

Запорізький державний медичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Борсук Сергій Олександрович

УДК 615.453.6:615.31'757'792].012/.014.07

ДИСЕРТАЦІЯ

**Розробка технології та стандартизація нового комбінованого лікарського
засобу з триптофаном та тіотриазоліном**

15.00.03 – стандартизація та організація
виробництва лікарських засобів
22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук

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

С. О. Борсук

Науковий керівник: Кучеренко Людмила Іванівна, доктор фармацевтичних наук,
професор

Запоріжжя – 2018

АНОТАЦІЯ

Борсук С. О. Розробка технології та стандартизація нового комбінованого лікарського засобу з триптофаном та тіотриазоліном. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 «стандартизація та організація виробництва лікарських засобів». – Запорізький державний медичний університет; Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2018.

У розділі 1 проведено аналіз даних наукової літератури щодо сучасного стану медичного застосування L-триптофану та тіотриазоліну і їх комбінацій з іншими лікарськими засобами. Проведено аналіз стану сучасного фармацевтичного ринку ноотропних та анксиолітичних препаратів. Обґрунтовано актуальність та перспективи створення і стандартизації нового препарату з L-триптофаном та тіотриазоліном у вигляді таблеток.

Розділ 2 представлено характеристику об'єктів і методів дослідження, наведено матеріали та обладнання, які були використані при виконанні експериментальної частини дисертаційної роботи.

Розділ 3 присвячений розробці оптимального складу і технології нового комбінованого лікарського засобу L-триптофану з тіотриазоліном у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою. Обґрунтований склад таблеток даного комбінованого лікарського препарату.

Були проведені квантово-хімічні розрахунки, які показали, що незважаючи на можливість утворення між компонентами нестійких водневих зв'язків, система L-триптофан, 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат і морфолін являє собою суміш речовин. Крім того, проведено дериватографічні дослідження, які підтвердили, що L-триптофан та тіотриазолін є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою. Все вищенаведене дозволяє поєднати діючі речовини в одній лікарській формі у формі таблеток з плівковим покриттям.

В результаті фізико-хімічних, фармако-технологічних, а також морфометричних досліджень субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну, була

спрогнозована, а надалі й підтверджена можливість отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції

В подальшому були проведені дослідження з вибору раціональних допоміжних речовин з метою отримання таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном методом вологої грануляції.

В експериментах досліджувались чотири групи допоміжних речовин, а саме наповнювачі, розпушувачі, розчини зв'язуючих речовин, а також солубілізатори, які володіють різними технологічними та фізичними властивостями.

Досліджували 16 сертифікованих допоміжних речовин як вітчизняного, так і закордонного виробництва.

При складанні рецептури таблеток виходили із наступних співвідношень (на 1 таблетку): L-триптофану - 0,2000 г (44,44 %), тіотриазоліну – 0,0500 г (11,1 %), наповнювача – 0,1684 г (12,49 %), розпушувача – 0,0225 г (5 %), зв'язуючого розчину – скільки потрібно до отримання пластичної маси та змазуючу речовину – 0,00450 г (1%). Також у всіх серіях, крім 1, 8, 10, 15 використовували солубілізатор в комплексі зі зв'язуючим розчином (твін 80, натрій лаурилсульфат, аеросил).

При вивченні чотирьох якісних факторів використовували один із планів дисперсійного аналізу – чотирьохфакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату. Досліди реалізовані у двох повторностях, що дозволило зменшити помилку експерименту. Було вивчено: процес пресування таблеток-ядер; зовнішній вигляд поверхні таблеток-ядер після виготовлення; однорідність дозування маси таблеток-ядер; стійкість таблеток-ядер до роздавлювання; стиранність таблеток-ядер; час розпадання таблеток-ядер; зовнішній вигляд поверхні таблеток після 6-ти місяців зберігання. За результатами експериментальних досліджень проведено дисперсійний аналіз.

Після проведених фармако-технологічних досліджень та беручи до уваги результати дослідження якісного та кількісного співвідношення допоміжних речовин, запропоновано оптимальний склад таблеток-ядер (L-триптофану – 0,2000 г; тіотриазоліну – 0,0500 г; МКЦ 101 – 0,0562 г; крохмалю картопляного – 0,0561 г;

магнію карбонату основного – 0,0561 г; натрію крохмальгліколяту - 0,0225 г; 5 % розчину ГПМЦ 5 – Qs; аеросилу - 0,0045г; кальцію стеарату - 0,0045г).

Отримані в лабораторних умовах таблетки-ядра, за фармако-технологічними властивостями (однорідність маси, стійкість до роздавлювання, стиранисть, розпадання, розчинення) відповідають вимогам ДФУ.

Були проведені дослідження зі створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном. В якості плівкоутворюючих композицій використовували готові суміші торгової марки Opadry, які найчастіше використовуються вітчизняними фармацевтичними підприємствами в якості захисного покриття таблеток.

Проведені експериментальні дослідження, які дозволили вибрати плівкоутворюючу систему для нанесення покриття на основі ПВС. Доцільно використовувати 12 % суспензію Opadry II 85 F 220087 Yellow, що містить: гідроксипропілметилцелюлоза 2910; титану діоксид; заліза оксид жовтий; ПЕГ (макрогол); тальк; заліза оксид червоний. Також запропоновано параметри нанесення покриття, причому температура продукту повинна становити 35 °С. В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток методом вологої грануляції, яку апробовано на базі ДП «Державна науковий центр лікарських засобів і медичної продукції». Отримані в лабораторних умовах таблетки за фармако-технологічними властивостями (однорідність дозування, стійкість до роздавлювання, розпадання, розчинення) відповідають вимогам ДФУ.

У розділі 4 наведені результати досліджень з розробки сучасних фізико-хімічних методів стандартизації діючих речовин сучасними високоточними методами.

В сучасному світі на даний час при аналізі лікарських форм все частіше використовуються фізико-хімічні методи аналізу. Відомо, що в розвинених країнах світу для визначення діючих речовин в комбінованих лікарських формах найчастіше використовується метод ВЕРХ, який дозволяє одночасно ідентифікувати і кількісно визначити діючі речовини в лікарській формі. Виходячи з вищевикладеного, а також з фізико-хімічних властивостей діючих речовин, для виконання поставленої мети

нами обрано метод ВЕРХ. По-перше, свою увагу ми звернули на вже існуючу методику кількісного визначення тіотриазоліну методом ВЕРХ. Були проведені дослідження на оберненій фазі з використанням кислого фосфатного буфера (рН 3) при довжині хвилі 220 нм з використанням елюентів, що являють собою водно-метанольні суміші.

На основі даних досліджень було розроблено методику одночасного визначення L-триптофану з тіотриазоліном в модельній суміші з використанням такої ж рухомої та нерухомої фази, а також схожих умов хроматографування, які використовувалися при дослідженні тіотриазоліну.

В подальшому в лабораторних умовах було виготовлено 6 серій модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном в співвідношенні 4:1 (вміст діючих речовин в таблетках L-триптофану з тіотриазоліном складає: L-триптофану 200 мг, тіотриазоліну 50 мг).

Дослідження проводили з використанням модульної системи для ВЕРХ BISCHOFF (BISCHOFF Analystechnik GmbH, Німеччина) зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010 на оберненій фазі.

Для проведення кількісного визначення діючих речовин методом ВЕРХ, ми використовували:

- колонка Prontosil Eurobond C 18 розміром 250 × 4,6 мм, з діаметром часток 5 мкм чи аналогічну, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- елюент: 20 % метанолу - 80% фосфатного буфера, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калія та фосфатну кислоту (рН 3).
- швидкість рухомої фази: 1 мл / хв;
- довжина хвилі детектору 220 нм;
- об'єм введеної проби: 10 мкл;
- температура термостату колонки: + 25 °С.

Середня маса. Середня маса таблеток має бути в межах від 440,0 мг до 460,0 мг. Було проведено дослідження на 6-ти серіях, отриманих в лабораторних умовах

таблеток, та встановлено, що середня маса розроблених таблеток знаходиться у допустимих межах 442,6 мг до 454,3 мг, що відповідає вимогам ДФУ, 2.9.5.

Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу. ДФУ, 2.9.40. (Відхилення маси кожної таблетки від середньої маси має бути в межах 5%. При випробуванні 6-ти серій отриманих таблеток по 20 таблеток в кожній серії, відхилень від середньої маси на величину понад 5% не спостерігалось.

Розпадання, ДФУ, 2.9.1. Дослідження проводили на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ з використанням тестеру для визначення розпадання таблеток ERWEKA серії ZTx20. В результаті дослідження 6-ти серій отриманих таблеток час розпадання не перевищував 15 хв, що відповідає вимогам ДФУ.

Розчинення. Відомо, що в таблетованих лікарських формах велику увагу приділяють біодоступності. Тому для фіксованого, комбінованого лікарського препарату з L-триптофаном та тіотриазоліном було проведено тест «Розчинення». Визначення кількісного вмісту діючої речовини, яка перейшла у розчин, було здійснено за допомогою метода високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), який застосовували для аналізу субстанції і таблеткової маси.

Отримані результати дослідження довели, що відсотковий вміст діючої речовини (L-триптофану), що перейшла в розчин з таблеток L-триптофану з тіотриазоліном через 45 хв становить 95,5%, що відповідає вимогам ДФУ.

Кількісне визначення. В результаті проведених фармако-технологічних досліджень розроблено таблетки на основі L-триптофану з тіотриазоліном середньою масою 450,0 мг, із вмістом діючих речовин: L-триптофану – 200,0 мг, тіотриазоліну – 50,0 мг. Попередньо була розроблена методика визначення діючих речовини в таблетковій масі методом ВЕРХ, який застосовується при постадійному контролі якості таблеток. Для проведення як ідентифікації, так і кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші використовували метод ВЕРХ.

Дослідження проводили з використанням модульної системи для ВЕРХ (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Німеччина) зі спектрофото-метричним детектором Lambda 1010.

Для проведення кількісного визначення діючих речовин методом ВЕРХ, використовували:

- Колонка Prontosil Eurobond C 18 розміром $250 \times 4,6$ мм, з діаметром часток 5 мкм чи аналогічну, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- Елюент: 10 % метанолу - 90% фосфатного буферу, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калія та фосфатну кислоту (рН 3).
- Швидкість рухомої фази: 1 мл / хв;
- Довжина хвилі детектору 220 нм;
- Об'єм введеної проби: 10 мкл;
- Температура термостату колонки: + 25 °С;

З використанням обладнання та умов хроматографування, які використовувались при визначенні діючих речовин в модельній суміші, було розроблено методика кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну в таблетковій масі. Далі було проведено аналіз виготовлених в лабораторних умовах 6 серій таблеткових мас. В результаті дослідження визначено вміст L-триптофану, який знаходиться в межах від 197,2 мг до 204,9 мг, та тіотриазоліну - від 48,9 мг до 50,5 мг, що відповідає вимогам діючої нормативної документації.

Далі була розроблена специфікація на отримані таблетки L-триптофану з тіотриазоліном. Розробку методик проводили на 6 серіях таблеток, виготовлених в лабораторних умовах, які досліджували за наступними показниками:

Опис. Таблетки, вкриті оболонкою жовтого кольору, круглої форми, з двоопуклою поверхнею, на розламі видно ядро білого кольору. За зовнішнім виглядом мають відповідати вимогам ДФУ, ст. «Таблетки» (ДФУ 2 видання, Том 1 с. 1121).

Ідентифікація. На хроматограмі випробовуваного розчину, отриманій при кількісному визначенні, час утримування основного піку L-триптофану (тіотриазоліну) має співпадати з часом утримування піку L-триптофану (тіотриазоліну) на хроматограмі розчину порівняння 1 (ДФУ, 2.2.29).

Середня маса. Середня маса таблеток L-триптофану з тіотриазоліном має бути в межах від 440,0 мг до 460,0 мг (ДФУ, 2.9.5). В ході досліджень середня маса 6 серій отриманих таблеток становила від 442,6 мг до 454,3 мг.

Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу. ДФУ, 2.9.40. Вимоги тесту вважаються виконаними за умови, якщо відносне стандартне відхилення (стандартне відхилення, виражене у відсотках до середнього результату) не перевищує 5 % для L-триптофану та 5% для тіотриазоліну. Тест проводили методом ВЕРХ, використовуючи 10 таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном, отриманих в лабораторних умовах. Отримані результати показали, що вміст L-триптофану в кожній з 10 випробуваних таблеток знаходиться в межах 98,24%-99,77%, а відносне стандартне відхилення становить від 0,12% до 0,85%; вміст тіотриазоліну – 98,25% - 99,95%, відносне стандартне відхилення - від 0,03% до 1,02% що відповідає вимогам ДФУ за однорідністю вмісту діючої речовини.

Розпадання. За вимогами ДФУ таблетки повинні розпадатися не більше, ніж за 15 хв (ДФУ, 2.9.1).

Дослідження проводили на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ з використанням тестеру для визначення розпадання таблеток ERWEKA серії ZTx20. В результаті проведених випробувань на розпадання було встановлено, що всі 6 серій таблеток розпалися в період від 5 хв до 10 хв, що входить у часовий проміжок, який регламентує ДФУ (15 хв).

Розчинення. Відомо, що в лікарських формах у вигляді таблеток велику увагу приділяють біодоступності. Тому для нового комбінованого препарату з L-триптофаном та тіотриазоліном нами було проведено тест «Розчинення». Визначення кількісного вмісту діючої речовини (L-триптофан), яка перейшла у розчин, було здійснено за допомогою методу вискоефективної рідинної хроматографії. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.9.3.

Отримані результати дослідження довели, що відсотковий вміст діючої речовини (L-триптофан), яка перейшла в розчин з таблеток L-триптофану з тіотриазоліном через 45 хв., становить 95,5%, що відповідає вимогам ДФУ.

Супровідні домішки. Визначення проводили методом ТШХ. Ацетилтіосемікарбазиду - не більше 0,5 %; 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону - не більше 0,5 %; будь-яка інша домішка - не більше 0,1 %.

Сума домішок - не більше 0,3 %. (ДФУ, 2.2.27).

Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13.

Критерії прийнятності мікробіологічної чистоти для неводних лікарських засобів для орального застосування (ДФУ, 5.1.4):

- загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) $\leq 10^3$ КУО/г;
- загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) $\leq 10^2$ КУО/г;
- Відсутність *Escherichia coli* в 1 г.

Кількісне визначення. Випробування проведено відповідно до вимог ДФУ, 2.2.29 за методикою, яку наведено нижче. При аналізі було використано умови хроматографування та аналітичне обладнання, що й при аналізі діючих речовин в модельній суміші.

Приготування випробовуваного розчину.

Близько 450 мг (точна наважка) розтертих таблеток поміщають в мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 15,0 мл дистильованої води, збовтують протягом 15 хв, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки, перемішують і фільтрують через паперовий фільтр «синя стрічка», відкидаючи перші 5,0 мл фільтрату. Розчин застосовують свіжоприготованим.

Приготування розчину порівняння.

Розчин порівняння 1. 200 мг (точна наважка) L-триптофану розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) тіотриазоліну розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 10 мл розчину порівняння 1 і 10 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки.

Розчин застосовують свіжоприготованим.

Хроматографують випробовуваний розчин та розчин порівняння не менше трьох разів та розраховують середню площу піків. Дослідження проводять в умовах які зазначені вище.

В подальшому було визначено вміст діючих речовин в 6 серіях таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном. Було встановлено, що в досліджених серіях вміст L-триптофану становить від 198,10 мг до 202,08 мг, тіотриазоліну - від 48,37 мг до 50,93 мг, що відповідає вимогам ДФУ (регламентація вмісту L-триптофану - 200 мг \pm 5%, тіотриазоліну - 50 мг \pm 5%).

До специфікації внесено:

Вміст $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (L-триптофану) в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 190 мг до 210 мг.

Вміст $C_5H_7N_3O_2S \cdot C_4H_9NO$ (тіотриазоліну) в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 47,5 мг до 52,5 мг.

В ході роботи розроблена специфікація на таблетки L-триптофану з тіотриазоліном, а також методика якісного та кількісного визначення діючих речовин в таблетках методом ВЕРХ. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу, супровідні домішки, мікробіологічна чистота, розпадання, розчинення та кількісне визначення. Розроблено проект МКЯ на таблетки з L-триптофаном та тіотриазоліном. Розроблено методику кількісного визначення діючих речовин в таблетковій масі та таблетках методом ВЕРХ, яку апробовано та впроваджено у систему якості АТ «Лекхім-Харків» (акт апробації від 24.09.2018р.).

Далі була проведена валідація розроблених методик таблеток на основі L-триптофану та тіотриазоліном. Валідація є гарантом достовірності та точності будь-яких методик. Її присутність гарантує аналітичним методикам гідне місце в системі забезпечення якості, а також відповідність своєму призначенню. ДФУ регламентує проведення валідації методик за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, прецизійність, правильність, робасність та прецизійність. Тому саме за цими валідаційними характеристиками ми і аналізували

методики стандартизації таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном. Тому саме за цими валідаційними характеристиками і аналізували методики стандартизації таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном. При проведенні валідаційних досліджень використано вищенаведені умови хроматографування та аналітичне обладнання.

Межі: вміст L-триптофану і тіотриазоліну в одній таблетці препарату повинно бути від 190 мг до 210 мг та від 47,5 мг до 52,5 мг відповідно. Критерії придатності валідаційних характеристик методики розраховували для 5 % допуску вмісту діючих речовин в препараті.

Після проведення валідації розробленої методики визначення кількісного вмісту діючих речовин в таблетках всі показники відповідали вимогам ДФУ.

Також було проведено дослідження стабільності створених таблеток L-триптофану з тіотриазоліном для визначення терміну придатності та умов зберігання. Для встановлення терміну придатності спостерігали за випробуваними зразками таблеток 27 місяців в сухому захищеному від світла місці при температурі не вище 25 °С. Оцінку якості таблеток, що зберігалися у вищевказаних умовах, проводили згідно настанови 42-3.3:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності», де вказані рекомендації стосовно вивчення стабільності препаратів. Отримані результати довели стабільність таблеток і було визначено термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°С.

Розділ 5 Присвячений вивченню анксиолітичних, стрес-протекторних та ноотропних властивостей нового комбінованого лікарського засобу L-триптофану з тіотриазоліном в експериментально обґрунтованому співвідношенні діючих речовин.

Дослідження проводили на базі НМЛЦ (керівник, професор Абрамов А. В.), а також на кафедрі фармакології та медичної рецептури ЗДМУ (завідувач кафедри, професор Беленічев І. Ф.).

В ході експериментальних досліджень на білих безпородних щурах обох статей були вивчені різні співвідношення комбінацій триптофану і тіотриазоліну -

1:1, 2:1, 4:1, 5:1, 7:1 відповідно, в умовах тесту «підвішування за хвіст». В результаті проведених досліджень було встановлено, що найбільш виражену анксиолітичну активність виявляє комбінація триптофану і тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 відповідно. Крім того встановлено, що всі досліджені комбінації з іншим співвідношенням діючих речовин (1:1; 2:1; 5:1 і 7:1) також є фармакологічно ефективними.

Встановлено, що анксиолітичний ефект комбінації триптофану і тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 достовірно перевершує дію референс-препарату Ноофену.

Наступним етапом наших досліджень було визначення стрес-протективної, ноотропної та нейропротективної активності на моделі хронічного іммобілізованого стресу (ХІС). Встановлено, що комбінація триптофану і тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 проявляє ноотропну та стрес-протективну активність, про що свідчить збереження умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) у тварин після моделювання хронічного іммобілізованого стресу (ХІС). За силою ноотропної та стрес-протективної дії таблетки триптофану з тіотриазоліном (4:1) достовірно перевершує ефективність Ноофену. Встановлено, що комбінований препарат триптофану з тіотриазоліном (4:1) також проявляє нейропротективний ефект, про що свідчить достовірне зменшення вмісту продуктів окислювальної модифікації білку та стабільних метаболітів NO і активність NO-синтази в головному мозку щурів, а також добову екскрецію маркера окислювальної модифікації нуклеїнових кислот - 8-OHG в умовах ХІС. Досліджуваний препарат достовірно володіє більш вираженим нейропротективними властивостями в порівнянні з референс-препаратом Ноофеном.

Також були проведені дослідження мікробіологічної чистоти нового комбінованого препарату з триптофаном та тіотриазоліном.

В результаті проведеного експерименту слід зробити висновок, що таблетки L-триптофану з тіотриазоліном (4:1) мають виражену анксиолітичну, стрес-протективну, ноотропну та нейропротективну властивості, і за силою дії достовірно перевершують референс-препарат – таблетки «Ноофен».

Отримані дані являються експериментальним обґрунтуванням для створення

на основі комбінації триптофану і тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 нового лікарського засобу з анксиолитичною, стреспротективною, ноотропною та нейропротективною властивостями.

Ключові слова: L-триптофан, тіотриазолін, таблетки, допоміжні речовини, технологія, волога грануляція, стандартизація, ВЕРХ, валідація, стабільність.

Список публікацій здобувача

Статті:

1. Theoretical study of the possibility of L-tryptophan with thiotriazoline complex formation / L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, S. A. Borsuk, O. V. Khromylova, S. V. Shishkina. *Запорозж. мед. журн.* 2018. Т. 20, № 1. С. 110-115. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

2. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна. *Фармац. часопис.* 2017. № 3. С. 31-38. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

3. Изучение ноотропных и стресс-протекторных свойств нового комбинированного лекарственного средства L-триптофана с тиотриазолином (Сообщение 2) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2017. Т. 20, № 6. С. 558–567. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

4. Изучение фармакологических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином. Установление оптимального соотношения действующих веществ и изучение анксиолитических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином (Сообщение 1) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2016. Т. 19, № 6. С. 696–703. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

5. Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна *Фармац. часопис*. 2018. № 2. С. 54-58. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

6. Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Фармац. часопис*. 2017. № 4. С. 22-29. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

7. О постадийном контроле таблеток L-триптофана с тиотриазолином / Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур, С. О. Борсук, Е. А. Портная, Г. И. Ткаченко. *Рецепт*. 2018. том № 21, №4, С. 508 – 515. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

8. Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, С. О. Борсук, І. А. Мазур, Л. Г. Черковська, Д. Ю. Скорина. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2018. Т. 11, № 2(27). С. 142-147. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

Патент:

1. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Беленічев І. Ф., Мазур І. А., Стеблюк В. С. Комбінований лікарський засіб анксиолітичної стрес-протективної, ноотропної і антиоксидантної дії: пат. № 112513 Україна. № № а 2016 04961; заявл. 04.05. 2016; опубл. 12.09.2016, Бюл. № 17 (Особистий внесок – приймав участь в патентному пошуку та в оформленні патенту).

Тези доповідей:

1. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Актуальність створення нового комбінованого таблеткованого нейропсихотропного лікарського засобу. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня 2016 р) : у 2 т. Т. 1. Харків : НФаУ, 2016. С. 373.

2. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Фармакологічні аспекти створення нового лікарського засобу нейропсихотропної дії на основі L-триптофану та тіотриазоліну. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI науково-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 листоп. 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 314.

3. Борсук С. О. Обґрунтування вибору лікарської форми нового комбінованого нейропсихотропного препарату. *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2017* : тези Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студ. з міжнар. участю, присвяч. Дню науки (11-12 трав. 2017 р., м. Запоріжжя). Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. С. 142.

4. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Дослідження анксиолітичної активності нового комбінованого лікарського засобу триптофану з тіотриазоліном. *Сучасні перспективи розвитку науки* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (15-16 вересня 2017 р.). Київ : МЦНД, 2017. С. 31.

5. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Мазур І. А., Борсук С. А. Изучение анксиолитической активности нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином. *V національний з'їзд фармакологів України* : тези доповідей (18-20 жовтня 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 77-78.

6. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір оптимальних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (14-15 листоп. 2017 р.). Харків : НФаУ, 2017. С. 122.

7. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Інновації та перспективи сучасної медицини», ВІМСО 2018* : тези доп. V Міжнар. мед.-фармац. конгресу студентів та молодих вчених (Чернівці, 4-6 квітня 2018 р.) Чернівці, 2018. С. 417.

8. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези

доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80-річчю з дня народження д. ф. н. проф. О. М. Гайдукевича. (12-13 квітня 2018 р.). Харків : НФаУ, 2018. С. 167-168.

9. Борсук С. А., Сорокопуд Л. Ю. Выбор оптимальных вспомогательных веществ с целью создания таблеток L-триптофана и тиотриазолина методом влажной грануляции. *Медицинская наука : новые возможности* : материалы XIII науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали абни Сино с междунар. участием (27 апреля, 2018). Душамбе, 2018. Т. 2. С. 12.

10. Сорокопуд Л. Ю., Борсук С. О. Вивчення фармацевтичного ринку анксиолітичних та ноотропних препаратів. Актуальні питання сучасної медицини і фармації (до 50-річчя заснування ЗДМУ) : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. (18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р.). Запоріжжя, 2018. С. 172.

ANNOTATION

Borsuk S. O. Technology development and standardization of the new tryptophan and thiotriazoline combined drug. – Qualified academic paper, manuscript copyright.

Thesis for a candidate degree in pharmaceutical sciences majoring in 15.00.03 «standardization and industrial engineering of medicines». – Zaporizhzhia State Medical University; National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2018.

Section 1 provides an analysis of scientific literature data on the current state of the medical use of L-tryptophan and thiotriazoline and their combinations with other drugs. The analysis of the current pharmaceutical market of nootropic and anxiolytic drugs was carried out.

Section 2 is devoted to the description of the characteristics of study objects and methods, materials and equipment that were used in the implementation of the experimental part of this thesis.

Section 3 is devoted to the development of the optimal composition and technology of tablets based on L-tryptophan and thiotriazoline using the wet granulation method. The composition of the tablets of this combined drug is substantiated.

First, quantum-chemical calculations and thermogravimetric studies of the mixture of L-tryptophan and thiotriazoline were carried out. The analysis showed that, despite the possibility of formation between the components of hydrogen bonds, some of which are charge-strengthened, the L-tryptophan, MTTA and morpholine system is rather a mixture of substances that allows them to be used in the same dosage form.

Subsequently, the study of the physico-chemical and pharmaco-technological properties of the L-tryptophan and thiotriazoline substances was conducted. Experiments have shown that L-tryptophan refers to fine powders with high dustiness indicators, of which it is possible to obtain tablets only by the wet granulation method, which is most common in our country and around the world.

Subsequently, studies have been conducted on the selection of rational excipients to obtain L-tryptophan with thiotriazoline tablets by wet granulation.

In experiments, four groups of excipients, namely, fillers, disintegrants, solutions of binders, as well as solubilizers, which have different technological and physical properties, were studied.

Both domestic and foreign 16 certified excipients were studied.

The tablets were derived in formulating according to the following ratios (per 1 tablet): L-tryptophan – 0,2000 g (44.44%), thiotriazoline – 0,0500 g (11.1%), filler – 0,1684 g (12, 49%), disintegrant - 0,0225 g (5%), binder solution - how much it takes to get the plastic mass and lubricant - 0,00450 g (1%). Also in all series, except for 1, 8, 10, 15, solubilizer was used in combination with a binder solution (tween 80, sodium lauryl sulfate, aerosil).

Studying four qualitative factors, one of the dispersion analysis plans was used - a four-factor experiment based on the Graeco-Latin square. The experiments are performed in two replicates, which allowed to reduce the experimental error. According to the experimental studies results, a dispersion analysis was carried out.

After performed pharmaco-technological studies and taking into account the results of the study of qualitative and quantitative correlation of the excipients, an optimal composition of the tablet cores was proposed: L-tryptophan – 0,2000 g; thiotriazoline – 0,0500 g; MCC 101 - 0,0562 g; potato starch - 0,0561 g; Magnesium carbonate basic -

0,0561 g; Sodium starch glycols - 0,0225 g; 5% solution of HPMC 5 - Qs; aerosol – 0,0045g; calcium stearate – 0,0045g.

The found tablets, given that they contain amino acids, should be protected during storage from external factors (effects of heat or light, as well as moisture penetration). In order to provide a specific positive effect on the dosage form, a film coating is proposed.

Therefore, the experimental studies were conducted that allowed the film-forming system to be used for coating on the basis of PVA. It is advisable to use a 12% suspension Opadry II 85 F 220087 Yellow containing: hydroxypropylmethylcellulose 2910; titanium dioxide; iron oxide yellow; PEG (macrogol); talc; iron oxide red. The coating parameters have also been proposed, with the product temperature being 35 °C. In the course of study, the technological scheme of obtaining tablets by the wet granulation method was developed, which was tested on the basis of State Enterprise “State Scientific Center of Drugs and Medical Products”. The tablets obtained in laboratory conditions are in compliance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPHU) under the pharmacological and technological properties (Uniformity of dosage, resistance to crushing, disintegration, dissolution).

In Section 4, there are the study results on the development of modern physicochemical methods of standardization of a fixed combined preparation of L-tryptophan with thiotriazoline by high-precision methods. Based on the already existing HPLC technique for the determination of thiotriazoline formulations, the first attempt was made to standardize L-tryptophan and thiotriazoline by the above-mentioned method. In the first phase, a stationary phase selection was made for the co-determination of L-tryptophan and thiotriazoline in a model mixture by the HPLC method. In the course of study, a method for the co-determination of active agents in the model mixture was developed. Determining the active agents in the tablet weight, the technique developed for the model mixture was applied.

Examined L-tryptophan tablets with thiotriazoline are rounded film-coated yellow double radius tablets, a white core appears on the breakup.

In the course of the study, a method for the identification and quantification of active agents in tablets was developed, based on the above-mentioned method of standardizing the active agents in the tablet weight mass.

The HPLC technique was developed and tested on a model mixture, tablet weight mass, and then tablets. It was found that in the studied batches L-tryptophan content was 198,10 mg to 202,08 mg, thiotriazoline was from 48,37 mg to 50,93 mg, which complies with the requirements of the SPHU, which regulates the content of L-tryptophan - 200 mg \pm 7,5%, thiotriazoline 50 mg \pm 10%. This proves that the developed method for determining the quantitative content of active agents in the tablet weight mass by the HPLC method is accurate and reproducible. The next stage of the study was the development of standardization, specification and compilation methods based on the developed quality control methods. The good quality of the tablets was determined according to the requirements of the State Pharmacopoeia. Then the found tablets based on L-tryptophan and thiotriazoline were studied. The development of standardization methods was carried out on 6 batches of tablets manufactured in laboratory conditions. The laboratory batches of L-tryptophan with thiotriazoline tablets were studied according to the following parameters:

Average weight. The average weight of the tablets should be in the range of 440,0 mg to 460,0 mg. A study was conducted on 6 series of tablets obtained in laboratory conditions, and it was found that the average weight of the developed tablets is within the permissible limits of 442,6 mg to 454,3 mg, which meets the requirements of the SPHU, 2.9.5.

Uniformity of dosage units, SPHU, 2.9.40. (The deviation of the weight of each tablet from the average mass should be within 5%. When testing 6 series of received tablets, per 20 tablets in each series, deviations from the average weight by more than 5% were not registered.

Disintegration, SPHU, 2.9.1. The study was conducted at the Department of Pharmaceutical Chemistry of the ZSMU using a tester to determine the disintegration of ERWEKA tablets of the ZTx20 series. As a result of the study of 6 series of obtained

tablets, the disintegration time did not exceed 15 minutes, which meets the requirements of the SPHU.

Dissolution. It is known that in tablet formulations a lot of attention is paid to bioavailability. Therefore, a dissolution test was conducted for a fixed, combined drug with L-tryptophan and thiotriazoline. The determination of the quantitative content of the active agent that has been transferred into the solution was carried out using the High Performance Liquid Chromatography (HPLC) method, which was used to analyze the substance and the tablet weight.

The obtained results of the study proved that the percentage of active agent (L-tryptophan) transferred to the dissolution media in 45 minutes is 95,5%, which meets the requirements of the SPHU.

Assay. As a result of the pharmaco-technological studies, L-tryptophan with thiotriazoline tablets with an average weight of 450,0 mg were developed, with the following active agents: L-tryptophan 200,0 mg, thiotriazoline 50,0 mg. Previously, a method for determining the active ingredients in the tablet by the HPLC method was developed, which is used for the progressive control of the tablets quality. For both identification and quantitation of active agents in the model mixture was used the HPLC method.

The studies were carried out using the modular system for HPLC BISCHOFF (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Germany) with the Lambda 1010 spectrophotometric detector.

For the quantitation of active ingredients by the HPLC method, the following were used:

- Prontosil Eurobond C 18 column 250 x 4,6 ml, particle diameter of 5 μm or the similar column, for which the requirements of the test “Chromatographic system suitability test” are satisfied;
- Eluent: 10% methanol - 90% phosphate buffer containing 0,68 g/l potassium dihydrogen phosphate and phosphate acid (pH 3).
- Flow rate: 1 ml/min;

- Wavelength of the detector 220 nm;
- Volume of the administered sample: 10 μ l;
- Temperature of thermostat column: + 25 °C;

As a result, the content of the active agents in the tablet mass was determined to be for L-tryptophan from 198,10 mg to 202,08 mg, for thiotriazoline from 48,37 mg to 50,93 mg, corresponding to the SPHU requirements governing L- tryptophan 200 mg \pm 5%, thiotriazoline 50 mg \pm 5%. In the future, the developed method is planned to be used for the standardization of L-tryptophan and thiotriazoline in tablets manufactured both in pharmaceutical company and in laboratory conditions.

According to the study results, a draft of quality control methods and specifications for L-tryptophan with thiotriazoline tablets were developed.

Then validation of the developed tableting methods based on L-tryptophan and thiotriazoline was carried out. Validation is the guarantor of the authenticity and accuracy of any methodology. Its presence ensures the analytical techniques a worthy place in the quality assurance system, as well as compliance with its purpose. The SPHU regulates the validation of the analytical procedures according to the following validation characteristics: specificity, linearity, range of application, accuracy, precision and robustness. Therefore, precisely according to these validation characteristics, standardization techniques for L-tryptophan and thiotriazoline tablets were analyzed. In addition, the limit calculation uncertainty of the method of quantitation of L-tryptophan and thiotriazoline in tablets was calculated.

After validation of the developed procedures for determining the quantitative content of active ingredients in tablets, all the validation characteristics met the requirements of the SPHU.

A study of the stability of the L-tryptophan with thiotriazoline tablets was also carried out to determine the shelf life and storage conditions. For the purpose of determining the shelf-life, samples of 27-month-old tablets were observed in a dry place protected from light at a temperature not higher than 25 °C. The evaluation of the tablets quality stored in the above conditions was carried out in accordance with the Guideline 42-3.3: 2004 “Quality Guidelines. Medicines. Testing «Stability», which provides guidance on the study of drug

stability. The obtained results confirmed the stability of the tablets and the shelf life of 2 years was established: in a dry, light-protected place at a temperature not higher than 25 °C.

Section 5 is devoted to the establishment of an optimal ratio of active ingredients and the study of anxiolytic, nootropic and stress-tread properties of the new combined drug L-tryptophan with thiotriazoline. The study was conducted on the basis of the Scientific Medical-Laboratory Center (Head, professor Abramov A.V.), as well as at the Department of Pharmacology and Medical Recipes of ZSMU (Head of the Department, professor Belenichev I.F.). To conduct preclinical studies in full, we used 90 white non-breeding rats of both sexes weighing 140-160 g obtained from the breeding nursery of the State Institution “Institute of Pharmacology and Toxicology of the Academy of Medical Sciences of Ukraine”. As a result of the experiment, it has been established and proved that tablets of L-tryptophan with thiotriazoline have anxiolytic, nootropic and stress-tread properties, and in their pharmacological activity superior to Noopen.

Microbiological studies have also been carried out that have shown the studies have shown that acceptance criteria for microbiological quality are met of the found L-tryptophan and thiotriazoline medicine.

Key words: L-tryptophan, thiotriazoline, tablets, excipients, technology, wet granulation, standardization, high-performance liquid chromatography (HPLC), validation, stability.

ЗМІСТ

| | |
|---|-----------|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ..... | 26 |
| ВСТУП..... | 27 |
| РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ТРИПТОФАНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ І ЇХ КОМБІНАЦІЙ З ІНШИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ЗАСОБАМИ. СТАН СУЧАСНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ НООТРОПНИХ ТА АНКСІОЛІТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ (Огляд літератури) | 34 |
| 1.1 Актуальність теми..... | 34 |
| 1.2 Маркетингові дослідження (аналіз) ринку України ноотропних та анксіолітичних препаратів | 36 |
| 1.3 Фармакологічні властивості L-триптофану та його застосування в медичній практиці | 56 |
| 1.4 Медичне застосування тіотриазоліну, а також аспекти його медичного застосування | 58 |
| 1.5 Обґрунтування створення нового комбінованого лікарського засобу на основі L-триптофану та тіотриазоліну..... | 60 |
| 1.6 Успішні поєднання L-триптофану та тіотриазоліну в медичній практиці..... | 62 |
| РОЗДІЛ 2 ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.... | 66 |
| 2.1 Об'єкти та методи дослідження..... | 66 |
| 2.1.1 Характеристика діючої та допоміжних речовин | 66 |
| 2.1.2 Характеристика допоміжних речовин | 67 |
| 2.2. Характеристика методів дослідження..... | 71 |
| РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ТРИПТОФАНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ МЕТОДОМ ВОЛОГОЇ ГРАНУЛЯЦІЇ | 74 |
| 3.1 Актуальність розробки таблетованої лікарської форми з триптофаном та тіотриазоліном | 74 |

| | |
|---|------------|
| 3.2 Квантово-хімічні розрахунки суміші L-триптофану та тіотриазоліну | 77 |
| 3.3 Дериватографічні дослідження L-триптофану, тіотриазоліну та суміші L-триптофану з тіотриазоліном | 85 |
| 3.4 Вивчення фізико-хімічних і фармако-технологічних властивостей субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну | 89 |
| 3.5 Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток на основі L-триптофану та тіотриазоліну методом вологої грануляції | 90 |
| 3.6 Розробка режимів нанесення захисної полімерної оболонки на таблетки | 114 |
| Висновки до розділу 3 | 122 |
| РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК З L-ТРИПТОФАНОМ ТА ТІОТРИАЗОЛІНОМ | 125 |
| 4.1 Вивчення існуючих та розробка нових методик стандартизації субстанції на основі L-триптофану та тіотриазоліну | 125 |
| 4.2 Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом вискоефективної рідинної хроматографії | 127 |
| 4.3 Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші | 133 |
| 4.4 Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в таблетковій масі | 138 |
| 4.5 Визначення доброякісності таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном | 144 |
| 4.6 Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном | 157 |
| 4.7 Встановлення умов зберігання і терміну придатності таблеток L-триптофану з тіотриазоліном | 178 |
| Висновки до розділу 4 | 179 |
| РОЗДІЛ 5 ПІДТВЕРДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ РОЗРОБКИ | 182 |

| | |
|--|-----|
| 5.1 Встановлення оптимального співвідношення діючих речовин і вивчення анксиолітичних властивостей нового комбінованого лікарського засобу триптофану з тіотриазоліном | 186 |
| 5.2 Вивчення ноотропних і стрес-протекторних властивостей нового комбінованого лікарського засобу L-триптофану з тіотриазоліном..... | 189 |
| 5.3 Дослідження мікробіологічної чистоти таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном | 194 |
| Висновки до розділу 5 | 197 |
| ВИСНОВКИ..... | 200 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ | 203 |
| ДОДАТКИ..... | 228 |

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

| | | |
|-------|---|--|
| 8-OHG | – | 8-гідроксигуанін; |
| NADPH | – | нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат; |
| NOS | – | NO-синтаза; |
| АТФ | – | аденозинтрифосфат; |
| АТХ | – | анатомо-терапевтично-хімічна класифікація; |
| АФГ | – | альдегідфенілгідрозон; |
| АФК | – | активні форми кисню; |
| ГАМК | – | гамма-аміномасляна кислота; |
| ГБ | – | гематоенцефалітний бар'єр; |
| ГПМЦ | – | гідроксипропілметилцелюлоза; |
| ДР | – | допоміжні речовини; |
| ДФУ | – | державна фармакопея України; |
| КФГ | – | кетонфенілгідрозон; |
| ЛП | – | лікарський препарат; |
| МКЦ | – | мікрокристалічна целюлоза; |
| МКЯ | – | методи контролю якості; |
| МСТА | – | морфолінієва сіль тіазотної кислоти; |
| МТТА | – | 3- метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат |
| МЦ | – | метилцелюлоза; |
| НВП | – | належна виробнича практика |
| ОМБ | – | окисна модифікація білків; |
| ПВП | – | полівінілпіролідон; |
| ПВС | – | Полівініловий спирт; |
| РСЗ | – | робочий стандартний зразок; |
| УРПУ | – | умовна реакція пасивного уникнення; |
| ФСЗ | – | фармакопейний стандартний зразок; |
| ФСП | – | фармакопейна стаття підприємства; |
| ХІС | – | хронічний іммобілізаційний стрес; |
| ЦНС | – | центральна нервова система; |

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Проблемам порушень когнітивних функцій і стресу завжди надавалося велике значення. Однак в останнє десятиріччя інтерес дослідників і практикуючих лікарів до вирішення цієї проблеми істотно зріс. Це пояснюється високим ростом показників стресів і емоційних напружень по всій Україні, особливо в Донецькій та Луганській областях, де проходять бойові дії через озброєний конфлікт на Сході країни, а також збільшенням пацієнтів з когнітивними розладами. На сьогодні в лікуванні вищезазначених порушень та ускладнень ЦНС здебільшого використовують анксиолітичні та стрес-протекторні лікарські засоби. Однак, їхнє застосування обмежено через відносну токсичність та низку побічних ефектів. Велику увагу в Європі та світі серед анксиолітичних лікарських засобів викликає структурний аналог нейротрансмітерів – L-триптофан. Дана незамінна амінокислота сприяє зняттю тривожності, гіперактивності, нав'язливих станів і синдрому хронічної втоми, підвищує настрій, усуває напругу і відчуття страху, покращує засинання і нормалізує сон. Але, даний лікарський засіб не виявляє ноотропної, стреспротективної і антиоксидантної дії та йому притаманні такі побічні ефекти, як сухість ротової порожнини, сонливість, зниження апетиту.

На сьогодні в розвинених країнах все частіш для лікування різноманітних захворювань застосовуються комбіновані препарати, до складу яких, окрім основної діючої речовини входить антиоксидант, що призводить до зниження побічних ефектів, а в деяких випадках і до їх нівелювання. Одним з вітчизняних антиоксидантів широкого спектру дії є тіотриазолін, який володіє антиоксидантною, протиішемічною, мембраностабілізуючою, антиаритмічною, протизапальною, противірусною та стимулюючою регенерацію клітин активністю.

Тому вирішенням даної проблеми стало створення нового більш безпечного та ефективного комбінованого лікарського засобу з L-триптофаном та тіотриазоліном, який виявляє виражені анксиолітичні, стрес-протекторні та ноотропні властивості. Розробка такого комбінованого лікарського засобу є актуальним завданням сучасної

медицини та фармації. Виходячи з аналізу фізико-хімічних властивостей активних фармацевтичних інгредієнтів та аналізу фармацевтичного ринку анксиолітичних та ноотропних лікарських засобів, в якості лікарської форми для створення нового комбінованого препарату були запропоновані таблетки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану Проблемної комісії «Фармація» МОЗ та НАМН України і є фрагментом комплексних наукових робіт Запорізького державного медичного університету, а саме «Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів і створення оригінальних лікарських засобів та фіксованих комбінацій лікарських препаратів» (номер державної реєстрації 0113U000802). Дисертантом особисто розроблено технологію та методики стандартизації таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном.

Мета і завдання дослідження

Метою дисертаційної роботи є фармацевтична розробка та стандартизація нового ефективного лікарського засобу, який виявляє виражені анксиолітичні, стрес-протекторні, ноотропні, нейропротективні та антиоксидантні властивості, на основі фіксованої комбінації L-триптофану з тіотриазоліном, що сприяє значному зменшенню проявів побічних ефектів.

Для досягнення цієї мети були поставлені такі завдання:

- провести аналітичну оцінку даних наукової літератури в розрізі новітніх уявлень щодо лікування захворювань ЦНС, етіологічним чинником яких є стрес, методичних підходів до створення таблетованих лікарських форм, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі антиоксидантів з метою зменшення побічних ефектів. Провести маркетингові дослідження ринку анксиолітичних та ноотропних препаратів;
- здійснити комплекс досліджень з метою обґрунтування оптимального складу діючих речовин оригінальної комбінованої лікарської форми. Розробити оптимальну технологію виробництва комбінованих таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном. З урахуванням властивостей діючих речовин розробити технологічну схему виробництва нового комбінованого засобу;

- розробити методики стандартизації нового комбінованого препарату у таблетках. Розробити проект методик контролю якості (МКЯ) на отримані таблетки. Провести валідацію розроблених методик кількісного визначення вмісту активних фармацевтичних інгредієнтів у таблетках L-триптофану з тіотриазоліном. Встановити умови зберігання і термін придатності досліджуваних таблеток;
- для доведення ефективності фармацевтичної розробки здійснити дослідження специфічної дії отриманих таблеток.

Об'єкт дослідження– фармацевтична розробка та стандартизація нового оригінального комбінованого таблетованого лікарського препарату на основі фіксованої комбінації L-триптофану та тіотриазоліну.

Предмет дослідження– фармацевтична розробка науково обґрунтованого складу і технології таблеток L-триптофану з тіотриазоліном та їх стандартизація; вивчення фармако-технологічних та фізико-хімічних властивостей розроблених таблеток; розробка технологічної схеми отримання таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном; дослідження їх стабільності в процесі зберігання; розробка проекту МКЯ на отримані таблетки; доведення ефективності фармацевтичної розробки за результатами фармакологічних досліджень комбінації L-триптофану з тіотриазоліном; визначення валідаційних параметрів для розроблених методик.

Методи дослідження

З метою виконання поставлених задач у дисертаційній роботі використані органолептичні, фармако-технологічні – однорідність маси, стійкість до роздавлювання, стираність, розпадання, розчинення; фізичні та фізико-хімічні – високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ), біологічні та математичні – статистична обробка результатів.

