

Пятигорский медико-фармацевтический институт
Филиал государственного бюджетного образовательного
Учреждения высшего профессионального образования
«Волгоградский государственный медицинский университет»

Монтакова Анастасия Александровна

Студентка 5 курса 6 группы

**Разработка технологии и анализа глазного геля и
мази с доксициклина гидрохлоридом.**

Дипломная работа

По специальности 060301 - фармация

Пятигорск, 2017

Работа выполнена на кафедрах:

Фармацевтической и токсикологической химии, зав. кафедрой ,доктор фармацевтических наук, профессор Лазарян Джон Седракович

Технологии лекарств, зав.кафедрой ,доктор фармацевтических наук, Компанцев Дмитрий Владиславович

Биологической химии и микробиологии, зав. кафедрой ,доктор биологических наук Елена Григорьевна Доркина

Научные руководители:

Доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии, кандидат фармацевтических наук

Благоразумная Наталья Васильевна

Доцент кафедры технологии лекарств

Благоразумная Екатерина Юрьевна

Научный консультанты:

Доцент кафедры биологической химии и микробиологии

Оксана Ивановна Папаяни

Доцент кафедры биологической химии и микробиологии

Юдия Евгеньевна Кульбекова

С дипломной работой можно ознакомиться в деканате ПМФИ филиала ВолгГМУ (пр. Калинина 11)

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Часть I. Обзор литературы.....	7
Глава 1. Теоретические основы разработки глазной мази и геля с доксициклина гидрохлоридом	
1.1. Глазные лекарственные формы, используемые для лечения заболеваний глаз.....	7
1.2. Номенклатура глазных лекарственных форм.....	9
1.3. Офтальмологические лекарственные формы, используемые для лечения заболеваний глаз.....	11
1.4. Доксициклина гидрохлорид, свойства и анализ.....	13
1.4.1 Структура и способы получения доксициклина гидрохлорида.....	13
1.4.2 Методы идентификации доксициклина гидрохлорида.....	14
1.4.3 Методы количественного определения доксициклина гидрохлорида.....	16
1.4.4 Фармакологические свойства доксициклина гидрохлорида.....	17
1.5. Выводы по главе.....	18
Часть II. Экспериментальная часть.....	19
Глава 2. Разработка состава и технологии стоматологического геля с метилурацилом и доксициклина гидрохлоридом	19
2.1. Выбор состава геля и мази.....	19
2.2. Технологическая схема получения глазного геля и мази с доксициклина гидрохлоридом.....	23

2.3. Изучение кинетики высвобождения доксициклина гидрохлорида из геля и мази	26
2.4 Изучение антимикробного действия гелей и мази на разных основах	32
2.5. Выводы по главе.....	37
Глава 3. Разработка методик анализа стоматологического геля с метилурацилом и доксициклина гидрохлоридом	38
3.1. Определение подлинности доксициклина гидрохлорида в геле и мази.....	38
3.1.1. Цветные качественные реакции.....	38
3.1.2. Метод тонкослойной хроматографии.....	39
3.2. Количественное определение доксициклина гидрохлорида в геле и мази.....	41
Общие выводы.....	50
Список литературы.....	51

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания глаз остаются серьезной социальной проблемой практической офтальмологии как причина временной нетрудоспособности (80%) и как причина слепоты (10-20%). Ежегодно в мире 1,5-2 млн. человек получают монокулярную слепоту в связи с язвой и травмой роговицы. Среди воспалительных заболеваний глаз наибольшую группу составляют конъюнктивиты - 66,7%. Хотя на кератиты приходится не более 5%, именно эта форма заболеваний глаз наиболее опасна понижением зрения и слепотой. По нашим данным, бактериальная язва роговицы составляет 27,6% как первичная и 30,2% как вторичная инфекция роговицы. Точные сведения о распространенности заболеваний глаз, особенно их инфекционных форм неизвестны.

В связи с широким и фактически бесконтрольным использованием антибиотиков многие больные, страдающие бактериальной инфекцией глаз и занимающиеся самолечением, остаются неучтенными, если у них не развиваются тяжелые осложнения. Поэтому все большую роль имеют лекарственные формы для лечения глаз.

Лечение жидкими лекарственными формами не всегда достигает терапевтического эффекта. Глазные мази обеспечивают длительный, пролонгированный терапевтический эффект лекарственного средства.

Основным действующим компонентом был выбран доксициклина гидрохлорид(обладает антибактериальным действием)

В медицинской практике широко используются антибиотики, к числу которых относится доксициклина гидрохлорид. Однако применение данного лекарственного вещества ограничено некоторыми побочными действиями, поэтому его можно использовать для терапии взрослых людей.

Целью исследования являлась разработка состава, технологии и анализа глазной лекарственной мази с доксициклина гидрохлоридом.

Для реализации цели были поставлены следующие задачи:

- провести исследования по выбору оптимальных основ с доксициклина гидрохлоридом;
- разработать технологию глазной мази с доксициклина гидрохлоридом;
- определить антимикробную активность разработанной лекарственной формы;
- разработать методики анализа мази с доксициклина гидрохлоридом;
- провести валидационную оценку методики количественного определения доксициклина гидрохлорида.

В ходе выполнения дипломной работы нами были использованы методы логического анализа, системного подхода, контент-анализа справочной литературы, современные технологические методы приготовления, стабилизации, оценки качества, качественного и количественного методов анализа.

Часть I. Обзор литературы

Глава 1. Теоретические основы разработки глазной мази с доксициклина гидрохлоридом

1.1. Болезни глаза и окружающих тканей

Международная классификация болезней включает следующие болезни и синдромы:

1. Болезни век, слезных путей и глазницы.
2. Болезни конъюнктивы.
3. Болезни склеры, роговицы, радужной оболочки и цилиарного тела.
4. Болезни хрусталика.
5. Болезни сосудистой оболочки и сетчатки.
6. Глаукома.
7. Болезни стекловидного тела и глазного яблока.
8. Болезни зрительного нерва и зрительных путей.
9. Болезни мышц глаза, нарушения содружественного движения глаз, аккомодации и рефракции.
10. Зрительные расстройства и слепота.
11. Другие болезни глаза и его придаточного аппарата.

Сюда относятся воспалительные заболевания бактериального, вирусного и другого генеза, аллергические, метаболические, аутоиммунные болезни, дегенеративные изменения в глазе, повреждения и травмы глаза и вспомогательного аппарата. К самым распространенным заболеваниям относятся:

- ❖ Глаукома – повышение внутриглазного давления вследствие нарушения оттока жидкости или повышения ее притока;
- ❖ Катаракта – помутнение хрусталика и его капсулы;
- ❖ Воспалительные болезни глаз, к которым относят: конъюнктивит (воспаление слизистой оболочки глаза) и кератит (воспаление роговицы глаза).

Данные статистики:

- Каждый второй россиянин страдает тем или иным расстройством зрения, сообщает "Интерфакс" со ссылкой на Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию. "В России ежегодно регистрируется 500 тысяч инвалидов по зрению, а каждый второй россиянин страдает заболеванием глаз", - говорится в сообщении агентства.

- По результатам эпидемиологического мониторинга "показатели заболеваемости глаз в России неуклонно возрастают, и в большинстве регионов превышают среднеевропейские показатели в 1,5-2 раза".

- Чрезвычайно распространены заболевания глаз, связанные с работой за компьютером - «компьютерный зрительный синдром». Монитор компьютера является для глаз источником повышенной опасности, так как излучает ультрафиолетовый свет. В сочетании с напряженной работой глаз это может вызвать быстрое утомление, головные боли, снижение работоспособности, резь в глазах и слезоточивость. 50-90% людей, работающих за компьютером, обращаются к врачам именно с этими жалобами.

- Проблема быстро растет: в школу идут 4% детей с нарушением зрения, а выпускаются – 40%.
- В среднем, каждый европеец с пищей потребляет только одну восьмую или одну шестую часть биологически активных соединений, необходимых для нормального функционирования глаза.

1.2. Номенклатура глазных лекарственных форм

Глазные лечебные формы выделяются в особую группу лечебных веществ в связи со способом их применения. Слизистая оболочка глаза является самой чувствительной из всех слизистых организма.

Она резко реагирует на внешние раздражители - механические включения, несоответствие осмотического давления и значения рН вводимых в глаз лечебных форм осмотическому давлению и значению рН слезной жидкости. Слезная жидкость является защитным барьером для микроорганизмов благодаря наличию в ней лизоцима (фермент мурамидаза). При различных заболеваниях глаз содержание лизоцима в слезной жидкости значительно снижается, что способствует размножению микроорганизмов, которые вызывают тяжелые заболевания. Поэтому наряду с общими требованиями для многих лечебных форм к ним предъявляются повышенные требования: стерильность, стабильность, изотоничность, отсутствие механических включений и раздражающего действия, точность дозирования.

При разработке ЛФ необходимо обеспечить следующие параметры:

I. Эффективность ЛФ: не связывается с белками слезной жидкости и хорошо проникает через мембраны, не разрушается под действием лизоцима; способен создавать постоянную концентрацию в течение длительного времени после однократного введения.

II. Сохранность ЛФ: предотвращение разрушения ЛФ, их гидролиза, микробной контаминации.

III. Безопасность применения: отсутствие болевых ощущений, комфортность при введении, снижения риска токсических эффектов.

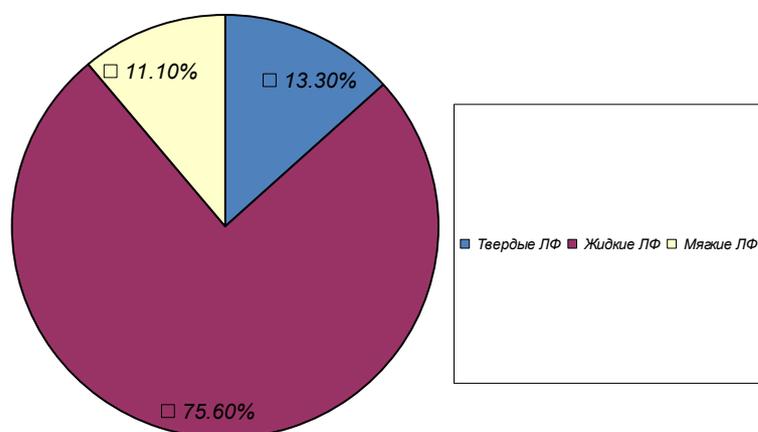


Рис.1. Распространенность различных глазных ЛФ

В настоящее время при лечении и профилактике заболеваний глаз используются следующие глазные лечебные формы промышленного производства: капли, мази, пленки.

