допомогою датчика обертання. Діапазон вимірів віскозиметра у сантипаузах або паскалях на секунду визначається швидкістю обертання шпинделя, розміром і формою шпинделя, контейнером, в якому обертається шпиндель, і шириною діапазону крутильних моментів калібрувального приводу.

Реологічні дослідження експериментальних зразків (структурну в'язкість, напругу зсуву, швидкість зсуву) проводили при температурному режимі від 30 до 45 °С, шпинделях TR-8 та TR-11 для камери об'ємом 8,3 мл. Зразок у кількості 8,3 мл поміщали в камеру і опускали в неї шпиндель, який приводили в обертання.

Напругу зсуву та структурну (ефективну) в'язкість визначали за формулами:

$$\tau = C * \lambda, \quad (2.2)$$

де:  $\tau$  – напруга зсуву, Н/м<sup>2</sup>;

$C$  – константа циліндра Н/м<sup>2</sup>;

$\lambda$  – показник індикатора приладу.

$$\eta = \frac{\tau}{D}, \quad (2.3)$$

де:  $\eta$  – структурна (ефективна) вязкість, Па\*с;

$D$  – швидкість зсуву, сек<sup>-1</sup>.

#### 2.3.4. Мікробіологічні та біологічні дослідження

*Ідентифікацію* лактобактерій проводили бактеріоскопічно за мікроскопічною оцінкою мазків, пофарбованих за Грамом, що вказує на наявність бактерій з ознаками, характерними для даного штаму

мікроорганізмів. Бактеріологічний контроль вказує, що на твердому поживному середовищі повинні висіватись колонії з ознаками, характерними для даного штаму лактобактерій.

Дослідження проводили із використанням песаріїв, попередньо розтоплених в термостаті при 37°C протягом години. Розтоплені песарії, кожен зразок окремо, об'ємом 1 мл поміщали в стерильні пробірки і додавали попередньо нагрітій до температури (37±1)°C стерильний 0,9 % розчин натрію хлориду до загального обсягу 10 мл. Пробірки з песаріями поміщали на водяну баню при температурі (39±1)°C. Через 10-30 хв вміст пробірок перемішували до гомогенного стану, отримуючи розведення 1:10 (10<sup>-1</sup>). 100 мкл отриманої суспензії наносили на попередньо нагріті в термостаті до температури 37±1 °C чашки Петрі із селективним твердим поживним середовищем De man, rogosa and sharpe Agar (MRSA) (Merk, Німеччина).

*Кількісне визначення* лактобактерій проводили шляхом підрахунку колоній методом поверхневого висівання.

Дослідження проводили із використанням песаріїв, попередньо розтоплених в термостаті при 37°C протягом години. Розтоплені песарії, кожен зразок окремо, об'ємом 1 мл поміщали в стерильні пробірки і додавали попередньо нагрітій до температури (37±1)°C стерильний 0,9 % розчин натрію хлориду до загального обсягу 10 мл. Пробірки з песаріями поміщали на водяну баню при температурі (39±1)°C. Через 10-30 хв вміст пробірок перемішували до гомогенного стану, отримуючи розведення 1:10 (10<sup>-1</sup>). 100 мкл отриманої суспензії наносили на попередньо нагріті в термостаті до температури 37±1 °C чашки Петрі із селективним твердим поживним середовищем MRSA (Merk, Німеччина).

Після культивування при 37 °C протягом 24 год підраховували кількість колоній на чашці Петрі, враховуючи, що одна така колонія відповідає одній бактерії:

$$X = K * N * M, \quad (2.4)$$

де: X – кількість КУО,

K – коефіцієнт при посіві суспензії,

N – кількість колоній,

M – використовуване розведення.

*Контроль мікробіологічного забруднення* дослідних зразків песаріїв проводили одночасно із кількісним визначенням лактобактерій.

Додатково проводили висіви зразків на середовища для виділення умовно-патогенних мікроорганізмів: селективне середовище для стафілококів - Baird-Parker Agar (HiMedia, Індія); селективне середовище для стрептококів - KF-Streptococcus agar (HiMedia, Індія); селективне середовище для коліморфних бактерій - ЕНДО (HiMedia, Індія); селективне середовище для мікроскопічних грибів - Сабуро (HiMedia, Індія).

Використовували розведення песаріїв, що були приготовані, за тією ж методикою, що описана для кількісного визначення лактобактерій, після культивування за тих самих умов підраховували кількість колоній при їх позитивному рості.

*Адгезивні властивості* штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв з пробіотичною активністю, проводили за методикою Бриліс та співавторів на культурі букального епітелію.

Для характеристики ступеня адгезивності та адгезивних властивостей досліджуваних мікроорганізмів визначали середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт участі епітеліоцитів (КУЕ) та індекс адгезивності мікроорганізму (ІАМ). ІАМ розраховували як співвідношення показників СПА до КУЕ та множили на 100:

$$ІАМ = (СПА * 100) / КУЕ \quad (2.5)$$

Адгезивність вважали нульовою при СПА від 0 до 1,00; низькою – при СПА від 1,01 до 2,00; середньою від 2,01 до 4,00; високою – при СПА понад 4,01.

Штам мікроорганізмів вважали неадгезивним при ІАМ до 1,75 включно; низькоадгезивним – при ІАМ від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним – при ІАМ від 2,51 до 4,0; високоадгезивним – при ІАМ більше ніж 4,0.

*Антагоністичну активність* штаму *Lactobacillus casei* ІМВ В-7280, що входить до складу песаріїв з пробіотичною активністю, визначали методом перпендикулярних штрихів, використовуючи у якості тест-штамів *Staphylococcus aureus* 8325-4, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 25922 (F-50), *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATC 885-653 як класичні умовно-патогенні мікроорганізми та штаму *Staphylococcus aureus* 8325-4, за допомогою якого модифікувалась експериментальна патологія у лабораторних тварин.

Дослідні зразки песаріїв поміщали у стерильні пробірки і додавали стерильний 0,9 % розчин натрію хлориду, підігрітий до  $(37\pm 1)$  °С, пробірки поміщали на водяну баню і повністю розплавляли вміст при температурі  $(38\pm 1)$  °С. Після розплавлення вміст пробірок перемішували стерильною скляною паличкою для досягнення гомогенності, гідрофобну основу видаляли стерильною піпеткою. Таким методом приготувану суспензію висівали на чашки Петрі з середовищем MRS, проводячи по 2 паралельних штрихи по всьому діаметру чашки. Через 24 год підсівали тест-культури мікроорганізмів у перпендикулярному напрямку до росту мікроорганізмів.

Ступінь антагоністичної активності оцінювали за зонами затримки росту штамів тест-культур, вважаючи антагоністичну активність слабкою при зонах затримки росту 0-10 мм, середньою – при 10-20 мм, високою – при значеннях більше ніж 20 мм.

*Здатність до кислотоутворення* штаму *Lactobacillus casei* ІМВ В-7280, що входить до складу песаріїв з пробіотичною активністю, визначали методом кислотно-основного титрування. У якості титранта використовувався 0,1 М розчин натрію гідроксиду, у якості індикатора – 1 % розчин фенолфталеїну.

Дослідні зразки песаріїв вносили у пробірки із середовищем MRS та поміщали на водяну баню при температурі  $37\pm 1$  °С, потім розплавлений вміст пробірок гомогенізували і поміщали у термостат для інкубації протягом 48 год при такій же температурі, після чого стерильною піпеткою видаляли гідрофобну частину основи, та отримували суспензію для титрування шляхом ретельного перемішування вмісту та розбавлення водою очищеною.

Титрування проводять до появи слабо-рожевого забарвлення з потенціометричним контролем рівня рН. Показник кислотоутворення у градусах Тернера (°Т) визначали за формулою:

$$^{\circ}\text{T} = \text{A} * \text{K} * \text{V}, \quad (2.6)$$

де: А – кількість NaOH, який використано на титрування суспензії, мл;

К – поправочний коефіцієнт по NaOH;

V – об'єм суспензії для титрування, мл.

*Чутливість до антибіотиків та протигрибкових препаратів* штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв з пробіотичною активністю, визначали методом дифузії в агар на поживному середовищі, порівнюючи розміри зон затримки росту лактобактерій.

При зоні затримки росту до 10,9 мм штам вважають резистентними, при 11,0-15,9 мм – помірно чутливим та більше 16,0 мм – чутливим.

Дослідні зразки песаріїв поміщали у стерильні пробірки і додавали стерильний 0,9 % розчин натрію хлориду, підігрітий до  $(37\pm 1)$  °С, пробірки поміщали на водяну баню і повністю розплавляли вміст при температурі  $(38\pm 1)$  °С. Після розплавлення вміст пробірок перемішували стерильною скляною паличкою для досягнення гомогенності, гідрофобну основу видаляли стерильною піпеткою. Таким чином, отримували суспензію для культивування, яку наносили на агар у чашках Петрі. Після чого на поверхню розміщували диски, просочені антибіотиками або протигрибковими речовинами. Культивування проводили протягом 24 год у термостаті при температурі  $(37\pm 1)$  °С.

*Мікробіологічна чистота (МБЧ)* песаріїв з пробіотичною активністю визначалась згідно вимог монографії ДФУ 2.5 «Живі біотерапевтичні лікарські засоби для застосування людиною», с. 201-203 та ДФУ 2.5, п. 2.6.36, с.88-94 та п.2.6.38, с.94-100.

Дослідження проводили із використанням песаріїв, попередньо розтоплених в термостаті при 37°C протягом години. Розтоплені песарії, кожен зразок окремо, об'ємом 1 мл поміщали в стерильні пробірки і додавали попередньо нагрітій до температури (37±1)°C стерильний 0,9 % розчин натрію хлориду до загального обсягу 10 мл. Пробірки з песаріями поміщали на водяну баню при температурі (39±1)°C. Через 10-30 хв вміст пробірок перемішували до гомогенного стану, отримуючи розведення 1:10 (10<sup>-1</sup>).

Критеріями прийнятності для даної групи ЛЗ, що мають вагінальний шлях введення є: число забруднювальних аеробних мікроорганізмів (АМСС) не більше ніж 10<sup>2</sup> КУО/г; число забруднювальних дріжджових та плісневих грибів (УМСС) не більше ніж 10<sup>1</sup> КУО/г; відсутність *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans* в 1 г.

Для визначення показника АМСС використовувалось густе поживне середовище, що не містить цукру, а саме поживний агар (Hi-media, Індія), що інкубувалось в аеробних умовах протягом 72 год за температури 30-35 °C. Поживний агар є базовим густим живильним середовищем, на якому за вищевказаних умов лактобактерії розростаються повільно у вигляді дуже маленьких колоній, це дозволяє легко виявити присутність сторонніх забруднювальних мікроорганізмів, що на даному поживному середовищі розростаються швидше і у вигляді більш крупних колоній.

Для визначення показника УМСС застосовувалось поживне середовище агар Сабуро з декстрозою та хлорамфеніколом (Conda, Іспанія), що є селективним для культивування плісневих і дріжджових грибів. Інкубування проводилось за температури 20-25°C протягом 120 годин.

Перевірка песаріїв з пробіотичною активністю на наявність *Pseudomonas aeruginosa* проводилась з використанням цетримідного агару (Merck, Німеччина) за інкубування при температурі 30-35°C протягом 48 годин.

Відсутність *Staphylococcus aureus* у розробленому ЛЗ підтверджувалась висіванням зразку на манітно-сольовий агар (Conda, Іспанія) при умовах інкубації: температура 30-35°C, час – 48 годин.

Випробування песаріїв з пробіотичною активністю на наявність *Candida albicans* проводилось з використанням декстрозного агару Сабуро (Conda, Іспанія) з інкубації при температурі 30-35°C протягом 48 годин.

#### 2.3.5. Фармакологічні дослідження

*Місцева (специфічна) дія.* Дослідження місцевої дії песаріїв з пробіотичною активністю було проведено на 40 статевозрілих мишах-самицях лінії BALB/c масою 19-21 г віком 6-8 тижнів, віргільних та невагітних.

Тварини були поміщені до пластикових стандартних кліток, що комплектувалися пляшками для води. У кімнатах для утримання тварин дотримувалися наступних умов: температура – (20–24) °С, вологість повітря – (30–70) %, режим освітлення – 12 год світло/12 год темрява. Усім мишам надавався стандартний раціон для даного виду лабораторних тварин («Phoenix», Україна), питний режим ad libitum. У якості підстилки використовували тирсу вільхи, попередньо оброблену автоклавуванням. Усі миші попередньо були зважені, пронумеровані, позначені з використанням 1 % спиртового розчину діамантового зеленого і поміщені в клітки для акліматизації протягом 7 діб у лабораторному приміщенні.

Тварин було розподілено на чотири групи (по 10 особин в кожній): I - інтактні тварини (ІК), II - тварини з модельованим БВ – контрольна патологія (КП), III – тварини з КП, яким інтравагінально вводили песарії під умовною



назвою «Лактовагін», IV – тварини з КП, яким інтравагінально вводили препарат порівняння.

БВ, спричинений експериментальною стафілококовою інфекцією, мишам II, III та IV груп моделювали шляхом інтравагінального одноразового введення піпетковим дозатором суспензії штаму *Staphylococcus aureus* 8325-4 із плазмідною стійкістю до антибіотику (гентаміцину), який входить до Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України.

Як препарат порівняння застосовувались тверді желатинові капсули «Біоселак», що містить *Lactobacillus rhamnosus* 573 близько  $10^{10}$  (не менше  $10^8$ ) КУО (реєстраційне посвідчення № UA/17194/01/01, серія 16820003, термін придатності до 10.2022 року).

ЛЗ тваринам вводили за наступною методикою: до песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» (для тварин III групи) або вмісту твердих капсул «Біоселак» (для тварин IV групи) додавали попередньо підігрітий до  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$  0,9 % розчин натрію хлориду у кількості 0,5 мл на один тест-зразок, витримували на водяній бані при температурі до  $37^\circ\text{C}$  та перемішували до гомогенного стану. Отриману суспензію у кількості 50 мкл інтравагінально вводили дослідним мишам 1 раз на добу протягом 10 днів за допомогою шприца з насадкою.

*Гостра токсичність.* Дослідження проводили на 40 мишах-самицях лінії BALB/c віком 6-8 тижнів, вагою 19-21 г, віргільних та невагітних.

Тварини були поміщені до пластикових стандартних кліток, що комплектувалися пляшками для води. У кімнатах для утримання тварин дотримувалися наступних умов: температура –  $(20-24)^\circ\text{C}$ , вологість повітря –  $(30-70)\%$ , режим освітлення – 12 год світло/12 год темрява. Усім мишам надавався стандартний раціон для даного виду лабораторних тварин («Phoenix», Україна), питний режим ad libitum. У якості підстилки використовували тирсу вільхи, попередньо оброблену автоклавуванням. Усі миші попередньо були зважені, пронумеровані, позначені з використанням 1

% спиртового розчину діамантового зеленого і поміщені в клітки для акліматизації протягом 7 діб у лабораторному приміщенні.

Лабораторних тварин було розподілено на наступні групи (по 8 тварин у кожній): I – тварини, яким інтравагінально вводилась основа песаріїв; II – тварини, яким інтравагінально вводили песарії під умовною назвою «Лактовагін», III – тварини, яким внутрішньошлунково вводили основу песаріїв, IV – тварини, яким внутрішньошлунково вводили песарії під умовною назвою «Лактовагін», V – ІК.

Готували дослідні зразки песаріїв із максимально допустимою дозою АФІ - 5000 мг/кг та окремо виливали супозиторну основу. До дослідних зразків та супозиторної основи додають попередньо підігрітий до  $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$  0,9 % розчин натрію хлориду у кількості 0,5 мл на один тест-зразок, витримують на водяній бані при температурі до  $37^{\circ}\text{C}$  та перемішують до гомогенного стану.

За допомогою шприца із насадкою мишам дослідних груп інтравагінально або внутрішньошлунково вводились тест-зразки у кількості 50 мкл. За тваринами після однократного введення досліджуваного ЛЗ спостерігали 14 діб.

*Статистична обробка* результатів досліджень здійснювалась методами варіаційної статистики з урахуванням вимог ДФУ 2.2, п.5.3N1, с. 77-113. Перевірку розподілу значень на нормальність визначали за критерієм Шапіро-Уїлка. У разі нормального закону розподілу кількісні ознаки двох груп аналізувались з використанням параметричного t-критерію Стьюдента, а у разі закону розподілу, що відмінний від нормального - за непараметричними критерієм Вілкоксона-Мана-Уїтні. Порівняння якісних ознак груп проводилось за допомогою критерію хі-квадрат з аналізом таблиць спряженості. Для порівняння незалежних змінних у різних групах застосовувались методи однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA за критерієм Шеффе та Даннета у разі нормального закону розподілу та за

критерієм Дана та Крускала-Уоліса у разі відмінності закону розподілу від нормального. У разі нормального закону розподілу точкову оцінку результатів представляли у вигляді середніх значень та стандартного квадратичного відхилення ( $\bar{x} \pm SD$ ), у разі закону розподілу, відмінного від нормального – медіани ( $Me$ ) та кuartилів ( $Q_1, Q_3$ ). Дані вважались статистично значимими при рівні значущості  $p < 0,05$ . Для статистичної обробки даних використовувалось спеціалізоване ліцензійне програмне забезпечення MedStat v.5.2 [148-153].

## Висновки до розділу 2

1. Охарактеризовано загальну концепцію та алгоритм фармацевтичної розробки ЖБЛЗ у формі песаріїв для лікування та профілактики дисбіотичних порушень жіночого урогенітального тракту.

2. Визначено об'єкти дослідження та наведено загальну характеристику властивостей субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 як АФІ та допоміжних речовин, що використовувались при розробці песаріїв з пробіотичною активністю.

3. Представлено методи досліджень та охарактеризовано методики, що застосовувались для розробки оптимального складу, раціональної технології та контролю якості нового ЖБЛЗ у формі песаріїв.

## РОЗДІЛ 3. ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ПЕСАРІЇВ З ПРОБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ

### 3.1. Аналіз фармацевтичного ринку України лікарських засобів для вагінального застосування

Якісно та ефективно працююча система охорони здоров'я держави значно впливає на якість життя населення, а застосування доступних ефективних ЛЗ, в тому числі з профілактичною метою, сприяє не лише покращенню рівня здоров'я населення, а й зменшенню витрат на охорону здоров'я в цілому [154].

Відомо, що асортимент ЛЗ на фармацевтичному ринку України у більшій мірі представлений препаратами-генериками та ЛЗ іноземного виробництва. Окрім того, асортимент зареєстрованих препаратів постійно змінюється, що пов'язано з економічною ситуацією в державі, попитом на певні групи ЛЗ та ТН. Якісний препарат вітчизняного виробництва, що фізично та економічно доступний для населення, характеризується високою конкурентоспроможністю на ринку. Тому, розробка ЛЗ вітчизняного виробництва є актуальним питанням сучасної фармацевтичної науки.

Нами було проаналізовано асортимент ЛЗ для вагінального застосування на фармацевтичному ринку України [155]. У результаті аналізу встановлено, що станом на 30.06.2021 р. на українському фармацевтичному ринку зареєстровано 142 ЛЗ, що призначені для вагінального застосування, з урахуванням ЛФ, дозування АФІ та умов відпуску, 100 ТН та 26 міжнародних непатентованих назв (МНН). Близько 15 % препаратів за даними Державного реєстру не мають МНН, для них представлені дані щодо синонімічних найменувань.

Структурний аналіз за АТС-класифікацією показав, що близько 96 % ЛЗ (94 ТН), що призначені для вагінального застосування, належать до АТС-групи G «Засоби, що впливають на сечостатевою систему та статеві гормони»,

решта 6 ТН – до групи D «Дерматологічні засоби». Проведений внутрішньогруповий аналіз встановив, що досліджувана категорія ЛЗ належить до трьох підгруп АТС- групи G: G01 «Протимікробні та антисептичні засоби, що застосовуються в гінекології» (65,5 %), G02 «Інші гінекологічні засоби» (16,9 %) та G03 «Гормони статевих залоз і препарати, що застосовуються при патології статевої сфери» (13,4 %), а також двох підгруп АТС-групи D: D06 «Антибіотики і хімотерапевтичні препарати для застосування в дерматології» (0,7 %) та D08 «Антисептичні і дезінфікуючі засоби» (3,5 %).

Першу рангову позицію займає підгрупа G01A «Протимікробні та антисептичні засоби, що застосовуються в гінекології, за виключенням комбінованих препаратів, які містять кортикостероїди» (62,7 % ЛЗ, 65 ТН, 16 МНН), другий ранг - підгрупа G03D «Гестагени» (10,6 % ЛЗ, 6 ТН, 1 МНН), третій ранг – підгрупа G02B «Контрацептиви для місцевого застосування (9,2 % ЛЗ, 13 ТН, 3 МНН), четверта позиція належить підгрупі G02C «Інші засоби, що застосовуються в гінекології» (6,3 %, 7 ТН, 2 МНН), серед яких 1 ТН «Протефлазид», супозиторії згідно даних Державного реєстру ЛЗ також належить до підгрупи J05A «Противірусні засоби прямої дії» (табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

### Структура асортименту ЛЗ для вагінального застосування згідно з АТС- класифікацією

Підгрупа за АТС- класифікацією	Кількість								
	МНН	ТН	ЛЗ						
			всього			з них, вітчизняного виробництва		з них, іноземного виробництва	
			абс.	відн., %	ранг	асб	відн., %	абс	відн., %
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
G01A	16	65	89	62,7	1	39	43,8	50	56,2
G01B	-	4	4	2,8	6	-	-	4	100,0
G02A	1	2	2	1,4	7	-	-	2	100,0
G02B	3	8	13	9,2	3	5	38,5	8	61,5
G02C	2	6	9	6,3	4	2	2,2	7	77,8
G02C, J05A	-	1							
G03C	2	2	4	2,8	6	-	-	4	100,0

## Продовження таблиці 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
G03D	1	6	15	10,6	2	2	13,3	13	86,7
D06B	-	1	1	0,7	8	-	-	1	100,0
D08A	3	5	5	3,5	5	2	40,0	3	60,0
Усього			142	100		50	35,2	92	64,8

Оскільки МНН Chlorhexidine та Povidone-iodine, а також ТН «Бетадин®» та «Бетадине®» представлені у підгрупах G01A і D08A, що не дозволяє коректно провести розрахунки, тому структуризація АТС-підгруп у відсотковому співвідношенні для МНН та ТН не проводилась. ЛЗ АТС-групи D, а також 4 ТН підгруп G01A та G03D, згідно інструкцій до медичного застосування мають декілька способів застосування, включаючи вагінальний шлях введення.

Наступним етапом дослідження була сегментація ринку за виробничою ознакою. Встановлено, що 64,8 % ЛЗ для вагінального застосування іноземного виробництва, відповідно 35,2 % - вітчизняного. Внутрішньогруповий аналіз за виробничою ознакою (табл. 3.1) демонструє, що підгрупи G01B, G02A, G03C, D06B представлені лише препаратами іноземного виробництва, кожна з інших досліджуваних підгруп в більшій мірі також представлена препаратами іноземних країн-виробників (від 56,2 % до 86,7 %).

Аналіз асортименту іноземних ЛЗ за країнами-виробниками показав, що лідируючу позицію займає Індія - 22,8 % серед препаратів іноземного виробництва та 14,8 % серед усієї номенклатури зареєстрованих ЛЗ для вагінального застосування. Також у відсотковому співвідношенні на фармацевтичному ринку домінують ЛЗ країн-виробників Італія та Франції по 12,0 % та Польщі 10,9 %, серед загальної кількості зареєстрованих ЛЗ для вагінального застосування – по 7,7 % та 7,0 % відповідно (рис. 3.1).

Серед асортименту ЛЗ індійського виробництва переважають ЛЗ компанії-виробника «Кусум хелтхкер ПВТ ЛТД» (61,9 %).

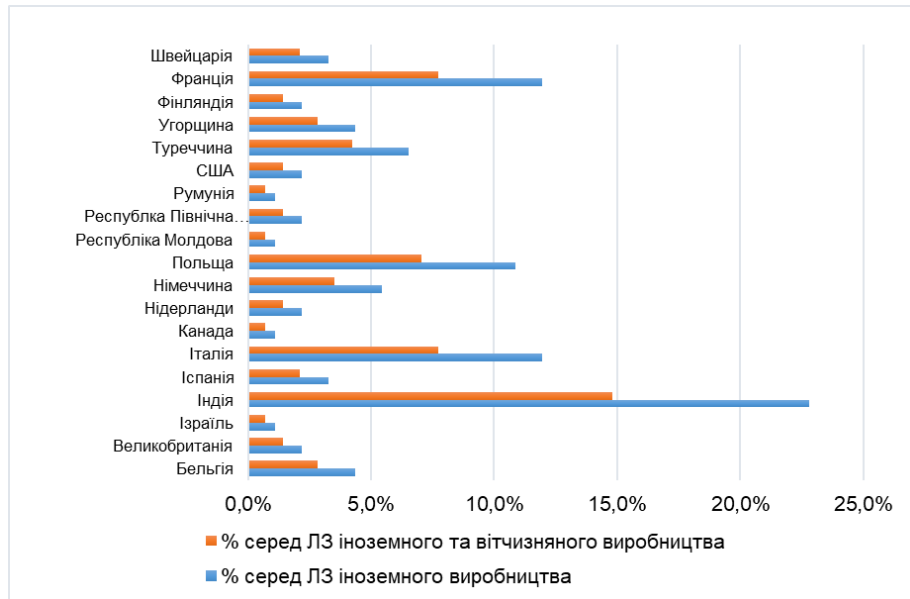


Рис. 3.1. Аналіз ЛЗ для вагінального застосування іноземного-виробництва за країнами-виробниками

Номенклатуру вітчизняних ЛЗ для вагінального застосування формують препарати 14 фармацевтичних підприємств України, серед яких найбільша частка асортименту ЛЗ належить наступним виробникам: ПрАТ «Лекхім – Харків» (24 %), ТОВ «Фармекс груп» (20 %), ПАТ «Монфарм» та спільне українсько-іспанське підприємство «Сперко Україна» (по 14 %) (рис.3.2).

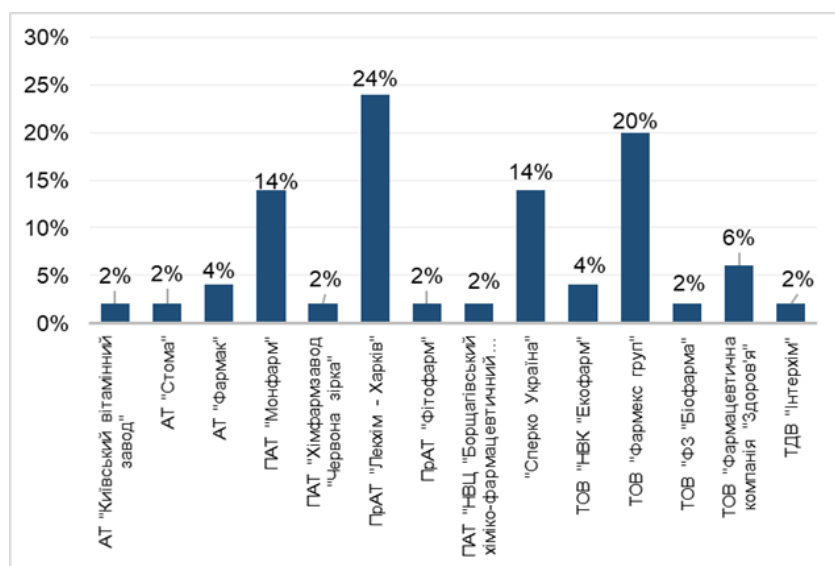


Рис. 3.2. Аналіз ЛЗ для вагінального застосування вітчизняного виробництва за підприємствами-виробниками

Зауважимо, що 3 ЛЗ зареєстровані під однією ТН «Клотримазол» (вагінальні таблетки). Дані препарати виробляються наступними підприємствами: ПАТ «НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна; Евертоджен Лайф Саенсиз Лімітед, Індія; ГлаксоСмітКляйн Фармасьютікалз С.А., Польща. Також 2 ЛЗ вітчизняного виробника ПАТ «Монфарм» та іноземного - ТОВ «Фармапрім», Республіка Молдова зареєстровані з однією ТН «Метронідазол» (супозиторії вагінальні/ песарії).

Сегментація асортименту за видом ЛФ продемонструвала, що на фармацевтичному ринку ЛЗ для вагінального застосування домінують тверді ЛФ (81,7 %), другу позицію займають м'які ЛФ (11,3 %), наступне місце належить рідким ЛФ – 5,6 % і найменше в асортименті ЛФ під тиском – 1,4 % (табл. 3.2).

Серед твердих ЛФ лідируючі позиції займають песарії та супозиторії для вагінального застосування – 57,8 %, вагінальні таблетки – 23,3 % та капсули для вагінального застосування – 14,7 %. Тверді ЛФ такі як вагінальне кільце, внутрішньоматкова система та гранули для приготування вагінального розчину представлені невеликою кількістю ЛЗ (по 1,7 % та 0,9 % відповідно).

Асортимент м'яких ЛФ представлений кремами для вагінального застосування – 62,5 % та вагінальними гелями – 37,5 %, серед яких 1 ЛЗ призначений для ендоцервікального введення.

Рідкі ЛФ включають розчини, з яких 25 % призначені для вагінального застосування, решта 75 % зареєстровані як розчини для місцевого, наскірного або зовнішнього застосування.

Пропозиція ЛФ, що знаходяться під тиском, для вагінального застосування представлена всього 2 ЛЗ, серед яких 1 ТН – аерозоль (50 %) та 1 ТН – спрей (50 %).

У таблиці 3.2 також представлений відсотковий розподіл загального асортименту ЛЗ для вагінального застосування по кожному виду ЛФ.



Таблиця 3.2.

**Структура асортименту ЛЗ для вагінального застосування за видом ЛФ**

№ п/п	Вид ЛФ	Кількість					Рангова позиція	
		МНН	ТН	ЛЗ				
				абс.	відн., %	відн. серед усіх ЛЗ, %		
<b>Тверді ЛФ</b>								
1	Таблетки вагінальні	6	18	27	23,3	19,0	2	
2	Капсули вагінальні	5	12	10	17	14,7	12,0	3
	Капсули			6				
	Емульсія вагінальна у капсулах			1				
3	Гранули для приготування вагінального розчину	1	1	1	0,9	0,7	5	
4	Кільце вагінальне	1	1	2	1,7	1,4	4	
5	Внутрішньоматкова система	1	2	2	1,7	1,4	4	
6	Супозиторії вагінальні	14	50	41	67	57,8	47,2	1
	Песарії			21				
	Супозиторії			5				
Усього				116	100,0	81,7	1	
<b>Рідкі ЛФ</b>								
1	Розчин для вагінального застосування	2	2	2	25,0	1,4	2	
2	Розчин для зовнішнього/ місцевого/ нашкірного застосування	3	6	6	75,0	4,2	1	
Усього				8	100,0	5,6	3	
<b>М'які ЛФ</b>								
1	Крем вагінальний	8	9	10	62,5	7,0	1	
2	Гель вагінальний	4	4	5	6	37,5	4,3	2
3	Гель для ендоцервікального введення	1	1	1				
Усього				16	100,0	11,3	2	
<b>ЛФ під тиском</b>								
1	Аерозоль	1	1	1	50,0	0,7	1	
2	Спрей	-	1	1	50,0	0,7	1	
Усього				2	100,0	1,4	4	

Домінуючі позиції на фармацевтичному ринку досліджуваної групи ЛЗ займають песарії/супозиторії – 47,2 %, вагінальні таблетки -19 % та капсули для вагінального застосування – 12 %. Також встановлено, що 15 ТН на ринку зареєстровані у вигляді 36 різних ЛФ або ЛФ з різною дозою діючої речовини. Сегментація досліджуваної групи ЛЗ за умовами відпуску встановила, що 51,4 % препаратів відпускаються за рецептом, 45,1 % є безрецептурними. А 5 ЛЗ (3,5 %) вітчизняного виробництва під ТН «Сантеквін», «Повидин», «Кліорон», «Хінофуцин», «Евколек» зареєстровані у вигляді твердої ЛФ супозиторії з умовами відпуску in bulk. За складом 76,1 % ЛЗ містять лише один АФІ, 23,9 % є комбінованими препаратами.

Для визначення асортиментного макроконтурі досліджуваної групи ЛЗ, також проведений аналіз термінів придатності ЛЗ для вагінального застосування, який свідчить, що 44,4 % даних препаратів мають термін придатності 3 роки (36 місяців), 43,7 % - 2 роки (24 місяці), значно менше ЛЗ (по 4,9 %) зареєстровані з терміном придатності 4 роки (48 місяців) або 5 років (60 місяців), 1,4 % - 40 місяців, а 1 ТН «Октенісепт» (0,7 %) має термін придатності 3 або 5 років в залежності від об'єму флакону.

Враховуючи отримані результати, на наступному етапі дослідження було побудовано асортиментний макроконтур ЛЗ для вагінального застосування на фармацевтичному ринку України (рис. 3.3), який вказує на те, що досліджувана група ЛЗ у 62,7 % представлена підгрупою G01A «Протимікробні та антисептичні засоби, що застосовуються в гінекології, за виключенням комбінованих препаратів, які містять кортикостероїди» за АТС-класифікацією. Більш ніж 80 % асортименту ЛЗ для вагінального застосування зареєстровані у вигляді твердих ЛФ, при тому, що майже половина (47,2 %) є препаратами, що випускаються у формі супозиторіїв або песаріїв. Майже 65 % вагінальних препаратів іноземного виробництва, 14,8 % асортименту представлені препаратами, виробником яких є Індія. Близько 76 % ЛЗ для вагінального застосування містять лише 1 діючу речовину, трохи більше половини є рецептурними препаратами. У 44,4 % ЛЗ для

вагінального застосування встановлений термін придатності 3 роки (36 місяців).

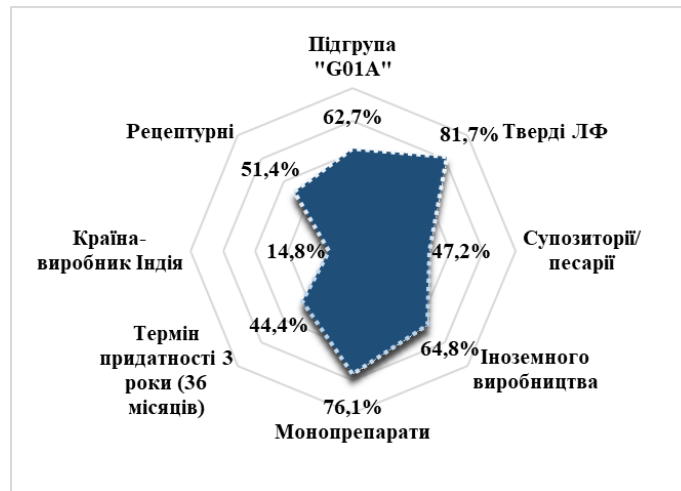


Рис. 3.3 Макроконтур ЛЗ для вагінального застосування на вітчизняному фармацевтичному ринку

Наступним етапом даного дослідження був детальний аналіз ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю. Встановлено, що станом на 30.06.2021 року, зареєстровано всього 3 ЛЗ (3 ТН) біологічного походження, що призначені для вагінального введення (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

### Структура асортименту ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю

№ п/п	ТН	Код АТС	АФІ, дозування	ЛФ	Виробник
1	Біоселак	G02CX	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 573, $10^{10}$ (не менше $10^8$ ) КУО в 1 капсулі	капсули вагінальні	ІБС Біомед С.А., Польща
2	Вагілак	G02CX	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , 4 млрд КУО в 1 капсулі	капсули вагінальні	Фармасайнс Інк., Канада
3	Гінофлор	G01AX14	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , 100 млн життєздатних бактерій, 0,03 мг естріолу в 1 таблетці	таблетки вагінальні	Медінова АГ, Швейцарія

ТН «Біоселак» та «Вагілак» зареєстровані під АТС-кодом G02C «Інші засоби, що застосовуються в гінекології». Згідно з інструкціями до медичного застосування даних ЛЗ до показань належать: «профілактика та лікування вагінозів різного походження (трихомонадних, бактеріальних, грибкових), профілактика дисбіозу піхви різної етіології, у тому числі бактеріального вагінозу тощо». ТН «Гінофлор» належить до підгрупи G01AX «Інші антимікробні та антисептичні засоби» за АТС-класифікацією. Оскільки даний ЛЗ, окрім штамів пробіотичних бактерій, містить естріол, показаннями до його використання є також «атрофічний вагініт, спричинений недостатністю естрогену під час менопаузи та постменопаузального періоду, або як супутній засіб при системній гормональній замісній терапії».

Усі ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю є препаратами іноземного виробництва, що відпускаються без рецепту та зареєстровані у вигляді твердих ЛФ, з яких 2 ТН у формі капсул вагінальних та 1 ТН – вагінальні таблетки.

ЛЗ «Біоселак» є монопрепаратом без МНН, з синонімічним найменуванням «Моно», а препарати «Вагілак» та «Гінофлор» - комбіновані ЛЗ, відповідно без МНН, з синонімічним найменуванням «Comb drug».

Термін придатності ТН «Біоселак» становить 2 роки (24 місяці), а ТН «Вагілак» та «Гінофлор» мають термін придатності 3 роки (36 місяців). Всі ЛЗ зберігаються при температурі від 2 до 8 °С.

Пропозиція ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю на фармацевтичному ринку України є досить обмеженою, що свідчить про актуальність розробки нових ЛЗ даного профілю. Проте на даному етапі ми також проаналізували цінову кон'юнктуру ринку досліджуваних препаратів, розрахувавши  $C_{liq}$  для оптових та роздрібних цін станом на 30.06.2021 р. (таблиця 3.4). Для розрахунків використовувались оптові пропозиції основних дистриб'юторів на ринку України та роздрібні ціни аптек м. Києва [156].