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше запропоновано оригінальну фіксовану комбінацію активних фармацевтичних інгредієнтів у відповідних дозах L-триптофану 200 мг та тіотриазоліну 50 мг для розробки нового анксиолітичного, стрес-протекторного, ноотропного засобу. Вперше методом математичного планування експерименту

науково обґрунтовано склад та розроблено технологію нового комбінованого засобу L-триптофану з тіотриазоліном в таблетках з фіксованою комбінацією L-триптофану 200 мг та тіотриазоліну 50 мг.

За результатами фармакологічних досліджень уперше виявлено потенціювання анксиолітичної, стрес-протекторної дії L-триптофану при його застосуванні з тіотриазоліном в одній лікарській формі, що визначило зниження їх терапевтичних доз у 2,5 рази.

Вперше відповідно до вимог ДФУ розроблені методики стандартизації таблеток L-триптофану з тіотриазоліном щодо ідентифікації, кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну методом ВЕРХ.

Практичне значення отриманих результатів

Розроблений та стандартизований оригінальний фармакологічний засіб на основі L-триптофану та тіотриазоліну у формі таблеток. Отримані результати досліджень можуть бути застосовані при розробці нових лікарських засобів на основі анксиолітичного, ноотропного препарату в комбінації з антиоксидантом. Розроблено технологічну схему отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції, яку апробовано та впроваджено у систему лабораторії таблетованих

ЛП ДП «ДНЦЛЗ» (акт впровадження від 03.09.2018). Розроблено методику кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші, таблетковій масі та таблетках методом ВЕРХ, яку апробовано та впроваджено у систему якості АТ «Лекхім-Харків» (акт впровадження від 24.09.2018).

Розроблені методики стандартизації таблеток з плівковим покриттям L-триптофану з тіотриазоліном, які покладені в основу проекту документа «Методи контролю якості на лікарський засіб».

Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету; кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету; кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів, кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії

післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика; кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровської медичної академії МОЗ України»; кафедри фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти, кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету.

Особистий внесок здобувача

Разом з науковим керівником визначено мету та основні задачі досліджень, розроблено методичні підходи, на основі яких обрано методи виконання практичної частини дисертації.

Безпосередньо автором здійснено:

- аналіз даних наукової літератури щодо лікування та профілактики захворювань ЦНС, викликаних стресом;

- експериментальні дослідження з вивчення фізико-хімічних, технологічних властивостей діючих речовин; обговорення та узагальнення результатів фармакологічних досліджень;

- розробку оптимального складу і технології нанесення плівкового покриття на таблетки-ядра L-триптофану з тіотриазоліном, які були отримані методом вологої грануляції;
- розробку методики якісного аналізу L-триптофану з тіотриазоліном в таблетках;
- розробку методики визначення L-триптофану з тіотриазоліном в таблетках методом ВЕРХ;
- проведено валідацію розроблених методик стандартизації отриманих таблеток.

Персональний внесок в усіх опублікованих працях з науковцями (Кучеренко Л. І., Мазур І.А., Беленічев І. Ф., Шишкіна С. В., Портна О. О., Черковська Л. Г., Моряк З. Б., Хромильова О. В., Скорина Д. Ю., Сорокопуд Л. Ю.) наведено за текстом дисертації, також в авторефераті у списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (м. Харків, 13 – 16 вересня 2016 р.), VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 10 – 11 листопада 2016 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації-2017» (м. Запоріжжя, 11 – 12 травня 2017 р.), V міжнародній науково-практичній конференції «Перспективи розвитку сучасної науки» (м. Київ, 15 – 16 вересня 2017 р.), V Національному з'їзді фармакологів України (м. Запоріжжя, 18 – 20 жовтня 2017 р.), III Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (м. Харків, 14 – 15 листопада 2017 р.), V Міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих вчених «ВІМСО» (м. Чернівці, 4 – 6 квітня 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (м. Харків, 12 – 13 квітня 2018 р.), VIII науково-практичній конференції молодих вчених та студентів ТДМУ ім. Абуалі абні Сіно з міжнародною участю (м. Душанбе, 27 квітня 2018 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (м. Запоріжжя, 18 – 25 квітня 2018 р.).

Апробацію роботи проведено на спільному засіданні кафедр аналітичної хімії; технології ліків; токсикологічної і неорганічної хімії; органічної і біоорганічної хімії; фармацевтичної хімії; фармакогнозії, фармакології та ботаніки; фізколоїдної хімії; медичної та фармацевтичної інформатики і новітніх технологій; управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства; клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО Запорізького державного медичного університету від 21 вересня 2018 року.

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена на 253 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, 4 розділів експериментальної частини, загальних висновків, 15 додатків і списку використаних джерел. Робота ілюстрована 29 таблицями та 69 рисунками. Список використаних джерел містить 236 найменування, з них 168 кирилицею та 68 латиницею. Обсяг основного тексту – 175 сторінок.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНИЙ СТАН МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ТРИПТОФАНУ ТА
ТІОТРИАЗОЛІНУ І ЇХ КОМБІНАЦІЙ З ІНШИМИ ЛІКАРСЬКИМИ
ЗАСОБАМИ. СТАН СУЧАСНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ
НООТРОПНИХ ТА АНКСІОЛІТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ
(Огляд літератури)

1.1 Актуальність теми

Проблемам порушень когнітивних функцій і стресу завжди надавалося велике значення. Однак в останнє десятиліття інтерес дослідників і практикуючих лікарів до вирішення цієї проблеми істотно зріс. Це пояснюється високим ростом показників стресів і емоційних напружень, а також збільшенням пацієнтів з когнітивними розладами. Так, наприклад, спостерігається значне зростання числа нервово-психічних захворювань, етіологічною причиною яких є стрес. Це в першу чергу неврози, посттравматичний стресовий розлад, психосоматичні розлади, характерологічні і патохарактерологічні реакції, а також різко зростає (катастрофічно в останні роки) число суїцидів (а більшість суїцидентів - з психічними розладами), алкогольних психозів, взагалі хвороб залежності (і не тільки хронічного алкоголізму, а й наркоманії, токсикоманії), прикордонних (непсихічних) форм психопатології, біля витоків яких теж часто стоїть психологічний стрес [28,70, 112, 168, 206].

Стресовий стан небезпечний не сам по собі, а тим, що здатний провокувати цілий букет органічних порушень у вигляді серцево-судинних, алергічних, імунних та інших захворювань [198]. Не кажучи вже про те, що різко падає працездатність людини, його життєва і творча активність. Безпричинна начебто млявість, пасивність, безсоння, дратівливість, невдоволення всім світом - типові симптоми стресу.

Нажаль, у зв'язку з складною ситуацією в нашій країні рівень стресу за останні 5 років збільшився.

Для порівняння, у 2013 році лише 49% українських громадян визнавали існування стресових ситуацій. За 2014 рік, число українців, які скаржилися на стрес зросло до 64%. У 2015 році майже дві третини українців пережили стресові ситуації. У 2017 році показник стресу серед жителів нашої країни становив 70%. Головною причиною стресу більшість жінок назвали важку хворобу близької людини, а більшість чоловіків - втрату роботи і вимушене безробіття [172].

Варто відмітити, що найбільше стресових ситуацій пережили жителі Сходу (74%), де головною причиною стресу були збройні дії (27%) і відчуття безпорадності (17%).

Сучасний бій - це суворе випробування фізичних і духовних сил мирного жителя, який став заручником військового стану в країні, та воїна, для якого стрес проявляється у здатності активно протистояти дії екстремальних, вкрай несприятливих для життя чинників, зберігати волю і рішучість, до кінця виконати поставлене йому бойове завдання.

Основним негативним наслідком участі особистості у бойових діях є посттравматичний стресовий розлад, особлива підступність якого полягає в тому, що з роками у більшості воїнів він не згладжується, а посилюється, виливаючись в асоціальній поведінці, невротичних реакціях, соматичних розладах, таким чином, перетворюючись з психологічної проблеми на хворобу. Наслідки посттравматичного стресового розладу часто проявляються як девіантна поведінка (агресія, конфліктність, зловживання психоактивними речовинами, спиртними напоями, наркотичними засобами, злочини тощо) [144].

Держава робить перші кроки по вдосконаленню системи соціального захисту учасників АТО. Закон України від 23.07.2014 № 1609-VII закріплює зміни до Закону "Про реабілітацію інвалідів в Україні" щодо забезпечення виробами медичного призначення, технічними та іншими засобами реабілітації учасників антитерористичної операції, які постраждали під час її проведення.

Однак сучасний арсенал анксиолітичних, стрес-протекторних, ноотропних засобів не завжди відповідає всім вимогам лікарів. Найчастіше такі препарати призначаються у вигляді окремих лікарських форм, що призводить до зниження

комплаєнса пацієнтів, а також поліпрагмазії. Іноді препарати бувають недостатньо ефективними. На сьогодні все частіше в медичній практиці застосовують не монопрепарати, а комбіновані препарати, до складу яких, крім основної діючої речовини, входять антиоксиданти [6, 14, 83, 121, 130, 228]. Введення антиоксидантів до комбінованої лікарської форми частіш за все призводить до потенціювання фармакологічного ефекту, зменшення дози, і зниження, а часто і до нівелювання побічних ефектів основної діючої речовини [34, 55].

Все це обумовлює необхідність створення нових високоефективних і малотоксичних комбінованих препаратів, які б поєднували в собі позитивні ефекти основної діючої речовини, або ж навіть посилювали б її терапевтичну дію.

1.2 Маркетингові дослідження (аналіз) ринку України ноотропних та анксиолітичних препаратів

З метою збору інформації про динаміку розвитку фармацевтичного ринку, його ємності, потреби і переваги споживачів, а також інформації про становище фірм-виробників, та наявності конкурентів в ході дисертаційної роботи проводилися маркетингові дослідження фармацевтичного ринку лікарських засобів на території України [128].

Оскільки, досліджуваний препарат володіє анксиолітичним і ноотропним ефектами в аналіз національного ринку бралися лікарські засоби з анксиолітичною (АТХ - N05B) та ноотропною (АТХ – N06BX) дією. Об'єктами дослідження були дані «Державного реєстру лікарських засобів України» за 24.06.2016 р., а також «Компендіуму» [68, 141].

У результаті дослідження встановлено, що на національному ринку ноотропних препаратів в обігу знаходиться 126 лікарських засобів вищевказаної дії, з яких 60 (48%) виробляється 20 підприємствами України та 66 (52%) - надходять на територію країни з-за кордону : Іспанії, Латвії, Росії, Болгарії, Сербії, Білорусі, Австрії, Італії, Бельгії, Польщі, Угорщині, Індії (рис. 1.1).



Рис. 1.1 Частка вітчизняних виробників, які виробляють препарати ноотропної дії

Серед вітчизняних фірм виробників лікарських засобів ноотропної дії лідером є ПАТ «Фармак» (м. Київ). Також треба відмітити таких виробників, як ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» (м. Київ), ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» (м. Харків), ПАТ «Київмедпрепарат» (м. Київ), ПАТ «Галичфарм» (м. Львів), ТОВ "АСТРАФАРМ» (м. Вишневе) та інші.

В свою чергу фармацевтичний ринок представлений 25 зарубіжними виробниками з 12 країн. Італія являється лідером-імпортером серед зарубіжних країн на даному фармацевтичному ринку. Але, незважаючи на це, треба звернути увагу на АТ "Олайнфарм" (Латвія) та Феррер Інтернаціональ, С.А., (Іспанія), які виготовляють по 9 лікарських засобів ноотропної активності. Також треба відмітити такі компанії, як: Біофарм Лтд (Польща), ЗАТ Фармацевтичний завод ЕГІС (Угорщина), ЕССЕТІ ФАРМАЧЕУТІЧІ СРЛ. (Італія).

На наступному етапі проведено аналіз використання лікарських форм для ноотропних препаратів (рис. 1.2). Найчастіше використовують фірми-виробники таблетковану ЛФ (43%). Також на ринку представлені ін'єкційні розчини (40%), капсули (14%), порошки (2%), гранули (1%).



Рис. 1.2 Лікарські форми препаратів ноотропної дії на ринку України

На наступному етапі була проаналізована конкурентоспроможність фірм, що надають лікарські засоби досліджуваної групи на фармацевтичний ринок України.

Конкуренція — економічний процес взаємодії і боротьби виробників за найвигідніші умови виробництва і збуту товарів, за отримання найбільших прибутків. Водночас — механізм стихійного регулювання виробництва в умовах вільних ринкових відносин.

Конкуренція — важливий елемент механізму саморегулювання ринкової економіки і водночас конкретна форма її функціонування. Конкуренція — це суперництво між суб'єктами ринкової економіки за найкращі умови виробництва, вигідну позицію на ринку тощо. Вона є тією ринковою силою, що забезпечує взаємодію попиту і пропозиції, яка урівноважує ринкові ціни.

Конкурентоспроможність підприємства - це його комплексна порівняльна характеристика, яка відбиває ступінь переваг над підприємствами-конкурентами по сукупності оціночних показників діяльності на певних ринках, за певний проміжок часу. Тобто, конкурентоспроможність можна оцінювати шляхом порівняння

конкурентних позицій кількох підприємств на певному ринку. Рівень конкурентоспроможності визначається сукупністю різноманітних техніко-економічних факторів: політична обстановка в країні, наявність конкурентів, економічних зв'язків, наявність сировинних ресурсів, розміщення виробничих сил, загальний рівень техніки і технології виробництва, концентрація виробництва, система та методи управління фірмою, рівень організації процесу виробництва, система довгострокового планування а також інноваційний характер виробництва. При цьому обов'язковою вимогою є порівнянність оціночних параметрів, а саме: а) технології; б) потенційних можливостей обладнання; в) рівня персоналу; г) системи управління; д) рівня інновацій; е) стану комунікацій; є) рівня маркетингової політики; ж) експортно-імпортних можливостей та інших параметрів [11, 154].

Для визначення ступеня напруженості між виробниками препаратів-аналогів розрахували коефіцієнт напруженості K_{vi} за формулою:

$$K_{vi} = \frac{n-1}{n}, \quad (1.1)$$

де n – число всіх конкурентних аналогів фірм.

При цьому досліджуванні лікарські форми було згруповано за діючою речовиною:

- група пірацетаму
- група фенібуту
- група вінпоцетину
- група кальцієвої солі гопантенової кислоти
- група гліцину
- група кортексину
- група праміпірацетам
- група фенілпірацетаму
- група цитиколіну
- група піритинолу дигідрохлориду

В дослідженні не враховували комбіновані лікарські засоби, так як вони не мають аналогів за складом діючих речовин.

Результати розрахунку представлені в табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Показники коефіцієнта напруженості між виробниками ноотропних лікарських засобів

| Діюча речовина | Найменування препарату | Виробник | Країна виробника | Коефіцієнт напруженості K_{vi} |
|----------------|------------------------|---|------------------|----------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Цитиколін | Кваніл | Кусум хелтхкер пвт. Лтд. | Індія | 0,947 |
| | Неоцеброн | ЕССЕТІ ФАРМАЧЕУТИЧІ СРЛ., | Італія | |
| | Сомаксон | Венус Ремедіс Лімітед | Індія | |
| | Сомаксон | Мепро Фармасьютикалс Пріват Лімітед | Індія | |
| | Нейродар | Кусум Хелтхкер Пвт Лтд | Індія | |
| | Нейроксон | ПАТ "Галичфарм" | Україна | |
| | Нейроксон | ПАТ "Київмедпрепарат" | Україна | |
| | Ліра | ПАТ "Фармак" | Україна | |
| | Кемодін | Біохімічна італійська фармацевтична | Італія | |

Продовж. табл. 1.1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-----------|-------------------------|---|---------|-------|
| | Цитокон | ТОВ "Юрія-Фарм" | Україна | |
| | | лабораторія Лізафарма С.П.А. | | |
| | Цитімакс- Дарниця | ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця" | Україна | |
| | Фармаксон- Ніко | ТОВ "НІКО" | Україна | |
| | Діфосфозин | Мітім С.р.л. | Італія | |
| | Цитиколін- Ново | Товариство з обмеженою відповідальністю фірма "Новофарм-Біосинтез" | Україна | |
| | Нейродар | Лабораторіо Фармачеутіко С.Т. С.р.л. | Італія | |
| | Нейроніка | Лабораторіо Фармацеутіко Сі.Ті. Ес.ер.ел. | Італія | |
| | Цитиколін- Астрафарм | ТОВ "АСТРАФАРМ" | Україна | |
| | Сомазина | Феррер Інтернасіональ, С.А. | Іспанія | |
| | Цераксон | Феррер Інтернасіональ, С.А. | Іспанія | |
| Пірацетам | Ноотропіл | Ейсіка Фармасьютикалз С.Р.Л | Італія | 0,923 |
| | Ноотропіл | ЮСБ Фарма С.А. | Бельгія | |

Продовж. табл. 1.1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|------------|-----------------------|--|----------|-----|
| | Пірацетам | ПАТ "Галичфарм" | Україна | |
| | Пірацетам | ТОВ "НІКО" | Україна | |
| | Пірацетам | АТ "Лекхім-Харків" | Україна | |
| | Пірацетам | ПАТ "Фармак" | Україна | |
| | ПІРАЦЕТАМ- ДАРНИЦЯ | ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця" | Україна | |
| | Пірацетам | Публічне акціонерне товариство "Науково- виробничий центр "Борщагівський хіміко- фармацевтичний завод" | Україна | |
| | Пірацетам | ПАТ "Хімфармзавод "Червона зірка" | Україна | |
| | Пірацетам | Товариство з обмеженою відповідальністю "Фармацевтична компанія "Здоров'я" | Україна | |
| | Біотропіл | Біофарм Лтд | Польща | |
| | Луцетам | ЗАТ Фармацевтичний завод ЕГІС | Угорщина | |
| | Фесцетам | АДІФАРМ ЕАТ | Болгарія | |
| Вінпоцетин | Вінпоцетин- Фармак | ПАТ "Фармак" | Україна | 0,9 |
| | Вінпоцетин | ТОВ "Дослідний завод "ГНЦЛС" (всі стадії виробництва, контроль якості, випуск серії), | Україна | |

Продовж. табл. 1.1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---------|--------------------------|--|------------------------|------|
| | | Україна ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я" (всі стадії виробництва, контроль якості) | | |
| | Вінпоцетин- Дарниця | ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця" | Україна | |
| | Вінпоцетин | АТ "Лекхім-Харків" | Україна | |
| | Вінпоцетин | Публічне акціонерне товариство "Науково- виробничий центр "Борщагівський хіміко- фармацевтичний завод" | Україна | |
| | Вінпоцетин- Астрафарм | ТОВ "АСТРАФАРМ" | Україна | |
| | Вінпоцетин | ВАТ "Гедеон Ріхтер" | Угорщина | |
| | Вінпоцетин | ПАТ "Хімфармзавод "Червона зірка" | Україна | |
| | Кавінтон | ВАТ "Гедеон Ріхтер" | Угорщина | |
| | Нейровін | Мікро Лабс Лімітед | Індія | |
| Фенібут | Фенібут | ЗАТ "Обнінська хіміко- фармацевтична компанія" | Російська Федерація | 0,83 |
| | Біфрен | ТОВ "Фарма Старт" | Україна | |
| | Кваттрекс | ТОВ "Фарма Старт" | Україна | |
| | Когніфен | АТ "Олайнфарм" | Латвія | |
| | Ноофен | АТ "Олайнфарм" | Латвія | |

Продовж. табл. 1.1

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|--------------------------|---------------------|--|------------------------|-------|
| | Ноофен | Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ" | Україна | |
| Кальцієва сіль | Когнум | ПАТ "Київський вітамінний завод" | Україна | 0,667 |
| ГОПАНТЕНОВО ї кислоти | Пантогам | ТОВ "ПК-ФАРМА ПРО" | Російська Федерація | |
| | Пантокальцин | ВАТ "Валента Фармацевтика" | Російська Федерація | |
| Гліцин | Гліцин- Здоров'я | Товариство з обмеженою відповідальністю "Фармацевтична компанія "Здоров'я" | Україна | 0,5 |
| | Гліцин | ТОВ "МНБК "БІОТИКИ" | Російська Федерація | |
| Церебролізи н | Церебролізін | ЕВЕР Нейро Фарма ГмбХ, | Австрія | 0 |
| Кортексин | Кортексин | ТОВ "ГЕРОФАРМ" | Російська Федерація | 0 |
| Фенілпіраце там | Ентроп | АТ "Олайнфарм" | Латвія | 0 |
| Праміпіраце там | Прамістар | КОСМО С.п.А. | Італія | 0 |

З табл. 1.1 видно, що найбільша конкуренція спостерігається серед виробників препаратів-аналогів з діючою речовиною цитиколіном.

При цьому слід зазначити, що ряд препаратів досліджуваної групи не мають аналогів по діючій речовині, тобто в даному сегменті відсутня конкуренція:

1. Церебrolізін (Австрія)
2. Кортексин (Росія)
3. Фенілпірацетам (Латвія)
4. Праміпірацетам (Італія)

Провівши аналіз фармацевтичного ринку ноотропів і препаратів, які впливають на метаболізм мозку, можливо зробити висновок, що найбільша конкуренція спостерігається серед фірм-виробників, які випускають аналоги з діючою речовиною цитиколін ($K_{vi}=0,947$). При цьому, в даному сегменті ринку 8 українських виробників ведуть конкуренцію: ПАТ «Галичфарм» м. Львів, ПАТ «Київмедпрепарат», ТОВ "АСТРАФАРМ», ПАТ «Фармак» (м. Київ), ТОВ "Юрія-Фарм", ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", ТОВ "НІКО", а також Товариство з обмеженою відповідальністю фірма "Новофарм-Біосинтез". Також треба відмітити високу конкуренцію між фірмами, що випускають препарати-аналогі таких діючих речовин, як пірацетам ($K_{vi}=0,923$), вінпоцетин ($K_{vi}=0,9$), фенібут ($K_{vi}=0,83$).

На наступному етапі проводився розрахунок частки сегменту регіонального фармацевтичного ринку, яку займає кожна з фірм-виробників ноотропних і психотропних лікарських засобів [160].

Розрахунок проводився за формулою:

$$d_{ij} = \frac{n_{ij}}{\sum n_{ij}}, \quad (1.2)$$

де n_{ij} - кількість препаратів j - тої фірми в i - сегменті;
 $\sum n_{ij}$ – сумарна кількість препаратів i -го сегмента

Результати дослідження зображені в таблиці 1.2:

Таблиця 1.2

**Частка сегменту фармацевтичного ринку України для кожного виробника
ноотропних препаратів**

| Підприємство-виробник | Країна | Частка сегменту d_{ij} |
|--|---------|--------------------------|
| 1 | 2 | 3 |
| ПАТ "Київмедпрепарат", | Україна | 0,02380 |
| ПАТ "Галичфарм" | Україна | 0,04762 |
| ТОВ "Фарма Старт" | Україна | 0,02380 |
| ПАТ "Київський вітамінний завод" | Україна | 0,02380 |
| Товариство з обмеженою відповідальністю "Фармацевтична компанія "Здоров'я" | Україна | 0,02380 |
| ПАТ "Фармак" | Україна | 0,07143 |
| ПрАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця" | Україна | 0,05555 |
| ПАТ "Вітаміни" | Україна | 0,00794 |
| ПАТ "Фітофарм" | Україна | 0,00794 |
| ТОВ "АСТРАФАРМ" | Україна | 0,02380 |
| ТОВ "НІР" | Україна | 0,00794 |
| Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ" | Україна | 0,01587 |
| ТОВ "НІКО" | Україна | 0,01587 |
| АТ "Лекхім-Харків" | Україна | 0,01587 |
| Публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод" | Україна | 0,01587 |

Продовж. табл. 1.2

| 1 | 2 | 3 |
|---|------------------------|---------|
| ПАТ "Хімфармзавод "Червона зірка" | Україна | 0,03174 |
| ТОВ "КУСУМ ФАРМ" | Україна | 0,00794 |
| ТОВ "Юрія-Фарм" | Україна | 0,01587 |
| Товариство з обмеженою відповідальністю фірма "Новофарм-Біосинтез" | Україна | 0,01587 |
| ТОВ "Дослідний завод "ГНЦЛС" (всі стадії виробництва, контроль якості, випуск серії), Україна ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я" (всі стадії виробництва, контроль якості) | Україна | 0,01587 |
| Феррер Інтернаціональ, С.А. | Іспанія | 0,07143 |
| АТ "Олайнфарм" | Латвія | 0,07143 |
| ТОВ "МНВК «БІОТИКИ» | Російська Федерація | 0,00794 |
| Балканфарма-Дупниця АТ | Болгарія | 0,01587 |
| ТОВ "ГЕРОФАРМ" | Російська Федерація | 0,01587 |
| ТОВ "ПК-ФАРМА ПРО" | Російська Федерація | 0,00794 |
| ВАТ "Нижфарм" | Російська Федерація | 0,01587 |
| РУП "Белмедпрепарати" | Республіка Білорусь | 0,00794 |

Продовж. табл. 1.2

| 1 | 2 | 3 |
|--|------------------------|---------|
| ВАТ "Валента Фармацевтика" | Російська Федерація | 0,00794 |
| ЕВЕР Нейро Фарма ГмбХ, Мерк КгаА і Ко. | Австрія | 0,00794 |
| Ейсика Фармасьютикалз С.Р.Л | Італія | 0,01587 |
| ЮСБ Фарма С.А. | Бельгія | 0,00794 |
| Біофарм Лтд | Польща | 0,01587 |
| ЗАТ Фармацевтичний завод ЕГІС | Угорщина | 0,03174 |
| Венус Ремедіс Лімітед | Індія | 0,00794 |
| Мепро Фармасьютикалс Приват Лімітед | Індія | 0,01587 |
| Кусум Хелтхкер Пвт Лтд | Індія | 0,02380 |
| Біохімічна італійська фармацевтична лабораторія Лізафарма С.П.А. | Італія | 0,00794 |
| ЕССЕТІ ФАРМАЧЕУТІЧІ СРЛ. | Італія | 0,03174 |
| Мітім С.р.л. | Італія | 0,01587 |
| Лабораторіо Фармачеутіко С.Т. С.р.л. | Італія | 0,02380 |
| КОСМО С.п.А. | Італія | 0,00794 |
| ВАТ "Гедеон Ріхтер" | Угорщина | 0,02380 |
| Мікро Лабс Лімітед | Індія | 0,01587 |
| ЗАТ "Обнінська хіміко- фармацевтична компанія" | Російська Федерація | 0,00794 |
| АДІФАРМ ЕАТ | Болгарія | 0,00794 |

Дані розрахунку показали, що найбільша питома вага в досліджуваному сегменті припадає на ПАТ "Фармак", Україна (9 лікарських форм), АТ "Олайнфарм", Латвія (9 лікарських форм) та Феррер Інтернаціональ, С.А., Іспанія (9 лікарських форм), та ЗАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця» м. Київ (8 лікарських форм). Всі інші виробники розподілися майже рівномірно, відповідно встановленим показникам. України представлена двадцятьма фірмами-виробниками, яким належить значна частка ринку (48%). Серед країн-імпортерів лідером є Італія. Також слід зазначити, що лікарські форми представлені в переважній більшості таблетками.

Наступним етапом роботи був аналіз фармацевтичного ринку анксиолітичних лікарських засобів. Варто підмітити, що даний сегмент ринку набагато менший, чим попередньо проаналізований фармацевтичний ринок. На даному ринці представлено 39 лікарських форм з восьми країн. Це Україна, Польща, Бельгія, Угорщина, Росія, Латвія та Франція. Частку країни в товарному асортименті представлено в рис 1.3.



Рис. 1.3 Частку країн в товарному асортименті анксиолітичних лікарських засобів

З рис. 1.3 випливає, що лідером даного ринку є Україна, яка займає 59%, на другому місці знаходяться Німеччина та Польща, які в свою чергу займають по 11%.

Українські виробники пропонують 22 лікарські форми, зарубіжні – 17, що становить 43,6% від загальної кількості всієї продукції. Це представлено на рис 1.4.

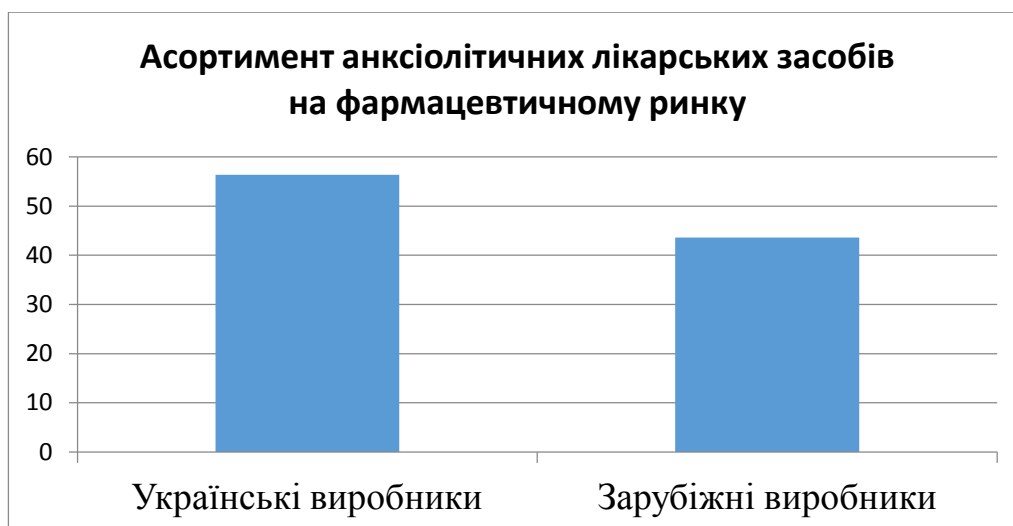


Рис. 1.4 Частка вітчизняних виробників, які виробляють препарати анксиолітичної дії

Як для ноотропних препаратів, так і для анксиолітиків було проведено визначення частки сегменту фармацевтичного ринку для кожного виробника. Результати дослідження зображено в таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

Частка сегменту фармацевтичного ринку України для кожного виробника анксиолітиків

| Підприємство-виробник | Країна | Частка сегменту ринку (d_{ij}) |
|--|---------|------------------------------------|
| 1 | 2 | 3 |
| Товариство з обмеженою відповідальністю "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу" | Україна | 0,1282 |
| Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ" | Україна | 0,4359 |
| Тархомінський фармацевтичний завод "Польфа" | Польща | 0,0513 |

Продовж. табл. 1.3

| 1 | 2 | 3 |
|--|------------------------|--------|
| Варшавський фармацевтичний завод Польфа АТ | Польща | 0,0513 |
| ЮСБ Фарма С.А. | Бельгія | 0,0256 |
| ЗАТ Фармацевтичний завод ЕГІС | Угорщина | 0,0513 |
| Салютас Фарма ГмбХ | Німеччина | 0,0769 |
| ЗАТ "Інноваційний науково-виробничий центр "Пептоген" | Російська Федерація | 0,0256 |
| Др. Вільмар Швабе ГмбХ і Ко. КГ (первинна та вторинна упаковка, випуск серій), Німеччина Каталент Німеччина Ебербах ГмбХ (виробництво продукції in bulk) | Німеччина | 0,0256 |
| АТ "Олайнфарм" | Латвія | 0,0769 |
| ВАТ "Фармстандарт-Лексредства" | Російська Федерація | 0,0256 |
| БІОКОДЕКС | Франція | 0,0256 |

Аналіз частки сегменту фармацевтичного ринку України для кожного виробника анксиолітиків показав, що найбільша питома вага на фармацевтичному ринку припадає на вітчизняних виробників, а саме: Товариство з обмеженою відповідальністю "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу" (5 лікарських форм), Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ"(17 лікарських форм). Серед іноземних підприємств треба виділити Салютас Фарма ГмбХ (3 лікарських форм), АТ "Олайнфарм" (3 лікарських форм), а також тархомінський фармацевтичний завод "Польфа" (2 лікарських форм), варшавський фармацевтичний завод Польфа АТ (2 лікарських форм). Всі інші виробники розподілися майже рівномірно, вони представлені на ринку одним або двома лікарськими препаратами. Незважаючи на те, що на ринці тільки два вітчизняних

виробника, вони займають 56,4% ринку анкісіолітичних лікарських засобів. Лідерами серед країн-імпортерів є Німеччина та Польща.

Також був проведений аналіз використання лікарських форм серед виробників анкісіолітиків. Слід зазначити, що лікарські форми представлені в переважній більшості таблетками. Дані аналізу представлено на рис. 1.5.



Рис. 1.5 Лікарські форми анкісіолітичних препаратів представлені на ринку України

Завершальним етапом аналізу фармацевтичного ринку анкісіолітичних засобів був аналіз конкурентоспроможності виробника на фармацевтичному ринку анкісіолітичних лікарських засобів.

При цьому досліджуванні лікарські форми було згруповано за діючою речовиною:

- група діазепаму
- група феназепаму
- група буспірону
- група мебікару

В дослідженні не враховували комбіновані лікарські засоби, так як вони не мають аналогів за складом діючих речовин.

Результати розрахунку представлені в табл. 1.4.

Таблиця 1.4

Показники коефіцієнта напруженості між виробниками лікарських засобів з анксиолітичною активністю

| Діюча речовина | Найменування препарату | Виробник | Країна виробника | Коефіцієнт напруженості K_{vi} |
|----------------|------------------------|--|------------------|----------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1. Діазепам | 1. ДІАЗЕПАМ-ЗН | ТОВ "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу" | Україна | 0,8571 |
| | 2. ДІАЗЕПАМ | Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ" | Україна | |
| | 3. РЕЛІУМ | Тархомінський фармацевтичний завод "Польфа" АТ | Польща | |
| | 4. РЕЛАНІУМ | Варшавський фармацевтичний завод Польфа АТ | Польща | |
| | 5. СИБАЗОН | ТОВ "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу" | Україна | |
| | 6. СИБАЗОН® ІС | Товариство з додатковою | Україна | |

Продовж. табл. 1.4

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|----------------------------|-----------------------|--|---------------|-----|
| | | відповідальністю "ІНТЕРХІМ" | | |
| | 7. СИБАЗОН | ТОВ "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу" | Україна | |
| 2. Мебікар | 1. АДАПТОЛ® | АТ "Олайнфарм" | Латвія | 0,5 |
| | 2. МЕБІКАР ІС | Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ" | Україна | |
| 3. Феназепам | 1. ФАЗЕПАМ- ЗН | Товариство з обмеженою відповідальністю "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу" | Україна | 0,5 |
| | 2. ФЕНАЗЕПА М® ІС | Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ" | Україна | |
| 4. Буспірон гідрохлорид | 1. СПІТОМІН® | ЗАТ Фармацевтичний завод ЕГІС | Угорщина | 0,5 |
| | 2. БУСПРОН САНДОЗ® | Салютас Фарма ГмбХ | Німеччи на | |

З табл. 1.4 видно, що найбільша конкуренція спостерігається серед виробників препаратів-аналогів з діючою речовиною діазепам ($K_{vi}=0,8571$).

При цьому слід зазначити, що ряд препаратів досліджуваної групи не мають аналогів по діючій речовині, тобто в даному сегменті відсутня конкуренція:

1. Гідазепам (Україна)
2. Оксазепам (Польща)
3. Хлордіазепоксид (Польща)
4. Гідроксизин дигідрохлорид (БельгіяІталія)
5. Селанк (Росія)
6. Олія лаванди (Німеччина)

Провівши аналіз фармацевтичного ринку анксиолітиків треба зробити висновок, що найбільша конкуренція спостерігається серед фірм-виробників, які випускають аналоги з діючою речовиною діазепам ($K_{vi} = 0,8571$). При цьому, в даному сегменті ринку 2 українських виробників ведуть конкуренцію: Товариство з обмеженою відповідальністю "Харківське фармацевтичне підприємство "Здоров'я народу", Товариство з додатковою відповідальністю "ІНТЕРХІМ". Також треба відмітити конкуренцію між фірмами, що випускають препарати-аналоги таких діючих речовин, як буспірон гідрохлорид ($K_{vi} = 0,5$), феназепам ($K_{vi} = 0,5$), мебікар ($K_{vi}=0,5$).

Виходячи з вищенаведеного, можна зробити висновок, що ринок ноотропних та анксиолітичних препаратів України представлений як вітчизняними, так і зарубіжними виробниками. Серед зарубіжних виробників переважають компанії з Індії, Італії, Росії, Іспанії, Німеччини, Польщі. Препарати даної фармакологічної групи представлені в різних лікарських формах, а саме у вигляді таблеток, капсул, ін'єкційних розчинів та ін. Порівнюючи з іншими фармакологічними групами, бачимо, що досліджуваний сегмент ринку не має такого широкого асортименту за діючими речовинами, як, наприклад, ринок серцево-судинних або діуретичних препаратів. Тому доцільно створювати нові лікарські препарати саме в цьому сегменті ринку і розширяти асортимент цієї фармакологічної групи.

1.3 Фармакологічні властивості L-триптофану та його застосування в медичній практиці

Клінічні спостереження та експериментальні дані підтверджують два важливих фармакологічних аспекти емоційного стресу, які обов'язково треба враховувати в практичній лікувальній роботі: емоційно-стресовий фон, який супроводжує різні захворювання, і змінює при цьому чутливість організму до дії лікарських засобів [28, 112].

Психологічне напруження, виникаюче під впливом стресу, визиває порушення діяльності ряду найбільш чутливих до стресу органів і систем (стрес-реалізуюча система), що проявляється функціональними, біохімічними, і навіть структурними змінами, які істотно ускладнюють протікання основного захворювання, роблять його більш важким. При деяких умовах стрес може стати ланкою патогенезу раніше описаних цереброваскулярних патологій. Цей аспект обґрунтовує необхідність створення антистресових засобів в комплексному лікуванні хворих. Значне число лікарських засобів, які використовуються для профілактики і лікування стресогенних порушень, дозволяє в кожній конкретній ситуації, визначивши можливості конкретного організму, підібрати антистресовий препарат.

Антистресовий ефект може досягатися різними шляхами: зменшення впливу стресу на організм (стрес-протекція), збільшення супротиву організму і забезпечення його життєдіяльності в умовах стресу (адаптація), посилення функціональних можливостей органів (фармакодинаміка) та енерго-метаболічне забезпечення тканин в умовах стресових перенавантажень (актопротекція), а також попередження клінічних ознак стресу зі сторони окремих систем та органів (симптоматичні засоби). Асортимент антистресових лікарських засобів надзвичайно широкий, до таких препаратів відносять нейролептики, транквілізатори, антидепресанти, ноотропи, психомоторні стимулятори (аналептики). Дані фармакологічні підгрупи відносять до стрес-протекторів. На жаль, дані лікарські засоби крім позитивної фармакологічної дії на протікання стресу мають токсичні та побічні ефекти. Так, від прийому транквілізаторів в пацієнтів можуть спостерігатися небажана млявість, сонливість, зниження уваги, підвищення м'язового

тону, погіршення пам'яті. Під час прийому антидепресантів можуть виникати нудота, сухість в ротовій порожнині, зниження апетиту, блювота, діарея, запори. Поряд з цим можливі небажані явища з боку вегетативної і центральної нервової системи: запаморочення, головні болі, безсоння, посилення (або поява) тривоги, нервозність, почуття внутрішньої напруги. Тобто препарати даної фармакологічної групи мають ряд серйозних побічних ефектів, і застосування їх в складі фіксованої комбінації небажане [138].

Тому завданням було знайти високоефективну речовину з анксиолітичною, стрес-протекторною дією. Цікавість визиває лікарський засіб з групи нейроамінокислот. Даний засіб - L-триптофан. Ця незамінна амінокислота добре зарекомендована в країнах Західної Європи, як «безпечний» анксиолітик [68].

Триптофан (β -(β -індол)- α -амінопропіонова кислота) - ароматична альфа-амінокислота. Існує в двох оптично ізомерних формах - L і D і у вигляді рацемату (DL).

Біологічну активність має тільки L-ізомер триптофану, який є протеїногенною амінокислотою і входить до складу білків всіх відомих живих організмів. Відноситься до ряду гідрофобних амінокислот, оскільки містить ароматичне ядро індолу. Бере участь в гідрофобних і стекінг-взаємодіях.

Вільний L-триптофан в сироватці крові зв'язується з альбумінами. Підвищений вміст триптофану в альбуміновій фракції сироватки крові служить резервом вільного триптофану, який може від'єднуватися і залучатися до проміжного обміну

З літературних джерел відомо, що більша частина триптофану, яка поступає в організм, в основному використовується для біосинтезу білків, біогенного аміну серотоніну і гормону мелатоніну, ніацину (вітамін PP).

Серотонін не просто так називають «гормоном щастя», він дійсно відповідальний за наш гарний настрій. Завдяки збільшенню концентрації виробленого серотоніну в організмі, ми відчуваємо себе в гарному настрої, відчуваємо приплив сил і настрою, життя відчувається яскравішим і цікавішим, підвищується опірність стресам. Так що виходить, що відчуття щастя пов'язане з

виробленням серотоніну. Причому залежність ця обоюдна, тобто не тільки наш настрій підвищується при збільшенні серотоніну, але і при правильному позитивному настрої збільшується синтез серотоніну. Дія триптофану запускає ці процеси, і нормалізує синтез серотоніну. Таким чином буде проявлятися стрес-протекторна, а також анксиолітична, заспокійлива дія препарату [232].

Крім того, в темний час доби серотонін перетворюється в мелатонін - гормон епіфіза, що регулює добові та сезонні зміни метаболізму організму і бере участь в регуляції репродуктивної функції. Мелатонін має антиоксидантну дію і може пригнічувати процеси перекисного окиснення ліпідів. Також було підтверджено, що у мелатоніну, крім інших, присутній протипухлинний ефект - він знижує здатність ракових клітин до розмноження. Високий рівень мелатоніну в темний час доби виключають ключові механізми зростання пухлинних клітин.

Отже, застосування в лікарській формі L-триптофану нормалізує не тільки обмін даної амінокислоти, а й її похідних, які утворюються при подальших біохімічних перетвореннях - серотоніну й мелатоніну.

Виходячи з вищесказаного, комбінація L-триптофану з антиоксидантами в одній лікарській формі прогнозовано буде проявляти анксиолітичну, стрес-протекторну дію при порушеннях біоритму, поганому настрої, панічних атаках, стресах, депресивних, obsesивно-компульсивних станах, емоційному напруженні, відчутті страху, дисформії, алкогольній, опіюїдній, барбітуратній інтоксикаціях. А як наслідок цього попередження виникнення цереброваскулярних патологій стресової етіології (різні види енцефалопатій та різновиди інсульту) і захворювань ЦНС (психози, неврози). Також можливе застосування препарату в комплексній терапії в онкології для лікування злоякісних новоутворень в молочній залозі.

1.4 Медичне застосування тіотриазоліну, а також аспекти його медичного застосування

В 1982-94 рр. на основі сучасних представлень про дискординацію циклу Кребса, активацію анаеробного гліколізу, ініціювання перекисного окиснення

ліпідів, пригнічення активності антиоксидантних ферментів був створений перший оригінальний вітчизняний препарат – тіотриазолін [27, 67, 100, 146, 167].

Він зайняв гідне місце в арсеналі метаболітотропних та антиоксидантних лікарських засобів. Тіотриазолін має широкий спектр фармакологічної дії, що особливо важливо для клінічної фармакології. Він проявляє мембраностабілізуючу, протиішемічну, антиаритмічну, імуномодельючу, протизапальну, кардіопротекторну, гепатопротекторну, нефропротекторну, а найголовніше антиоксидантну та нейропротекторну дії [30, 50, 104, 105, 162].

Завдяки вивченню механізму дії тіотриазоліна в період 1983-1995 років на кафедрі фармакології Запорізького державного медичного університету було встановлено, що в основі ефективності даного препарату лежить його здатність знижувати рівень пригнічення окиснювальних процесів в циклі Кребса, посилювати компенсаторну активацію анаеробного гліколізу, збільшувати внутрішньоклітинний фонд АТФ (за рахунок окиснювальної продукції енергії на трикарбоновій ділянці і впливу на активацію дикарбанової ділянки), стабілізувати метаболізм клітини [116, 134, 152].

Експериментальне моделювання *in vivo* та *in vitro* показало ряд важливих властивостей тіотриазоліну: низька токсичність, висока цитопротекторна активність (кардіоміоцити, гепатоцити, нейроцити), універсалізм механізму дії препарату відображає моделювальна дія в умовах норми та розвитку патології.

Найбільшу цікавість в нашій роботі визиває антиоксидантна дія даного препарату. На думку ряду дослідників, дана біологічна дія полягає в активації антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази, що сприяє більш економічній витраті ендогеного антиоксиданту - α -токоферолу, гальмує утворення проміжних і кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів, триенкетонів, малонового диальдегіду. Настільки висока антиоксидантна активність препарату, яка реалізується вже на початкових етапах вільнорадикального окиснення, і реєструється в умовах моделювання різних патологічних процесів, дозволила зробити припущення про наявність в механізмі антиоксидантної дії тіотриазоліна здатності «вловлювати» такі

АФК, як супероксидрадикал та пероксинітрил [5]. Дана дія тіотриазоліна проявляється за рахунок того, що в його структурі міститься тіольна група, яка надає всій молекулі високі відновні властивості і здатність приймати від АФК електрони. Даний препарат не тільки уловлює АФК за рахунок відновних властивостей, а й гальмує шляхи їх утворення [67, 100, 149].

З моменту дозволу на застосування в клініці тіотриазоліна пройшло близько 22 років, і препарат завдяки своїм унікальним властивостям почав широко застосовуватися в різних сферах медичної практики. Він став популярним не тільки в Україні, а й за її межами: так тіотриазолін отримав клінічне застосування в Білорусії, Казахстані, Узбекистані, Молдові, тощо.

Даний препарат широко застосовується в кардіології (інфаркт міокарду, стенокардія, ішемічна хвороба серця, аритмії, серцева недостатність, ішемічних уражень серця, тощо), педіатрії для лікування серцево-судинних, неврологічних захворювань у дітей, неврології (черепно-мозкові травми, вегето-судинна дистонія, дискуляторна енцефалопатія, різні види інсульту, органічні захворювання мозку, тощо), гастроентерології (вірусні та аутоімунні гепатити, лікарські та алкогольні ураження печінки, гемохроматоз, цироз печінки), ревматології (ревматоїдний артрит) та в клініці інфекційних хвороб [67, 146].