1.3. Офтальмологические лекарственные формы, используемые для лечения заболеваний глаз.

Глазные капли – это растворы различных лекарственных веществ, которые предназначены для введения в глаза. Для производства глазных капель используют масляные и водные растворы различных действующих веществ. Любые капли являются стерильными, стабильными и химически изотоничными (не раздражающими слизистую оболочку глаза) растворами. В зависимости от активного (действующего) вещества глазные капли применяются для лечения различных заболеваний и устранения неприятных симптомов.

Глазные плёнки — лекарственная форма, представляющая собой стерильные полимерные пленки размером 9×4 мм, 5×0,35 мм, содержащие лекарственные вещества в определённых дозах, растворимые в слезной жидкости.

По сравнению с глазными каплями глазные плёнки имеют преимущества: позволяют более точно дозировать лекарственные средства и длительно поддерживать необходимую концентрацию препарата, сохранять стерильность и стабильность (в герметически закрытых флаконах глазные плёнки сохраняют стабильность до 1 года).

Глазные мази – это мягкая лекарственная форма, способная при нанесении на конъюнктиву глаза образовывать ровную сплошную пленку. На глазные мази распространяются общие требования, предъявляемые к мазям: равномерное распределение веществ в основе, индифферентность и устойчивость основы. Кроме того, к ним предъявляется ряд дополнительных

требований, учитывающих специфику органа, для лечения которого они предназначены.

Глазные мази применяются путем закладывания за веко. Состав мазей разнообразен - с сульфаниламидами, с ртути оксидом и др. Цель применения может быть различной (дезинфекция, обезболивание, расширение или сужение зрачка, понижение внутриглазного давления).

К глазным мазям, помимо общих требований: равномерность распределения лечебного вещества, индифферентность и стойкость основы, предъявляют ряд дополнительных требований, что объясняется способом их применения:

- мазевая основа не должна содержать каких-либо посторонних примесей, должна быть нейтральной, стерильной, равномерно распределяться по слизистой оболочке глаза;
- глазные мази необходимо готовить с жестким соблюдением условий асептики;
- лечебные вещества в глазных мазях должны находиться в максимально дисперсном состоянии во избежание повреждения слизистой оболочки.

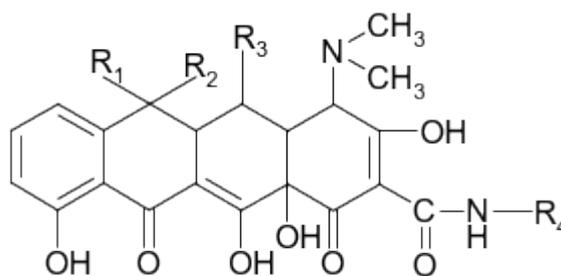
Упаковка: наиболее удобная - тубы с навинчивающейся крышкой. Тубы могут быть снабжены навинчивающимися наконечниками, позволяющими вводить мазь за веко.

1.4. Доксициклина гидрохлорид, свойства и анализ.

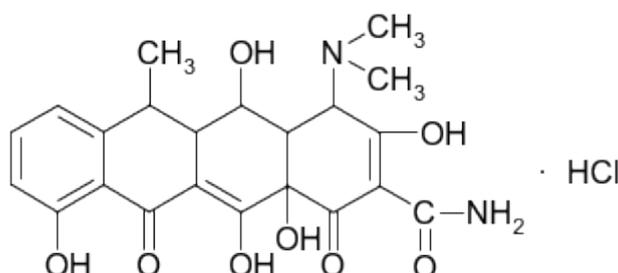
1.4.1. Структура и способы получения доксициклина гидрохлорида

Доксициклина гидрохлорид является производным 6-дезокситетрациклина, который получают из окситетрациклина, изменяя структуру молекулы в положении 6. Дезоксилирование приводит к образованию доксициклина (6-деокси-5-окситетрациклина) [20].

Общая формула полусинтетических тетрациклинов:



Химическая структура доксициклина гидрохлорида.



4-диметиламино-1,4,4а,5,5а,6а,11,12а-октагидро-3,5,10,12,12а пентаокси-6-диметил-1,11-диоксо-2-нафтаценкарбоксамида гидрохлорида гемиэтанолата гемидрат

Физические свойства. Представляет собой желтый кристаллический порошок со слабым запахом этилового спирта, легко, медленно растворим в воде (1:3), легко растворим в метаноле (1:4) и мало – в этаноле [8].

1.4.2. Методы идентификации доксициклина гидрохлорида.

Лекарственный препарат сравнительно легко поддается дегидратирующему воздействию с образованием окрашенных ангидропроизводных. Обладают амфотерными свойствами и поэтому вступают во взаимодействие с солями органических и неорганических кислот, образуя непрочные соли. Проявляют кислотные свойства за счет фенольных и енольных гидроксильных групп и дают соли с гидроксидами щелочных металлов. Образуют нерастворимые внутрикомплексные соединения (хелаты) с полизарядными катионами. Наличие хромофорных группировок в молекуле обуславливает светопоглощение тетрациклинов в УФ-области. Методом УФ – спектрофотометрии подлинность подтверждают по удельному показателю поглощения, который у доксициклина гидрохлорида устанавливают при длине волны 349 нм, растворитель - смесь 1М раствора соляной кислоты и метанола (1:99).

Подлинность доксициклина гидрохлорида устанавливают также по ИК – спектрам, сравнивая их со спектрами стандартных образцов.

В качестве реактива на доксициклина гидрохлорид используют соли меди (II), цинка, образующие окрашенные комплексы; разбавленную соляную кислоту, в присутствии которой растворы доксициклина гидрохлорида приобретают желтое окрашивание с зеленоватым оттенком. Доксициклина гидрохлорид дает цветную реакцию с хлоридом железа (III), при этом возникает темно – красно – коричневое окрашивание [9,10].

Под действием концентрированной серной кислоты, образуются ангидропроизводные окрашенные в желтый цвет.

Образование окрашенных продуктов обусловлено наличием фенольных гидроксиллов в молекуле.

Способность окисляться с образованием окрашенных продуктов позволяет использовать для их идентификации такие окислители, как хлорамин Б, селенистая кислота, нингидрин в различных растворителях.

Качественные реакции также можно использовать для определения подлинности. Доксициклина гидрохлорид дает положительную реакцию на хлориды. Известны также цветные реакции на доксициклина гидрохлорид с нитропруссидом натрия, п – диметиламинобензальдегидом, реактивом Несслера. Наличие в молекулах фенольных гидроксиллов обуславливает образование азокрасителей при взаимодействии с различными диазосоединениями, которые присоединяются в положении 9 [10].

Для качественного анализа доксициклина гидрохлорида используют также его способность образовывать в определенных условиях флуоресцирующие продукты.

Для установки подлинности и испытаний на чистоту доксициклина гидрохлорида применяют также метод тонкослойной хроматографии. В качестве системы растворителей используют следующую смесь: этилацетат-ацетон-вода очищенная в соотношении 29:19:1. [9,10]. Для испытаний на

наличие специфических примесей применяют метод ТСХ, аналогично испытаниям природных тетрациклинов [11].

1.4.3. Методы количественного определения доксициклина гидрохлорида.

Так как доксициклина гидрохлорид обладает свойствами слабого основания, то для его количественного определения используют метод неводного титрования 0,1 М раствором хлорной кислоты. Титрование проводят в смеси муравьиной, ледяной уксусной кислот и диоксана (5:10:10) в присутствии ацетата ртути (II).

Также для количественного определения доксициклина гидрохлорида используется спектрофотометрический метод анализа. Спектрофотометрия - метод, основанный на измерении избирательного поглощения молекулами и атомами вещества монохроматического излучения при строго определенной длине волны в видимой, ультрафиолетовой (УФ) и инфракрасной (ИК) областях спектра. Метод позволяет проводить анализ как окрашенных, так и бесцветных веществ. Наиболее простой и широко применяемый в фармации адсорбционный метод анализа является ультрафиолетовая спектрофотометрия. Его используют для испытания подлинности, и количественного определения доксициклина гидрохлорида. Оптическую плотность измеряют при длине волны 349 нм в максимуме светопоглощения.

Биологическую активность доксициклина гидрохлорида, как и других тетрациклиновых антибиотиков, определяют способом диффузии в агар с тест-микробом (ГФ XI, вып.2,с.210). Один микрограмм химически чистого фармакопейного препарата соответствует специфической

активности, равной одной единице действия. Следовательно, 1,0 г препарата соответствует 1 000 000 ЕД.

1.4.4. Фармакологические свойства доксициклина гидрохлорида.

Хранение. Доксициклина гидрохлорид хранят по списку Б в сухом месте в плотно закупоренной таре, в защищенном от света месте, при комнатной температуре.

Применение. Препарат характеризуется широким спектром антимикробного действия. Показан при обострении хронического бронхита, инфекциях органов малого таза, при инфекциях, вызванных хламидиями, микоплазмами, риккетсиями, при угревой сыпи, гонорее, сифилисе, уретрите, проктите, чуме, холере, для профилактики тропической малярии, а также при тяжелых формах гнойно-септических заболеваний [14, 37].

Формы выпуска. Капсулы по 0,05, 0,1 и 0,2 г; таблетки по 0,1 и 0,2 г; лиофилизированный порошок для инъекционных растворов в ампулах по 0,1 и 0,2 г; 2% раствор для инъекций во флаконах по 5 мл.

1.5. Выводы по главе

1. Изучена литература по существующим глазным лекарственным формам и установлено, что оптимальными лекарственными формами могут быть: капли, мази, гели, пленки, которые используются при различных заболеваниях глаз.

2. Изучены данные литературы по способам получения и фармацевтическому анализу доксицилина гидрохлорида, его фармакологическому действию, способам применения, формам выпуска.

Часть II. Экспериментальная часть

Глава 2. Разработка состава и технологии глазной мази и геля с доксициклина гидрохлоридом.

2.1. Выбор состава геля и мази.

Мы остановили свой выбор на лечебной мази и геле, в состав которого входит доксициклина гидрохлорид (обладает антибактериальным действием)

BENECEEL представляет собой серии метилцеллюлозы и метилгидроксипропилцеллюлозы, прошедших очистку. Функциональные свойства включают водоудерживающее, загущающее, пленкообразующее, связывающее, эмульгирующее, суспензионное и стабилизирующее действия. Полимеры растворимы в холодной воде и некоторых смешанных растворителях, но нерастворимы в горячей воде из-за терможелирования.