Таблиця 3.4

**Цінова кон'юнктура фармацевтичного ринку ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю**

№ п/п	ТН, пакування	ОВЦ	Оптова ціна		C <sub>liq</sub> оптової ціни	Роздрібна ціна		C <sub>liq</sub> роздрібною ціни
			мін	макс		мін	макс	
1	Біоселак, блістер № 10	234,33	241,92	255,63	0,1	202,63	322,0	0,59
2	Вагілак, флакон № 10	170,21	173,96	199,32	0,15	178,90	297,77	0,66
3	Гінофлор, блістер № 6	-	245,61	287,65	0,17	252,19	400,95	0,59
4	Гінофлор, 2 блістера № 6	-	416,52	483,16	0,16	430,67	688,05	0,6

Встановлено, що максимальна оптова ціна для ТН «Біоселак» майже на 10 % вища від ОВЦ, а для ТН «Вагілак» вища на 17 %. Для ТН «Гінофлор» відсутні ОВЦ в реєстрі. C<sub>liq</sub> оптових цін коливаються від 0,1 до 0,17, що вказує на відносно адекватну цінову конкуренцію.

C<sub>liq</sub> роздрібних цін для всіх ТН становили 0,59-0,66, що свідчить про коливання цін більше ніж на 50 % на ЛЗ з пробіотичною активністю для вагінального застосування та недостатній вплив регуляторної політики держави на ціноутворення даної групи препаратів. Також високі показники C<sub>liq</sub> свідчать про низьку конкуренцію ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю на фармацевтичному ринку та не характеризують економічну доступність даних препаратів для населення.

З точки зору ретроспективного аналізу варто зазначити, що в цілому асортимент ЛЗ для вагінального застосування на фармацевтичному ринку України характеризується сталістю. Проте спостерігається зменшення пропозиції ЛЗ для вагінального використання з пробіотичною активністю. Так, станом на 01.09.2019 року, окрім ТН «Біоселак», «Вагілак» та «Гінофлор», також були зареєстровані ще 2 препарати для вагінального застосування, що містять пробіотичні штами бактерій, а саме: ТН «Феміваг» та «Ековаг» у формі вагінальних капсул, термін діє реєстраційного

посвідчення яких закінчився 24.06.2021 року. Раніше, а саме 10.08.2017 року, закінчилась реєстрація ТН «Гінолакт», а 22.01.2014 року ТН «Екофемін», що випускались також у вигляді капсул для вагінального застосування.

При формуванні асортиментної бази ЛЗ для вагінального застосування, виявлено, що деякі препарати, які згідно з інструкціями до медичного застосування використовуються лише вагінально, не містять уточнювальної інформації стосовно виду ЛФ у реєстраційних даних. Так, ТН «Деказоль» зареєстрований як аерозоль, «Солковагін» - розчин, «Прогинорм геста» - капсули, «Протефлазід» - супозиторії. Тому, на нашу думку, доцільним є введення конкретних вимог стосовно зазначення способу застосування ЛФ при реєстрації ЛЗ, що дозволить покращити структуру асортименту препаратів на фармацевтичному ринку.

Варто звернути увагу на те, що лише 21 ЛЗ зареєстрований як песарії, а 41 ЛЗ згідно даних реєстру є вагінальними супозиторіями, що демонструє невідповідність сучасній номенклатурі та класифікації ЛФ.

Оскільки фармацевтичний ринок ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю налічує лише 3 препарати, нами також було проаналізовано асортимент ДД (Online довідник «Компендіум»), що містять штами бактерій та застосовуються при патологіях жіночої сечостатевої системи [157].

Нами було проаналізовано групу 10 «Дієтичні добавки до продуктів харчування, що підтримують функцію сечостатевої системи». У результаті аналізу було встановлено, що підгрупи 10.3 «Дієтичні добавки для підтримки функції і зниження ризику загострень запальних захворювань сечостатевої системи» та 10.4 «Дієтичні добавки, що сприяють нормалізації та підтримці нормальної мікрофлори» налічують 11 ДД з пробіотичними бактеріями, ще 6 засобів належать до інших груп (додаток Б).

Встановлено, що майже 30 % даних засобів вітчизняного виробництва, решта – представлені такими країнами-виробниками: Швейцарія, Хорватія, Індія, Франція (по 16,7 %) та Чехія, Португалія,

Польща, Італія (по 8,3 %). 17,65 % засобів є монопрепаратами, решта – комплексні, лише в інструкції по застосуванню вагінального гігієнічно-профілактичного засобу «Лактоваг» вказано, що до складу входять молочнокислі бактерії, без вказівки конкретних штамів.

З даних засобів 9 (близько 53 %) містять лише пробіотичні як моно-, так і декілька штамів лактобактерій, 7 (близько 41 %) засобів містять комбінації лакто- та біфідобактерій та лише 1 засіб не містить бактерій даного виду. Всі проаналізовані засоби представлені у вигляді твердих ЛФ (рис. 3.4).

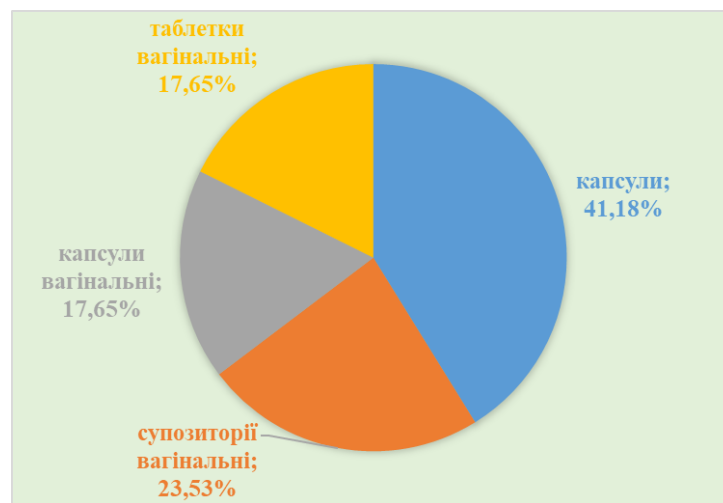


Рис.3.4. Аналіз дієтичних добавок з пробіотичними властивостями, що застосовуються при гінекологічних патологіях, за видом лікарської форми

Все ж таки більшість наявних на ринку препаратів з пробіотичною дією для вагінального використання не мають статусу «лікарського засобу», що не дає змогу у повній мірі характеризувати їхню якість, а відповідно і ефективність.

Отже, в результаті аналізу встановлено, що на фармацевтичному ринку України відсутні ЛЗ з пробіотичною активністю у формі песаріїв, хоча серед загального асортименту вагінальних препаратів дана ЛФ домінує. При формуванні асортиментної бази виявлено, що 4 ТН зареєстровані як ЛФ, що не вказують на вагінальний спосіб застосування, а 41 ЛЗ зареєстрований як вагінальні супозиторії, що не відповідає номенклатурі та класифікації ЛФ.

Розрахунки Сіq не дають змогу характеризувати зареєстровані ЛЗ для вагінального застосування з пробіотичною активністю як економічно доступні. Асортимент ДД, що містять штами бактерій та застосовується при патологіях жіночої сечостатевої системи на 25 % представлений формами для вагінального застосування, проте відсутні розробки песаріїв, що містять *Lactobacillus casei* як пробіотичний штам, що підтверджує актуальність розробки ЖБЛЗ для лікування та профілактики вагінальних дисбіозів.

### 3.2 Розробка складу песаріїв з пробіотичною активністю

#### 3.2.1 Обґрунтування способу введенні субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280

Вивчення фізико-хімічних та технологічних властивостей субстанцій має велике значення при розробці високоефективних ЛЗ та безпосередньо впливає на параметри технологічного процесу [158].

Встановлено, що штам *Lactobacillus casei* IMB B-7280 є високоадгезивним, стійким до дії жовчі, ферментів травлення, фенолу, проявляє стійкість до антибактеріальних препаратів та може застосовуватись для створення лікувальних, лікувально-профілактичних та профілактичних медичних і ветеринарних препаратів з пробіотичною активністю [143, 144].

Досліджувана субстанція *Lactobacillus casei* IMB B-7280 за органолептичними властивостями є ліофілізованим порошком сіро-коричневого кольору з незначним характерним запахом, тому першим етапом нашого дослідження було вивчення кристалографічних характеристик порошку.

За результатами мікроскопії (рис.3.5), порошок складається з кристалів та їхніх уламків анізодіаметричної форми у вигляді пластин світло- та темно-коричневого кольору з шорсткуватою поверхнею та ламаними краями. Лінійний розмір частинок варіює від 0,7 до 3,0 мкм,  $K = 0.5$  ( $p < 0,05$ ).



При зберіганні для даного порошку характерне грудкування та здатність до агломерації.



Рис. 3.5. Мікроскопічний аналіз субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280

Відповідно до фізико-хімічних законів розчинність є спонтанним мимовільним кінетичним процесом, що відбувається при зіткненні частинок твердої фази з розчинником. Тверді частинки при змочуванні взаємодіють з розчинником, таким чином, утворюючи сольвати або їхні асоціати [159].

Тому наступним етапом нашого дослідження для обґрунтування способу введення субстанції в основу стало визначення розчинності *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у різних розчинниках (співвідношення 1:5): полісорбат-80, олія персикова, 1,2-пропіленгліколь, ПЕГ-400, вазелінова олія, гліцерин, вода очищена.

Оскільки субстанція з пробіотичною активністю є термолабільною речовиною, яку не рекомендовано нагрівати вище 45°C, розчинення відбувалося при температурі 20°C із перемішуванням за допомогою якірної мішалки зі швидкістю обертів 100 хв<sup>-1</sup>. Проби відбирались через 5, 10, 15, 20, 25 та 30 хв після початку процесу перемішування. На рис. 3.6 зображені мікрофотографії досліджуваного порошку у вищезазначених розчинниках через 5 хв після перемішування.

Встановлено, що субстанція *Lactobacillus casei* IMB B-7280 повністю не розчиняється у всіх розчинниках протягом 5 хв після початку процесу розчинення.

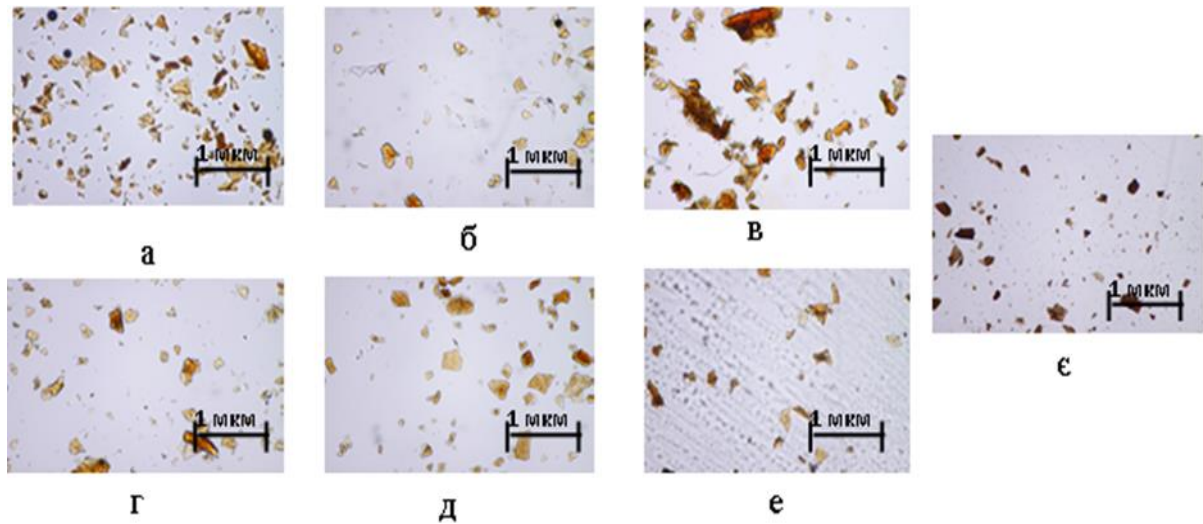


Рис. 3.6. Мікрофотографії *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у різних розчинниках: (а)- полісорбат-80; (б) – персикова олія; (в) – 1,2-пропіленгліколь; (г) – ПЕГ-400; (д) –вазелинова олія; (е) – гліцерин; (є) – вода очищена

Полісорбат-80 незначно зменшує агломерацію частинок порошку, спостерігається помірне змочування, що практично не впливає на розчинність частинок, їхні лінійні розміри майже не змінюються, але частинки більш рівномірно розподіляються у даному розчиннику.

Визначення розчинності *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у персиковій олії демонструє, що частинки гарно змочуються, добре розподіляються, але мало розчиняються у даному розчиннику, кристали змінюють своє забарвлення, проте лінійні розміри частинок зменшуються до 0,5-2 мкм.

При дослідженні розчинності субстанції з пробіотичною активністю у 1,2-пропіленгліколі виявлено, що у даному розчиннику частинки порошку утворюють агломерати більших лінійних розмірів у порівнянні з розмірами частинок сухого порошку *Lactobacillus casei* IMB B-7280.

Результати мікроскопії досліджуваної субстанції у ПЕГ-400 демонструють аналогічні результати розчинення як у персиковій олії, але розчинення відбувається менш інтенсивно та поодинокі частинки мають незначно більші лінійні розміри, ніж частинки порошку у персиковій олії.

Визначення розчинення субстанції з пробіотичною активністю у вазеліновій олії свідчить про погане змочування порошку даним розчинником, на поверхні частинок спостерігаються краплі розчинника, а їхні лінійні розміри не змінюються.

Гліцерин не впливає на лінійні розміри частинок досліджуваного порошку та практично їх не змочує, частинки погано розподіляються у середовищі даного розчинника.

Мікроскопічне дослідження субстанції з пробіотичною активністю у воді очищеній демонструє значне зниження агломерації та зменшення розміру частинок порошку до 0,2 мкм, що свідчить про гарну змочуваність та покращення розподілу субстанції у воді, але протягом 5 хв перемішування субстанція повністю не розчиняється, в полі зору спостерігаються поодинокі кристали, що вказує на помірну поступову розчинність досліджуваного порошку у воді очищеній.

Результати визначення розчинності досліджуваного порошку у вищевказаних розчинниках через 10, 15, 20, 25 та 30 хв перемішування не відрізнялась від описаних результатів розчинності, що фіксувались через 5 хв від початку процесу.

Отже, повнота розчинення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у різних розчинниках є різною та зменшується відповідно до ряду: вода очищена > олія персикова > ПЕГ-400 > полісорбат-80 > вазелінова олія > гліцерин > 1,2-пропіленгліколь.

Розчинність характеризує кількість речовини (в г) необхідна для насичення 100 г розчинника [159].

Результати дослідження розчинності субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у полісорбаті-80, олії персиковій, 1,2-пропіленгліколі, ПЕГ-400, вазеліновій олії, гліцерині, воді очищеній представлені у таблиці 3.5.

**Результати дослідження розчинності субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280**

Розчинник	Результати дослідження
1,2-пропіленгліколь	практично не розчинний (1:10000)
гліцерин	дуже мало розчинний (1:9000)
вазелинова олія	дуже мало розчинний (1:7000)
полісорбат-80	дуже мало розчинний (1:5000)
ПЕГ-400	мало розчинний (1:1000)
олія персикова	мало розчинний (1:800)
вода очищена	розчинний (1:20)

На змочування твердих частинок значно впливає характер, наявність мікротріщин та інших дефектів їхньої поверхні, тому раціональним є додаткове подрібнення речовини у середовищі розчинника з додаванням ПАР для запобігання адсорбції повітря, що може негативно впливати на процес розчинення в цілому [159].

Оскільки частинки досліджуваного порошку мають здатність до агломерації, субстанцію у сухому стані було подрібнено на лабораторному млині до утворення візуально однорідного порошку із розміром частинок 0,5-1,0 мкм та проведено визначення розчинності подрібненої субстанції у воді очищеній як найоптимальнішому розчиннику за попередніми даними.

Результати проведення розчинності попередньо подрібненої *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у порівнянні з розчинністю неподрібненої субстанції у воді очищеній майже не відрізняються, так само спостерігається зменшення розміру частинок порошку до 0,2 мкм, але розподіл частинок у середовищі розчинника більш рівномірний.

Враховуючи те, що попереднє подрібнення *Lactobacillus casei* IMB B-7280 не впливає на зменшення лінійних розмірів частинок у середовищі розчинника подрібнення до меншого розміру частинок (менше 0,5 – 1,0 мкм) не є раціональним.

Нами також було проведено дослідження розчинності подрібненої субстанції з пробіотичною активністю у середовищі води з додаванням полісорбату-80 у співвідношенні до води очищеної 0,5:10 та 1:10 (рис.3.7).

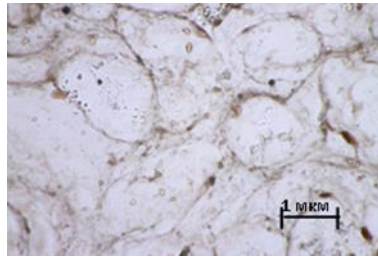


Рис.3.7. Мікрофотографія *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у суміші полісорбату-80 та води очищеної (1:10)

У якості ПАР був обраний полісорбат 80 - неіногенна речовина, що широко використовується в якості допоміжної при виробництві ЛЗ. Відомо, що полісорбат 80 є часто застосовуваним компонентом мікробіологічного середовища при вирощуванні бактерій роду *Lactobacillus*, що обумовлено здатністю посилювати ріст лактобактерій та захисною функцією від впливу зовнішніх факторів [160].

За даними рис.3.7 додавання полісорбату-80 у співвідношенні до води 1:10 покращує процес розчинення досліджуваної субстанції у воді. Спостерігається зменшення лінійних розмірів частинок до 0,1 мкм та їхній рівномірний розподіл у середовищі розчинника. Процес розчинення відбувається інтенсивніше, ніж у водному середовищі, на що вказує як зменшення розмірів частинок, так і утворення яскраво-забарвлених ділянок розчинника.

Додавання полісорбату-80 у співвідношенні до води 0,5:10 не вплинуло на зміну процесу розчинення подрібненої субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у порівнянні з розчиненням в середовищі води очищеної.

Враховуючи отримані результати, субстанцію *Lactobacillus casei* IMB B-7280 з пробіотичною активністю до складу ЛЗ доцільно вводити у вигляді водного розчину (1:20) при розчиненні з додаванням ПАР (полісорбату-80).

Оскільки досліджувана субстанція схильна до агломерації при зберіганні, також доцільним є попереднє подрібнення субстанції перед розчиненням до 0,5-1,0 мкм для забезпечення кращої повноти та швидкості інтенсивності розчинення і, відповідно, більш рівномірного розподілу АФІ у дисперсійному середовищі.

3.2.2. Обґрунтування вибору основи та допоміжних речовин при розробці при розробці живого біотерапевтичного лікарського засобу

Відомо, що ефективність ЛЗ у формі песаріїв або супозиторіїв залежить не лише від якості АФІ, а й від раціонального вибору основи, що буде визначати структурно-механічні властивості ЛФ та стійкість песаріїв як зв'язно-дисперсної системи. Основа також визначає біофармацевтичні показники ЛЗ, точність дозування, рівномірність розподілу АФІ [161].

Основними перевагами гідрофобних основ є оптимальний діапазон температур плавлення (30–36°C), рівномірне вивільнення водорозчинних речовин і відсутність подразливої дії на слизову оболонку. До даного класу основ належить масло какао, що окрім вищевказаних характеристик, володіє високою пластичністю. Недоліками масла какао як супозиторної основи є низька здатність до емульгування, схильність до утворення поліморфних модифікацій з низькою температурою плавлення особливо при надмірному нагріванні, низька стійкість до мікробної контамінації та схильність до прогіркання під час зберігання. Для напівсинтетичних гідрофобних основ таких як твердий жир, характерні наступні переваги: точки застигання, на які не впливає перегрівання основи, висока стійкість до оксидації за рахунок меншого вмісту ненасичених жирних кислот, здатність до емульгування. Проте, для твердого жиру притаманні й певні недоліки: крихкість при швидкому охолодженні, низька в'язкість в розплавленому стані. Останній фактор може впливати на осідання частинок АФІ під час приготування та неоднорідний розподіл, що викликає місцеве подразнення при застосуванні ЛФ [111, 162, 163].

Гідрофільні основи потребують значної кількості води для розчинення та всмоктування АФІ. На відміну від песаріїв на гідрофобних основах, песарії на гідрофільних основах можуть розчиняються у фізіологічних рідинах. Представниками гідрофільних основ є ПЕГ та ПЕО з різною молекулярною масою. ПЕГ та ПЕО широко використовуються як супозиторні основи завдяки їхній хімічній стійкості, інертності та доступності. Основні параметри якості песаріїв такі як механічна твердість, розчинність та відповідна температура розм'якшення легко досягаються за допомогою застосування ПЕГів із різною молекулярною масою. Однак ПЕГи мають певні недоліки у порівнянні з гідрофобними основами. По-перше, вони, як правило, є більш хімічно реактивними, тому технологія приготування повинна ретельно підбиратися для уникнення невідповідності органолептичних показників песаріїв встановленим нормам. По-друге, швидкість виділення водорозчинних речовин зменшується помітно із збільшенням молекулярної маси ПЕГ. Крім того, ПЕГам притаманна властивість сильно подразнювати слизові оболонки [111, 163, 164].

Оскільки згідно результатів визначення розчинності субстанція *Lactobacillus casei* IMB B-7280 найкраще розчиняється у воді очищеній, то кращою швидкістю вивільнення очікується з гідрофільних основ, оскільки в них здійснюється пряма дифузія речовин у фізіологічні рідини. З іншого боку використання гідрофільних основ (ПЕГів) є недоцільним, оскільки дані основи є високо гідрофільними та гігроскопічними, можуть спричинити зневоднення слизової оболонки, що є небажаним при дисбіотичних патологіях, при наявних запальних процесах у піхві спричиняють дегідратацію клітин, що ще більше погіршує перебіг патології, і, таким чином, призводять також до зменшення абсорбції АФІ [162].

Інформаційно-патентний пошук свідчить, що наразі відсутні розробки песаріїв з пробіотиками на дифільних основах, використання яких дозволяє уникати недоліків як гідрофільних, так і ліпофільних основ у монозастосуванні. Дифільні основи одночасно володіють ліпофільними та

гідрофільними властивостями, здатні рівномірно розподіляти та забезпечувати абсорбцію жиро- та водорозчинних АФІ, мають відповідні консистентні та реологічні властивості [146].

«Корисна» дія пробіотичних мікроорганізмів, в перше чергу, зумовлена відповідною доставкою ЛЗ у необхідній концентрації та активній формі. З технологічної точки зору, пробіотичний препарат повинен містити певні штами бактерій, що здатні «виживати» у високих концентраціях під час технологічного процесу виробництва, а також залишатись життєздатними і підтримувати пробіотичні властивості протягом терміну зберігання. Тому необхідно враховувати мінімальну терапевтичну дозу пробіотичних культур мікроорганізмів [162].

Дані літератури свідчать, що життєздатні лактобактерії у концентрації  $1 \cdot 10^7$  -  $1 \cdot 10^9$  КУО як при вагінальному, так і пероральному введенні є ефективними у відновленні та підтримці нормальної мікрофлори урогенітального тракту [165].

Враховуючи можливість зменшення кількості мікробних клітин при зберігання ЖБЛЗ та на основі літературних даних нами була обрана мінімальна терапевтична доза  $1 \cdot 10^9$  КУО на песарій.

З урахуванням кількості мікробних клітин та маси ліофілізованої субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280, мінімальна терапевтична доза відповідає 0,5 мг (0,0005 г) порошку на 1 песарій, саме ця маса АФІ використовувалась при виготовленні дослідних зразків.

Експериментальні зразки виготовлялись методом виливання у форми з фторопласту Ф-4 (ТУ 6-05-810-88) (ТМ «Промвіт», Україна) з дотриманням правил асептики.

Враховуючи характеристики різних груп супозиторних основ, з метою раціонального вибору основи для песаріїв з пробіотичною активністю, нами було вирішено виготовити дослідні зразки на гідрофобних, гідрофільних та дифільних основах.



Для модельних зразків на ліпофільних основах у якості компонентів було обрано наступні речовини: масло какао, гідрогенізована пальмова олія, твердий жир, вітепсол, спермацет, віск емульсійний, токоферолу ацетат та вода очищена як розчинник для АФІ. Оскільки попередніми дослідженнями встановлено, що полісорбат-80 сприяє рівномірному розподілу субстанції з пробіотичною активністю у воді очищеній, на даному етапі модельні зразки виготовлялись з використанням саме полісорбату-80 у кількості 5 %, що дозволяє забезпечити достатнє емульгування водного розчину субстанції у гідрофобних компонентах основи (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Модельні зразки песаріїв з пробіотичною активністю на  
гідрофобних основах**

Компоненти	Концентрація компонентів у % на 100 г основи						
	Зразок						
	1	2	3	4	5	6	7
Масло какао	17,0	-	56,0	-	55,5	-	46,0
Гідрогенізована пальмова олія	-	27,0	37,5	26,5	38,5	-	37,0
Твердий жир	77,5	-	-	66,0	-	94,0	-
Вітепсол	-	67,0	-	-	-	-	-
Спермацет							12,0
Віск емульсійний	-	-	-	2,5	-	-	-
Токоферолу ацетат			0,5				-
Емульгатор	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
Вода очищена	до 100,0						

Для гідрофільних зразків запропоновано найбільш часто застосовувані речовини такі як ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000 у різних співвідношеннях. За даними літератури, високу осмотичну активність даного класу основ можливо знизити за рахунок додавання ПАР. Адже активні центральні частини молекули ПЕГ утворюють із гідрофільними «головками» ПАР водневі зв'язки, а гідрофобна частина емульгатора взаємодіє із ОН-групами ПЕГу, таким чином зменшуючи їхню взаємодію з водою. Важливою є оптимальна концентрація ПАР, що входить до складу супозиторної основи,

адже високі концентрації можуть негативно вплинути на вивільнення та адсорбцію АФІ з основи-носія [166]. Для виготовлення даної групи зразків також використовувався полісорбат-80 у концентрації 2 % у якості емульгатора, враховуючи зазначені характеристики (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Модельні зразки песаріїв з пробіотичною активністю на  
гідрофільних основах**

Компоненти	Концентрація компонентів у % на 100 г основи				
	Зразок				
	8	9	10	11	12
ПЕГ-400	-	5,0	10,0	15,0	10
ПЕГ-1500	97,0	92,0	87,0	82,0	67,0
ПЕГ-4000	-	-	-	-	20,0
Емульгатор	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Вода очищена	до 100,0				

Для дифільних основ необхідним було виготовлення двох фаз-гідрофільної та гідрофобної. Для виготовлення гідрофільної фази також застосовувались ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000 у різних співвідношеннях, а як гідрофобну фазу запропоновано використати твердий жир, що має ряд переваг: стійкість до оксидативних процесів за рахунок низького вмісту ненасичених жирних кислот, на температуру затвердіння не впливає перегрівання при виготовленні, гарні водопоглинальні властивості [111]. Враховуючи наявність у дифільних основах обох фаз як гідрофільних, так і гідрофобних було запропоновано емульгатор додати у різній концентрації, варіюючи від 1,5 % до 3 % (табл. 3.8).

При розробці пробіотичних препаратів важливим є збереження активності та кількості мікроорганізмів, що входять до складу ЛЗ. Допоміжні речовини та матеріали, пакування, умови виробництва, зберігання можуть значно впливати на введену дозу субстанції.

Таблиця 3.8

**Модельні зразки песаріїв з пробіотичною активністю на дифільних основах**

Компоненти	Концентрація компонентів у % на 100 г основи				
	Зразок				
	13	14	15	16	17
ПЕГ-400	16,0	17,0	15,0	24,0	15,0
ПЕГ-1500	32,0	-	25,0	40,0	65,0
ПЕГ-4000	32,0	73,5	10,0	16,0	-
Твердий жир	17,5	6,5	46,5	16,5	17,0
Емульгатор	1,5	2,0	2,5	2,5	3,0
Вода очищена	до 100,0				

Одразу після виготовлення кожен зразок песаріїв підлягав визначенню на життєздатність введених лактобактерій (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

**Дослідження життєздатності *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідних зразках песаріїв**

№ зразка	Кількість мікроорганізмів (КУО/мл)	№ зразка	Кількість мікроорганізмів (КУО/мл)
1	$(5,75 \pm 0,18) \cdot 10^4$	10	$(6,83 \pm 0,1) \cdot 10^3$
2	$(2,58 \pm 0,79) \cdot 10^4$	11	$(1,28 \pm 0,15) \cdot 10^7$
3	$(7,25 \pm 0,96) \cdot 10^7$	12	$(7,24 \pm 0,3) \cdot 10^4$
4	$(8,65 \pm 0,25) \cdot 10^5$	13	$(7,21 \pm 0,20) \cdot 10^8$
5	$(3,24 \pm 0,61) \cdot 10^6$	14	$(5,26 \pm 0,17) \cdot 10^8$
6	$(8,62 \pm 0,34) \cdot 10^8$	15	$(2,14 \pm 0,17) \cdot 10^{10}$
7	$(2,7 \pm 0,22) \cdot 10^3$	16	$(9,14 \pm 0,14) \cdot 10^7$
8	$(8,83 \pm 0,25) \cdot 10^3$	17	$(7,54 \pm 0,17) \cdot 10^9$
9	$(1,2 \pm 0,09) \cdot 10^2$		

За даними таблиці 3.9 серед семи модельних зразків песаріїв на гідрофобних основах найменша «виживаність» лактобактерій спостерігалась у зразка № 7 (масло какао, гідрогенізована пальмова олія, спермацет, емульгатор) – lg концентрації 3,43, що відповідає  $(2,7 \pm 0,22) \cdot 10^3$ . Найбільша

кількість бактерій визначалась у зразку № 6 (твердий жир, емульгатор) на рівні lg концентрації 8,94 відповідно (рис. 3.8).

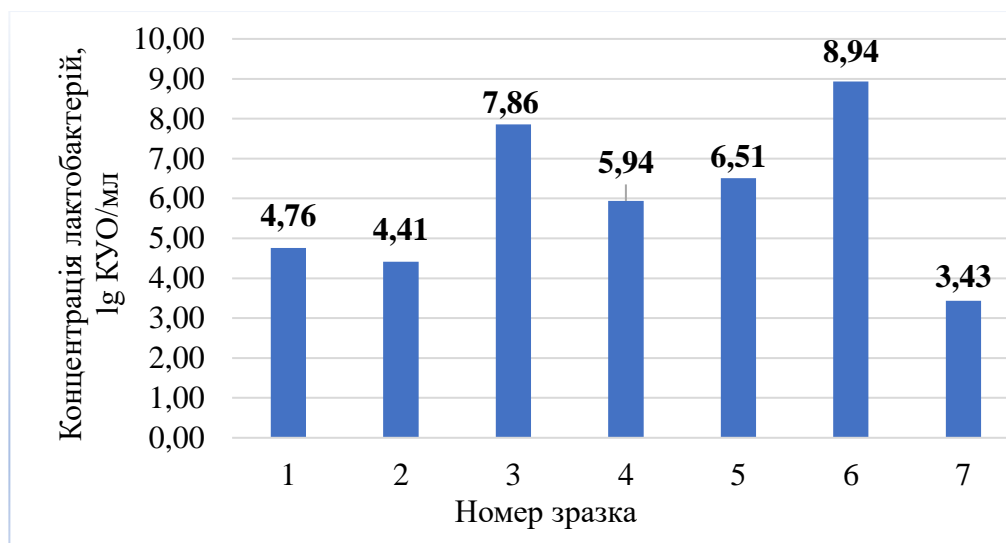


Рис. 3.8. Визначення життєздатності *Lactobacillus casei* IMB B-7280 (lg КУО/мл) у модельних зразках песаріїв на гідрофобних основах

У зразках песаріїв № 8-12, що виготовлені на гідрофільних основах, спостерігалось вивільнення *Lactobacillus casei* на рівні lg у межах 2,08 – 7,11. Найбільша кількість -  $(1,28 \pm 0,15) \cdot 10^7$  КУО/мл для зразку № 11 (ПЕГ-400, ПЕГ-1500 у співвідношенні 1:5,5, емульгатор). Найменша -  $(1,2 \pm 0,09) \cdot 10^2$  КУО/мл для зразку № 9 (ПЕГ-400 та ПЕГ-1500 у співвідношенні 1:18,5, емульгатор) (рис. 3.9).

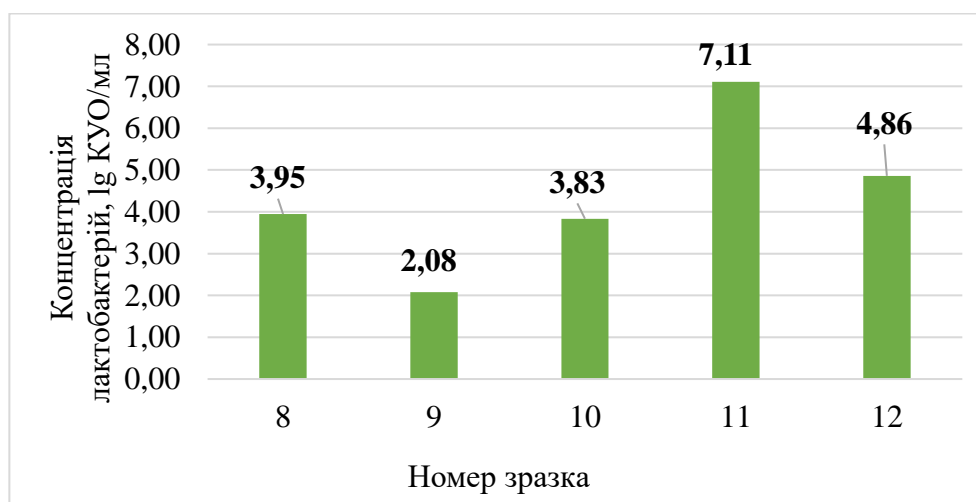


Рис. 3.9. Визначення життєздатності *Lactobacillus casei* IMB B-7280 (lg КУО/мл) у модельних зразках песаріїв на гідрофільних основах

Зразки песаріїв на дифільних основах № 13-17 продемонстрували показники життєздатності бактерій – Іg концентрації у межах 7,96 – 10,33 КУО. У зразках № 15 та № 17 висівалась найбільша кількість бактерій на рівні  $(2,14 \pm 0,17) \cdot 10^{10}$  та  $(7,54 \pm 0,17) \cdot 10^9$  відповідно (рис. 3.10).

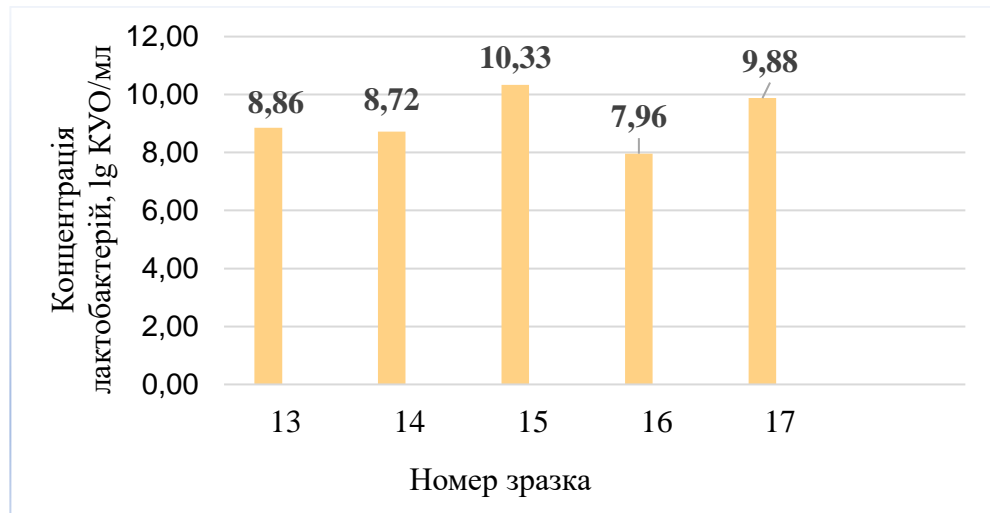


Рис. 3.10. Визначення життєздатності *Lactobacillus casei* IMB B-7280 (Іg КУО/мл) у модельних зразках песаріїв на дифільних основах

Оскільки даний ЛЗ не містить консервантів, які вводити до складу недоцільно через пригнічення росту власне субстанції з пробіотичною активністю, важливим є контроль мікробної контамінації ЛФ, що виготовляється.

З метою визначення мікробіологічного забруднення, окрім визначення кількості штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, додатково проводили висіви дослідних зразків на середовища для виділення умовно-патогенних мікроорганізмів (табл. 3.10). Результати перевірки мікробіологічного забруднення продемонстрували, що із модельних зразків на гідрофобних основах № 2, 3 та 5 висіялись стафілококи у кількості від 2,04 до 2,88 Іg КУО/мл. Ймовірно, ми це пов'язуємо із складом основи, адже дані зразки містять гідрогенізовану пальмову олію, що легко оксидується та підлягає мікробній контамінації.

Таблиця 3.10

**Результати контролю мікробіологічного забруднення у дослідних зразках**

№ зразка	Кількість патогенних мікроорганізмів			
	Стрептококи	Стафілоки	Коліморфні бактерії	Мікроскопічні гриби
1	-	-	-	-
2	-	$(7,5 \pm 0,22) * 10^2$	-	-
3	-	$(1,1 \pm 0,18) * 10^2$	-	-
4	-	-	-	-
5	-	$(2,3 \pm 0,24) * 10^2$	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	-	-	-
15	-	-	-	-
16	$(2,25 \pm 0,18) * 10^2$	-	-	$1,0 \pm 0,08 * 10^1$
17	-	-	-	-

В цілому, отримані нами результати для модельних зразків на дифільних основах можна інтерпретувати з точки зору вмісту та концентрації емульгатора. Адже саме зразки № 15 та № 17, що показали найвищі показники вивільнення бактерій, містять у складі основи полісорбат 80 у найвищій концентрації - 2,5 – 3,0 %. Зразок № 16 також містить ПАР у концентрації 2,5 %, проте він показав вивільнення бактерій на рівні  $10^7$ . Важливо, що даний зразок виявився мікробіологічно забруднений стрептококами та мікроскопічними грибами, саме з чим ми можемо пов'язувати нижчий рівень росту лактобактерій. Визначення оптимальної концентрації ПАР потребувало додаткових досліджень.