Одною з важливих характеристик тіотриазоліну є його антиоксидантна властивість, яка дозволяє корегувати схеми лікування системних захворювань. Дана властивість відкриває нове напрямлення даного препарату: створення комбінованих препаратів з вже відомими, добре зарекомендованими лікарськими засобами.

1.5 Обґрунтування створення нового комбінованого лікарського засобу на основі L-триптофану та тіотриазоліну

Проблема стресу, психологічних розладів на даний час набуває все більшої актуальності. Так зростає число захворювань стресової етіології, погіршується працездатність активної частини населення. Стрес лежить в основі таких патологій ЦНС і серцево-судинної систем, як інфаркт міокарда, гіпертонічна хвороба, ішемічні

та геморагічні інсульти, а також неврози, безсоння, депресії, зниження фізичної і розумової працездатності [230]. До теперішнього часу арсенал препаратів з стрес-протекторною активністю обмежений анксиолітиками, седативними засобами і деякими антиоксидантами, ефективність яких не підтверджена клінічно. Також, застосування даних препаратів до сьогодні не вирішила даної проблеми, і її актуальність стоїть гостро. Метою сучасної медицини є створення нових високоактивних, конкурентоспроможних лікарських засобів.

В сучасності є велика кількість високоактивних лікарських препаратів, які застосовуються в клінічній психіатрії. При вищезазначених захворюваннях в медичній практиці використовуються нейролептики, антидепресанти, анксиолітики. Але на превеликий жаль, препарати даних груп сильнодіючі й токсичні для людського організму [139].

В наш час успіхами в створенні нових активних лікарських препаратів є не тільки синтез хімічних сполук з високою біологічною активністю, а й поєднання в фіксовані комбінації раніше існуючих препаратів з метою покращення властивостей основної діючої речовини. Так, в розробці даних лікарських форм перспективним підходом є зв'язування діючої речовини з антиоксидантами, які здатні потенціювати основний фармакологічний ефект діючої речовини і зменшувати прояви її токсичних реакцій. Зараз накопичено багато досліджень по створенню фіксованих комбінацій з антиоксидантами та встановлено особливу перевагу антиоксиданту тіотриазоліна [159]. Раніше проведені дослідження показали проявлення ефекту комплексоутворення антиритміків, ноотропів, НПЗЗ, антиконвульсантів з антиоксидантами і, особливо, з тіотриазоліном. Це дозволяє використати меншу дозу основної діючої речовини, при цьому не втратити її фармакологічну активність. Тіотриазолін, знижуючи гіперпродукцію активних форм кисню, гальмує окислювальну модифікацію білкових структур рецепторів, іонних каналів, ферментів, факторів транскрипції і активує антиоксидантну систему ферментів. Своїм метоболітотропним ефектом тіотриазолін, направляє свою дію на збереження окислювальної продукції енергії, зменшення вираженості мітохондріальної дисфункції і апоптозу. Гепатопротекторні властивості даного антиоксиданту забезпечують безпеку майбутніх комбінацій за рахунок зниження токсичності і побічних ефектів [159].

Зважаючи на високу добову дозу триптофану в таблетках та капсулах в сучасних препаратах (500 та 1000мг), а також на серйозність його побічних ефектів при високому дозуванні (сонливість, сухість в ротовій порожнині, нудота, запаморочення, діарея, головний біль, зниження апетиту, симптоми «серотонінового» синдрому, а саме тремор, міоклонуси, гіперактивність) введення в склад фіксованої комбінації з L-триптофаном тіотриазоліну може підвищити безпечність лікування стресу, емоційного напруження, панічних атак, тривоги, депресій, поганого настрою, безсоння за рахунок потенціювання основної фармакологічної дії даної амінокислоти [99, 130, 229].

Виходячи з вище наведеного можна зробити висновок, що розробка нового, вітчизняного, оригінального лікарського засобу для лікування та профілактики стресу, а саме, комбінованого, таблеткованого лікарського препарату на основі L-триптофан з антиоксидантом широкого спектра дії - тіотриазоліном є своєчасним завданням вітчизняної медицини та фармації.

1.6 Успішні поєднання L-триптофану та тіотриазоліну в медичній практиці

В світовій медичній практиці відоме успішне застосування L-триптофану в комбінації з іншими діючими речовинами. Одним з таких лікарських засобів є Прекурніл. Даний препарат містить важливі амінокислоти і високу дозу тирозину і триптофану, оскільки ці амінокислоти вступають в конкуренцію з фенілаланіном за один і той же рецептор гематоенцефалітного бар'єру (ГБ). Блокуючий ефект тирозину і триптофану запобігає проникненню фенілаланіну через ГБ і таким чином від попадання в мозок. Відомо, що високий рівень фенілаланіну в потоці крові може бути небезпечним або шкідливим для здоров'я людини, тому що є етіологічним фактором виникнення фенілкетонурії [190].

Різні дослідження, підтвердили той факт, що прийом таблеток Прекурніл як альтернативне лікування для пацієнтів з фенілкетонурією у віці старше 15 років є безпечною і практично застосованою альтернативною традиційної терапії при даному стані.

Також досліджувана амінокислота входить до складу комплексного лікарського засобу Нейраміну. Даний препарат представлений такою лікарською формою, як капсули.

Кожна капсула в своєму складі містить: L-триптофан - 125мг, гліцин - 50мг, L-аргініна, L-аспарат - 25мг; Даний засіб підвищує розумову працездатність, усуває депресивні порушення і підвищену дратівливість, нормалізує сон, покращує настрій, полегшує досягнення відчуття насичення при споживанні їжі та сприяє зниженню маси тіла. Нейрамін сприяє нейтралізації і виведення з організму аміаку. В сучасній медицині даний препарат використовується в комплексній терапії депресивних станів легкого ступеня тяжкості в якості доповнення до антидепресантів, а також комплексній терапії неврастенії та порушень сну неорганічної природи. Призначення даного препарату пацієнтам з депресивними розладами може здійснюватися тільки лікарем з досвідом лікування даних захворювань. Під час прийому лікарського засобу необхідно спостереження лікаря.

Великим розмаїттям представлені засоби парантерального живлення, в склад яких входить L-триптофан. До даної групи треба віднести Аміновен Інфант, Аміноплазмаль гепа, Аміноплазмаль E15, Аміностерил® KE, Аміностерил Н-Гепа, Інфезол, Кетостерил, Кустодіол, Моріамін Форте. До складу даних засобів входить спеціально підібраний склад амінокислот в комплексі з мінеральними речовинами, а також вітамінами. Відмінністю даних препаратів являється дозування даних амінокислот, використання різних лікарських форм, додавання до складу інших мінеральних компонентів та вітамінів [138].

За останні 25 років вивчення тіотриазоліну дослідники спробували розкрити особливості застосування даного лікарського препарату та його лікарських форм в терапевтичній, хірургічній, гінекологічній і частково в педіатричній практиці. З однієї сторони, подібний широкий спектр використання тіотриазоліну повинен відлякувати лікарів, але на практиці не має сумніву в доцільності його застосування в комплексній терапії при різноманітних захворюваннях. Широке застосування препарату обумовлене його унікальними властивостями проявляти антиоксидантну, метаболітотропну, протиішемічну, протизапальну, мембранопротекторну, імуномодельную, ранозагоювальну активність при тих чи інших умовах лікування патології різноманітних органів [27, 167]. Надзвичайно низька токсичність препарату, практична відсутність протипоказань, широкий спектр фармакологічної дії і висока сумісність з іншими препаратами різноманітних фармакологічних груп

дозволяє варіювати лікарям при призначенні тіотриазоліну, як в якості монотерапії, так і в комплексному лікуванні різних патологій.

Наука не стоїть на місці, як наслідок вже створено багато різноманітних комплексних лікарських засобів до складу яких входить тіотриазолін. Один з таких – Тіодарон [27]. Це новий комплексний препарат аміодарону та тіотриазоліну, який проявляє антиаритмічну активність. Завдяки гепатопротекторній дії тіотриазоліну, знижується токсична дія аміодарону, і тим самим значно покращується переносимість даної комбінації в порівнянні з монопрепаратом. Даний лікарський засіб добре зарекомендований та активно використовується лікарями в кардіологічній практиці при шлуночкової тахікардії, яка загрожує життю хворого, симптоматичній шлуночкової тахікардії, яка призводить до непрацездатності, суправентрикулярній тахікардії, яка потребує лікування, і в тих випадках, коли інші препарати не надають терапевтичного ефекту або протипоказані, фібриляції шлуночків.

Таким же попитом, як Тіодарон, тільки вже в неврологічній практиці користуються лікарські засоби - «Тіоцетам» та «Тіоцетам Форте» [27]. Це комплексні препарати тіотриазоліну та пірацетаму, які вже використовуються більш ніж десять років у клінічній практиці. Вони швидко завоювали популярність у лікарів, оскільки проявляють високу ефективність і мають безпечність як в гострий період неврологічних захворювань (інсульт, черепно-мозкова травма, асфіксія), так і в період реконвалесценції. Дані препарати покращують когнітивні функції у дорослих - після інсульту, черепно-мозкових травмах, у дітей з органічними патологіями, а також в осіб похилого та старечого віку, що дуже важливо в соціальному плані.

Також на сьогоднішній час досліджуються і інші комбіновані лікарські засоби тіотриазоліну – Індотрил, Карбатрил, де крім вищезазначеного антиоксиданту в комбінації знаходяться індометацин та карбамазепін відповідно [71, 85]. Вже встановлено, що при використанні даних комбінацій досягалась та ж ефективність, що й в монопрепаратах, але при меншому дозуванні, звідси й менша токсичність даних комбінованих лікарських засобів.

Зважаючи на фармакологічні властивості L-триптофану та тіотриазоліну, як в монопрепаратах, так і в комбінованих лікарських засобах можливо прогнозувати, що їх сумісне поєднання може знайти продовження в експериментальних дослідженнях для створення їх сумісної комбінації в новому таблетковому засобі.

Виходячи з вище наведеного можна зробити висновок, що розробка нового, вітчизняного, оригінального лікарського засобу, а саме, комбінованого, таблеткованого лікарського препарату на основі L-триптофану з антиоксидантом широкого спектра дії - тіотриазоліном є своєчасним завданням вітчизняної медицини та фармації.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Беленічев І. Ф., Мазур І. А., Стеблюк В. С. Комбінований лікарський засіб анксиолітичної стрес-протективної, ноотропної і антиоксидантної дії: пат. № 112513 Україна. № № а 2016 04961; заявл. 04.05. 2016; опубл. 12.09.2016, Бюл. № 17 (Особистий внесок – приймав участь в патентному пошуку та в оформленні патенту).

2. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Актуальність створення нового комбінованого таблеткованого нейропсихотропного лікарського засобу. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня 2016 р) : у 2 т. Т. 1. Харків : НФаУ, 2016. С. 373.

3. Сорокопуд Л. Ю., Борсук С. О. Вивчення фармацевтичного ринку анксиолітичних та ноотропних препаратів. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* (до 50-річчя заснування ЗДМУ) : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. (18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р.). Запоріжжя, 2018. С. 172.

РОЗДІЛ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Об'єкти та методи дослідження

Одним з пріоритетних напрямків розвитку сучасної медицини і фармакології є створення нових високоефективних лікарських препаратів. Першочерговим завданням при створенні є ретельний підбір високоактивних діючих речовин, які володіють високою фармакологічною активністю при різноманітних патологіях. Також важливим елементом є вибір потрібної лікарської форми, технології виготовлення, а також допоміжних речовин. Це потрібно для того, щоб лікарські речовини в повному обсязі виявляли терапевтичний потенціал при лікуванні необхідних захворювань. Важливим також є встановлення якості лікарського засобу на різних етапах його розробки та дослідженнях.

2.1.1 Характеристика діючої та допоміжних речовин

В дослідженнях використовувалися основні та допоміжні речовини, які повністю відповідали вимогам нормативно-технічної документації, як за якісними, так і за кількісними показниками [52].

Триптофан - (S)-2-Аміно-3-(1H-індол-3-іл)пропанова кислота (рис. 2.1), кристалічний або аморфний порошок білого або майже білого кольору. Помірно розчинний у воді Р, мало розчинний в етанолі (96%) Р. розчиняється в розведених мінеральних кислотах і розведених розчинах лужних металів [47].

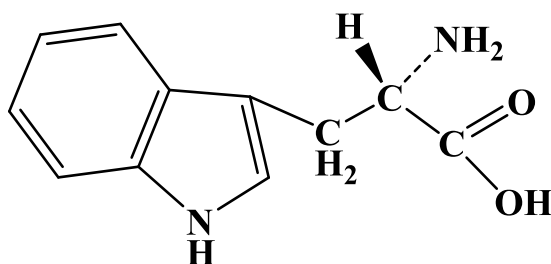


Рис. 2.1 Хімічна формула L-триптофану

В дослідженні була використана субстанція L-триптофану (виробник: Sigma-Aldrich, США). В якості робочого стандартного зразку використовували стандартний зразок (СЗ): L-триптофану - фірми Sigma-Aldrich, США, серія: 00120797U (СЗ L-триптофану отримано з АТ «Лекхім» м. Харків).

Тіотриазолін, морфолінію тіоазотат (ДФУ, 2 Вид., Доп. 1, с. 318) – морфолінію 3-метил-1,2,4,-триазоліл-5-тіоацетат (рис. 2.2), кристалічний порошок білого або майже білого кольору. Легко розчинний у воді Р, мало розчинний в етанолі (96%) Р, практично не розчинний в ацетоні Р, метиленхлориді Р, і гексані Р. М.м. 260,3 [46].

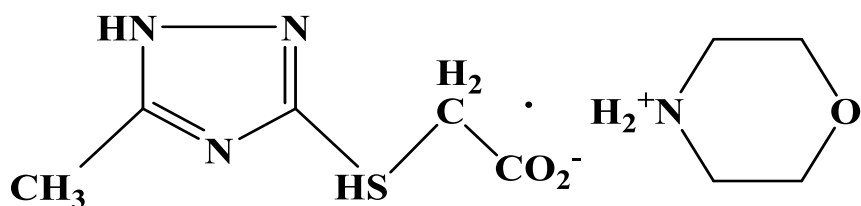


Рис. 2.2 Хімічна формула тіотриазоліну

В дослідженні використовували субстанцію тіотриазоліну (виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України). В якості робочого стандартного зразку використовували стандартний зразок (СЗ): тіотриазоліну – виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія: 410609.

2.1.2 Характеристика допоміжних речовин

Для створення нового комбінованого лікарського засобу на основі L-триптофану та тіотриазоліну були проаналізовані наступні групи допоміжних речовин:

1. Наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози 101 та картопляного крохмалю;
2. Розпушувачі;
3. Зв'язуючі розчини;
4. Солюбілізатори;
5. Змащувальні антифрикційні речовини;

6. Плівкове покриття.

Дані допоміжні речовини використовуються для виготовлення таблеткових лікарських форм методом вологої грануляції з послідуочим нанесенням плівкового покриття. В дослідженні використовувалися допоміжні речовини вітчизняного і закордонного виробництва, які присутні на сучасному фармацевтичному ринку.

Характеристика наповнювачів як об'єктів дослідження. Використовувалась суміш, основою якої були МКЦ 101, крохмаль картопляний.

1. *МКЦ 101 (мікрокристалічна целюлоза), Microcel® MC 101, Blanver Farmaceutica Ltda, Бразилія, Є.Ф. 01/2004:0316.* Дрібний порошок з середнім розміром часток 50 мікрон, вологістю до 7 %, об'ємна щільність рівна 0,26-0,45 г/см³, кут насипу - менше 45° [57, 184, 220, 234].

2. *Крохмаль картопляний (Фірма "Avebe", Німеччина), ЄФ 01/2005:1267.* Білий, хрусткий, аморфний і дуже гігроскопічний порошок без смаку і запаху. Нерозчинний у холодній воді, ефірі, спирті; у гарячій воді набухає і утворює колоїдний розчин-крохмальний клейстер [131, 185, 186].

3. *Магнію карбонат основний, AMS Fine Chemicals, Індія, ДФУ вид. 2, том 2, ст. 417.* Порошок білого або майже білого кольору. Практично не розчинний у воді Р. Розчиняється в розведених кислотах із бурхливим виділенням бульбашок газу [42,48].

4. *Кальцію дигідрофосфат безводний, JRS Pharma, Німеччина, ЄФ 01/2005:0981.* Білий кристалічний порошок, без запаху. Розчинний у воді [184, 187].

5. *Неуселін від Fuji chemical industry, Японія CO. LTD: USP30-NF25, P. 1247.* Аморфна форма алюмініометасилікату [137, 224, 226].

6. *Лактоза моногідрат 200 (молочний цукор), Sinoway Industrial Co. Ltd, Китай: ЄФ. 2004 01/2004, С. 0187.* Кристалічний порошок без кольору, розчинний у воді [15, 184, 187].

Характеристика розпушувачів як об'єктів дослідження. В дослідженні використовувалися 4 різні як за фізико-хімічними, так і за технологічними властивостями речовини.

1. *Натрію кроскармелоза - Blanver Farmoquimica LTDA, Бразилія.* Подрібнений порошок без запаху, білого або білого з сіруватим відтінком кольору. Не розчинний у воді Р, але при контакті з водою швидко набухає, практично нерозчинний в ацетоні Р, етанолі Р та толуолі Р [European Pharmacopoeia. – 6-th ed. – Strasbourg : EDQM, 2007. – P. 1663–1664] [185, 186].

2. *Поліплаздон XL-10, Polyplasdon®XL-10, BASF, Німеччина, Japanese Pharmacopoeia Excipients Handbook.* Нерозчинний полівінілпіролідон з середнім розміром часток 30 - 50 мкм [213, 224, 225].

3. *Натрію крохмальгліколят, EXPLOSOL® A, Blanver Farmoquimica Ltda, Бразилія, ЄФ 07/2005:0983.* Натрієва сіль карбоксиметильованого крохмалю. Білий аморфний порошок без смаку і запаху, не розчинний в спирті, ефірі [184, 185].

4. *Натрію карбоксиметилкрохмаль, Itacel Farmoquimica Ltda, Бразилія, Japanese Pharmacopoeia, Excipients Handbook, ЄФ 07/2005:0983.* Білий аморфний порошок без смаку і запаху, не розчинний в спирті, ефірі [184, 185].

Зв'язуючі розчини як об'єкти дослідження. В дослідженнях використовувалися 4 різні за властивостями сполуки, з яких виготовлялися зв'язуючі розчини.

1. Крохмальний клейстер був виготовлений з крохмалю картопляного фірми "Avebe", Німеччина. Характеристика приведена вище.

2. *Гідроксипропілметилцелюлоза марки Pharmacoat 603, фірма Syntapharm, Німеччина, ДФУ Доп. 1. с. 400, Japanese Pharmacopoeia Excipients Handbook.* Білі або майже білі порошкоподібні пластівці або гранульований порошок, без запаху або з легким кислуватим запахом і ледве помітним смаком. Швидко розчинний в суміші ацетону та метанолу або етанолу (1:1), у суміші метанолу та дихлорметану (1:1), водних лугах. Практично нерозчинний у воді й дуже малорозчинний в ацетоні [215, 225].

3. *МЦ 15, мікрокристалічна целюлоза, Biogrand GmbH, Німеччина, USP30-NF25, P.1094, PhEur, BP, JP.* Білий без смаку і запаху кристалічний порошок, що складається з пористих частинок; мало розчинний у 5 % розчині натрію гідроксиду Р; практично не розчинний у воді Р, розведених кислотах Р і в більшості органічних

розчинників [European Pharmacopoeia. – 5-th ed. – Strasbourg : Council of Europe, 2005. – 3503 p.] [184, 187].

4. *Повідон. Полівінілпіролідон.* Applichem, Німеччина. Порошок або пластинки білого або жовтувато-білого кольору. Гігроскопічний. Легко розчинний у воді, 96% спирті і метанолі, мало розчинний в ацетоні [171, 224].

Характеристика солюбілізаторів як об'єктів дослідження. При виготовленні і дослідженні серій таблеток використовувались три різних за властивостями сполуки з групи солюбілізаторів. *Примітка:* в деяких серіях дана група допоміжних речовин не використовувалась.

Твін-80. Полісорбат 80. Applichem, Німеччина. Суміш неповних складних ефірів жирних кислот, головним чином, олеїнової кислоти з сорбітом та їх ангідриди етоксильовані з приблизно 20 моль етиленоксиду на кожен моль сорбіту та ангідридів сорбіту. Жирна, жовтуватого або коричнево-жовтого кольору, прозора рідина. Змішується з водою, етанолом, з етилацетатом і метанолом, практично не розчинний в жирних оліях і в рідкому парафіні. [European Pharmacopoeia. – 5-th ed. – Strasbourg : Council of Europe, 2005. – 3503 p.] [184, 185].

Напрію лаурилсульфат, Kolliphor SLS, BASF®, Німеччина ЄФ 01/2005:0098. Білі або кремові з жовтуватим відтінком кристали, лусочки або порошок, мильний на дотик та гіркий на смак, із слабким запахом. Розчинний у воді, практично не розчиняється у хлороформі та воді [184,185].

Аеросил, Evonik Industries, Німеччина, USP30-NF25, P. 1205, PhEur, BP: білий, аморфний, непористий, індиферентний порошок, що розпушується, містить 99,3 % SiO₂ Аеросил не розчиняється у воді Р, кислотах Р і розведених лугах Р [184].

Кальцію стеарат, Sigma-Aldrich, США USP30-NF25, P. 1077, PhEur: суміш кальцієвих солей жирних кислот, переважно стеаринової та пальмітинової, які містять еквівалентну кількість кальцію оксиду 9,0-10,5%. Являє собою дрібнодисперсний жирний на дотик порошок білого або жовтувато-білого кольору з незначним запахом. Практично не розчинний в етанолі 96 % Р, хлороформі Р, ацетоні Р та воді Р; помірно розчинний у підігрітому етанолі Р та рослинних мінеральних оліях Р [184, 185].

Характеристика речовин, що входять до складу плівкового покриття, як об'єктів дослідження. Як плівкове покриття при виробництві таблеток застосовувалась суміш для покриття «Opadry II Yellow» 33G22623, що містить: гідроксипропілметилцелюлоза 2910; титану діоксид; заліза оксид жовтий; ПЕГ (макрогол); тальк; заліза оксид червоний [191].

2.2. Характеристика методів дослідження

Оцінку технологічних параметрів проводили загальноприйнятими методами згідно вимог ДФУ.

Зовнішній вигляд таблеток. Згідно ДФУ, (2 Вид., 1 Том, с. 1121). Зовнішній вигляд таблеток визначали візуально при денному освітленні, розглядаючи їх на білому фоні, відбираючи пробу не менше ніж 20 таблеток. Контролювали форму, колір таблеток і рівномірність поверхні [42, 47].

Визначення середньої маси таблеток. Згідно ДФУ (2 Вид., 1 Том, п. 2.9.5, с. 409-410) Зважували 20 таблеток окремо, розраховували середню масу. Для таблеток даної маси припустиме відхилення складає $\pm 5\%$. Зважування проводилися на сучасних високоточних аналітичних вагах Ohaus PA214C [42, 47].

Визначення стійкості таблеток до роздавлювання. Випробування таблеток на стійкість до роздавлювання проводили згідно методики ДФУ (2 Вид., п. 2.9.8 с. 411-412) на приладі моделі ТВТ фірми “Ервека” (Німеччина). Для таблеток, діаметром 10мм стійкість до роздавлювання повинна бути не менше 30 Н [42, 47].

Однорідність дозованих одиниць. Випробування проводили згідно ДФУ (2 Вид., 1 Том, п. 2.9.40). При цьому визначали вміст діючих речовин в кожній дозованій одиниці. Вміст діючої речовини в кожній дозованій одиниці не повинен відхилятися від середнього номінального вмісту діючих речовин на $\pm 5\%$. Вміст діючих речовин в кожній дозованій одиниці визначали методом ВЕРХ [42, 47].

Кристалографічні дослідження. Кристалографічні властивості порошків визначали згідно з ДФУ (Доп. 2, п. 2.9.37, С. 175-177) з урахуванням методики, розробленої в ДП «ДНЦЛЗ», за допомогою оптичної кристалографії та мікрофотографування з використанням мікроскопу Ulab XY-B2BLED [42, 47].

Визначення розпадання таблеток. Дослідження розпадання таблеток проводили згідно ДФУ (2 Вид., п. 2.9.1. с. 395) на лабораторному тесторі для визначення розпадання ZT x20 ERWEKA [42, 47].

Розчинення таблеток. Випробування на цей тест проводилось згідно з методикою, наведеною в ДФУ (2 Вид., доп. 2, п. 2.9.3, с. 399). Був використаний прилад з лопаттю «PHARMA TEST» PTWS120D (Germany). Згідно з методикою за 45 хв у розчин має перейти не менше 75 % і не більше 115 % діючої речовини від вмісту, зазначеного у складі [7, 29, 38, 44, 48, 160].

Кількісне визначення та ідентифікація діючих речовин. Визначення діючих речовин згідно ДФУ (2 Вид., п. 2.2.29, с.86-88). Дослідження проводили з використанням модульної системи для ВЕРХ (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Німеччина) зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010 з використанням обернено-фазового режиму хроматографування [39, 42, 47].

Для проведення кількісного визначення діючих речовин методом ВЕРХ, використовували:

Колонка Prontosil Eurobond C 18 розміром 250 × 4,6 мм, з діаметром часток 5 мкм чи аналогічну, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

Елюент: 10 % метанолу - 90% фосфатного буферу, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калія та фосфатну кислоту (рН 3) [164].

Методи квантово-хімічних розрахунків. Для визначення можливих комплексів L-триптофану та тіотриазоліну використана методика, запропонована Пульманом для побудови можливих гідратованих комплексів органічних молекул. Енергія міжмолекулярних взаємодій між компонентами розраховувалась напівемпіричним континуальним методом SMD [208]. Розрахунки виконані за допомогою пакету Gaussian 09 [194, 219].

Дериватографічні дослідження. З метою вивчення термічного розкладу, окислення, сумісності активних та допоміжних речовин, температурних режимів введення їх до основи доцільно застосовувати термогравіметричний аналіз який

дозволяє отримувати дериваторами як індивідуальних речовин так і їх композицій [2, 153].

В якості об'єктів термогравіметричних досліджень використовували: субстанції тіотризаоліну, L-триптофану та суміші тіотриазоліну і L-триптофану. Термографічний аналіз проводили на приладі дериватограф «Shimadzu DTG-60» (Японія) з платиново-платинородієвою термопарою при нагріванні зразків в алюмінієвих тиглях (від 25 до 200 °C). В якості еталонної субстанції використовували α -Al₂O₃. Швидкість нагрівання складала 10°C за хвилину. Маса досліджуваних зразків була від 6,97 мг до 26,10 мг. Отримані данні дериватограф графічно фіксував у вигляді кривих T, DTA, TGA. Крива T на дериватограмі показує зміну температури, а крива TGA – зміну маси зразка в період дослідження. Крива DTA відображає диференціювання теплових ефектів, містить інформацію про ендотермічні та екзотермічні максимуми, може бути використана для якісної оцінки дериватограми.

Статистична обробка. Статистичну обробку проводили методами математичної статистики з використанням пакетів прикладних програм «SigmaPlot» версія 12,5 і «Microsoft Excel 2018». При умові відповідності нормальності розподілу достовірність отриманих відмінностей величин, що порівнювались, оцінювали за допомогою t-критерію Стьюдента. Достовірність відмінностей відносних величин оцінювалась з використанням критерію χ^2 . Достовірними вважали відмінності з рівнем значимості більше 95% ($p < 0,05$) [90]. Оцінку невизначеності для методики кількісного визначення та розрахунки критеріїв проводили відповідно до ДФУ (2 Вид., Том 1, п. 5.3.1, с. 881).

Референс (стандартні препарати)

Як референс-препарат використано: таблетки Ноофен 250 мг. Виробник: Олайнфарм АТ (Латвія, Олайне). Серія: 60515.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ТРИПТОФАНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ МЕТОДОМ ВОЛОГОЇ ГРАНУЛЯЦІЇ

3.1 Актуальність розробки таблетованої лікарської форми з триптофаном та тіотриазоліном

Початок теперішнього тисячоліття ознаменувався значним зменшенням тривалості та погіршенням якості життя. Це прямо пропорційно зв'язано з збільшенням хворих з порушеннями центральної нервової системи, які виникли в результаті негативного впливу стресу. Саме тому актуальним залишається питання пошуку безпечних препаратів анксиолітичної, стрес-протективної, ноотропної дії, оскільки існуючі засоби, які мають дані фармакологічні активності мають часті прояви побічного ефекту у вигляді сухості ротової порожнини, сонливості, зниженню апетиту [140]. Велику практичну цікавість викликає створення комбінованого лікарського засобу, який буде володіти раніше приведеними біологічними властивостями [17,53, 68].

В даний час основним об'єктом уваги науковців є розробка лікарських засобів у вигляді фіксованих комбінацій, які містять сумісні за фізико-хімічними і фармакологічними характеристиками препарат базової терапії та антиоксиданти. В ході опрацювання літератури зроблено висновок, що з метою потенціювання дії засобів базової терапії практично обов'язковим є включення антиоксидантів в комплекс медикаментозного лікування. Крім цього, враховуючи ряд серйозних побічних ефектів базових засобів, спрямованих на порушення тонких ланок метаболізму органів і тканин, включення в комплексну терапію антиоксидантів може підвищити безпеку пропонованого медикаментозного лікування.

Майбутнє за препаратами, які здатні відновлювати порушені мнестичні і розумові функції, знижувати неврологічні дефіцити, а також захищати мозок і підвищувати резистентність організму до екстремальних впливів.

Перспективним вирішенням даної проблеми є створення нового сучасного комбінованого лікарського засобу, який буде володіти анксиолітичними, стрес-протективними та ноотропними властивостями.

Саме тому, задачею нашого дослідження є розробка нового комбінованого препарату з речовинами, які будуть володіти вищезазначеними фармакологічними властивостями [75, 117, 118].

На сьогодні перевагою користується один з попередників серотоніну – L-триптофан. Він сприяє зняттю тривожності, гіперактивності, нав'язливих станів і синдрому хронічної втоми, підвищує настрій, усуває напругу і відчуття страху, покращує хороше засинання і нормалізує нормальність сну. Однак, даний засіб не має ноотропної, стреспротективної і антиоксидантної дії при самостійному застосуванні.

Перспективним напрямом в вирішенні даної проблеми є потенціювання протекторних властивостей триптофану за рахунок комбінування з речовинами, які виявляють антиоксидантну дію і гальмують оксидативний стрес і тим самим відновлюють чутливість рецепторів нейрона, покращують енергозабезпечення головного мозку. До таких препаратів можна віднести антиоксидант, створений під керівництвом Мазура І. А. на базі НВО «Фарматрон», тіотриазолін [27, 67, 134, 146, 167]. Регулюючи редокс-залежні механізми підвищення афінності до серотонінових рецепторів, тіотриазолін здатний підсилити анксиолітичну дію триптофану, в свою чергу, триптофан може посилити антиоксидантну дію тіотриазоліну. За допомогою перетворення в організмі в мелатонін, триптофан зможе утворити з тіотриазоліном своєрідний тандем з утилізації зловісних кисневих радикалів пероксинітрид і гідроксил-радикал. Тіотриазолін спільно з триптофаном здатні впливати на механізми пам'яті, як довгострокової - за рахунок спільного впливу на АТФ-залежні механізми синтезу білків пам'яті, так само і короткочасною - за рахунок придушення амнезії, викликаній надлишком вільних радикалів [189].

Після огляду наукової та патентної літератури встановлено, що на сьогодні не існує фіксованих комбінацій, до складу яких входить триптофан з антиоксидантами.

З літературних джерел відомо, що триптофан володіє рядом негативних побічних ефектів. Це сухість в ротовій порожнині, сонливість, зниження апетиту, а при комбінованій терапії з антиоксидантами можливе виникнення серотонінового синдрому. Тому введення тіотриазоліну в склад лікарського засобу значно знижує негативний вплив на біологічні системи людського організму, й підвищує безпечність лікування стресу і його негативних наслідків [60, 61, 62].

Механізм даного ефекту полягає в тому, що тіотриазолін володіє потужними антиоксидантними властивостями, попереджає окислювальну модифікацію білкових структур рецепторів, іонних каналів, ферментів, чинників транскрипції, активує антиоксидантну систему ферментів, знижує гіперпродукцію супероксидрадикалу і пероксинітриду. Також даний антиоксидант має метаболітотропну активність, яка направляється на збереження окислювальної продукції енергії, зменшення вираженості мітохондріальної дисфункції і апоптозу. Саме дані властивості тіотриазоліну дозволяють значно знизити негативний вплив триптофану на організм людини [67, 100, 107].

Пропонована фіксована комбінація триптофану і тіотриазоліну забезпечує значне підвищення безпечності лікування в комплексній терапії неврозів, психічних перенапружень, стресів та інших різноманітних порушень центрального.

Спільно з фармакологами вивчалися наступні комбінації діючих речовин в таких співвідношеннях:

- Триптофану та тіотриазоліну (1:1);
- Триптофану та тіотриазоліну (2:1);
- Триптофану та тіотриазоліну (3:1);
- Триптофану та тіотриазоліну (4:1);
- Триптофану та тіотриазоліну (5:1);
- Триптофану та тіотриазоліну (7:1).

В результаті проведених фармакологічних досліджень було встановлено, що найбільш оптимальним співвідношенням триптофану і тіотриазоліну у пропонованому засобі є 4:1 [60, 61, 62].

На сьогоднішній день доведено, що вибір лікарської форми впливає на терапевтичну ефективність лікарських засобів. Встановлено, що оптимальна активність лікарської речовини досягається тільки при призначенні його в раціональній лікарській формі. Тим паче правильним вибором можливо зменшити прояв побічних ефектів лікарських засобів [63, 75, 79].

В наш час найпопулярнішою лікарською формою є таблетки. Дана лікарська форма має багато переваг порівняно з іншими. Це, наприклад, можливість тривалого зберігання, точне дозування лікарських речовин, тривала дія лікарської речовини, послідовне всмоктування лікарських речовин, маскування неприємного смаку або запаху лікарських речовин, портативність, можливість поєднання лікарських речовин, несумісних по фізико-хімічним властивостям в інших формах [143, 175, 216].

Виходячи з вищесказаного, актуальною є розробка технології таблеток на основі триптофану та тіотриазоліну. Тим паче, на сьогодні дані активні компоненти вже зарекомендували себе в таблеткованій лікарській формі.

Попередньо нами було здійснено квантово-хімічні розрахунки та дериватографічні дослідження субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну щодо можливості їх хімічної взаємодії між собою, щоб показати можливість поєднання даних речовин в одній комбінованій таблетованій лікарській формі.

3.2 Квантово-хімічні розрахунки суміші L-триптофану та тіотриазоліну

Для моделювання структури і стабільності комплексів L-триптофану з тіотриазоліном була застосована методика, схожа з використаною раніше при вивченні комплексів тіатриазоліна з ізоніазидом [122].

Початкове наближення до геометрії комплексів отримано, використовуючи методику молекулярного докінгу за допомогою програми AutoDock Vina [231]. Для побудови трикомпонентних комплексів на першому етапі проводився докінг МТТА і морфоліну, за результатами якого було відібрано 50 найбільш стабільних комплексів. Далі проводився докінг отриманих комплексів МСТА і морфоліну з молекулою L-триптофану, і також відбиралися 50 найбільш стабільних комплексів

[197]. Таким чином, для кожного з трикомпонентних комплексів було отримано 2500 вихідних геометрій. Така процедура проводилася для кожної з можливих таутомерних форм трикомпонентних комплексів.

На другому етапі отримані трикомпонентні комплекси були попередньо оптимізовані напівемпіричним методом PM7 з моделюванням впливу середовища методом COSMO [203]. Розрахунки проводилися за допомогою програми MOPAC2012 [223]. За результатами розрахунків для кожного з комплексів були відібрані 100 найбільш стабільних структур, які потім були оптимізовані методом функціонала щільності з емпіричної дисперсійною поправкою B97-D3 / SVP + COSMO (Water) [235] з застосуванням геометричної поправки на неповноту базисного набору gCP [204]. З отриманих структур трикомпонентних комплексів, були відібрані 10 з найменшою енергією, для яких було проведено остаточний розрахунок геометрії і термодинамічних параметрів в наближенні жорсткого ротора методом B97-D3/TZVP+COSMO [169, 203]. Більш точний розрахунок енергії сольватації було проведено методом SMD. Розрахунки методом функціонала щільності проведені за допомогою програми ORCA 3.0.3 [210]. Енергія утворення комплексів в розчині розраховувалася як різниця вільних енергій Гіббса сольватованих комплексів і сольватованих окремих його компонентів [174, 178, 236].

Обрана методика, яка спирається на дослідження повного конформаційного простору комплексів методами молекулярного докінгу і серії послідовних квантово-хімічних розрахунків із застосуванням все більш точних методів, з високим ступенем ймовірності гарантує знаходження найбільш стійких трикомпонентних комплексів.

Раніше проведені дослідження тіотріазоліна показали, що МТТА легко депротонується, перетворюючись в органічний аніон, а морфолін, відповідно, стає катіоном, приєднуючи атом водню. Таким чином, сполука МТТА і морфоліну є органічною сіллю. З іншого боку, L-триптофан, будучи амінокислотою, повинен існувати у вигляді цвіттер-іона (рис. 3.1.1). При цьому цвіттер-іонна форма L-триптофану виступає одночасно і донором, і акцептором в утворенні зарядово

посилених водневих зв'язків з катіоном морфоліну і аніоном МТТА. Це дозволяє припустити можливість утворення як двох-компонентних комплексів за участю L-триптофану і одного з компонентів тіотриазоліну, так і трьох-компонентних комплексів за участю всіх трьох молекул. Множинність донорних і акцепторних властивостей у всіх трьох досліджуваних молекулах створює можливість утворення досить великого числа можливих комплексів [176, 182, 196].

Будова ізольованих молекул і нумерація атомів показана на рис. 3.1.

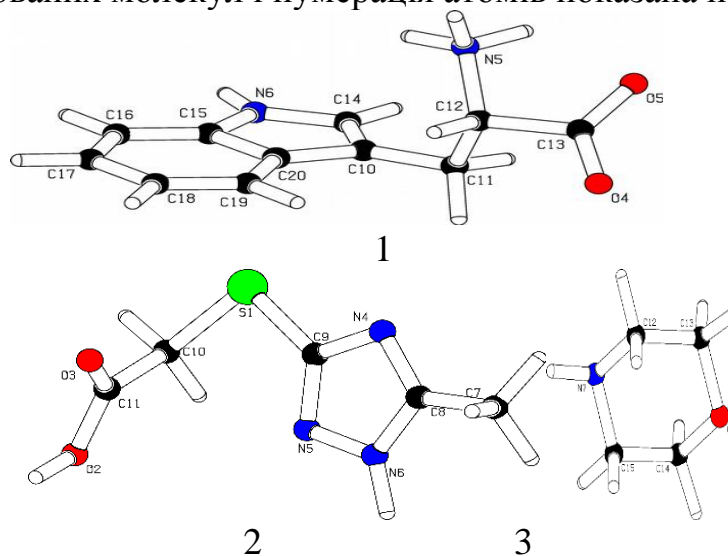
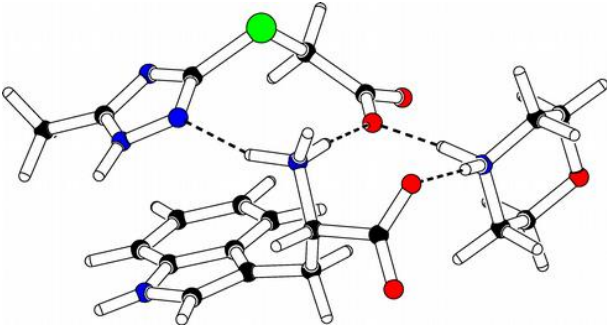
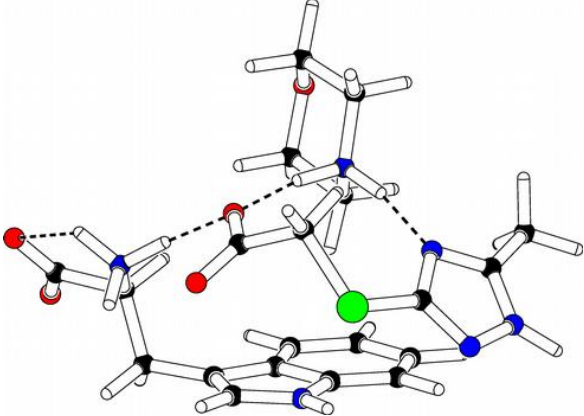
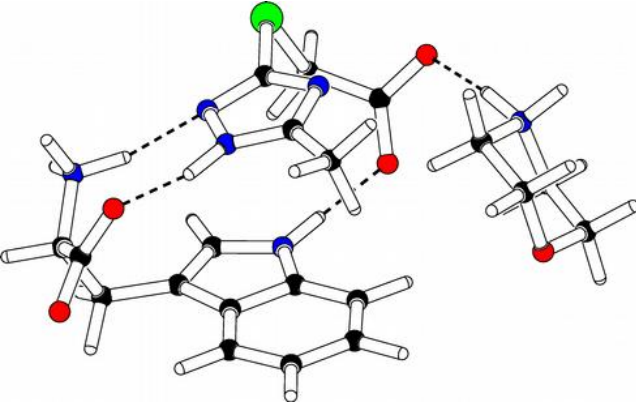
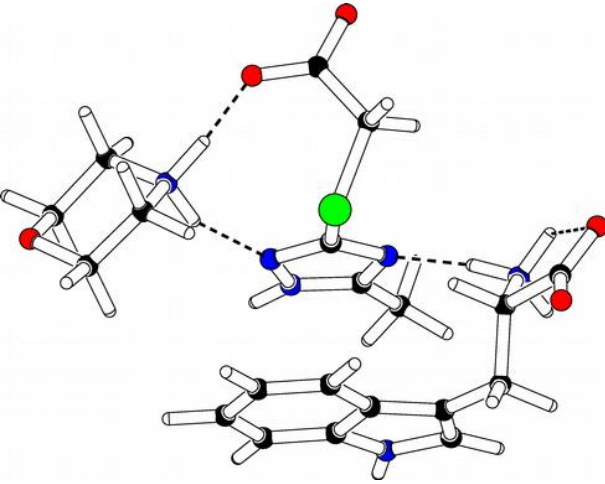


Рис. 3.1 Будова ізольованих молекул L-триптофану (1), МТТА (2), морфоліну (3) і їх нумерація атомів за даними квантово-хімічних розрахунків.

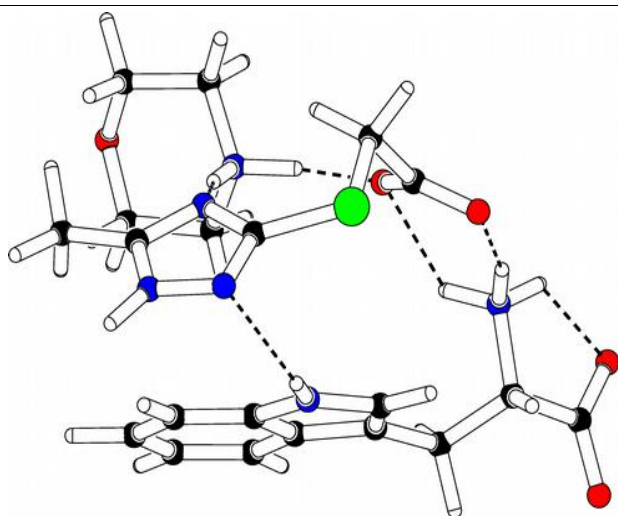
Квантово-хімічні розрахунки показують, що L-триптофан і тіотриазолін здатні утворювати трикомпонентні комплекси, молекули в яких пов'язані за рахунок множинних водневих зв'язків. У найбільш стабільних комплексах утворюються від 4 до 5 водневих зв'язків. Будова найбільш стійких комплексів L-триптофану з тіотриазоліном і морфоліном, їх енергії утворення (ΔG_{form}^{298} , ккал/моль) і характеристики водневих зв'язків (H ... A, Å і DH ... A, град.) За даними методу B97-D3 / TZVP + SMD (Water) наведені в табл. 3.1 [226, 228].