Карбопол - это производное акриловой кислоты. Хорошо набухает в воде и образует стабильные гели, обладает микробиологической устойчивостью.

КМС AQUALON- это анионный, водорастворимый полимер, полученный путем реакции целлюлозы с монохлоруксусным натрием. КМЦ является обычным загустителем, связующим веществом, стабилизатором, суспендирующим веществом и модификатором реологии. Продукты AQUALON® КМЦ обычно используются в США и Европе соответственно. Виды продукта AQUALON КМЦ, обозначенные как Р и РН, соответствуют требованиям статьи на лекарственное средство Фармакопеи США/ Государственный фармакологический справочник.

NATROSOL Гидроксиэтилцеллюлоза(ГЭЦ) это неионный водорастворимый эфир целлюлозы, образованный вследствие взаимодействия целлюлозы с этилен оксидом. Данный продукт используется пленкообразователь, загуститель, стабилизатор и суспендирующее вещество для местного применения, где требуется использование неионных материалов. Продукт NATROSOL легко диспергируется в холодной и горячей воде для придания растворам разной вязкости и необходимых свойств; данный продукт не растворяется в органических растворителях. Фармацевтические сорта продукта NATROSOL ГЭЦ соответствуют требованиям статьи на лекарственное средство Государственного фармакологического справочника, Фармакопеи Европы.

В качестве основы глазной мази используют смесь, состоящую из 10 частей ланолина и 90 частей вазелина (сорт для глазных мазей). Его подготовка заключается в том, что обычный вазелин растворяют в эмалированном реакторе и добавляют туда 1 - 2% активированного угля. После дальнейшего нагрева до 150 °С в течение 1 - 2 часов смесь фильтруют.

Состав и соотношение по массе компонентов подбирали на основе рецептуры глазных мазей, используемых при лечении .

Приготовление гелей осуществляли с учётом физико-химических свойств доксициклина.

Были приготовлены гели 4 составов:

I состав:	Доксициклина гидрохлорид 0,2
	NATROSOL ГЭЦ 20,0

Приготовление геля: В стакан помещали отвешенное количество ГЭЦ, заливали теплой водой 50-60°C до однородности и оставляли на 10 – 15 минут, пока не загустеет. 2,0 г доксициклина гидрохлорида растирали в ступке. Вводили в полученный гель ГЭЦ постепенно доксициклина гидрохлорид. Гель упаковывали в баночку с плотно закрывающейся крышечкой.

II состав: Доксициклина гидрохлорид	2,0
Карбопол	20,0

Приготовление геля: Отвешивали карбопол, заливали холодной водой на час, после чего добавили несколько капель 0,1 М раствора гидроксида натрия. 2,0 г доксициклина гидрохлорида тщательно растирали в ступке. Все тщательно перемешивали. Гель упаковывали в баночку с плотно закрывающейся крышечкой.

III состав: Доксициклина гидрохлорид	2,0
Воды очищенной	1ml
AQUALON КМЦ	19,0

Приготовление геля: Отвешивали 19 г AQUALON КМЦ заливали холодной водой до набухания в течении часа. Доксициклина гидрохлорид

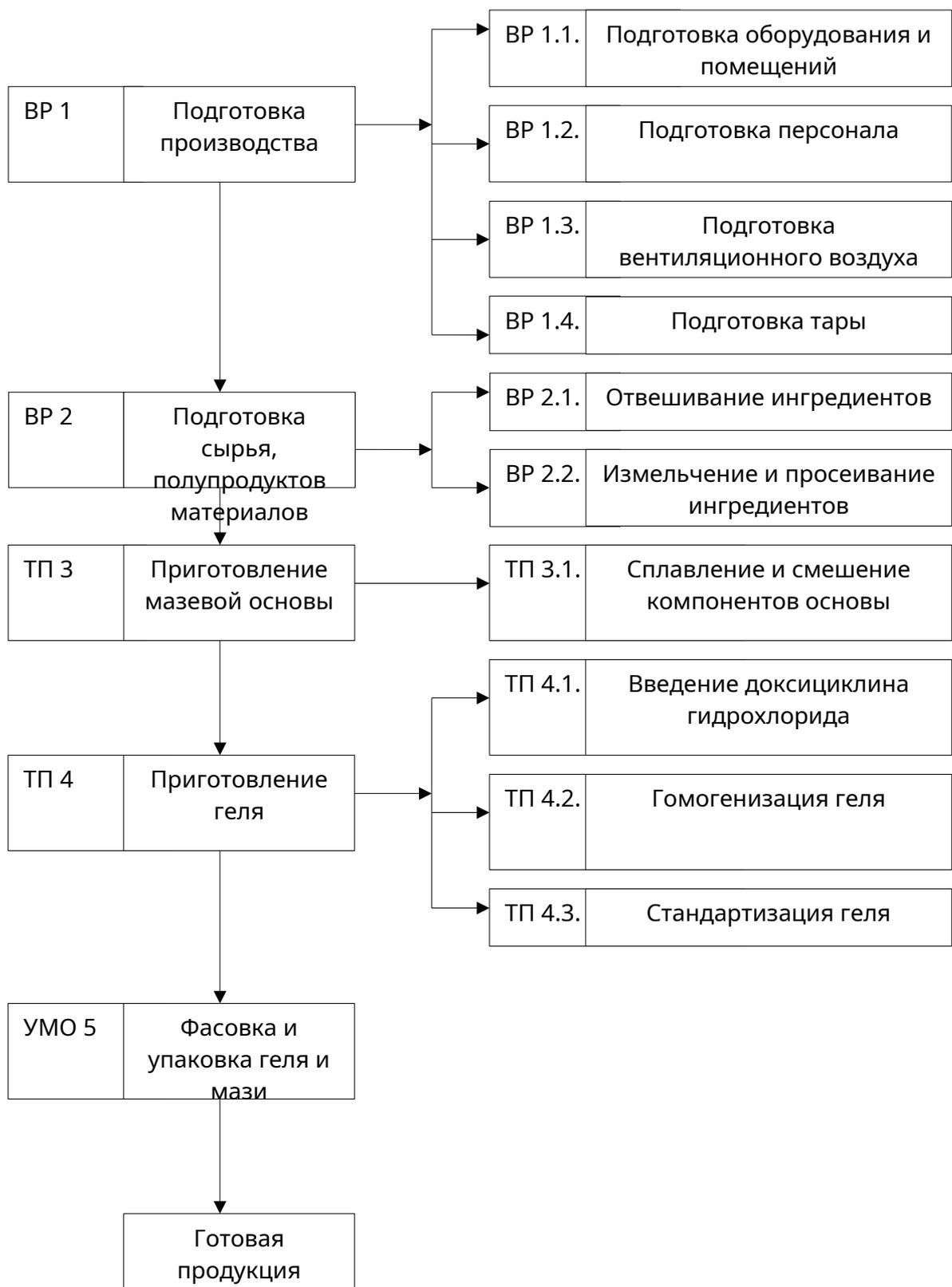
растворили в 1мл воды, после чего постепенно вводили его в основу. Гель упаковывали в баночку с плотно закрывающейся крышечкой.

IV состав: Доксициклина гидрохлорид	2,0
BENECEEL	20,0

Приготовление геля: отвешивали 20,0 г BENECEEL , заливали холодной водой до набухания в течение часа. Доксициклина гидрохлорид растирали в ступке, затем смешивали с основой. Гель упаковывали в баночку с плотно закрывающейся крышечкой.

Изготовленные образцы гелей и мазь хранились в течение 3 месяцев. Визуальный контроль позволил установить, что образец геля под номером 2 подвергся микробной контаминации. Остальные три образца не изменили своих свойств. В исследованиях изучения кинетики высвобождения образец № 2 не использовался.

2.4. Технологическая схема получения глазного геля и мази с доксициклина гидрохлоридом



Описание технологического процесса

ВР 1. Подготовка производства

ВР 1.1. Подготовка оборудования и помещений

ВР 1.2. Подготовка персонала

ВР 1.3. Подготовка вентиляционного воздуха

ВР 1.4. Подготовка тары

ВР 2. Подготовка сырья, полупродуктов

ВР 2.1. Отвешивание ингредиентов

ВР 2.2. Измельчение и просеивание ингредиентов

ТП 3. Приготовление мазовой основы

Обычный вазелин растворяют в эмалированном реакторе и добавляют туда 1 - 2% активированного угля. После дальнейшего нагрева до 150 °С в течение 1 - 2 часов смесь фильтруют

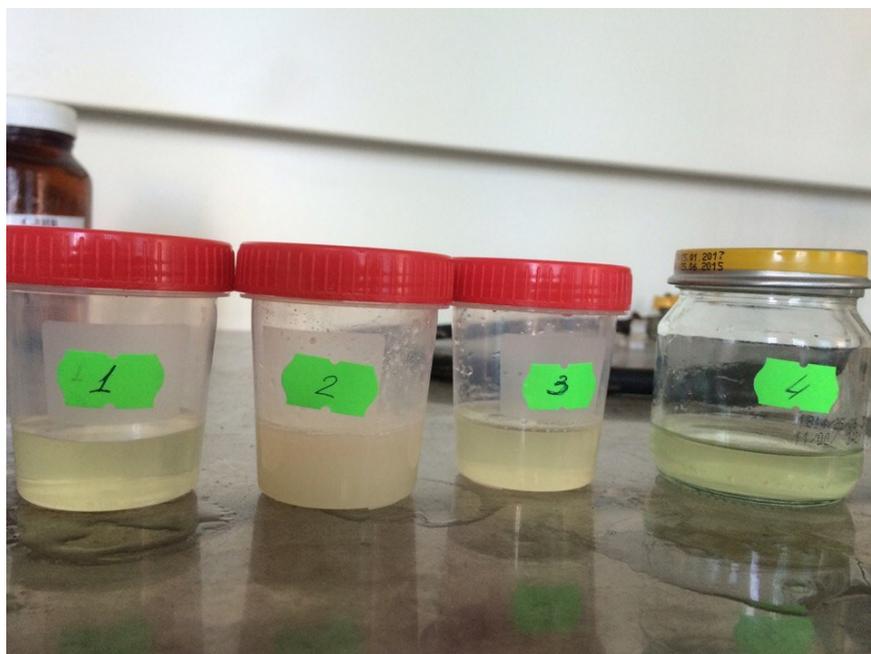
ТП 4. Приготовление геля

Предварительно просеянные через сито и приготовленные субстанции основ растирают с доксицилина гидрохлоридом и подают в реактор для смешивания с мазовой основой. В качестве основных видов оборудования для смешения лекарственных веществ используют реакторы, корпус которых снабжен паровой рубашкой или съемными переносными мешалками. Готовый гель гомогенизируют в гомогенизаторе до полного охлаждения и передают на фасовку и упаковку.