У літературі описано ряд досліджень щодо вивільнення пробіотичних штамів бактерій із супозиторіїв на гідрофільних та ліпофільних основах. Наприклад, S. Kaewnorarat та співавтори досліджували супозиторії з *L. paracasei* HL32 звичайного та порожнистого типів на Witepsol H-15 та суміші ПЕГів. Дослідження даних вчених показали, що лактобактерії однаково вивільнюються з гідрофільних та ліпофільних основ, проте краще вивільнюються із порожнистих супозиторіїв на рівні  $10^8$  КУО у порівнянні із супозиторіями звичайного типу ( $10^5$  КУО) [167].

Rodrigues F. та ін. також досліджували 2 типи вагінальних супозиторіїв із *L. acidophilus*: звичайного типу та порожнисті. Супозиторії були виготовлені на основі ПЕГів та Witepsol H-15. Всі отримані зразки продемонстрували вміст бактерій на рівні  $10^8$  КУО та більше [164].

Kale V. та ін. досліджували песарії із ліофілізатом *Lactobacillus spp.* трьох типів, виготовлені на суміші ПЕГів. Звичайні песарії показали вивільнення пробіотичних бактерій на рівні  $10^5$  КУО, тоді як двошарові показали результат  $10^7$  КУО, а порожнисті  $10^8$  КУО [168].

Pashayan M. M. досліджував двошарові вагінальні супозиторії, що містять ліофілізат *L. delbrueckii* МН-10 та сухий екстракт *Achillea millefolium*. Всі чотири зразки були виготовлені на ліпофільних основах та показали вивільнення бактерій на рівні  $10^8$  КУО [84].

А розробка і виготовлення дослідних зразків песаріїв, що містять пробіотичні компоненти, на дифільних основах нами була проведена вперше на кафедрі аптечної та промислової технології ліків НМУ імені О.О. Богомольця.

Варто зазначити, що розпадання твердої ЛФ є першим етапом вивільнення діючої речовини [169]. Для песаріїв, виготовлених на гідрофільній основі, а саме суміші ПЕГів, вивільнення ЛЗ відбувається шляхом розчинення, а для песаріїв на гідрофобних основах – шляхом розплавлення. Тому час розпадання песаріїв на гідрофобних основах визначається часом, за який супозиторій повністю розплавився (розпався на

ліпофільні часточки), а для песаріїв на гідрофільних основах – часом, за який він розчинився у середовищі [170]. На розпаданні песаріїв впливає концентрація ПАР (прямо пропорційна залежність), що пояснюється їхньою хімічною структурою, а також різною здатністю до диспергування у гідрофільних основах. Коли розплавлена маса твердне утворюється твердий розчин, що представляє компактну структуру, яка характеризується повільним розпаданням [170]. Тобто показники часу розпадання для ліпофільних основ будуть мати менші значення, ніж показники для гідрофільних.

Окрім дослідження життєздатності бактерій в модельних зразках як основного критерію при розробці ЖБЛЗ, песарії також підлягали контролю якості за основними показниками для даної ЛФ згідно вимог ДФУ: опис, однорідність, середня маса, розпадання та температура плавлення для зразків на гідрофобних основах.

Середня маса ліпофільних зразків розраховувалась відповідно до заявленої маси супозиторія з гнізда форми, що становить згідно сертифікату якості 3,5 г, з урахуванням допустимого відхилення середня маса повинна знаходитись в межах 3,33 г – 3,68 г. Для гідрофільних зразків з урахуванням коефіцієнту переходу середня маса песарія повинна знаходитись в межах 4,02 г - 4,45 г, для дифільних основ (враховуючи модуль переходу гідрофільної фази) – від 3,65 г до 4,03 г.

Так, модельні зразки № 1-7, що були виготовлені на ліпофільних основах, відповідали вимогам ДФУ за показниками контролю якості, окрім зразка № 2, що при повздовжньому розрізі демонстрував наявність вкраплень та повітряного стрижня і не відповідав вимогам за показником «однорідність». Середня маса зразків відповідала вимогам та становила від  $3,42 \pm 0,02$  г до  $3,61 \pm 0,03$  г. Температура плавлення усіх модельних зразків не перевищувала  $37^{\circ}\text{C}$ , найбільш легкоплавким був зразок № 5 ,що містить масло какао та гідрогенізовану пальмову олію. Температура плавлення зразка № 7 (основа – масло какао, гідрогенізована пальмова олія, спермацет)



становила  $(36,3 \pm 0,1)$  °С, відповідно даний зразок – найбільш тугоплавкий. Час розпадання усіх зразків становив не більше 30 хвилин. Найшвидше розпалися песарії № 5 за  $(15,4 \pm 0,04)$  хв, найповільніше зразок № 2 –  $(21,3 \pm 0,11)$  хв (табл. 3.11).

Таблиця 3.11

### Контроль якості дослідних зразків песарії на гідрофобних основах

показ-ник	Номер дослідного зразка						
	1	2	3	4	5	6	7
опис	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	песарії білого кольору без специфічного запаху	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	песарії білого жовтого кольору без специфічного запаху	песарії білого жовтого кольору без специфічного запаху
однорідність	на повздовжньому зрізі відсутні вкраплення Відсутній повітряний стрижень та лійкоподібна на заглибина	на повздовжньому зрізі наявні вкраплення та повітряний стрижень	на повздовжньому зрізі відсутні вкраплення Відсутній повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні вкраплення Відсутній повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні вкраплення Відсутній повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні вкраплення Відсутній повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні вкраплення Відсутній повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина
середня маса, г	$3,42 \pm 0,02$	$3,61 \pm 0,03$	$3,47 \pm 0,02$	$3,48 \pm 0,03$	$3,55 \pm 0,02$	$3,46 \pm 0,03$	$3,48 \pm 0,02$
Т плавлення, °С	$34,5 \pm 0,11$	$34,9 \pm 0,13$	$34,4 \pm 0,11$	$35,4 \pm 0,11$	$34,3 \pm 0,15$	$34,7 \pm 0,06$	$36,3 \pm 0,1$
розпадання, хв	$19,1 \pm 0,07$	$21,3 \pm 0,11$	$15,9 \pm 0,04$	$20,4 \pm 0,07$	$15,4 \pm 0,04$	$20,9 \pm 0,08$	$17,8 \pm 0,06$

Зразки № 8-12 на гідрофільних основах – песарії білого кольору без специфічного запаху. Зразок № 8 за показником «однорідність» не відповідає вимогам, оскільки при повздовжньому зрізі у супозиторній масі спостерігались вкраплення. Коливання середньої маси зразків становить не більше 5 % від заявленої 4,24 г та відповідає вимогам. Час розпадання у межах від  $(43,4 \pm 0,08)$  хв для зразку № 11, що містить ПЕГ-400 та ПЕГ-1500 у співвідношенні 1:5,5, до  $(46,2 \pm 0,08)$  хв для зразку № 12 (основа – ПЕГ-400, ПЕГ-1500 та ПЕГ-4000 у співвідношенні 1:6,7:2) (табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Контроль якості дослідних зразків песарії на гідрофільних  
основах**

показник	Номер дослідного зразка				
	8	9	10	11	12
опис	песарії білого кольору без специфічного запаху	песарії білого кольору без специфічного запаху	песарії білого кольору без специфічного запаху	песарії білого кольору без специфічного запаху	песарії білого кольору без специфічного запаху
однорідність	на повздовжньому зрізі наявні крапління. Відсутній повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні крапління, повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні крапління, повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні крапління, повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні крапління, повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина
середня маса, г	4,29±0,03	4,31±0,02	4,08±0,04	4,31±0,01	4,27±0,02
розпадан-ня, хв	46,1±0,11	45,2±0,08	44,2±0,11	43,4±0,08	46,2±0,08

Модельні зразки песаріїв № 13-17 розроблені та виготовлені на дифільних основах, за показником «опис» є песаріями біло-жовтого кольору без специфічного запаху. Зразки № 14 та 17 не відповідали вимогам за показником «однорідність», оскільки при повздовжньому розрізі були наявні крапління та повітряний стрижень, що є неприпустимим для даної ЛФ. Значення показнику «розпаданя» для даних зразків були найвищими – (45±1,0) хв та (45±1,2) хв відповідно. За показником «середня маса» всі модельні зразки відповідали нормі. Зразок № 14 за показником «час розпаданя» мав найнижче значення (41±1,2) хв для дифільних основ.

Ймовірно, це пов'язано із складом основи, оскільки саме у цьому зразку співвідношення гідрофобної та гідрофільної фаз становить близько 1:1, а у інших зразках даної групи вміст гідрофільної фази значно вищий за ліпофільну (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

**Контроль якості дослідних зразків песарії на дифільних основах**

показ- ник	Номер дослідного зразка				
	13	14	15	16	17
опис	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху
однорі- дність	на повздовжньому зрізі відсутні крапління, повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі наявні крапління та повітряний стрижень	на повздовжньому зрізі відсутні крапління, повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі відсутні крапління, повітряний стрижень та лійкоподібна заглибина	на повздовжньому зрізі наявні крапління та повітряний стрижень
середня маса, г	3,83±0,03	3,85±0,07	3,88±0,05	3,92±0,06	3,81±0,07
розпада- ння, хв	43±0,9	45±1,0	41±1,2	44±1,1	45±1,2

Субстанція з пробіотичною активністю як продукт біотехнологічного походження є нестабільною, термолабільною, її активність може змінюватись під впливом температури, кисню, значення рН, наявності допоміжних речовин як у процесі виробництва, так і в процесі зберігання [171]. Тому дослідні зразки песаріїв також передавались на зберігання для визначення вмісту мікроорганізмів у процесі зберігання протягом 6 міс при двох температурних режимах: +2+8°C (рекомендованому для зберігання ЖБЛЗ) та кімнатній (25± 2°C) як такі, що можлива при недотриманні належних умов зберігання.

Отримані результати представлені у таблиці 3.14, статистична обробка яких за Ig концентрації лактобактерій показала, що всі дані статистично значуще відрізняються ( $p < 0,05$ ), кількість мікроорганізмів штаму *Lactobacillus casei* знижувалась у процесі зберігання як при рекомендованій для зберігання температурі, так і при кімнатній, проте для деяких зразків їхня кількість зменшувалась більш виражено і була прямо пропорційна температурі зберігання.

Таблиця 3.14

**Дослідження дослідних зразків песаріїв на вміст мікроорганізмів у процесі зберігання**

Час зберігання	№ зразка	Кількість мікроорганізмів (КУО/мл)		№ зразка	Кількість мікроорганізмів (КУО/мл)	
		+2+8°C	Кімнатна температура		+2+8°C	Кімнатна температура
0 день	1	$(5,75 \pm 0,18) \cdot 10^4$	$(5,75 \pm 0,18) \cdot 10^4$	10	$(6,83 \pm 0,1) \cdot 10^3$	$(6,83 \pm 0,1) \cdot 10^3$
1 міс.		$(1,42 \pm 0,23) \cdot 10^4$	$(7,43 \pm 0,32) \cdot 10^3$		$(3,25 \pm 0,3) \cdot 10^2$	$(1,28 \pm 0,4) \cdot 10^2$
3 міс.		$(6,37 \pm 0,48) \cdot 10^3$	$(9,73 \pm 0,8) \cdot 10^2$		$(6,3 \pm 0,2) \cdot 10^1$	$(1,4 \pm 0,08) \cdot 10^1$
6 міс.		$(2,36 \pm 0,82) \cdot 10^2$	$(8,35 \pm 0,42) \cdot 10^1$		$(3,2 \pm 0,4) \cdot 10^1$	$(0,11 \pm 0,25) \cdot 10^1$
0 день	2	$(2,58 \pm 0,79) \cdot 10^4$	$(2,58 \pm 0,79) \cdot 10^4$	11	$(1,28 \pm 0,15) \cdot 10^7$	$(1,28 \pm 0,15) \cdot 10^7$
1 міс.		$(3,72 \pm 0,43) \cdot 10^3$	$(1,43 \pm 0,37) \cdot 10^3$		$(6,3 \pm 0,4) \cdot 10^5$	$(7,82 \pm 0,3) \cdot 10^4$
3 міс.		$(5,18 \pm 0,51) \cdot 10^2$	$(2,35 \pm 0,41) \cdot 10^2$		$(8,9 \pm 0,18) \cdot 10^4$	$(5,4 \pm 0,04) \cdot 10^3$
6 міс.		$(1,37 \pm 0,42) \cdot 10^2$	$(3,82 \pm 0,53) \cdot 10^1$		$(1,3 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$(9,8 \pm 0,02) \cdot 10^2$
0 день	3	$(7,25 \pm 0,96) \cdot 10^7$	$(7,25 \pm 0,96) \cdot 10^7$	12	$(7,24 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(7,24 \pm 0,3) \cdot 10^4$
1 міс.		$(1,43 \pm 0,47) \cdot 10^7$	$(3,35 \pm 0,42) \cdot 10^6$		$(5,82 \pm 0,2) \cdot 10^3$	$(1,21 \pm 0,01) \cdot 10^3$
3 міс.		$(5,37 \pm 0,52) \cdot 10^6$	$(4,14 \pm 0,37) \cdot 10^5$		$(2,1 \pm 0,14) \cdot 10^3$	$(7,1 \pm 0,02) \cdot 10^2$
6 міс.		$(2,31 \pm 0,43) \cdot 10^6$	$(5,83 \pm 0,31) \cdot 10^4$		$(6,3 \pm 0,2) \cdot 10^2$	$(6,5 \pm 0,4) \cdot 10^1$
0 день	4	$(8,65 \pm 0,25) \cdot 10^5$	$(8,65 \pm 0,25) \cdot 10^5$	13	$(7,21 \pm 0,20) \cdot 10^8$	$(6,21 \pm 0,20) \cdot 10^8$
1 міс.		$(9,43 \pm 0,73) \cdot 10^6$	$(5,37 \pm 0,18) \cdot 10^4$		$(4,98 \pm 0,18) \cdot 10^6$	$(5,94 \pm 0,19) \cdot 10^5$
3 міс.		$(1,27 \pm 0,41) \cdot 10^4$	$(9,32 \pm 0,23) \cdot 10^3$		$(8,12 \pm 0,18) \cdot 10^5$	$(7,13 \pm 0,20) \cdot 10^3$
6 міс.		$(6,83 \pm 0,52) \cdot 10^3$	$(2,14 \pm 0,53) \cdot 10^3$		$(7,24 \pm 0,18) \cdot 10^4$	$(3,45 \pm 0,17) \cdot 10^2$
0 день	5	$(3,24 \pm 0,61) \cdot 10^6$	$(3,24 \pm 0,61) \cdot 10^6$	14	$(5,26 \pm 0,17) \cdot 10^8$	$(5,26 \pm 0,17) \cdot 10^8$
1 міс.		$(8,43 \pm 0,23) \cdot 10^5$	$(3,47 \pm 0,12) \cdot 10^5$		$(3,54 \pm 0,14) \cdot 10^7$	$(1,12 \pm 0,15) \cdot 10^7$
3 міс.		$(3,57 \pm 0,41) \cdot 10^5$	$(8,14 \pm 0,23) \cdot 10^3$		$(1,25 \pm 0,18) \cdot 10^7$	$(5,45 \pm 0,18) \cdot 10^6$
6 міс.		$(7,18 \pm 0,38) \cdot 10^4$	$(7,23 \pm 0,41) \cdot 10^2$		$(7,32 \pm 0,13) \cdot 10^6$	$(7,48 \pm 0,17) \cdot 10^5$
0 день	6	$(8,62 \pm 0,34) \cdot 10^8$	$(8,62 \pm 0,34) \cdot 10^8$	15	$(2,14 \pm 0,17) \cdot 10^{10}$	$(2,14 \pm 0,17) \cdot 10^{10}$
1 міс.		$(1,42 \pm 0,46) \cdot 10^8$	$(8,27 \pm 0,42) \cdot 10^7$		$(8,91 \pm 0,18) \cdot 10^9$	$(5,23 \pm 0,18) \cdot 10^9$
3 міс.		$(7,48 \pm 0,52) \cdot 10^7$	$(1,32 \pm 0,56) \cdot 10^7$		$(5,07 \pm 0,16) \cdot 10^9$	$(1,12 \pm 0,20) \cdot 10^9$
6 міс.		$(1,53 \pm 0,61) \cdot 10^7$	$(6,41 \pm 0,62) \cdot 10^6$		$(3,29 \pm 0,17) \cdot 10^9$	$(7,29 \pm 0,13) \cdot 10^8$
0 день	7	$(2,7 \pm 0,22) \cdot 10^3$	$(2,7 \pm 0,22) \cdot 10^3$	16	$(9,14 \pm 0,14) \cdot 10^7$	$(9,14 \pm 0,14) \cdot 10^7$
1 міс.		$(8,9 \pm 0,4) \cdot 10^2$	$(3,34 \pm 0,5) \cdot 10^2$		$(3,54 \pm 0,12) \cdot 10^7$	$(5,15 \pm 0,17) \cdot 10^6$
3 міс.		$(3,4 \pm 0,6) \cdot 10^2$	$(0,4 \pm 0,07) \cdot 10^2$		$(6,48 \pm 0,15) \cdot 10^6$	$(4,45 \pm 0,19) \cdot 10^5$
6 міс.		$(1,15 \pm 0,08) \cdot 10^2$	$(5,7 \pm 0,7) \cdot 10^1$		$(6,47 \pm 0,18) \cdot 10^5$	$(5,15 \pm 0,18) \cdot 10^4$
0 день	8	$(8,83 \pm 0,25) \cdot 10^3$	$(8,83 \pm 0,25) \cdot 10^3$	17	$(7,54 \pm 0,17) \cdot 10^9$	$(7,54 \pm 0,17) \cdot 10^9$
1 міс.		$(1,2 \pm 0,9) \cdot 10^3$	$(6,2 \pm 0,05) \cdot 10^2$		$(3,42 \pm 0,20) \cdot 10^9$	$(1,13 \pm 0,20) \cdot 10^9$
3 міс.		$(5,7 \pm 0,04) \cdot 10^2$	$(1,1 \pm 0,2) \cdot 10^2$		$(5,45 \pm 0,19) \cdot 10^8$	$(2,54 \pm 0,18) \cdot 10^8$
6 міс.		$(1,4 \pm 0,1) \cdot 10^2$	$(6,4 \pm 0,4) \cdot 10^1$		$(1,05 \pm 0,21) \cdot 10^8$	$(5,15 \pm 0,14) \cdot 10^7$
0 день	9	$(1,2 \pm 0,09) \cdot 10^2$	$(1,2 \pm 0,09) \cdot 10^2$			
1 міс.		$(0,5 \pm 0,1) \cdot 10^2$	$(8,3 \pm 0,12) \cdot 10^1$			
3 міс.		$(9,8 \pm 0,02) \cdot 10^1$	$(1,4 \pm 0,3) \cdot 10^1$			
6 міс.		$(5,3 \pm 0,04) \cdot 10^1$	$(0,21 \pm 0,04) \cdot 10^1$			

Для зразків на гідрофобних основах при зберіганні при температурі 2-8 °C протягом 6 місяців, концентрація лактобацил (за lg) знижувалась від 19 % до 51,5 % ( $p < 0,05$ ), а саме: для зразку № 1 – зниження відбулося в 2 рази, зразку № 2 – на 51,5 %, зразку № 3 – на 19 %, зразку № 4 – на 35,5 %, зразку № 5 – на 25,3 %, зразку № 6 – на 19,7 %, зразку № 7 – майже на 40 % ( $p < 0,05$ ).

Зразки песаріїв на гідрофільних основах при даному температурному режимі і періоді зберігання продемонстрували зниження кількості бактерій (за lg) із пробіотичною активністю в межах від 17,3 % до 60,6 % ( $p < 0,05$ ). Найменше зменшилась концентрація лактобацил у зразку № 9 (17,3 %), тоді як найбільш вираженим було зниження для зразку № 10 (60,6 %), для зразків № 8, 11 та 12 дане зниження було помірним та становило 45,6 %, 42,22 % та 41,7 % відповідно ( $p < 0,05$ ).

Зразки песаріїв на дифільних основах показали найбільший розмах у отриманих даних стосовно «виживаності» лактобактерій протягом 6 місяців зберігання у холодильнику. Так для зразку № 15 lg концентрації зменшився лише на 7,8 %, для зразку № 17 – на 18,8 %, № 14 – на 21,3 %, № 16 – на 27 %, а № 13 – на 45,1 % ( $p < 0,05$ ).

З модельних зразків песаріїв, що були виготовлені на ліпофільних основах, після 6 місяців зберігання при кімнатній температурі лактобактерії висівались у кількостях (за lg) менших на 59,7 % (зразок № 1), 64,2 % (зразок № 2), 39,3 % (зразок № 3), майже 44 % (зразок № 4), 55,8 % (зразок № 5), 19,7 % (зразок № 6), 48,7 % (зразок № 7) у порівнянні з початковими даними ( $p < 0,05$ ).

Характерне зниження кількості *Lactobacillus casei* IMB B-7280 при даних умовах зберігання спостерігалось для песаріїв на гідрофільних основах. Для зразків № 8-12 їхня кількість зменшилась більше ніж удвічі, а саме: на 54,2 % (зразок № 8), 84,6 % (зразок № 9), майже 58 % (зразок № 11), 62,8 % (зразок № 12), а для зразку № 10 «виживаність» бактерій становила всього 1,04 % порівняно з початковими концентраціями ( $p < 0,05$ ).

При кімнатній температурі зберігання, як і при рекомендованій, отримані дані стосовно концентрацій бактерій також мали найбільший статистичний розмах. Так кількість (за lg) лактобацил для найменше знизилась зразку № 15 - на 14,2 % ( $p < 0,05$ ). Більшим було зниження для зразків № 17, 14 та 16 – на 22 %, 32,8 % та 40,8 % відповідно ( $p < 0,05$ ).

Найбільш виражено зменшилась концентрація лактобацил з разку № 13 – на 71,3 % ( $p < 0,05$ ).

Помітне зниження кількості вивільнюваних лактобактерій при кімнатній температурі вірогідно спостерігається через вплив температури [124]. Проте, на нашу думку, стрімке зниження кількості бактерій при зберіганні також може бути пов'язане із складом основи та наявності допоміжних речовин.

Порівнюючи, кількості бактерій штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що висівались із зразків песаріїв після 6 місяців зберігання при температурі 2-8 °С та кімнатній, спостерігаємо, що зменшення концентрації лактобацил при кімнатній температурі мало різну ступінь вираженості. Так, для песаріїв на ліпофільних основах зниження концентрації (за Ig) збільшувалось у ряду: 5,2 % (зразок № 6), 13 % (зразок № 4), 14,6 % (зразок № 7), 19 % (зразок № 1), 25 % (зразок № 3), 26,2 % (зразок № 2) та 41,2 % (зразок № 5) ( $p < 0,05$ ).

Зразки на гідрофільних основах продемонстрували найбільш розбіжні результати. Для зразку № 8 Ig концентрації лактобактерій, що висіались після 6 місяців зберігання при кімнатній температурі, на 15,8 % менший за Ig концентрації за такий самий період при температурі зберігання 2-8 °С ( $p < 0,05$ ). Для зразків № 11 та 12 зменшення було більш вираженим і становило 28,7 % та 35,4 % відповідно ( $p < 0,05$ ). А для моделей № 9 та 10 спостерігалось характерне зменшення на рівні 81,4 % та 97,4 % ( $p < 0,05$ ).

Для песаріїв на дифільних основах аналогічно концентрація бактерій зменшувалась під впливом температури у порівнянні із зразками, що зберігались при 2-8 °С, але різною мірою, а саме: Ig концентрації знизився на 3,4 % для зразку № 17, на 6,9 % - для зразку № 15, на 14,6 % - для зразку № 14, на 18,9 % - для зразку № 16 ( $p < 0,05$ ). Найбільше зменшення кількості серед моделей на дифільних основах спостерігалось для зразку № 13 – на рівні 47,7 % ( $p < 0,05$ ) порівняно із рекомендованою температурою зберігання песаріїв.

Дослідження інших вчених не суперечать нашим результатам. Наприклад, Pashayan M. M. описав результати вивільнення лактобактерій із супозиторіїв протягом терміну зберігання 12 міс. при температурі  $+2+8^{\circ}\text{C}$  свідчать, що кількість бактерій у чотирьох дослідних зразках при зберіганні 6 міс. зменшується із  $4,3-5,4 \cdot 10^8$  КУО до  $6,0-9,1 \cdot 10^7$  КУО, а протягом 12 міс. – до  $2,8-7,2 \cdot 10^7$  КУО [84]. V. Kale та ін. у своїх наукових працях показали, що протягом терміну зберігання 4 міс. кількість пробіотичних бактерій у звичайних супозиторіях зменшується від  $5,2 \cdot 10^5$  КУО до  $6,5 \cdot 10^4$  КУО при температурі зберігання  $+2+8^{\circ}\text{C}$  та до  $5,4 \cdot 10^3$  КУО при кімнатній температурі, для порожнистих супозиторіїв показники зменшились із  $5,3 \cdot 10^8$  КУО до  $7,1 \cdot 10^7$  КУО та  $6,9 \cdot 10^6$  КУО відповідно, а для двошарових супозиторіїв – від  $5,8 \cdot 10^7$  КУО до  $7,8 \cdot 10^6$  КУО та  $4,9 \cdot 10^5$  КУО відповідно [168]. S. Kaewnorparat та ін. порівнювали вивільнення лактобактерій у процесі зберігання протягом 3 міс. Дослідження даних авторів демонструють, що кількість бактерій у звичайних супозиторіях на основі Witepsol H-15 зменшується із  $5,2 \cdot 10^5$  КУО до  $2,7 \cdot 10^4$  КУО при температурі  $+2+8^{\circ}\text{C}$  та до  $8,9 \cdot 10$  КУО при кімнатній температурі, стосовно супозиторіїв на суміші ПЕГів, то кількість бактерій зменшується із  $5,7 \cdot 10^5$  КУО до  $3,2 \cdot 10^5$  КУО та  $1,1 \cdot 10^2$  КУО відповідно. Кількість бактерій у порожнистих супозиторіях на основі Witepsol H-15 зменшується із  $1,28 \cdot 10^8$  КУО до  $3,4 \cdot 10^7$  КУО та  $1,8 \cdot 10^2$  КУО, а у порожнистих супозиторіях на суміші ПЕГів із  $1,1 \cdot 10^8$  КУО до  $5,7 \cdot 10^7$  КУО та  $2,3 \cdot 10^2$  КУО відповідно [167].

Враховуючи те, що основним критерієм вибору основи для ЖБЛЗ є «виживаність» бактерій з пробіотичною активністю при введенні в основу і виробництві ЛФ та забезпечення життєздатності протягом заявленого терміну зберігання, а також відповідність ЛФ показникам контролю якості, для подальших досліджень нами було обрано наступні модельні зразки: № 6 - гідрофобна основа, № 11 - гідрофільна основа, № 15 - дифільна основа. Песарії даних зразків демонструють найбільший вміст мікроорганізмів, в тому числі протягом 6 місяців зберігання при двох температурних режимах,

серед зразків на трьох типах основи, та відповідають усім вимогам, що висуваються для даної ЛФ: опис, однорідність, середня маса, розпадання та температура плавлення (для гідрофобних основ). Дані дослідні зразки підлягали наступним дослідженням для раціонального обґрунтування вибору основи та допоміжних речовин.

### 3.2.3. Обґрунтування вибору та концентрації поверхнево-активних речовин у складі вагінального препарату

Додавання сурфактантів покращує дисперсію частинок у гідрофобних основах шляхом модифікації властивостей поверхні частинок субстанції, впливаючи на їх проникнення у фізіологічну рідину. Також ПАР підвищують всмоктування гідрофобних основ слизовою оболонкою, що призводить до більшого контакту поверхні частинок із слизовою [169].

Гідрофільні ж основи виявляють гіперосмотичні властивості, тому введення ПАР є необхідним для уникнення місцево подразнювальної дії на слизову оболонку піхви [172] та у випадку пробіотичної субстанції в якості АФІ рівномірного розподілу діючої речовини в супозиторній основі.

У дифільних основах за допомогою сурфактанту можливо досягти рівномірного повного змішування гідрофільної та ліпофільної фаз та диспергування АФІ в основі.

Одним з показників якості, що висуваються до супозиторіїв та песаріїв є механічна міцність, що характеризує споживчі властивості даної ЛФ та залежить від співвідношення рідких компонентів в основі. Також механічна міцність опосередковано свідчить про можливі взаємодії між АФІ та компонентами основи, і тісно пов'язана з іншими технологічними та фармакологічними характеристиками, такими як температура плавлення, розпадання, біодоступність. Фармако-технологічне випробування «Стійкість супозиторії і песаріїв до руйнування» є важливим для оцінки механічної міцності, що визначає достатню твердість та сталість форми як на етапі виготовлення, так і транспортування, зберігання та застосування пацієнтом.



Даний тест є універсальним та підходить для всіх типів основ, окрім желатин-гліцеринових. Емпіричною нижньою межею для песаріїв є стійкість 1-1,1 кг [173].

Тому наступним етапом дослідження був вибір оптимальної ПАР у складі песаріїв з пробіотичною активністю. Нами були виготовлені зразки на попередньо обраних основах (зразок № 6 – гідрофобна основа: твердий жир, емульгатор, вода очищена; зразок № 11- гідрофільна основа: ПЕГ 400, ПЕГ 1500, емульгатор, вода очищена; зразок № 15 – дифільна основа: твердий жир, ПЕГ 400, ПЕГ 1500, ПЕГ 4000, емульгатор, вода очищена) з наступними емульгаторами: полісорбат-80, Lanette SX (емульгатор № 1), емульгатор Т-2, ГМС та ланолін безводний у концентрації 3,0 % як загально рекомендованій у складі ЛФ для вагінального застосування.

Субстанція лактобактерій є АФІ із низькими значеннями термічної стійкості, що потребує певного критичного вмісту води у складі, оскільки зменшення кількості води може спричинити зневоднення бактерій та їх інактивацію [174].

Тому використовувались емульгатори з різними фізико-хімічними властивостями, адже відомо, що природа ПАР є одним із факторів впливу на «виживаність» пробіотичних бактерій в основі.

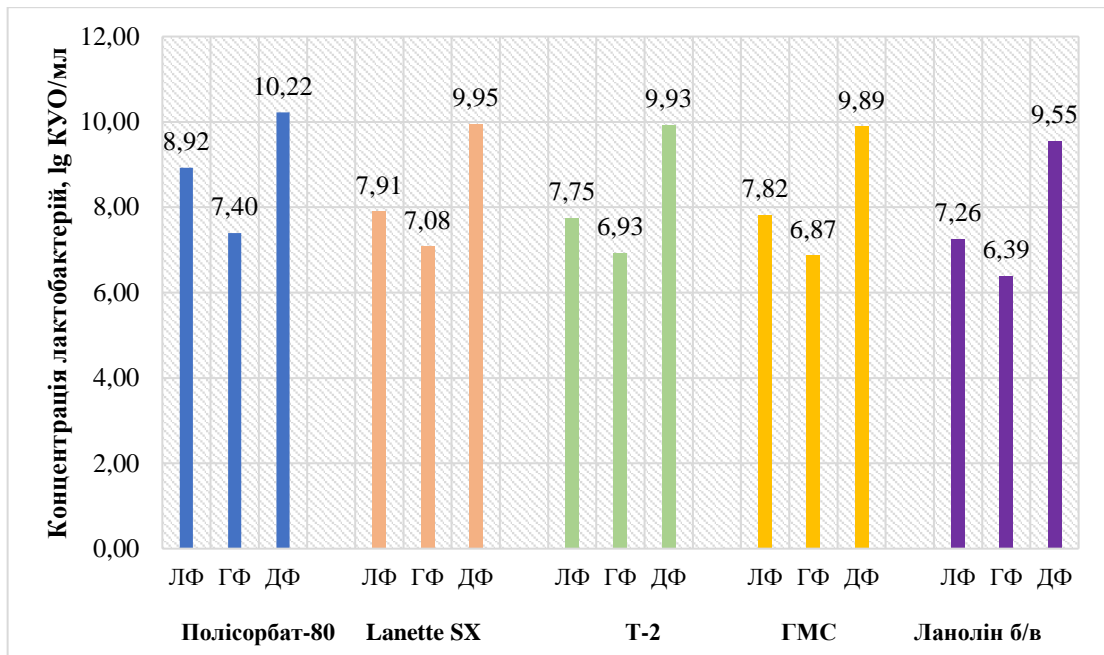
Досліджувались наступні характеристики виготовлених зразків песаріїв на ліпофільній, гідрофільній та дифільній основах із різними ПАР у складі: органолептичні властивості, середня маса, розпадання та стійкість до руйнування (табл. 3.15). Виготовлені модельні зразки відповідали вимогам за визначеними показниками, що відрізнялись в залежності від типу основи. Середня маса зразків була у межах заявленої маси з гнізда форми з урахуванням можливої похибки. Найшвидше розпадались зразки на ліпофільних основах, найповільніше – на гідрофільних. Найбільші значення стійкості до руйнування визначались для гідрофільних зразків, найнижчі – для ліпофільних.

Таблиця 3.15

**Властивості дослідних зразків песаріїв з різними ПАР**

ПАР	Тип основи	Показники якості			
		органолептичні властивості	середня маса, г	розпадання, хв	стійкість до руйнування, кг
полісорбат -80	ліпофільна	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	3,47±0,08	20,9±0,1	2,32±0,21
	гідрофільна	песарії білого кольору без специфічного запаху	4,21±0,12	43,4±0,12	2,85±0,15
	дифільна	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	3,89±0,17	41,12±0,6	2,63±0,17
Lanette SX	ліпофільна	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	3,56±0,12	21,3±0,2	2,24±0,19
	гідрофільна	песарії білого кольору без специфічного запаху	4,32±0,14	43,6±0,41	2,88±0,23
	дифільна	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	3,86±0,14	41,4±0,23	2,58±0,27
Т-2	ліпофільна	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	3,58±0,15	20,7±0,15	2,21±0,11
	гідрофільна	песарії білого кольору без специфічного запаху	4,08±0,15	43,1±0,21	2,84±0,14
	дифільна	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	3,85±0,17	40,5±0,28	2,51±0,16
ГМС	ліпофільна	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	3,59±0,13	21,2±0,14	2,26±0,15
	гідрофільна	песарії білого кольору без специфічного запаху	4,02±0,15	43,6±0,19	2,89±0,12
	дифільна	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	3,87±0,14	41,4±0,24	2,48±0,11
ланолін безводний	ліпофільна	песарії жовтого кольору без специфічного запаху	3,57±0,11	21,1±0,23	2,02±0,18
	гідрофільна	песарії білого кольору без специфічного запаху	4,01±0,17	43,7±0,18	2,82±0,12
	дифільна	песарії біло-жовтого кольору без специфічного запаху	3,84±0,14	41,6±0,27	2,35±0,22

Враховуючи, що розроблюваний препарат є ЖБЛЗ, також проводився висів дослідних зразків для визначення кількості живих лактобактерій. Lg концентрації бактерій, що висівались, представлені на рисунку 3.11. Статистична обробка отриманих даних встановила, що для модельних зразків на ліпофільних та гідрофільних основах статистично значуще відрізнялись дані для всіх видів ПАР ( $p < 0,05$ ).



\*примітка ЛФ – ліпофільна (гідрофобна) основа, ГФ – гідрофільна основа, ДФ – дифільна основа

Рис. 3.11. Визначення кількості бактерій *Lactobacillus casei* IMB B-7280 ( $\lg$  КУО/мл) у модельних зразках псоріів з різними ПАР

Для зразків на дифільних основах відмінність між показниками  $\lg$  концентарції лактобактерій не є статистично значущою для зразків з Lanette SX та Т-2 ( $p=0,97$ ), Lanette SX і ГМС ( $p=0,22$ ), а також Т-2 та ГМС ( $p=0,51$ ).

Найбільша концентрація бактерій з пробіотичною активністю спостерігається для зразків з полісорбатом-80 на трьох типах основ:  $(8,4 \pm 0,013) \cdot 10^8$  КУО/мл – гідрофобна основа,  $(2,5 \pm 0,017) \cdot 10^7$  КУО/мл – гідрофільна основа,  $(1,67 \pm 0,03) \cdot 10^{10}$  КУО/мл – дифільна основа ( $p < 0,05$ ).

На основі результатів проведеного експерименту нами було обрано полісорбат-80 в якості емульгатора, що узгоджується з літературними даними. Адже відомо, що полісорбат-80 є неіногенною ПАР та емульгатором, що широко використовується у харчовій промисловості, виробництві лікарських та косметичних засобів.

Окрім цього, полісорбат-80 – це часто застосовуваний компонент мікробіологічного середовища при вирощуванні лактобактерій. Також

відомо, що застосування полісорбату 80 може посилити ріст лактобактерій та виконувати захисну функцію від несприятливого впливу зовнішніх факторів (наприклад, впливу кислоти, жовчних солей, ліофілізації, зменшення кількості поживних речовин тощо) [165].

Додавання полісорбату підвищує вироблення лактобактеріями бактеріоцинів та молочної кислоти [160] як БАР, що підтримують нормальну мікрофлору піхви. Актуальність застосування полісорбату 80 також зумовлена тим, що неіоногенні ПАР мають менший вплив на слизову оболонку у порівнянні з аніонними.