Таблиця 3.1

Будова найбільш стійких комплексів L-триптофану з тіатріазоліном і морфоліном, їх енергії утворення (ΔG_{form}^{298} , ккал/моль) і характеристики водневих зв'язків (H ... A, Å і DH ... A, град.) За даними методу B97 -D3 / TZVP + SMD (Water)

| Комплекс 1 | Комплекс 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|------|-----|-----------|------|-----|-----------|------|-----|-----------|------|-----|--|-----------|------|-----|-----------|------|-----|-----------|------|-----|-----------|------|-----|
|  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 6.5$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tr> <td>N4-H...O2</td> <td>1.61</td> <td>165</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O5</td> <td>1.75</td> <td>159</td> </tr> <tr> <td>N5-H...O2</td> <td>1.70</td> <td>175</td> </tr> <tr> <td>N5-H...N1</td> <td>1.89</td> <td>158</td> </tr> </table> | N4-H...O2 | 1.61 | 165 | N4-H...O5 | 1.75 | 159 | N5-H...O2 | 1.70 | 175 | N5-H...N1 | 1.89 | 158 |  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 6.9$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tr> <td>N4-H...O1</td> <td>1.61</td> <td>170</td> </tr> <tr> <td>N4-H...N1</td> <td>1.78</td> <td>169</td> </tr> <tr> <td>N5-H...O4</td> <td>1.99</td> <td>117</td> </tr> <tr> <td>N5-H...O1</td> <td>1.66</td> <td>173</td> </tr> </table> | N4-H...O1 | 1.61 | 170 | N4-H...N1 | 1.78 | 169 | N5-H...O4 | 1.99 | 117 | N5-H...O1 | 1.66 | 173 |
| N4-H...O2 | 1.61 | 165 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N4-H...O5 | 1.75 | 159 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N5-H...O2 | 1.70 | 175 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N5-H...N1 | 1.89 | 158 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N4-H...O1 | 1.61 | 170 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N4-H...N1 | 1.78 | 169 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N5-H...O4 | 1.99 | 117 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N5-H...O1 | 1.66 | 173 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Комплекс 3 | Комплекс 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 8.0$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tr> <td>N2-H...O2</td> <td>1.68</td> <td>163</td> </tr> <tr> <td>N1-H...N1</td> <td>1.90</td> <td>163</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O2</td> <td>1.58</td> <td>171</td> </tr> <tr> <td>N5-H...O1</td> <td>1.76</td> <td>168</td> </tr> </table> | N2-H...O2 | 1.68 | 163 | N1-H...N1 | 1.90 | 163 | N4-H...O2 | 1.58 | 171 | N5-H...O1 | 1.76 | 168 |  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 8.1$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tr> <td>N4-H...O1</td> <td>1.59</td> <td>169</td> </tr> <tr> <td>N4-H...N1</td> <td>1.88</td> <td>156</td> </tr> <tr> <td>N6-H...N3</td> <td>1.77</td> <td>169</td> </tr> <tr> <td>N6-H...O4</td> <td>1.97</td> <td>117</td> </tr> </table> | N4-H...O1 | 1.59 | 169 | N4-H...N1 | 1.88 | 156 | N6-H...N3 | 1.77 | 169 | N6-H...O4 | 1.97 | 117 |
| N2-H...O2 | 1.68 | 163 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N1-H...N1 | 1.90 | 163 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N4-H...O2 | 1.58 | 171 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N5-H...O1 | 1.76 | 168 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N4-H...O1 | 1.59 | 169 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N4-H...N1 | 1.88 | 156 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N6-H...N3 | 1.77 | 169 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| N6-H...O4 | 1.97 | 117 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

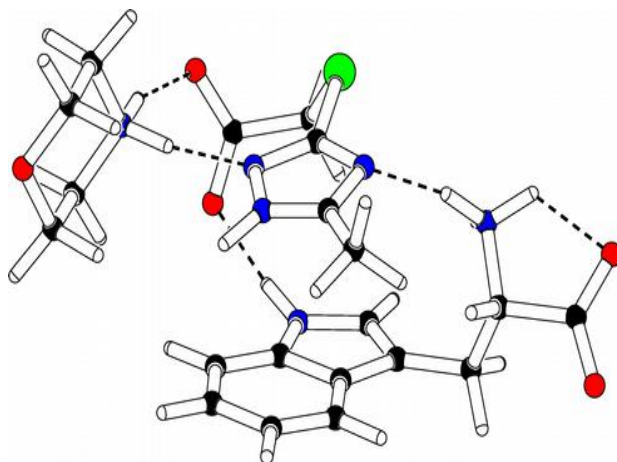
Комплекс 5



$$\Delta G_{form}^{298} = 8.6 \text{ ккал/моль}$$

| | | |
|-----------|------|-----|
| N4-H...O1 | 1.55 | 173 |
| N4-H...N1 | 1.92 | 165 |
| N5-H...O4 | 1.92 | 120 |
| N5-H...O1 | 2.39 | 113 |
| N5-H...O2 | 1.72 | 163 |

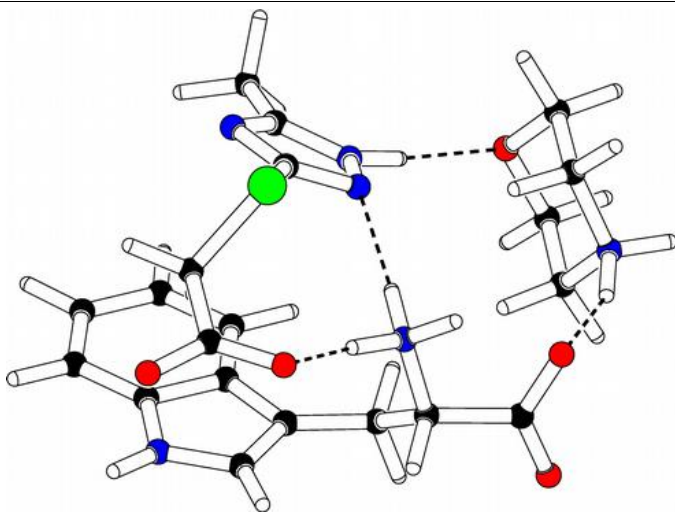
Комплекс 6



$$\Delta G_{form}^{298} = 9.3 \text{ ккал/моль}$$

| | | |
|-----------|------|-----|
| N4-H...O2 | 1.68 | 155 |
| N4-H...N1 | 1.86 | 171 |
| N5-H...O1 | 1.80 | 163 |
| N6-H...N3 | 1.82 | 165 |
| N6-H...O5 | 1.92 | 120 |

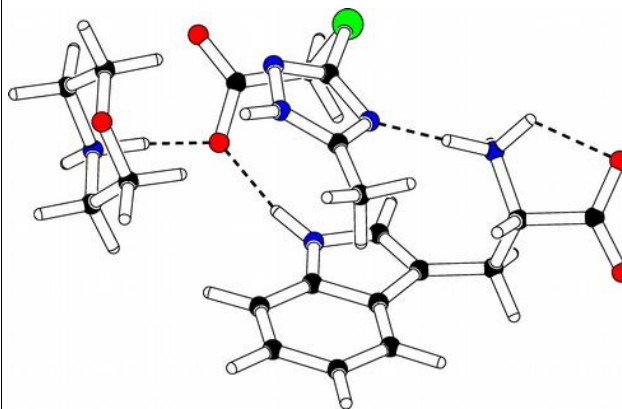
Комплекс 7



$$\Delta G_{form}^{298} = 9.4 \text{ ккал/моль}$$

| | | |
|-----------|------|-----|
| N2-H...O3 | 1.86 | 162 |
| N4-H...O5 | 1.64 | 156 |
| N6-H...O2 | 1.60 | 174 |
| N6-H...N3 | 1.99 | 169 |

Комплекс 8



$$\Delta G_{form}^{298} = 9.4 \text{ ккал/моль}$$

| | | |
|-----------|------|-----|
| N4-H...O1 | 1.59 | 173 |
| N5-H...O1 | 1.86 | 168 |
| N6-H...N1 | 1.76 | 177 |
| N6-H...O5 | 2.02 | 115 |

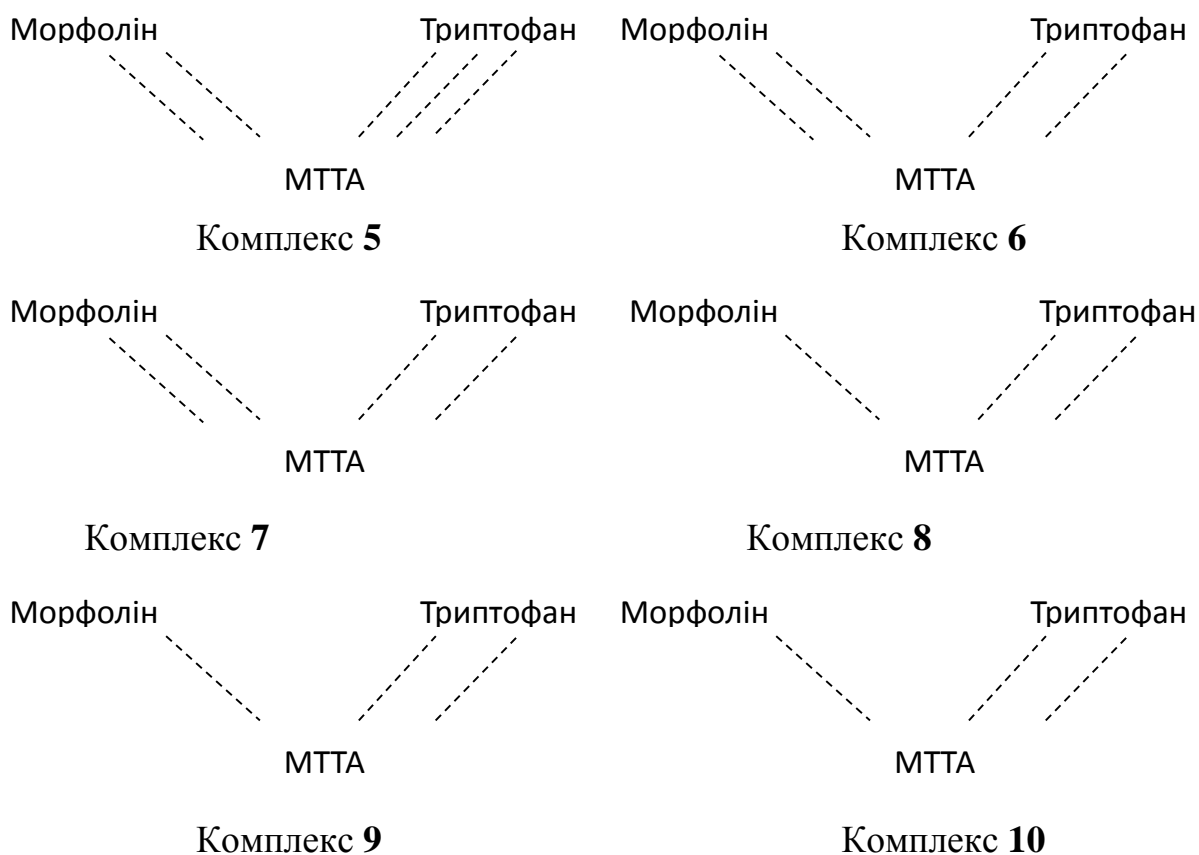


Рис. 3.2 Найбільш стабільні трикомпонентні комплекси L-триптофану з тіотриазоліном

Слід зазначити, що розташовані при одному атомі Карбону протонувана аміногрупа і депротонувана карбоксильна група триптофану в переважній більшості випадків утворюють внутрішньо-молекулярні водневі зв'язки. При утворенні водневих зв'язків найбільш активним донором протона є протонувана аміногрупа амінокислоти, забезпечуючи в 8 комплексах з 10 від двох (комплекси 2, 6-10) до трьох (комплекси 3 та 5) водневих зв'язків з МТТА [232]. Молекула морфоліну виявилася набагато менш активним донором протона, незважаючи на протонування атома азоту і позитивний заряд на ньому. Більш того, в комплексі 7 молекула морфоліну виступає не тільки донором, а й акцептором протона в утворенні водневих зв'язків. NH група триазольного циклу проявляє властивості донора протона тільки в комплексах 3 і 7. Властивості донора протона в міжмолекулярному водневому зв'язуванні проявила також NH група. Біциклічні фрагменти амінокислоти (комплекси 3, 5, 6 і 8).

У свою чергу, найактивнішим акцептором протона є депротонувана карбоксильна група МТТА, яка в комплексах 2, 3, 5, 6, 8-10 бере участь в утворенні одночасно двох водневих зв'язків. Депротонувана карбоксильна група амінокислоти утворює водневий зв'язок як акцептор протона тільки в трьох комплексах з десяти (комплекси 1, 3, 7). Можна припустити, що це є наслідком її залученості в утворенні внутрішньомолекулярного водневого зв'язку. Триазольний цикл МТТА, незважаючи на відсутність негативного заряду на ньому, також виявився досить активним акцептором протона. Цей фрагмент МТТА бере участь в утворенні міжмолекулярного водневого зв'язку у всіх десяти комплексах, а в комплексах 4-6 утворює одночасно два водневі зв'язки.

Проведені квантово-хімічні розрахунки дозволяють припустити, що вивчені комплекси термодинамічно нестабільні в нескінченно розбавленому розчині. Енергії утворення комплексів позитивні, незважаючи на зарядове посилення ряду водневих зв'язків.

У зв'язку з цим, це обумовлено високою конформаційною гнучкістю молекул, в яких беруть участь в утворенні водневих зв'язків групи розділені містком, що містить кілька метиленових груп, і досить легким перенесенням протонів, що беруть участь в утворенні водневих зв'язків. Можливо також стверджувати про існування кількох найбільш вигідних мод зв'язування в комплексах.

Необхідно відзначити, що енергії сольватації були розраховані в наближенні нескінченного розведення. У розчинах кінцевої концентрації слід чекати більшої стабільності молекулярних комплексів за рахунок посилення міжмолекулярних взаємодій.

Проведене квантово-хімічне дослідження системи, що складається з трьох компонентів (L-триптофан, МТТА і морфолін) показало, що самі термодинамічно стабільні трикомпонентні комплекси мають позитивну енергію утворення в нескінченно розведених розчинах [228].

Незважаючи на можливість утворення між компонентами водневих зв'язків, частина з яких є зарядово-посиленою, система L-триптофан, МТТА і морфолін являє

собою скоріше суміш речовин, що дозволяє використовувати їх в одній лікарській формі.

3.3 Дериватографічні дослідження L-триптофану, тіотриазоліну та суміші L-триптофану з тіотриазоліном

При створенні нового препарату важливим біофармацевтичним фактором є технологія виготовлення лікарської форми, а саме обґрунтування температурного режиму виготовлення, врахування можливої взаємодії діючих та допоміжних речовин, стабільності діючих речовин при нагріванні.

З метою вивчення термічного розкладу, окислення, сумісності активних та допоміжних речовин, температурних режимів введення їх до основи доцільно застосовувати термогравіметричний аналіз, який дозволяє отримувати дериваторами як індивідуальних речовин так і їх композицій.

В якості об'єктів термогравіметричних досліджень використовували: субстанції тіотризаоліну, L-триптофану та суміші тіотриазоліну і L-триптофану. Термографічний аналіз проводили на приладі дериватограф-«Shimadzu DTG-60» (Японія) з платиново-платинородієвою термopарою при нагріванні зразків в алюмінієвих тиглях(від 25 до 200 °C). В якості еталонної субстанції використовували $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$. Швидкість нагрівання складала 10°C за хвилину. Маса досліджуваних зразків була від 6,97 мг до 26,10 мг. Отримані данні дериватограф графічно фіксував у вигляді кривих T, DTA, TGA. Крива T на дериватограмі показує зміну температури, а крива TGA – зміну маси зразка в період дослідження. Крива DTA відображає диференціювання теплових ефектів, містить інформацію про ендотермічні та екзотермічні максимуми, може бути використана для якісної оцінки дериватограми.

Проводили термогравіметричний аналіз субстанції L-триптофану, тіотризаоліну та суміші L-триптофану з тіотриазоліном, результати представлені на рис. 3.3, 3.4, 3.5.

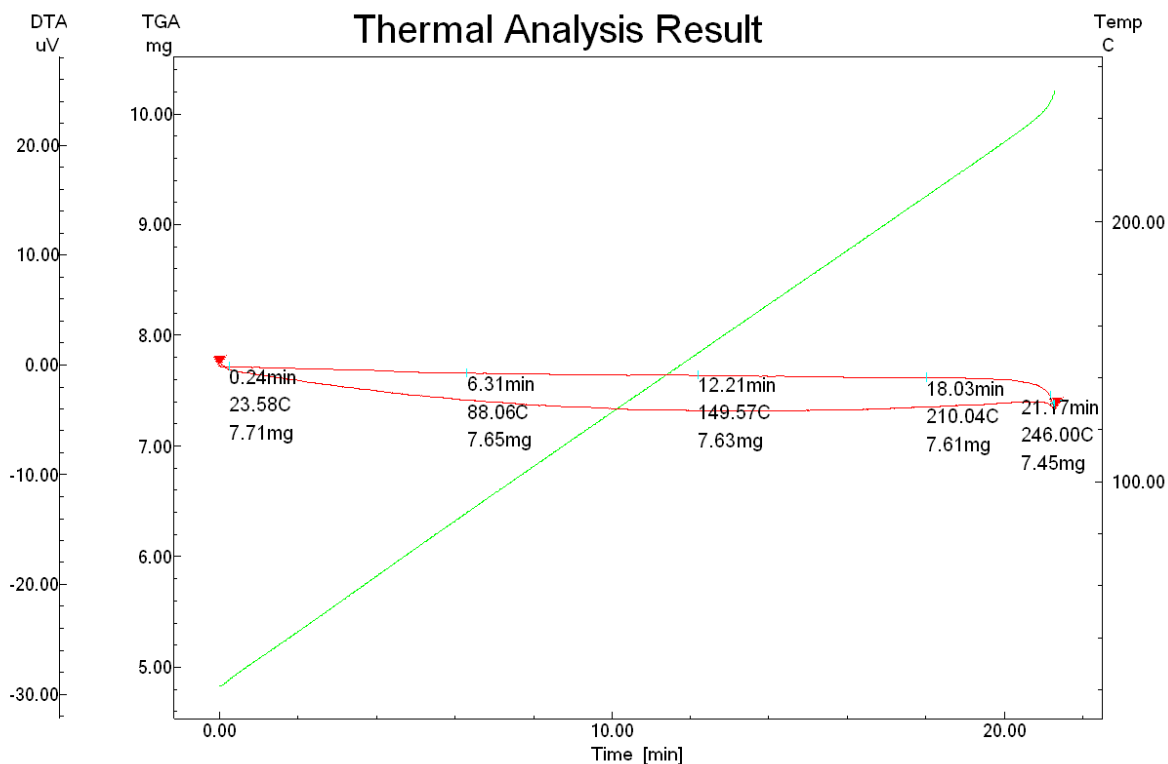


Рис. 3.3 Дериватограма L-триптофану

Аналіз дериватограми L-триптофану (рис. 3.3) показав, що даний зразок є відносно термічно стабільною сполукою в діапазоні температур від 23 до 88 °C. На шостій хвилині експерименту при температурі 88,06 °C спостерігається зміна маси зразку, яка від початку експерименту змінилася на 0,78 %(0,06 мг). На дванадцятій хвилині експерименту при температурі 149,57 °C маса сполуки змінилася на 1,04% (0,08 мг), а на вісімнадцятій хвилині експерименту при температурі 210,04 °C зміна маси L-триптофану склала 1,3 %(0,1 мг). Наприкінці експерименту при температурі 246 °C втрата маси зразку від початку дослідження склала 3,37 %(0,26 мг.)

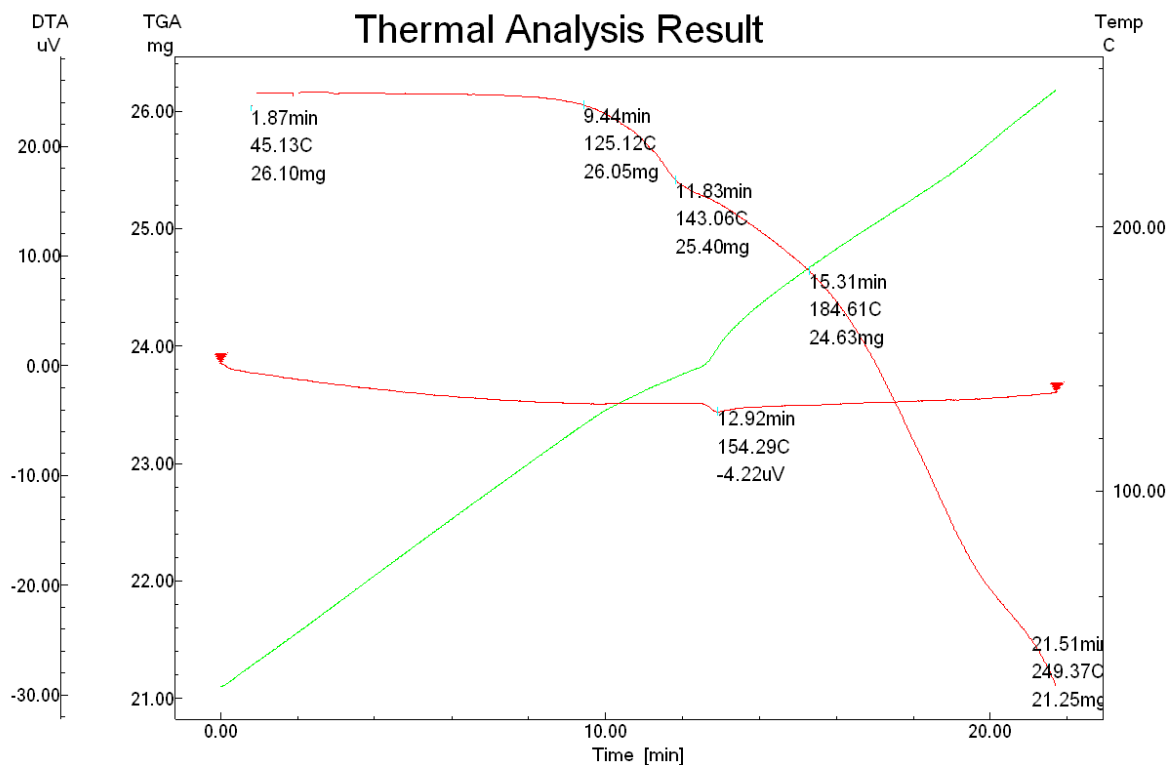


Рис. 3.4 Дериватограма тіотриазоліну

Як видно з наведених даних (рис. 3.4) діюча речовина – тіотриазолін є термічно стійкою сполукою в діапазоні температур від 26 до 125 °С. На дев'ятій хвилині експерименту при температурі 125,12 °С маса дослідного зразку зменшилась на 0,19%(0,05 мг), а вже на одинадцятій хвилині досліду при температурі 143,06 °С спотерігали незначний ендотермічний ефект, при цьому маса тіотриазоліну зменшилась на 2,68%(0,7 мг). На п'ятнадцятій хвилині експерименту маса тіотриазоліну зменшилась на 5,63%(1,47 мг), потім поступово зменшувалась до 21,25 мг при температурі 249,37 °С.

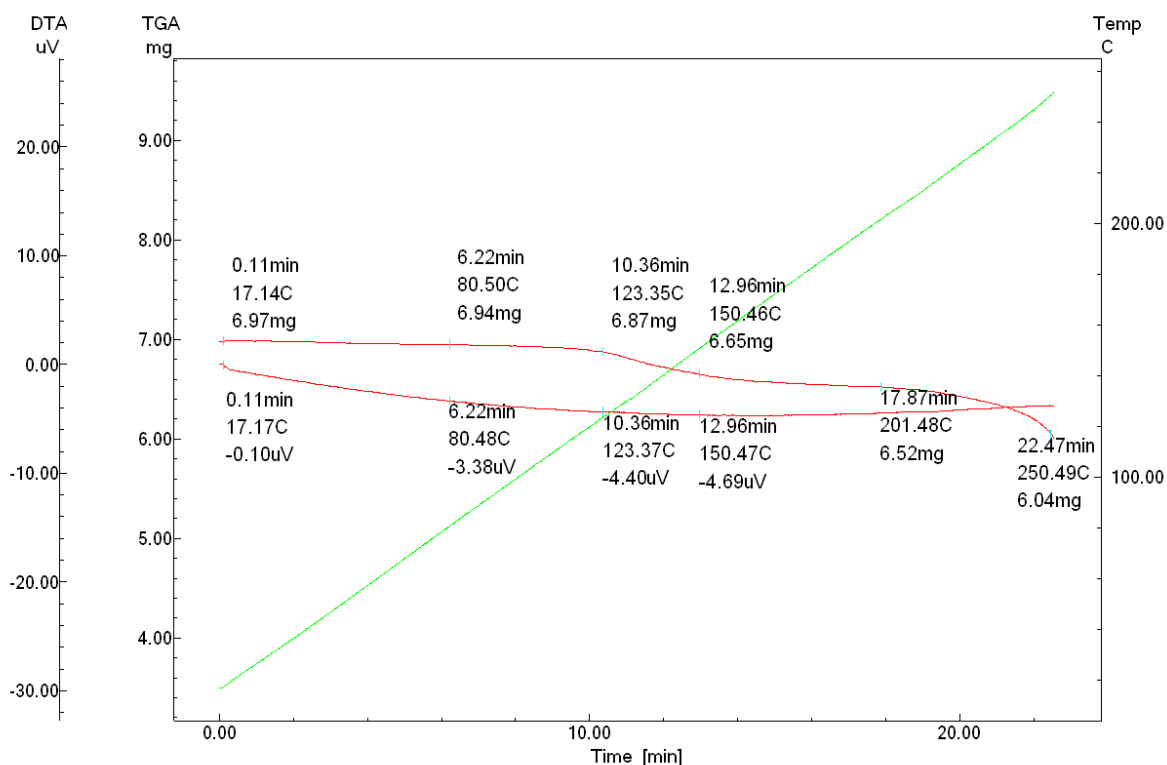


Рис. 3. 5 Дериватограма суміші L-триптофану та тіотриазоліну

Отримана дериватограма суміші L-триптофану та тіотриазоліну (рис. 3.5) висвітлює подібний характер теплових ефектів окремих інгредієнтів суміші - це свідчить про відсутність взаємодії компонентів між собою. Так на десятій хвилині експерименту при температурі 123,35 °C маса зразку змінилась на 1,43 % (0,1 мг), на сімнадцятій хвилині зміна маси при температурі 201,48 °C склала 6,46 % (0,45 мг), а в кінці експерименту маса дослідного зразку змінилася на 13,34% (0,93 мг).

Згідно отриманих даних термогравіметричного аналізу субстанції тіотриазоліну, L-триптофану та суміші тіотриазоліну і L-триптофану необхідно зазначити, що в технологічному процесі виготовлення лікарських форм доцільно здійснювати технологічні операції при температурі не вище 123 °C.

Виявлено, що суміш тіотриазоліну і L-триптофану є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою.

3.4 Вивчення фізико-хімічних і фармако-технологічних властивостей субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну

З метою вибору оптимального способу отримання таблеток вивчені фізико-хімічні та технологічні властивості субстанцій, їх співвідношення в складі таблеток, середню масу таблеток.

Дослідження форми та розміру часток проводили за допомогою електронно-мікроскопічних методів з використанням комп'ютерної програми Inter Video WinDVR.

L-триптофан відноситься до дрібнодисперсних порошків з високими показниками пильності, з яких можливо отримати таблетки тільки методом вологої грануляції [16, 18, 146]. За даними кристалографії субстанція L-триптофану – це кристалічний порошок білого кольору, середнє значення розміру часток порошку – 60 мкм (рис. 3.6).

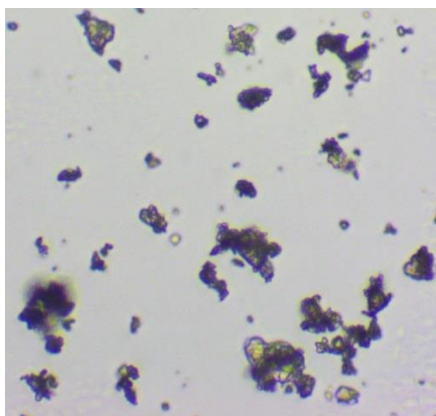


Рис. 3.6 Мікрофотографія порошку субстанції L-триптофану (масштаб 1:400)

Тіотриазолін завдяки технологічним властивостям можливо віднести до речовин, з яких отримують таблетки прямим пресуванням. Субстанція тіотриазоліну представляє собою полідисперсний кристалічний порошок у вигляді пластинчастих багатогранників та їх уламків. Домінуюча фракція представлена ізодіаметричними частинками неправильної форми, середнє значення ширини часток - 158 мкм, середнє значення довжини часток порошку тіотриазоліну – 241 мкм (рис.3.7) [13, 17, 22].

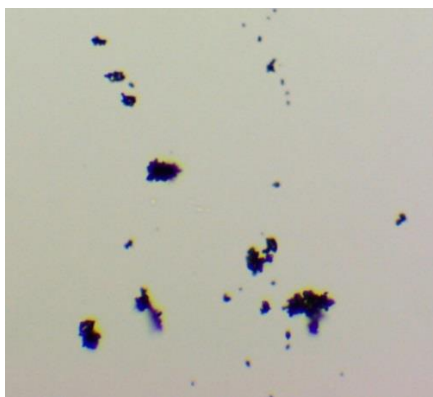


Рис. 3.7 Мікрофотографія порошку субстанції тіотриазоліну (масштаб 1:400)

Дослідження фізико-хімічних та фармако-технологічних показників субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну дозволили прогнозувати, а надалі і підтвердити можливість отримання таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном виключно методом вологої грануляції [22, 75, 76].

3.4 Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток на основі L-триптофану та тіотриазоліну методом вологої грануляції

При спільній присутності L-триптофану і тіотриазоліну (4:1) отримати таблетки прямим пресуванням навіть при використанні значних кількостей допоміжних речовин (ДР) не вдалось. Тому проведені дослідження з отримання таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном методом вологої грануляції.

Даний процес універсальний, дозволяє отримати продукт, максимально відповідний всім вимогам пресування, також не потребує складного і дорогого обладнання. Цей метод найбільш поширений в нашій країні і в усьому світі [81, 82, 84, 148].

З метою отримання таблеток методом вологої грануляції на основі L-триптофану та тіотриазоліну в дозі 250 мг та 50 мг відповідно було проведено дослідження з вибору раціональних допоміжних речовин (ДР). В експериментах досліджувались чотири групи допоміжних речовин, а саме наповнювачі, розпушувачі, розчини зв'язуючих речовин, а також солубілізатори, які володіють різними технологічними та фізичними властивостями (табл. 3.2) [13, 17, 22, 87, 88, 147, 150, 211].

Таблиця 3.2

**Допоміжні речовини, які вивчалися при розробці
таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном**

| Фактори | Рівні факторів |
|-----------------------|--|
| А - Наповнювачі | a ₁ - МКЦ 101 + крохм.карт.+ магній карбонат основний a ₂ - МКЦ 101+ крохм.карт.+ кальцій дигідрофосфат безводний a ₃ - МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ a ₄ - МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат |
| В – Розпушувачі | b ₁ - натрій кроскармелоза b ₂ - поліплаздон ХЛ 10 b ₃ - натрій карбоксиметилкрохмаль b ₄ - натрій крохмальгліколят |
| С – Зв'язуючі розчини | c ₁ - 3 % крохмальний клейстер c ₂ - 5 % розчин ГПМЦ 5 c ₃ - 3 % розчин МЦ 15 c ₄ - 7 % розчин повідону 30 |
| D – солубілізатори | d ₁ - без солубілізатора d ₂ - твін 80 d ₃ - натрій лаурилсульфат d ₄ – аеросил |

Склад діючих та допоміжних речовин на 1 таблетку становив:

| | |
|---------------------------|--------|
| L-триптофан | 0,2000 |
| Тіотриазолін | 0,0500 |
| Наповнювачі (фактор А) | 0,1684 |
| Розпушуючі (фактор В) | 0,0225 |
| Зв'язуючі (фактор С) | Qs |
| Солубілізатори (фактор D) | Qs |

В дослідженнях використовувались 4 групи допоміжних речовин, які застосовуються в технології виготовлення сучасних таблеткових лікарських форм, а саме 4 наповнювачі в комплексі з МКЦ 101 та картопляним крохмалем, 4 розпушувачі, 4 розчини зв'язуючих речовин, 3 різних солюбілізатора. Дані допоміжні речовини недавно з'явилися і почали застосовуватись в фармацевтичній промисловості, також вони не мають прикладів застосування в фармації.

Для складання оптимального складу рецептури таблеток-ядер користувались наступним співвідношенням на одну таблетку: L-триптофан – 0,200 г (44,44%), тіотриазолін – 0,05 г (11,1%), наповнювач (МКЦ 101 – 0,0562 (12,49%), крохмаль картопляний – 0,0561 г (12,47%), магній карбонат основний, кальцій дигідрофосфат безводний, неусілін УФЛ, лактоза моногідрат) – 0,0561 г (12,47%), розпушувач (натрій кроскармелоза, поліплаздон ХЛ 10, натрій карбоксиметилкрохмаль, натрій крохмальгліколят) – 0,0225 г (5%), зв'язуючий розчин – достатня кількість для отримання пластичної маси. Також у всіх серіях, крім 1,8,10,15 використовується солюбілізатор в комплексі з зв'язуючим розчином (твін 80, натрій лаурилсульфат, аеросил). Після ретельного змішування всіх компонентів волога маса перетиралася через сито з розміром отворів 3 мм та висушувалась в сушильній шафі при температурі 40°C. Після висушування суха маса перетиралася через сито з розміром отворів 1 мм. та опудрювалася кальцію стеаратом (1%) [23, 58, 75].

Особливу увагу при дослідженні отриманих таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном приділяють випробуванням на міцність (випробовування стійкість до роздавлювання та стираність [77, 214].

Для вивчення чотирьох якісних факторів в дослідженні використовувався один із планів дисперсійного аналізу - чотирьохфакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату. Щоб зменшити помилку в експерименті досліди проводилися двічі. Матриця планування експерименту та результати дослідження порошкових мас та таблеток L-триптофану з тіотриазоліном наведені в табл. 3.3. За результатами експериментальних досліджень провели дисперсійний аналіз (табл.3.4) [24, 25, 41, 78, 115, 124].

**Чотирьохфакторний експеримент на основі гіпер-греко-латинського квадрату та результати дослідження
порошкових мас та таблеток на основі L-триптофану та тіотриазоліну**

| N | A | B | C | D | y ₁ | y ₁ ' | y ₂ | y ₂ ' | y ₃ | y ₃ ' | y ₄ | y ₄ ' | y ₅ | y ₅ ' | y ₆ | y ₆ ' | y ₇ | y ₇ ' |
|----|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|----------------|------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 |
| 1 | a ₁ | b ₁ | c ₁ | d ₁ | 1,39 | 1,42 | 4 | 5 | 3 | 4 | 0,37 | 0,39 | 104,5 | 99,8 | 3,43 | 4,93 | 3 | 4 |
| 2 | a ₁ | b ₂ | c ₂ | d ₄ | 0,69 | 0,68 | 5 | 5 | 5 | 5 | 0,06 | 0,11 | 114,9 | 117,4 | 22,02 | 24,10 | 5 | 5 |
| 3 | a ₁ | b ₃ | c ₃ | d ₂ | 0,57 | 0,58 | 4 | 4 | 5 | 4 | 0,26 | 0,27 | 97,6 | 100,5 | 7,42 | 8,23 | 4 | 4 |
| 4 | a ₁ | b ₄ | c ₄ | d ₃ | 0,73 | 0,71 | 4 | 5 | 5 | 4 | 0,28 | 0,29 | 119,3 | 124,4 | 39,92 | 40,65 | 5 | 4 |
| 5 | a ₂ | b ₁ | c ₂ | d ₃ | 0,74 | 0,71 | 5 | 5 | 4 | 4 | 0,43 | 0,45 | 130,1 | 135,4 | 3,83 | 4,22 | 4 | 4 |
| 6 | a ₂ | b ₂ | c ₁ | d ₂ | 0,69 | 0,71 | 3 | 4 | 4 | 5 | 0,41 | 0,39 | 68,9 | 67,2 | 3,88 | 4,22 | 4 | 4 |
| 7 | a ₂ | b ₃ | c ₄ | d ₄ | 0,65 | 0,67 | 3 | 4 | 4 | 4 | 0,08 | 0,10 | 134,6 | 133,3 | 37,90 | 35,98 | 4 | 4 |
| 8 | a ₂ | b ₄ | c ₃ | d ₁ | 0,57 | 0,55 | 4 | 5 | 5 | 5 | 0,17 | 0,16 | 118,6 | 124,3 | 6,68 | 6,97 | 5 | 5 |
| 9 | a ₃ | b ₁ | c ₃ | d ₂ | 1,03 | 1,06 | 5 | 5 | 4 | 3 | 0,24 | 0,26 | 155,1 | 149,9 | 7,92 | 6,28 | 4 | 3 |
| 10 | a ₃ | b ₂ | c ₄ | d ₁ | 0,8 | 0,78 | 4 | 5 | 4 | 4 | 0,17 | 0,17 | 147,8 | 149,2 | 120,22 | 116,93 | 4 | 3 |
| 11 | a ₃ | b ₃ | c ₁ | d ₃ | 0,56 | 0,55 | 4 | 4 | 4 | 5 | 0,15 | 0,16 | 122,1 | 124,4 | 5,15 | 5,50 | 4 | 5 |

Продовж. табл. 3.3

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 |
|----|----------------|----------------|----------------|----------------|------|------|---|---|----|----|------|------|-------|-------|-------|-------|----|----|
| 12 | a ₃ | b ₄ | c ₂ | d ₂ | 0,53 | 0,54 | 5 | 5 | 3 | 4 | 0,24 | 0,26 | 150,7 | 148,2 | 28,35 | 25,67 | 3 | 4 |
| 13 | a ₄ | b ₁ | c ₄ | d ₂ | 0,76 | 0,78 | 3 | 3 | 5 | 5 | 0,17 | 0,15 | 69,2 | 73,8 | 9,00 | 8,38 | 5 | 4 |
| 14 | a ₄ | b ₂ | c ₃ | d ₃ | 0,38 | 0,37 | 5 | 5 | 4 | 3 | 0,02 | 0,07 | 171,0 | 169,2 | 9,42 | 9,00 | 4 | 3 |
| 15 | a ₄ | b ₃ | c ₂ | d ₁ | 0,32 | 0,31 | 4 | 5 | 4 | 4 | 0,24 | 0,25 | 167,5 | 162,7 | 32,72 | 28,93 | 4 | 3 |
| 16 | a ₄ | b ₄ | c ₁ | d ₄ | 0,42 | 0,41 | 5 | 5 | 5 | 5 | 0,21 | 0,23 | 192,4 | 194,5 | 9,25 | 7,45 | 5 | 5 |

Примітка. y_1 і y'_1 - однорідність дозування таблеток-ядер першої і другої серії дослідів відповідно, $\pm\%$; y_2 і y'_2 - процес пресування таблеток-ядер першої і другої серії дослідів відповідно, бали; y_3 і y'_3 - зовнішній вигляд таблеток-ядер першої і другої серії дослідів відповідно, бали; y_4 і y'_4 - стиранність таблеток-ядер першої і другої серії дослідів відповідно, %; y_5 і y'_5 - міцність таблеток-ядер першої і другої серії дослідів відповідно, Н; y_6 і y'_6 - час розпадання таблеток-ядер першої і другої серії дослідів відповідно, хв; y_7 і y'_7 - зовнішній вигляд таблеток-ядер після 6 місяців зберігання першої і другої серії дослідів відповідно, бали.

На основі проведеного дисперсійного аналізу (Додаток Б) зробили висновок про вплив вивчених факторів на фармако-технологічні властивості порошкових мас та таблеток-ядер на основі L-триптофану та тіотриазоліну. Після встановлення значущості досліджених факторів, проводили порівняння для вивчених рівнів.

Результати дисперсійного аналізу показали, що вплив від різних наповнювачів на однорідність дозування таблеток-ядер статистично не виявлений; середні значення для однорідності дозування значуще не відрізняються.

На рис. 3.8 показано середні значення однорідності дозування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних наповнювачів.

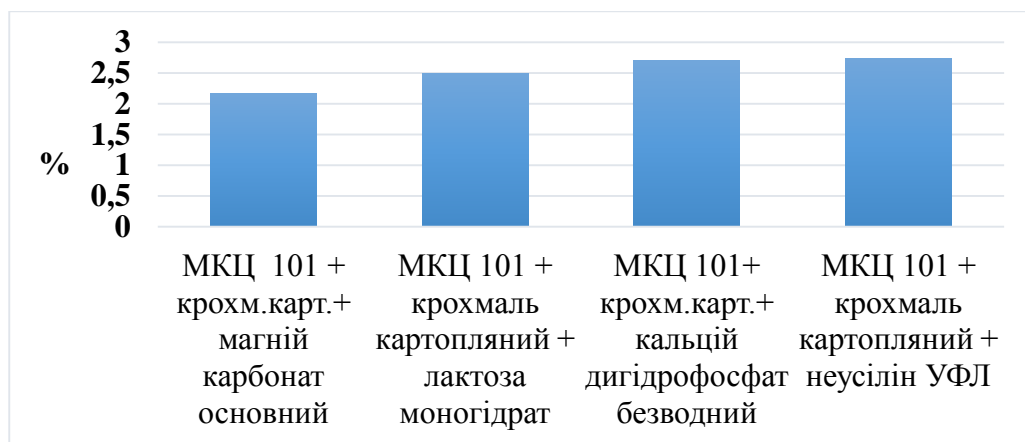


Рис. 3.8 Середні значення однорідності дозування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних наповнювачів (фактор А). Ось Y - «Відхилення від номінального вмісту, %»

Найкращі показники спостерігали при використанні суміші МКЦ 101 + крохмалю картопляного + магній карбонату основного, яка дає найкращі показники по однорідності у порівнянні з іншими сумішами: МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат, МКЦ 101+ крохм.карт.+ кальцій дигідрофосфат безводний, МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ. Зазначимо, що для всіх видів досліджених наповнювачів однорідність дозування отриманих таблеток-ядер знаходилась у фармакопейних нормах.

В подальших дослідженнях було вивчено вплив розпушувачів (фактор В) на однорідність дозування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін (рис. 3.9).

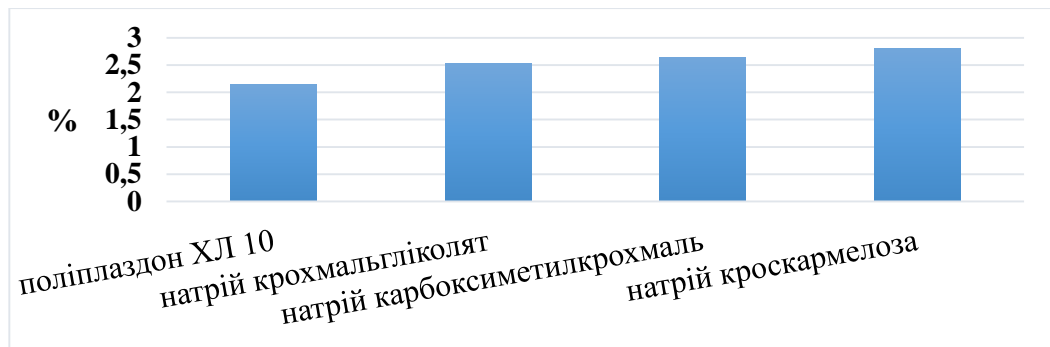


Рис. 3.9 Середні значення однорідність дозування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних розпушувачів (фактор В). Ось Y - «Відхилення від номінального вмісту, %»

З наведеного рис. 3.9 бачимо, що найкраща однорідність дозування таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном забезпечується при використанні поліплаздон ХЛ 10, у порівнянні з натрій крохмальгліколятом, натрій кроскармелозою та натрій карбоксиметилкрохмалем.

В наступних дослідженнях було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на однорідність дозування маси таблеток-ядер, результати наведено на рис. 3.10.

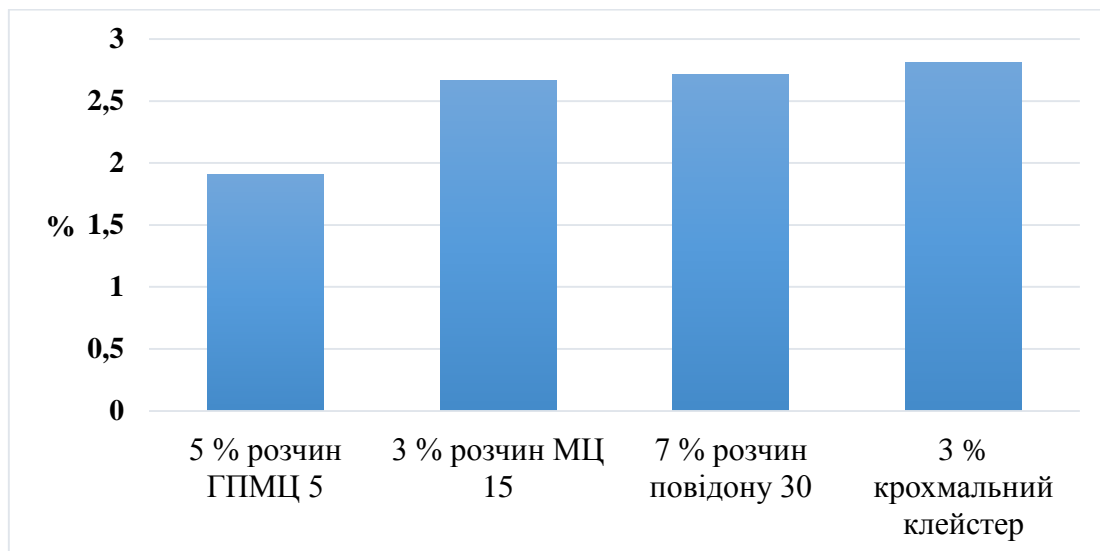


Рис. 3.10 Середні значення однорідність дозування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних зв'язуючих розчинів (фактор С). Ось Y - «Відхилення від номінального вмісту, %»

На рис. 3.10 досліджувані допоміжні речовини розміщені у порядку погіршення однорідності залежно від використовуваного зв'язуючого розчину. Найкращі показники спостерігаються при використанні 5 % розчин ГПМЦ 5, для якого спостерігається помітно краща однорідність у порівнянні з 3 % розчином МЦ 15, 7 % розчином повідону 30 та 3 % крохмальний клейстер.

Наступним дослідженням стало вивчення впливу солюбілізаторів (фактор D) на однорідність дозування маси таблеток-ядер, до складу яких входять L-триптофан та тіотриазолін, результати наведено на рис. 3.11.

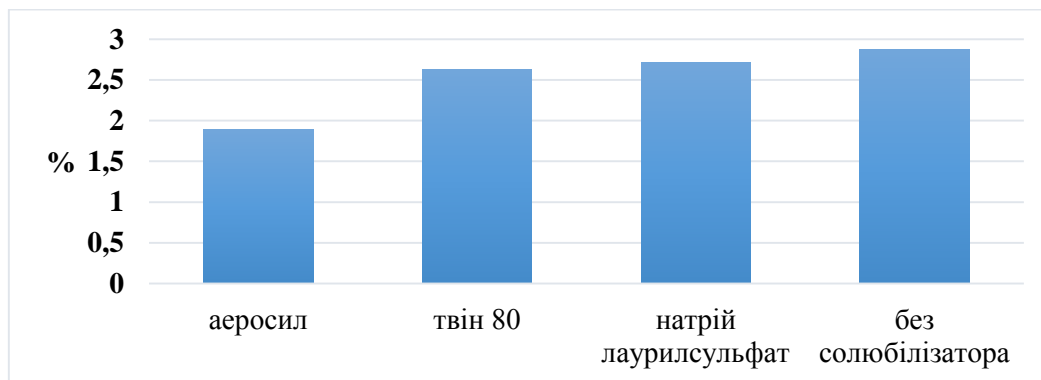


Рис. 3.11 Середні значення однорідність дозування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних солюбілізаторів (фактор D)
Ось Y - «Відхилення від номінального вмісту, %»

З рис. 3.11 випливає, що найкращий показник спостерігаються при використанні аеросилу, який помітно перевершує твін 80, натрій лаурилсульфат, а також відсутність солюбілізатора.