УМО 5. Фасовка и упаковка

Упаковку производят в емкости из материалов, не допускающих адсорбцию, диффузию содержимого, обеспечивающих удобство

применения. Используют тубы из металла и полимерных материалов вместимостью 10г .



2.2. Изучение кинетики высвобождения доксицилина гидрохлорида из геля и мази.

Одним из фармацевтических факторов, влияющих на скорость и степень высвобождения действующих веществ из гелей, является вид используемой основы.

Исследования по выбору оптимальной основы осуществляли по степени высвобождения доксициклина гидрохлорида методом равновесного диализа через полупроницаемую мембрану. Для этого образцы геля помещали в специальное устройство для диализа, имитирующее проникновение лекарственного вещества в слизистые оболочки тканевого субстрата. Критерием оценки степени и скорости высвобождения служила кинетика высвобождения изучаемого препарата в зависимости от вида основы и времени диализа.

Методика проведения эксперимента

Навески массой 2,0 г наносили на целлофановую мембрану диализной трубки. Диализную трубку опускали в среду для диализа объемом 25 мл так, чтобы трубка была погружена на 3 – 4 мм. Диализная установка в ходе эксперимента термостатировалась при температуре $37^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$. Пробы отбирали в количестве 5 мл через 30, 60, 90, 120 и 180 мин от начала эксперимента, восполняя объём соответствующей средой. В отобранной пробе определяли содержание доксициклина гидрохлорида методом спектрофотометрии при длинах волн – 277 нм. Были изучены 2 образца геля и мазь.



Таблица № 1 - Степень высвобождения доксициклина гидрохлорида из гелей и мази, приготовленных на различных основах

№	Основа	Наименование	Экспозиция, мин				
			Степень высвобождения, %				
			30	60	90	120	180
1	КМС аквилон	Доксициклина гидрохлорид	22,41	49,16	71,3	88,86	89,0
2	ГЭЦ		18,3	40,4	67,9	72,8	73,2
3	Ланолин и вазелин		24,05	44,94	68,3	70,6	71,2

Рисунок 1 - Кинетика высвобождения доксициклина гидрохлорида из I основы

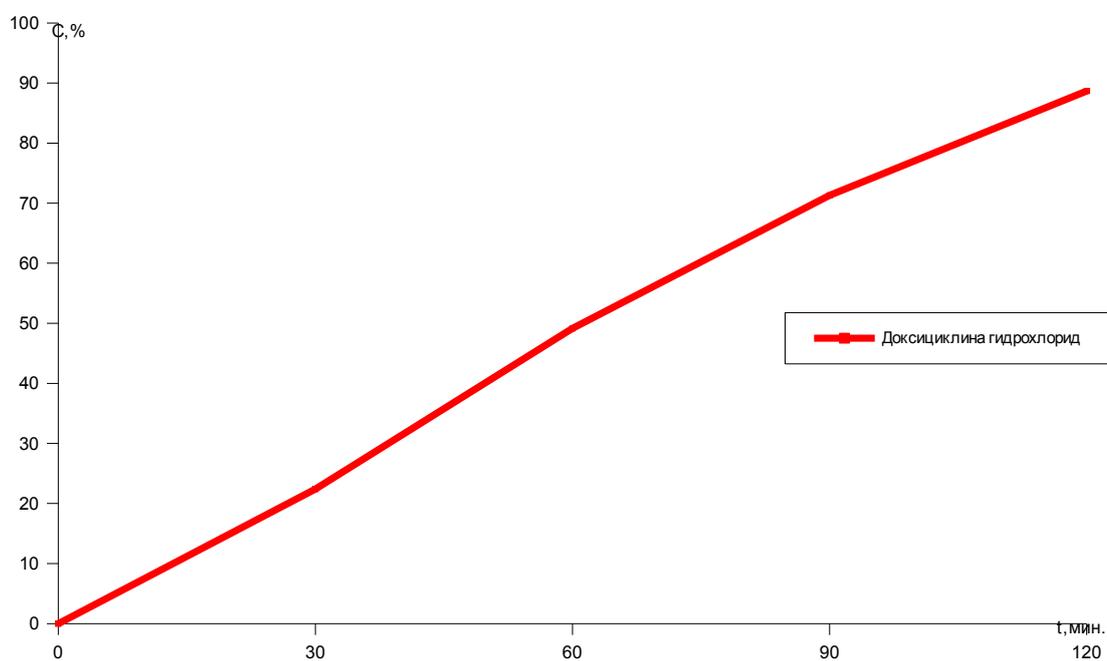


Рисунок 2 - Кинетика высвобождения доксицилина гидрохлорида из II основы

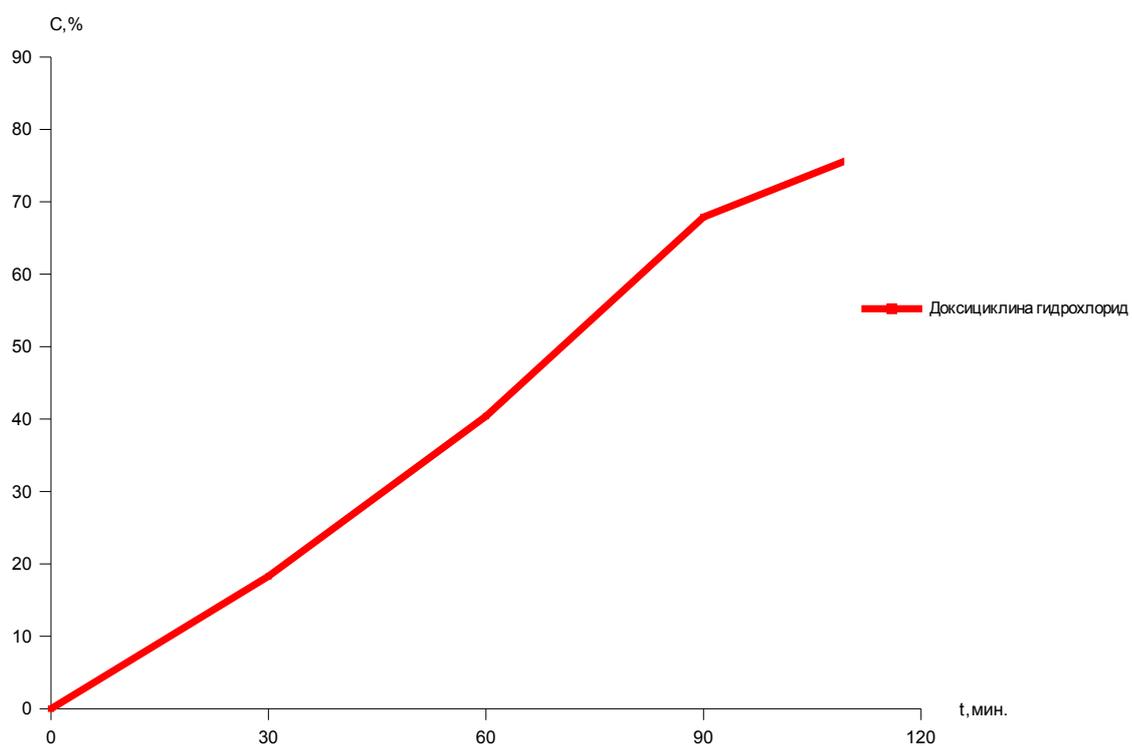
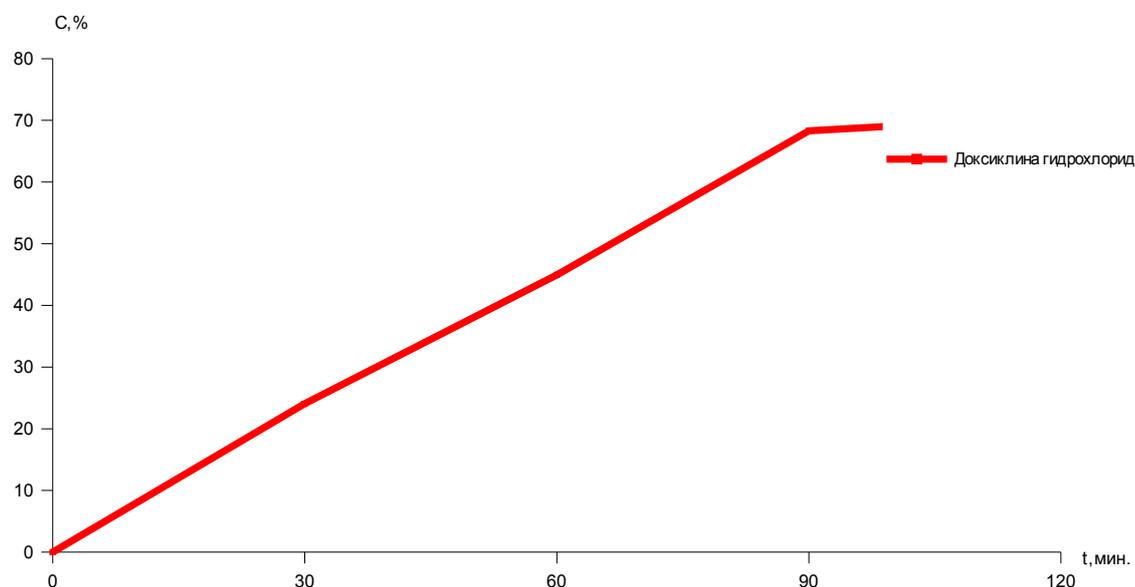


Рисунок 3 - Кинетика высвобождения доксициклина гидрохлорида из III основы



Как следует из таблицы 1 и рисунков (1,2,3), концентрация доксициклина гидрохлорида в диализатах увеличивается с увеличением времени диализа. Оценку результатов эксперимента проводили с помощью коэффициентов диффузии (K_d) и расчёта скорости высвобождения (таблица №1) для испытуемых нами гелей за 15, 30, 45 и 60 минут рассчитанных по формуле:

$$D = \left(\frac{C_e}{2 \cdot C_0 \cdot S} \right)^2 \cdot \frac{\pi}{t}, \text{ где}$$

C_t – концентрация метилурацила или доксициклина гидрохлорида в диализате за время t , мг/мл;

C_0 – максимально возможная концентрация метилурацила или доксициклина гидрохлорида в диализате, мг/мл;

S – площадь диффузии, см²;

t – время диализа, мин.

Результаты представлены в таблицах 2-4.