Відомо, що на вивільнення АФІ із ЛФ впливає не лише природа ПАР, а й її концентрація. Наприклад, Hanaee J. et al. довели, що швидкість вивільнення сальбутамолу із супозиторіїв на основі Witepsol H15 прямо пропорційна концентрації полісорбату 80 [175]. K. Świąder et al. при вивченні впливу неіонних ПАР на вивільнення парацетамолу із супозиторіїв на різних основах дійшли висновку, що максимальне вивільнення АФІ спостерігається при використанні полісорбату, при чому його концентрація впливає на швидкість і концентрацію вивільнення парацетамолу із досліджуваних ЛФ [176]. B. Szulc-Musioł et al. визначили, що додавання ПАР суттєво впливає на швидкість вивільнення та концентрацію мелоксикаму із супозиторіїв, максимальні показники вивільнення даного АФІ спостерігались при застосуванні полісорбату 80 у складі супозиторіїв [177].

Тому наступним нашим етапом були дослідження з вибору оптимальної концентрації полісорбату-80 як обраного емульгатору на основі результатів експериментальних досліджень та даних літературних джерел.

Нами були виготовлені модельні зразки песаріїв на гідрофобній, гідрофільній та дифільних основах з концентрацією полісорбату-80 1, 1,5, 2, 2,5 3, 3,5 4, 4,5, 5, 5,5 та 6 %. Після виготовлення 33 зразків були проведені їх посіви з метою визначення життєздатності та концентрації лактобактерій (табл. 3.16).

Таблиця 3.16

**Дослідження життєздатності *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідних зразках песаріїв на гідрофобній, гідрофільній та дифільній основах з різною концентрацією полісорбату-80**

Концентрація полісорбату-80, %	Кількість лактобактерій, КУО/мл		
	гідрофобна основа	гідрофільна основа	дифільна основа
1	$(5,42 \pm 0,02) \cdot 10^4$	$(5,47 \pm 0,02) \cdot 10^5$	$(2,36 \pm 0,02) \cdot 10^7$
1,5	$(5,45 \pm 0,03) \cdot 10^4$	$(5,65 \pm 0,01) \cdot 10^5$	$(2,45 \pm 0,02) \cdot 10^7$
2	$(2,36 \pm 0,01) \cdot 10^5$	$(1,36 \pm 0,02) \cdot 10^7$	$(1,14 \pm 0,03) \cdot 10^9$
2,5	$(2,38 \pm 0,03) \cdot 10^5$	$(2,63 \pm 0,02) \cdot 10^7$	$(2,18 \pm 0,04) \cdot 10^{10}$
3	$(3,20 \pm 0,01) \cdot 10^6$	$(1,14 \pm 0,02) \cdot 10^8$	$(2,22 \pm 0,04) \cdot 10^{10}$
3,5	$(9,41 \pm 0,01) \cdot 10^7$	$(1,21 \pm 0,03) \cdot 10^8$	$(2,21 \pm 0,03) \cdot 10^{10}$
4	$(9,36 \pm 0,02) \cdot 10^7$	$(1,23 \pm 0,03) \cdot 10^8$	$(2,19 \pm 0,03) \cdot 10^{10}$
4,5	$(9,47 \pm 0,04) \cdot 10^7$	$(1,19 \pm 0,03) \cdot 10^8$	$(2,23 \pm 0,02) \cdot 10^{10}$
5	$(8,57 \pm 0,02) \cdot 10^8$	$(1,24 \pm 0,03) \cdot 10^8$	$(2,24 \pm 0,04) \cdot 10^{10}$
5,5	$(8,54 \pm 0,01) \cdot 10^8$	$(1,23 \pm 0,02) \cdot 10^8$	$(2,22 \pm 0,04) \cdot 10^{10}$
6	$(8,59 \pm 0,02) \cdot 10^8$	$(1,19 \pm 0,04) \cdot 10^8$	$(2,25 \pm 0,02) \cdot 10^{10}$

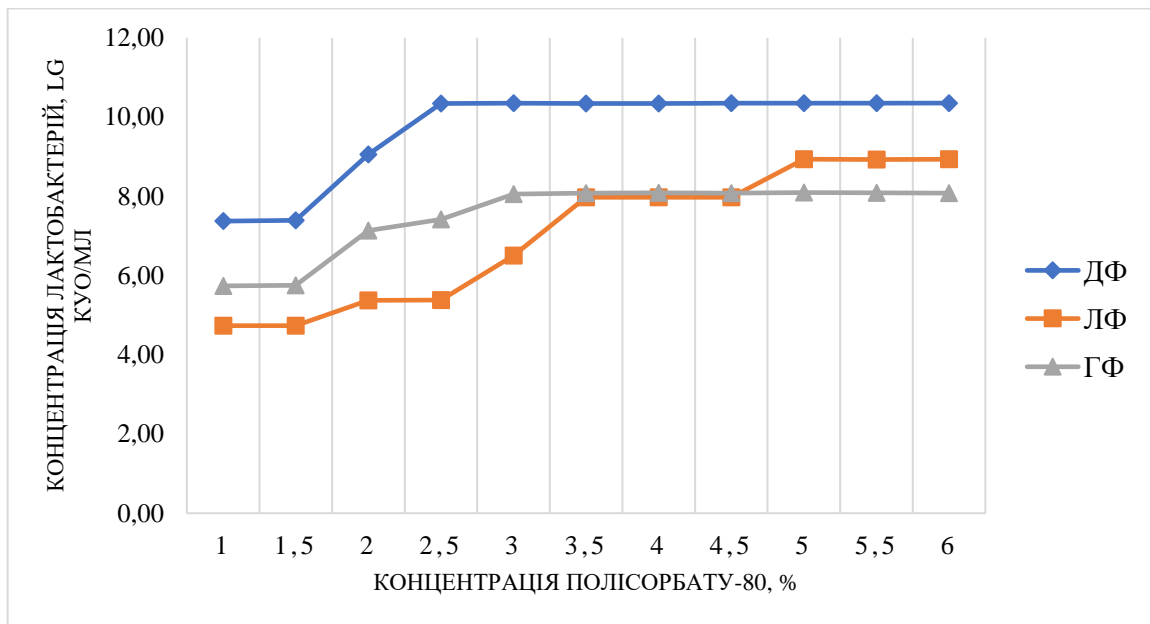
Результати статистичної обробки показників концентрації бактерій за Ig демонструють, що у ліпофільній основі немає статистично значущих відмінностей між зразками із концентраціями полісорбату-80 1 % і 1,5 %, 2 і 2,5 %, 3,5 % і 4 %, 3,5 % і 4,5 %, 4 % і 4,5 % ( $p=1,0$ ).

Найбільша кількість бактерій висівалась із зразка із концентрацією 5 % на рівні  $Ig = 8,93 \pm 0,02$  КУО/мл. Збільшення концентрації полісорбату-80 більше ніж 5 % не є доцільним, враховуючи відсутній приросту у кількості лактобактерій, що висівались із зразків ( $p=1,0$ ).

Із моделей песаріїв на гідрофільних основах максимальна кількість бактерій висівалась із зразка із концентрацією емульгатора 3 % ( $Ig = 8,06 \pm 0,017$  КУО/мл), подальше підвищення концентрації полісорбату-80 з 3 % до 6 % не є необхідним, оскільки не спостерігалось статистично значущих відмінностей у кількості *Lactobacillus casei* IMB-7280 ( $p>0,05$ ).

У зразках на дифільних основах максимальна «виживаність» пробіотичних бактерій була у зразках із концентрацією полісорбату-80 – 2,5

%-3 % -  $1g = 10,34 \pm 0,04$  КУО/мл та  $10,35 \pm 0,03$  КУО/мл відповідно. Результати висіву лактобактерій з наступних зразків не продемонстрували статистично значущих відмінностей ( $p > 0,05$ ) (рис. 3.12).



\*примітка ЛФ – ліпофільна (гідрофобна) основа, ГФ – гідрофільна основа, ДФ – дифільна основа

Рис. 3.12. Залежність кількості бактерій *Lactobacillus casei* IMB B-7280 ( $1g$  КУО/мл) у модельних зразках песаріїв від концентрації полісорбату-80

Окрім цього, всі зразки із концентрацією полісорбату-80 1-1,5 %, а песаріїв на гідрофобних із концентрацією до 3 % не володіли достатньою твердістю і були або занадто м'якими, або крихкими, що є неприпустимим для даної ЛФ.

Отже, враховуючи результати визначення концентрації лактобактерій із дослідних зразків песаріїв на трьох типах основ із різною концентрацією полісорбату-80, вважаємо оптимальною концентрацією полісорбату-80 2,5-3 % для дифільних та гідрофільних зразків та 5 % - для песаріїв на ліпофільних основах.

### 3.3. Обґрунтування раціональної технології песаріїв з *Lactobacillus casei* IMB B-7280

#### 3.3.1. Дослідження реологічних властивостей розроблюваної лікарської форми

Песарії – тверді ЛФ, що є структурованими системами із специфічними консистентними властивостями, такими як в'язкість, пластичність, твердість, тиксотропність. З технологічної точки зору важливо підібрати правильні параметри виробництва даної ЛФ для забезпечення стійкості песаріїв як зв'язано-дисперсної системи. Тому наступним етапом нашого дослідження було вивчення структурно-механічних властивостей модельних зразків песаріїв.

Експеримент проводили в температурному інтервалі від 30 °С до 45 °С при різних градієнтах швидкості зсуву згідно методики, описаної в розділі 2. Даний температурний режим пояснюється термолабільністю субстанції для уникнення втрати життєздатності лактобактерій.

Було виготовлено 3 модельні зразки песаріїв: № 6 – на ліпофільній основі, № 11 – на гідрофільній основі, № 15 – на дифільній основі та окремо супозиторні основи.

При дослідженні реологічних властивостей найбільш наочним є графічне представлення результатів у вигляді реограм або кривих течії [146], які ми будували як залежність у системі координат напруги зсуву  $\tau_r$  (вісь абсцис) до градієнта швидкості зсуву  $D_r$  (вісь ординат), що дає змогу характеризувати тиксотропність досліджуваних зразків, тобто здатність до відновлення початкової структури системи, зруйнованої внаслідок дії механічних сил.

Аналіз рис. 3.13-3.15 свідчить про наявність тиксотропних властивостей досліджуваних зразків, оскільки висхідні та низхідні криві на реограмах утворюють петлі гістерезису із значенням площ, що це підтверджують. Нелінійна залежність напруги зсуву від градієнту швидкості

зсуву вказує на неньютонівський тип течії супозиторних мас. Руйнування структури відбувається під впливом високих напруг зсуву, зниження значення напруги зсуву призводить до відновлення структури і, відповідно, появи низхідної кривої на реограмі, що і є свідченням наявності тиксотропних властивостей.

У результаті дослідження встановлено, що при температурі 30°C супозиторні маси усіх зразків знаходяться у твердому стані та мають високі показники структурної в'язкості. Підвищення температури до 35°C призводить до зниження в'язкості зразків: у 6 разів для зразку № 6, у 3 рази для зразку № 11 та у 5 разів для зразку № 15. При даній температурі песарії зразку № 6 набувають в'язко-рідкої консистенції, незважаючи на те, що супозиторна маса розріджується при даній температурі, для неї характерні властивості структурованої системи, зразку № 15 – в'язкої, а зразку № 11 – в'язко-твердої.

Подальше підвищення температури до 45°C призводить до ще більшого зниження структурної в'язкості, при цьому зразок № 6 перебуває у рідкому стані, а зразки № 11 та 15 – у в'язкому. Подальше підвищення температури, ймовірно, призведе до повного руйнування структури для зразку № 6 та переходу супозиторних мас зразків № 11 та 15 у рідкий стан, проте при такому температурному режимі випробування не проводилось, враховуючи термолабільність субстанції з пробіотичною активністю.

Основи модельних зразків, так як і супозиторні маси, при температурі 30°C володіли високими параметрами структурної в'язкості і перебували у твердому стані. При температурі 35°C в'язкість основ знижувалась у 5, 4 та 2 рази для зразків № 6, 15 та 11 відповідно. Основа зразку песаріїв № 6 перебувала у в'язко-рідкому стані, а № 11 та 15 – у в'язкому. Підвищення температури до 45 °C призводить до переходу основи зразку № 6 у рідкий стан, відповідно, вона має дуже низькі значення в'язкості, основи зразків № 11 та 15 перебувають у в'язкому стані, проте значення їхньої структурної в'язкості зменшується у порівнянні з попереднім температурним режимом.



Низькі значення структурної в'язкості зразку № 6 при температурі 45°C свідчать про можливість седиментації субстанції з пробіотичною активністю, як наслідок неоднорідності розподілу АФІ та розшарування ЛФ. Зниження температури до 30-33°C призводить до значного збільшення показників структурної в'язкості та уповільнення текучості і, як наслідок, ймовірних труднощів при дозуванні супозиторної маси. Отже, враховуючи те, що структурна в'язкість супозиторної маси зразку № 6 наближається до в'язкості даної основи при 35°C та має оптимальні реопараметри, для даного зразку оптимальною є температура приготування і дозування –  $(35 \pm 1)$  °C.

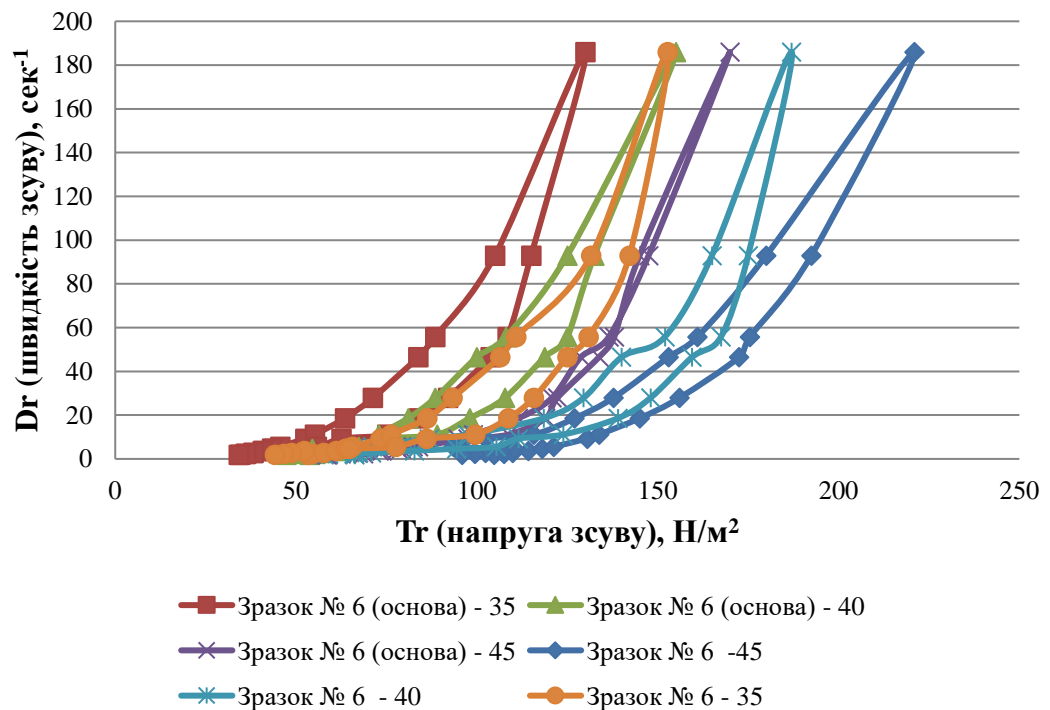


Рис. 3.13. Реограма плинності супозиторної маси та основи зразка № 6 при різних температурах (ліпофільна основа)

Зразок № 11 як при температурі 40°C, так і 45°C продемонстрував високі значення структурної в'язкості, про що свідчить велика площа гістеризу на реограмі, що також відрізняються від значення основи при даному температурному режимі, логічно було б провести виробування при підвищеній температурі, проте враховуючи термолабільність субстанції це є недоцільним. При температурі 45°C можливі труднощі при приготуванні і

дозуванні основи, а також нерівномірність розподілу АФІ, що не суперечить нашим попереднім дослідженням, адже даний зразок суттєво відрізнявся за концентрацією лактобактерій при визначенні як після приготування, так і у процесі зберігання від зразків інших груп ( $p < 0,05$ ). На підставі одержаних результатів зразок № 11 був виключений з наших подальших випробувань.

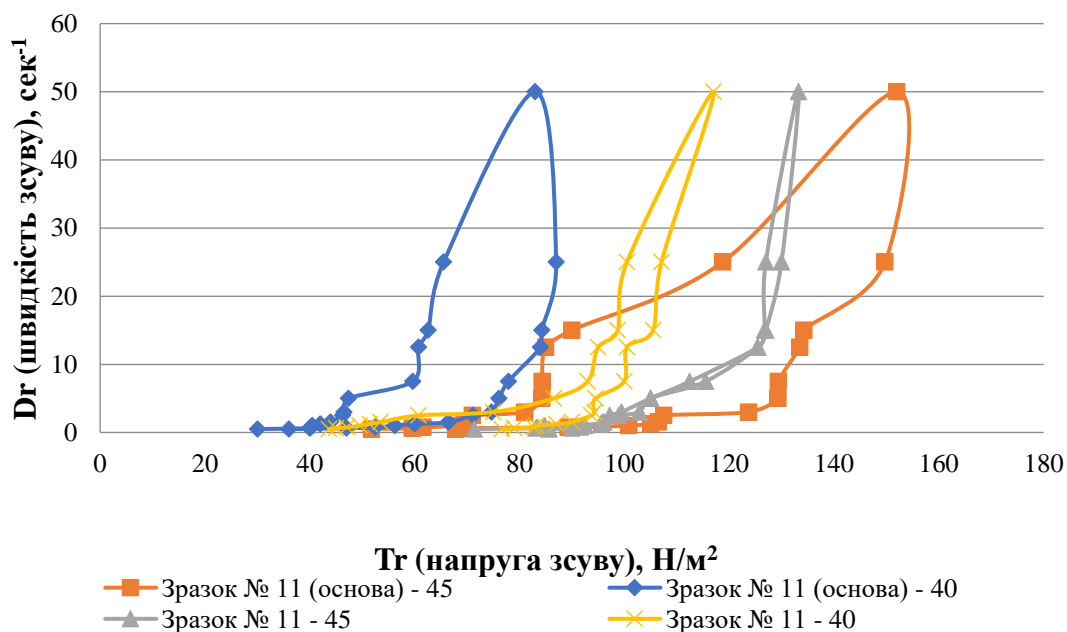


Рис. 3.14. Реограма плинності супозиторної маси та основи зразка № 11 при різних температурах (гідрофільна основа)

Реологічні дослідження супозиторної маси зразку № 15 свідчать про близьке значення структурної в'язкості до даного показника основи при температурі  $(40 \pm 2)$  °С. Зниження температури до 35°C призводить до уповільнення текучості і збільшення структурної в'язкості, що характеризує труднощі при дозуванні песаріїв при виливанні. Підвищення температури до 45°C навпаки призводить до зниження реопараметрів досліджуваного зразку, розшарування супозиторної маси та можливості седиментації АФІ. Отже, температура  $(40 \pm 2)$  °С є оптимальною для виготовлення і дозування основи. Оскільки технологія приготування песаріїв на дифільній основі передбачає приготування двох фаз із наступним змішування, оптимальною

температурою приготування гідрофобної фази можна вважати -  $(35 \pm 1)$  °C, враховуючи отримані дані для зразку № 6.

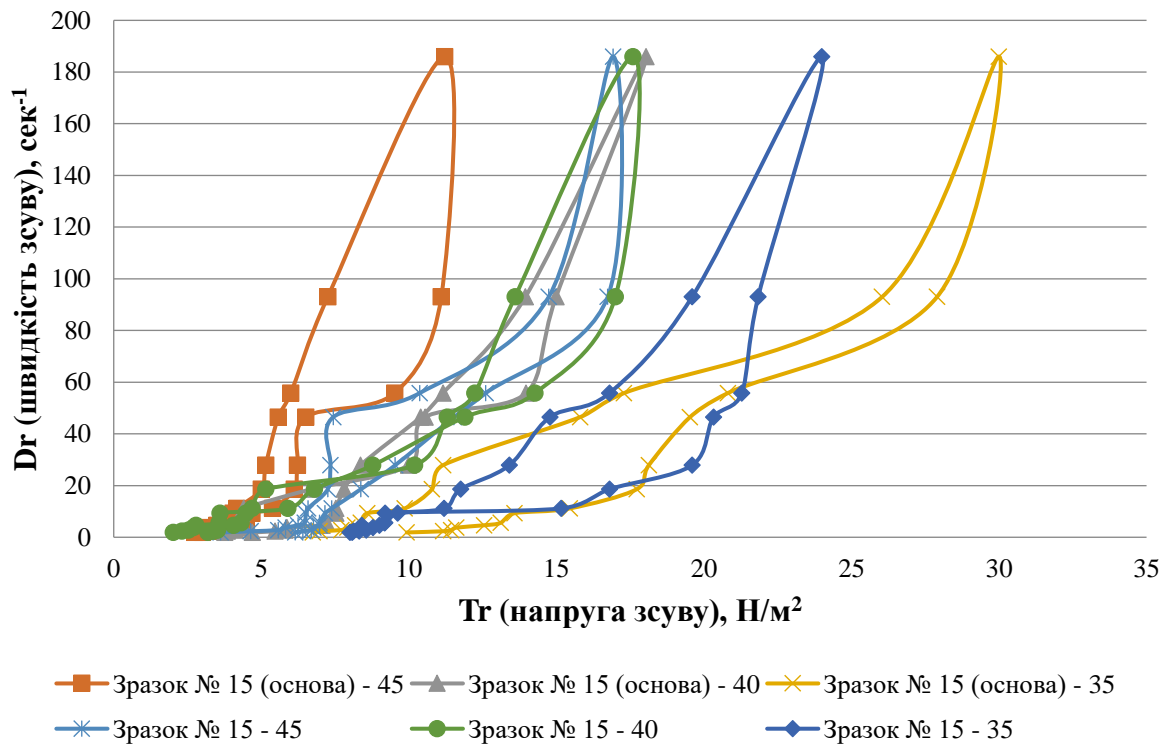


Рис. 3.15 Реограма плинності супозиторної маси та основи зразка № 15 при різних температурах (дифільна основа)

Враховуючи те, що «виживаність» бактерій є основним вирішальним фактором при виборі допоміжних речовин у складі ЖБЛЗ, на основі результатів попередніх досліджень щодо кількісного визначення пробіотичних бактерій у дослідних зразках, контролю якості, попередніх результатах дослідження стабільності вважаємо оптимальним склад зразку № 15 на дифільній основі (твердий жир, ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000, полісорбат-80, вода очищена), що демонструє повну відповідність заданим параметрам якості та забезпечує максимальну кількість лактобактерій при визначенні одразу після виготовлення, так і в процесі зберігання. Модельний зразок песаріїв № 15 на дифільній основі (твердий жир, ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000, полісорбат-80, вода очищена), використовується у подальших наших дослідженнях.

### 3.3.2. Дослідження гомогенності і обґрунтування температури охолодження супозиторної маси

Для отримання гомогенної супозиторної маси важливими показниками є швидкість та час перемішування. Використання потужних мішалок із значною швидкістю, з одного боку, може пришвидшити процес гомогенізації та, відповідно, виробництва песаріїв, проте, з іншого боку, може призвести до піноутворення і аерації супозиторної маси і, як наслідок, труднощів при приготуванні і дозуванні супозиторної маси та невідповідності показникам якості [178]. Тривале перемішування із значною швидкістю також може призвести до розшарування супозиторної маси та руйнування внутрішньої структури, а недостатня швидкість та недостатній час перемішування сприяє неоднорідному розподілу та седиментації АФІ у супозиторній масі [179].

Для розроблюваних песаріїв (зразок № 15) необхідно спочатку забезпечити однорідність розподілу АФІ у гідрофільній фазі дифільної основи, а потім у супозиторній масі після додавання ліпофільної фази. Не менш важливим є контроль приготування власне гідрофільної фази, а саме змішування ПЕГів з різною молекулярною масою.

Тому, нами була досліджена однорідність супозиторної маси в залежності від часу перемішування та швидкості обертів мішалок на стадії введення АФІ у гідрофільну фазу та на стадії змішування двох фаз. Випробування проводили при чотирьох режимах роботи рамної мішалки: 25, 50, 75 та 100 об/хв у часовому інтервалі 15, 30, 45 та 60 хв. Після закінчення кожного проміжку часу з трьох різних ділянок реактора брали проби та робили висновок про однорідність гідрофільної фази або супозиторної маси на підставі результатів мікроскопії проб. Окремо досліджувалась однорідність гідрофільної фази на стадії приготування при вище вказаних параметрах шляхом візуальної оцінки. Результати представлені у таблиці 3.17.

Таблиця 3.17

**Однорідність супозиторної маси в залежності від часу та швидкості перемішування**

Кількість обертів мішалки, сек <sup>-1</sup>	Час перемішування, хв	Однорідність		
		Гідрофільна фаза	Гідрофільна фаза +АФІ	Супозиторна маса
0,42	15	маса білого кольору неоднорідна	маса білого кольору, неоднорідна, наявні вкраплення	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
	30	маса білого кольору неоднорідна	маса білого кольору, неоднорідна, наявні вкраплення	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
	45	маса білого кольору неоднорідна	маса білого кольору, неоднорідна, наявні вкраплення	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
	60	маса білого кольору з неоднорідними ділянками	маса білого кольору, неоднорідна, наявні вкраплення	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
0,83	15	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, неоднорідна, наявні незначні вкраплення	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
	30	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, неоднорідна, наявні поодинокі вкраплення	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
	45	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
	60	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, неоднорідна
1,25	15	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, з елементами неоднорідності
	30	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, однорідна
	45	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, однорідна
	60	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, однорідна
1,67	15	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, однорідна
	30	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, однорідна
	45	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, однорідна
	60	маса білого кольору однорідна	маса білого кольору, однорідна	маса жовто-білого кольору, однорідна

Дослідження показало, що гомогенна маса без проявів неоднорідності утворювалась після 15 хвилин перемішування мішалкою із швидкістю обертів  $0,83 \text{ сек}^{-1}$ . Збільшення часу перемішування та кількості обертів мішалки є недоцільним, враховуючи підвищення енергетичних витрат. А 60 хв робота мішалки зі швидкістю 25 обертів/хвилина не була достатньою для отримання однорідної гідрофільної фази супозиторної основи.

Оптимальною для отримання однорідної гідрофільної фази песаріїв є швидкість обертів мішалки  $0,83 \text{ сек}^{-1}$  при часі перемішування 45 хвилин, гомогенна супозиторна маса жовто-білого кольору утворювалась після 30 хвилин перемішування із кількістю обертів мішалки  $1,25 \text{ сек}^{-1}$ .

Використання мішалки із швидкістю 25 обертів/хвилину було неефективним для одержання однорідної гідрофільної фази основи песаріїв, а підвищення швидкості до 75-100 обертів/хвилину є недоцільним з точки зору енергетичних витрат.

Перемішування супозиторної маси із кількістю обертів мішалки 0,42 та  $0,83 \text{ сек}^{-1}$  не досягло однорідності, а підвищення швидкості мішалки до  $1,67 \text{ сек}^{-1}$  є недоцільним, зважаючи на підвищення витрати енергії.

Важливим параметром технологічного процесу є режим охолодження супозиторної маси після дозування у первинне пакування. [180]. Для визначення оптимальної температури охолодження нами було проведено вивчення впливу температури охолодження на стійкість песаріїв до руйнування.

Стійкість до руйнування песаріїв визначається масою, яку необхідно прикласти для руйнування даної ЛФ шляхом роздавлювання. Після дозування песаріїв у первинне пакування (чарунки з ПВХ-плівки) проводили їх охолодження в температурному інтервалі 8-20 °С, фіксувавши час, який необхідний для повного затвердіння песаріїв та вимірювали їхню стійкість до руйнування (рис. 3.16).

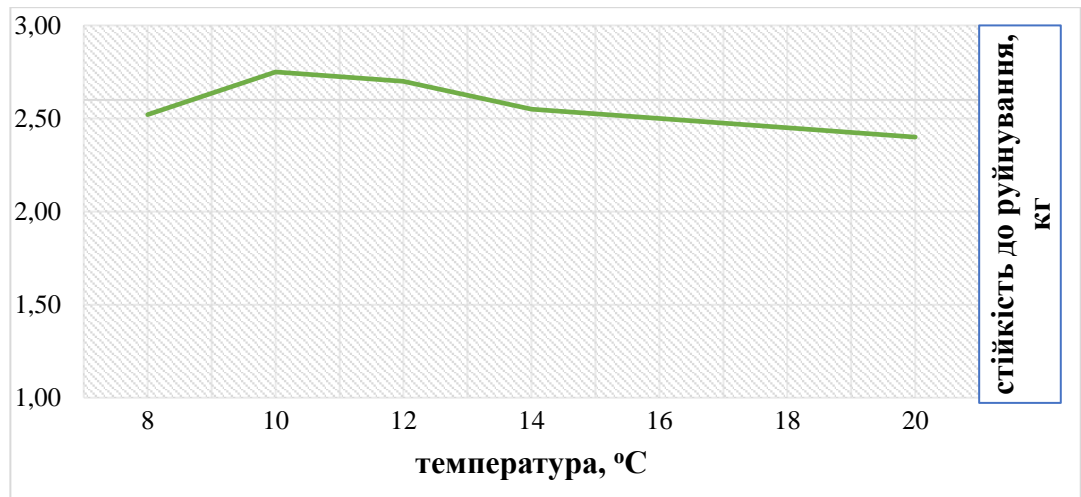


Рис.3.16. Залежність стійкості до руйнування від температури охолодження

Результати експерименту свідчать, що спостерігається прямо пропорційна залежність часу та температури охолодження. При заданому температурному інтервалі повне затвердіння песаріїв відбувається за 20-40 хвилин. Температурою охолодження, за якої показники стійкості до руйнування песаріїв є оптимальними, є температура 10-12 °C, за якої супозиторна маса застигає за 22-25 хвилин.

Отже, отримані дані проведених досліджень дозволяють визначити оптимальні параметри технологічного процесу виробництва песаріїв з пробіотичною активністю:

- приготування гідрофільної фази: температура -  $(40\pm 2)$  °C, тривалість перемішування – 45 хвилин, швидкість перемішування – 50 обертів/хвилину;
- приготування супозиторної маси: температура -  $(40\pm 2)$  °C, тривалість перемішування – 30 хвилин, швидкість перемішування – 75 обертів/хвилину;
- дозування супозиторної маси –  $(40\pm 2)$  °C;
- охолодження песаріїв: температура –  $(10-12)$ °C, тривалість – 22-25 хвилин.

### 3.3.3. Розробка технології та визначення критичних параметрів промислового виробництва песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»

#### *Стадія 1. Підготовка виробництва*

На даній стадії проводиться підготовка приміщень, повітря приміщень, персоналу шляхом санітарної обробки. Також відбувається підготовка обладнання, що ретельно обробляється паром, миючими засобами, ополіскується та висушується відповідно до принципів GMP.

#### *Стадія 2. Відважування компонентів та подрібнення АФІ*

Виробництво песаріїв з пробіотичною активністю проводиться в стерильному боксі з дотриманням правил асептики для уникнення мікробної контамінації субстанції з пробіотичною активністю та допоміжних речовин. Попередньо відважені на електронних вагах твердий жир, ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000 та полісорбат-80 передають у збірники. *Lactobacillus casei* IMB B-7280 спочатку відважують на вагах, а потім подрібнюють за допомогою кульового млина до 0,5-1,0 мкм розміру частинок порошку. Необхідну кількість води очищеної відміряють мірником.

#### *Стадія 3. Приготування концентрату АФІ*

У реактор поміщають субстанцію з пробіотичною активністю, додають воду очищену та перемішують якірною мішалкою протягом 5-10 хв зі швидкістю 100 об/хв. До отриманого розчину додають полісорбат-80 та перемішують з такою ж швидкістю протягом 5-10 хв.

#### *Стадія 4. Приготування гідрофільної фази основи песаріїв*

У реактор із паровою сорочкою поміщають необхідні кількості ПЕГ-4000, ПЕГ-1500 та ПЕГ-400 і нагрівають до 40°C протягом 30 хв для одержання однорідної фази при перемішуванні рамною мішалкою протягом 15 хвилин із швидкістю 50 об/хв.



*Стадія 5. Введення концентрату АФІ у гідрофільну фазу основи песаріїв*

У гідрофільну фазу зі стадії 3 додають концентрат АФІ зі стадії 2 при температурі 40°C та перемішують із швидкістю 50 об/хв протягом 45 хв.

*Стадія 6. Приготування гідрофобної фази основи песаріїв*

У реактор із паровою сорочкою поміщають необхідну кількість твердого жиру нагрівають до 35-37°C протягом 20 хв для одержання однорідної маси.

*Стадія 7. Приготування супозиторної маси*

Гідрофобну фазу основи зі стадії 4 через систему трубопроводів передають до отриманої зі стадії 5 маси, додають полісорбат-80 та перемішують із швидкістю 75 об/хв протягом 30 хв. Після гомогенізації проводять проміжний контроль для отриманої супозиторної маси. Відбирають проби із трьох різних ділянок реактора та проводять аналіз. При результатах аналізу відповідних МКЯ супозиторну масу через систему трубопроводів за допомогою насоса передають на стадію 8.

*Стадія 8. Дозування песаріїв*

Дозування песаріїв проводять на автоматичній лінії розливу для супозиторіїв та песаріїв. Встановлюють необхідну температуру виливання 40 °C та дозу супозиторної маси для розливу. Через дозувальний пристрій за допомогою насоса (наповнювальну голку) розрахована доза супозиторної маси з бункера доставляється у попередньо виготовлені термозварюванням контурні чарункові упаковки з ПВХ до обмежувальної лінії. Проводиться проміжний контроль продукції, маса песаріїв повинна відповідати вимогам МКЯ.

Далі чарунки герметично закриваються і додатково розподіляються між собою методом холодного тиснення. Після чого контурна стрічка розрізається для одержання песаріїв по 5 шт та відповідно промарковується.

Контурна стрічка, заповнена супозиторною масою, передається у холодильну камеру автомата на 22-25 хв для охолодження при температурі 10-12°C до отримання песаріїв необхідної твердості у готовому пакуванні.

#### *Стадія 9. Пакування песаріїв у пачки*

Отримані контурні упаковки по 2 шт. (по 10 песаріїв) пакують в картонні коробки з відповідним МКЯ маркуванням і комплектують інструкціями до медичного застосування на автоматичній лінії. Штампувальний пристрій на упаковки наносить друк серії та терміну придатності. Перевіряють комплектність та правильність друку.

#### *Стадія 10. Пакування пачок у коробки*

На пакувальному столі проводять пакування пачок у коробки. Серію готової продукції передають на склад готової продукції та проводять контроль. Готова продукція зберігається у сухому захищеному від світла місці при температурі 2-8°C до відвантаження дистриб'юторам.

Згідно наведеної технології розроблено технологічну блок-схему (рис. 3.17) виробництва песаріїв під умовною назвою «Лактовагін».

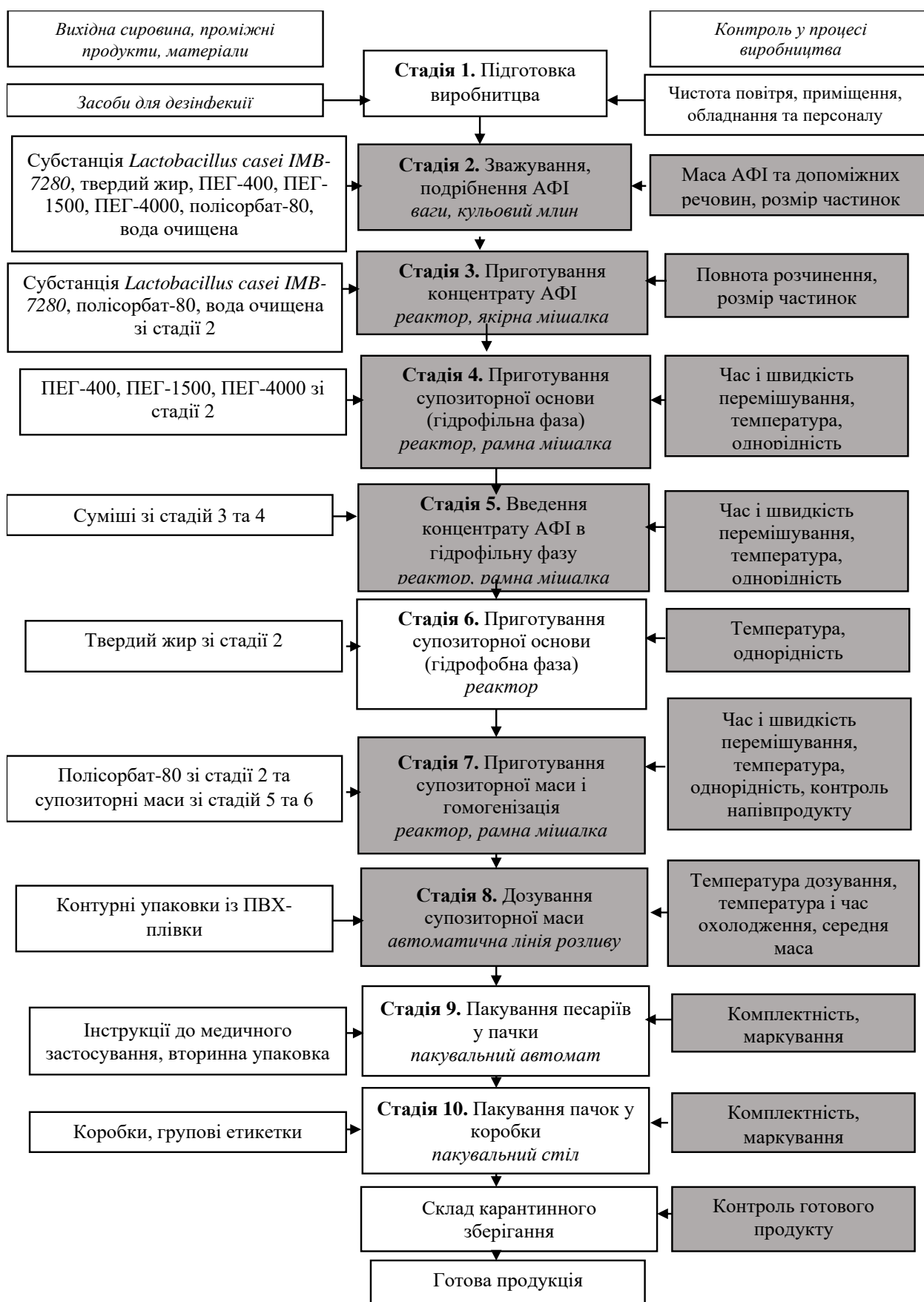


Рис. 3.17. Технологічна блок-схема виробництва песаріїв «Лактовагін»

Відповідно до Настанови СТ-Н МОЗУ42-3.0:2011 «Лікарські засоби. Фармацевтична розробка» при розробці виробничого процесу обов'язково повинні бути зазначені критичні параметри процесу, варіабельність яких може вплинути на критичні показники якості, та які повинні моніторингуватись та контролюватись з метою забезпечення виробництва продукції необхідної якості [140].