На основі проведеного дисперсійного аналізу зробили висновок про вплив вивчених факторів на фармако-технологічні властивості порошкових мас та таблеток-ядер на основі L-триптофана та тіотриазоліна. Результати дисперсійного аналізу показали, що на процес пресування досліджуваних таблеток-ядер не впливають всі чотири вивчені фактори. Однак одержані фактичні середні значення для однорідності зростають у послідовності: $A > B > D > C$.

Вплив наповнювачів (фактор A) на процес пресування таблеток-ядер наведено на рис. 3.12.

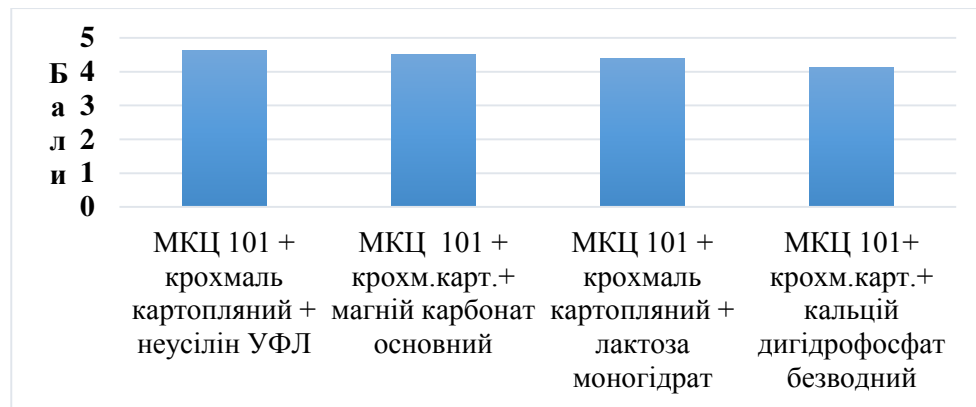


Рис. 3.12 Вплив наповнювачів (фактору А) на процес пресування таблеток-ядер. Ось Y – «оцінка процесу пресування, бали»

Результати дисперсійного аналізу показали, що на процес пресування суміші допоміжних речовин таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном впливає тільки фактор А. Вплив останніх факторів (В, С, D) статистично не виявлений; середні значення для процесу пресування значуще не відрізняються.

Аналіз рис. 3.12 показав, що найкраще впливають на процес пресування суміші допоміжних речовин, таких як МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ, гірше впливають інші суміші наповнювачів: МКЦ 101 + крохмаль картопляний + магній карбонат основний, МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат, МКЦ 101+ крохм.карт. + кальцій дигідрофосфат безводний.

В наступних дослідженнях розглянуто вплив розпушувачів (фактору В) на процес пресування таблеток-ядер (рис. 3.13).

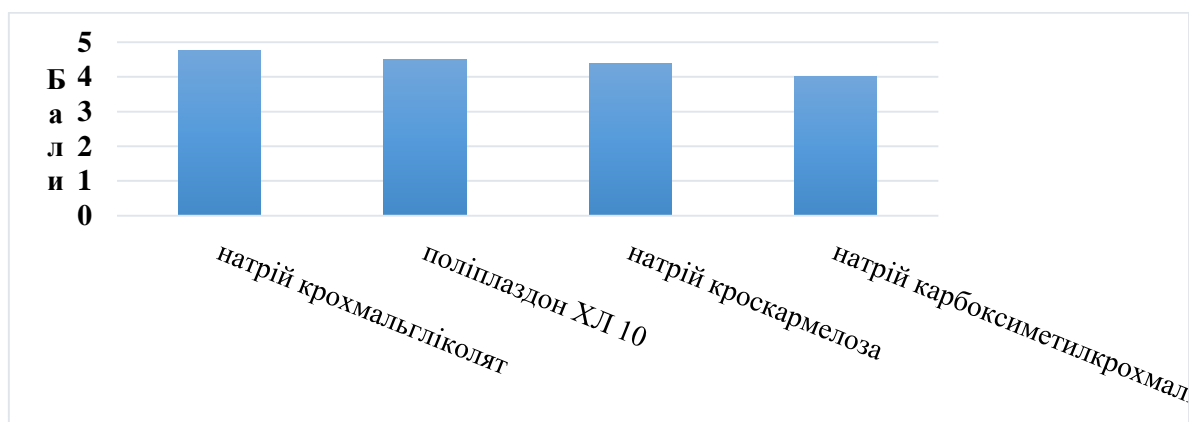


Рис. 3.13 Середні значення балів для процесу пресування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних розпушувачів (фактор В). Ось Y – «оцінка процесу пресування, бали»

Аналіз рис. 3.13 показав, що розпушувачі за результатом оцінки балів для на процесу пресування таблеток-ядер можна розмістити в наступній послідовності: натрій крохмальгліколят > поліплаздон ХЛ 10 > натрій кроскармелоза > натрій карбоксиметилкрохмаль. Найкраще себе зарекомендував натрій крохмальгліколят.

Також в подальших дослідженнях було розглянуто вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на процес пресування таблеток-ядер (рис. 3.14).

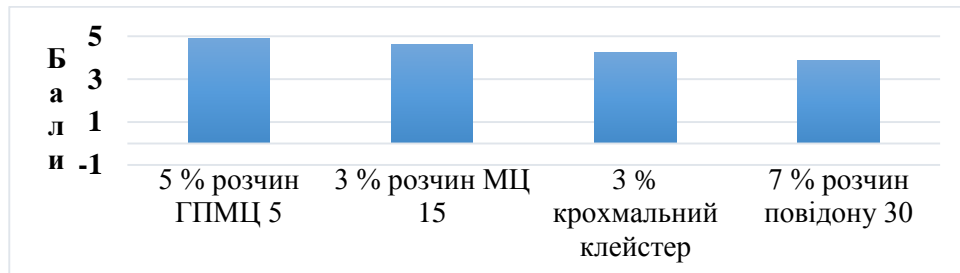


Рис. 3.14 Середні значення балів для процесу пресування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних зв'язуючих розчинів (фактор С). Ось Y – «оцінка процесу пресування, бали»

Проаналізувавши рис. 3.14 можна сказати, що найкращі результати за балами для процесу пресування таблеток-ядер, одержані для допоміжної речовини, а саме 5 % розчин ГПМЦ 5, який показує кращі результати у порівнянні з 3 % розчином МЦ 15, 3 % крохмальним клейстером та 7 % розчином повідону 30.

В подальших дослідженнях було розглянуто вплив солубілізаторів (фактору D) на процес пресування таблеток-ядер (рис. 3.15).

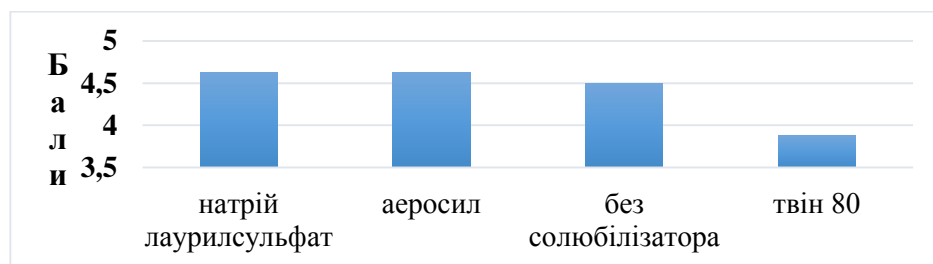


Рис. 3.15 Середні значення балів для процесу пресування таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних солубілізаторів (фактор D). Ось Y – «оцінка процесу пресування, бали»

Аналіз рис. 3.15 показав, що найкращі середні значення балів для процесу пресування одержані для допоміжної речовини натрій лаурилсульфат, гірші середні значення балів одержані для аеросилу, без додавання солубілізатора та твін 80.

Результати дисперсійного аналізу показали, що на зовнішній вигляд досліджуваних таблеток-ядер впливають всі чотири вивчені фактори: $C > D > B > A$.

Було досліджено вплив наповнювачів (фактор А) на зовнішній вигляд таблеток-ядер (рис. 3.16).

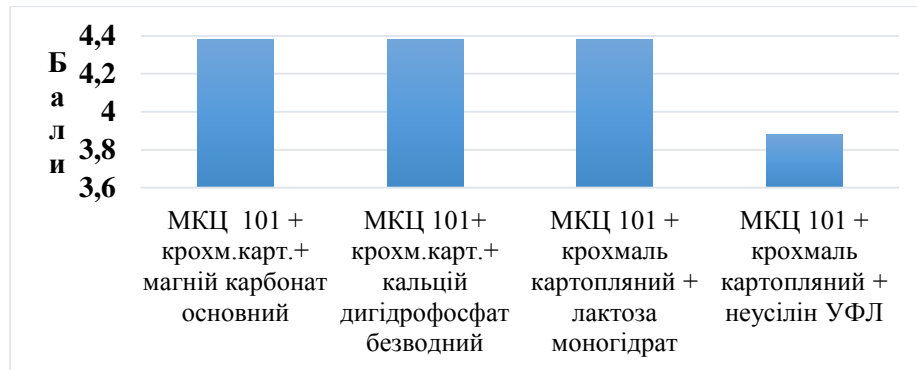


Рис. 3.16 Вплив наповнювачів на основі цукрів (фактор А) на зовнішній вигляд таблеток-ядер. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

На наведеному рис. 3.16 досліджувані допоміжні речовини розміщені за впливом на зовнішній вигляд таблеток-ядер. Найкращі показники спостерігали при використанні таких сумішей: МКЦ 101 + крохм.карт.+ магній карбонат основний, МКЦ 101+ крохм.карт.+ кальцій дигідрофосфат безводний, МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат, які мають перевагу над МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ.

В подальших дослідженнях було вивчено вплив розпушувачів (фактору В) на зовнішній вигляд таблеток-ядер (рис. 3.17).

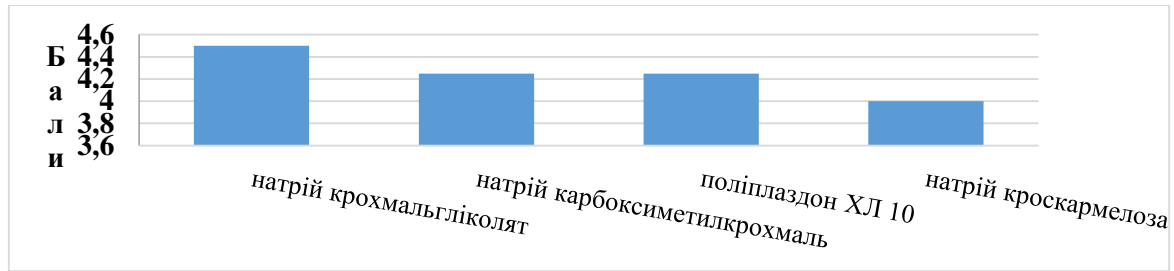


Рис. 3.17 Вплив розпушувачів (фактору В) на зовнішній вигляд таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

Аналіз рис. 3.17 показав, що найкраще впливає на зовнішній вигляд допоміжна речовина натрій крохмальгліколят, гірше впливають натрій карбоксиметилкрохмаль, поліплаздон ХЛ 10 та натрій кроскармелоза.

В наступних дослідженнях було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на зовнішньому вигляді таблеток-ядер (рис. 3.18).

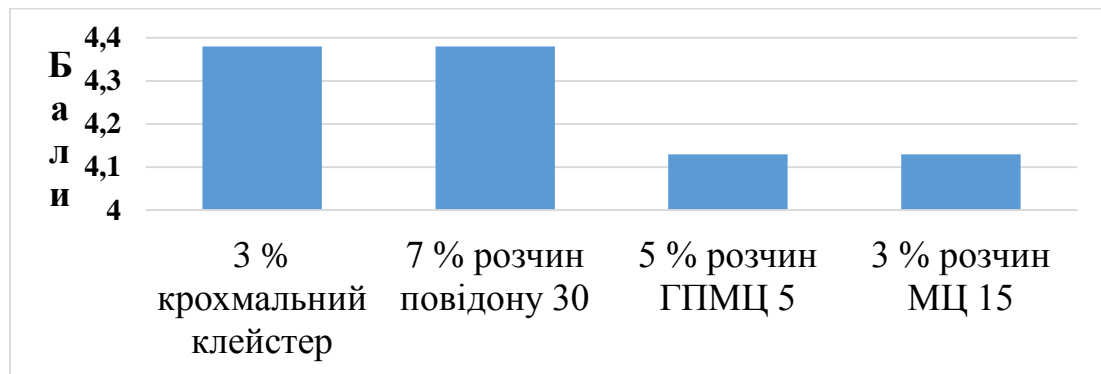


Рис. 3.18 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на зовнішній вигляд таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

На рис. 3.18 досліджувані допоміжні речовини розміщені за впливом на зовнішній вигляд таблеток-ядер. Найкращі показники спостерігаємо при використанні 3% крохмального клейстеру та 7 % розчин повідону 30, які мають перевагу над 5 % розчин ГПМЦ 5 та 3 % розчин МЦ 15.

Наступним дослідженням стало вивчення впливу солюбілізаторів (фактору D) на зовнішньому вигляді таблеток-ядер (рис. 3.19).

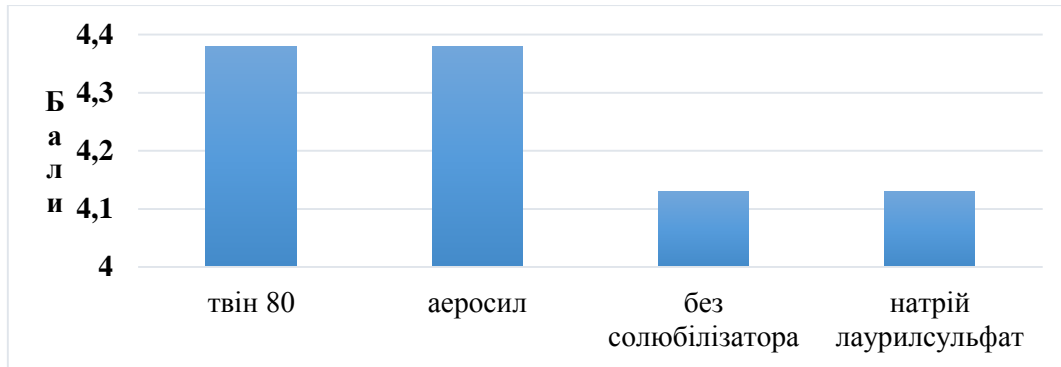


Рис. 3.19 Вплив солюбілізаторів (фактору D) на зовнішній вигляд таблеток-ядер. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

Проаналізувавши рис. 3.19 можна сказати, що найкраще впливають на зовнішній вигляд таблеток-ядер допоміжні речовини твін 80 та аеросил, які мають перевагу над натрій лаурилсульфат та у відсутності солюбілізатора.

Результати дисперсійного аналізу показали, що вплив від різних наповнювачів на стиранність таблеток-ядер статистично не виявлений; середні значення для стиранності значуще не відрізняються.

Проведено дослідження впливу наповнювачів (фактор A) на стиранність досліджуваних таблеток-ядер (рис. 3.20).

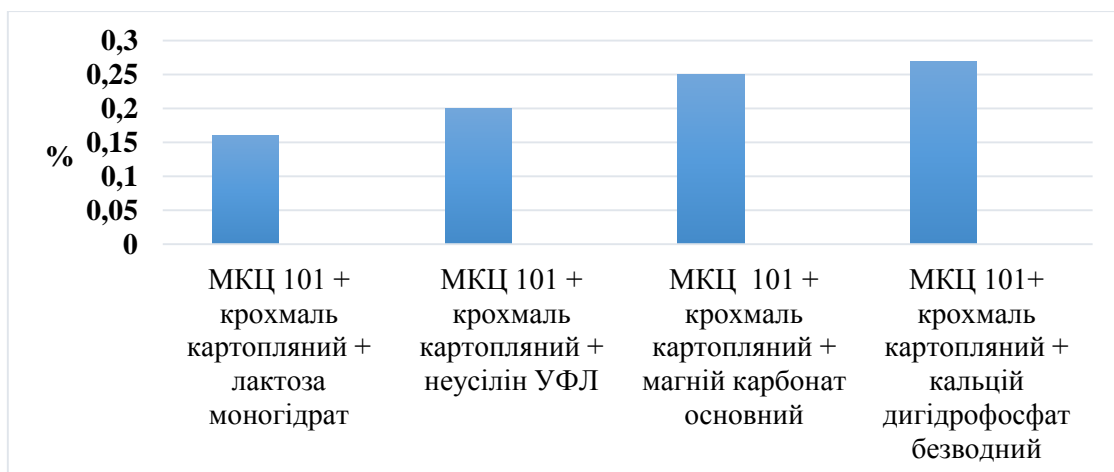


Рис. 3.20 Середні значення стиранності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних наповнювачів (фактор A). Ось Y – «максимальна втрата в масі таблеток, %»

Аналіз рис. 3.20 показав, що вивчені допоміжні речовини результатом для середніх значень стиранності таблеток-ядер можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат > МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ > МКЦ 101 + крохмаль картопляний + магній карбонат основний > МКЦ 101+ крохмаль картопляний + кальцій дигідрофосфат безводний. Найкраще себе проявила суміш МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат, тоді як суміш МКЦ 101+ крохмаль картопляний + кальцій дигідрофосфат безводний показала найвищий відсоток стиранності таблеток-ядер.

Далі було розглянуто вплив розпушувачів (фактору В) на стиранність таблеток-ядер, на основі L-триптофана та тіотриазоліна (рис. 3.21).

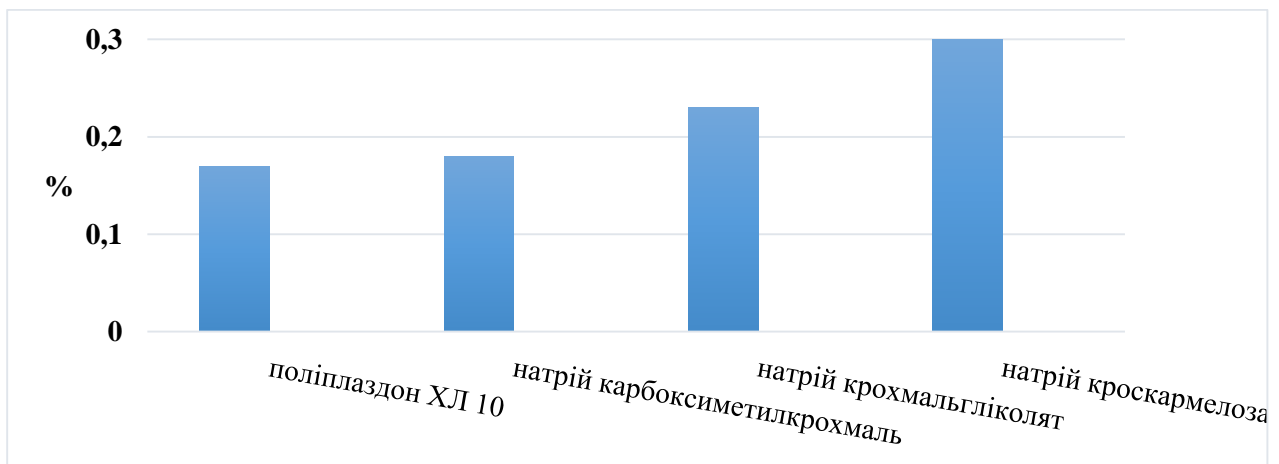


Рис. 3.21 Середні значення стиранності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних розпушувачів (фактор В). Ось Y – «максимальна втрата в масі таблеток, %»

Аналіз рис. 3.21 показав, що найменше значення стиранності спостерігається при використанні поліплаздону ХЛ 10, який показує кращі результати у порівнянні з натрій карбоксиметилкрохмалем, натрій крохмальгліколятом та натрій кроскармелозою.

У подальших дослідженнях було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на стиранність таблеток-ядер (рис. 3.22).

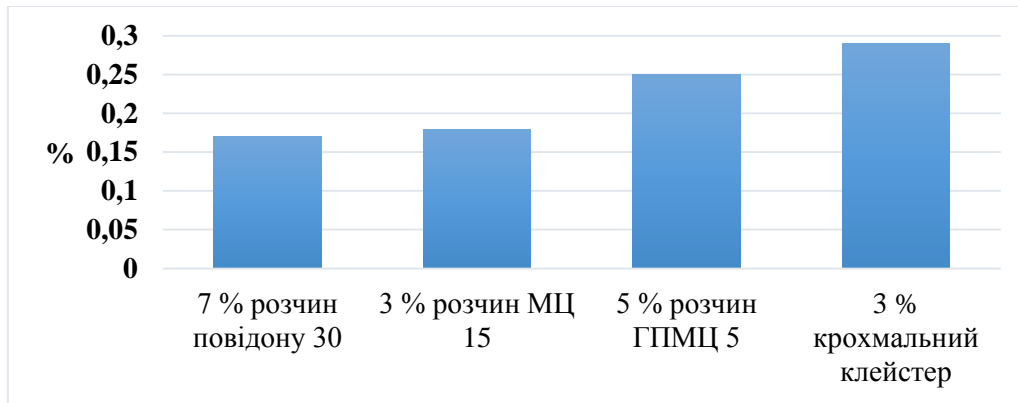


Рис. 3.22 Середні значення стираності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних зв'язуючих розчинів (фактор С). Ось Y – «максимальна втрата в масі таблеток, %»

З рис. 3.22 бачимо, що найменшу стираність мають таблетки-ядра при використанні у якості зв'язуючого розчину для забезпечення технологічних показників 7 % розчин повідону 30, який не суттєво випереджає 3 % розчин МЦ 15, а також 5 % розчин ГПМЦ 5 та 3% розчину метилцелюлози 15.

У наступних дослідженнях було вивчено вплив солубілізаторів (фактору D) на стираність таблеток-ядер (рис. 3.23).

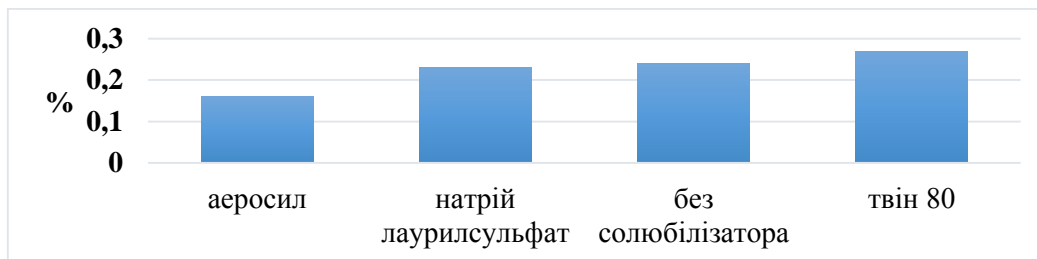


Рис. 3.23 Середні значення стираності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних солубілізаторів (фактор D). Ось Y – «максимальна втрата в масі таблеток, %»

Аналіз рис. 3.23 показав, що найменше значення стираності спостерігається в серіях таблеток-ядер, в яких було використано в якості солубілізатора аеросил, показує кращі результати у порівнянні з іншими серіями таблеток-ядер з додаванням натрій лаурилсульфату, твіну 80 та без додавання солубілізатора.

Результати дисперсійного аналізу показали, що вплив від різних наповнювачів на міцність таблеток-ядер статистично не виявлений; середні значення для стиранності значуще не відрізняються.

Розглянемо вплив наповнювачів (фактор А) на міцність таблеток-ядер (рис. 3.24).



Рис. 3.24 Середні значення для міцності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних наповнювачів (фактор А). Ось Y – «вимірювання сили, яка потрібна для руйнування таблетки, Н»

Аналіз рис. 3.24 показав, що результати можна розмістити у наступній послідовності від найкращого до найгіршого результату: МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат, МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ, МКЦ 101+ крохмаль картопляний + кальцій дигідрофосфат безводний, МКЦ 101 + крохмаль картопляний + магній карбонат основний. Лідером серед речовин досліджуваної групи є суміш МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат.

Далі було досліджено вплив розпушувачів (фактору В) на міцність таблеток-ядер (рис. 3.25).

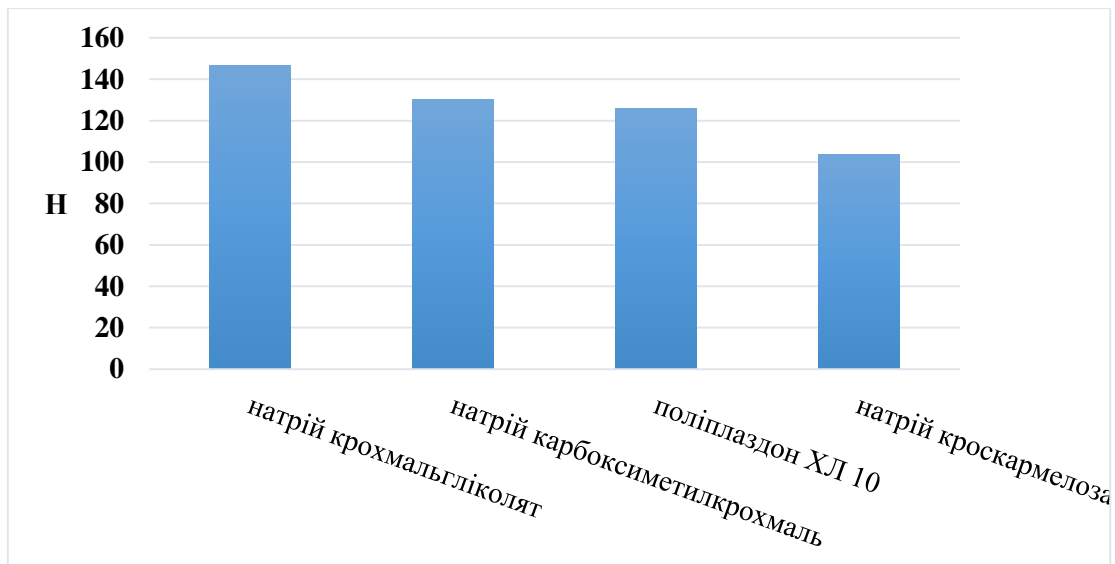


Рис. 3.25 Середні значення для міцності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних наповнювачів (фактор В).). Ось Y – «вимірювання сили, яка потрібна для руйнування таблетки, Н»

Розпушувачі, в залежності від результатів механічної стійкості таблеток-ядер до роздавлювання, можна розмістити в наступній послідовності: натрій крохмальгліколят > натрій карбоксиметилкрохмаль > поліплаздон ХЛ 10 > натрій кроскармелоза.

В подальшому було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на міцність таблеток-ядер (рис. 3.26).

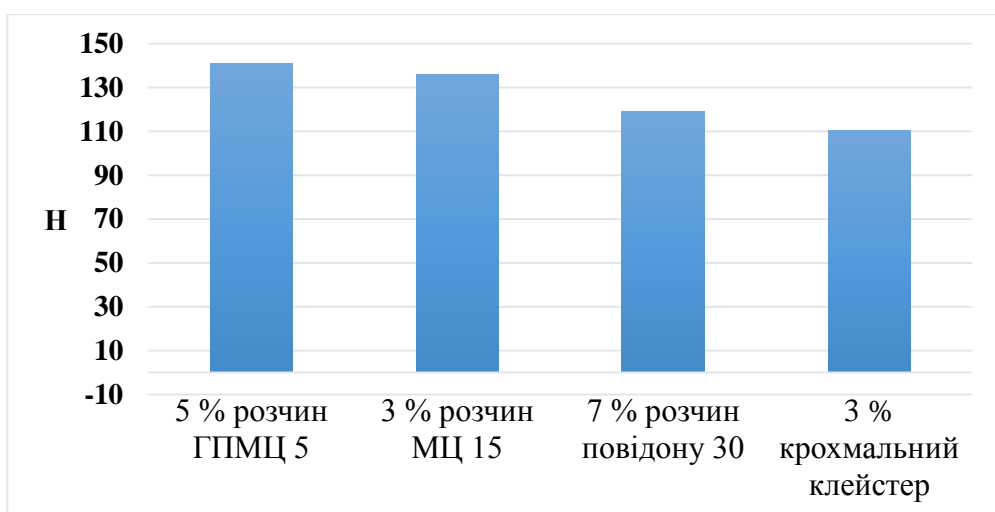


Рис. 3.26 Середні значення для міцності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних зв'язуючих розчинів (фактор С). Ось Y – «вимірювання сили, яка потрібна для руйнування таблетки, Н»

З рис. 3.26 бачимо, що найбільшу стійкість до роздавлювання таблеток-ядер серед групи зв'язуючих розчинів для забезпечення технологічних показників таблеток-ядер забезпечує 5 % розчин ГПМЦ 5, йому поступається 3 % розчин МЦ 15, а суттєво – 7 % розчин повідону 30 та 3 % крохмальний клейстер.

В наступних дослідженнях було вивчено вплив солубілізаторів (фактору D) на міцність таблеток-ядер (рис. 3.27).

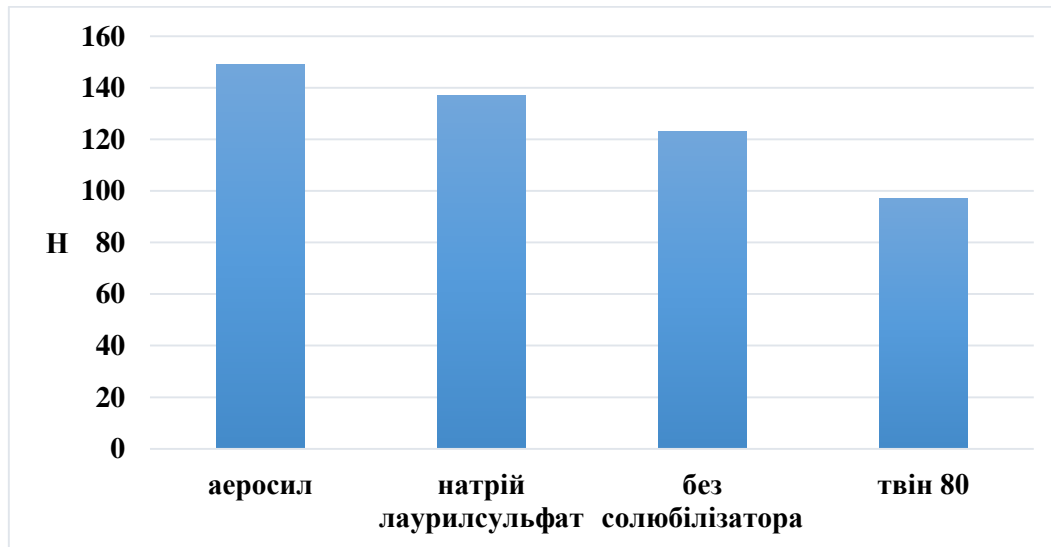


Рис. 3.27 Середні значення для міцності таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних солубілізаторів (фактор D). Ось Y – «вимірювання сили, яка потрібна для руйнування таблетки, H»

Солубілізатори за впливом на механічну стійкість таблеток-ядер до роздавлювання можна розмістити в наступній послідовності: Аеросил > натрій лаурилсульфат > без солубілізатора > твін 80.

Результати дисперсійного аналізу показали, що вплив від різних наповнювачів на розпадання таблеток-ядер статистично не виявлений; середні значення для розпадання значуще не відрізняються.

Проведено дослідження впливу наповнювачів (фактор A) на процес розпадання (рис. 3.28).

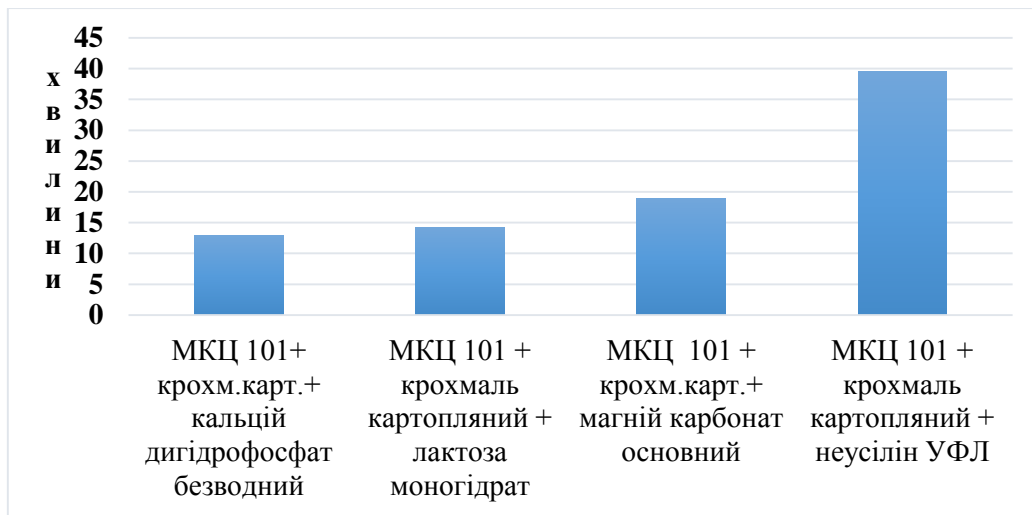


Рис. 3.28 Середні значення для розпадання таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних наповнювачів (фактор А). Ось Y – «час, який затрачений на розпадання таблетки в рідкому середовищі, хвилини»

Найшвидше розпадалися таблетки-ядра, що містили суміш МКЦ 101+ крохмаль картопляний + кальцій дигідрофосфат безводний (12,96 хв.). Ця суміш показує кращі результати у порівнянні з іншими комбінаціями наповнювачів МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат (14,27 хв.), МКЦ 101 + крохм.карт.+ магній карбонат основний (18,84 хв.) та МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ (39,5 хв.).

Далі було розглянуто вплив розпушувачів (фактору В) на процес розпадання (рис. 3.29).

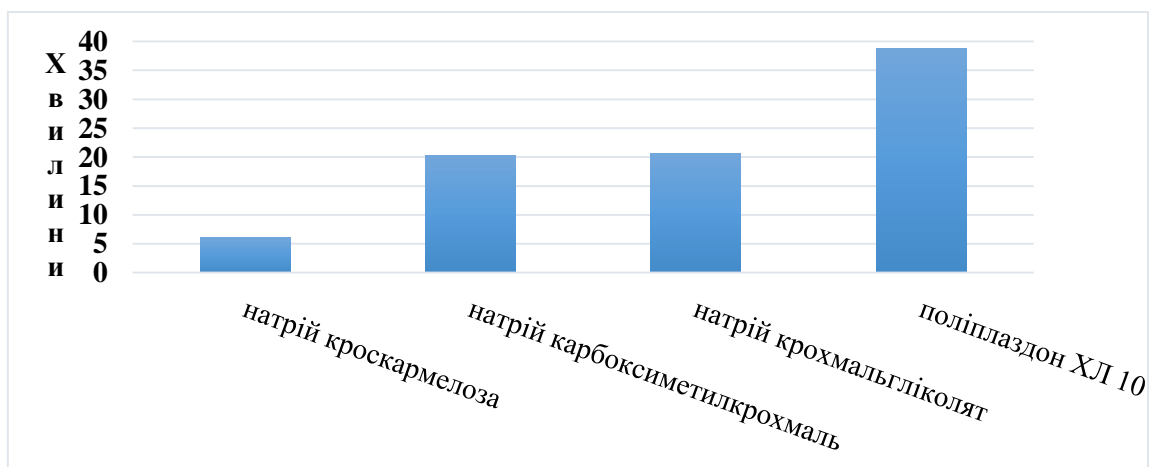


Рис. 3.29 Середні значення для розпадання таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних солюбілізаторів (фактор В).

Ось Y – «час, який затрачений на розпадання таблетки в рідкому середовищі, хвилини»

Найшвидше розпадалися таблетки-ядра, що містять в своєму складі натрій кроскармелозу (5,99 хв), гірші показники мають серії з натрій карбоксиметилкрохмалем (20,23 хв) та натрій крохмальгліколятом. Вказані допоміжні речовини показують кращі результати у порівнянні з поліплаздом ХЛ 10 (38,72 хв).

Далі розглянемо вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на процес розпадання (рис. 3.30).

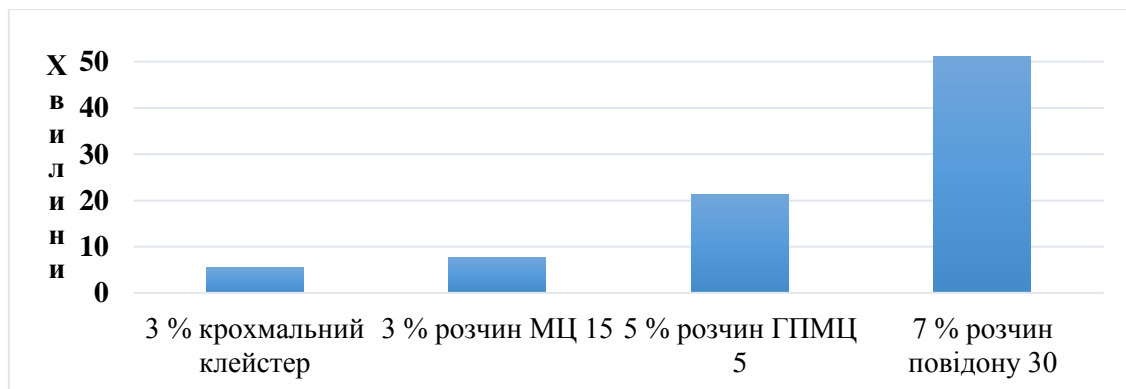


Рис. 3.30 Середні значення для розпадання таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних зв'язуючих розчинів (фактор С).
Ось Y – «час, який затрачений на розпадання таблетки в рідкому середовищі, хвилини»

Аналіз рис. 3.30 показав, що найменший час розпадання таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном спостерігається при використанні 3 % крохмального клейстеру (5,48 хв). Вказана речовина у середньому показує значно менший час розпадання у порівнянні з 3 % розчином МЦ 15 (7,74 хв), 5 % розчином ГПМЦ 5 (21,23 хв) та 7 % розчином повідону 30 (51,12 хв).

Далі було досліджено вплив солюбілізаторів (фактору D) на процес розпадання (рис. 3.31).

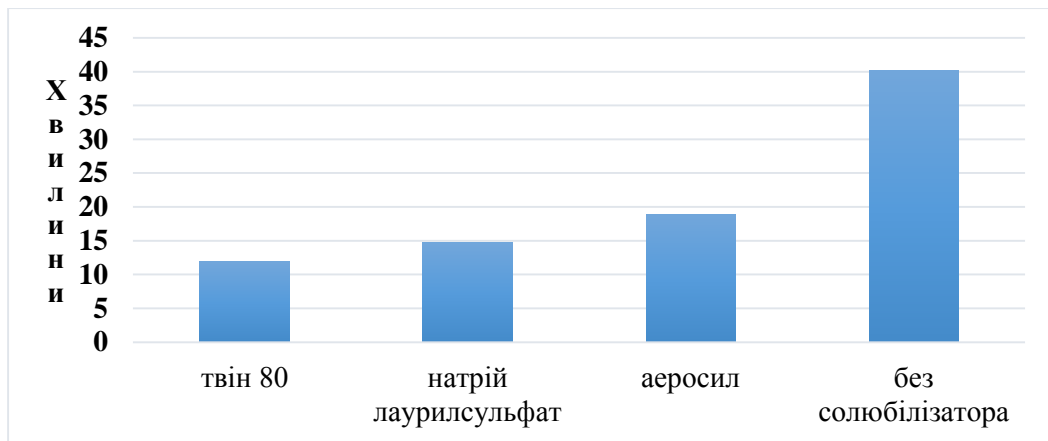


Рис. 3.31 Середні значення для розпадання таблеток-ядер, до складу яких входить L-триптофан та тіотриазолін, для різних солубілізаторів (фактор D). Ось Y – «час, який затрачений на розпадання таблетки в рідкому середовищі, хвилини»

Згідно наведеного рис. 3.31, найшвидше розпадалися таблетки-ядра, що мали у своєму складі твін 80 (11,89 хв), у порівнянні з натрій лаурилсульфатом (14,71 хв), аеросил (18,86 хв), а також без солубілізатора (40,1 хв).

На завершальному етапі дисперсійного аналізу був зроблений висновок про вплив на зовнішній вигляд таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном після 6 місяців зберігання першої і другої серії дослідів відповідно. На даний фармако-технологічний показник впливають всі чотири вивчені фактори: $B > A > D > C$.

Розглянемо вплив наповнювачів (фактор A) на зовнішній вигляд таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном після 6 місяців зберігання (рис. 3.32).

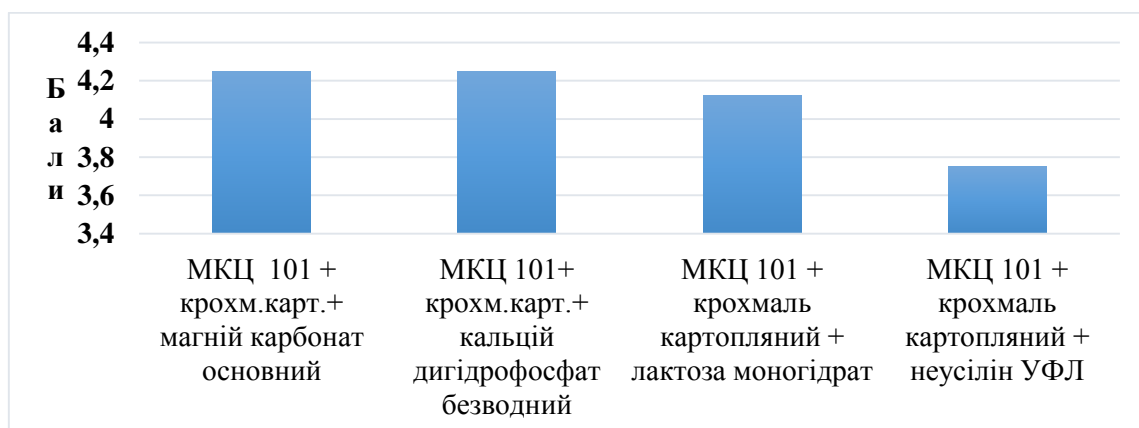


Рис. 3.32 Вплив наповнювачів (фактор A) на зовнішній вигляд таблеток-ядер, на основі L-триптофана та тіотриазоліна, після 6 місяців зберігання. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

Аналіз рис. 3.32 показав, що ефективність рівнів фактора А можна проілюструвати наступною залежністю переваг: МКЦ 101 + крохмаль картопляний + магній карбонат основний, МКЦ 101+ крохмаль картопляний + кальцій дигідрофосфат безводний, МКЦ 101 + крохмаль картопляний + лактоза моногідрат, МКЦ 101 + крохмаль картопляний + неусілін УФЛ. Лідерами серед речовин досліджуваної групи є суміш МКЦ 101 + крохмаль картопляний + магній карбонат основний та суміш МКЦ 101 + крохмаль картопляний + кальцій дигідрофосфат безводний.

Далі було досліджено вплив розпушувачів (фактору В) зовнішній вигляд таблеток-ядер, на основі L-триптофану та тіотриазоліну, після 6 місяців зберігання (рис. 3.33).

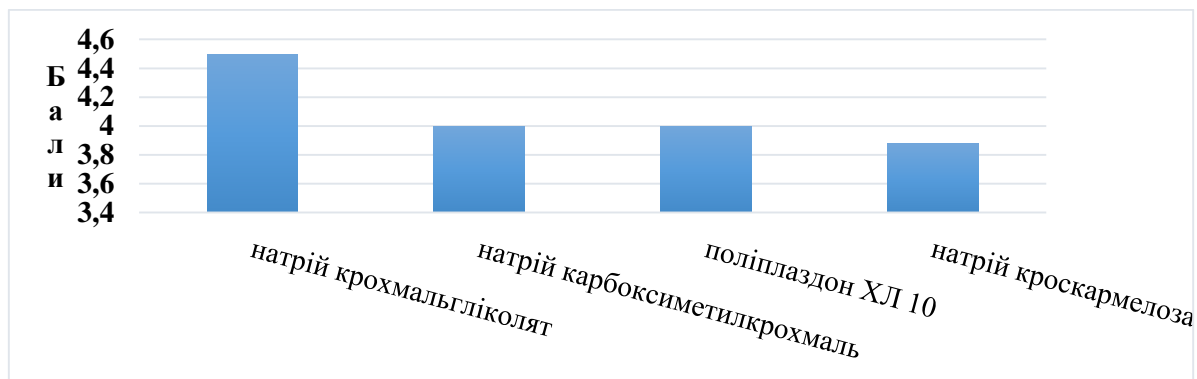


Рис. 3.33 Вплив розпушувачів (фактору В) на зовнішній вигляд таблеток-ядер L-триптофану та тіотриазоліну після 6 місяців зберігання. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

Розпушувачі на зовнішній вигляд таблеток-ядер L-триптофану та тіотриазоліну після 6 місяців зберігання можна розмістити в наступній послідовності: натрій крохмальгліколят > натрій карбоксиметилкрохмаль > поліплаздон ХЛ 10 > натрій кроскармелоза.

В подальшому було вивчено вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на зовнішній вигляд досліджуваних таблеток-ядер після 6 місяців зберігання (рис. 3.34).