Таблица 2 - Значения коэффициентов диффузии для 1 геля

Время	C , мг/мл	Коэффициент диффузии доксициклина гидрохлорида
30	22,41	$2,34 \cdot 10^{-3}$
60	49,16	$2,55 \cdot 10^{-3}$
90	71,3	$2,48 \cdot 10^{-3}$
120	88,86	$2,33 \cdot 10^{-3}$
180	89,0	$1,55 \cdot 10^{-3}$

Таблица 3 - Значения коэффициентов диффузии для 2 геля

Время	C , мг/мл	Коэффициент диффузии доксициклина гидрохлорида
30	18,3	$1,91 \cdot 10^{-3}$
60	40,4	$2,11 \cdot 10^{-3}$
90	67,9	$2,37 \cdot 10^{-3}$
120	72,8	$1,90 \cdot 10^{-3}$
180	73,2	$1,28 \cdot 10^{-3}$

Таблица 4 - Значения коэффициентов диффузии для 3 геля

Время	C, мг/мл	Коэффициент диффузии доксциклина гидрохлорида
30	24,05	$2,51 \cdot 10^{-3}$
60	44,94	$2,35 \cdot 10^{-3}$
90	68,3	$2,38 \cdot 10^{-3}$
120	70,6	$1,85 \cdot 10^{-3}$
180	71,2	$1,24 \cdot 10^{-3}$

Как видно из данных таблиц 2-4 значения коэффициентов диффузии для трех гелей плавно повышались в течение всего времени высвобождения – 90 минут, затем уменьшается.

2.3. Изучение антимикробного действия гелей и мази .

Антимикробную активность определяли методом диффузии в агар (способ «колодцев»). Данный метод основан на оценке угнетения роста тест-штаммов микроорганизмов под воздействием исследуемых веществ.

В качестве тест-культур были выбраны следующие виды бактерий: *Staphylococcus aureus* (Type), *Escherichia coli* 055, *Escherichia coli* M17, *Bacillus cereus* – 96, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*.

Антимикробную активность доксициклиновых мазей на различных основах сравнивали с действием 1% раствора доксициклина, приготовленного на 0,9% хлориде натрия.

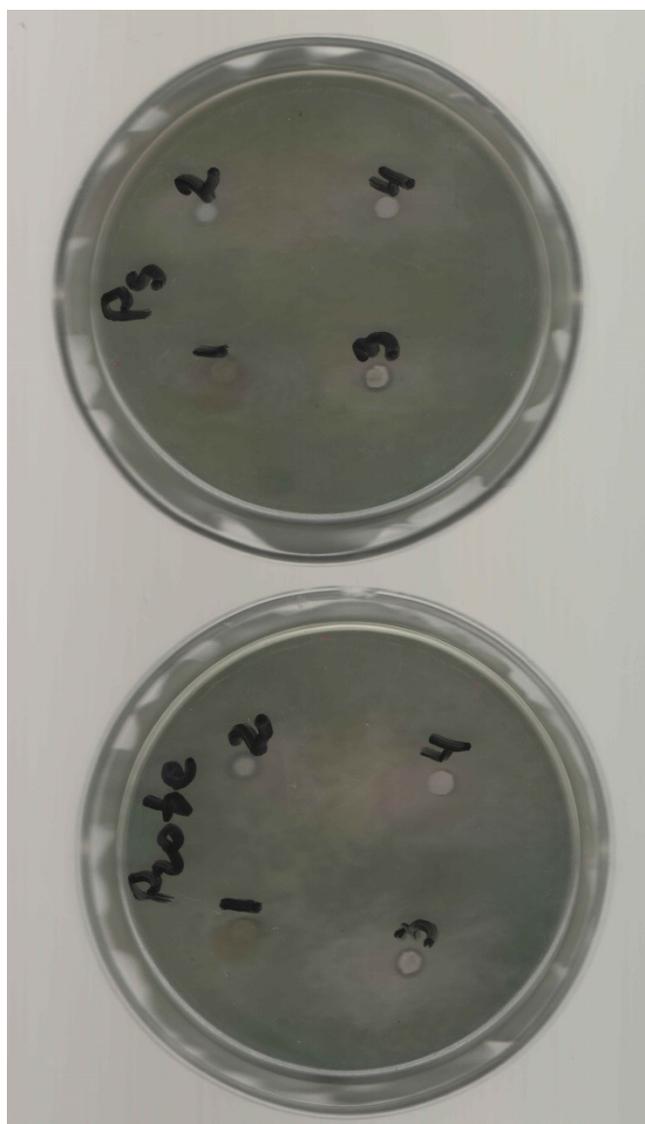
Оценку результатов определения антимикробной активности проводили путём измерения диаметра зоны задержки роста тест-культур микроорганизмов вокруг «колодца», включая диаметр самого «колодца» [1].

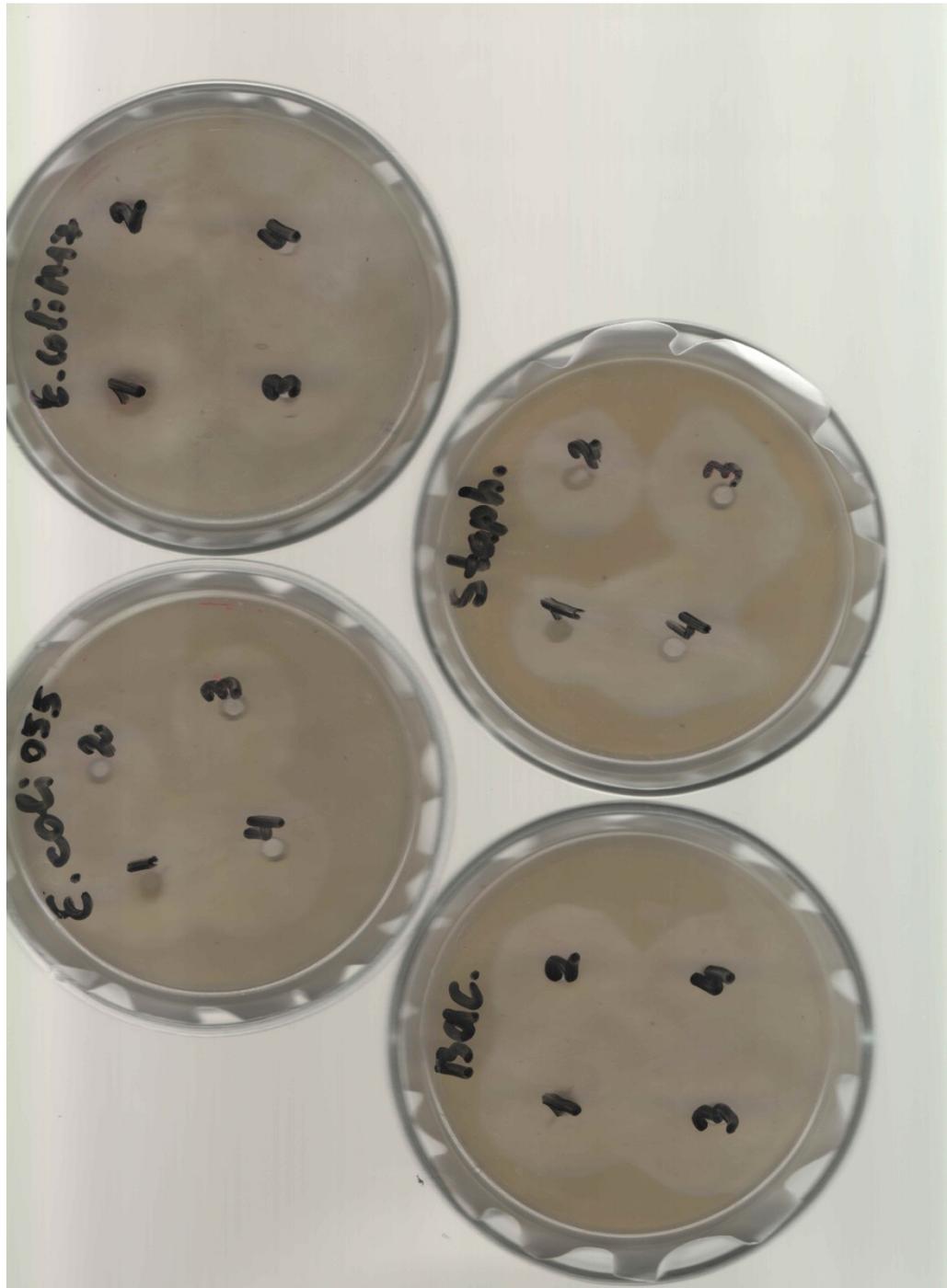
Критерии оценки:

1) отсутствие зоны задержки роста – испытуемая культура не чувствительна к данной концентрации препарата;

2) диаметр зоны задержки роста 10 мм – умеренная чувствительность культуры к данной концентрации препарата;

3) диаметр зоны задержки роста более 10 мм – высокая чувствительность испытуемой культуры к данной концентрации препарата.





Результаты и обсуждение.

Результаты определения антимикробной активности исследуемых веществ представлены в таблице 1.

Таблица 1 Оценка диаметров зон подавления роста тест-культур микроорганизмов.

Исследуемые образцы	Диаметр зоны задержки роста тест-культур микроорганизмов, мм					
	1	2	3	4	5	6
1. Основа ланолин-вазелин	24	30	30	37	12	6
2. Основа Veneseel TYPE: К4М-РН-CR 1%	28	26	28	36	10	8
3. Основа КМС анвилон	31	30	26	34	11	15
4. Раствор доксициклина 1%	35	28	44	30	14	15

1-Staphylococcus aureus (Type),

2- Escherichia coli 055,

3- Escherichia coli M17,

4- Bacillus cereus – 96,

5- Pseudomonas aeruginosa,

6- Proteus vulgaris,

Результаты и обсуждение.

Из данных, приведённых в таблице 1, видно, что препарат сравнения - 1% раствор доксициклина, обладает выраженной антимикробной активностью, поскольку во всех тест-культурах диаметр зон подавления роста оказался больше 10 мм.

При этом действие препарата на основе КМС анвилон было выражено в равной степени и сравнимо с таковым для 1% раствора доксициклина в отношении Proteus vulgaris, но превышало действие

препарата сравнения в отношении *Escherichia coli* 055 и *Bacillus cereus* – 96. Действие препарата на основе КМС анвилон на *Staphylococcus aureus* (Type) и *Pseudomonas aeruginosa* оказалось несколько ниже в сравнении с 1% раствором доксициклина. Антимикробный эффект в тест-культуре *Escherichia coli* M17 значительно уступал препарату сравнения.