Критичні параметри процесу виробництва песаріїв з пробіотичною активністю, яким надана умовна назва «Лактовагін», було визначено згідно з розробленою технологією з урахуванням вимог, що висуваються до ЖБЛЗ, особливостей АФІ та допоміжних речовин, що входять до його складу (табл. 3.18)

Таблиця 3.18

**Критичні параметри процесу виробництва песаріїв під умовною назвою  
«Лактовагін»**

Технологічна операція	Технологічний параметр, що контролюється, одиниці	Відповідний показник
1	2	3
Відважування компонентів	Маса АФІ та допоміжних речовин, кг	Згідно з робочим прописом
Подрібнення АФІ	Розмір частинок, мкм	0,5-1,0
Приготування концентрату АФІ	Повнота розчинення	В'язка рідина жовто-помаранчевого кольору
	Розмір частинок, мкм	0,1-0,2
Приготування основи:		
Гідрофільна фаза	Температура, °С	40
	Час перемішування, хв	15
	Швидкість перемішування, об/хв	50
	Однорідність	Маса повинна бути однорідна, без включень і крапель
Гідрофобна фаза	Температура °С	35
Введення концентрату АФІ в гідрофільну фазу	Температура °С	40
	Час перемішування, хв	45
	Швидкість перемішування, об/хв	50

Продовження таблиці 3.18

1	2	3
Приготування супозиторної маси	Температура °С	40
	Час перемішування, хв	30
	Швидкість перемішування, об/хв	75
	Однорідність	Маса повинна бути однорідна, без включень і крапель
Дозування супозиторної маси	Температура дозування, °С	40
	Температура охолодження, °С	10-12
	Час охолодження, хв	22-25
	Середня маса, г	2,85-3,15
Пакування	Відповідність первинної та вторинної упаковки, комплектність, правильність маркування	Шляхом візуального контролю відповідності

### Висновки до розділу 3

1. Проведено маркетинговий аналіз ринку України ЛЗ для вагінального застосування, визначено, що песарії (вагінальні супозиторії) є найпоширенішою (47,2 %) ЛФ серед асортименту. При формуванні асортиментної бази виявлено, що 4 ЛЗ зареєстровані як ЛФ без вказівки на вагінальний шлях введення, а 41 ТН зареєстровані як вагінальні супозиторії, що не відповідає сучасній номенклатурі та класифікації ЛФ. Актуальною є систематизація даних та встановлення чітких критеріїв при реєстрації ЛЗ. Проаналізовано сегмент пробіотичних препаратів для вагінального застосування, встановлено, що зареєстрованими є лише 3 ТН ЛЗ у формі вагінальних капсул та таблеток іноземного виробництва. Досліджено асортимент ДД для вагінального застосування, що містять пробіотики, та визначено, що він є обмеженим. Оскільки на фармацевтичному ринку відсутні ЛЗ та ДД у формі песаріїв, що містять *Lactobacillus casei* як пробіотичний штам, актуальною є розробка нового ЖБЛЗ у формі песаріїв для лікування та профілактики вагінальних дисбіозів.

2. Проведено визначення фізико-хімічних властивостей субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280. На підставі проведених досліджень встановлено оптимальних шлях введення АФІ в основу – у вигляді водного розчину з додаванням ПАР (полісорбату-80) з попереднім подрібненням до 0,5-1,0 мкм.

3. Теоретично та експериментально обґрунтовано склади модельних зразків песаріїв на гідрофобних, гідрофільних та дифільних основах. На підставі органолептичних, фармако-технологічних та мікробіологічних досліджень обрано зразки на гідрофобній (твердий жир, емульгатор, вода очищена), гідрофільній (ПЕГ-400, ПЕГ-1500, емульгатор, вода очищена) та дифільній (твердий жир, ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000, емульгатор, вода очищена) основах за наступними критеріями: кількість живих лактобактерій у складі основи як після виготовлення, так і за умов зберігання зразків протягом 6 місяців у холодильнику (2-8°C) та при кімнатній температурі; відповідність показникам контролю якості: опис, однорідність, середня маса, розпадання, температура плавлення (для гідрофобних основ) та відсутність контамінації патогенними мікроорганізмами

4. Проведено дослідження із вибору оптимальної ПАР та її концентрації у складі песаріїв з пробіотичною активністю. Визначено, що оптимальною ПАР є полісорбат-80, який доцільно використовувати у концентрації 5 % для зразків на гідрофобній основі, 2,5-3 % - на гідрофільній та дифільній основах.

5. На підставі проведених досліджень розроблено та обґрунтовано оптимальний склад песаріїв з пробіотичною активністю: субстанція *Lactobacillus casei* IMB B-7280, дифільна основа (твердий жир, ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000), полісорбат-80.

6. Розроблено раціональну технологію виробництва песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», встановлено основні критичні технологічні параметри виробництва: приготування гідрофільної фази: температура -

(40±2) °С, тривалість перемішування – 45 хвилин, швидкість перемішування – 50 обертів/хвилину; приготування супозиторної маси: температура - (40±2) °С, тривалість перемішування – 30 хвилин, швидкість перемішування – 75 обертів/хвилину; дозування супозиторної маси – (40±2) °С; охолодження песаріїв: температура – (10-12)°С, тривалість – 22-25 хвилин.

7. Розроблено та запропоновано технологічну блок-схему виробництва ЖБЛЗ у формі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін».

*Результати досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях [181-195]:*

1. Алейник С. Л. Визначення температури плавлення дослідних зразків песаріїв з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец випуск 4(120) 4 : Annual Young Medical Scientists` Conference 2020*, м. Київ, 27–28 листоп. 2020 р. Київ, 2020. С. 4.

2. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Актуальність створення лікарських засобів з пробіотичною активністю у формі супозиторіїв для вагінального застосування. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23–24 верес. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 62–63.

3. Алейник С. Л., Полова Ж. М., Глущенко О. М. Лікарські засоби для вагінального застосування: аналіз фармацевтичного ринку України. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних, алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : Зб. наук. пр. Вип. 3, м. Харків, 1 берез. 2019 р. Харків, 2019. С. 22–25.

4. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Лікарські засоби з лактобактеріями: аналіз фармацевтичного ринку України. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали IV Міжнар. науково-практ. інтернет - конф., м. Харків, 14–15 листоп. 2019 р. Харків, 2019. С. 28–31.

5. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки песаріїв із пробіотичною активністю. *Фармацевтичний часопис*. 2021. № 4. С. 5–11. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.4.12670>.

6. Алейник С., Полова Ж. Обґрунтування концентрації поверхнево-активної речовини у складі песаріїв з пробіотичною активністю. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : матеріали II Міжнар. науково-практ. конф., м. Харків, 13 жовт. 2022 р. Харків, 2022. С. 110–111.

7. Aleinyk S. Development of combined pessaries with probiotic activity. *Vestnik of the South-Kazakhstan Medical Academy*. 4(94) : the VIII International Scientific Conference of young scientists and students “Prospects for the development of biology, medicine and pharmacy”, Shymkent, 9–10 December 2021. 2021. P. 33–34.

8. Aleinyk S. L., Polova Z. M. Effect of surface-active substances concentration on the viability of *Lactobacilli* in composition of pessaries. *Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation* : collection of scientific papers «SCIENTIA» with Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 4), Pisa, 12 February 2021. 2021. P. 63–65.

9. Алейник С.Л. Дослідження асортименту фармацевтичного ринку лікарських засобів для вагінального застосування з деталізацією сегменту препаратів з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2021. Т. 127. № 4. С. 55-67. URL: [https://doi.org/10.32345/USMYJ.4\(127\).2021.55-67](https://doi.org/10.32345/USMYJ.4(127).2021.55-67).

10. Aleinyk S., Polova Z. Determination of melting point in experimental samples of suppositories with probiotic activity. *Topical issues in pharmacy and medical sciences* : Abstracts of the 2nd International scientific and practical conference, Tokyo, 18–19 November 2019. 2019. P. 81–85.



11. Aleinyk S., Polova Z. Development of suppositories for the correction of vaginal dysbiosis. *Scientific achievements of modern society* : Abstracts of the 1st International scientific and practical conference, Liverpool, 11–13 September 2019. 2019. P. 70–76.

12. Aleinyk S., Polova Z. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. *Science and society* : Proceedings of the 12th International conference., Hamilton, 7 June 2019. 2019. P. 404–410.

13. Aleinyk S., Polova Z. The Ukrainian pharmaceutical market assortment of dietary supplements with probiotic activity for the treatment and prevention of the female genitourinary system diseases. *Annali d'Italia*. 2020. Vol. 1, no. 5. P. 20–23.

14. Polova Z., Aleinyk S., Kazak A. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. *Ceska a Slovenska farmacie*. 2020. No. 69(2). P. 90–99.

15. Супозиторії з пробіотичною активністю для вагінального застосування : пат. 141286 Україна : А61К9/02 А61К35/74 А61К35/66 А61Р15/02. № u201910960 ; заявл. 06.11.2019 ; опубл. 25.03.2020, Бюл. № 9. 9 с.

## РОЗДІЛ 4. СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ ПЕСАРІЇВ ПІД УМОВНОЮ НАЗВОЮ «ЛАКТОВАГІН»

4.1. Загальне оцінювання ризиків для якості на етапі фармацевтичної розробки песаріїв

Відомо, що згідно з сучасними підходами до фармацевтичної розробки препаратів, якість ЛЗ не може бути перевірена у готовому продукті, а закладається під час фармацевтичної розробки даного ЛЗ. Оцінка ризиків при виробництві песаріїв нами була проведена згідно концепції «Quality by design» (якість шляхом розробки).

З метою виявлення найбільш важливих факторів, що можуть вплинути на якість ЛЗ, нами було проведено причинно-наслідковий аналіз. При аналізі встановлено максимальну кількість потенційних факторів, що впливають на якість готового препарату [140].

З метою систематизації даних факторів, було побудовано діаграму Ішикави для наочного відтворення результатів аналізу. Діаграма Ішикави (діаграма «риб'ячий кістяк», «риб'ячий скелет») названа за ім'ям її автора - японського теоретика із галузі менеджменту та є графічним методом визначення і впорядкування факторів (причин), що впливають на кінцевий результат (наслідки) та візуалізації причинно-наслідкових зв'язків досліджуваної теми [196] (рис. 4.1).

Такі фактори як сировина (АФІ, допоміжні речовини), технологічний процес, пакувальні матеріали, технологічний процес, методи контролю є основними та можуть суттєво впливати на якість ЛЗ. На діаграмі вони є головними осями, для яких визначені причини, що є факторами ризику та призводять до невідповідності якості.

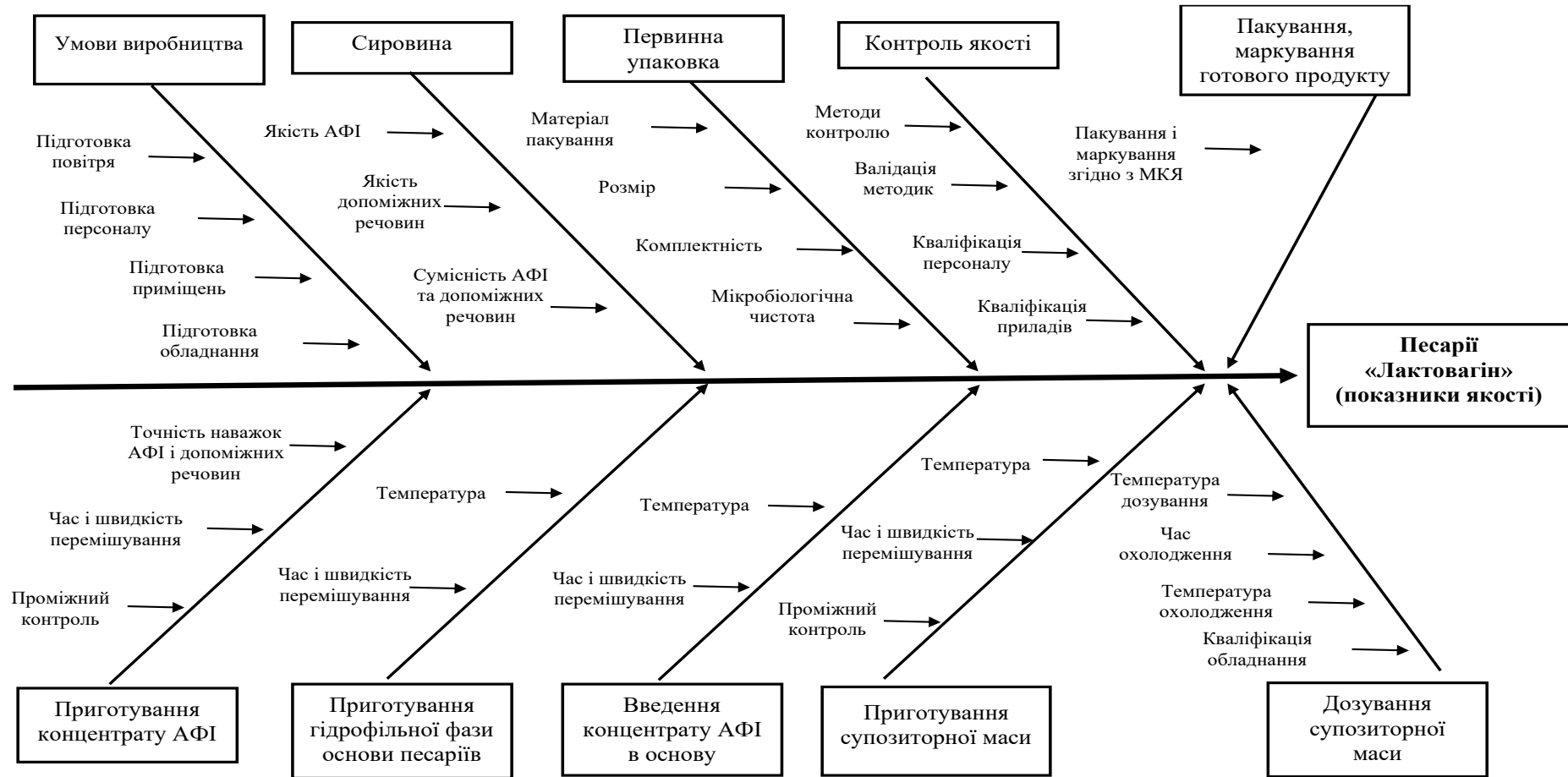


Рис. 4.1. Діаграма Ішикави для показників якості песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»

Врахування можливих факторів ризику при проведенні комплексу сучасних експериментальних досліджень дає змогу отримати гарантовано якісний ЖБЛЗ із встановленими характеристиками.

#### 4.2. Розробка методів контролю якості песарії під умовною назвою «Лактовагін»

ЛЗ у формі песаріїв, як і препарати у вигляді інших ЛФ, проходить всі етапи життєвого циклу. Контроль якості є невід'ємною складовою, що гарантує безпечність та ефективність застосування даного ЛЗ. Відомо, що зниження терапевтичної дії нестерильних ЛЗ може бути викликане присутністю певних видів мікроорганізмів, що також становить потенційну небезпеку для пацієнтів. Тому відсутність або присутність в певних кількостях біологічних об'єктів у ЛЗ чітко регламентується вимогами ДФУ [148].

Керуючись вимогами ДФУ 2 видання (монографії «Живі біотерапевтичні лікарські засоби для застосування людиною», «Вагінальні препарати»), визначено основні показники, за якими проводився контроль якості песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», а саме: опис, однорідність, ідентифікація, розпадання, середня маса, рН, кількісне визначення, МБЧ [142].

Контроль якості за вищевказаними показниками проводився для п'яти серій песаріїв «Лактовагін» згідно з вимогами ДФУ, відповідно до методик, наведених у розділі 2. Отримані дані статистично оброблялись та визначали їхнє середнє значення.

В результаті дослідження було отримано наступні результати.

За показником «Опис» - песарії характерної форми жовтувато-білого кольору без специфічного запаху.

Ідентифікація лактобактерій здійснювалась мікроскопічно, в полі зору мазків, пофарбованих за Грамом, спостерігали грампозитивні паличкоподібні

бактерії зі сталою клітинною формою, а на твердому поживному середовищі MRSA (Merck, Німеччина) спостерігали ріст непрозорих білих колоній.

Показник «Однорідність» - при повздовжньому зрізі песарії однорідні, відсутні вкраплення та повітряний стрижень.

Показник при випробуванні «Розпадання» песаріїв становив  $41,2 \pm 0,23$  хв, що відповідає вимогам ДФУ для песаріїв на даному типі основи.

Середня маса песаріїв становила  $3,05 \pm 0,12$  г, що відповідає вимогам ДФУ (середня маса повинна знаходитись в інтервалі  $\pm 5\%$  від зазначеної).

Вимірювання рН потенціометричним методом встановило показник  $4,7 \pm 0,1$ .

Кількісне визначення лактобактерій проводилось шляхом підрахунку кількості колоній методом поверхневого висівання згідно методики, що наведена у розділі 2, на густе селективне поживне середовище MRSA (Merck, Німеччина). Кількість бактерій становила  $(2,2 \pm 0,15) \cdot 10^{10}$  КУО/мл.

МБЧ песаріїв «Лактовагін» визначалась згідно вимог монографії ДФУ 2.5 «Живі біотерапевтичні лікарські засоби для застосування людиною». Згідно з вимогами ЛЗ, що містять живі пробіотичні мікроорганізми, та призначені для вагінального застосування, до яких належать песарії, повинні містити АМСС не більше ніж  $10^2$  КУО/г та УМСС не більше ніж  $10^1$  КУО/г, також критерієм прийнятності є відсутність окремих видів мікроорганізмів в 1 г, а саме: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans*.

Визначення чисел АМСС та УМСС і випробування на окремі види мікроорганізмів проводилось згідно методик ДФУ, що наведені в статтях 2.6.36 та 2.6.38, використовуючи рекомендований метод поверхневого висівання як одразу після виготовлення дослідної серії, так і в процесі зберігання при рекомендованому для зберігання температурному режимі 2-8°C та при кімнатній температурі.

Згідно вимог ДФУ на першому етапі необхідно довести здатність методики забезпечувати ідентифікацію мікробної контамінації у присутності

ЖБЛЗ, що випробовується. При випробуваннях використовувались стандартизовані стабільні суспензії тест-мікроорганізмів. А з метою контролю умов випробування проводили негативний контрольний дослід із використанням розчинника (стерильного 0,9 % розчину натрію хлориду) заміст тест-зразку.

Також проводили перевірку ростових властивостей живильних середовищ, готових до застосування, що є необхідним згідно методики 2.6.36 (пункт 4-4) ДФУ. Результати перевірки ростових властивостей та умов негативного контрольного дослідів наведені у таблиці 4.1

Таблиця 4.1

**Результати перевірки ростових властивостей живильних середовищ та умов негативного контрольного дослідів при проведенні випробування визначення числа забруднювальних мікроорганізмів песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»**

Тест-мікроорганізм	Поживні середовища	Температура та тривалість культивування	Результат
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Соево-казеїновий агар, соєво-казеїновий бульйон	30-35°C, до 72 годин	Типова морфологія колоній та клітин
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Соево-казеїновий агар, соєво-казеїновий бульйон	30-35°C, до 72 годин	Типова морфологія колоній та клітин
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	Соево-казеїновий агар, соєво-казеїновий бульйон	30-35°C, до 72 годин	Типова морфологія колоній та клітин
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Соево-казеїновий агар,	30-35°C, до 120 годин	Типова морфологія колоній та клітин
	Сабуро-декстрозний агар	20-25 °C, до 120 годин	Типова морфологія колоній та клітин
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Соево-казеїновий агар	30-35°C, 48-120 годин	Типова морфологія колоній та клітин
	Сабуро-декстрозний агар	20-25 °C, 48-120 годин	Типова морфологія колоній та клітин
Негативний контрольний дослід	Соево-казеїновий агар	30-35°C, 72-120 годин	Відсутнє зростання мікроорганізмів
Негативний контрольний дослід	Сабуро-декстрозний агар	20-25 °C, 120-168 годин	Відсутнє зростання мікроорганізмів

Згідно вимог ДФУ під час перевірки придатності методики для кожного тест-мікроорганізму середнє арифметичне значення числа колоній за присутності та відсутності ЖБЛЗ (дослід і контроль) має відрізнятися не більше ніж удвічі. Результати перевірки придатності методики наведені у таблиці 4.2.

Таблиця 4.2

**Результати перевірки придатності методики визначення числа забруднювальних мікроорганізмів песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»**

Середня кількість колоній, КУО				
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404
ЖБЛЗ присутній (+) - дослід				
81±0,05	79±0,07	65±0,11	73±0,1	84±0,06
ЖБЛЗ відсутній (-) - контроль				
92±0,12	86±0,06	72±0,07	79±0,08	93±0,12

Для тест-мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 середнє арифметичне числа колоній за присутності і відсутності ЖБЛЗ не відрізняється на більше ніж у 2 рази, що відповідає вимогам ДФУ.

При проведенні випробування на окремі види мікроорганізмів, так само як і при випробуванні на визначення числа забруднювальних мікроорганізмів, необхідно підтвердити придатність методики, провести негативний контрольний дослід з використанням розчинника замість дослідного зразка та провести перевірку живильних середовищ.

У таблиці 4.3 представлені результати перевірки ростових, інгібіторних та індикативних властивостей живильних середовищ, а також проведення негативного контрольного дослід.

Таблиця 4.3

**Результати перевірки ростових, інгібіторних та індикативних властивостей живильних середовищ та негативного контрольного дослідження для проведення випробування на окремі види мікроорганізмів пєсаріїв під умовною назвою «Лактовагін»**

Тип випробування	Живильне середовище	Властивості середовища, тест-мікроорганізм	Результат
випробування на наявність <i>Pseudmonas aeruginosa</i>	цетримідний агар	ростові, <i>Pseudmonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Типова морфологія колоній та клітин
		інгібіторні, <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Відсутнє зростання
випробування на наявність <i>Staphylococcus aureus</i>	манітно-сольовий агар	ростові та індикативні, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Типова морфологія колоній та клітин, відповідність індикаторним реакціям
		інгібіторні, <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	Відсутнє зростання
випробування на наявність <i>Candida albicans</i>	декстрозний агар Сабуро	ростові та індикативні, <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Типова морфологія колоній та клітин, відповідність індикаторним реакціям
Негативний контрольний дослід	Соево-казеїновий бульйон	-	Відсутнє зростання мікроорганізмів
Негативний контрольний дослід	Сабуро-декстрозний бульйон	-	Відсутнє зростання мікроорганізмів

В результаті перевірки придатності методики на поживних середовищах були виявлені колонії *Pseudmonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* та *Candida albicans* з відповідними індикативними властивостями, що свідчить про придатність даної методики для випробування на окремі види мікроорганізмів.

Згідно вищенаведених методик проводили випробування на МБЧ усіх серій пєсаріїв під умовною назвою «Лактовагін» протягом 18 місяців



зберігання при двох температурних режимах. Результати представлені у таблиці 4.4.

Таблиця 4.4

**Результати дослідження мікробіологічної чистоти песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» у процесі зберігання**

Термін зберігання	Кількість мікроорганізмів, КУО/г				
	АМСС	УМСС	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Candida albicans</i>
при 2-8°C:					
0 день	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
1 місяць	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
2 місяці	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
3 місяці	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
6 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
9 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
12 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
15 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
18 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
при кімнатній температурі:					
0 день	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
2 місяці	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
1 місяць	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
3 місяці	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
6 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
9 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
12 місяців	менше 100	менше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст присутній
15 місяців	менше 100	більше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст відсутній
18 місяців	менше 100	більше 10	ріст відсутній	ріст відсутній	ріст присутній

Отримані результати свідчать про відповідність за показником МБЧ протягом 18 місяців зберігання при температурі 2-8°C, при кімнатній температурі зберігання песарії не відповідали вимогам за показником УМСС після 12 місяців зберігання. Отримані дані будуть враховані при дослідженні стабільності розробленого ЛЗ та встановлення терміну придатності.

На основі отриманих даних показників контролю якості песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» запропоновано проєкт МКЯ. Специфікація на дану ЛФ представлена у таблиці 4.5.

Таблиця 4.5

### Специфікація на песарії під умовною назвою «Лактовагін»

Показник якості	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	песарії характерної форми жовтувато-білого кольору без специфічного запаху, за зовнішнім вимогам повинні відповідати вимогам ДФУ	За п.1 МКЯ, ДФУ
Ідентифікація	мікроскопічна оцінка мазків, пофарбованих за Грамом, вказує на наявність бактерій з ознаками, характерними для даного штаму мікроорганізмів; на твердому поживному середовищі повинні висіватись колонії з ознаками, характерними для даного штаму лактобактерій.	За п.2 МКЯ
Однорідність	при повздовжньому зрізі песарії повинні бути однорідні, без вкраплень, допускається наявність повітряного стрижня або лійкоподібної заглибини	За п.3 МКЯ, ДФУ, п. 2.2.5
Середня маса	Маса кожного песарія повинна знаходитись в межах від 2,85 г до 3,15 г.	За п.4 МКЯ, ДФУ, п.2.9.5
pH	3,5 – 5,5	За п.5. МКЯ, ДФУ, п.2.2.3
Розпадання	Песарії повинні розпастися через 60 хв від початку випробування.	За п.6 МКЯ, ДФУ, п.2.9.2
Кількісне визначення	Не менше ніж $1 \cdot 10^9$ КУО лактобактерій в 1 песарії	За п.7 МКЯ
МБЧ	АМСС не більше ніж $10^2$ КУО/г; УМСС не більше ніж $10^1$ КУО/г; не допускається наявність <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Candida albicans</i> в 1 г.	За п.8. МКЯ, ДФУ 2.5, п. 2.6.36, п. 2.6.38

#### 4.3. Дослідження стабільності розробленого вагінального препарату

Стабільність ЛЗ – один з найважливіших показників його якості, що дозволяє встановити термін придатності для даного препарату, протягом якого гарантовано не відбується фізико-хімічних, фармакологічних змін [197].

Основними критеріями стабільності ЛЗ є збереження вмісту терапевтичної дози АФІ у ЛФ протягом заявленого терміну зберігання, відсутність змін фізико-хімічних властивостей ЛФ, відсутність появи токсичних речовин тощо [198].

Терміном придатності ЛЗ визначається період часу, протягом якого ЛЗ зберігає свою фармакологічну активність, безпечність, за якісними та кількісними параметрами відповідає вимогам, зазначеним в НТД, відповідно до якої препарати виготовлялись та зберігались [197].

Термін придатності ЖБЛЗ, перш за все, визначається якістю і стабільністю субстанції, що використовується в якості АФІ. Адже, при використанні пробіотичних штамів високої якості правильний вибір процесу виробництва, оптимальний склад дозволяють створювати ЛЗ, дієтичні добавки та харчові продукти, що мають належні споживчі властивості навіть протягом терміну зберігання до 24 місяців при кімнатній температурі. Проте все ж загальноприйнятим є термін придатності 12 місяців [199].

Для субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 встановлений термін зберігання у ліофілізованому стані в запаяних скляних ампулах – 24 місяці [144]. Для песаріїв «Лактовагін» пропонуваним терміном придатності є 12 місяців, для якого пропонувалось проводити випробування на стабільність при двох температурних режимах: 2-8°C (рекомендований для зберігання), 25±2°C (найбільш можливий при порушенні рекомендованої температури зберігання).

Згідно вимог Настанови СТН-МОЗУ 42-8.3:2013 «Лікарські засоби. Випробування стабільності біотехнологічних/біологічних продуктів (ІСН

Q5C)» при пропонованому терміні придатності до одного року включно дослідження стабільності у реальному часі необхідно проводити кожного місяця протягом перших 3 місяців та з інтервалом у 3 місяці при наступних випробуваннях [200].

З метою вивчення стабільності та встановлення терміну придатності песаріїв нами було виготовлено 5 серій ЛЗ та закладено на зберігання при температурі 2-8°C та 25±2°C у контурних чарункових упаковках із ПВХ-плівки. Проводився контроль якості за наступними показниками: опис, однорідність, ідентифікація, середня маса, рН, розпадання, кількісне визначення, МБЧ на початку експерименту, через 1, 2, 3, 6, 9, 12, 15 та 18 місяців.

Отримані результати дослідження стабільності при температурі 2-8°C (табл. 4.6) свідчать про відповідність якості песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» протягом 18 місяців зберігання за показниками: опис, однорідність, ідентифікація, середня маса. Протягом 18 місяців зберігання ЛЗ з пробіотичною активністю спостерігається незначне збільшення показників рН та розпадання, проте отримані значення знаходились в межах допустимої норми. Песарії також відповідали вимогам за показником «Кількісне визначення», спостерігалось поступове зменшення кількості лактобактерій у процесі зберігання, проте навіть через 18 місяців їхня кількість становила  $(3,53 \pm 0,14) \cdot 10^9$  КУО, що є відповідною заявленому показнику у специфікації – не менше ніж  $1 \cdot 10^9$  КУО. Проведені дослідження демонструють відповідність критеріям прийнятності мікробіологічної чистоти при температурі 2-8°C протягом 18 місяців зберігання.

Результати дослідження стабільності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» при кімнатній температурі зберігання (табл. 4.7) демонструються відповідність якості даної ЛФ, як і при рекомендованій температурі зберігання, за показниками: опис, однорідність, ідентифікація, середня маса. Аналогічно результатам дослідження стабільності при температурі 2-8°C, при температурі 25±2°C спостерігалось незначне

збільшення значень показників рН та розпадання у допустимих межах. За показником «Кількісне визначення» спостерігалось більш виражене зниження кількості бактерій штаму *Lactobacillus casei*, що пояснюється впливом температурного режиму. Однак, кількість лактобактерій після 9 місяців зберігання при кімнатній температурі становила  $(1,47 \pm 0,17) \cdot 10^9$  КУО, що відповідало заявленому у специфікації показнику. За показником «МБЧ» песарії відповідали вимогам протягом 12 місяців зберігання при кімнатній температурі. Результати дослідження стабільності за даним показником якості після 15 та 18 місяців зберігання за даного температурного режиму демонструють невідповідність за показником УМСС, що свідчить про перевищення кількості забруднювальних дріжджових та плісневих грибів та приєднання грибової флори.

Отже, отримані результати дослідження стабільності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» дозволяють встановити термін придатності даного ЛЗ – 12 місяців при температурі 2-8°C, з можливим зберігання при кімнатній температурі протягом 6 місяців. При даних температурних режимах та термінах зберігання спостерігається відповідність усіх показників якості встановленим нормам.



Таблиця 4.7

**Результати дослідження стабільності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» у процесі зберігання при температурі 25±2°C**

Показник	Норми	Термін зберігання, міс.								
		початок	1 міс.	2 міс.	3 міс.	6 міс.	9 міс.	12 міс.	15 міс.	18 міс.
опис	песарії характерної форми жовтувато-білого кольору без специфічного запаху	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
однорідність	при повздовжньому зрізі песарії повинні бути однорідні, без краплень, допускається наявність повітряного стрижня	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
ідентифікація	мікроскопічна оцінка мазків вказує на наявність бактерій з ознаками, характерними для даного штаму; на твердому поживному середовищі висіватись колонії з ознаками, характерними для даного штаму.	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає
середня маса	від 2,85 г до 3,15 г	3,07±0,14	3,08±0,21	3,09±0,14	3,06±0,18	3,07±0,19	3,05±0,12	3,07±0,11	3,08±0,14	3,05±0,17
pH	3,5 – 5,5	4,72±0,12	4,75±0,18	4,74±0,16	4,77±0,17	4,76±0,11	4,78±0,14	4,8±0,18	4,79±0,08	4,81±0,14
розпадання	не більше 60 хв	41,2±0,09	41,4±0,12	41,3±0,18	41,5±0,17	41,4±0,11	41,5±0,17	41,6±0,17	41,7±0,13	41,8±0,14
кількісне визначення	не менше ніж 1*10 <sup>9</sup> КУО	(2,18±0,14) *10 <sup>10</sup>	(1,13±0,18) *10 <sup>10</sup>	(8,35±0,13) *10 <sup>9</sup>	(6,15±0,19) *10 <sup>9</sup>	(3,42±0,14) *10 <sup>9</sup>	(1,47±0,17) *10 <sup>9</sup>	(7,33±0,19) *10 <sup>8</sup>	(3,96±0,15) *10 <sup>8</sup>	(1,77±0,17) *10 <sup>8</sup>
МБЧ	АМСС не більше ніж 10 <sup>2</sup> КУО/г; УМСС не більше ніж 10 <sup>1</sup> КУО/г; не допускається <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> та <i>Candida albicans</i>	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	відповідає	не відповідає за показником УМСС	не відповідає за показником УМСС

## Висновки до розділу 4

1. Проведено теоретичну оцінку ризиків якості ЖБЛЗ у формі песаріїв на етапі фармацевтичної розробки згідно концепції «Якість шляхом розробки».

2. Встановлено основні показники контролю якості песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»: опис, однорідність, ідентифікація, середня маса, рН, розпадання, кількісне визначення, МБЧ. Дані показники включені у специфікацію на розроблений ЛЗ. Розроблено проект МКЯ на песарії під умовною назвою «Лактовагін».

3. Розроблено методику визначення МБЧ песаріїв під умовною назвою «Лактовагін». Розроблений препарат відповідає критеріям прийнятності МБЧ для ЖБЛЗ для вагінального застосування.

4. Проведено дослідження стабільності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» при двох температурних режимах: 2-8°C та кімнатній температурі. Експериментально встановлено термін придатності розробленого ЛЗ – 12 місяців при температурі 2-8°C, з можливим зберігання протягом 6 місяців при кімнатній температурі.



## **РОЗДІЛ 5. МІКРОБІОЛОГІЧНІ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕСАРІЇВ ПІД УМОВНОЮ НАЗВОЮ «ЛАКТОВАГІН»**

5.1. Дослідження місцевої дії песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»

Відомо, що пробіотичні компоненти ЛЗ як при системному, так і місцевому застосуванні, здатні колонізувати слизову оболонку піхви у жінок з дисбіозами піхви, сиптоматичним та асимптоматичним БВ, знижувати колонізацію патогенів, покращувати симптоми та ознаки БВ за їх присутності [19].

Ефективність ЛЗ є важливим показником, який характеризує ступінь прояву терапевтичної активності препарату, що визначається його складовими компонентами. Прогнозована терапевтична активність ЛЗ залежить від низки факторів, що враховуються під час фармацевтичної розробки і виробництва ЛЗ, а оцінюється під час доклінічних та клінічних випробувань.

Дослідження місцевої дії песаріїв з пробіотичною активністю було проведено на 40 статевозрілих мишах-самицях лінії BALB/c масою 19-21 г віком 6-8 тижнів, віргільних та невагітних.

Дослідження проводилось відповідно до вимог Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу МОН України № 249 від 01.03.2012 року «Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 ЕУ про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» [201-203].

Дотримання принципів біоетики підтверджено експертним висновком Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень

Національного медичного університету імені О.О. Богомольця (протокол № 138 від 10.11.2020 р.).

Тварин випадковим чином було розподілено на чотири групи (по 10 особин в кожній): I група – ІК; II група – КП (модельований БВ); III група – інтравагінальне застосування тваринам з КП песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»; IV група – інтравагінальне застосування тваринам з КП препарату порівняння.

Оскільки на фармацевтичному ринку не зареєстровано жодного ЛЗ у формі песаріїв або супозиторіїв з пробіотичною активністю, як препарат порівняння обрано тверді капсули «Біоселак», що містить *Lactobacillus rhamnosus* 573 близько  $10^{10}$  (не менше  $10^8$ ) КУО та згідно інструкції до медичного застосування рекомендовані для лікування та профілактики БВ різної етіології.

БВ, спричинений експериментальною стафілококовою інфекцією, мишам II, III та IV груп моделювали шляхом інтравагінального одноразового введення піпетковим дозатором суспензії штаму *Staphylococcus aureus* 8325-4 із плазмідною стійкістю до антибіотика (гентаміцину), який входить до Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, що містить  $2 \cdot 10^8$  КУО/мл бактерій у кількості 25 мкл .

У мишей із змодельованим БВ спостерігали відповідні клінічні прояви, а саме: набряк та почервоніння слизової оболонки піхви, збільшення виділення із піхви слизу біло-жовтуватого кольору, підвищення температури тіла, зниження апетиту, млявість.