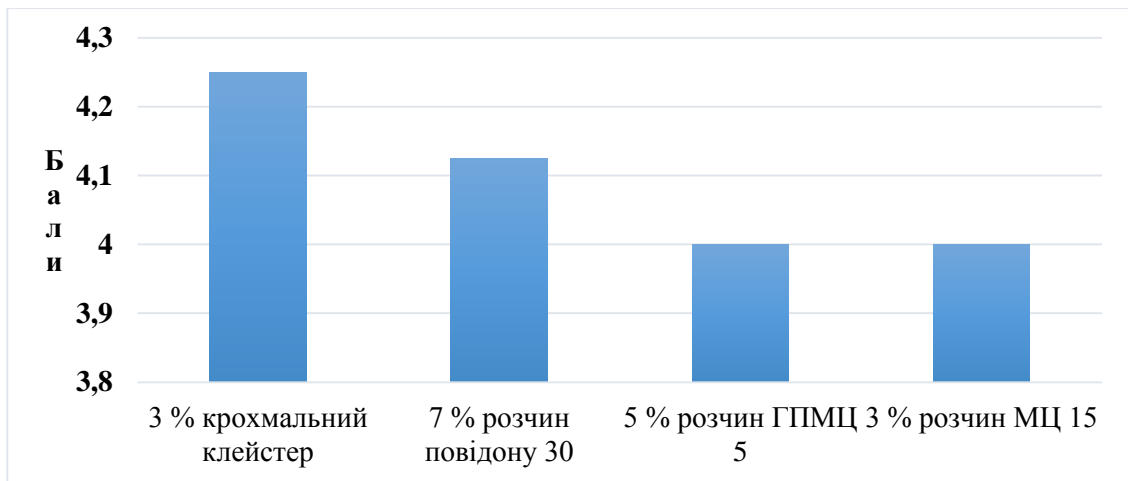


Рис. 3.34 Вплив природи зв'язуючих розчинів (фактору С) на зовнішній вигляд таблеток-ядер, на основі L-триптофану та тіотриазоліну, після 6 місяців зберігання. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

З рис. 3.34 бачимо, що найбільше на зовнішній вигляд таблеток-ядер L-триптофану та тіотриазоліну після 6 місяців зберігання серед групи зв'язуючих розчинів для забезпечення технологічних показників таблеток-ядер забезпечує 3% крохмальний клейстер, йому поступається 7% розчин повідону 30, а суттєво – 5 % розчин ГПМЦ 5 та 3 % розчин МЦ 15.

В наступних дослідженнях було вивчено вплив солюбілізаторів (фактору D) на зовнішній вигляд таблеток-ядер, на основі L-триптофану та тіотриазоліну, після 6 місяців зберігання (рис. 3.35).

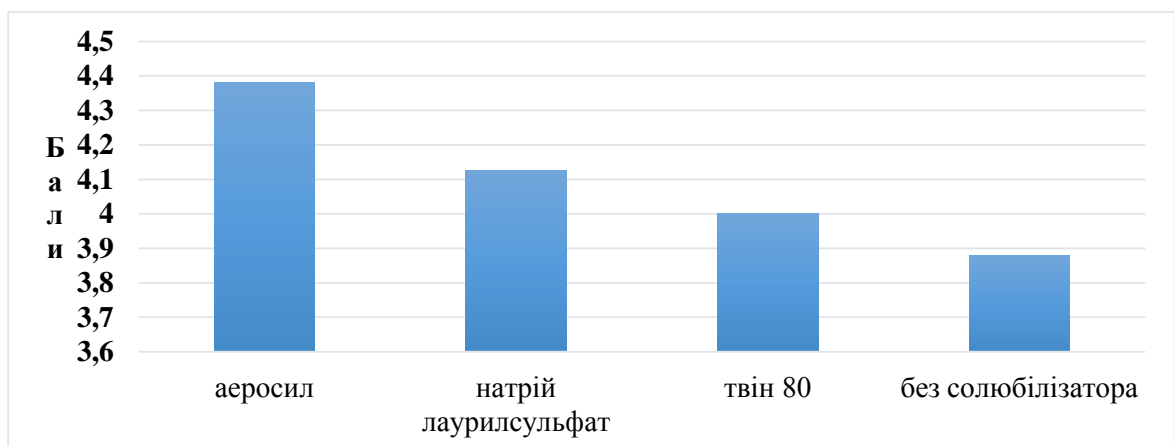


Рис. 3.35 Вплив солюбілізаторів (фактору D) на зовнішній вигляд досліджуваних таблеток-ядер після 6 місяців зберігання. Ось Y – «оцінка зовнішнього вигляду таблеток, бали»

Солюбілізатори за впливом на зовнішній вигляд таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном після 6 місяців зберігання можна розмістити в наступній послідовності: аеросил > натрій лаурилсульфат > твін 80 без солюбілізатора.

Проведені дослідження дозволили вивчити вплив основних груп допоміжних речовин, які найчастіше використовуються при створенні таблеток методом вологої грануляції. За дослідженими фармако-технологічними показниками отримані позитивні результати за відгуками щодо більшості із вивчених ДР. Рішення щодо кращих ДР для отримання таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном приймали на підставі вищеприведених даних.

Серед вивчених наповнювачів найкращим раціонально вважати суміш МКЦ 101 + крохмаль картопляний + магній карбонат основний, за допомогою якої забезпечується найкраща однорідність таблеткової маси таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном (y_1), зовнішній вигляд (y_3), стиранисть (y_5) та зовнішній вигляд досліджуваних таблеток-ядер після 6 місяців зберігання (y_7).

Серед вивчених розпушувачів найкращі фармако-технологічні показники таблеток-ядер з L-триптофаном та тіотриазоліном забезпечувались за допомогою натрій крохмальгліколяту. За допомогою вказаної ДР отримано таблетки-ядра з найкращими процесом пресування (y_2), зовнішнім виглядом (y_3), міцністю (y_4) та зовнішнім виглядом після 6 місяців зберігання (y_7).

Серед вивчених зв'язуючих розчинів немає вираженого «лідера» за всіма фармако-технологічними показниками таблеток-ядер на основі L-триптофану з тіотриазоліном. Встановлено, що найкраща однорідність (y_1), процес пресування (y_2) та міцність таблеток-ядер (y_4) забезпечується використанням 5 % розчину ГПМЦ 5. Заслужовує також уваги 3 % крохмальний клейстер, за допомогою якого найкраще забезпечуються наступні фармако-технологічні параметри: зовнішній вигляд таблеток-ядер (y_3), процес розпадання (y_6) та зовнішній вигляд після 6 місяців зберігання (y_7).

Лідером серед солюбілізаторів можна вважати аеросил, за допомогою якого найкраще забезпечується однорідність середньої маси таблеток-ядер з

L-триптофаном та тіотриазоліном (y_1), міцність (y_4) та зовнішній вигляд таблеток-ядер після 6 місяців зберігання (y_7). Серед даних ДР варто відмітити твін 80, за допомогою якого найкращий показник досягається за стираністю (y_5) та розпаданню таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном (y_6). Серед змащувальних речовин відібраний кальція стеарат.

В результаті проведених досліджень були відібрані раціональні ДР для створення таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном. Для цього свій вибір зупинили на таких ДР: суміш МКЦ 101+крохмаль картопляний+магній карбонат основний, натрій крохмальгліколят, 5 % розчин ГПМЦ 5, аеросил, кальція стеарат. Дані допоміжні речовини забезпечують відповідність отриманих таблеток-ядер всім фармако-технологічним вимогам, вказаним в ДФУ [86].

3.5 Розробка режимів нанесення захисної полімерної оболонки на таблетки

Так як, отримані таблетки-ядра L-триптофану з тіотриазоліном відносяться до аміновмісних лікарських засобів, які мають низький термін зберігання, попередньо спрогнозували використання захисного декоративного покриття [32, 201]. Кількісний вміст діючих речовин на протязі вказаного часу фактично не змінився, однак якість поверхні таблеток не відповідала вимогам щодо зовнішнього вигляду.

На сьогоднішній день частіш за все при виробництві таблеток з низьким терміном зберігання, використовуються захисне декоративне покриття [156]. Тому були проведені дослідження із створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном. В якості плівкоутворюючих композицій використовували готові суміші торгової марки Опадрай, які найчастіше використовуються вітчизняними фармацевтичними підприємствами в якості захисного покриття таблеток - на основі полівінілового спирту (ПВС) та гідроксипропілметилцелюлози (ГПМЦ). Використовували таблетки-ядра L-триптофану з тіотриазоліном з середньою масою 0,4504, стійкістю до роздавлювання 88,5 Н, стираністю 0,30 %, часом розпаданню – 4,4 хв.

Склад плівкоутворюючого покриття наведено у вигляді табл. 3.5.

**Склад плівкоутворюючого покриття таблеток з L-триптофану з
тіотриазоліном**

| Марка покриття | Склад | Кількість |
|---------------------------------|----------------------------------|-----------|
| Opadry 03 F 220015 Yellow | Гідроксипропілметилцелюлоза 2910 | 62,44 % |
| | Титану діоксид | 16,00 % |
| | Заліза оксид жовтий | 14,23 % |
| | ПЕГ (макрогол) | 6,25 % |
| | Тальк | 1,00 % |
| | Гідроксипропілметилцелюлоза 2910 | 0,06 % |
| | Заліза оксид червоний | 0,02 % |
| Opadry II 85 F 220087 Yellow | Полівіноловий спирт | 40,00 % |
| | Титану діоксид | 21,65 % |
| | ПЕГ (макрогол) | 20,20 % |
| | Тальк | 14,80 % |
| | Заліза оксид жовтий | 3,31 % |
| | Заліза оксид червоний | 0,04 % |

У зв'язку з тим, що досліджувані плівкоутворюючі покриття при однаковій концентрації забезпечують різну в'язкість, для експерименту використовували рекомендоване виробником Colorcon співвідношення: для покриття з ГПМЦ готували 12 % суспензію (серія 3), а для покриття на основі ПВС 15 % суспензію (серії 1 і 2).

Оскільки АФІ є термолабільними, критичним показником для розроблених таблеток був вплив температури. Тому додатково вивчали параметри нанесення оболонки, наведені у табл. 3.6 [207].

**Параметри нанесення покриття на таблетки L-триптофану з
тіотриазоліном**

| Стадія нанесення покриття | Параметри процесу | Серія 1 | Серія 2 | Серія 3 |
|---------------------------|--|------------|------------|------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Нагрів, знепилення | Швидкість обертів барабану, об/хв | 6 | 6 | 6 |
| | Швидкість вхідного повітря, м ³ /год | 32-35 | 32-35 | 25-28 |
| | Температура вхідного повітря, °С | 70-90 | 70-90 | 53-81 |
| | Температура продукту, °С | 35 | 35 | 35 |
| | Час, хв | 5 | 5 | 5 |
| Подача покриття | Швидкість подачі суспензії, об/хв | 12-14 | 12-14 | 12-16 |
| | Швидкість обертів барабану, об/хв | 8 | 8 | 8 |
| | Швидкість вхідного повітря, м ³ /год | 26-32 | 35-38 | 24-26 |
| | Температура вхідного повітря, °С | 32-73 | 41-96 | 31-79 |
| | Температура продукту, °С | 35 (33-37) | 42 (38-42) | 35 (33-36) |
| | Тиск АА, бар | 1,1 | 1,1 | 1,1 |
| | Тиск РА, бар | 1,0 | 1,0 | 1,0 |
| | Час, хв | 35 | 35 | 60 |
| Сушка | Швидкість обертів барабану, об/хв | 6 | 6 | 6 |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|--|-------|-------|-------|
| | Швидкість вхідного повітря, м ³ /год | 32-48 | 32-48 | 25-38 |
| | Температура вхідного повітря, °С | 70-90 | 70-90 | 55-80 |
| | Температура продукту, °С | 35 | 35 | 35 |
| | Час, хв | 5 | 5 | 5 |

При нанесенні оболонки використовували установку для нанесення плівкоутворюючого покриття Glatt, об'єм барабану 0,8 л, маса завантаження 400 г. На таблетки-ядра наносили 3 % плівкоутворювача до досягнення середньої маси таблетки 0,4307 г. Для отримання серії 1 використано 75,3 г плівкоутворювача, для серії 2 – 71,9 г, для серії 3 – 83,9 г.

Кожну серію оцінювали за зовнішнім виглядом і фармако-технологічними показниками до таблеток, вкритих плівковою оболонкою. ДФУ висуває вимоги лише по випробуванню розпадання. Результати дослідження показано у табл. 3.6.

Таблиця 3.6

**Результати дослідження таблеток, вкритих плівковою оболонкою, з
L-триптофаном та тіотриазоліном**

| Марка покриття | Температура продукту при покритті, °С | Серія | у ₁ | у ₂ | у ₃ | у ₄ | у ₅ | у ₆ |
|---------------------------------|---------------------------------------|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Opadry II 85 F 220087 Yellow | 35 | 1 | 5 | 0,7 | 91,4 | 5,5 | 198,67 | 49,8 |
| | 42 | 2 | 5 | 1,1 | 93,6 | 5,75 | 184,12 | 49,65 |
| Opadry 03 F 220015 Yellow | 35 | 3 | 4 | 0,9 | 96,1 | 5,7 | 198,84 | 49,47 |

Примітка. у₁ - зовнішній вигляд таблеток, вкритих плівковою оболонкою, бали; у₂ - однорідність дозування таблеток, вкритих плівковою оболонкою, ±%; у₃ - міцність таблеток, вкритих плівковою оболонкою, Н; у₄ - час розпадання таблеток,

вкритих плівковою оболонкою, хв; y_5 -грамовий вміст L-триптофану в таблетках, вкритих плівковою оболонкою, мг; y_6 -грамовий вміст тіотриазоліну в таблетках, вкритих плівковою оболонкою, мг.

З табл. 3.6 видно, що покриття Opadry 03 F 220015 Yellow на основі ГПМЦ забезпечує гірший зовнішній вигляд таблеток, за рахунок нерівної поверхні та вищерблених країв таблетки, а Opadry II 85 F 220087 Yellow – хороший зовнішній вигляд таблеток. Час розпадання практично не відрізнявся, але за кількісним вмістом серія 2 не відповідала фармакопейним вимогам. Це можна пояснити розкладанням АФІ під впливом температури. Серія 1 характеризувалась всіма задовільними показниками, тому вибрана як оптимальна.

Отже, проведені експериментальні дослідження дозволили вибрати плівкоутворюючу систему для нанесення покриття на основі ПВС. Доцільно використовувати 12 % суспензію Opadry II 85 F 220087 Yellow. Запропоновано параметри нанесення покриття, причому температура продукту повинна становити 35 °С.

Спираючись на проведені дослідження був запропонований наступний склад таблеток, який наведений в табл. 3.8.

Таблиця 3.7

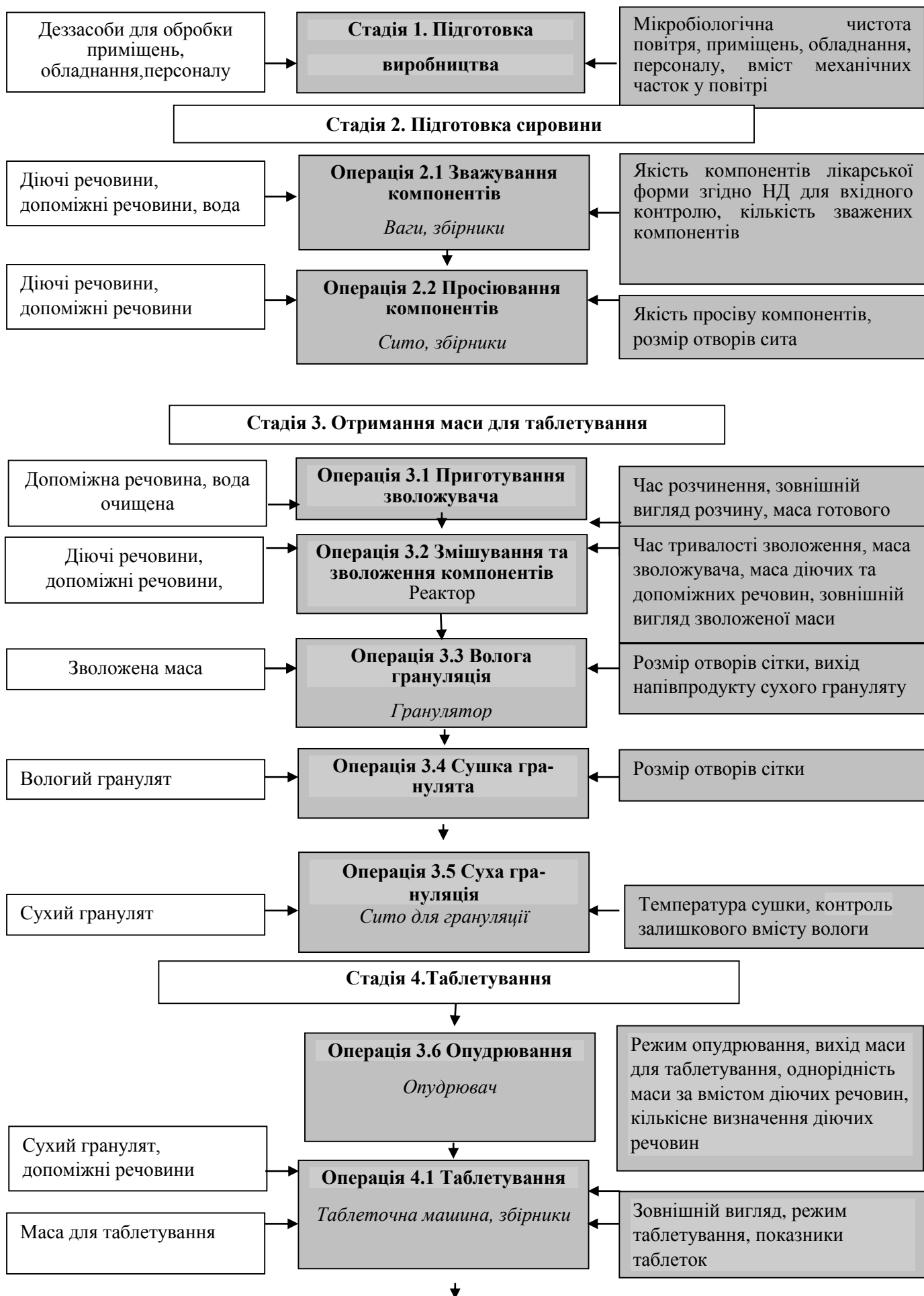
Склад таблеток L-триптофану з тіотриазоліном

| Діюча речовина | Грамовий вміст речовини в одній таблетці | Відсотковий вміст речовини в одній таблетці |
|----------------------|--|---|
| 1 | 2 | 3 |
| L-триптофан | 0,2000 | 44,44% |
| тіотриазолін | 0,0500 | 11,11% |
| МКЦ 101 | 0,0562 | 12,48% |
| крохмаль картопляний | 0,0561 | 12,46% |

| 1 | 2 | 3 |
|---------------------------------|--------|--------|
| магній карбонат основний | 0,0561 | 12,46% |
| натрій крохмальгліколят | 0,0225 | 5,0% |
| 5 % розчин ГПМЦ 5 | Qs | - |
| аеросил | 0,0045 | 1,0% |
| кальцію стеарат | 0,0045 | 1,0% |
| Opadry II 85 F 220087 Yellow | Qs | 3,0% |

Дані допоміжні речовини забезпечують відповідність отриманих таблеток L-триптофану з тіотриазоліном всім фармако-технологічним вимогам, вказаним в ДФУ.

В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток методом вологої грануляції (рис. 3.36), яку апробовано на базі ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (Додаток Н).



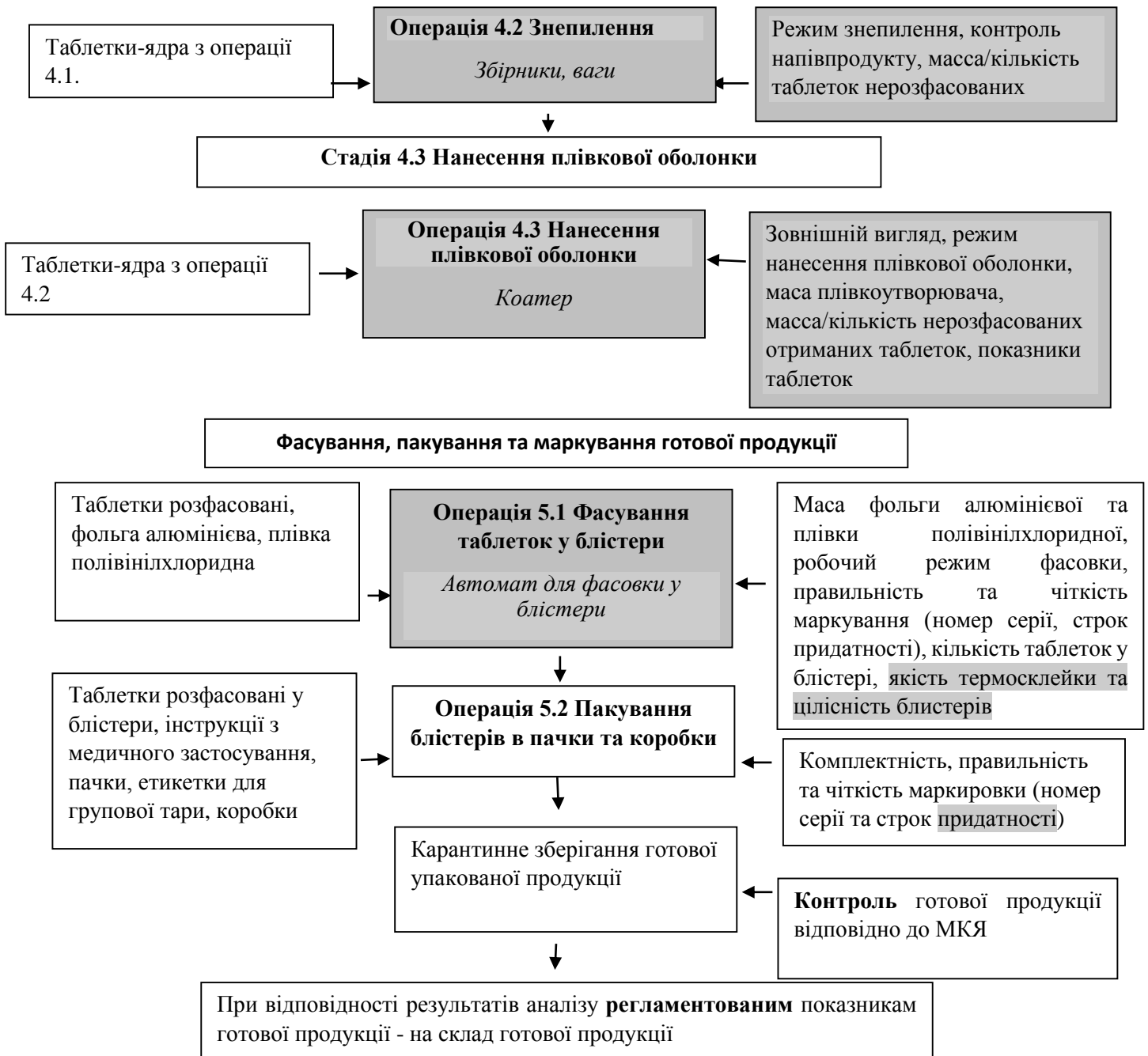


Рис. 3.36 Технологічна схема виробництва таблеток, вкритих плівковою оболонкою, L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції (сірим кольором відмічені критичні стадії і критичні точки контролю в процесі виробництва)

Результати дослідження впроваджені в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика (Додаток К), кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного

університету ім. І. Я. Горбачевського (Додаток Ж), кафедри фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (Додаток Д), кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету (Додаток Р).

Висновки до розділу 3

1. В ході роботи доведено доцільність розробки таблетованої лікарської форми з триптофаном та тіотриазоліном.
2. Попередньо було проведено квантово-хімічні розрахунки, в результаті яких було виявлено, що між діючими речовинами не виникають стійкі хімічні зв'язки, а тільки нестійкі водневі. Все вище сказане дає можливість поєднання L-триптофану та тіотриазоліну в одній лікарській формі у вигляді таблеток.
3. Також проведено дериватографічні дослідження, які підтвердили, що L-триптофан та тіотриазолін є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою.
4. Проведено морфометричні дослідження субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну, що дозволило запропонувати в якості отримання таблеток метод вологої грануляції.
5. На наступному етапі для створення нового комбінованого таблеткованого лікарського засобу, що містить L-триптофан та тіотриазолін методом вологої грануляції було досліджено 16 допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, зв'язуючі, солубілізатори). В результаті було відібрано оптимальні ДР для створення таблеток-ядер L-триптофану з тіотриазоліном, які згодом будуть покриватися плівковою оболонкою. Дані ДР забезпечують всі фармако-технологічні вимоги, які висуваються до таблеткованої лікарської форми згідно вимог ДФУ.
6. Проведені експериментальні дослідження дозволили вибрати плівкоутворюючу систему для нанесення покриття на основі ПВС. Було встановлено доцільність використання Opadry II 85 F 220087 Yellow.

Запропоновано параметри нанесення покриття. В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток методом вологої грануляції, яку апробовано на базі ДП «Державна науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (Додаток Н).

7. Результати дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика (Додаток К), кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (Додаток Ж), кафедри фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (Додаток Д).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Theoretical study of the possibility of L-tryptophan with thiotriazoline complex formation / L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, S. A. Borsuk, O. V. Khromylova, S. V. Shishkina. *Запорозж. мед. журн.* 2018. Т. 20, № 1. С. 110-115. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна. *Фармац. часопис.* 2017. № 3. С. 31-38. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Фармац. часопис.* 2017. № 4. С. 22-29. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

4. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Актуальність створення нового комбінованого таблеткованого нейропсихотропного лікарського засобу. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня 2016 р) : у 2 т. Т. 1. Харків : НФаУ, 2016. С. 373.
5. Борсук С. О. Обґрунтування вибору лікарської форми нового комбінованого нейропсихотропного препарату. *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2017* : тези Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студ. з міжнар. участю, присвяч. Дню науки (11-12 трав. 2017 р., м. Запоріжжя). Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. С. 142.
6. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір оптимальних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет–конф. (14-15 листоп. 2017 р.). Харків : НФаУ, 2017. С. 122.
7. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Інновації та перспективи сучасної медицини», ВІМСО 2018* : тези доп. V Міжнар. мед.-фармац. конгресу студентів та молодих вчених (Чернівці, 4-6 квітня 2018 р.) Чернівці, 2018. С. 417.
8. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80-річчю з дня народження д. ф. н. проф. О. М. Гайдукевича. (12-13 квітня 2018 р.). Харків : НФаУ, 2018. С. 167-168.
9. Борсук С. О., Сорокопуд Л. Ю. Выбор оптимальных вспомогательных веществ с целью создания таблеток L-триптофана и тиотриазолина методом влажной грануляции. Материалы VIII научно-практической конференции молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали абни Сино с международным участием, 2018, Душамбе, ТГМУ, том 2, С. 12.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ТАБЛЕТОК З

L-ТРИПТОФАНОМ ТА ТІОТРИАЗОЛІНОМ

4.1 Вивчення існуючих та розробка нових методик стандартизації лікарського засобу на основі L-триптофану та тіотриазоліну

Одним із завдань при розробці нових лікарських засобів є підтвердження якості даних препаратів. Сучасний розвиток фармацевтичного аналіз вимагає більш глибокого та детального аналізу хімічного складу різноманітних сумішей та комбінацій. Крім того, для хімічного виробництва, в тому числі й для виготовлення лікарських засобів, характерно постійне зростання вимог до чистоти виготовлених лікарських засобів, посиленні методів контролю, тенденції до кількісних критеріїв при оцінці якості. Тому, крім оцінки інтегральних характеристик, властивих об'єкту дослідження в цілому, часто вимагається детальне вивчення вмісту окремих компонентів, що визначають якість лікарського препарату [3, 4, 193].

Для нового таблетованого лікарського засобу з L-триптофану та тіотриазоліном постала необхідність розробити методики стандартизації, які відповідатимуть вимогам ДФУ та міжнародним стандартам. Для цього спочатку було вивчено вже існуючі методики контролю якості субстанцій триптофану та тіотриазоліну.

На сьогодні в фармацевтичному аналізі велику увагу приділяють новим сучасним методам стандартизації субстанцій. Спираючись на хімічну будову L-триптофану та тіотриазоліну (рис. 4.1), було проведено аналіз субстанції згідно раніше розроблених методик.

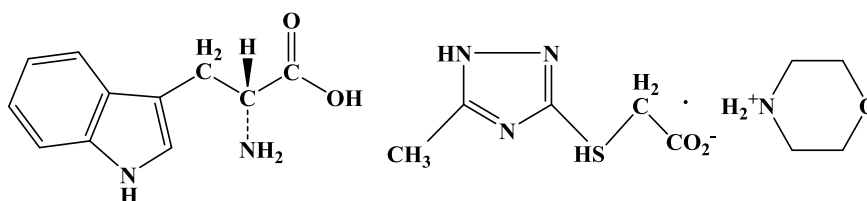


Рис. 4.1 Структурна формула триптофану (2-аміно-3-(1H-індол-3-іл)пропанова кислоти) та тіотриазоліну (морфолінієва сіль 5-метил-1,2,4-тріазол-3-ілтїоацетатної кислоти)

Досліджувана субстанція L-триптофан являє собою кристалічний або аморфний порошок білого або майже білого кольору.

Триптофан помірно розчинний у воді Р, мало розчинний у етанолі (96%) Р і хлороформі Р.

При здійсненні ідентифікації субстанції було проведено характерну реакцію на амінокислоти, а саме – з розчином нінгідрину, у присутності кислоти хлористоводневої розведеної і хлороформу (хлороформний шар забарвлюється у жовто-бурий колір).

Державна Фармакопея України висуває вимоги щодо оптичного питомого обертання. Для цього 0,25 мг субстанції розчиняють у воді при нагріванні на водяній бані і доводять об'єм до 25 мл. Питоме оптичне обертання повинно бути від -33 до -30 у перерахунку на суху речовину.

Кількісно L-триптофан визначають за допомогою методу ацидиметрії в неводному середовищі. Для цього 0,150 мг субстанції розчиняють у 3 мл мурашиної кислоти Р, додають 30 мл оцтової кислоти безводної Р і титрують 0,1 М розчином хлорної кислоти, використовуючи як індикатор 0,1 мл нафтолбензеїну розчину Р [47].

В свою чергу, тіотриазолін якісно визначають за допомогою фізико-хімічних методів: температури плавлення (від 147 °С до 152 °С), ІЧ-спектроскопії.

При нагріванні субстанції до розплавлення і закипання виділяються пари, у яких вологий червоний лакмусовий папір синіє (реакція на морфолін).

При додаванні до препарату *n*-диметиламінобензальдегіду у присутності суміші оцтового ангідриду $(\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O}$ і льодяної ацетатної кислоти CH_3COOH (1:4) і нагріванні утворюється оранжево-коричневе забарвлення (реакція на залишок тіооцтової кислоти).

При нагріванні субстанції спостерігається побуріння смужки фільтрувального паперу, змоченого плюмбум (II) ацетату (реакція на органічно зв'язаний атом сульфору).

Кількісне визначення тіотриазоліну проводять методом ацидиметрії в неводному середовищі в середовищі оцтової кислоти, в якості титранту використовують 0,1 М розчин хлорної кислоти.

В лікарських засобах тіотриазолін визначають за допомогою спектрофотометрії при довжині хвилі 232 нм [45].

Вищенаведене підтверджує, що дані діючі речовини важко проаналізувати раніше розробленими методами ідентифікації та кількісного визначення. Тому головним завданням на даному етапі є розробка нових високоточних методів аналізу L-триптофану та тіотриазоліну.

4.2. Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії

В наш час комбінації різних за фізико-хімічними властивостями речовин, частіш за все, якісно та кількісно визначають за допомогою фізичних або фізико-хімічних методів аналізу. Одним з доступних методів являється спектрофотометрія. Тому першим завданням при визначенні ідентичності комбінації L-триптофану з тіотриазоліном була розробка методики спектрофотометричного визначення даних речовин. Але, в процесі, дослідження виявилось що максимуми поглинання накладаються, що не уможливило визначення даних сполук цим методом [108, 164, 166].

Тому для визначення діючих речовин у новому комбінованому лікарському засобі L-триптофану та тіотриазоліну була вивчена можливість проведення іншої методики.

Частіш за все, сумісне визначення компонентів в багатокомпонентній суміші ускладнюється або неможливе без застосування сучасних фізико-хімічних методів. Серед таких методів домінує високоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ). Бурхливий розвиток цього методу відкрив можливості одночасного визначення сумішей, що містять десятки, а то й сотні компонентів. Цей метод у відповідних умовах дозволяє одночасно ідентифікувати та кількісно визначити діючі речовини

в лікарських засобах, тому актуальним є розробка методики одночасного визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші за допомогою методу ВЕРХ [12, 43, 49, 97, 120, 136, 142, 164, 165, 166, 212].

Тому постала мета розробити методику одночасної стандартизації L-триптофану та тіотриазоліну у штучній суміші методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Для цього було виготовлено 6 серій модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну в співвідношенні 1:1 (таке співвідношення було взято для того, щоб визначити можливість одночасного сумісного визначення L-триптофану (виробник: Sigma-Aldrich) та тіотриазоліну (виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України).

Насамперед за основу взяли вже відому методику аналізу тіотриазоліну на оберненій фазі з використанням кислого фосфатного буфера (РН 3) при довжині хвилі 220 нм. У цих умовах тіотриазолін утримується майже 8 хв [126].

Приклад хроматограми робочого розчину тіотриазоліну (0,4 мг/мл) наведено на рис. 4.2.

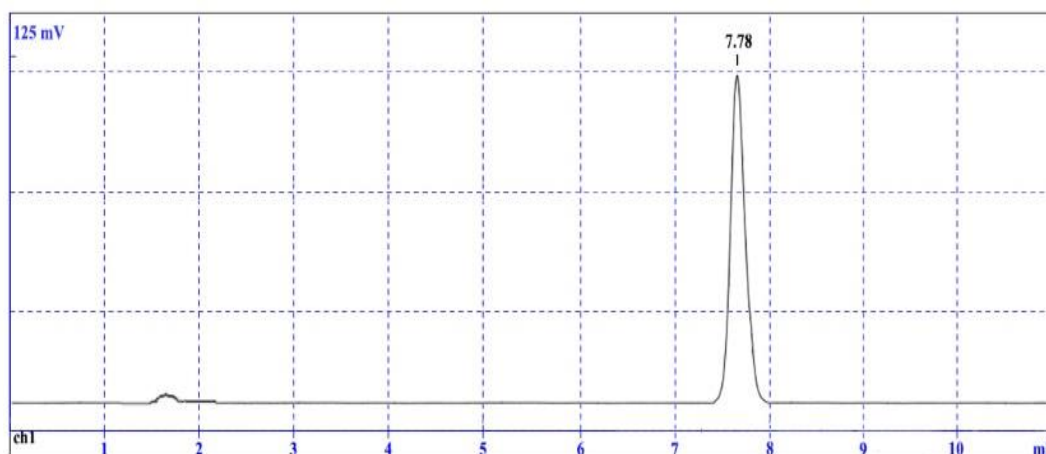


Рис. 4.2 Хроматограма випробуваного розчину тіотриазоліну (0,4 мг/мл тіотриазоліну). Елюент: 10% метанолу – 90% фосфатного буфера. Нерухома фаза – С 18.

Також з використанням даної методики і відповідних умов хроматографування було знято хроматограму випробуваного розчину L-триптофану.

Приклад хроматограми випробуваного розчину L-триптофану (0,4 мг/мл) наведено на рис. 4.3.

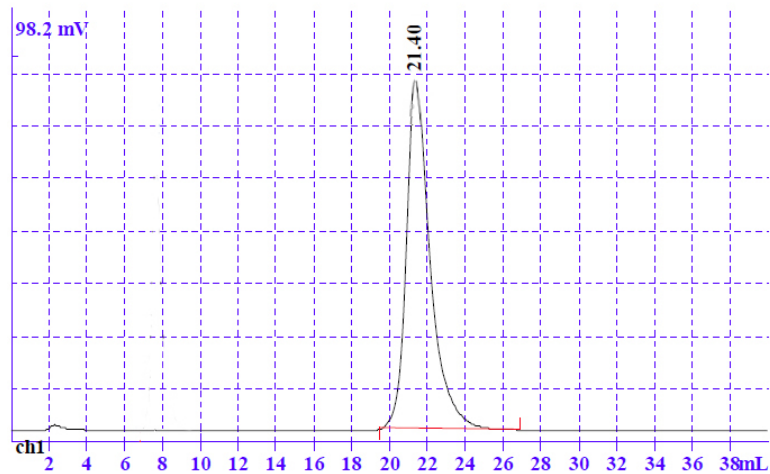


Рис. 4.3 Хроматограма випробуваного розчину L-триптофану (0,4 мг/мл L-триптофану). Елюент: 10% метанолу – 90% фосфатного буфера. Нерухома фаза – С 18.

На основі даних досліджень було розроблено методику одночасного визначення L-триптофану з тіотриазоліном в модельній суміші з використанням такої ж рухомої та нерухомої фази, а також схожих умов хроматографування, які використовувалися при дослідженні тіотриазоліну.

Для проведення спільного визначення діючих речовин методом ВЕРХ, користувалися нижченаведеною методикою.

Приготування розчинів

Випробуваний розчин 1. 0,01г (точна наважка) тіотриазоліну розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Випробуваний розчин 2. 0,01г (точна наважка) триптофану розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Досліджуваний розчин. 1 мл випробуваного розчину 1 і 1 мл випробуваного розчину 2 поміщають в мірну колбу на 10 мл і доводять водою до мітки.

Розчин застосовували свіжоприготованим.

Хроматографували досліджуваний розчин не менше трьох разів та розраховували середню площу піків.

Дослідження проводили з використанням модульної системи для ВЕРХ (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Німеччина) зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010 на оберненій фазі.

Для проведення кількісного визначення діючих речовин методом ВЕРХ, використовували:

- Колонка Prontosil Eurobond C 18 розміром 250 × 4,6 мл, з діаметром часток 5 мкм чи аналогічну, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- Елюент: 10 % метанолу - 90% фосфатного буферу, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калію та фосфатну кислоту (рН 3).
- Швидкість рухомої фази: 1 мл / хв;
- Довжина хвилі детектору 220 нм;
- Об'єм введеної проби: 10 мкл;
- Температура термостату колонки: + 25 °С.

Крім цього, були проведені інші дослідження сумісного визначення модельної суміші L-триптофана та тіотриазоліна з використанням тих же умов хроматографування, але з іншим елюентом, до складу якого входять 20 % метанолу та 80 % фосфатного буферу [135].

За вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ) для визначення ефективності та селективності даного методу вираховували такі показники як: коефіцієнт розділення, число теоретичних тарілок [42, 47].

Коефіцієнт симетрії піка обчислюється за формулою:

$$A_s = \frac{w_{0,05}}{2d} \quad (4.1)$$

де:

$w_{0,05}$ - ширина піка на одній двадцятій висоти піка;

d - відстань між перпендикуляром, опущеним з максимуму піка, і передньою межею піка на одній двадцятій висоти піка.

Ступінь розділення (R_s) обчислюється за формулою:

$$R_s = \frac{1.18(t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}} \quad (4.2)$$

$$t_{R2} > t_{R1}$$

де:

t_{R2} і t_{R1} – відстані уздовж базової лінії від точки введення до перпендикулярів, опущених з максимумів двох сусідніх піків, у міліметрах;

w_{h1} і w_{h2} – ширина піків на половині висоти, у міліметрах.

Якщо немає інших зазначень в окремій статті, результати аналізу вважаються вірогідними, якщо коефіцієнт розділення для вимірюваних піків на хроматограмі більше 1.0 [42, 47].

Число теоретичних тарілок (n) обчислюється з даних, одержаних в ізократичному режимі, за формулою [42, 47]:

$$n = 5,54 \left(\frac{t_R}{w_{0,5}} \right)^2 \quad (4.3)$$

де:

t_R - відстань уздовж базової лінії від точки введення проби до перпендикуляра, опущеного з максимуму піка аналізованої речовини, у міліметрах;

$w_{0,5}$ - ширина піка на половині висоти, у міліметрах.

При аналізі модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну з використанням у якості елюенту 10% суміш метанолу і фосфатного буферу, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калію і фосфатну кислоту (рН 3). Колонка Prontosil Eurobond C-18. Об'єм утримування L-триптофану в цих умовах близько 21,4 мл, тіотриазоліну - близько 7,6 мл. Симетрія піків задовільна (коефіцієнт симетрії піку тіотриазоліну дорівнює 1,125, L-триптофану – 1,18), ступінь розділення близько 8, ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком L-триптофану близько 2100 теоретичних тарілок.

Приклад хроматограми випробуваного розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.4.

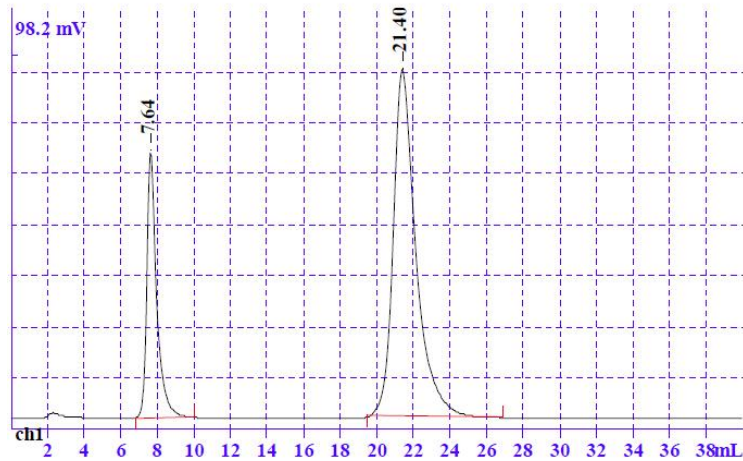


Рис. 4.4 Хроматограма випробуваного розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном. Елюент: 10% метанолу–90% фосфатного буфера. Нерухома фаза – С 18.

В подальших дослідженнях поступово збільшували вміст метанолу з 10 до 20 % - для зменшення об'єму утримування L-триптофану. В даних умовах об'єм утримування L-триптофану 15,11 мл, тіотриазоліну - близько 6,05 мл. Коефіцієнт симетрії піків зменшився як для тіотриазоліну (з 1,125 до 1,03), так і для L-триптофану (з 1,18 до 1,1).

Приклад хроматограми випробуваного розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.5.

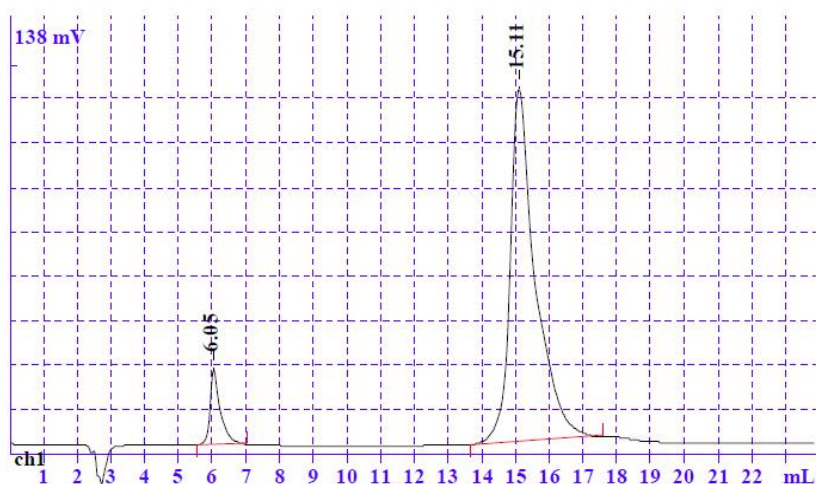


Рис. 4.5 Хроматограма робочого розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном. Елюент: 20% метанолу – 80% фосфатного буфера. Нерухома фаза – С 18.

Як бачимо, зі збільшенням вмісту метанолу в суміші з фосфатним буфером, зменшився об'єм утримування як тіотриазоліну (з 7,64 мл на 6,05 мл.), так й об'єм утримування L-триптофану (з 21,40 мл на 15,11 мл), коефіцієнт розділення навпаки збільшився до 10, а також збільшилось число теоретичних тарілок (з 2100 до 3300). Як відомо з літературних джерел, чим більше число теоретичних тарілок, тим вища ефективність, а також ширина піка менша. Тим паче при визначенні в даних умовах хроматографування час утримування аналізованих речовин менший [95, 98, 101, 120].

З вищенаведених результатів досліджень, при використанні в якості елюенту 20% розчину метанолу в фосфатному буфері були отримані більш точні результати. Тому свій вибір зупинили саме на використанні даної рухомої фази. В подальшому плануємо використовувати розроблену методику для визначення діючих речовин не тільки для стандартизації комбінованого лікарського засобу, до складу якого входять L-триптофан та тіотриазолін, а також для їх визначення в біологічних рідинах.

4.3 Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші

В сучасному світі на даний час при аналізі лікарських форм все частіше використовуються фізико-хімічні методи аналізу. Відомо, що в країнах Євросоюзу для визначення діючих речовин таблетованих лікарських форм найчастіше використовується метод ВЕРХ, який дозволяє одночасно ідентифікувати і кількісно визначити діючі речовини в лікарській формі [12, 98, 120, 136, 142, 164, 165, 166, 192, 212]. Виходячи з вище викладеного, а також з фізико-хімічних властивостей діючих речовин, для виконання поставленої мети обрано метод ВЕРХ.

Для нового комбінованого лікарського засобу, що містить L-триптофан та тіотриазолін, необхідно розробити оптимальні методи стандартизації. Для цього було виготовлено 6 серій модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну в терапевтичному співвідношенні 4 : 1 [21, 60, 62, 164].

У попередньому дослідженні на суміші L-триптофану та тіотриазоліну (1:1) були підібрані елюент і колонка, за допомогою якої в певних умовах можливо провести одночасну ідентифікацію та кількісне визначення як L-триптофану, так і тіотриазоліну [64, 165].

В ході роботи були використані субстанції L-триптофану (виробник: Sigma-Aldrich, США, серія: 00120797U), і тіотриазоліну (виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 2341112). В якості стандартного зразка використовували стандартизований робочий зразок L-триптофану, відкалібрований за ФСЗ ДФУ, з вмістом L-триптофану 100% і робочий стандартний зразок тіотриазоліну, відкалібрований по ФСЗ ДФУ - виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України з вмістом тіотриазоліну 100%.

Хроматографується досліджуваний розчин та розчин порівняння не менше трьох разів та розраховують середню площу піків [42, 47].