Антимикробное действие препарата на основе ланолин-вазелин несколько превышало антибактериальный эффект 1% раствора доксициклина на *Escherichia coli* 055 и существенно превышало его в отношении *Bacillus cereus* – 96. Действие на *Staphylococcus aureus* (Type) и *Escherichia coli* M17 было наименее выраженным. Подавление роста *Pseudomonas aeruginosa* было незначительно снижено в сравнении с 1% раствором доксициклина. Антимикробный эффект отсутствовал на тест-культуру *Proteus vulgaris*, так как зона подавления роста составила меньше 10 мм.

Антимикробное действие препарата на основе Veneseel TYPE: K4M-PH-CR 1% оказалось максимальным и превысило эффект 1% раствора доксициклина в отношении *Bacillus cereus* – 96. Зоны подавления роста тест-культур *Staphylococcus aureus* (Type), *Escherichia coli* M17 и *Pseudomonas aeruginosa* оказались значительно меньше в сравнении с 1% раствором доксициклина и сопоставимы с таковым в отношении *Escherichia coli* 055. Антимикробное действие на *Proteus vulgaris* отсутствовало.

Таким образом, можно сделать вывод, что наибольшим антимикробным действием из исследуемых лекарственных средств обладает препарат на основе КМС анвилон.

2.5. Выводы по главе

1. Изучены 4 состава геля и 1 мази.
2. Определение скорости и степени высвобождения доксициклина гидрохлорида методом диализа через полунепроницаемую мембрану показало, что наибольший процент высвобождения доксициклина гидрохлорида обеспечивают композиция КМС аквилон и ланолин с вазелином.
3. Установлено, что все изученные составы гелей и мази обладают широким спектром антибактериального действия. Выраженность антимикробного действия у гелей и мази аналогично контролю, если судить о размерах зон задержки роста микроорганизмов.
4. Хранение гелей в различных условиях позволило избрать в качестве оптимального носителя доксициклина гидрохлорида композицию ГЭЦ, КМЦ аквилон и ланолин с вазелином, что подтверждено методом диализа через полупроницаемую мембрану.
5. Разработана технологическая схема получения глазного геля и мази.

Глава 3. Разработка методик анализа глазной мази с доксициклина гидрохлоридом

3.1. Определение подлинности доксициклина гидрохлорида в мази

3.1.1. Цветные качественные реакции.

Для подтверждения подлинности доксициклина гидрохлорида, с учетом особенностей их химического строения, использовали качественные реакции, рекомендованные НД.

При разработке методик качественного анализа глазной мази, руководствовались тем, что доксициклина гидрохлорид способен образовывать цветные качественные реакции. Известно, что для идентификации доксициклина гидрохлорида используют качественные реакции с хлоридом железа (III) и нипропруссидом натрия. Кроме того, это лекарственное вещество содержит ион хлора, который можно определить реактивом – раствором нитрата серебра.

Для испытания на подлинность готовили модельную смесь мази. 5 г геля растворяли в 20 мл воды (раствор А). При анализе мази на липофильной основе 5 г мази растворяли в 20 мл воды при нагревании на водяной бане, охлаждали и фильтровали.

Для определения подлинности доксициклина гидрохлорида в мази поступали согласно следующим методикам:

Реакция с хлоридом железа (III)

К 1 мл раствора А добавляли 0,5 мл 0,1 М гидроксида натрия и 0,2 мл раствора хлорида железа (III). Наблюдали образование темно-красно-коричневого окрашивания.

Реакция на хлориды

К 1 мл раствора А добавляли 0,5 мл разведенной азотной кислоты, и после растворения веществ прибавляли 0,5 мл раствора нитрата серебра, наблюдали образование белого творожистого осадка.

Реакция с нитропруссидом натрия

К 1 мл раствора А прибавляли 0,5 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия и 0,5 мл нитропруссида натрия. Наблюдалось образование фиолетового окрашивания.

Установлена специфичность для качественных реакций. Качественные реакции были проведены на сопутствующие вещества и сделан вывод об отсутствии положительного эффекта.

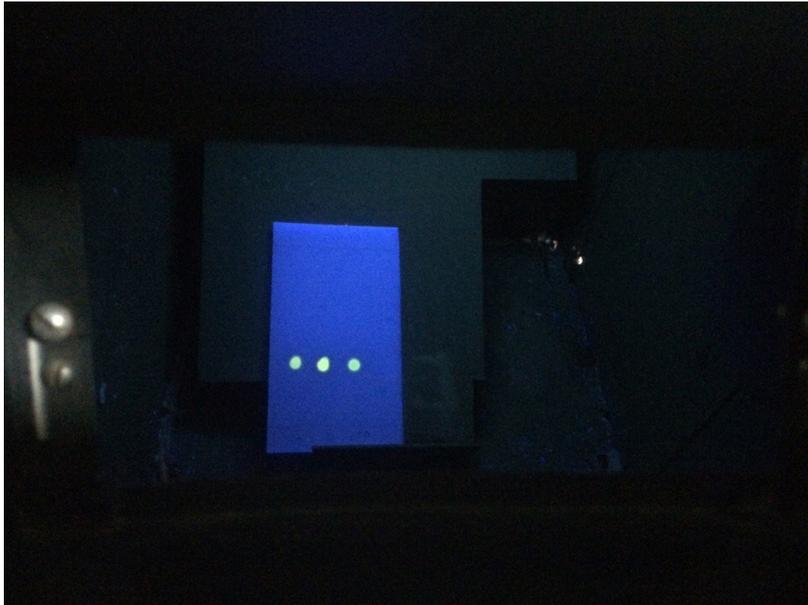
Таким образом, с помощью цветных качественных реакций можно подтвердить подлинность доксициклина гидрохлорида в глазной мази.

3.1.2. Метод тонкослойной хроматографии

Подлинность доксициклина гидрохлорида определяли с помощью ТСХ.

1,0 г модельной смеси мази растворяли в 10 мл этанола. 4 мкл раствора наносили на хроматографическую пластинку и растворы стандартного образца (СО) доксициклина гидрохлорида. В качестве подвижной фазы использовали хлороформ – спирт этиловый – кислоту уксусную ледяную (5:1:4).

Хроматографирование осуществляли восходящим методом, проявляли в йодной камере. На хроматограмме (рисунок 5) наблюдались 2 пятна испытуемого раствора, соответствующих по величине R_f и интенсивности окрашивания пятнам стандартного образца доксициклина гидрохлорида.



Для обнаружения пятен вычисляли величину R_f по уравнению:

$$R_f = \frac{a}{b},$$

где a – расстояние от линии старта до центра пятна; b – расстояние от линии старта до фронта подвижной фазы.

Значения R_f , вычисленные по результатам трех определений составили: для доксицилина гидрохлорида $0,29 \pm 0,03$.

Известно, что методику считают специфичной, если при хроматографировании анализируемого образца и свидетеля наблюдается совпадение зон адсорбции по значениям R_f .

При выполнении анализа наблюдали совпадения по значениям R_f зон адсорбции стандартных образцов с пятнами лекарственных препаратов.

Таким образом, метод тонкослойной хроматографии можно использовать для подтверждения подлинности доксицилина гидрохлорида в мази.

3.2. Количественное определение доксициклина гидрохлорида в глазных мазях

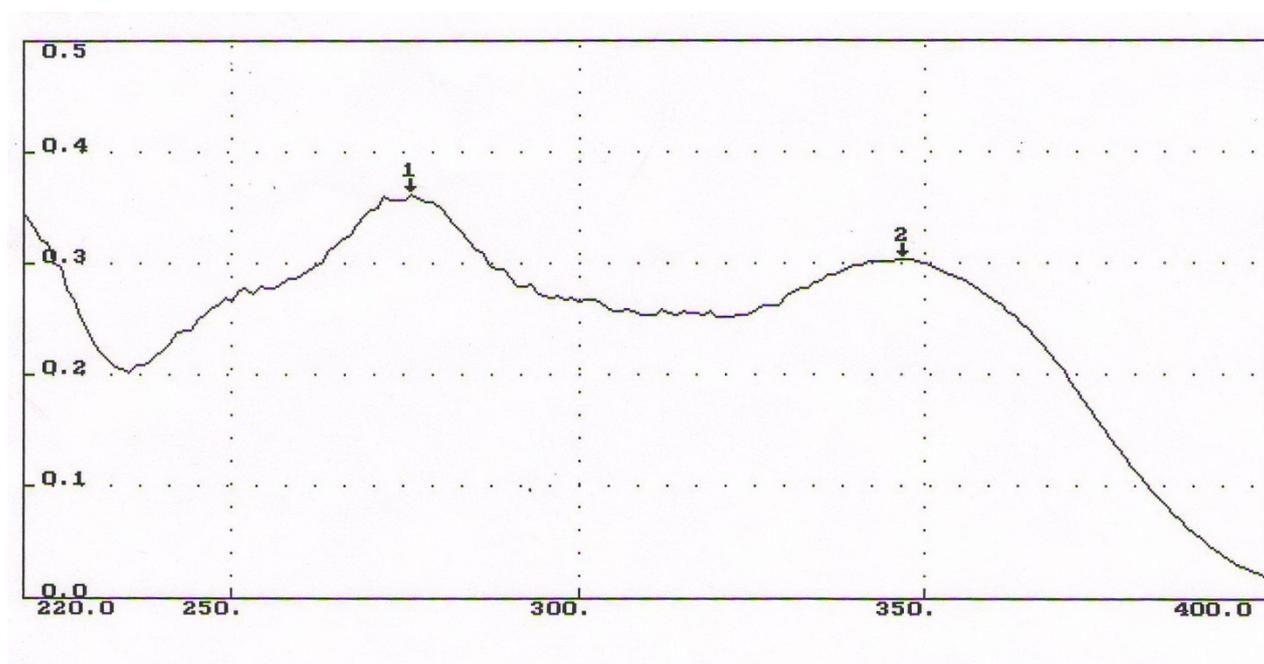
Так как основное лекарственное вещество, входящее в состав глазной мази: доксициклина гидрохлорид имеет в своей структуре хромофорные группировки, то для его анализа может быть использован спектрофотометрический метод анализа.

Были снят спектр поглощения 0,001% раствора доксициклина гидрохлорида в воде (рис 1) и установлено, что имеются две области интенсивного максимума при длинах волн $\lambda^1=277$ нм и $\lambda^2= 348$ нм.Это согласуется с данными литературы, а значит данный образец субстанции может быть использован в качестве СО при определении доксициклина гидрохлорида.в мазях спектрофотометрическим методом.