Кількісний та якісний склад мікробіоти піхви визначали шляхом посівів аліквот із піхви мишей з використанням поживних середовищ. Для культивування аеробних та факультативно анаеробних бактерій використовували м'ясо-пептонний агар (МПА), для стафілококів - Baird-Parker Agar (HiMedia, Індія); для *Staphylococcus aureus* 8325-4 - Baird-Parker Agar (HiMedia, Індія) з гентаміцином (15 мкг/мл); для стрептококів – KF

Streptococcus Agar (Himedia, Індія), для лактобактерій – De man, rogosa and sharpe Agar (MRSA) (Merk, Німеччина), для біфідобактерій – Bifidobacterim Agar (BA) (Merk, Німеччина); для коліморфних бактерій (ентеробактерій) – ЕНДО (Himedia, Індія); для мікроскопічних грибів – Сабуро (Himedia, Індія). Культивування проводилось протягом 24 год при температурі  $37\pm 1$  °С. Після чого проводили підрахунок кількості колоній на чашках Петрі, вважаючи, що одна колонія відповідає одній бактерії.

Забір матеріалу у лабораторних тварин проводили стерильними уніфікованими ватними тампонами, що поміщали у стерильні пробірки із 1 мл 0,9 % розчином натрію хлориду.

Через 24 год після інфікування тваринам III групи протягом 10 діб щоденно інтравагінально вводили песарії «Лактовагін», а тваринам IV групи – препарат порівняння «Біоселак».

Через 24 год після 10-денного застосування досліджуваного тест-зразку песаріїв та референтного препарату проводили контрольний висів вагінального секрету експериментальних тварин з метою визначення динаміки змін якісного та кількісного видового складу піхви (табл.5.1).

У результаті проведення експерименту було встановлено, що в перший день спостерігались статистично значущі відмінності у кількості мікроорганізмів, що висівались із секрету піхви тварин ІК та дослідних груп № 2-4 з КП. Штам *Staphylococcus aureus* 8325-4 не висівався у тварин ІК, у тварин груп № 2-4 з КП висівався в середньому у кількості  $3,6\pm 0,01$  Іг КУО/мл.

Кількість аеробних та факультативно аеробних бактерій, що висівались на середовищі МПА, для тварин із змодельованим БВ, була вищою на 68 % у порівнянні з ІК; кількість стафілококів (середовище Baird-Parker Agar) - на 81 %; стрептококів (середовище KF Streptococcus Agar) - на 72 %; коліморфних бактерій (середовище ЕНДО) - на 49 %; грибів (середовище Сабуро) - на 25 %, а кількості біфідобактерій (середовище ВА)

та лактобактерій (середовище MRSA) зменшились на 9 % та 13 % відповідно ( $p < 0,05$ ).

На 11 день експерименту спостерігались статистично значущі результати між різними групами тварин стосовно кількості аеробних та факультативно аеробних мікрорганізмів ( $p < 0,05$ ), окрім групи № 3 та № 4. Це свідчить про ідентичну активність дослідного та референтного препаратів у зменшенні кількості даного класу бактерій на 16 % ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з групою КП, проте їхня кількість на 33 % ( $p < 0,05$ ) була вищою у порівнянні з ІК.

Кількість стафілококів статистично значуще відрізнялась для тварин усіх груп. У тварин, яким інтравагінально застосовували песарії з пробіотичною активністю, висівалась менша у 2 рази кількість стафілококів у порівнянні з КП та на 10 % у порівнянні з ІК, тоді як референтний препарат демонструє зниження кількості стафілококів на 36 % у порівнянні з КП і збільшення на 9 % по відношенню до ІК ( $p < 0,05$ ).

Штам *Staphylococcus aureus* 8325-4 висівався у кількості в 2,2 рази менше у тварин групи № 4, яким вводили препарат «Біоселак» у порівнянні з тваринами з КП, а у тварин групи № 3, яким вводили досліджувані песарії, у 11 разів менше відносно до цієї ж групи ( $p < 0,05$ ). Порівнюючи дослідні групи тварин № 3 та № 4, кількість бактерій штаму *Staphylococcus aureus* 8325-4, що висівалась з секрету піхви була у 5 разів меншою для тварин, яким вводили песарії «Лактовагін» ( $p < 0,05$ ).

Результати посіву аліквот вагінального секрету піхви дослідних мишей демонструють, що кількість стрептококів статистично значуще відрізняється між усіма групами тварин. У тварин, на яких випробовувався розроблений ЛЗ, висівалось на 7 % менше стрептококів порівняно з тваринами з КП, проте на 44 % вище, ніж у мишей групи ІК. Тоді як у мишей, яким застосовували препарат порівняння, висівалась на 12 % менша кількість стрептококів у порівнянні з КП та на 37 % вища кількість порівняно з ІК ( $p < 0,05$ ).

Таблиця 5.1

**Якісний та кількісний склад мікробіоти піхви мишей-самиць, яким інтравагінально вводили дослідний та референтний препарати (n=10)**

Вид мікроорганізму	Кількість мікроорганізмів, lg КУО/мл							
	ІК		КП		КП+ песарії «Лактовагін»		КП+ «Біоселак»	
	1 день	11 день	1 день	11 день	1 день	11 день	1 день	11 день
Аеробні та факультативно аеробні бактерії	2,19 ± 0,02 <sup>б) в) г)</sup>	2,18 ± 0,01 <sup>б) в) г)</sup>	3,69 ± 0,01 <sup>а)</sup>	3,45 ± 0,02 <sup>а) в) г)</sup>	3,69 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,9 ± 0,01 <sup>а) б)</sup>	3,69 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,9 ± 0,01 <sup>а) б)</sup>
Стафілококи	2,49 ± 0,02 <sup>б) в) г)</sup>	2,47 ± 0,02 <sup>б) в) г)</sup>	4,51 ± 0,01 <sup>а)</sup>	4,23 ± 0,01 <sup>а) в) г)</sup>	4,52 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,21 ± 0,05 <sup>а) б) г)</sup>	4,51 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,69 ± 0,02 <sup>а) б) в)</sup>
<i>Staphylococcus aureus</i> 8325-4	0 <sup>б) в) г)</sup>	0 <sup>б) в) г)</sup>	3,6 ± 0,01 <sup>а)</sup>	3,39 ± 0,01 <sup>а) в) г)</sup>	3,61 ± 0,02 <sup>а)</sup>	0,29 ± 0,23 <sup>а) б) г)</sup>	3,59 ± 0,01 <sup>а)</sup>	1,51 ± 0,03 <sup>а) б) в)</sup>
Стрептококи	2,1 ± 0,03 <sup>б) в) г)</sup>	2,1 ± 0,03 <sup>б) в) г)</sup>	3,61 ± 0,01 <sup>а)</sup>	3,25 ± 0,03 <sup>а) в) г)</sup>	3,61 ± 0,01 <sup>а)</sup>	3,02 ± 0,01 <sup>а) б) г)</sup>	3,62 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,87 ± 0,01 <sup>а) б) в)</sup>
Біфідобактерії	2,48 ± 0,0 <sup>б) в) г)</sup>	2,49 ± 0,02 <sup>б) в) г)</sup>	2,27 ± 0,02 <sup>а)</sup>	1,73 ± 0,02 <sup>а) в) г)</sup>	2,29 ± 0,02 <sup>а)</sup>	3,69 ± 0,01 <sup>а) б) г)</sup>	2,28 ± 0,02 <sup>а)</sup>	2,26 ± 0,02 <sup>а) б) в)</sup>
Лактобактерії	2,68 ± 0,04 <sup>б) в) г)</sup>	2,66 ± 0,04 <sup>б) г)</sup>	2,32 ± 0,02 <sup>а)</sup>	2,33 ± 0,01 <sup>а) в) г)</sup>	2,33 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,64 ± 0,02 <sup>б) г)</sup>	2,32 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,57 ± 0,02 <sup>а) б) в)</sup>
Коліморфні бактерії	1,1 ± 0,04 <sup>б) в) г)</sup>	1,01 ± 0,06 <sup>б) в) г)</sup>	1,64 ± 0,02 <sup>а)</sup>	1,69 ± 0,02 <sup>а) в) г)</sup>	1,64 ± 0,02 <sup>а)</sup>	0,5 ± 0,13 <sup>а) б) г)</sup>	1,63 ± 0,02 <sup>а)</sup>	2,05 ± 0,03 <sup>а) б) в)</sup>
Мікроскопічні гриби	2,1 ± 0,03 <sup>б) в) г)</sup>	2,05 ± 0,03 <sup>в) г)</sup>	2,61 ± 0,01 <sup>а)</sup>	2,05 ± 0,02 <sup>в) г)</sup>	2,62 ± 0,02 <sup>а)</sup>	1,04 ± 0,08 <sup>а) б) г)</sup>	2,61 ± 0,02 <sup>а)</sup>	2,28 ± 0,02 <sup>а) б) в)</sup>

\* дані представлені у вигляді M±SD ;

а) статистично значуща відмінність у порівнянні з групою ІК (p < 0,05);

б) статистично значуща відмінність у порівнянні з групою КП (p < 0,05);

в) статистично значуща відмінність у порівнянні з групою КП + песарії (p < 0,05);

г) статистично значуща відмінність у порівнянні з групою КП+ «Біоселак» (p < 0,05).

У мишей, яким застосовувався досліджуваний ЛЗ у формі песаріїв з пробіотичною активністю, висівалась менша кількість коліморфних бактерій у 4 та 2 рази порівняно з тваринами з КП та ІК відповідно. А після застосування препарату «Біоселак» кількість коліморфних бактерій у мишей навпаки зросла на 21 % у порівнянні з тваринами з КП та у 2 рази по відношенню до інтактних ( $p < 0,05$ ).

Стосовно росту мікроскопічних грибів не спостерігалось статистично значущих відмінностей між тваринами ІК та з КП. Тоді як у мишей, яким вводили песарії під умовною назвою «Лактовагін» їхня кількість знизилась вдвічі у порівнянні з тваринами груп № 1 та № 2. У мишей, яким застосовувався референтний препарат, кількість грибів зросла на 11 % у порівнянні з КП ( $p < 0,05$ ).

Після 10-денного інтравагінального введення песаріїв з пробіотичною активністю кількість біфідобактерій у мишей зросла у 2,1 рази порівняно з тваринами з КП та на 48 % по відношенню до ІК. Після застосування препарату порівняння їхня кількість збільшилась на 30 % у порівнянні з КП, але на 9 % була меншою відносно інтактних мишей ( $p < 0,05$ ).

Варто зазначити, що кількість лактобактерій у піхві мишей ІК та групи № 3 статистично значуще не відрізнялась, що свідчить про відновлення лактофлори до умов фізіологічної норми після застосування розроблених песаріїв. А порівняно з КП застосування досліджуваного ЛЗ призвело до збільшення росту лактобактерій на 13 %, а використання «Біоселаку» - на 10 % ( $p < 0,05$ ).

При порівнянні кількостей мікроорганізмів одного виду, що висівались з піхви мишей ІК на 1 та 11 дні експерименту встановлено статистично значущі відмінності у кількості біфідобактерій та коліморфних бактерій, проте ця відмінність є незначною та свідчить про нормальне фізіологічне функціонування організму лабораторних тварин ( $p < 0,05$ ) (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

**Відмінності між кількостями мікроорганізмів на 1 та 11 дні експерименту у різних груп мишей-самиць (n=10)**

Вид мікроорганізму	Група тварин			
	ІК	КП	КП+ песарії «Лактовагін»	КП + «Біоселак»
Аеробні та факультативно аеробні бактерії	p>0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05
Стафілококи	p>0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05
<i>Staphylococcus aureus</i> 8325-4	-	p<0,05	p <0,05	p <0,05
Стрептококи	p>0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05
Біфідобактерії	p <0,05	p <0,05	p <0,05	p >0,05
Лактобактерії	p>0,05	p >0,05	p <0,05	p <0,05
Коліморфні бактерії	p <0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05
Мікроскопічні гриби	p>0,05	p <0,05	p <0,05	p <0,05

У мишей з КП спостерігались статистично значущі відмінності у кількості усіх видів мікроорганізмів, окрім лактобактерій, кількість яких суттєво знизилась після моделювання патології та залишалась на тому ж рівні в подальші дні дослідження. Кількість мікроорганізмів інших груп зменшувалась на 6-10 % для аеробів, стафілококів, в тому числі *Staphylococcus aureus* 8325-4, та стрептококів, на 22 % для грибів та на 24 % для біфідобактерій, окрім коліморфних бактерій, які продемонстрували збільшення на 3 % (p <0,05). На нашу думку, це може пояснюватись компенсаторними реакціями організму для підтримки вагінального біоценозу та сприятливими умовами утримання тварин.

У тварин, яким інтравагінально вводились песарії «Лактовагін», спостерігались статистично значущі відмінності для всього кількісного складу мікробіому піхви, а саме наприкінці експерименту кількість лакто- та біфідобактерій збільшувалась на 13 % та 61 % відповідно під впливом

розробленого препарату, а кількість патогенної та умовно-патогенної флори знижувалась, значне зменшення спостерігалось для стафілококів у 2 рази, коліморфних бактерій – майже у 4 рази та мікроскопічних грибів – у 2,5 рази. Штам *Staphylococcus aureus* 8325-4 висівався на рівні  $0,29 \pm 0,23$  Ig КУО/м, що свідчить про значне зниження у 12 разів даного виду мікроорганізму ( $p < 0,05$ ).

Для групи мишей № 4 статистично значимих відмінностей у кількості не спостерігалось лише для біфідобактерій. Подібно до групи тварин № 3 на 11 % збільшилась кількість лактобактерій, проте і число коліморфних бактерій стало більшим на 25 %, що відрізняється від дії розроблених пєсаріїв. Для решти групи мікроорганізмів спостерігалось пригнічення росту, вагомо для стафілококів – на 40 %, для штаму *Staphylococcus aureus* 8325-4 – у 2,4 рази ( $p < 0,05$ ).

Отже, одержані результати дослідження місцевої дії свідчать, що пєсарії під умовною назвою «Лактовагін», які містять штам *Lactobacillus casei* IMB B-7280, ефективно пригнічують ріст стафілококів, стрептококів, грибів, коліморфних бактерій, нормалізують якісний та кількісний склад мікрофлори піхви *in vivo* на моделі БВ (експериментальної стафілококової інфекції) у мишей.

## 5.2. Дослідження здатності штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі пєсаріїв до кислотоутворення

Одним з клінічних проявів БВ є зсув значення рН секрету піхви у лужний бік внаслідок зростання кількості патогенної та умовно-патогенної флори та зниження рівня лактобацил. Одним з механізмів корекції вагінальних дисбіозів є створення «звичного» кислого середовища.

Лактобактерії – це мікроорганізми, що продукують молочну кислоту шляхом ферментації глюкози. Проте кількість молочної кислоти, що продукується даними пробіотичними бактеріями значно варіює для різних штамів [204].



Тому нами було проведено визначення кислотоутворювальної активності штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що є пробіотичним компонентом песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» методом кислотно-основного титрування за методикою, описаною у розділі 2.

В результат проведених розрахунків отримали середнє значення  $^{\circ}\text{T} = 183,8 \pm 1,5$ , що свідчить про високу здатність штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 до утворення молочної кислоти та, відповідно, здатності знижувати значення рН у вагінальному середовищі.

### 5.3. Дослідження адгезивних властивостей штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі песаріїв з пробіотичною активністю

Відомо, що здатність лактобактерій прилипати до епітелію піхви, є одним із механізмів у формуванні бар'єру для запобігання колонізації патогенними мікроорганізмами та здійснення власне пробіотичної дії [204].

Належні показники адгезивної здатності свідчать про можливість «успішної конкуренції» пробіотичних бактерій з патогенами за ділянки прикріплення до слизової оболонки і перешкоджання доступу патогенних мікроорганізмів до цих структур [206].

Адгезія клітин до епітелію слизової опосередковується медіаторами клітинної оболонки, включаючи сортазозалежні білки, лектиноподібні молекули, екзополісахариди, ліпотейхоєву кислоту та білки S-шару [206, 207].

Вивчення адгезивних властивостей штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», проводили за методикою Бриліс та співавторів на культурі букального епітелію.

Для характеристики ступеня адгезивності та адгезивних властивостей штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 визначали СПА, КУЕ та ІАМ.

СПА – це кількість мікроорганізмів, що прикріпилися до поверхні однієї клітини використовуваної культури у всіх полях зору.

КУЕ – є співвідношенням числа клітин використовуваної культури із лактобактеріями, що адгезувались на поверхні, до загальної кількості клітин культури, що виражене у відсотках.

ІАМ вважається середнє число бактерій, що виявляють адгезивні властивості.

Таблиця 5.3

### Результати дослідження адгезивних властивостей штаму

#### *Lactobacillus casei* IMB B-7280

Показник	Значення	Примітка
СПА, од.	6,79±0,016	висока (понад 4,01)
КУЕ, %	87,49±0,03	-
ІАМ, од.	7,76±0,02	високоадгезивний – (більше ніж 4,0)

Враховуючи одержані результати (табл. 5.3) вважаємо, що штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 є високоадгезивним, а отже дозволяє забезпечувати високий ступінь адгезії при інтравагінальному введенні ЛЗ у формі песаріїв.

#### 5.4. Дослідження антагоністичної активності штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі живого біотерапевтичного лікарського засобу

Характерною ознакою штамів лактобактерій, що використовуються для виробництва пробіотичних ЛЗ, є здатність до колонізації епітелію слизових оболонок для забезпечення відновлення нормальної мікрофлори та захисних функцій мікроорганізму.

Одним з найважливіших біологічних характеристик бактерій роду *Lactobacillus* є антагоністична активність проти патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів [208].

В цілому, антагоністична активність пробіотичних бактерій зумовлена синтезом різних метаболітів: флавоноїдів, глікозильних сполук, стероїдів, індолу, індазолу, бензойної кислоти, глюкофосфоліпідів, катехолу, гідрокоричної кислоти, саліцилової кислоти, ферулової кислоти, кофеїнової кислоти, молочної кислоти, оцтової кислоти, мурашиної кислоти, лінолевої кислоти, фенілмолочної кислоти, ванільної кислоти, азелаїнової кислоти, гідрокумарової кислоти, гідроферулової кислоти, гідрокофеїнової кислоти, 2,3-бутадіону, реутерину, ацетальдегіду, перекису водню, гідроксильних радикалів, пептидів таких як бактеріоцини та бактеріоциноподібні речовини [209].

Лактобактерії продукують антибіотикоподібні речовини (наприклад, лактоцил, лактобревін, лактобацилін, низин і т.д.), що навіть при низьких концентраціях володіють високими антагоністичними властивостями. Окрім того, бактерії роду *Lactobacillus* виробляють перекис водню, механізм антимікробної дії якого полягає у руйнуванні білкової структури ферментів, підвищення проникності мембран і руйнування ДНК під впливом вільних радикалів, а також активації лактопероксидазної системи, внаслідок чого утворюються продукти окиснення, що виступають своєрідними інгібіторами широкого спектру грампозитивної та грамнегативної флори [210].

Окрім цього, лактобактерії здатні продукувати лізоцим, що здатний руйнувати клітинну стінку бактерій, та бактеріоцини, що також виявляють бакт ерицидні властивості [210].

Антагоністичну активність визначали методом перпендикулярних штрихів, використовуючи у якості тест-штамів *Staphylococcus aureus* 8325-4, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 25922 (F-50), *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATC 885-653 як класичні умовно-патогенні мікроорганізми та штаму *Staphylococcus aureus* 8325-4, за допомогою якого модифікувалась експериментальна патологія у лабораторних тварин.

Таблиця 5.4

**Результати дослідження антагоністичної активності штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв з під умовною назвою «Лактовагін»**

Тест-культура	Зона затримки росту тест-культури, мм	Примітка
<i>Staphylococcus aureus</i> 8325-4	11,3±0,23	++
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	8,8±0,17	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	17,4±0,11	++
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (F-50)	13,6±0,15	++
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	13,8±0,13	++
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10,1±0,13	++
<i>Candida albicans</i> ATC 885-653	10,8±0,17	++

\* + - слабка активність

++- помірна активність

+++ - висока активність

Результати дослідження антагоністичної активності штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» (табл. 5.4) свідчать про помірну антагоністичну активність відносно патогенних та умовно-патогенних штамів мікроорганізмів. Найбільший антагонізм досліджуваного пробіотичного штаму спостерігається відносно тест-культури *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 на рівні 17,4±0,11 мм, а тест-штам *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 виявився найменш чутливим до *Lactobacillus casei* IMB B-7280, про що свідчить зона затримки росту на рівні 8,8±0,17 мм.

5.5. Дослідження чутливості до антибактеріальних та протигрибкових препаратів штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі розробленого вагінального препарату

Відомо, що під час лікування гінекологічних захворювань часто застосовуються антибактеріальні препарати, при цьому одночасно

використовуються пробіотичні препарати з метою корекції або профілактики дисбіотичних порушень. При цьому під час лікування інфекційних захворювань та дисбіозів слід враховувати вибірковий вплив антибіотиків на якісний та кількісний склад вагінальної нормофлори, представниками якої є лактобактерії [211].

За своїми біологічними властивостями лактобактерії є стійкими до ряду антибіотиків, проте постійний розвиток фармацевтичної індустрії та поширення проблеми антибіотикорезистентності спонукає до оцінки чутливості штамів з пробіотичною активністю до антибактеріальних препаратів [212].

Чутливість штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», до антибактеріальних та протигрибкових речовин визначали методом дифузії в агар на поживному середовищі, порівнюючи розміри зон затримки росту лактобактерій після застосування дисків, що просочені наступними препаратами: оксацилін, ампіцилін, піперацилін, амоксицилін, амоксицилін/ кислота клавулонова, цефазолін, цефтріаксон, цефоперазон, імепенем, лінкоміцин, кліндаміцин, азитроміцин, ципрофлоксацин, пefлоксацин, ванкоміцин, левофлоксацин, фуразолідон, лінезолід, ністатин, метронідазол, еконазол, міконазол, клотримазол, кетоконазол.

Таблиця 5.5

**Сті́кість штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», до антибактеріальних та антигрибкових препаратів**

Назва антибактеріального препарату, АТС-група	Діаметр зони затримки росту, мм	Примітка
1	2	3
Пеніциліни, бета-лактамі антибіотики (J01C):		
Оксацилін	6,12±0,08	Р
Ампіцилін	21,7±0,08	Ч
Піперацилін	19,8±0,08	Ч
Амоксицилін	23,1±0,17	Ч
Амоксицилін/ кислота клавулонова	23,4±0,23	Ч

## Продовження таблиці 5.5

1	2	3
Інші бета-лактамі антибіотики(J01D):		
Цефалоспорины I генерації:		
Цефазолін	13,3±0,13	ПЧ
Цефалоспорины III генерації:		
Цефтріаксон	12,5±0,28	ПЧ
Цефоперазон	20,3±0,15	Ч
Карбапенеми:		
Імепенем	17,5±0,23	Ч
Макроліди, лінкозаміди (J01F):		
Лінкоміцин	22,2±0,1	Ч
Кліндаміцин	19,8±0,11	Ч
Азитроміцин	24,8±0,2	Ч
Фторхінолони (J01MA):		
Ципрофлоксацин	12,6±0,23	ПЧ
Пефлоксацин	17,5±0,22	Ч
Левовфлоксацин	12,0±0,23	ПЧ
G01A X Інші антимікробні та антисептичні засоби		
Фуразолідон	5,5±0,18	Р
Глікопептидні антибіотики (J01XA):		
Ванкоміцин	4,7±0,18	Р
Інші антибактеріальні засоби (J01X):		
Лінезолід	6,2±0,11	Р
Ністатин	3,6±0,13	Р
Похідні імідазолу (G01AF):		
Метронідазол	6,4±0,08	Р
Еконазол	7,5±0,22	Р
Міконазол	5,1±0,17	Р
Клотримазол	4,6±0,21	Р
Кетоконазол	3,9±0,16	Р

\* Р – резистентний (стійкий)

ПЧ – помірно чутливий

Ч – чутливий

Встановлено, що штам *Lactobacillus casei* IMB B-7280, що входить до складу песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», є резистентним до глікопептидного антибіотику ванкоміцину, оксациліну із групи пеніцилінів, а також лінезоліду, ністатиту, фуразолідону та похідних імідазолу, що застосовуються в якості протигрибкових ЛЗ.

Найбільші зони затримки росту спостерігаються відносно пеніцилінів, що належать до бета-лактамічних антибіотиків (окрім оксациліну), макролідів і лінкозамідів, а також цефоперазону, пефлоксацину та імепенему із групи

карбапенемів, що свідчить про чутливість штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 до даних антибактеріальних препаратів. Помірну чутливість досліджуваній штаму виявляє до цефалоспоринів (цефазоліну та цефтріаксону), фторхінолонів (ципрофлоксацину та левофлоксацину).

Отримані дані дозволяють стверджувати, що песарії під умовною назвою «Лактовагін» володіють різними показниками чутливості до антибактеріальних та протигрибкових засобів. Отже, розроблений ЛЗ може застосовуватись у комплексному лікуванні дисбіотичних порушень піхви спільно з певними ЛЗ вищезазначених груп, що дає змогу удосконалити терапію та сприяти швидшому і якіснішому досягненню клінічного ефекту.

#### 5.6. Вивчення гострої токсичності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»

Доклінічні дослідження – важливий етап життєвого циклу ЛЗ, що гарантує якість та безпечність нового препарату до потрапляння до кінцевого споживача. Необхідною ланкою комплексу доклінічних досліджень є вивчення токсичності ЛЗ. Гостра токсичність визначається як короткотривала дія на організм досліджуваного препарату в умовах прийому високих доз, що дає змогу оцінити безпечність або небезпечність даного ЛЗ [213].

Для визначення гострої токсичності проводиться випробування при двох шляхах введення: рекомендованому до клінічного застосування (у випадку песаріїв - інтравагінальному) та внутрішньошлунковому, який є доцільним враховуючи можливість випадкових чи навмисних отруєнь при неправильному прийомі ЛЗ [213].

Для забезпечення контролю впливу допоміжних речовин рекомендується окремо випробувати основу без діючої речовини.

Дослідження проводили на 40 мишах-самицях лінії BALB/c віком 6-8 тижнів, вагою 19-21 г, віргільних та невагітних.

Лабораторних тварин випадковим чином було розподілено на наступні групи (по 8 тварин у кожній): 1 група – тварини, яким інтравагінально вводиться супозиторна основа; 2 група – тварини, яким інтравагінально вводяться песарії; 3 група – тварини, яким внутрішньошлунково вводиться супозиторна основа; 4 група – тварини, яким внутрішньошлунково вводяться песарії; 5 група – ІК.

За тваринами після однократного введення досліджуваного ЛЗ спостерігали 14 діб. Основними критеріями вивчення токсичної дії препарату були загибель тварин, прояви інтоксикації, зниження індивідуальної та групової маси тварин у порівнянні з вихідною масою.

У тварин протягом 14 діб реєструвалися дані про індивідуальну та групову масу тіла тварин, загальний стан, зміни положення тіла, стан шкіри та шерсті, колір слизових оболонок, температуру тіла, наявність/відсутність міозу/мідріазу, лакримації, саливації ринореї, зміни кольору сечі та фекалій та їхньої частоти, сонливість, наявність тремору, судом, діяльність серцево-судинної, центральної нервової та дихальної систем.

Протягом 14 діб не зафіксовано випадків загибелі лабораторних мишей (табл. 5.6).

*Таблиця 5.6*

**Показники летальності тварин при інтравагінальному та внутрішньошлунковому введенні песаріїв та супозиторної основи (n=8)**

Група тварин	Кількість загиблих тварин/ кількість тварин у групі	Летальність, %
№ 1 –інтравагінально супозиторна основа	0/8	0
№ 2 –інтравагінально песарії	0/8	0
№ 3 –внутрішньошлунково супозиторна основа	0/8	0
№ 4 –внутрішньошлунково песарії	0/8	0
№ 5 – інтактний контроль	0/8	0



Протягом 14 діб експерименту спостерігалась позитивна динаміка зміни середньої індивідуальної та групової маси мишей як дослідних, так і контрольної груп (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

**Динаміка зміни маси тіла мишей при інтравагінальному та внутрішньошлунковому введенні песаріїв та супозиторної основи (n=8)**

Група	вихідна		3 день		7 день		14 день	
	індивідуальна маса	групова маса	індивідуальна маса	групова маса	індивідуальна маса	групова маса	індивідуальна маса	групова маса
№ 1 – інтравагінально супозиторна основа	19,65± 0,51	157,1± 0,07	19,9± 0,46	159,2± 0,08**	20,15± 0,47	161,2± 0,07**	20,35± 0,44*	162,8± 0,08**
№ 2 – інтравагінально песарії	20,23± 0,42	161,8± 0,07	20,45± 0,43	163,6± 0,08**	20,7± 0,44	165,5± 0,08**	21,04± 0,55*	168,4± 0,08**
№ 3 – внутрішньошлунково супозиторна основа	20,23± 0,4	161,8± 0,07	20,5± 0,44	164,0± 0,08**	20,74± 0,43	166,0± 0,08**	20,94± 0,43*	167,5± 0,07**
№ 4 – внутрішньошлунково песарії	20,32± 0,13	162,5± 0,08	20,54± 0,17	164,3± 0,07**	20,85± 0,13	166,8± 0,07**	21,15± 0,18*	169,2± 0,07**
№ 5 – інтактний контроль	19,9± 0,32	159,2± 0,07	20,1±0,3	160,8± 0,08**	20,32± 0,3*	162,6± 0,08**	20,46± 0,28*	163,7± 0,08**

\* статистично значуща відмінність індивідуальної маси порівняно з вихідною масою

\*\* статистично значуща відмінність групової маси порівняно з вихідною масою

Збільшення середньої індивідуальної маси тварин фіксували на 14 добу у порівнянні з вихідними даними на рівні 3,5 % ( $p < 0,05$ ) для тварин, яким інтравагінально та внутрішньошлунково вводили супозиторну основу, 4,0 -4,1 % ( $p < 0,05$ ) для тварин, на яких випробовувались песарії при двох шляхах введення. Збільшення індивідуальної маси тварин контрольної групи становить 2,8 % ( $p < 0,05$ ).

Показники вимірювання групової маси мишей на 3, 7 та 14 добу експерименту свідчать про статистично значущий приріст маси тварин на рівні 1,3 %, 2,6 % та 3,6 % ( $p < 0,05$ ) для тварин групи № 1; 1,1 %, 2,3 % та 4,1 % ( $p < 0,05$ ) для тварин групи № 2; 1,4 %, 2,3 %, 3,5 % ( $p < 0,05$ ) для тварин групи № 3; 1,1 %, 2,6 % та 4,1 % ( $p < 0,05$ ) для тварин групи № 4. Для тварин контрольної групи № 5 приріст маси становив 1,0 %, 2,1 % та 2,8 % на 3, 7 та 14 добу відповідно. Отримані результати свідчать про нормальне функціонування дослідних тварин та адекватні умови утримання.

Після 14 діб спостереження миші підлягли евтаназії та проведенню патоморфологічних досліджень. Лабораторні тварини дослідних та контрольної груп при зовнішньому огляді не мали ознак патології, шерсть була охайною, шкірні покриви гладкими та чистими, на шкірі та слизових оболонках не спостерігались ознаки будь-яких уражень. При огляді очей, носа, ротової порожнини, зовнішніх статевих органів та анального отвору та встановлено, що всі органи нормальної будови у тварин груп № 1-5, з органів не виявлено наявності виділень. При проведенні аутопсії не виявлено патологічних змін внутрішніх органів та головного мозку. Коефіцієнти маси внутрішніх органів мишей-самиць наведені в таблиці 5.8.

Таблиця 5.8

**Коефіцієнти маси внутрішніх органів мишей-самиць на 14 день після разового інтравагінального та внутрішньошлункового введення песаріїв та супозиторної основи (n=8)**

Група	печінка	нирки	легені	серце	селезінка	головний мозок
№1 –інтравагінально супозиторна основа	7,06±0,08	1,6±0,04	1,13±0,1	0,87±0,06	0,8±0,07	2,19±0,07
№2 –інтравагінально песарії	7,07±0,06	1,72±0,1	1,22±0,08	0,93±0,04	0,86±0,04	2,25±0,04
№3– внутрішньошлунково супозиторна основа	7,05±0,1	1,6±0,08	1,21±0,07	0,86±0,06	0,83±0,05	2,21±0,05
№4 – внутрішньошлунково песарії	7,05±0,05	1,67±0,03	1,25±0,05	0,89±0,03	0,84±0,03	2,21±0,04
№5 – ІК	7,02±0,07	1,66±0,1	1,21±0,08	0,86±0,05	0,83±0,04	2,2±0,04

Статистично значущих відмінностей показників коефіцієнтів маси внутрішніх органів мишей після разового введення песаріїв та їхньої основи інтравагінально та внутрішньошлунково при порівнянні різних груп між собою, так і при порівнянні з ІК не виявлено.

При проведенні аутопсії також досліджено, що всі органи анатомічно правильно розташовані, мають звичний колір, консистенцію, трофіку, без ознак набряку та запальних процесів. Отже, при проведенні зовнішнього огляду та патоморфологічних досліджень у дослідних тварин не виявлено альтеративних, запальних та гемодинамічних порушень у різних органах та тканинах.

Враховуючи, отримані дані після проведення експерименту, а саме: летальність мишей на рівні 0 %, позитивну динаміку приросту маси тіла лабораторних тварин, відсутність ознак патології при проведенні патоморфологічних досліджень, можна вважати, що песарії з пробіотичною активністю, що містять *Lactobacillus casei* IMB B-7280, є відносно безпечними та нешкідливими.

## Висновки до розділу 5

1. Досліджено специфічну (місцеву) дію песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» на мишах-самицях лінії BALB/c на моделі БВ (експериментальної стафілококової інфекції). Визначено, що розроблений ЛЗ ефективно пригнічує ріст стафілококів, стрептококів, грибів, коліморфних бактерій, нормалізує якісний та кількісний склад мікрофлори піхви в моделі *in vivo* у мишей.

2. В результаті дослідження здатності штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» до кислотоутворення отримано дані, що свідчать про високу здатність даного штаму до утворення молочної кислоти та зниження значення рН у вагінальному середовищі.

3. Дослідження адгезивних властивостей штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» демонструє, що даний штам є високоадгезивним, а отже дозволяє забезпечувати високий ступінь адгезії при інтравагінальному введенні ЛЗ у формі песаріїв.

4. Результати вивчення антагоністичної активності штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» свідчать про помірну антагоністичну активність відносно патогенних та умовно-патогенних штамів мікроорганізмів, що є допустимим при застосуванні лікування та профілактики БВ і ВВК.

5. Дослідження чутливості до антибактеріальних та протигрибкових препаратів штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280, у складі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» демонструє, що даний ЛЗ може застосовуватись у комплексному лікуванні дисбіотичних порушень піхви спільно з певними антибіотиками та антимікотиками, що є ефективним для швидшого досягнення терапевтичного ефекту та запобігання появи рецидивів.

6. На підставі отриманих результатів дослідження гострої токсичності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» можна вважати, що даний ЛЗ є відносно безпечним та нешкідливим.

*Результати досліджень даного розділу наведено у таких публікаціях [214, 215]:*

1. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження гострої токсичності песаріїв «Лактовагін». *Фармацевтичний часопис*. 2022. № 2. С. 21–26. doi

2. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження здатності штаму *Lactobacillus casei* IMB B- 7280, що входить до складу песаріїв «Лактовагін», до кислотоутворення. *Запорізький фармацевтичний форум - 2022* : матеріали Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 17–18 листоп. 2022 р. Запоріжжя, 2022. С. 3.

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

Уперше на підставі проведення комплексу мікробіологічних, фізико-хімічних, фармако-технологічних, фармакологічних досліджень експериментально та теоретично обґрунтовано оптимальний склад та розроблено раціональну технологію і методи контролю якості нового ЛЗ з пробіотичною активністю у формі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» для лікування і профілактики дисбіотичних порушень жіночого урогенітального тракту.

1. Досліджено та узагальнено сучасні літературні дані щодо етіопатогенезу, лікування та профілактики БВ та ВВК. Визначено роль пробіотичних препаратів, зокрема лактобактерієвмісних, у фармакотерапії та профілактиці даних патологій.

2. Аналіз фармацевтичного ринку України ЛЗ для вагінального застосування в сегменті пробіотичних препаратів на підставі проведених маркетингових досліджень свідчить про актуальність розробки вітчизняного ЛЗ, зокрема у формі песаріїв.

3. Досліджено фізико-хімічні властивості субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 та обґрунтовано її спосіб введення в основу у вигляді водного розчину з додавання ПАР (полісорбату-80) з попереднім подрібненням.

4. На підставі проведених органолептичних, фізико-хімічних, фармако-технологічних та мікробіологічних досліджень обґрунтовано вибір основи та допоміжних речовин песаріїв: твердий жир, ПЕГ-400, ПЕГ-1500, ПЕГ-4000, емульгатор. Як оптимальний ПАР на основі результатів експериментальних досліджень обрано полісорбат-80 у концентрації 3 %.

5. Розроблено та обґрунтовано раціональну технологію виробництва песаріїв під умовною назвою «Лактовагін». Визначено оптимальні технологічні параметри: приготування гідрофільної фази: температура -  $(40 \pm 2)$  °С, тривалість перемішування – 45 хвилин, швидкість перемішування

– 50 обертів/хвилину; приготування супозиторної маси: температура -  $(40\pm 2)$  °С, тривалість перемішування – 30 хвилин, швидкість перемішування – 75 обертів/хвилину; дозування супозиторної маси –  $(40\pm 2)$  °С; охолодження песаріїв: температура –  $(10-12)$ °С, тривалість – 22-25 хвилин. Визначено критичні параметри виробничого процесу.

6. Встановлено основні показники якості песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»: опис, однорідність, ідентифікація, середня маса, рН, розпадання, кількісне визначення, МБЧ.

7. На підставі проведених досліджень стабільності визначено термін придатності песаріїв під умовною назвою «Лактовагін»: 12 місяців при температурі 2-8°С, з можливим зберіганням при кімнатній температурі протягом 6 місяців.