Для стандартизації діючих речовин в модельній суміші методом ВЕРХ, використовували:

- Колонка Prontosil Eurobond C 18 розміром 250 × 4,6 мм, з діаметром часток 5 мкм чи аналогічну, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- Елюент: 20 % метанолу - 80% фосфатного буферу, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калію та фосфатну кислоту (рН 3).

- Швидкість рухомої фази 1 мл / хв;

- Довжина хвилі детектору 220 нм;

- Об'єм введеної проби 10 мкл;

- Температура термостату колонки + 25 °С;

Для стандартизації діючих речовин в модельній суміші L-триптофану та тіотриазоліну 4:1 використовували метод ВЕРХ [164]. В ході дослідження було проведено аналіз 6 серій виготовленої в лабораторних умовах модельної суміші. На кожній серії модельної суміші проводили 6 дослідів.

Дослідження проводили згідно нижченаведеної розробленої методики ВЕРХ для ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші.

Випробуваний розчин. Близько 250 мг (точна наважка) модельної суміші розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки. 10 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки.

Приклад хроматограми випробуваного розчину модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.6.

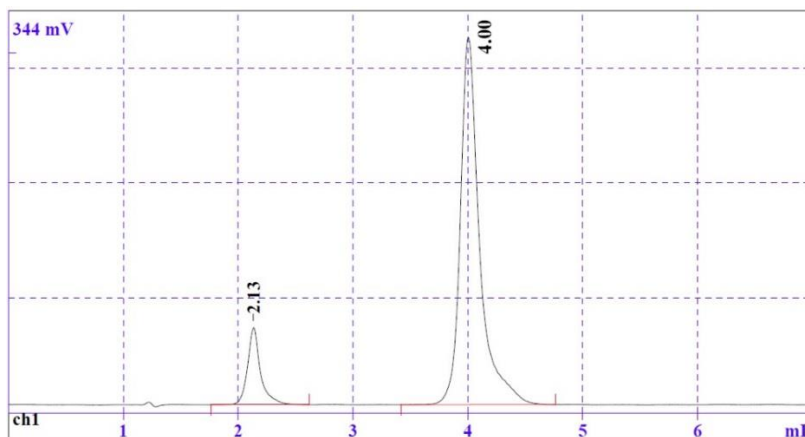


Рис. 4.6 Хроматограма випробуваного розчину модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну

В ході дослідження випробуваного розчину модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну (4:1), утримуваний об'єм тіотриазоліну в цих умовах близько 2,13 мл, L-триптофану близько 4,0 мл. Коефіцієнт розділення піків дорівнює 8. Симетрія піків задовільна. Ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком L-триптофану близько 1900 теоретичних тарілок. Хроматографування проводили в тих же умовах, що наведені вище.

Приготування розчину порівняння (стандартного розчину).

200 мг (точна наважка) РСЗ L-триптофану, відкаліброваного за ФСЗ ДФУ та 50 мг (точна наважка) СЗ тіотриазоліну, відкаліброваного за ФСЗ ДФУ, розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки. 10 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки.

Розчин застосовується відразу після приготування.

Приклад хроматограми розчину порівняння модельної суміші L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.7.

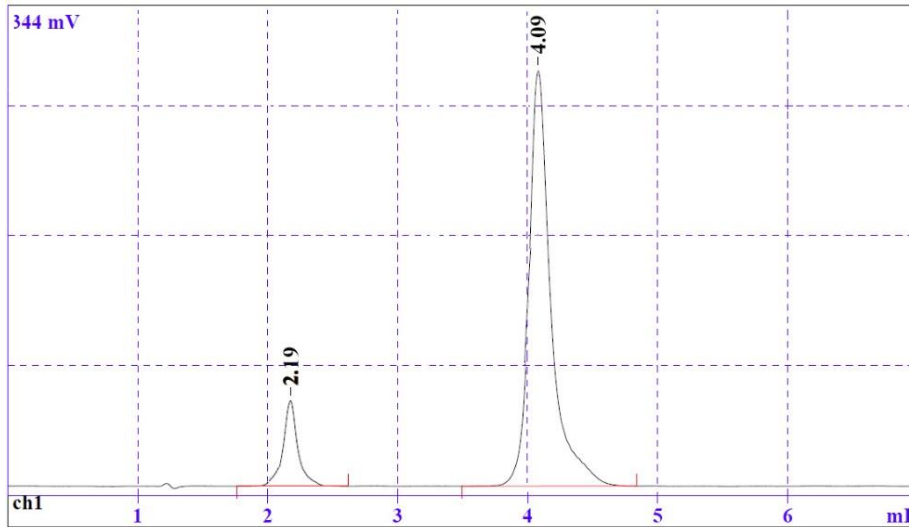


Рис. 4.7 Хроматограма розчину порівняння модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну

Вміст L-триптофану з тіотриазоліном (X_1) в модельній суміші, в міліграмах, розраховується за формулою:

$$X_1 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100} \quad (4.4)$$

де: S_1 - середнє значення площі піків L-триптофану (тіотриазоліну), розрахований з хроматограми випробуваного розчину;

S_0 - середнє значення площі піків L-триптофану (тіотриазоліну), розрахований з хроматограми розчину порівняння;

m_1 - маса наважки модельної суміші, у міліграмах;

m_0 - маса наважки СЗ L-триптофану (тіотриазоліну), у міліграмах;

P - вміст діючої речовини СЗ L-триптофану (тіотриазоліну), у відсотках (процентний вміст L-триптофану в СЗ 99,95%, а тіотриазоліну - 100%);

b - середня маса діючих речовин у перерахунку на 1 таблетку (250 мг).

Результати проведених досліджень, кількісного вмісту діючих речовин модельної суміші серії 1 наведені в табл. 4.1.

Результати кількісного визначення модельної суміші L-триптофану та тіотриазоліну (серія 1) методом ВЕРХ

| № до сліду | L-триптофан | | | | Тіотриазолін | | | |
|------------|-------------|--------------------|--------------|---|--------------|--------------------|--------------|--|
| | Площа піка | Середня площа піка | Знайдено, мг | Метрологічні характеристики | Площа піка | Середня площа піка | Знайдено, мг | Метрологічні характеристики |
| 1 | 68086,747 | 69337,384 | 201,5 | | 23559,274 | 23712,700 | 48,9 | |
| | 70015,757 | | | | 23947,947 | | | |
| | 69909,648 | | | | 23630,879 | | | |
| 2 | 69915,535 | 69543,847 | 202,1 | $\bar{x}=201,12$ $S_x = 0,59$ | 23440,253 | 23378,412 | 49,2 | $\bar{x}=49,52$ $S_x = 0,44$ |
| | 70471,633 | | | | 23316,571 | | | |
| | 68244,373 | | | | 23378,412 | | | |
| 3 | 70135,336 | 69096,509 | 200,8 | $t(0,95)=2,02$ $\Delta x = 1,19$ | 23746,794 | 23883,946 | 49,4 | $t(0,95)=2,02$ $\Delta x = 0,89$ |
| | 68044,470 | | | | 24021,097 | | | |
| | 69109,721 | | | | 23883,947 | | | |
| 4 | 69473,260 | 69062,099 | 200,7 | $\Delta \bar{x} = 0,48$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 201,12 \pm 0,48$ | 24248,490 | 24052,147 | 49,6 | $\Delta \bar{x} = 0,36$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 49,52 \pm 0,36$ |
| | 69209,019 | | | | 24197,173 | | | |
| | 68504,018 | | | | 23710,778 | | | |
| 5 | 68494,979 | 69199,742 | 201,1 | $e_{\bar{x}} = 0,24\%$ | 24335,211 | 24270,361 | 50,1 | $e_{\bar{x}} = 0,73\%$ |
| | 68991,530 | | | | 23991,644 | | | |
| | 70088,717 | | | | 24464,228 | | | |
| 6 | 68374,039 | 68993,278 | 200,5 | | 24324,324 | 24197,623 | 49,9 | |
| | 69332,694 | | | | 24125,192 | | | |
| | 69273,101 | | | | 24143,353 | | | |
| РП | 68520,927 | 68821,225 | | | 24424,238 | 24246,115 | | |
| | 68875,500 | | | | 24069,453 | | | |
| | 69067,248 | | | | 24244,655 | | | |

Надалі по вище вказаній методиці проаналізували всі приготовані в лабораторних умовах серії модельної суміші. В ході роботи визначили вміст

L-триптофану, який знаходився в межах від 197,2 мг до 204,9 мг, тіотриазоліну - від 48,9 мг до 50,5 мг. Згідно вимог Державної Фармакопеї України II видання вміст L-триптофану в таблетках повинен бути не менше 190,0 мг і не більше 210,0 мг, тіотриазоліну – не менше 47,5 мг і не більше 52,5 мг. Як видно з вищенаведених даних, отримані результати відповідають всім вимогам ДФУ [42, 47, 65, 184].

В ході роботи розроблено високочутливий, відтворюваний, надійний, високоточний метод визначення L-триптофану та тіотриазоліну в терапевтичному співвідношенні при спільній присутності, яка планується використовуватись при постадійному контролі якості таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном [164, 166, 184].

4.4. Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в таблетковій масі

Основну увагу під час постадійного контролю виробництва таблеток приділяють контролю якості таблеткової маси. Особливо це стосується визначення кількісного вмісту діючих речовин.

Стандартизація діючих речовин в таблетковій масі, а саме, L-триптофану та тіотриазоліну (4:1), під час постадійного контролю виробництва таблеток L-триптофану з тіотриазоліном є одною з основних цілей нашої роботи.

Оскільки фізико-хімічні методи все частіше використовуються при аналізі лікарських форм (ЛФ), свою увагу звернули на метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), який дозволяє одночасно визначати діючі речовини в ЛФ [12, 71, 98, 120, 165, 166, 183, 202].

З початку у лабораторних умовах була розроблена методика ВЕРХ, яка дозволяє провести одночасну стандартизацію L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші, яку в процесі роботи адаптували для стандартизації таблеткової маси з L-триптофаном та тіотриазоліном. Виходячи з фізико-хімічних і фармако-технологічних властивостей допоміжних речовин лікарської форми, припустили, а в подальшому і підтвердили, що вони не заважають проведенню аналізу.

Для проведення дослідження були використані діючі речовини та фармакопейні стандартні зразки, які наведені вище.

В лабораторних умовах було виготовлено 6 серій таблеткових мас, до складу яких в перерахунку на одну таблетку міститься L-триптофану 200,0 мг і тіотриазоліну 50,0 мг, а також допоміжних речовин до 450,0 мг.

Хроматографували досліджуваний розчин і розчин порівняння не менше трьох разів і розраховували середню площу піків.

Дослідження проводилися відповідно до методики, яка приведена нижче.

Приготування випробуваного розчину таблеткової маси L-триптофану та тіотриазоліну.

Близько 450 мг (точна наважка) розтертих таблеток поміщають в мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 15,0 мл дистильованої води, перемішують на магнітній мішалці протягом 15 хв, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки, перемішують і фільтрують крізь фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 5,0 мл фільтрату.

Приклад хроматограми робочого розчину таблеткової маси L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.8.

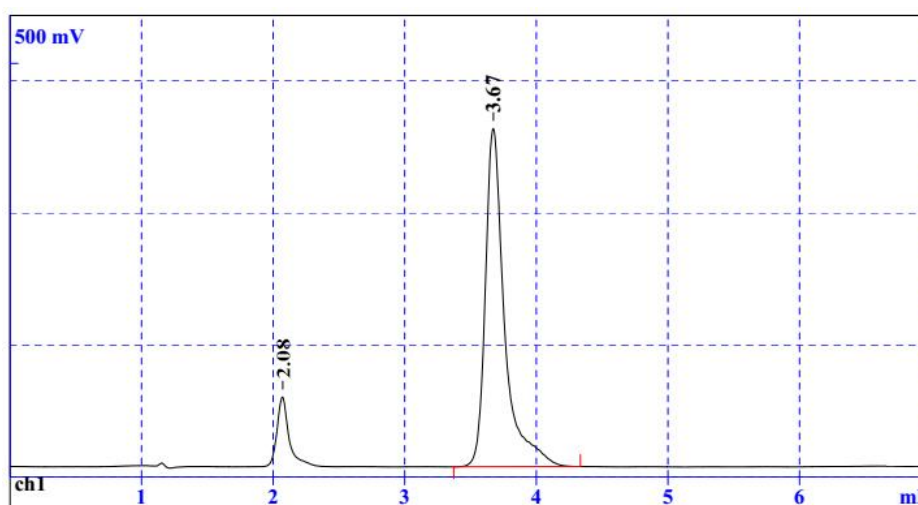


Рис. 4.8 Хроматограма випробуваного розчину таблеткової маси L-триптофану та тіотриазоліну (2,08 - час виходу тіотриазоліну, 3,67 - час виходу L-триптофану).

З хроматограми видно, що об'єм утримування L-триптофану в цих умовах близько 3,67 мл, тіотриазоліну - близько 2,08 мл. Симетрія піків задовільна (коефіцієнт симетрії піку тіотриазоліну дорівнює 1,08, L-триптофану – 1,14),

ступінь розділення близько 6, ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком L-триптофану близько 1900 теоретичних тарілок.

Приготування розчину порівняння

Розчин порівняння 1. 200 мг (точна наважка) L-триптофану (РСЗ відкалібрований ФСЗ ДФУ) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) тіотриазоліну (РСЗ Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, відкалібрований по ФСЗ ДФУ) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 10 мл розчину порівняння 1 і 10 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. Розчин застосовують свіжоприготованим.

Приклад хроматограми розчину порівняння L-триптофану та тіотриазоліну наведено на рис. 4.9.

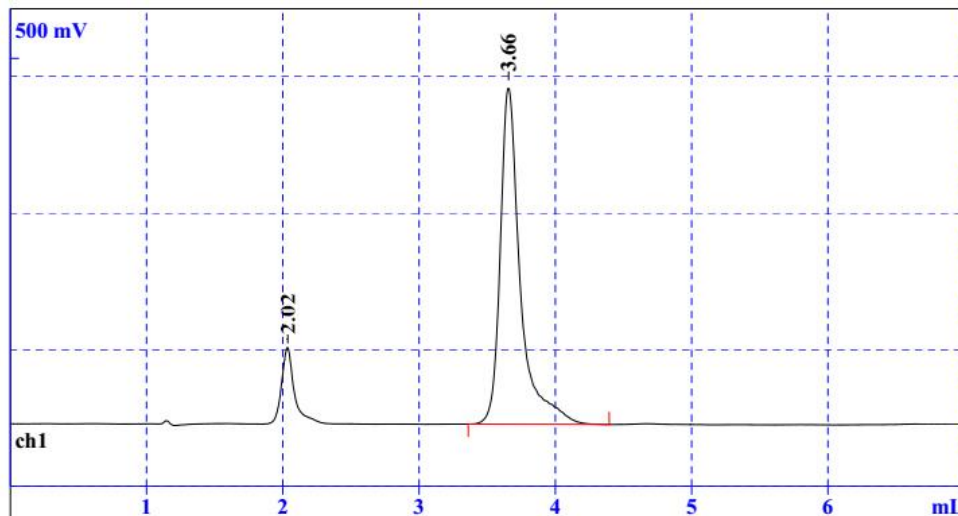


Рис. 4.9 Хроматограма розчину порівняння L-триптофану та тіотриазоліну.

З хроматограми видно, що об'єм утримування L-триптофану в цих умовах близько 3,66 мл, тіотриазоліну - близько 2,02 мл.

Хроматографують випробуваний розчин і розчин порівняння не менше трьох разів і розраховують середню площу піку робочого розчину і робочого стандартного розчину [10, 20].

Вміст L-триптофану та тіотриазоліну (X_2) в таблетковій масі в перерахунку на одну таблетку, розраховують за формулою:

$$X_2 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100} \quad (4.5)$$

де: S_1 - середнє значення площ піків L-триптофану (тіотриазоліну) в таблетковій масі;

S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для L-триптофану та тіотриазоліну;

m_1 - маса наважки таблеткової маси в міліграмах;

m_0 - вміст ФСЗ або РСЗ L-триптофану (тіотриазоліну), в міліграмах;

P - вміст основної речовини в ФСЗ або РСЗ L-триптофану (99,95%); тіотриазоліну (100%), у відсотках;

b - середня вага таблетки в міліграмах.

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючих речовин таблеткової маси серії 1 наведені в табл. 4.2 і 4.3.

Таблиця 4.2

Результати кількісного визначення таблеткової маси L-триптофану (серія 1) методом ВЕРХ

| № досліду | L-триптофан | | | | |
|-----------|-------------|--------------------|-------------------------------|--------------|------------------------------------|
| | Площа піку | Середня площа піку | Маса наважки таблеткової маси | Знайдено, мг | Метрологічні характеристики |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1 | 67339,12 | 68560,000 | 452,7 | 201,58 | $\bar{x} = 201,04$ $S_x = 0,57$ |
| | 69051,851 | | | | |
| | 69289,032 | | | | |

Продовж. табл. 4.2

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----|-----------|-----------|-------|--------|--|
| 2 | 69643,938 | 68354,83 | 453,1 | 200,87 | $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,15$ $\Delta \bar{x} = 0,47$ $\bar{x} \pm \Delta x = 201,04 \pm 1,15$ $e_{\bar{x}} = 0,23\%$ |
| | 68845,129 | | | | |
| | 69575,423 | | | | |
| 3 | 68201,378 | 68486,465 | 452,8 | 201,32 | |
| | 68758,538 | | | | |
| | 68500,479 | | | | |
| 4 | 68158,912 | 68358,718 | 453,7 | 200,54 | |
| | 68004,183 | | | | |
| | 68907,058 | | | | |
| 5 | 68027,361 | 68222,952 | 453,4 | 200,28 | |
| | 68589,232 | | | | |
| | 68052,264 | | | | |
| 6 | 68551,578 | 68464,017 | 451,8 | 201,67 | |
| | 68584,8 | | | | |
| | 68225,671 | | | | |
| РП | 67268,604 | 67616,692 | 200,0 | - | |
| | 67534,798 | | | | |
| | 68046,674 | | | | |

**Результати кількісного визначення таблеткової маси тіотриазоліну
(серія 1) методом ВЕРХ**

| № до сліду | Тіотриазолін | | | | |
|------------|--------------|--------------------|-------------------------------|--------------|--|
| | Площа піку | Середня площа піку | Маса наважки таблеткової маси | Знайдено, мг | Метрологічні характеристики |
| 1 | 24584,298 | 24166,205 | 450,6 | 49,4 | $\bar{x} = 49,91$ $S_x = 0,58$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,16$ $\Delta \bar{x} = 0,47$ $\bar{x} \pm \Delta x = 49,91 \pm 0,47$ $e_{\bar{x}} = 0,94\%$ |
| | 24620,241 | | | | |
| | 23294,075 | | | | |
| 2 | 24256,212 | 24052,342 | 450,3 | 49,2 | |
| | 24378,778 | | | | |
| | 23522,035 | | | | |
| 3 | 24617,933 | 24737,214 | 451,2 | 50,5 | |
| | 24719,500 | | | | |
| | 24874,209 | | | | |
| 4 | 24699,079 | 24584,788 | 452,0 | 50,1 | |
| | 24416,667 | | | | |
| | 24638,619 | | | | |
| 5 | 24297,545 | 24302,171 | 450,4 | 49,7 | |
| | 24308,985 | | | | |
| | 24299,985 | | | | |
| 6 | 24998,392 | 24819,158 | 451,8 | 50,6 | |
| | 24776,452 | | | | |
| | 24682,632 | | | | |
| РП | 24517,325 | 24427,152 | 50,0 | - | |
| | 24209,247 | | | | |
| | 24554,884 | | | | |

Надалі по вище вказаній методиці проаналізували всі приготовані в лабораторних умовах серії таблеткових мас. В результаті дослідження визначили вміст діючих речовин в таблетковій масі, що склало: L-триптофан - від 199,1 до 201,9, тіотриазолін - від 48,8 до 51,1, що відповідає вимогам ДФУ [164, 205].

В результаті даного дослідження розроблено сучасну методику стандартизації діючих речовин в таблетковій масі L-триптофану з тіотриазоліном методом ВЕРХ. Даний метод стандартизації діючих речовин є надійним, об'єктивним, точним, чутливим і надалі планується використовувати при серійному виробництві таблеток з L-триптофаном і тіотриазоліном.

4.5. Визначення доброякісності таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном

В зв'язку з тим, що L-триптофан з тіотриазоліном (4:1) плануються до випуску у вигляді таблеткової лікарської форми, актуально та своєчасно постало завдання щодо розробки специфікації та проекту методики контролю якості (МКЯ) на отримані таблетки L-триптофану з тіотриазоліном [163].

В процесі дослідження були проаналізовані 6 серій таблеток (L-триптофану 200,0 мг, тіотриазоліну 50,0 мг, допоміжних речовин - до отримання таблеток середньою масою 450,0 мг), які були отримані в лабораторних умовах на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ. Для отримання таблеток були використані діючі речовини та фармакопейні стандартні зразки виробники яких представлені вище. Таблетки-ядра були отримані за допомогою ручного таблеткового пресу 6000S (країна-виробник: Білорусь) з діаметром пуансонів 10 мм [13, 23].

Отримані таблетки, враховуючи те, що до їх складу входить амінокислота, повинні бути захищені під час зберігання від зовнішніх чинників (дії тепла або світла, а також і проникнення вологи). З метою забезпечення конкретного позитивного ефекту на лікарську форму запропоновано нанесення плівкового покриття. Як плівкове покриття при виробництві таблеток застосовувалась суміш «Opadry II Yellow».

Згідно діючого законодавства України до специфікації на таблетки внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, розпадання, розчинення, мікробіологічна чистота, кількісне визначення.

Опис проводили візуально, згідно вимог ДФУ, ст. «Таблетки» (ДФУ 2 видання, Том 1 с. 1121) [42, 47, 72].

Середню масу таблеток визначали згідно вимог ДФУ (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.5.). В дослідженнях використовували аналітичні ваги OHAUS [42, 47].

Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу, ДФУ, 2.9.40. Вимоги тесту вважаються виконаними за умови, якщо відносне стандартне відхилення (стандартне відхилення, виражене у відсотках до середнього результату) не перевищує 7,5 % для L-триптофану та 10% для тіотриазоліну [42, 47].

Розпадання таблеток проводили з використанням лабораторного ідентифікатору процесу розпадання ERWEKA ZTx20 згідно вимог ДФУ (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.1.) [42, 47].

Розчинення. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ (2 Вид., том 1 п. 2.9.3) [8, 42, 47, 50, 114, 170].

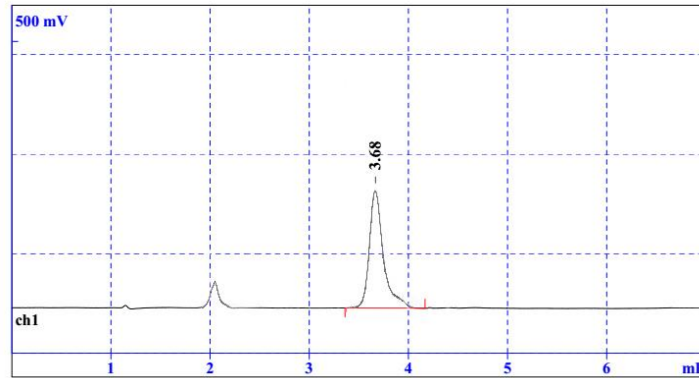
Середовище розчинення – вода очищена, об'єм середовища розчинення – 1000 мл, швидкість обертання кошика – 100 об/хв, час розчинення – 45 хв [42, 47].

В зв'язку з тим, що при дослідженні кількісного вмісту діючих речовин в модельній суміші та таблетковій масі ми використовували метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ), в тесті «Розчинення» ми використовували саме цей метод [31]. Для дослідження в посудину для розчинення з лопаттю поміщають 1 таблетку. Через 45 хв відбирають 25 мл розчину з центру посуду для розчинення, фільтрують через фільтр «синя стрічка» або через фільтр з розміром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 10-15 мл фільтрату.

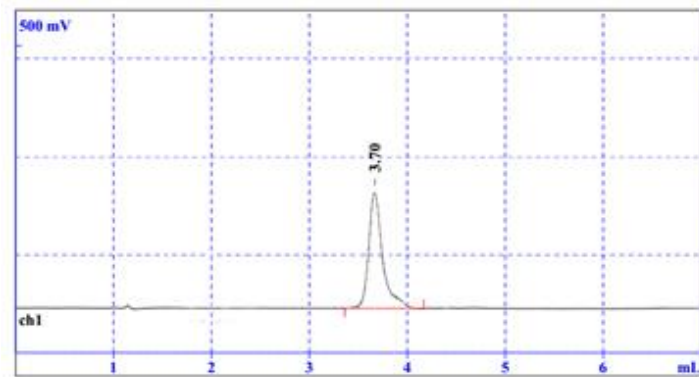
Приготування розчину порівняння. 200 мг (точна наважка) ФСЗ (ДФУ або РСЗ) L-триптофану поміщають в мірну колбу на 100 мл. 10 мл отриманого розчину поміщають в колбу на 100 мл.

Хроматографують випробуваний розчин та розчин порівняння не менше трьох разів і розраховують середню площу піків.

Приклад хроматограми випробуваного розчину та розчину порівняння L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.10.



1



2

Рис. 4.10 Хроматограми випробуваного розчину та розчину порівняння L-триптофану з тіотриазоліном: 1- випробуваний розчин L-триптофану та тіотриазоліну; 2 – розчин порівняння L-триптофану

Вміст L-триптофану (X_3), який перейшов у розчин з таблетки, у відсотках, вираховують за формулою:

$$X_3 = \frac{S \cdot m_0 \cdot 100}{S_0 \cdot m} \quad (4.6)$$

де: X_3 – кількість L-триптофану, який перейшов в розчин, у відсотках;

S - середнє значення площ піків L-триптофану в тесті «Розчинення»;

S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для L-триптофану та тіотриазоліну;

m – вміст L-триптофану в г або мг в 1 таблетці;

m_0 – наважка L-триптофану в г або мг в розчині порівняння.

$$X_3 = \frac{S \cdot m_0 \cdot 100}{S_0 \cdot m} = \frac{15905,93 \cdot 0,203 \cdot 100}{16905,26 \cdot 0,200} = 95,5\% \quad (4.7)$$

Отримані результати дослідження довели, що відсотковий вміст діючої речовини (L-триптофану), що перейшла в розчин з таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном через 45 хв становить 95,5 %, що відповідає вимогам ДФУ (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Результати тесту «Розчинення» зразків таблеток методом ВЕРХ

| № лабораторної серії | Номер досліду | Вміст L-триптофану в одній таблетці | Площа піку L-триптофану | Знайдено у відсотках |
|----------------------|---------------|-------------------------------------|-------------------------|----------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 1 | 0,2000 | 16514,75 | 97,69 |
| | 2 | | 16523,2 | 97,74 |
| | 3 | | 16296,67 | 96,40 |
| | 4 | | 16509,68 | 97,66 |
| | 5 | | 16519,82 | 97,72 |
| | 6 | | 16316,96 | 96,52 |
| 2 | 1 | 0,2000 | 16129,31 | 95,41 |
| | 2 | | 16139,45 | 95,47 |
| | 3 | | 16350,77 | 96,72 |
| | 4 | | 16171,57 | 95,66 |
| | 5 | | 16354,15 | 96,74 |
| | 6 | | 16176,64 | 95,69 |
| 3 | 1 | 0,2000 | 16130,99 | 95,42 |
| | 2 | | 16345,7 | 96,69 |
| | 3 | | 16147,9 | 95,52 |
| | 4 | | 16181,72 | 95,72 |
| | 5 | | 16188,48 | 95,76 |
| | 6 | | 16354,15 | 96,74 |
| 4 | 1 | 0,2000 | 16496,15 | 97,58 |

Продовж. табл. 4.4

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|-------------------|-------------------------------|----------|----------|-------|
| | 2 | | 16320,34 | 96,54 |
| | 3 | | 16130,99 | 95,42 |
| | 4 | | 16354,15 | 96,74 |
| | 5 | | 16313,58 | 96,50 |
| | 6 | | 16345,7 | 96,69 |
| 5 | 1 | 0,2000 | 16166,5 | 95,63 |
| | 2 | | 15965,33 | 94,44 |
| | 3 | | 16139,45 | 95,47 |
| | 4 | | 15978,85 | 94,52 |
| | 5 | | 16181,72 | 95,72 |
| | 6 | | 15938,28 | 94,28 |
| 6 | 1 | 0,2000 | 16043,09 | 94,90 |
| | 2 | | 16024,5 | 94,79 |
| | 3 | | 16004,21 | 94,67 |
| | 4 | | 16163,12 | 95,61 |
| | 5 | | 16007,59 | 94,69 |
| | 6 | | 16017,73 | 94,75 |
| Розчин порівняння | РСЗ L-триптофану 0,2000 | 16905,26 | | |

Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ 2.6.12, 2.6.13 [42, 47].

Критерії прийнятності мікробіологічної чистоти для неводних лікарських засобів для орального застосування (ДФУ, 5.1.4):

загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) $\leq 10^3$ КУО/г.

загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) $\leq 10^2$ КУО/г.

Відсутність *Escherichia coli* в 1 г.

Ідентифікацію та кількісне визначення діючих речовин в таблетках проводили згідно вище наведених методик ВЕРХ та у тих самих умовах.

Хроматографують досліджуваний розчин та розчин порівняння не менше трьох разів та розраховують середню площу піків [93].

Вміст L-триптофану (тіотриазоліну) (X_3) в одній таблетці, в грамах, розраховують за формулою:

$$X_3 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100} \quad (4.8)$$

де: S_1 - середнє значення площ піків L-триптофану (тіотриазоліну) в таблетковій масі;

S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для L-триптофану та тіотриазоліну;

m_1 - маса наважки таблеткової маси в міліграмах;

m_0 - маса наважки ФСЗ або РСЗ L-триптофану (тіотриазоліну), в міліграмах;

P - вміст основної речовини в ФСЗ або РСЗ L-триптофану (99,95%); тіотриазоліну (100%), у відсотках;

b - середня вага таблетки в міліграмах.

Приклад хроматограми випробуваного розчину таблеток L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.11.

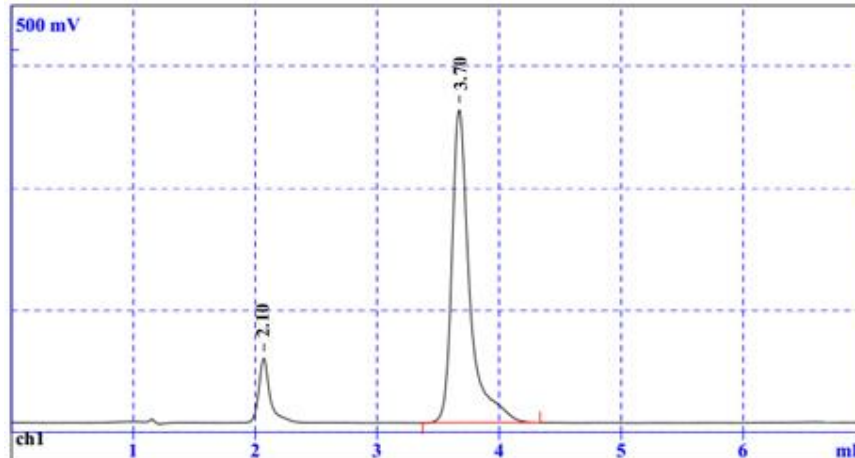


Рис. 4.11 Хроматограма випробуваного розчину таблеток L-триптофану з тіотриазоліном (2,10 – час утримування тіотриазоліну, 3,70 – час утримування L-триптофану)

З хроматограми видно, що об'єм утримування L-триптофану в цих умовах близько 3,70 мл, тіотриазоліну - близько 2,10 мл. Симетрія піків задовільна (коефіцієнт симетрії піку тіотриазоліну дорівнює 1,07, L-триптофану – 1,12),

ступінь розділення близько 6, ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком L-триптофану близько 1900 теоретичних тарілок.

Приклад хроматограми розчину порівняння L-триптофану з тіотриазоліном наведено на рис. 4.12.

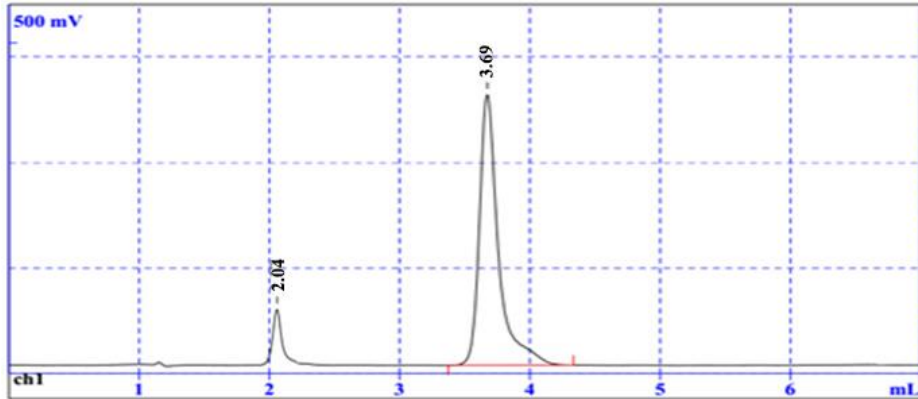


Рис. 4.12 Хроматограма розчину порівняння L-триптофану з тіотриазоліном (2,04 – час утримування тіотриазоліну, 3,69 – час утримування L-триптофану)

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючих речовин таблеток, серія 1, наведені в табл. 4.5 і 4.6.

Таблиця 4.5

**Результати кількісного визначення L-триптофану в таблетках (серія 1)
методом ВЕРХ**

| № досліду | L-триптофан | | | | |
|-----------|-------------|--------------------|-------------------------------|--------------|--|
| | Площа піку | Середня площа піку | Маса наважки таблеткової маси | Знайдено, мг | Метрологічні характеристики |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1 | 68238,210 | 68151,850 | 452,1 | 200,85 | $\bar{x} = 200,41$ $t(0,95) = 2,02$ |
| | 67847,217 | | | | |
| | 68370,123 | | | | |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----|-----------|-----------|-------|--------|---|
| 2 | 68267,020 | 67895,854 | 451,5 | 199,83 | $\Delta x = 1,41$ $\Delta \bar{x} = 0,58$ $\bar{x} \pm \Delta x =$ $200,41 \pm$ $0,58$ $e_{\bar{x}} = 0,29 \%$ |
| | 67754,210 | | | | |
| | 67666,332 | | | | |
| 3 | 67385,737 | 67814,849 | 451,7 | 199,68 | |
| | 67639,429 | | | | |
| | 68419,381 | | | | |
| 4 | 68717,482 | 68330,147 | 452,2 | 201,42 | |
| | 68996,361 | | | | |
| | 68025,236 | | | | |
| 5 | 68138,583 | 67992,744 | 453,0 | 200,78 | |
| | 67477,154 | | | | |
| | 68362,495 | | | | |
| 6 | 67228,245 | 67806,289 | 452,3 | 199,92 | |
| | 67475,611 | | | | |
| | 68715,011 | | | | |
| РП | 68261,326 | 67839,226 | 200,0 | - | |
| | 67877,011 | | | | |
| | 67379,341 | | | | |

Примітка. Середня маса таблеток – 450,0 мг.

Таблиця 4.6

**Результати кількісного визначення тіотриазоліну в таблетках (серія 1)
методом ВЕРХ**

| № досліду | Тіотриазолін | | | | |
|-----------|--------------|--------------------|-------------------------------|--------------|---|
| | Площа піку | Середня площа піку | Маса наважки таблеткової маси | Знайдено, мг | Метрологічні характеристики |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1 | 24643,363 | 25115,489 | 449,8 | 50,8 | $\bar{x} = 50,02$ $S_x = 0,49$ $t(0,95) = 2,02$ |
| | 25286,807 | | | | |
| | 25416,297 | | | | |

Продовж. табл. 4.6

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----|-----------|-----------|-------|------|--|
| 2 | 25609,182 | 24692,554 | 451,2 | 50,1 | $\Delta x = 0,98$ $\Delta \bar{x} = 0,40$ $\bar{x} \pm \Delta x = 50,02$ $\pm 0,40$ $e_{\bar{x}} = 0,80\%$ |
| | 24167,667 | | | | |
| | 24300,813 | | | | |
| 3 | 23883,817 | 24489,542 | 450,4 | 49,6 | |
| | 24742,833 | | | | |
| | 24841,976 | | | | |
| 4 | 24666,746 | 24560,272 | 451,7 | 49,8 | |
| | 24486,562 | | | | |
| | 24527,508 | | | | |
| 5 | 25824,993 | 24807,621 | 450,9 | 50,3 | |
| | 24320,107 | | | | |
| | 24277,763 | | | | |
| 6 | 24775,170 | 24445,596 | 450,3 | 49,5 | |
| | 24665,342 | | | | |
| | 23896,276 | | | | |
| РП | 24628,436 | 24708,983 | 50,0 | - | |
| | 24722,507 | | | | |
| | 24776,006 | | | | |

Примітка. Середня маса таблеток – 450,0 мг

В подальшому було визначено вміст діючих речовин в 6 серіях таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном. Було встановлено, що в досліджених серіях вміст L-триптофану становив від 198,10 мг до 202,08 мг, тіотриазоліну - від 48,37 мг до 50,93 мг, що відповідає вимогам ДФУ, яка регламентує вміст L-триптофану - $200 \text{ мг} \pm 7,5\%$, тіотриазоліну - $50 \text{ мг} \pm 10\%$.

В специфікацію на таблетки запропоновано та внесені наступні показники:

1. Опис. Таблетки, вкриті оболонкою жовтого кольору, круглої форми, з двоопуклою поверхнею. На розламі видно ядро білого кольору. За зовнішнім виглядом мають відповідати вимогам ДФУ, ст. «Таблетки» (ДФУ 2 видання, Том 1 с. 1121) [42, 47].

2. Ідентифікація. На хроматограмі випробовуваного розчину, отриманій при кількісному визначенні, час утримання основного піку L-триптофану (тіотриазоліну) має співпадати з часом утримання піку L-триптофану (тіотриазоліну) на хроматограмі розчину порівняння (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.29) [42, 47, 94].

Обережно, за допомогою леза знімають оболонку з 4 таблеток, поміщають в тигель. Додають 1 мл *сірчаної кислоти Р*, нагрівають на піщаній бані до видалення слідів кислоти, залишок спалюють при температурі 600 °С протягом 2 год. До одержаного залишку додають 1 мл *сірчаної кислоти Р* та нагрівають на киплячій водяній бані протягом 10 хв, охолоджують. Додають декілька крапель *водню пероксиду розчину концентрованого Р*, з'являється оранжево-жовте забарвлення (титану діоксид).

3. Середня маса. В ході досліджень середня маса 6 серій отриманих таблеток становила від 442,6 мг до 454,3 мг (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.5)., а згідно ДФУ - від 440 мг до 460 мг [42, 47].

4. Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу, (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.40). Тест проводили методом ВЕРХ використовуючи 10 таблеток L-триптофану з тіотриазоліном, отриманих в лабораторних умовах [42, 47].

Приготування випробовуваного розчину таблеткової маси L-триптофану та тіотриазоліну. Близько 450 мг (точна наважка) розтертих таблеток поміщають в мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 15,0 мл дистильованої води, перемішують за допомогою магнітної мішалки 10 хв, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки, перемішують і фільтрують через фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 5,0 мл фільтрату.

Приготування розчину порівняння (стандартного розчину). Розчин порівняння 1. 200 мг (точна наважка) L-триптофану (РСЗ, відкалібрований по ФСЗ ДФУ, або СЗ ДФУ) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) тіотриазоліну (РСЗ Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, або ФСЗ ДФУ) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 10 мл розчину порівняння 1 і 10 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. Розчин застосовують свіжоприготованим.

Хроматографують випробуваний розчин та розчин порівняння не менше трьох разів та розраховують середню площу піку робочого розчину та робочого стандартного розчину.

Вміст L-триптофану та тіотриазоліну (X_2) в таблетковій масі в перерахунку на одну таблетку, розраховують за формулою:

$$X_2 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 50 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100} \quad (4.9)$$

де: S_1 - середнє значення площ піків L-триптофану (тіотриазоліну) в таблетковій масі; S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для L-триптофану та тіотриазоліну; m_1 - маса наважки таблеткової маси в міліграмах; m_0 - вміст ФСЗ або РСЗ L-триптофану (тіотриазоліну), в міліграмах; P - вміст основної речовини в ФСЗ або РСЗ L-триптофану (99,95%); тіотриазоліну (100%), у відсотках; b - середня вага таблетки в міліграмах.

Отримані результати показали, що вміст L-триптофану в кожній з 10 випробуваних таблеток знаходиться в межах 98,24 % - 99,77 %, а відносне стандартне відхилення становить від 0,12% до 0,85%, тіотриазоліну 98,25% - 99,95%, а відносне стандартне відхилення становить від 0,03% до 1,02% що відповідає вимогам ДФУ за однорідністю вмісту діючої речовини.

Результати проведених досліджень наведені в дод. В.

Супровідні домішки. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ, 2.2.27), використовуючи пластинку «Silica gel 60 F₂₅₄» (фірма «Merck» № 1.05548 або аналогічна) [42, 47, 152, 173].

Випробовуваний розчин. До 0,450 г порошку розтертих таблеток додають 5 мл води Р, перемішують за допомогою магнітної мішалки протягом 10 хв, доводять об'єм розчину 96 % спиртом Р до 10 мл і фільтрують крізь фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм.

Розчин порівняння (а). 10 мг СЗ 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону (СЗ ДФУ) поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 80 мл 96% спирту, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують. 25,00 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100,00 мл, доводять об'єм розчину 96% спиртом до мітки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

Розчин порівняння (б). 0,010 г СЗ ацетилтіосемікарбазиду (СЗ ДФУ) поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 80 мл 96% спирту Р, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують. 25,00 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100,00 мл, доводять об'єм розчину 96% спиртом Р до мітки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

На лінію старту хроматографічної пластинки наносять 10 мкл (100 мкг) випробуваного розчину, 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (а), 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (б) та в одну точку наносять 10 мкл (100 мкг) випробуваного розчину, 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (а) і 10 мкл (0,5 мкг) розчину порівняння (б) (суміш для перевірки придатності хроматографічної системи).

Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, потім поміщають у камеру із сумішню розчинників вода Р – ацетон Р (2:50) та хроматографують висхідним способом. Коли фронт розчинників пройде близько 12 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі протягом 15 хв і поміщають на 10 хв до йодної камери.

На хроматограмі випробуваного розчину, крім основної плями на старті, допускається наявність додаткових плям, розташованих на рівні плям на хроматограмі розчину порівняння (а) та розчину порівняння (б) і не перевищуючих їх за величиною та інтенсивністю забарвлення (не більше 0,5% 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону і не більше 0,5% ацетилтіосемікарбазиду).

Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо на хроматограмі спільної точки нанесення розчину порівняння (а) та розчину порівняння (б) чітко діляться плями. Плямю на лінії старту до уваги не приймають [163].

5. Розчинення. Визначення проводять методом ВЕРХ відповідно до вимог ДФУ, 2.9.3 [42, 47].

Середовище розчинення – вода очищена, об'єм середовища розчинення – 1000 мл, швидкість обертання кошика – 100 об/хв, час розчинення – 45 хв [42, 47].

Для дослідження в посудину для розчинення з лопаттю поміщають 1 таблетку. Через 45 хв відбирають 25 мл розчину з центру посуду для розчинення, фільтрують через фільтр «синя стрічка» або через фільтр з розміром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 10-15 мл фільтрату.

Приготування розчину порівняння. 200 мг (точна наважка) ФСЗ (ДФУ або РСЗ) L-триптофану поміщають в мірну колбу на 100 мл. 10 мл отриманого розчину поміщають в колбу на 100 мл.

Хроматографують випробуваний розчин та розчин порівняння не менше трьох разів і розраховують середню площу піків.

Вміст L-триптофану (X_3), який перейшов у розчин з таблетки, у відсотках, вираховують за формулою:

$$X_3 = \frac{S \cdot m_0 \cdot 100}{S_0 \cdot m} \quad (4.10)$$

де: X_3 – кількість L-триптофану, який перейшов в розчин, у відсотках;

S - середнє значення площ піків L-триптофану в тесті «Розчинення»;

S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для L-триптофану та тіотриазоліну;

m – вміст L-триптофану в г або мг в 1 таблетці;

m_0 – наважка L-триптофану в г або мг в розчині порівняння.

Отримані результати дослідження довели, що відсотковий вміст діючої речовини (L-триптофану), що перейшла в розчин з таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном через 45 хв становить 95,5%, що відповідає вимогам ДФУ.

5. Розпадання. За вимогами ДФУ таблетки повинні розпадатися не більше ніж за 15 хв (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.1) [42, 47].

В результаті проведених випробувань на розпадання було встановлено, що всі 6 серій таблеток розпалися в період від 5 хв до 10 хв, що входить у часовий проміжок, який регламентує ДФУ (15 хвилин), а це означає те, що вони відповідають вимогам ДФУ.

7. Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 [42, 47].

8. Кількісне визначення. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.46) [42, 47]. Вміст $C_{11}H_{12}N_2O_2$ (L-триптофану) в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 190,0 мг до 210,0 мг.

Вміст $C_5H_7N_3O_2S \cdot C_4H_9NO$ (тіотриазоліну) в одній таблетці, у перерахуванні на середню масу однієї таблетки, має бути: від 47,5 мг до 52,5 мг.

В ході дослідження розроблена специфікація на таблетки L-триптофану з тіотриазоліном, а також розроблена методика якісного та кількісного визначення діючих речовин в таблетках методом ВЕРХ. В специфікацію внесено наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, мікробіологічна чистота, розпадання, супровідні домішки, розчинення та кількісне визначення. В ході дослідження складено проект МКЯ (Додаток Т), який в подальшому планується запропонувати заводу-виробнику.

4.6. Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном

Валідація є гарантом достовірності та точності будь-яких методик. Її присутність гарантує аналітичним методикам гідне місце в системі забезпечення

якості, а також відповідність своєму призначенню. ДФУ регламентує проведення валідації методик за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робастність. Тому саме за цими валідаційними характеристиками і аналізували методи стандартизації таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном. Крім того, була розрахована гранична розрахункова невизначеність методики кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну в таблетках з даними діючими речовинами [9, 35, 36, 37, 42, 47, 56, 92, 97, 132, 133, 183, 200].