МЕТОДИКА

Для приготовления раствора навеску 0,001 доксициклина гидрохлорида помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл., растворяли в воде и доводили до метки тем же растворителем. 1мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили водой до метки и перемешивали.

Рисунок 1 - Спектр поглощения 0,001% раствора доксициклина гидрохлорида в воде



Следующим этапом исследования явилось изучение спектров поглощения доксициклина гидрохлорида в изучаемых образцах мазей.

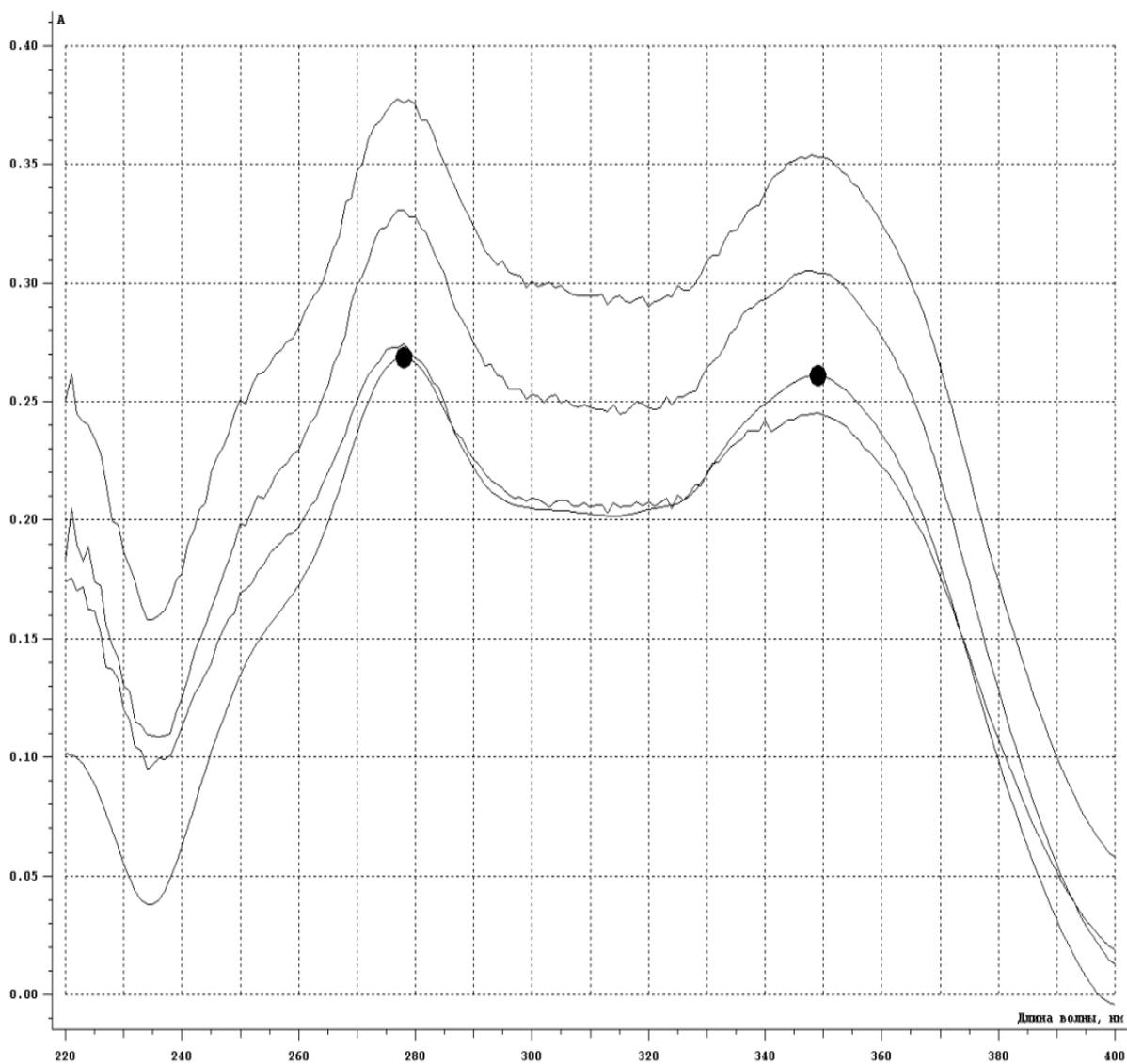
МЕТОДИКА:

Точную навеску – 1 г модельной смеси мази помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл воды, перемешивали, доводили тем же растворителем до метки. 10 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки, перемешивали. Снимали спектры поглощения водных растворов образцов гелей на спектрофотометре СФ-56 (рис 2) . В качестве раствора сравнения использовали воду.

Для приготовления раствора доксициклина гидрохлорида в мази на липофильной основе точную навеску – 1 г модельной смеси мази помещали

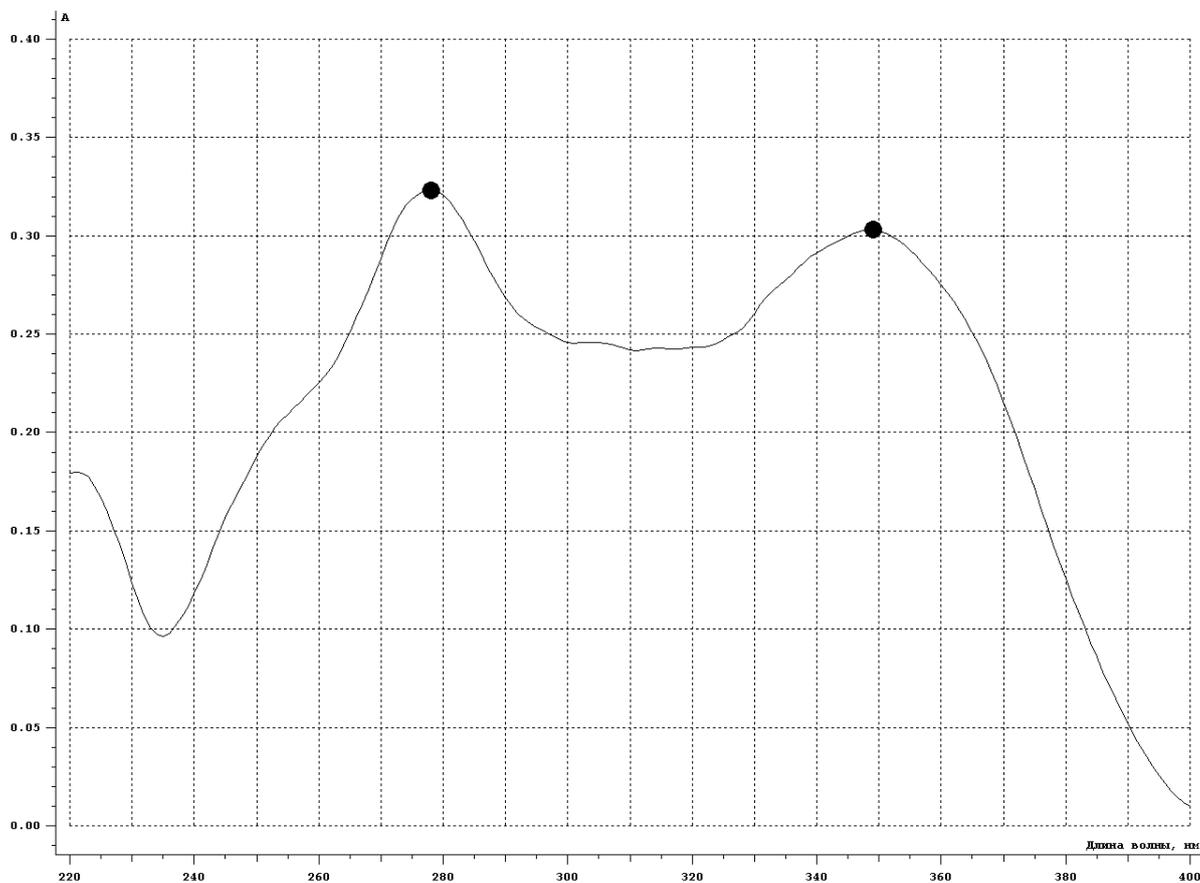
в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл воды, ставили на кипящую водяную баню и нагревали до расплавления основы. Охлаждали до застывания основы. Жидкость сливали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяли еще 2 раза по 20 мл. Все извлечения объединяли в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводили водой до метки, перемешивали. Содержимое колбы фильтровали, отбрасывали первые 15 мл фильтрата . 10 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки, перемешивали. Снимали спектры поглощения водных растворов образцов гелей на спектрофотометре СФ-56 (рис 3) . В качестве раствора сравнения использовали воду.

Рисунок 2 - Спектры поглощения 0,001% раствора доксициклина гидрохлорида в мазях на гидрофильных основах



1.ГЭЦ 2.Карбопол 3.Венесеел TYPE: K4M-PH-CR 4.КМС аквилон

Рисунок 3 - Спектры поглощения 0,001% раствора доксициклина гидрохлорида в мазе на липофильной основе



Вывод: Как видно из рисунков спектры поглощения доксициклина гидрохлорида в мазях имеют те же значения максимума светопоглощения что ,что и СО доксициклина гидрохлорида . Поэтому их можно использовать для подтверждения подлинности доксициклина гидрохлорида в мазях.

Однако как видно из рисунка 2 интенсивность поглощения различаются у мазей значительно, в зависимости от используемой основы. Так наибольшее светопоглощение наблюдали у доксициклина гидрохлорида в мази, приготовленной на КМС аквилон, а наименьшее на ГЭЦ. Что связано с различной степенью высвобождения действующего вещества из основы.

Поэтому дальнейшее исследование проводили на образцы геля доксицилина гидрохлорида приготовленные на основе КМС аквилон, Veneseel TYPE: K4M-PH-CR и мази на липофильной основе.

Методика количественного определения доксицилина гидрохлорида и геле

Точную навеску – 1 г геля помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл воды, перемешивали, доводили тем же растворителем до метки. 10 мл помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки, перемешивали. Измеряли оптическую плотность раствора A при длине волны 348 нм.