8. Досліджено специфічну активність (місцеву дію) песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» на мишах, з експериментально модифікованим дисбіозом. Визначено, що песарії ефективно пригнічують ріст стафілококів, стрептококів, грибів, коліморфних бактерій, нормалізують якісний та кількісний склад мікрофлори піхви *in vivo* на моделі БВ (експериментальної стафілококової інфекції) у мишей. Доведено безпечність та нешкідливість песаріїв під умовною назвою «Лактовагін» на підставі дослідження гострої токсичності на мишах-самицях.

Мікробіологічні дослідження адгезивних властивостей, антагоністичної активності, здатності до кислотоутворення, чутливості до антибактеріальних та протигрибкових препаратів штаму *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у складі песаріїв під умовною назвою «Лактовагін», демонструють відповідність вимогам, що висуваються до мікробних штамів, що входять до складу ЛЗ з пробіотичною активністю.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕЕРЕЛ**

1. Волков Т. А., Большакова Г. М. Мікрофлора піхви у жінок репродуктивного віку в нормі і при різній патології (огляд літератури). *Annals of Mechnikov Institute*. 2009. № 1. С. 5–14.
2. Бенюк В. О., Щерба О. А. Мікроекосистема піхви у жінок репродуктивного віку і методи її корекції. *Здоров'я жінки*. 2017. № 8(124). С. 44–50.
3. Mastromarino P., Vitali B., Mosca apil. Bacterial vaginosis: a review on clinical trials with probiotics. *New Microbiologica*. 2013. No. 36. P. 229–238.
4. Borges S., Barbosa J., Teixeira P. Gynecological Health and Probiotics. *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics*. 2016. Vol. 4 : Probiotics in Health. P. 741–752.
5. Prevalence of Bacterial Vaginosis and Candida among Postmenopausal Women in the United States / J. N. Hoffmann et al. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*. 2014. Vol. 69, Suppl 2. P. S205–S214. URL: <https://doi.org/10.1093/geronb/gbu105>.
6. Is it possible to prevent recurrent vulvovaginitis? The role of *Lactobacillus plantarum* I1001 (CECT7504) / S. Palacios et al. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2016. Vol. 35, no. 10. P. 1701–1708. URL: <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2715-8>.
7. Long-Term Outcomes of Women With Recurrent Vulvovaginal Candidiasis After a Course of Maintenance Antifungal Therapy / T. Crouss et al. *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 2018. Vol. 22, no. 4. P. 382–386. URL: <https://doi.org/10.1097/lgt.0000000000000413> .
8. Lazarenko L. M., Babenko L. P., Spivak M. Y. Immunomodulatory Effect of Probiotic Strain *Lactobacillus casei* IMV B-7280 on Physiological Norm in Experimental Animals. *Mikrobiolohichniy Zhurnal*. 2019. Vol. 81, no. 6. P. 69–82. URL: <https://doi.org/10.15407/microbiolj81.06.069>.

9. Kroon S. J., Ravel J., Huston W. M. Cervicovaginal microbiota, women's health, and reproductive outcomes. *Fertility and Sterility*. 2018. Vol. 110, no. 3. P. 327–336. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.06.036>.
10. Гопчук О. М., Герасимова Т. В., Морозова О. В. Пробиотики: сучасний погляд на терапевтичну ефективність. *Медицинские аспекты здоровья женщины*. 2015. № 6(92). С. 56–61.
11. Гопчук О. М., Морозова О. В. Стратегії впливу на вагінальний біоценоз у жінок груп ризику. *Здоровье женщины*. 2015. № 6(102). С. 81–83.
12. Зайченко Г. В., Степанова К. О., Сініцина О. С. Сучасні уявлення про неспецифічні інфекційні захворювання піхви. *Український біофармацевтичний журнал*. 2014. № 6(35). 11-17.
13. Потапов В. А. Пробиотики в гинекологии: очередная мода или осознанная необходимость (аналитический обзор). *Приватний лікар*. 2016. № 5. С. 2–20.
14. Petricevic L., Witt A. The role of *Lactobacillus casei rhamnosus Lcr35* in restoring the normal vaginal flora after antibiotic treatment of bacterial vaginosis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2008. Vol. 115, no. 11. P. 1369–1374. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01882.x>.
15. Cribby S., Taylor M., Reid G. Vaginal Microbiota and the Use of Probiotics. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 2008. Vol. 2008. P. 1–9. URL: <https://doi.org/10.1155/2008/256490>.
16. Голяновський О. В., Мехедко В. В., Будченко М. А. Сучасні підходи до лікування бактеріального вагінозу та змішаних неспецифічних вагінітів. *Здоров'я жінки*. 2017. № 8(124). С. 89–95.
17. Modifications in Vaginal Microbiota and Their Influence on Drug Release: Challenges and Opportunities / G. Leyva-Gómez et al. *Pharmaceutics*. 2019. Vol. 11, no. 5. P. 217–235. URL: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11050217>.



18. Вдовиченко Ю. П., Гопчук О. М. Бактеріальний вагіноз – монотерапія комбінованими препаратами. *Здоров'я жінки*. 2016. № 1(107). С. 132–136.
19. Ventolini G. Progresses in Vaginal Microflora Physiology and Implications for Bacterial Vaginosis and Candidiasis. *Women's Health*. 2016. Vol. 12, no. 3. P. 283–291. URL: <https://doi.org/10.2217/whe.16.5>.
20. Characterization and complete genome sequences of *L. rhamnosus* DSM 14870 and *L. gasseri* DSM 14869 contained in the EcoVag® probiotic vaginal capsules / H. Marcotte et al. *Microbiological Research*. 2017. Vol. 205. P. 88–98. URL: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.08.003>.
21. Effectiveness of Lactobacillus-containing vaginal tablets in the treatment of symptomatic bacterial vaginosis / P. Mastromarino et al. *Clinical Microbiology and Infection*. 2009. Vol. 15, no. 1. P. 67–74. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02112.x>.
22. Dynamics of Vaginal and Rectal Microbiota Over Several Menstrual Cycles in Female Cynomolgus Macaques / M.-T. Nugeyre et al. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019. Vol. 9. P. 1–14. URL: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00188>.
23. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus acidophilus* on bacterial vaginal pathogens / L. Bertuccini et al. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*. 2017. Vol. 30, no. 2. P. 163–167. URL: <https://doi.org/10.1177/0394632017697987>.
24. Antagonistic Action of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* in Relation to *Staphylococcus aureus* and Their Influence on the Immune Response in Cases of Intravaginal Staphylococcosis in Mice / L. Lazarenko et al. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2012. Vol. 4, no. 2. P. 78–89. URL: <https://doi.org/10.1007/s12602-012-9093-z>.
25. Biological properties and production of bacteriocins-like-inhibitory substances by *Lactobacillus sp.* strains from human vagina / V. Fuochi et al.

*Journal of Applied Microbiology*. 2019. Vol. 126, no. 5. P. 1541–1550. URL: <https://doi.org/10.1111/jam.14164>.

26. Пробиотики: монографія / В. В. Мішин та ін. Донецьк, 2012. 221 с.

27. Bacterial vaginosis: Etiology and modalities of treatment-A brief note / K. Pal et al. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*. 2011. Vol. 3, no. 4. P. 496–503. URL: <https://doi.org/10.4103/0975-7406.90102>.

28. Borges S., Silva J., Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2013. Vol. 289, no. 3. P. 479–489. URL: <https://doi.org/10.1007/s00404-013-3064-9>.

29. A Phase II Clinical Trial Evaluating the Preventive Effectiveness of Lactobacillus Vaginal Suppositories in Patients with Recurrent Cystitis / K. Wada et al. *Acta Medica Okayama*. 2016. Vol. 70, no. 4. P. 299–302.

30. Effect of a yoghurt drink containing *Lactobacillus* strains on bacterial vaginosis in women – a double-blind, randomised, controlled clinical pilot trial / C. Laue et al. *Beneficial Microbes*. 2018. Vol. 9, no. 1. P. 35–50. URL: <https://doi.org/10.3920/bm2017.0018>.

31. Vaginal colonisation by probiotic lactobacilli and clinical outcome in women conventionally treated for bacterial vaginosis and yeast infection / S. Pendharkar et al. *BMC Infectious Diseases*. 2015. Vol. 15, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12879-015-0971-3>.

32. Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400 / C. Gaspar et al. *AMB Express*. 2018. Vol. 8, no. 1. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1186/s13568-018-0679-z>.

33. Role of *Lactobacilli* and Lactoferrin in the Mucosal Cervicovaginal Defense / P. Valenti et al. *Frontiers in Immunology*. 2018. Vol. 9. P. 1–14. URL: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00376>.

34. The *Lactobacillus casei* Group: History and Health Related Applications / D. Hill et al. *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02107>.

35. Efficacy and safety of a vaginal medicinal product containing three strains of probiotic bacteria: a multicenter, randomized, double-blind, and placebo-controlled trial / A. Tomusiak et al. *Drug Design, Development and Therapy*. 2015. P. 5345. URL: <https://doi.org/10.2147/dddt.s89214>.

36. Vaginal lactobacilli as potential probiotics against *Candida spp* / N. F. Gil et al. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2010. Vol. 41, no. 1. P. 6–14. URL: <https://doi.org/10.1590/s1517-83822010000100002>.

37. de Ruiz C. S., Nader-Macías M. E. F. Comparative effect of viable, heat-killed or sonicated *Lactobacillus fermentum* CRI 1058 in the protection of uropathogenic E. coli in the urinary tract of a murine experimental model. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology* / ed. by A. Mendez-Vilas. Badajoz, 2007. P. 740–748.

38. Marcone V., Calzolari E., Bertini M. Effectiveness of vaginal administration of *Lactobacillus rhamnosus* following conventional metronidazole therapy: how to lower the rate of bacterial vaginosis recurrences. *New microbiologica*. 2008. No. 31. P. 429–433.

39. Potential of Maintaining a Healthy Vaginal Environment by Two *Lactobacillus* Strains Isolated from Cocoa Fermentation / A. C. C. Melgaço et al. *BioMed Research International*. 2018. Vol. 2018. P. 1–14. URL: <https://doi.org/10.1155/2018/7571954>.

40. Efficacy of vaginal preparation containing *Lactobacillus acidophilus*, lactic acid and deodorized garlic extract in treatment and prevention of symptomatic bacterial vaginitis: Result from a single-arm pilot study / A. M. C. Rapisarda et al. *Italian Journal of Gynaecology and Obstetrics*. 2018. Vol. 30, no. 1. P. 21–31.

41. Topical Treatment of Infectious Vaginitis: Effects of Antibiotic, Antifungal and Antiseptic Drugs on the Growth of Normal Vaginal *Lactobacillus* Strains / C. Neut et al. *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2015. Vol. 05, no. 03. P. 173–180. URL: <https://doi.org/10.4236/ojog.2015.53024>.

42. Старовойтова С. О., Горчаков В. Ю. Пробиотики – промотори життя XXI століття. *Наукові вісті НТУУ «КПІ»*. 2006. № 2. С. 104–114.
43. Effects of Probiotics on the Recurrence of Bacterial Vaginosis / A. Homayouni et al. *Journal of Lower Genital Tract Disease*. 2014. Vol. 18, no. 1. P. 79–86. URL: <https://doi.org/10.1097/lgt.0b013e31829156ec>.
44. Othman M., Alfirevic Z., Neilson J. P. Probiotics for preventing preterm labour. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2012. No. 1. P. 1–22. URL: <https://doi.org/10.1002/14651858.cd005941.pub2>.
45. The Probiotics in Pregnancy Study (PiP Study): rationale and design of a double-blind randomised controlled trial to improve maternal health during pregnancy and prevent infant eczema and allergy / C. Barthow et al. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2016. Vol. 16, no. 1. P. 1–14. URL: <https://doi.org/10.1186/s12884-016-0923-y>.
46. Климнюк С. І., Михайлишин Г. І., Маланчук Л. М. Мікробіологічні особливості бактеріальних вагінозів у жінок різних вікових категорій та шляхи їх мікробіологічної корекції. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2019. № 3. С. 21–31. URL: <https://doi.org/10.11603/1811-2471.2019.v.i3.10258>.
47. Kim J.-M., Park Y. J. Probiotics in the prevention and treatment of postmenopausal vaginal infections: review article. *Journal of Menopausal Medicine*. 2017. Vol. 23, no. 3. P. 139–145. URL: <https://doi.org/10.6118/jmm.2017.23.3.139>.
48. Funkhouser L. J., Bordenstein S. R. Mom Knows Best: The Universality of Maternal Microbial Transmission. *PLoS Biology*. 2013. Vol. 11, no. 8. P. 1–9. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001631>.
49. Uzar I. Probiotics in gynaecology. *Herba polonica*. 2011. Vol. 57, no. 2. P. 66–71.
50. Ночвіна О. А. The role of vaginal microflora in the genesis of miscarriage. *Reproductive Endocrinology*. 2019. No. 45. P. 22–28. URL: <https://doi.org/10.18370/2309-4117.2019.45.22-28>.

51. Відновлення мікробіому вагіни при бактерійному вагінозі із застосуванням пробіотика діалак / Г. І. Михайлишин та ін. *Інфекційні хвороби*. 2021. № 4. С. 18–23. URL: <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2020.4.11460>.
52. Powell A. M., Nyirjesy P. Recurrent vulvovaginitis. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2014. Vol. 28, no. 7. P. 967–976. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2014.07.006>.
53. Probiotics for vulvovaginal candidiasis in non-pregnant women / H. Y. Xie et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017. No. 11. P. 1–72. URL: <https://doi.org/10.1002/14651858.cd010496.pub2>.
54. Paladine H. L., Desai U. A. Vaginitis: Diagnosis and Treatment. *Am Fam Physician*. 2018. No. 97(5). P. 321–329.
55. An RCT for Efficacy of Oral Probiotics in Treatment of Cases with Symptomatic White Discharge per Vagina in Rural Population / R. Kumar et al. *Journal of South Asian Federation of Obstetrics and Gynaecology*. 2012. Vol. 4, no. 3. P. 126–129. URL: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10006-1193>.
56. A Systems Biology Approach Investigating the Effect of Probiotics on the Vaginal Microbiome and Host Responses in a Double Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial of Post-Menopausal Women / J. E. Bisanz et al. *PLoS ONE*. 2014. Vol. 9, no. 8. P. 1–10. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104511>.
57. Probiotics and vaginal microecology: fact or fancy? / L. Buggio et al. *BMC Women's Health*. 2019. Vol. 19, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12905-019-0723-4>.
58. Ecological dynamics of the vaginal microbiome in relation to health and disease / S. Greenbaum et al. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2019. Vol. 220, no. 4. P. 324–335. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2018.11.1089>.
59. Randis T. M., Ratner A. J. Gardnerella and Prevotella: Co-conspirators in the Pathogenesis of Bacterial Vaginosis. *The Journal of Infectious*

*Diseases*. 2019. Vol. 220, no. 7. P. 1085–1088. URL: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiy705>.

60. Barbieri R. L. Effective treatment of recurrent bacterial vaginosis. *OBG Management*. 2017. Vol. 29, no. 7. P. 7–12.

61. Total and Free 25-Hydroxy-Vitamin D and Bacterial Vaginosis in Pregnant African American Women / A. L. Dunlop et al. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2019. Vol. 2019. P. 1–10. URL: <https://doi.org/10.1155/2019/9426795>.

62. Probiotics for the treatment of bacterial vaginosis / A. C. Senok et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2009. No. 4. P. 1–28. URL: <https://doi.org/10.1002/14651858.cd006289.pub2>.

63. Naidu K. S. B. Probiotics Intervention in Woman Health: Unexpected Acquaintance. *Interventions in Gynaecology and Women's Healthcare*. 2018. Vol. 2, no. 1. URL: <https://doi.org/10.32474/igwhc.2018.02.000130>.

64. Sethi S., Singh G., Sharma M. Lactobacilli as probiotics against genital infections. *Indian J Med Res*. 2009. No. 129(6). P. 628–630.

65. *Lactobacillus* species as biomarkers and agents that can promote various aspects of vaginal health / M. I. Petrova et al. *Frontiers in Physiology*. 2015. Vol. 6. URL: <https://doi.org/10.3389/fphys.2015.00081>.

66. 2018 European (IUSTI/WHO) International Union against sexually transmitted infections (IUSTI) World Health Organisation (WHO) guideline on the management of vaginal discharge / J. Sherrard et al. *International Journal of STD & AIDS*. 2018. Vol. 29, no. 13. P. 1258–1272. URL: <https://doi.org/10.1177/0956462418785451>.

67. Probiotics administered intravaginally as a complementary therapy combined with antibiotics for the treatment of bacterial vaginosis: a systematic review protocol / L. Ma et al. *BMJ Open*. 2017. Vol. 7, no. 10. P. 1–5. URL: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-019301>.

68. Use of *Lactobacillus crispatus* to produce a probiotic cheese as potential gender food for preventing gynaecological infections / F. Patrignani et al.

*Plos one.* 2019. Vol. 14, no. 1. P. 1–19. URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208906>.

69. Enhanced antifungal activity of bovine lactoferrin-producing probiotic *Lactobacillus casei* in the murine model of vulvovaginal candidiasis / H. Liao et al. *BMC Microbiology.* 2019. Vol. 19, no. 1. P. 1–13. URL: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1370-x>.

70. The Restoration of the Vaginal Microbiota After Treatment for Bacterial Vaginosis with Metronidazole or Probiotics / Z. Ling et al. *Microbial Ecology.* 2012. Vol. 65, no. 3. P. 773–780. URL: <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0154-3>.

71. Donders G. G., Zozzika J., Rezeberga D. Treatment of bacterial vaginosis: what we have and what we miss. *Expert Opinion on Pharmacotherapy.* 2014. Vol. 15, no. 5. P. 645–657. URL: <https://doi.org/10.1517/14656566.2014.881800>.

72. Dickey L., Nailor M. D., Sobel J. D. Guidelines for the treatment of bacterial vaginosis: focus on tinidazole. *Therapeutics and Clinical Risk Management.* 2009. P. 485–489. URL: <https://doi.org/10.2147/tcrm.s3777>.

73. Hainer B. L., Gibson M. V. Vaginitis: diagnosis and treatment. *American family physician.* 2011. Vol. 83, no. 7. P. 807–815.

74. Workowski K. A., Bolan G. A. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. *MMWR Recomm Rep.* 2015. Vol. 64. P. 1–137.

75. Mendling W., Martius J., Hoyme U. S1-Guideline on Bacterial Vaginosis in Gynecology and Obstetrics. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde.* 2014. Vol. 74, no. 01. P. 51–54. URL: <https://doi.org/10.1055/s-0033-1360230>

76. Hay P., Patel S., Daniels D. UK National Guideline for the management of Bacterial Vaginosis. 2012. P. 1–15.

77. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines / K. A. Workowski et al. *US Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention MMWR.* 2021. Vol. 70, no. 4. P. 192.

78. Coleman J. S., Gaydos C. A. Molecular Diagnosis of Bacterial Vaginosis: an Update. *Journal of Clinical Microbiology*. 2018. Vol. 56, no. 9. P. 1–9.

79. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America / P. G. Pappas et al. *Clinical Infectious Diseases*. 2015. Vol. 62, no. 4. P. 1–50. URL: <https://doi.org/10.1093/cid/civ933>.

80. British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of vulvovaginal candidiasis (2019) / G. D. G. C. Saxon (Lead Author) et al. *International Journal of STD & AIDS*. 2020. Vol. 31, no. 12. P. 1124–1144. URL: <https://doi.org/10.1177/0956462420943034>.

81. Donders G. Diagnosis and Management of Bacterial Vaginosis and Other Types of Abnormal Vaginal Bacterial Flora: A Review. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 2010. Vol. 65, no. 7. P. 462–473. URL: <https://doi.org/10.1097/ogx.0b013e3181e09621>.

82. Gupta S., Prabha V. Intravaginal Delivery Approaches for Contraception: An Overview with Emphasis on Gels. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2017. Vol. 20. P. 270–284. URL: <https://doi.org/10.18433/j3fm06>.

83. Use of probiotics in medical devices applied to some common pathologies / M. Verrucci et al. *Ann Ist Super Sanita*. 2019. Vol. 55, no. 4. P. 380–385.

84. Pashayan M. Formulation and investigation of vaginal double layer suppositories containing lactobacilli and herbal extracts. *The new armenian medical journal*. 2011. Vol. 5, no. 2. P. 54–59.

85. Чухрай І. Л. Пробиотики з позиції доказової медицини. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 3. С. 102–110. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.3.10391>.

86. Сурмашева О. В., Шенцова М. О., Ніконова Н. О. Створення стандартних зразків пробіотичних мікроорганізмів: характеристика



антибіотикорезистентності штамів. *Environment & Health*. 2015. № 2. С. 50–53.

87. Калініченко С. В., Коротких О. О., Тіщенко І. Ю. Сучасні напрямки створення та удосконалення пробіотиків. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 1(42). С. 4–10.

88. Карнаух Э. В., Базалеева А. Н. Пробиотики в коррекции кишечного микробиоценоза. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2013. № 1. С. 204–215.

89. Кривущев Б. І. Дисбактериоз и пробиотики. *На допомогу педіатру*. 2010. № 3(24). С. 75–79.

90. Дехтяренко Н. В., Шинкаренко Л. М., Дуган О. М. Критерії відбору пробіотичних штамів мікроорганізмів. *Наукові записки*. 2007. Т. 67. Біологія та екологія. С. 29–36.

91. Кордон Т. І. Принципи створення, механізм дії та клінічне застосування пробіотиків (огляд). *Annals of Mechnikov Institute*. 2014. № 2. С. 8–16.

92. Майданник В. Г. Клинические рекомендации по применению пробиотиков в педиатрической практике: монографія. Київ, 2013. 30 с.

93. Сучасний стан розробки та застосування пробіотичних, пребіотичних та синбіотичних препаратів (огляд літератури) / С. В. Калініченко та ін. *Annals of Mechnikov Institute*. 2013. № 3. С. 5–12.

94. Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value / A. Terpou et al. *Nutrients*. 2019. Vol. 11, no. 7. P. 1591–1622. URL: <https://doi.org/10.3390/nu11071591>

95. Reid G. The development of probiotics for women's health. *Canadian Journal of Microbiology*. 2017. Vol. 63, no. 4. P. 269–277. URL: <https://doi.org/10.1139/cjm-2016-0733>

96. Хижняк О. С., Краснопольський Ю. М. Біотехнологічні аспекти створення препаратів на основі пробіотиків. *Вісник НТУ "ХПІ"*. 2012. № 44 (950). С. 72–78.

97. Коцаба Ю. Я., Бабінець Л. С. Актуальні аспекти застосування пробіотиків при дисбіозі товстої кишки. *Сімейна медицина. Гастроентерологія*. 2018. № 4(78). С. 85–87.

98. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / ред. В. П. Ширококов. Винница : Нова Кн., 2015. 856 с.

99. Zawistowska-Rojek A., Tyski S. Are probiotic really safe for humans?. *Polish Journal of Microbiology*. 2018. Vol. 67, no. 3. P. 251–258. URL: <https://doi.org/10.21307/pjm-2018-044>.

100. Роль молочнокислих бактерій у корекції дисбіозів людини та сучасні проблеми створення пробіотичних препаратів і їх гігієнічної оцінки (огляд літератури) / О. М. Сахнюк та ін. *Гігієна населених місць*. 2011. № 58. С. 373–383.

101. Evaluation of Viability of *Lactobacillus fermentum* CECT 5716 in Gelatin and Gastroresistant Capsules / María Teresa Sánchez Rodríguez et al. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2016. Vol. 4, no. 8. URL: <https://doi.org/10.17265/2328-2150/2016.08.009>.

102. Шенцова М. А., Сурмашева Е. В. Пробиотичні препарати, їхні якість та безпека: сучасний стан проблеми (повідомлення 2). *Environment & Health*. 2014. № 1. С. 64–69.

103. López-Moreno A., Aguilera M. Vaginal Probiotics for Reproductive Health and Related Dysbiosis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Clinical Medicine*. 2021. Vol. 10, no. 7. P. 1461. URL: <https://doi.org/10.3390/jcm10071461>.

104. Marushko R. V. Sporforming probiotics and their usage in children. *Sovremennaya pediatriya*. 2015. No. 4(68). P. 77–84. URL: <https://doi.org/10.15574/sp.2015.68.77>.

105. Пробиотичні властивості промислових штамів лактобацил і біфідобактерій / Н. К. Коваленко та ін. *Мікробіологічний журнал*. 2010. Т. 72, № 1. С. 9–17.

106. Біотерапевтичні властивості лактобактерій / О. С. Дзюба та ін. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*. 2013. № 4. С. 19–29.
107. *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei* Affect Various Stages of *Gardnerella Species* Biofilm Formation / Y. He et al. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2021. Vol. 11. P. 1–13. URL: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.568178>
108. Малецька З. В., Давтян Л. Л. Обґрунтування вибору поверхнево-активних речовин у складі вагінальних супозиторіїв. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 6. С. 48–52.
109. A review on vaginal route as a systemic drug delivery / V. Ashok et al. *Critical review in pharmaceutical sciences*. 2012. No. 1. P. 1–19.
110. Modern state of the assortment drugs for the treatment of vaginal candidosis / Ю. В. Левачкова et al. *ScienceRise*. 2015. Vol. 12, no. 4 (17). P. 4–10. URL: <https://doi.org/10.15587/2313-8416.2015.56942>.
111. Ham A. S., Buckheit R. W. Designing and developing suppository formulations for anti-HIV drug delivery. *Therapeutic Delivery*. 2017. Vol. 8, no. 9. P. 805–817. URL: <https://doi.org/10.4155/tde-2017-0056>.
112. Intra Vaginal Drug Delivery System: An Overview / C. K. Sahoo et al. *American Journal of Advanced Drug Delivery*. 2013. No. 1. P. 43–55.
113. Kumar M. Review on vaginal drug delivery system. *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. 2018. Vol. 8, no. 11. P. 1329–1335.
114. Kumar A., Kumar S. Intra Vaginal Drug Delivery System (Novel Drug Delivery System). *International Journal for Research in Applied Sciences and Biotechnology*. 2020. Vol. 7, no. 6. P. 234–241. URL: <https://doi.org/10.31033/ijrasb.7.6.33>.
115. Dobaria N., Mashru R., Vadia N. H. Vaginal drug delivery systems: A Review of Current Status. *East and Central African Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2008. Vol. 10, no. 1. P. 1–10. URL: <https://doi.org/10.4314/ecajps.v10i1.9754>.

116. Borges S., Barbosa J., Teixeira P. Drug Delivery Systems for Vaginal Infections. *Frontiers in Clinical Drug Research: Anti-Infectives*. 2015. No. 2. P. 233–258.

117. Technological and biological evaluation of tablets containing different strains of lactobacilli for vaginal administration / L. Maggi et al. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2000. Vol. 50, no. 3. P. 389–395. URL: [https://doi.org/10.1016/s0939-6411\(00\)00121-1](https://doi.org/10.1016/s0939-6411(00)00121-1).

118. Burton J. P., Cadieux P. A., Reid G. Improved Understanding of the Bacterial Vaginal Microbiota of Women before and after Probiotic Instillation. *Applied and Environmental Microbiology*. 2003. Vol. 69, no. 1. P. 97–101. URL: <https://doi.org/10.1128/aem.69.1.97-101.2003>.

119. A Double-blind Treatment Study of Bacterial Vaginosis with Normal Vaginal Lactobacilli after an Open Treatment with Vaginal Clindamycin Ovules / K. Eriksson et al. *Acta Dermato-Venereologica*. 2005. Vol. 85, no. 1. P. 42–46. URL: <https://doi.org/10.1080/00015550410022249>.

120. Phase I Trial of a *Lactobacillus crispatus* Vaginal Suppository for Prevention of Recurrent Urinary Tract Infection in Women / C. A. Czaja et al. *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*. 2007. Vol. 2007. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1155/2007/35387>.

121. Activity of a *Lactobacillus acidophilus*-Based Douche for the Treatment of Bacterial Vaginosis / L. Drago et al. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*. 2007. Vol. 13, no. 4. P. 435–438. URL: <https://doi.org/10.1089/acm.2006.6040>.

122. Kale V., Trivedi R., Muley P. Proposed Design of a Dissolution Apparatus for Vaginal Formulations Containing Probiotics. *Dissolution Technologies*. 2008. Vol. 15, no. 2. P. 27–29. URL: <https://doi.org/10.14227/dt150208p27>.

123. Human lactobacilli as supplementation of clindamycin to patients with bacterial vaginosis reduce the recurrence rate; a 6-month, double-blind,

randomized, placebo-controlled study / P.-G. Larsson et al. *BMC Women's Health*. 2008. Vol. 8, no. 1. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1186/1472-6874-8-3>.

124. Kaewnopparat S., Kaewnopparat N. Formulation and evaluation of vaginal suppositories containing *Lactobacillus*. *International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*. 2009. Vol. 3, no. 7. P. 117–120.

125. Lactic acid bacteria colonization and clinical outcome after probiotic supplementation in conventionally treated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis / S. Ehrström et al. *Microbes and Infection*. 2010. Vol. 12, no. 10. P. 691–699. URL: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2010.04.010>

126. Державна Фармакопея України. Доповнення 2. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2018. 336 с.

127. Грабов Л., Посунько Д. В., Степанова О. Є. Використання методів термоконтактного нагрівання та дискретно-імпульсного введення енергії в технології одержання супозиторіїв. *Промышленная теплотехника*. 2016. Т. 38, № 1. С. 31–40.

128. Semi-Solid and Solid Dosage Forms for the Delivery of Phage Therapy to Epithelia / T. Brown et al. *Pharmaceuticals*. 2018. Vol. 11, no. 1. P. 26–38. URL: <https://doi.org/10.3390/ph11010026>.

129. Литвиненко Т. М. Сучасний стан асортименту супозиторних основ і фактори їх вибору. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2014. № 1(14). С. 35–38.

130. Ярних Т. Г., Толочко К. В., Чушенко В. М. Супозиторні основи: вивчення асортименту. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2010. № 4. С. 79–80.

131. Rectal suppository as an effective alternative for oral administration / V. D. Havaldar et al. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 2015. Vol. 8, no. 6. P. 759–766. URL: <https://doi.org/10.5958/0974-360x.2015.00122.5>.

132. Рухмакова О. А., Ярних Т. Г., Ланцберг Н. Г. Вибір оптимального складу супозиторної основи з використанням дисперсійного аналізу. *Фармаком.* 2014. № 4. С. 56–61.
133. Iwobi S. Suppository Solid Provision Technology. *International Journal Papier Advance and Scientific Review.* 2020. Vol. 1, no. 1. P. 30–35. URL: <https://doi.org/10.47667/ijpasr.v1i1.10>
134. Chapter 15: Suppositories and Inserts. *The Art, Science, and Technology of Pharmaceutical Compounding, 6th Edition.* 2215 Constitution Avenue, N.W. Washington, DC 20037-2985, 2020. URL: <https://doi.org/10.21019/9781582123578.ch15>.
135. Medicated topicals / P. D. Amin et al. *Remington.* 2021. P. 381–393. URL: <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820007-0.00021-0>
136. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Вимоги до якості супозиторіїв як лікарської форми у відповідності до світових фармакопей. *Фармацевтичний часопис.* 2019. № 3. С. 123–130. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.3.10443>.
137. Алейник С., Полова Ж. *Lactobacillus casei* як перспективний штам для створення лікарських засобів з пробіотичною активністю. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матеріали I міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 25 берез. 2021 р. Харків, 2021. С. 62–63.
138. Aleinyk S., Polova Z. Development actuality of vaginal suppositories with *Lactobacillus casei*. *Science progress in European countries: new concepts and modern solutions* : Papers of the 5th International Scientific Conference, Stuttgart, 28 February 2019. 2019. P. 845–850.
139. Aleinyk S., Polova Z. Auxiliary substances in compositions of drugs for vaginal usage. *Perspectives of science and education* : Proceedings of the 7th International youth conference, New York, 15 February 2019. 2019. P. 375–380.
140. Настанова СТ–Н МОЗУ 42–3.0:2011. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8). Вид. офіц. Київ, 2011. 42 с.

141. Almakaiev M. S., Bashura O. G., Sidenko L. M. The risk assessment of the combined medicine in the capsule dosage form at the pharmaceutical development stage. *News of Pharmacy*. 2021. No. 2(102). P. 75–84. URL: <https://doi.org/10.24959/nphj.21.54>.

142. Державна Фармакопея України. Доповнення 5. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2021. 424 с.

143. Штам *Lactobacillus casei* IMB B-7280 - індуктор "пізнього" інтерферону та активатор макрофагів : пат. 93133 Україна : С12N 1/20 С12R 1/245 А61Р 37/02. № а200906963 ; заявл. 03.07.2009 ; опубл. 10.01.2011, Бюл. № 1. 6 с.

144. *Lactobacillus casei* IMB B-7280 - штам для створення пробіотичного препарату із антибактеріальною та імуномодулювальною дією : пат. 98881 Україна : С12N 1/00. № u 2014 12770 ; заявл. 28.11.2014 ; опубл. 12.05.2015, Бюл. № 9. 6 с.

145. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність / І. М. Перцев та ін. ; ред. І. М. Перцев. Харків : Золоті сторінки, 2010. 600 с.

146. Фармацевтична енциклопедія. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/> (дата звернення: 30.11.2022).

147. Ling L. H. Evaluation and characterisation of bioadhesive suppositories formulated using commercial hydrogenated palm kernel stearin : PhD thesis. Malaysia, 2015. 262 p.

148. Державна Фармакопея України : в 3 томах. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2014. Т. 2. 724 с.

149. Державна Фармакопея України : в 3 томах. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2014. Т. 3. 732 с.

150. Державна Фармакопея України: в 3 томах. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

151. Державна Фармакопея України. Доповнення 1. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2016. 360 с.

152. Державна Фармакопея України. Доповнення 3. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2018. 416 с.

153. Державна Фармакопея України. Доповнення 4. 2-ге вид. Харків : Держ. підприємство «Укр. наук. фармакопейн. центр якості лік. засобів», 2020. 600 с.

154. Mahanova T. V., Tkachenko N. O. Analysis of contraceptive drugs market in the context of pharmaceutical safety. *Current issues in pharmacy and medicine: science and practice*. 2020. No. 1. URL: <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198187>

155. Державний реєстр лікарських засобів України. *Державний реєстр лікарських засобів України*. URL: <http://www.drlz.com.ua/> (дата звернення: 30.06.2021).

156. Реєстр оптово-відпускних цін на лікарські засоби. *Міністерство охорони здоров'я України*. URL: <https://moz.gov.ua/reestr-optovo-vidpusknihcin-na-likarski-zasobi>.

157. Довідник лікарських препаратів Компендіум. *Компендіум*. URL: <https://compendium.com.ua/uk/> (дата звернення: 01.03.2020).

158. Justification of surface-active substances choice in composition of suppositories for treatment of prostate gland benign diseases / V. S. Zaychenko et al. *Ukrain's'kij biofarmaceutičnij žurnal*. 2017. No. 6(53). P. 4–8. URL: <https://doi.org/10.24959/ubphj.17.143>.



159. Технологія ліків промислового виробництва: підручник для студентів вищих навчальних закладів / В. І. Чуєшов та ін. 2-ге вид. Харків : НФаУ "Ориг.", 2012. Т. 1. 696 с.

160. Interrelation between Tween and the membrane properties and high pressure tolerance of *Lactobacillus plantarum* / D. Reitermayer et al. *BMC Microbiology*. 2018. Vol. 18, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1203-y>.

161. Левачкова Ю., Ярних Т., Чушенко В. Біофармацевтичні дослідження песаріїв «Клімедекс». *Український країнський біофармацевтичний біофармацевтичний журнал*. 2012. № 1-2. С. 11–13.

162. Jankowski A., Dyja R., Hujar B. S. Dermal and Transdermal Delivery of Active Substances from Semisolid Bases. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017. Vol. 79, no. 4. URL: <https://doi.org/10.4172/pharmaceutical-sciences.1000255>.

163. Rowe R. C., Sheskey P., Quinn M. Handbook Of Pharmaceutical Excipients. 6th ed. London : Pharmaceutical Press, 2009. 888 p.

164. Vaginal suppositories containing *Lactobacillus acidophilus*: development and characterization / F. Rodrigues et al. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2014. Vol. 41, no. 9. P. 1518–1525. URL: <https://doi.org/10.3109/03639045.2014.963864>.

165. Zárate G., Tomás M. S. J., Nader-Macias M. E. Effect of some pharmaceutical excipients on the survival of probiotic vaginal lactobacilli. *Canadian Journal of Microbiology*. 2005. Vol. 51, no. 6. P. 483–489. URL: <https://doi.org/10.1139/w05-031>.

166. Зайченко В. С. Розробка складу та технології комбінованих ректальних супозиторіїв з індол-3-карбінолом : дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук. Харків, 2019. 203 с.

167. Kaewnopparat S., Kaewnopparat N. Formulation and evaluation of vaginal suppositories containing *Lactobacillus*. *International Journal of Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*. 2009. Vol. 3, no. 7. P. 117–120.

168. Kale V., Patil M., Yadav S. Preparation and evaluation of Novel Vaginal Pessaries of Lactobacilli. *International Journal of Drug Development & Research*. 2012. Vol. 4, no. 3. P. 97–103.

169. Effects of surfactant characteristics on drug availability from suppositories / N. Realdon et al. *Pharmazie*. 2008. Vol. 63, no. 6. P. 549–463.

170. Chale G. R., Jeughale A. S. Suppository: a review. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 2019. Vol. 8, no. 6. P. 1968–1982.

171. Gueimonde M., Sánchez B. Enhancing probiotic stability in industrial processes. *Microbial Ecology in Health & Disease*. 2012. Vol. 23. URL: <https://doi.org/10.3402/mehd.v23i0.18562>.