Количественное содержание доксицилина гидрохлорида рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot a_{cm} \cdot 10}{A_{cm} \cdot a_x}$$

A_x - оптическая плотность анализируемого раствора

a_x - навеска геля (г)

a_x - навеска СО доксицилина гидрохлорида (г)

$A_{ст}$ - оптическая плотность стандартного раствора

Результаты количественного определения доксицилина гидрохлорида в геле приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты количественного определения доксициклина гидрохлорида в геле спектрофотометрическим методом

$$A_{ct}=0,370$$

Навеска геля, г.	A_{348}	Найдено доксициклина гидрохлорида, г/100 г геля	Метрологические характеристики
1,0027	0,361	0,973	$\bar{X} = 1,005$ $S^2=5,53 \cdot 10^{-4}$ $S=0,024$ $S_x = 0,0096$ $\varepsilon = \pm 2,46 \%$
1,0056	0,368	0,989	
0,9183	0,352	1,036	
0,9449	0,358	1,024	
1,024	0,377	0,995	
1,0325	0,387	1,013	

Как видно из данных таблицы относительная погрешность количественного определения доксициклина гидрохлорида методом непосредственной спектрофотометрии не превышает $\pm 2,46 \%$.

Методика количественного определения доксициклина гидрохлорида в мази на липофильной основе

Для приготовления раствора доксициклина гидрохлорида в мази на липофильной основе точную навеску – 1 г модельной смеси мази помещали в колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 20 мл воды, ставили на кипящую водяную баню и нагревали до расплавления основы. Охлаждали до застывания основы. Жидкость сливали в мерную колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяли еще 2 раза по 20 мл. Все извлечения объединяли в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводили водой до метки, перемешивали. Содержимое колбы фильтровали, отбрасывали первые 15 мл

фильтрата . 10 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили до метки, перемешивали. Измеряли оптическую плотность раствора А при длине волны 348 нм.

Количественное содержание доксициклина гидрохлорида рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot a_{cm} \cdot 10}{A_{ct} \cdot a_x}$$

A_x - оптическая плотность анализируемого раствора

a_x - навеска геля (г)

a_{ct} - навеска СО доксициклина гидрохлорида (г)

A_{ct} - оптическая плотность стандартного раствора

Результаты количественного определения доксициклина гидрохлорида в мази приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты количественного определения доксициклина гидрохлорида в мази спектрофотометрическим методом

$$A_{ct}=0,370$$

Навеска геля, г.	A_{348}	Найдено доксициклина гидрохлорида, г/100 г геля	Метрологические характеристики
0,9246	0,351	0,961	$\bar{X} = 0,9955$ $S^2=6,02 \cdot 10^{-4}$ $S=0,025$ $S_x =0,01$ $\varepsilon = \pm 2,59 \%$
1,0197	0,369	0,978	
1,018	0,362	1,026	
1,027	0,386	1,016	
0,9545	0,375	0,987	
1,038	0,359	1,005	

Как видно из данных таблицы относительная погрешность количественного определения доксицилина гидрохлорида методом непосредственной спектрофотометрии не превышает $\pm 2,59\%$.

Общие выводы

1. На основе биофармацевтических исследований выявлены оптимальные основы, разработан состав и технология глазного геля и мази с доксициклина гидрохлоридом.
2. Методом диализа через полупроницаемую мембрану изучены степень высвобождения доксициклина гидрохлорида из геля и мази.
3. Изучена антимикробная активность геля и мази.
4. Предложена технологическая схема получения глазной мази и геля с доксициклина гидрохлоридом.
5. Проведено определение подлинности доксициклина гидрохлорида с использованием метода тонкослойной хроматографии и цветных качественных реакций
6. Показано, что сочетание метода непосредственной спектрофотометрии может быть использовано для количественного определения доксициклина гидрохлорида в глазном геле и мази.

Список литературы

1. Алюшин М.Т. Сравнительная характеристика мазевых основ и их компонентов – В кн: Аптечное дело за рубежом. Вып,5. С. 62-67
2. Беликов, В.Г. Фармацевтическая химия: учеб. пособие: в 2 ч. / В.Г. Беликов. 4-е изд., перераб. и доп. МЕДпресс-информ. 2007.624 с.
3. Блинов Н.О.,Хохлов А.С. Хроматография и электрофорез на бумаге при изучении превращений антибиотиков в организме человека и животных.//Антибиотики.-1967.-Т.3.-С.261.
4. Валевко С.А. Фармацевтическая технология: технология лекарственных форм. – М.: Академия, 2007.
5. Вергейчик Е.Н. Фармацевтическая химия. Москва «МЕДпресс-информ» ,2016 стр 173-174
6. Видаль. Лекарственные препараты в России.- М.: ЮМБ Медика Рус.2013. 1640с.
7. Гендролис А.А. Глазные лекарственные формы в фармации // М.: Медицина, 1988.-254 с.
8. Глазные болезни Т.И. Ерошевский под ред.А.П. Нестерова, В.М. Малова. 4-е изд., перераб. и доп. - М. : Лидер-М, 2008. - 316 с.
9. Глазные болезни. Основы офтальмологии: — Санкт-Петербург, Медицина, 2012 г.- 560 с.
10. Глазные лекарственные формы (технология изготовления и контроль качества // С.Н. Егорова, С.А. Сидуллина, Т.А. Ахметова.- Казань: КГМУ, 2007.- 106 с.
11. Государственная фармакопея.
12. Жебентяев А.И. Аналитическая химия. Химические методы анализа / А.И. Жебентяев, А.К. Жерносек, И.Е. Талуть. 2-е изд. –Изд-во: Новое знание .Инфра- М.2011.542 с.

13. Клинические рекомендации: «Рациональная фармакотерапия в офтальмологии», Москва, изд. Литера, 2004 г.
14. Краснюк И.И. Фармацевтическая технология. Технология лекарственных форм. – М.: Академия, 2004.
15. Майчук Ю.Ф. Вирусные заболевания глаз. М., "М", 1981.
16. Марченко Л. Г. и др. Технология мягких лекарственных форм: Учеб. пособие /Марченко Л. Г., Русак А. В., Смехова И. Е.; С.-Петербур. гос. хим. - фармацев. акад. - СПб.: СпецЛит, 2004. – 180 с.
17. Машковский М.Д. Лекарственные средства /М.Д. Машковский. 16-е изд., перераб. И доп.-М.:Новая волна.2014.1216с.
18. Мокрушин В.С. Основы химии и технологии биоорганических и синтетических лекарственных веществ В.С. Мокрушин, Г.А. Вавилов .- СПб: Проспект Науки.2009.496с.
19. Молдавер Б. Л. Асептическиготавливаемые лекарственные формы: Текст лекций. СПб.: СПХФИ, 1993
20. Национальный стандарт РФ «Правила производства и контроля качества лекарственных средств Good manufacturing practice for medicinal products (GMP), ГОСТ Р 52249-2009, введен 01.01.2010.
21. Оганесян Э.Т. Органическая химия: учеб.для студ., учреждений высш. проф. образования /Э.Т. Оганесян.-М.: Академия.2011.432 с.
22. Основы аналитической химии: учебю в 2 т. Т. 1/Т.А. Большова,Г.Д. Брыкина, А.В. Гармаш и др.под ред.Ю.А. Золотова.. 5-е изд.-М.: Издательский центр «Академия» .2012. 384с.
23. Офтальмология Р.А. Гундорова под ред. Е.И. Сидоренко - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 408 с.
24. Пирн А. и др. Биохимия глаза. Москва, "Медицина", 1968.
25. Практикум по технологии лекарственных форм: учеб. пособие/ И.И. Краснюк, Г.В. Михайлова, О.Н. Григорьева и др.; Под ред.:

И.И. Краснюка и Г.В. Михайловой. — 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Академия, 2007. — 425 с.

26. Раменская Г.В. Фармацевтическая химия: учебник / Г.В. Раменская, Э.Н. Аксенова, А.П. Арзамасцев; под ред. Г.В. Раменской.- М.: Бином. Лаборатория знаний. 2015. 467 с.

27. Реутов О.А. Органическая химия: учеб. / О.А. Реутов, А.Л. Курц, К.П. Бутин. 5-е изд. М.: Бином. Лаборатория знаний. 2013. Т. 2. 623 с.

28. Руководство по физиологии. Том “Физиология органа зрения”. Москва, “Наука”, 1969.

29. Тихонов А.И., Ярных Т.Г. Технология лекарств: учебник для студентов фармацевтических факультетов: Издательство НОВАЯ КНИГА, 2004. - 640 с.

30. Фармацевтическая технология. Изготовление лекарственных препаратов: учебник / А. С. Гаврилов. 2010. - 624 с.

31. Хаппе В. «Офтальмология. Справочник практикующего врача», Москва, МедПресс, 2005 г.

32. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия: учеб. для вузов: в 2 кн. Кн.1. Общие теоретические основы. Качественный анализ / Ю.Я. Харитонов. 5-е изд.- М.: Высшая школа. 2010. 615 с.

33. Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия: учеб. для вузов: в 2 кн. Кн.2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа / Ю.Я. Харитонов. 5-е изд.- М.: Высшая школа. 2010. 559 с.

34. Харкевич Д.А. Фармакология: учеб. / Д.А. Харкевич. 11-е изд.- М.: ГЭОТАР- Медиа. 2013. 760 с.

35. Чуешов В.И. Промышленная технология лекарств. Москва, ИФАУ, 2007 г.

36. Чупак- Белоусов В.В. Фармацевтическая химия: курс лекций. Кн. 2. 4 курс / В.В. Чупак- Белоусов.- М.: Бином, 2012. 280 с.

37. Онищенко Г.Г. Контроль за инфекционными заболеваниями стратегическая задача здравоохранения России в XXI веке // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2002. - № 6. - С. 14-16 .
38. Посохова К.А., Викторов А.П., Мальцев В.И. и др. Побочное действие антибиотиков тетрациклинов // Клин. фарм. 2004 - Т. 8, № 2. - С.6-15.
39. Рациональная антимикробная фармакотерапия: Руков. для практикующих врачей / Под общ. ред. В.П.Яковлева, С.В.Яковлева. М.: Литература, 2003. - С. 128-134, 754-757.
40. Нарциссов Я.Р. Молекулярные механизмы действия лекарственных препаратов на основе естественных метаболитов // Человек и лекарство: Тез. докл. VII Росс, национ. конгр. М., 2000. - С. 419.
41. Иванов ЛТ.В., Орлова И.Н. Биофармацевтические исследования, направленные на оптимизацию состава, свойств и пути введения лекарственных препаратов // В сб. «Технология и стандартизация лекарств».- Х., 2000.-Т. 2.-С. 558-615.
42. Антибактериальные лекарственные средства. Методы стандартизации препаратов.— М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2004.— 944 с.
43. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках: Учебник. 6-е изд., перераб. и доп. / Н.С. Егоров. - М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. - 528 с