172. Малецька З. В., Давтян Л. Л. Вивчення осмотичних властивостей вагінальних супозиторіїв комбінованої дії з антимікробною та протизапальною активністю. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 3. С. 57–61.

173. Ляпунов М. О., Столпер Ю. М. Фармако-технологічний тест «Стійкість супозиторіїв і пєсаріїв до руйнування» при фармацевтичній розробці, виробництві та контролі якості готових лікарських засобів. *Фармаком*. 2002. № 3. С. 22–27.

174. Kieps J., Dembczyński R. Current Trends in the Production of Probiotic Formulations. *Foods*. 2022. Vol. 11, no. 15. P. 2330. URL: <https://doi.org/10.3390/foods11152330>.

175. The role of various surfactants on the release of salbutamol from suppositories / J. Hanaee et al. *Il Farmaco*. 2004. Vol. 59, no. 11. P. 903–906. URL: <https://doi.org/10.1016/j.farmac.2004.07.006>.

176. Effect of nonionic surfactants on the release of paracetamol from suppositories / K. Świąder et al. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2015. Vol. 26, no. 1. P. 40–44. URL: <https://doi.org/10.12923/j.2084-980x/26.1/a.08>.

177. Szulc-Musiol B., Bulas L., Dolinska B. Effect of Selected Surfactants on Kinetics of Meloxicam Release from Rectal Suppositories. *Indian Journal of*

*Pharmaceutical Sciences.* 2019. Vol. 81, no. 6.  
URL: <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.610>.

178. Сучасний стан наукових знань спеціальності «Фармація» : навч. посіб. / Д. І. Дмитрієвський та ін. Харків : НФаУ, 2016. 98 с.

179. Дмитрієвський Д., Куцанян А., Гербіна Н. Обґрунтування температурного режиму виготовлення супозиторіїв згліфазином. *Annals of Mechnikov Institute.* 2015. № 2. С. 74–79.

180. Мельник Г. М., Ярних Т. Г., Герасимова І. В. Визначення основних технологічних параметрів виготовлення песаріїв (супозиторіїв вагінальних) для підготовки родових шляхів перед пологами. *Medical and Clinical Chemistry.* 2021. № 2. С. 70–76. URL: <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2021.i2.12242>.

181. Алейник С. Л. Визначення температури плавлення дослідних зразків песаріїв з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец випуск 4(120) 4 : Annual Young Medical Scientists` Conference 2020*, м. Київ, 27–28 листоп. 2020 р. Київ, 2020. С. 4.

182. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Актуальність створення лікарських засобів з пробіотичною активністю у формі супозиторіїв для вагінального застосування. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23–24 верес. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 62–63.

183. Алейник С. Л., Полова Ж. М., Глущенко О. М. Лікарські засоби для вагінального застосування: аналіз фармацевтичного ринку України. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних, алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : Зб. наук. пр. Вип. 3, м. Харків, 1 берез. 2019 р. Харків, 2019. С. 22–25.

184. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Лікарські засоби з лактобактеріями: аналіз фармацевтичного ринку України. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* :

матеріали IV Міжнар. науково-практ. інтернет - конф., м. Харків, 14–15 листоп. 2019 р. Харків, 2019. С. 28–31.

185. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки песаріїв із пробіотичною активністю. *Фармацевтичний часопис*. 2021. № 4. С. 5–11. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.4>.

186. Алейник С., Полова Ж. Обґрунтування концентрації поверхнево-активної речовини у складі песаріїв з пробіотичною активністю. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : матеріали II Міжнар. науково-практ. конф., м. Харків, 13 жовт. 2022 р. Харків, 2022. С. 110–111.

187. Aleinyk S. Development of combined pessaries with probiotic activity. *Vestnik of the South-Kazakhstan Medical Academy*. 4(94) : the VIII International Scientific Conference of young scientists and students “Prospects for the development of biology, medicine and pharmacy”, Shymkent, 9–10 December 2021. 2021. P. 33–34.

188. Aleinyk S. L., Polova Z. M. Effect of surface-active substances concentration on the viability of Lactobacilli in composition of pessaries. *Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation* : collection of scientific papers «SCIENTIA» with Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 4), Pisa, 12 February 2021. 2021. P. 63–65.

189. Алейник С.Л. Дослідження асортименту фармацевтичного ринку лікарських засобів для вагінального застосування з деталізацією сегменту препаратів з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2021. Т. 127. № 4. С. 55-67. DOI: [https://doi.org/10.32345/USMYJ.4\(127\).2021.55-67](https://doi.org/10.32345/USMYJ.4(127).2021.55-67).

190. Aleinyk S., Polova Z. Determination of melting point in experimental samples of suppositories with probiotic activity. *Topical issues in pharmacy and*

*medical sciences* : Abstracts of the 2nd International scientific and practical conference, Tokyo, 18–19 November 2019. 2019. P. 81–85.

191. Aleinyk S., Polova Z. Development of suppositories for the correction of vaginal dysbiosis. *Scientific achievements of modern society* : Abstracts of the 1st International scientific and practical conference, Liverpool, 11–13 September 2019. 2019. P. 70–76.

192. Aleinyk S., Polova Z. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. *Science and society* : Proceedings of the 12th International conference., Hamilton, 7 June 2019. 2019. P. 404–410.

193. Aleinyk S., Polova Z. The Ukrainian pharmaceutical market assortment of dietary supplements with probiotic activity for the treatment and prevention of the female genitourinary system diseases. *Annali d'Italia*. 2020. Vol. 1, no. 5. P. 20–23.

194. Polova Z., Aleinyk S., Kazak A. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. *Ceska a Slovenska farmacie*. 2020. No. 69(2). P. 90–99.

195. Супозиторії з пробіотичною активністю для вагінального застосування : пат. 141286 Україна : А61К9/02 А61К35/74 А61К35/66 А61Р15/02. № u201910960 ; заявл. 06.11.2019 ; опубл. 25.03.2020, Бюл. № 9. 9 с.

196. Громовик Б. П., Гадяк І. В. Досвід використання у фармацевтичних дослідженнях діаграми Ісікави та приклад її авторської реалізації. *Управління якістю в фармації* : матеріали XIV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків, 2020. С. 35–36.

197. Безрукавий Є. А. Визначення стабільності та терміну придатності мазі з цинковою сіллю кислоти гіалуронової та тіотриазоліном. *Annals of Mechnikov Institute*. 2013. № 3. С. 28–33.

198. Левачкова Ю. В., Ярних Т. Г., Чушенко В. М. Стандартизація пессаріїв «Меланізол». *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 4. С. 52–56.

199. The Production and Delivery of Probiotics: A Review of a Practical Approach / K. Fenster et al. *Microorganisms*. 2019. Vol. 7, no. 3. P. 83–96. URL: <https://doi.org/10.3390/microorganisms7030083>.

200. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-8.2:2013 Д. Лікарські засоби. Випробування стабільності біотехнологічних/біологічних продуктів (ІСН Q5С). Вид. офіц. Київ, 2013. 22 с.

201. Про захист тварин від жорстокого поводження : Закон України від 21.02.2006 р. № 3447-IV : станом на 8 серп. 2021 р. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/3447-15#Text> (дата звернення: 10.09.2020).

202. Про затвердження Порядку проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах : Наказ МОН, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249. URL: <https://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0416-12#Text> (дата звернення: 10.09.2020).

203. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010. Vol. 53. P. 33–79.

204. The role of lactic acid production by probiotic *Lactobacillus* species in vaginal health / G. Tachedjian et al. *Research in Microbiology*. 2017. Vol. 168, no. 9-10. P. 782–792. URL: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.04.001>.

205. Ocaña V., Nader-Macías M. E. Adhesion of *Lactobacillus* vaginal strains with probiotic properties to vaginal epithelial cells. *Biocell : official journal of the Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica*. 2001. No. 25(3). P. 265–273.

206. Адгезивні властивості бактерій за впливу безклітинних екстрактів *Bifidobacterium bifidum* 1 та *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 / О. В. Книш та ін. *Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії*. 2020. Т. 20, № 2. С. 129–134. URL: <https://doi.org/10.31718/2077-1096.20.2.129>.

207. Zeng Z., Zuo F., Marcotte H. Putative Adhesion Factors in Vaginal *Lactobacillus gasseri* DSM 14869: Functional Characterization. *Applied and*

*Environmental Microbiology*. 2019. Vol. 85, no. 19. P. 1–16. URL: <https://doi.org/10.1128/aem.00800-19>.

208. Gujvinska S. O., Paliy A. P. Determination of Antagonistic and Adhesive Properties of *Lactobacterium* and *Bifidobacterium*. *Mikrobiolohichnyi Zhurnal*. 2018. Vol. 80, no. 1. P. 36–44. URL: <https://doi.org/10.15407/microbiolj80.01.036>.

209. Antagonistic Mechanism of Metabolites Produced by *Lactobacillus casei* on Lysis of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* / A. Aditya et al. *Frontiers in Microbiology*. 2020. Vol. 11. P. 1–13. URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.574422>.

210. Черногор Н. П., Большакова В. Л., Вінніков А. І. Антагоністична активність молочнокислих бактерій. 2006. № 14. С. 187–191.

211. Effects of Antibiotic Treatment on the *Lactobacillus* Composition of Vaginal Microbiota / A. R. Melkumyan et al. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2015. Vol. 158, no. 6. P. 766–768. URL: <https://doi.org/10.1007/s10517-015-2857-1>.

212. Вивчення біологічних властивостей пробіотичних штамів *Lactobacillus spp.* при культивуванні їх в аеробних та мікроаерофільних умовах / Є. М. Бабич та ін. *Annals of Mechnikov Institute*. 2014. № 1. С. 33–37.

213. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / ред. О. В. Стефанов. Київ : Авіц., 2001. 527 с.

214. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження гострої токсичності пєсаріїв «Лактовагін». *Фармацевтичний часопис*. 2022. № 2. С. 21–26. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.2.13329>.

215. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження здатності штаму *Lactobacillus casei* IMB B- 7280, що входить до складу пєсаріїв «Лактовагін», до кислотоутворення. *Запорізький фармацевтичний форум - 2022* : матеріали Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 17–18 листоп. 2022 р. Запоріжжя, 2022. С. 3.

216. Clinical study comparing probiotic *Lactobacillus GR-1* and *RC-14* with metronidazole vaginal gel to treat symptomatic bacterial vaginosis / K. C. Anukam et al. *Microbes and Infection*. 2006. Vol. 8, no. 12-13. P. 2772–2776. URL: <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2006.08.008>.

217. Falagas M. E., Betsi G. I., Athanasiou S. Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis. *Clinical Microbiology and Infection*. 2007. Vol. 13, no. 7. P. 657–664. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01688.x>.

218. A pilot study evaluating the safety and effectiveness of *Lactobacillus* vaginal suppositories in patients with recurrent urinary tract infection / S. Uehara et al. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2006. Vol. 28. P. 30–34. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.05.008>.

219. The effectiveness of live lactobacilli in combination with low dose oestriol (Gynoflor) to restore the vaginal flora after treatment of vaginal infections / E. Ozkinay et al. *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. 2005. Vol. 112, no. 2. P. 234–240. URL: <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2004.00329.x>.

220. Ya W., Reifer C., Miller L. E. Efficacy of vaginal probiotic capsules for recurrent bacterial vaginosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010. Vol. 203, no. 2. P. 120.e1–120.e6. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.05.023>.

221. Evaluation of Lactobacilli Containing Suppository Formulation for Probiotic Use / J. Kaewsrichan et al. *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2007. No. 34. P. 1–8.

222. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in various vaginal tablet formulations / M. R. Fazeli et al. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2006. No. 14(4). P. 172–178.

223. Randomized Trial of Lactin-V to Prevent Recurrence of Bacterial Vaginosis / C. R. Cohen et al. *New England Journal of Medicine*. 2020. Vol. 382, no. 20. P. 1906–1915. URL: <https://doi.org/10.1056/nejmoa1915254>.



224. Comparative phase I randomized open-label pilot clinical trial of Gynophilus® (Lcr regenerans®) immediate release capsules versus slow release muco-adhesive tablets / C. Dausset et al. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2018. Vol. 37, no. 10. P. 1869–1880. URL: <https://doi.org/10.1007/s10096-018-3321-8>.

225. Identification of sulfur components enhancing the anti-Candida effect of *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35 / C. Dausset et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. P. 1–12. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74027-7>.

226. Impact of a lactobacilli-containing gel on vulvovaginal candidosis and the vaginal microbiome / E. F. M. Oerlemans et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. P. 1–10. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64705-x>.

227. Effect of ultra-low-dose estriol and lactobacilli vaginal tablets (Gynoflor®) on inflammatory and infectious markers of the vaginal ecosystem in postmenopausal women with breast cancer on aromatase inhibitors / G. Donders et al. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2015. Vol. 34, no. 10. P. 2023–2028. URL: <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2447-1>.

228. Baldacci F., Baldacci M., Bertini M. *Lactobacillus rhamnosus* BMX 54 + Lactose, A Symbiotic Long-Lasting Vaginal Approach to Improve Women's Health. *International Journal of Women's Health*. 2020. Volume 12. P. 1099–1104. URL: <https://doi.org/10.2147/ijwh.s259311>.

229. Murina F., Vicariotto F., Di Francesco S. Thymol, eugenol and lactobacilli in a medical device for the treatment of bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *New Microbiologica*. 2018. Vol. 41, no. 3. P. 220–224.

230. Intermittent Lactobacilli-containing Vaginal Probiotic or Metronidazole Use to Prevent Bacterial Vaginosis Recurrence: A Pilot Study Incorporating Microscopy and Sequencing / J. H. H. M. van de Wijgert et al. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10, no. 1. P. 1–15. URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60671-6>.

231. Persistence of Lactobacilli in Postmenopausal Women - A Double-Blind, Randomized, Pilot Study / Y.-K. Kwak et al. *Gynecologic and Obstetric*

*Investigation.* 2016. Vol. 82, no. 2. P. 144–150.  
URL: <https://doi.org/10.1159/000446946>.

232. Randomized, Placebo-Controlled Phase 2 Trial of a *Lactobacillus crispatus* Probiotic Given Intravaginally for Prevention of Recurrent Urinary Tract Infection / A. E. Stapleton et al. *Clinical Infectious Diseases*. 2011. Vol. 52, no. 10. P. 1212–1217. URL: <https://doi.org/10.1093/cid/cir183>.

233. Vicariotto F., Mogna L., Piano M. D. Effectiveness of the Two Microorganisms *Lactobacillus fermentum* LF15 and *Lactobacillus plantarum* LP01, Formulated in Slow-release Vaginal Tablets, in Women Affected by Bacterial Vaginosis. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2014. Vol. 48. P. S106–S112. URL: <https://doi.org/10.1097/mcg.0000000000000226>.

## Додаток А

**Дослідження з використанням вагінальних лікарських форм, що містять пробіотичні штами лактобактерій**

№ п/п	Автор(и)	Мікроорганізм(и)	ЛФ для вагінального застосування	Посилання на джерела
1.	Anukam K. C. et al.	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. reuteri</i>	капсули	3, 216
2.	Mastromarino P. et al.	<i>L. brevis</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. plantarum</i>	таблетки	3, 21
3.	Parent D. et al.	<i>L. acidophilus</i>	таблетки	3, 217
4.	Hallén A. et al.	<i>L. acidophilus</i>	супозиторії	3, 217
5.	Ehrström S. et al.	<i>L. gasseri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. casei subsp.</i> <i>rhamnosus</i> , <i>P. acidi lactici</i>	капсули	28, 125
6.	Maggi L. et al.	<i>L. brevis</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i>	таблетки	28, 117
7.	Burton J. P. et al.	<i>L. fermentum</i> , <i>L. rhamnosus</i>	капсули	28, 118
8.	Eriksson K. et al.	<i>L. fermentum</i> , <i>L. casei var.</i> <i>rhamnosus</i> , <i>L. gasseri</i>	тампони	28, 119
9.	Czaja C. A. et al.	<i>L. crispatus</i>	супозиторії	28, 120
10.	Uehara S. et al.	<i>L. crispatus</i>	супозиторії	218
11.	Drago L. et al.	<i>L. acidophilus</i>	спринцювання	28, 121
12.	Kale V. et al.	lyophilisate <i>Lactobacilli</i>	таблетки	28, 122
13.	Kale V. et al.	<i>L. sporogenes</i>	супозиторії	122, 168
14.	Larsson P. G. et al.	<i>L. gasseri</i> , <i>L. rhamnosus</i>	желатинові капсули	28, 123
15.	S. Kaewnopparat , N. Kaewnopparat	<i>L. paracasei</i>	супозиторії	28, 124
16.	Rodrigues F. et al.	<i>L. acidophilus</i>	супозиторії	164
17.	Ozkinay et al.	<i>L. acidophilus</i>	таблетки	217, 219

18.	Ya W. et al.	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>St. thermophilus</i>	капсули	220
19.	J. Kaewsrichan et al.	<i>L. jensenii</i> , <i>L. crispatus</i>	таблетки	221
20.	J. Kaewsrichan et al.	<i>L. jensenii</i> , <i>L. crispatus</i>	супозиторії	221
21.	Fazeli M. R. et al.	<i>L. acidophilus</i>	таблетки	222
22.	Craig R. Cohen et al.	<i>L. crispatus</i>	Біотерапевтичний продукт у переднаповненому вагінальному аплікаторі	223
23.	C. Dausset et al.	<i>L. rhamnosus</i>	Капсули та таблетки	224, 225
24.	Eline F. M. Oerlemans et al.	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. pentosus</i> , <i>L. plantarum</i>	гель	226
25.	H. Marcotte et al.	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. gasseri</i>	капсули	20
26.	G. Donders et al.	<i>L. acidophilus</i>	таблетки	227
27.	S. Pendharkar et al.	<i>L. rhamnosus</i> , <i>L. gasseri</i>	капсули	31
28.	F. Baldacci та ін.	<i>L. rhamnosus</i>	таблетки	228
29.	K. Wada et al.	<i>L. crispatus</i>	песарії	29
30.	F. Murina et al..	<i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i>	капсули	229
31.	Janneke H. H. M. van de Wijgert et al.	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. salivarius</i>	капсули	230
		<i>L. rhamnosus</i>	таблетки	
32.	Y.-K. Kwak et al.	<i>L. gasseri</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. rhamnosus</i>	мазь	231
33.	Ann E. Stapleton et al.	<i>L. crispatus</i>	песарії	232
34.	F. Vicariotto et al.	<i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i>	таблетки	233

## Додаток Б

**Дієтичні добавки, що містять пробіотичні штами бактерій та застосовуються при патологіях жіночої статеві системи (аналіз довідника «Компендіум»)**

№ п/п	Назва ДД	Штами бактерій, що входять до складу	ЛФ	Виробник
10.3. «Дієтичні добавки для підтримки функції і зниження ризику загострень запальних захворювань сечостатевої системи»				
1	Уривак	<i>Propionibacterium acneslysatum cryodessicatum,</i> <i>Klebsiella pneumoniae lysatum cryodessicatum,</i> <i>Pseudomonas aeruginosa lysatum cryodessicatum,</i> <i>Enterococcus faecalis lysatum cryodessicatum,</i> <i>Escherichia colilyatum cryodessicatum,</i> <i>Proteus mirabilis lysatum cryodessicatum</i>	Капсули	Чехія
1	Біфолак	<i>Lactobacillus acidophilus,</i> <i>Bifidobacterium</i>	Супозиторії вагінальні	Україна
2	Лабілакт	<i>Lactobacillus acidophilus,</i> <i>Lactobacillus plantarum,</i> <i>Bifidobacterium bifidum,</i> <i>Bifidobacterium adolescerrtis</i>	Капсули вагінальні	Україна
3	Лактоваг	<i>молочнокислі бактерії</i>	Супозиторії вагінальні	Україна
10.4 «Дієтичні добавки, що сприяють нормалізації та підтримці нормальної мікрофлори»				
4	ЕкоБІОЛ	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Bifidobacterium breve</i>	Капсули	Швейцарія
5	ЕкоБІОЛ Б.В.	<i>Lactobacillus gasseri,</i> <i>Lactobacillus crispatus,</i> <i>Bifidobacterium breve,</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Капсули	Швейцарія
6	Плантеза вагінальний пробіотик	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Вагінальні таблетки	Португалія

7	Вагісан	<i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Капсули	Хорватія
8	Лактіале® Уро	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	Капсули	Україна
9	ПробізФеміна	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Капсули	Індія
10	Лактофемін	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i>	Капсули	Індія
12 Засоби особистої гігієни, Засоби для інтимної гігієни				
11	Неопробіо	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Enterococcus durans Sm</i>	Супозиторії вагінальні	Польща
22 Інші медичні вироби				
12	Лактожиналь LP	<i>Lactobacillus casei</i> <i>rhamnosus Doderleini</i>	Вагінальні таблетки з модифікованим вивільненням	Франція
13	Лактожиналь	<i>Lactobacillus casei</i> <i>rhamnosus Doderleini</i>	Капсули вагінальні	Франція
14	Вагісан	<i>Lactobacillus reuteri</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Капсули вагінальні	Хорватія
15	Вагетта	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>	Таблетки вагінальні	Італія
06 Косметичні засоби для здоров'я				
16	Флоріка	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium</i>	Супозиторії вагінальні	Україна

## Додаток В

### Список публікацій здобувача

#### *Список публікацій здобувача*

#### *Статті (Scopus/Web of Science)*

1. Polova Z., Aleinyk S., Kazak A. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. *Ceska a Slovenska farmacie*. 2020. No. 69(2). P. 90–99.

#### *Статті у фахових виданнях*

2. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Вимоги до якості супозиторіїв як лікарської форми у відповідності до світових фармакопей. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 3. С. 123–130. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.3.10443>.

3. Алейник С.Л. Дослідження асортименту фармацевтичного ринку лікарських засобів для вагінального застосування з деталізацією сегменту препаратів з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал*. 2021. Т. 127. № 4. С. 55-67. DOI: [https://doi.org/10.32345/USMYJ.4\(127\).2021.55-67](https://doi.org/10.32345/USMYJ.4(127).2021.55-67).

4. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки песаріїв із пробіотичною активністю. *Фармацевтичний часопис*. 2021. № 4. С. 5–11. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2021.4.12670>

5. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження гострої токсичності песаріїв «Лактовагін». *Фармацевтичний часопис*. 2022. № 2. С. 21–26. URL: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2022.2.13329>

#### *Статті у інших виданнях*

6. Aleinyk S., Polova Z. The Ukrainian pharmaceutical market assortment of dietary supplements with probiotic activity for the treatment and prevention of the female genitourinary system diseases. *Annali d'Italia*. 2020. Vol. 1, no. 5. P. 20–23.

#### *Патенти*

7. Супозиторії з пробіотичною активністю для вагінального застосування : пат. 141286 Україна : А61К9/02 А61К35/74 А61К35/66 А61Р15/02. № u201910960 ; заявл. 06.11.2019 ; опубл. 25.03.2020, Бюл. № 9. 9 с.

*Тези доповідей конференцій*

8. Алейник С. Л., Полова Ж. М., Глущенко О. М. Лікарські засоби для вагінального застосування: аналіз фармацевтичного ринку України. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних, алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : Зб. наук. пр. Вип. 3, м. Харків, 1 берез. 2019 р. Харків, 2019. С. 22–25.

9. Aleinyk S., Polova Z. Development of suppositories for the correction of vaginal dysbiosis. *Scientific achievements of modern society* : Abstracts of the 1st International scientific and practical conference, Liverpool, 11–13 September 2019. 2019. P. 70–76.

10. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Лікарські засоби з лактобактеріями: аналіз фармацевтичного ринку України. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали IV Міжнар. науково-практ. інтернет - конф., м. Харків, 14–15 листоп. 2019 р. Харків, 2019. С. 28–31.

11. Aleinyk S., Polova Z. Auxiliary substances in compositions of drugs for vaginal usage. *Perspectives of science and education* : Proceedings of the 7th International youth conference, New York, 15 February 2019. 2019. P. 375–380.

12. Aleinyk S., Polova Z. Development actuality of vaginal suppositories with *Lactobacillus casei*. *Science progress in European countries: new concepts and modern solutions* : Papers of the 5th International Scientific Conference, Stuttgart, 28 February 2019. 2019. P. 845–850.

13. Aleinyk S., Polova Z. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. *Science and society* : Proceedings of the 12th International conference., Hamilton, 7 June 2019. 2019. P. 404–410.



14. Aleinyk S., Polova Z. Determination of melting point in experimental samples of suppositories with probiotic activity. *Topical issues in pharmacy and medical sciences* : Abstracts of the 2nd International scientific and practical conference, Tokyo, 18–19 November 2019. 2019. P. 81–85.

15. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Актуальність створення лікарських засобів з пробіотичною активністю у формі супозиторіїв для вагінального застосування. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 23–24 верес. 2020 р. Тернопіль, 2020. С. 62–63.

16. Алейник С. Л. Визначення температури плавлення дослідних зразків песаріїв з пробіотичною активністю. *Український науково-медичний молодіжний журнал. Спец випуск 4(120) 4 : Annual Young Medical Scientists' Conference 2020*, м. Київ, 27–28 листоп. 2020 р. Київ, 2020. С. 4.

17. Aleinyk S. L., Polova Z. M. Effect of surface-active substances concentration on the viability of Lactobacilli in composition of pessaries. *Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation* : collection of scientific papers «SCIENTIA» with Proceedings of the I International Scientific and Theoretical Conference (Vol. 4), Pisa, 12 February 2021. 2021. P. 63–65.

18. Алейник С., Полова Ж. *Lactobacillus casei* як перспективний штам для створення лікарських засобів з пробіотичною активністю. *Проблеми та досягнення сучасної біотехнології* : матеріали I міжнар. наук.-практ. інтернет-конф., м. Харків, 25 берез. 2021 р. Харків, 2021. С. 62–63.

19. Aleinyk S. Development of combined pessaries with probiotic activity. *Vestnik of the South-Kazakhstan Medical Academy*. 4(94) : the VIII International Scientific Conference of young scientists and students “Prospects for the development of biology, medicine and pharmacy”, Shymkent, 9–10 December 2021. 2021. P. 33–34.

20. Алейник С., Полова Ж. Обґрунтування концентрації поверхнево-активної речовини у складі песаріїв з пробіотичною активністю. *Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології* : матеріали II Міжнар. науково-практ. конф., м. Харків, 13 жовт. 2022 р. Харків, 2022. С. 110–111.

21. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Дослідження здатності штаму *Lactobacillus casei* IMB B- 7280, що входить до складу песаріїв «Лактовагін», до кислотоутворення. *Запорізький фармацевтичний форум - 2022* : матеріали Всеукр. науково-практ. конф. з міжнар. участю, м. Запоріжжя, 17–18 листоп. 2022 р. Запоріжжя, 2022. С. 3.

*Продовж. додатку В*

### **Апробація результатів дисертації**

1. III Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних, алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 2019, форма участі – публікація тез).
2. The 1st International scientific and practical conference «Scientific achievements of modern society» (Ліверпуль, Великобританія, 2019, форма участі – публікація тез).
3. IV Міжнародна науково-практична інтернет – конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 2019, форма участі – публікація тез).
4. The 7th International youth conference «Perspectives of science and education» (Нью-Йорк, США, 2019, форма участі – публікація тез).
5. The 5th International Scientific Conference «Science progress in European countries: new concepts and modern solutions» (Штутгарт, Німеччина, 2019, форма участі – публікація тез).
6. The 12th International conference «Science and society» (Гамільтон, Канада, 2019, форма участі – публікація тез).
7. The 2nd International scientific and practical conference «Topical issues in pharmacy and medical sciences» (Токіо, Японія, 2019, форма участі – публікація тез).
8. VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 2020, форма участі – усна доповідь).
9. Щорічна міжнародна конференція молодих науковців «Annual Young Medical Scientists' Conference 2020, AYMSCConf 2020» (Київ, 2020, форма участі – публікація тез).

*Продовж. додатку Б*

10. The I International Scientific and Theoretical Conference «Theoretical and practical scientific achievements: research and results of their implementation» (Піза, Італія, 2021, форма участі – публікація тез).

11. I міжнародна науково-практична конференція «Проблеми та досягнення сучасної біотехнології» (Харків, 2021, форма участі – публікація тез).

12. The VIII International Scientific Conference of young scientists and students «Prospects for the development of biology, medicine and pharmacy» (Шимкент, Казахстан, 2021, форма участі – публікація тез).

13. II міжнародна науково-практична конференція «Фундаментальні та прикладні дослідження у галузі фармацевтичної технології» (Харків, 2022, форма участі – усна доповідь).

14. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю «Запорізький фармацевтичний форум- 2022» (Запоріжжя, 2022, форма участі – публікація тез).



## Додаток Г







УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **141286** (13) **U**

(51) МПК

**A61K 9/02** (2006.01)**A61K 35/74** (2015.01)**A61K 35/66** (2015.01)**A61P 15/02** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 10960</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>06.11.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.03.2020</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.03.2020, Бюл.№ 6</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Полова Жанна Миколаївна (UA), Співак Микола Якович (UA), Алейник Світлана Леонідівна (UA), Лазаренко Людмила Миколаївна (UA), Глуценко Олена Миколаївна (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>Полова Жанна Миколаївна, вул. Метрологічна, 15А, кв. 32, м. Київ, 03143 (UA)</b></p> <p>(74) Представник: <b>Лерантович Еліна Томашівна, реєстр. №285</b></p>
---	---

**(54) СУПОЗИТОРІЇ З ПРОБІОТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ ДЛЯ ВАГІНАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ****(57) Реферат:**

Супозиторії з пробіотичними властивостями для вагінального застосування містять субстанцію лактобактерій з пробіотичною активністю, гідрофільну основу, як субстанцію лактобактерій з пробіотичною активністю містять штам *Lactobacillus casei* IMB B-7280, як гідрофільну основу суміш поліетиленгліколю-400 та поліетиленгліколю-1500, та додатково містять гідрофобну основу, емульгатор. Як гідрофобну основу використовують твердий жир або гідрогенізовану пальмову олію, або масло какао, як емульгатор використовують полісорбат-80 або емульгатор №1.

UA 141286 U

## Додаток Д



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології пєсаріїв з пробіотичною активністю.

**2. Установа, її адреса, виконавці:** Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра аптечної та промислової технології ліків, 01024, м. Київ, вул. Пушкінська, 22; асп. С. Л. Алейник, д.фарм.н., проф. Ж. М. Полова.

**3. Джерела інформації:**

1. Zh. Polova, S. Aleinyk, A. Kazak. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. Ceska a Slovenska farmacie. 2020; 69. P. 90 – 99.
2. Алейник С. Л., Полова Ж. М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки пєсаріїв з пробіотичною активністю. Фармацевтичний часопис. 2021. №4. С. 5-11.
3. Aleinyk S., Polova Zh. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. The 12th International conference «Science and society» (June 7, 2019) Accent Graphics Communications & Publishing, Hamilton, Canada. P. 404 – 410.

**4. Впроваджено:** у навчальний процес кафедри фармації Буковинського державного медичного університету при вивченні теми з технології ліків «Супозиторії. Виготовлення супозиторіїв методом викачування. Палички. Виготовлення супозиторіїв методом виливання. Пілюлі.».

**5. Термін впровадження:** 2022 – 2023 н.р.

**6. Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених у джерелах інформації. Результати наукових досліджень включено в навчальний процес кафедри.

**7. Зауваження:** немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармації Буковинського державного медичного університету (протокол № 6 від 07.11.2022 р.)

**Відповідальний за впровадження:**

завідувач кафедри фармації  
Буковинського державного медичного  
університету (м. Чернівці), к.фарм.н., доцент

Олег ГЕРУШ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з навчальної роботи та  
рекрутації Волинського національного  
університету імені Лесі Українки  
проф. Юрій Громик

«17» 2022 р.



## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології пєсаріїв з пробіотичною активністю.

**2. Установа, її адреса, виконавці:** Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра аптечної та промислової технології ліків, 01024, м. Київ, вул. Пушкінська, 22.; асп. С. Л. Алейник, д.фарм.н., проф. Ж. М. Полова.

**3. Джерела інформації:**

1. Zh. Polova, S. Aleinyk, A. Kazak. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. Ceska a Slovenska farmacie. 2020; 69. P. 90–99.

2. Алейник С.Л., Полова Ж.М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки пєсаріїв з пробіотичною активністю. Фармацевтичний часопис. 2021. №4. С. 5-11.

3. Aleinyk S., Polova Zh. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. The 12th International conference «Science and society» (June 7, 2019) Accent Graphics Communications & Publishing, Hamilton, Canada. P. 404- 410.

**4. Впроваджено:** у навчальний процес кафедри органічної хімії та фармації при вивченні теми «Лікарські засоби для вагінального застосування». Обговорено та затверджено на засіданні кафедри, протокол № 1 від 31 вересня 2022.

**5. Термін впровадження:** 2022 – 2023 н.р.

**6. Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених у джерелах інформації. Результати наукових досліджень включено в навчальний процес кафедри.

**7. Зауваження:** немає.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувачка кафедри органічної хімії  
та фармації Волинського національного  
університету імені Лесі Українки,  
к.хім.н., доцент

Н.Ю. Сливка



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор  
з науково-педагогічної роботи  
Національного фармацевтичного  
університету,  
д.фарм.н., професор Інна ВЛАДИМИРОВА



11 2022 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології пєсаріїв з пробіотичною активністю.

**2. Установа, її адреса, виконавці:** Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра аптечної та промислової технології ліків, 01024, м. Київ, вул. Пушкінська, 22.; асп. С. Л. Алейник, д.фарм.н., проф. Ж. М. Полова.

**3. Джерела інформації:**

1. Zh. Polova, S. Aleinyk, A. Kazak. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. Ceska a Slovenska farmacie. 2020; 69. P. 90–99.
2. Алейник С.Л., Полова Ж.М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки пєсаріїв з пробіотичною активністю. Фармацевтичний часопис. 2021. №4. С. 5-11.
3. Aleinyk S., Polova Zh. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. The 12th International conference «Science and society» (June 7, 2019) Accent Graphics Communications & Publishing, Hamilton, Canada. P. 404-410.

**4. Впроваджено:** у навчальний процес кафедри заводської технології ліків при вивченні теми з технології лікарських засобів «Промислове виробництво супозиторіїв».

**5. Термін впровадження:** 2021 – 2022 н.р.

**6. Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених у джерелах інформації. Результати наукових досліджень включено в навчальний процес кафедри.

**7. Зауваження:** немає.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри  
Протокол №3 від 16.11.22р.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувачка кафедри заводської технології ліків,  
Національного фармацевтичного університету  
д.фарм.н., професорка

Олена РУБАН

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор  
з науково-педагогічної роботи  
Львівського національного  
медичного університету  
імені Данила Галицького  
доц. І. І. Солонинко



« 13 » 10 2022 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

**1. Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології пєсаріїв з пробіотичною активністю.

**2. Установа, її адреса, виконавці:** Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра аптечної та промислової технології ліків, 01024, м. Київ, вул. Пушкінська, 22.; асп. С. Л. Алейник, д.фарм.н., проф. Ж. М. Полова.

**3. Джерела інформації:**

1. Zh. Polova, S. Aleinyk, A. Kazak. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. Ceska a Slovenska farmacie. 2020; 69. P. 90–99.

2. Алейник С.Л., Полова Ж.М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки пєсаріїв з пробіотичною активністю. Фармацевтичний часопис. 2021. №4. С. 5-11.

3. Aleinyk S., Polova Zh. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. The 12th International conference «Science and society» (June 7, 2019) Accent Graphics Communications & Publishing, Hamilton, Canada. P. 404-410.

**4. Впроваджено:** у навчальний процес кафедри технології ліків та біофармації при вивченні теми з технології лікарських засобів «Лікарські засоби для вагінального застосування».

**5. Термін впровадження:** 2021 – 2022 н.р.

**6. Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених у джерелах інформації. Результати наукових досліджень включено в навчальний процес кафедри.

**7. Зауваження:** немає.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувач кафедри технології ліків і біофармації  
Львівського національного медичного  
університету імені Данила Галицького,  
д. фарм. н., професор

С. Б. Білоус

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор  
з наукової роботи та інновацій  
Національного медичного університету  
імені О.О. Богомольця,  
д.мед.н., проф. Земсков



2022 р.

**АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ**

**1. Назва пропозиції для впровадження:** Розробка складу та технології песаріїв з пробіотичною активністю.

**2. Установа, її адреса, виконавці:** Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра аптечної та промислової технології ліків, 01024, м. Київ, вул. Пушкінська, 22.; асп. С. Л. Алейник, д.фарм.н., проф. Ж. М. Полова.

**3. Джерела інформації:**

1. Zh. Polova, S. Aleinyk, A. Kazak. Formulation and technology development of vaginal pessaries with probiotic activity. Ceska a Slovenska farmacie. 2020; 69. P. 90–99.
2. Алейник С.Л., Полова Ж.М. Обґрунтування способу введення субстанції *Lactobacillus casei* IMB B-7280 у дослідні зразки песаріїв з пробіотичною активністю. Фармацевтичний часопис. 2021. №4. С. 5-11.
3. Aleinyk S., Polova Zh. Research of the experimental samples of suppositories with probiotic activity for vaginal use. The 12th International conference «Science and society» (June 7, 2019) Accent Graphics Communications & Publishing, Hamilton, Canada. P. 404- 410.

**4. Впроваджено:** в навчальний та науковий процес кафедри аптечної та промислової технології ліків для студентів фармацевтичного факультету згідно протоколу №1 засідання кафедри від 29.08.2022 р.

**5. Термін впровадження:** 2021 – 2022 н.р.

**6. Ефективність впровадження:** Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведених у джерелах інформації. Результати наукових досліджень включено в навчальний процес кафедри.

**7. Зауваження:** немає.

**Відповідальний за впровадження:**

Завідувачка кафедри аптечної  
та промислової технології ліків,  
д.фарм.н., професор

Ж.М. Полова