При проведенні валідаційних досліджень незалежної величини (абсцисою) виступає зазвичай концентрація, а залежною (ординатою) – аналітичний сигнал (в нашому випадку площа піку). Концентрація і аналітичні сигнали різних речовин можуть знаходитися в різних цифрових діапазонах, що вимагає розрахунку критеріїв для кожного конкретного випадку та залишає їх загальності та наочності. В той же час, нас зазвичай цікавить концентрація та аналітичні сигнали не в реальних величинах, а в процентах до номінального значення, тобто так званих «нормалізованих» координатах.

З практичної точки зору, саме в нормалізованих координатах доцільно представляти концентрації і аналітичні сигнали. Це дозволяє сформулювати єдині критерії, пов'язані тільки з допусками вмісту, але не залежать від специфіки конкретних речовин [29, 35, 36, 95, 96].

Нехай C_i , - концентрація аналізованої речовини в уже згадуваному розчині (або зразку), C_i^{st} - концентрація цієї ж речовини в розчині (або зразку) порівняння (вважається, що вона дуже близька до номінальної або нормованої концентрації). Аналогічно: A_i - аналітичний сигнал аналізованої речовини для аналізованого розчину, A_i^{st} - аналітичний сигнал цієї ж речовини для розчину порівняння. Введемо нормалізовані координати X_i , Y_i , Z_i , визначивши їх в такий спосіб:

$$X_i = \frac{C_i}{C_i^{st}} * 100\%, Y_i = \frac{A_i}{A_i^{st}} * 100\%, Z_i = \frac{Y_i}{X_i^{st}} * 100\% \quad (4.11)$$

При проведенні валідаційних досліджень використовували наступне аналітичне обладнання:

- Хроматограф: BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Німеччина
- Детектор: Lambda 1010;
- Колонка: Prontosil Eurobond C 18 розміром 250 × 4,6 мл, з діаметром часток 5

мкм;

Умови аналізу:

- Елюент: 10 % метанолу - 90% фосфатного буферу, що містить 0,68 г/л дигідрофосфату калія та фосфатну кислоту (рН 3).

- Швидкість рухомої фази: 1 мл / хв;
- Довжина хвилі детектору 220 нм;
- Об'єм введеної проби: 50 мкл;
- Температура термостату колонки: + 25 °С;

Межі: вміст L-триптофану і тіотриазоліну в одній таблетці препарату повинно бути від 190 мг до 210 мг та від 47,5 мг до 52,5 мг відповідно. Критерії придатності валідаційних характеристик методики розраховували для 5 % допуску вмісту діючих речовин в препараті [19].

Приготування досліджуваного розчину та розчину порівняння L-триптофану та тіотриазоліну проводили відповідно до методики:

в 10 мірних колбах місткістю 25 мл поміщають вказані в табл. 4.8 кількості L-триптофану (серія - 00120797U) та тіотриазоліну (серія - 410609), в кожену колбу додають по 15 мл води очищеної, перемішують протягом 20 хв, доводять об'єм сумішей тим же розчинником до мітки та перемішують ще 5 хв. 10 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 200 мл і доводять водою до мітки.

Таблиця 4.7

Модельні суміші

| № модельного зразку | L-триптофан | | Тіотриазолін | |
|---------------------|-------------------|--------------------------------------|-------------------|--------------------------------------|
| | Маса наважки (мг) | Вміст, в % від номінального значення | Маса наважки (мг) | Вміст, в % від номінального значення |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 160,00 | 80 | 40,00 | 80 |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|--------|-----|-------|-----|
| 2 | 170,00 | 85 | 42,50 | 85 |
| 3 | 180,00 | 90 | 45,00 | 90 |
| 4 | 190,00 | 95 | 47,50 | 95 |
| 5 | 200,00 | 100 | 50,00 | 100 |
| 6 | 210,00 | 105 | 52,50 | 105 |
| 7 | 220,00 | 110 | 55,00 | 110 |
| 8 | 230,00 | 115 | 57,50 | 115 |
| 9 | 240,00 | 120 | 60,00 | 120 |

Крім того, була розроблена методика валідаційних досліджень таблеток L-триптофану з тіотриазоліном: 250 мг суміші L-триптофану та тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25 мл і доводять водою до мітки. 10 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки.

1. 8 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (80%).

2. 8,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (85%).

3. 9 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (90%).

4. 9,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (95%).

5. 10 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (100%).

6. 10,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (105%).

7. 11 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (110%).

8. 11,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (115%).

9. 12 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять

водою до мітки. (120%).

Специфічність. Після приготування розчинів за методикою, яка представлена вище, проводимо їх аналіз за допомогою ВЕРХ. Критеріями прийнятності є: 1) На хроматограмах розчину «плацебо» препарату (зразок 0) повинні бути відсутніми піки з часом утримання, співпадаючим з часом утримання L-триптофану з тіотриазоліном на хроматограмах випробуваного розчину; 2) Час утримання піків L-триптофану та тіотриазоліну на хроматограмах випробуваного розчину повинні співпадати з часом утримання піків L-триптофану та тіотриазоліну на хроматограмах розчину порівняння L-триптофану та тіотриазоліну; 3) Піки L-триптофану та тіотриазоліну на хроматограмах випробуваного розчину повинні добре розділятися з піками інших можливих домішок та самих субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну.

Специфічність методики визначення ідентифікації та кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну продемонстрована на рис. 4.13.

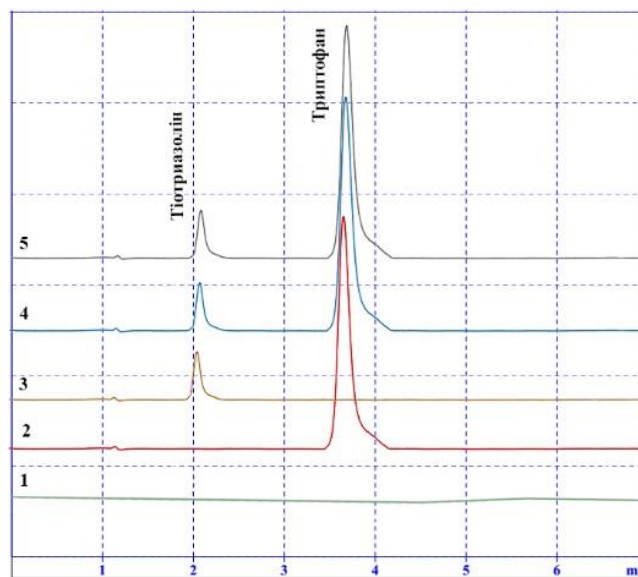


Рис. 4.13 Хроматограми розчинів: 1 - розчин «плацебо» препарату, 2 - модельний розчин препарату з L-триптофаном, 3 - модельний розчин препарату з тіотриазоліном, 4 – випробуваний розчин препарату, 5 – розчин порівняння L-триптофану та тіотриазоліну

Специфічність методики кількісного та якісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну підтверджується тим, що:

- На хроматограмі розчину «плацебо» відсутні піки з часом утримання піків L-триптофану з тіотриазоліном;
- Час утримання піків L-триптофану та тіотриазоліну на хроматограмах досліджуваного розчину співпадають з часом утримання піків L-триптофану та тіотриазоліну на хроматограмах розчину порівняння L-триптофану та тіотриазоліну;
- На хроматограмах досліджуваного розчину та розчину порівняння L-триптофану з тіотриазоліном спостерігається повне розділення піків L-триптофану та тіотриазоліну.

Виходячи з усього вище зазначеного можна сказати, що методика ідентифікації та кількісного визначення L-триптофану з тіотриазоліном в препараті методом ВЕРХ є специфічною.

Приготування модельних випробуваних розчинів. Характеристики правильності та прецизійності досліджували на модельних розчинах препарату з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну, які відповідають 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105%, 110 %, 115 % та 120 % від їх номінального вмісту (табл.4.8).

Хроматограми модельних розчинів наведені на рис. 4.14 – 4.24.

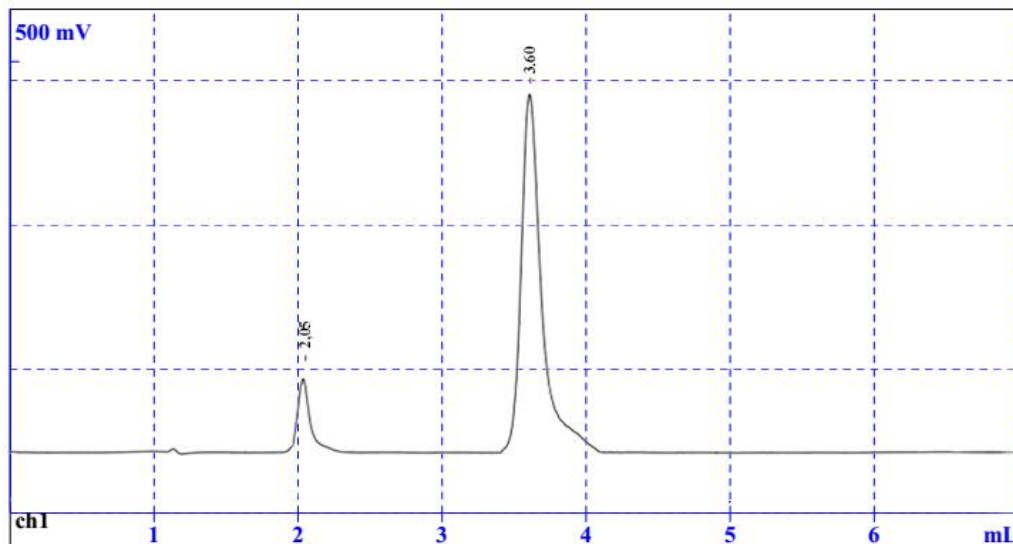


Рис 4.14 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 80 % від номінального значення

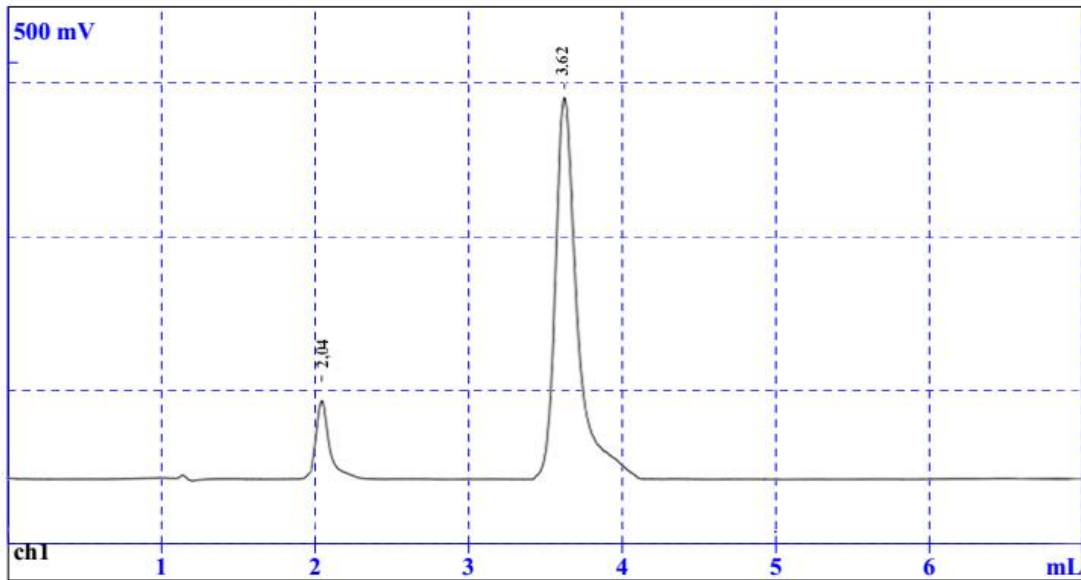


Рис 4.15. Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 85 % від номінального значення

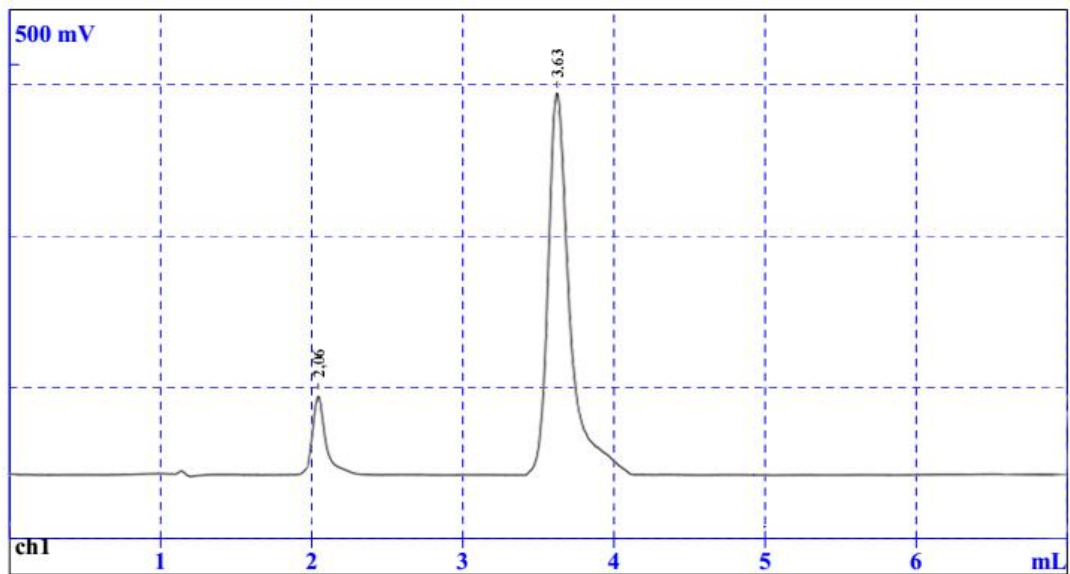


Рис 4.16. Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 90 % від номінального значення

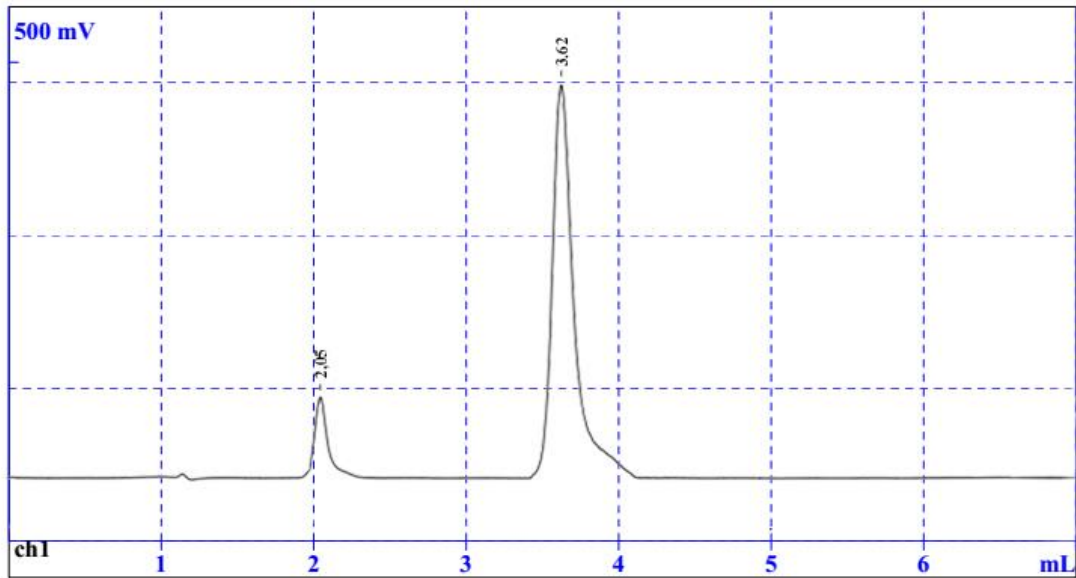


Рис 4.17. Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 95 % від номінального значення

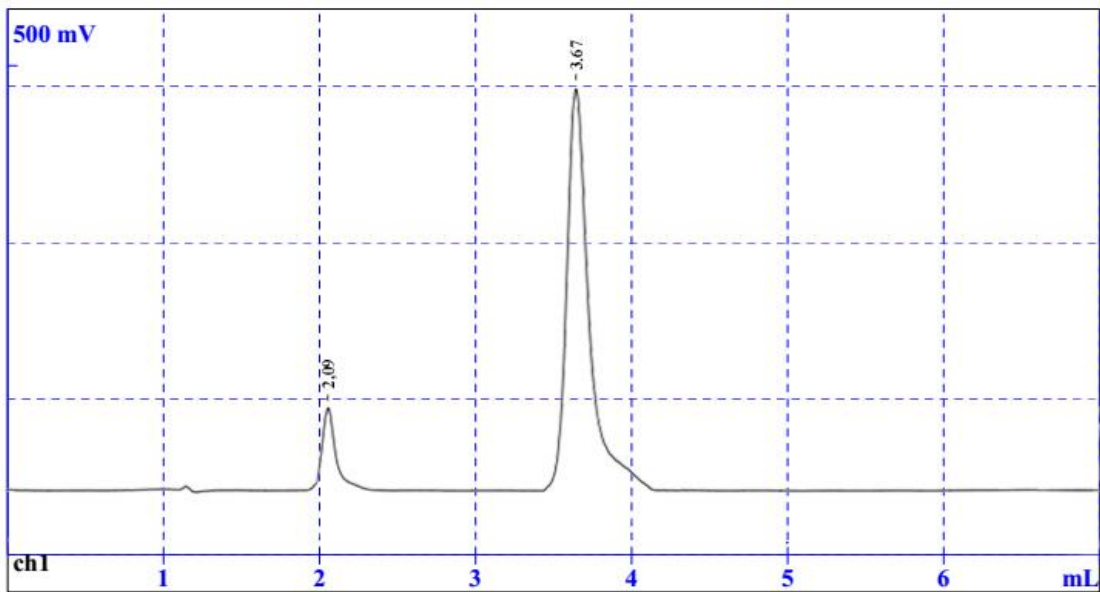


Рис 4.18. Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 100 % від номінального значення

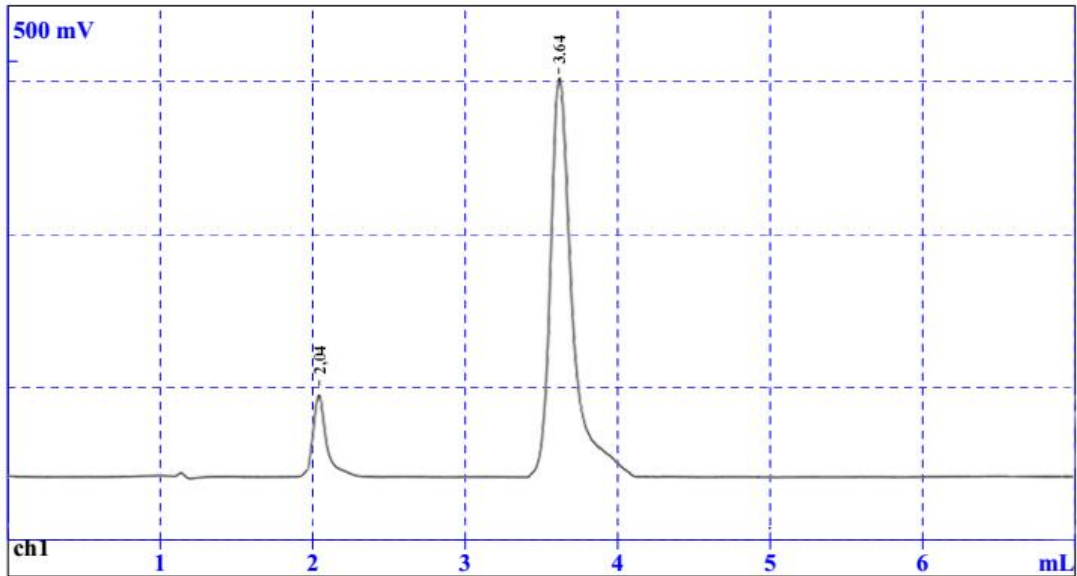


Рис 4.19. Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 105 % від номінального значення

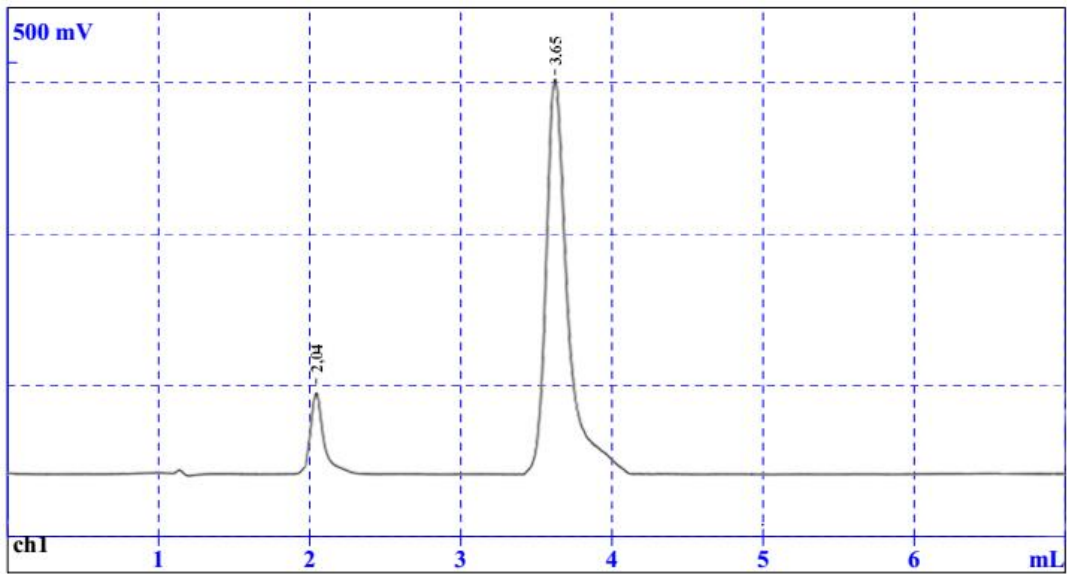


Рис 4.20. Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідно до 110 % від номінального значення

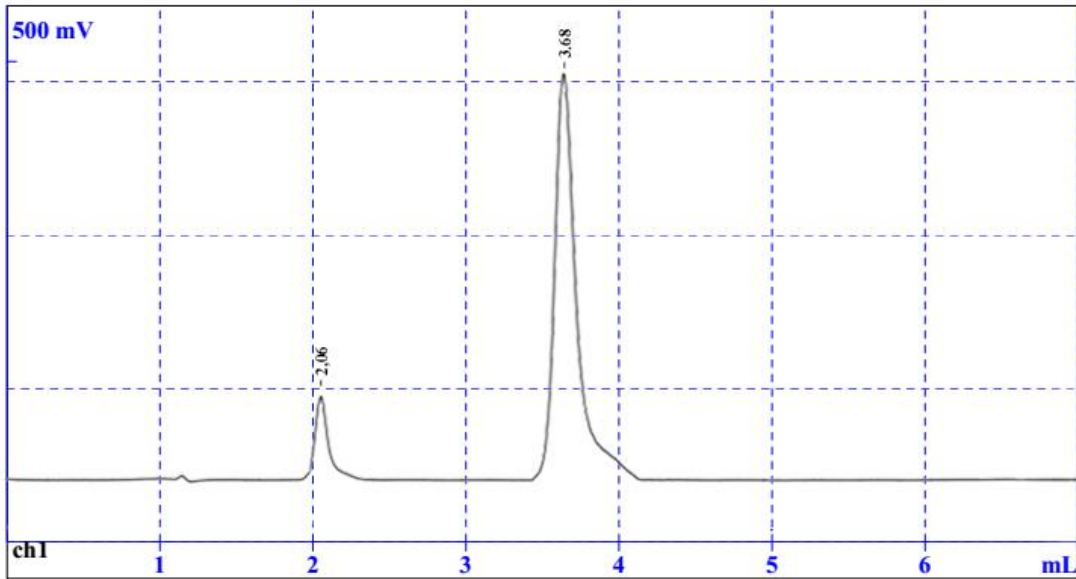


Рис 4.21 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 115 % від номінального значення

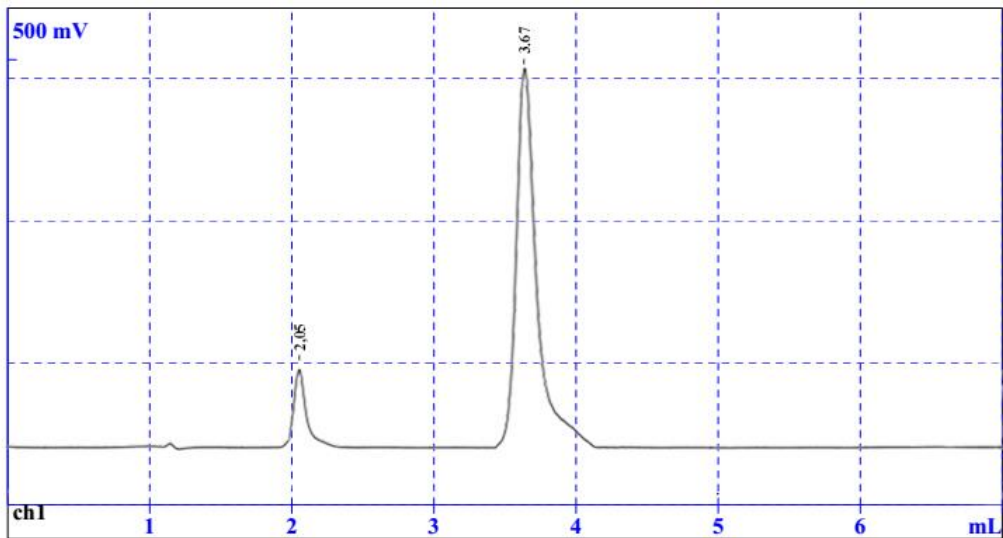


Рис 4.22 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-триптофану та тіотриазоліну відповідними до 120 % від номінального значення

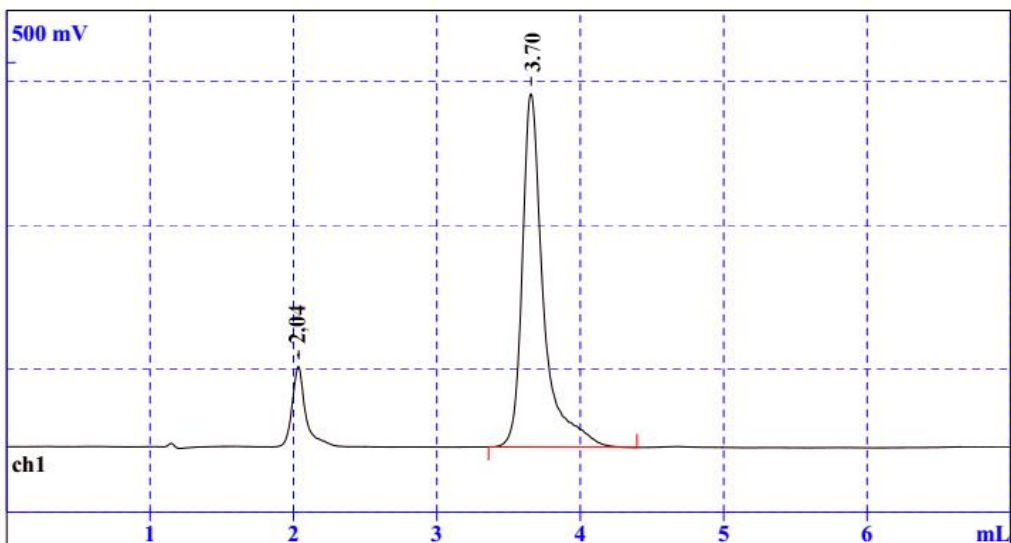
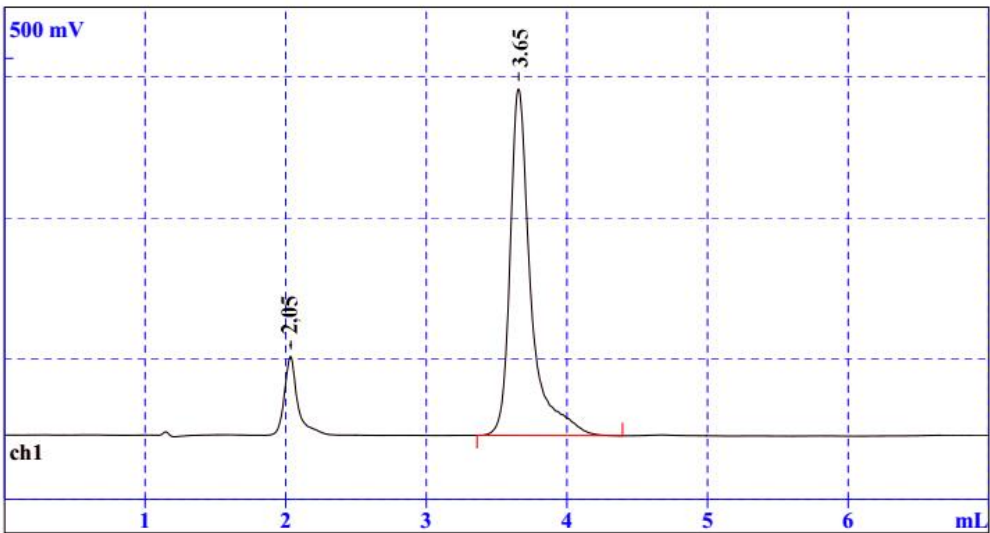
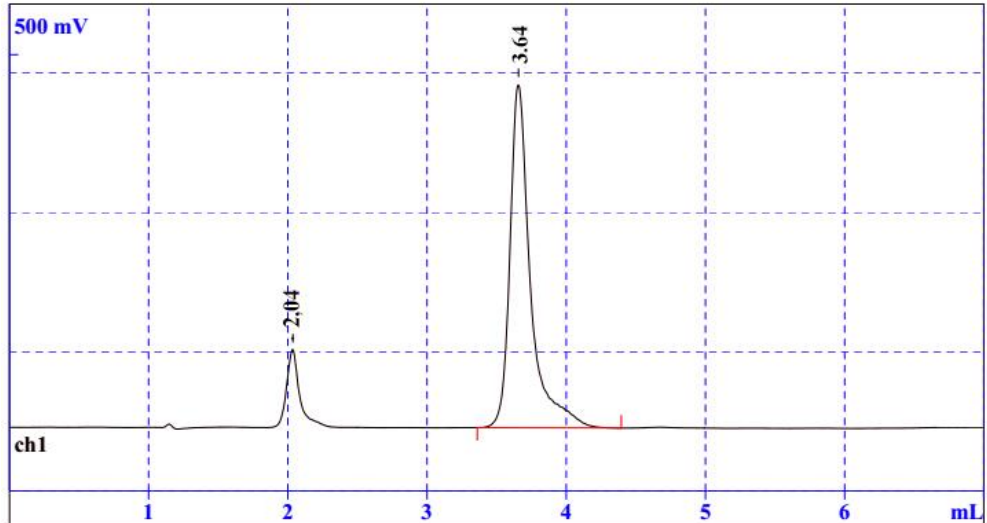


Рис. 4.23 Хроматограми випробуваного розчину L-триптофану та тіотриазоліну

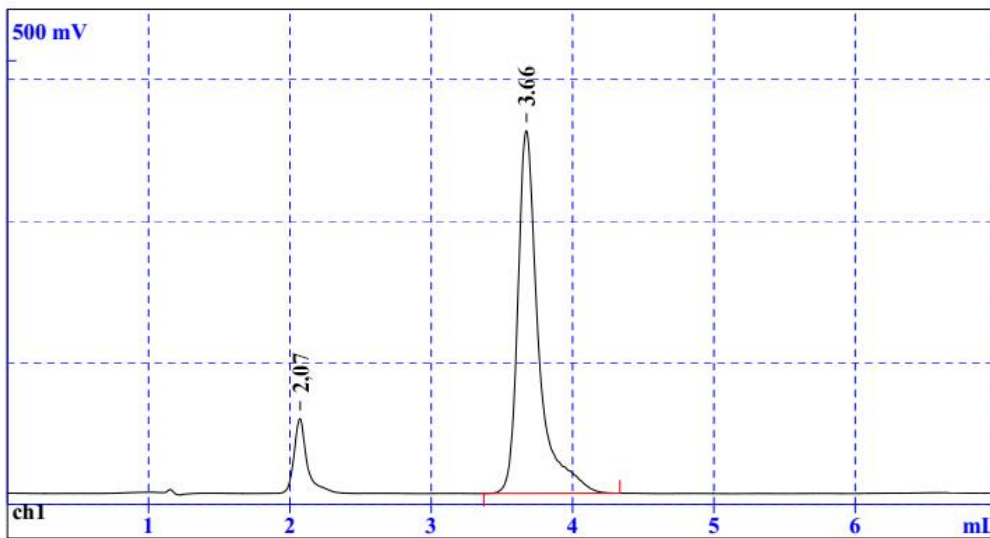
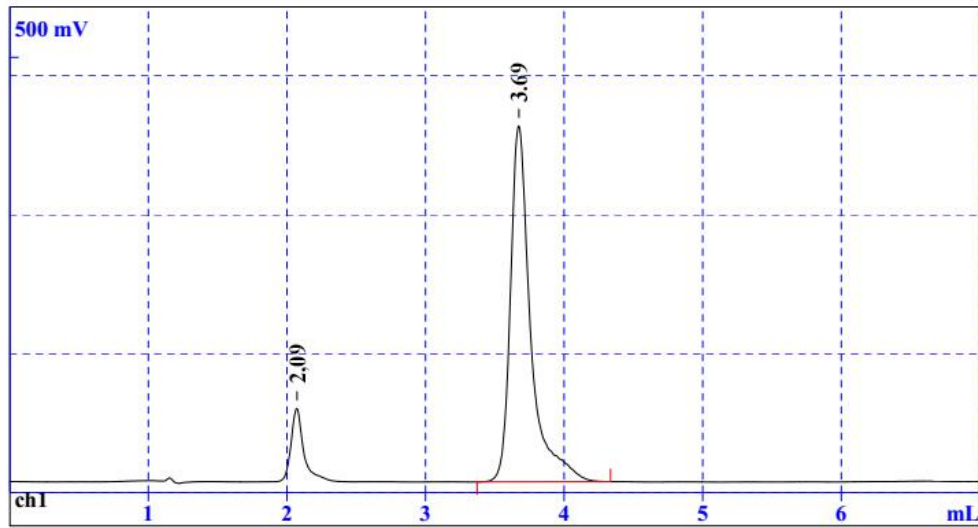
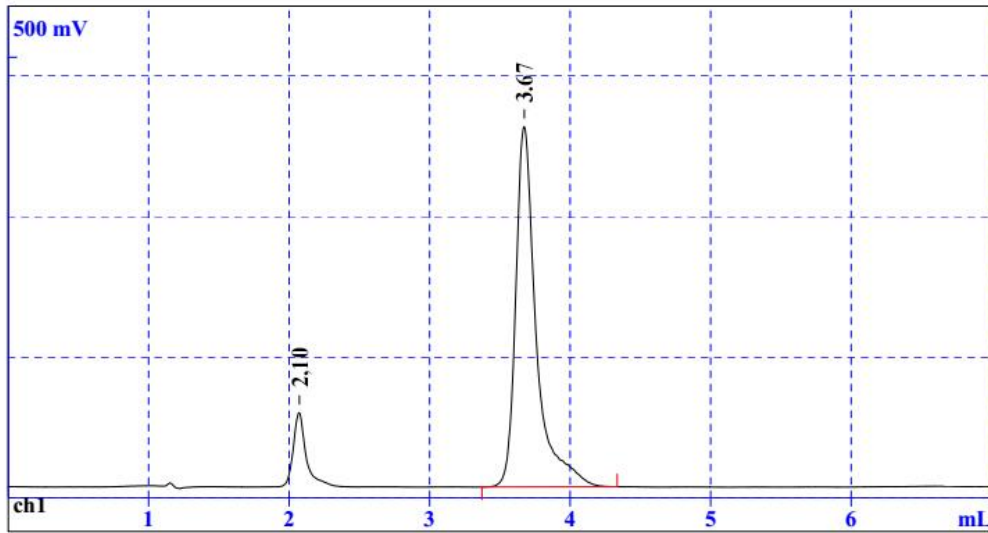


Рис 4.24 Хроматограми розчину порівняння L-триптофану та тіотриазоліну

Діапазон застосування аналітичної методики – це інтервал між мінімальною та максимальною концентраціями (кількістю) аналізованої речовини в зразку (включаючи ці концентрації), для якого показано, що аналітична методика має вимагаєму правильність, збіжність та лінійність.

Лінійність – це можливість методики (в межах діапазону застосування) отримувати результати досліджень, прямо пропорційні кількості досліджуваної речовини в зразку. При цьому повинна виходити лінійна залежність між взятою («істиною») M_B та знайденою M_3 кількістю визначаємої речовини.

Характеристику лінійності досліджували в діапазоні концентрацій L-триптофану та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення.

Графік лінійної залежності представлений на рис. 4.25 та 4.26, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності в табл. 4.9 та 4.10.

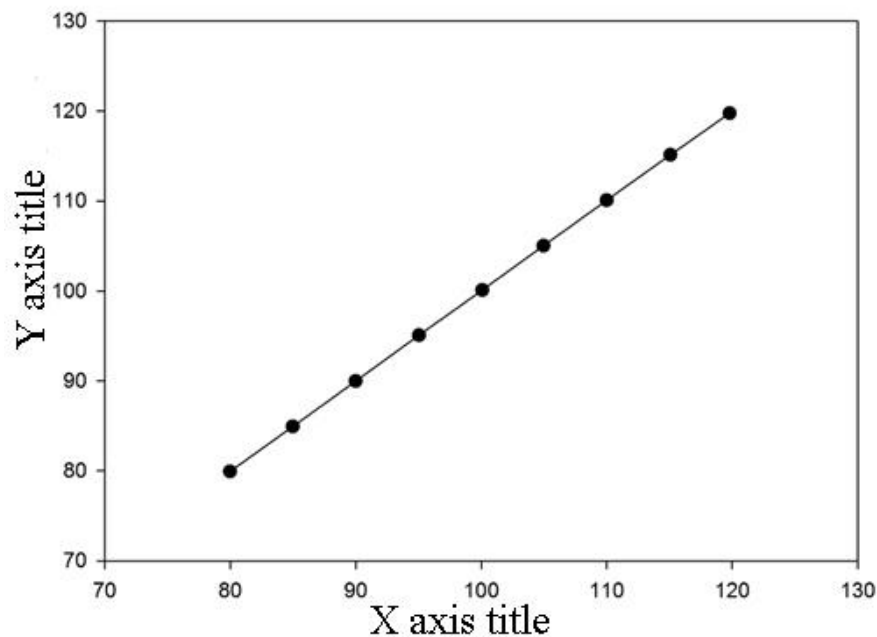


Рис. 4.25 Лінійна залежність знайденої концентрації L-триптофану від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

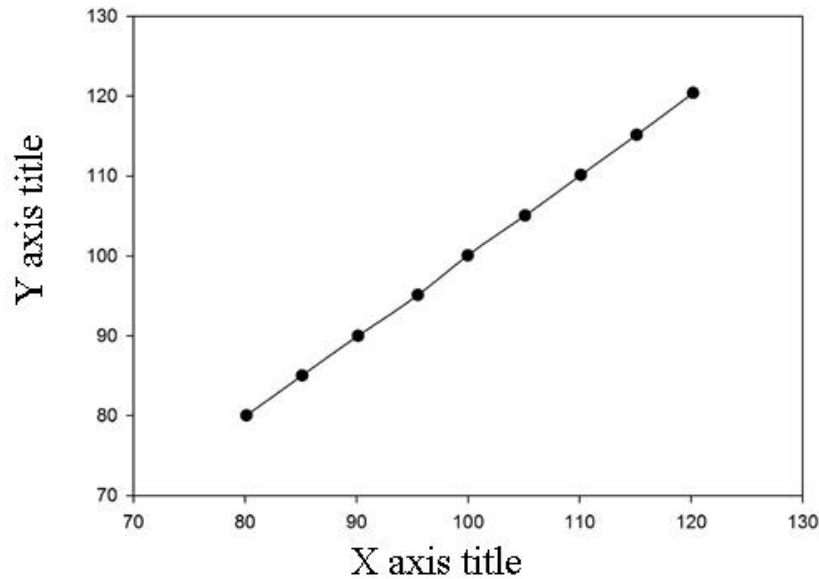


Рис. 4.26 Лінійна залежність знайденої концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

Таблиця 4.8

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації L-триптофану від його введеної концентрації

| Параметри | Значення | Вимоги 1 | Вимоги 2 | Висновок |
|--------------------|----------|------------|----------|-----------------------------|
| b | 1,0017 | | | |
| S _b | 0,0013 | | | |
| a | -0,1439 | ≤ 0,24 | ≤ 2,6 | Витримується за 1 критерієм |
| S _a | 0,1276 | | | |
| SD ₀ | 0,0487 | | | |
| SD ₀ /b | 0,04861 | ≤ 0,84 | | Виконуються |
| r | 1,0000 | > 0,99810 | | Виконуються |

**Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої
концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації**

| Параметри | Значення | Вимоги 1 | Вимоги 2 | Висновок |
|--------------------|-----------|------------|----------|-----------------------------|
| b | 1,0070 | | | |
| S _b | 0,0038381 | | | |
| a | - 0,73 | ≤ 0,66 | ≤ 2,6 | Витримується за 1 критерієм |
| S _a | 0,38754 | | | |
| SD ₀ | 0,148633 | | | |
| SD ₀ /b | 0,148 | ≤ 0,84 | | Виконуються |
| r | 0,99994 | > 0,99810 | | Виконуються |

Як видно з представлених даних, вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто лінійність методики кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну підтверджується в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту ± 5 %.

Правильність характеризує ступінь відповідності між відомим вмістом визначуваної речовини в розчині та його вмістом в розчині, який визначається за даною методикою.

Збіжність характеризує *прецизійність* методики при її виконанні в одних і тих самих умовах протягом невеликого проміжку часу. На даному етапі збіжність досліджується на 9 модельних сумішах, які охоплюють діапазон застосування методики.

Правильність та збіжність методики була перевірена методом «введено-знайдено». Результати кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 4.11 та 4.12.

Таблиця 4.10

**Результати аналізу модельних розчинів, які містять від 80 % до 120 %
L-триптофану по відношенню до номінальної концентрації, і їх статистичної
обробки**

| № розчину | Наважка триптофану, г ($m_{st} = 0,2000$) | Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %) | Середня площа піку ($A_i^{st} = 67617,69$) | Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %) | Знайдено в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|--|--|---|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| 1 | 0,1599 | 79,97 | 54053,58 | 79,94 | 99,96 |
| 2 | 0,1699 | 84,97 | 57427,71 | 84,93 | 99,95 |
| 3 | 0,1799 | 89,98 | 60835,64 | 89,97 | 99,99 |
| 4 | 0,1900 | 95,02 | 64284,14 | 95,07 | 100,05 |
| 5 | 0,2001 | 100,07 | 67692,07 | 100,11 | 100,04 |
| 6 | 0,2099 | 104,96 | 71018,86 | 105,03 | 100,07 |
| 7 | 0,2200 | 110 | 74440,32 | 110,09 | 100,08 |
| 8 | 0,2301 | 115,08 | 77855,01 | 115,14 | 100,05 |
| 9 | 0,2396 | 119,8 | 80978,95 | 119,76 | 99,97 |
| Середнє, Z_{cp} , % = | | | | | 100,02 |
| Відносне стандартне відхилення, $RSDz$, % = | | | | | 0,05 |
| Відносний довірчий інтервал Δz % = $t(95\%, 9 - 1) \times RSDz = 1.86 \times 0.10 =$ | | | | | 0,09 |
| Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % = | | | | | 1,6 |
| Систематична помилка δ % = $ Z_{cp} - 100 =$ | | | | | 0,02 |

| | |
|--|-------------|
| Критерій незначущості систематичної похибки: | |
| 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.09/3 = 0.03 \% > 0.02 \%$ | Виконується |
| Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: | |
| 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0.32 \times 1.6 = 0.51 \% > 0.02 \%$ | Виконується |
| Загальний висновок про методику | КОРЕКТНА |

Таблиця 4.11

Результати аналізу модельних розчинів які містять від 80 % до 120 % тіотриазоліну по відношенню до номінальної концентрації, та їх статистична обробка

| № розчину | Наважка тіотриазоліну, г ($m_{st} = 0,0500$) | Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %) | Середня площа піку ($A_i^{st} = 24427,152$) | Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %) | Знайдено в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$ |
|---|--|--|---|--|---|
| 1 | 0,0400 | 80,11 | 19551,49 | 80,04 | 99,91 |
| 2 | 0,0425 | 85,10 | 20770,41 | 85,03 | 99,92 |
| 3 | 0,0450 | 90,12 | 21984,44 | 90 | 99,87 |
| 4 | 0,0477 | 95,48 | 23230,22 | 95,1 | 99,60 |
| 5 | 0,0499 | 99,96 | 24446,69 | 100,08 | 100,12 |
| 6 | 0,0525 | 105,11 | 25663,17 | 105,06 | 99,95 |
| 7 | 0,0550 | 110,11 | 26904,07 | 110,14 | 100,03 |
| 8 | 0,0575 | 115,12 | 28130,31 | 115,16 | 100,03 |
| 9 | 0,0600 | 120,18 | 29410,29 | 120,4 | 100,18 |
| Середнє, Z_{cp} , % = | | | | | 99,96 |
| Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % = | | | | | 0,17 |

| | |
|--|-------------|
| Відносний довірчий інтервал $\Delta z \% = t(95\%, 9 - 2) \times RSDz = 1,89 \times 0,17 =$ | 0,31 |
| Критичне значення для збіжності результатів $\Delta As, \% =$ | 1,6 |
| Систематична помилка $\delta \% = Z_{cp} - 100 =$ | 0,04 |
| Критерій незначущості систематичної помилки: | |
| 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0,33 : 3 = 0,1 \% > 0,04\%$ | Виконується |
| Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta \% \leq 0,32 \times 1,6 = 0,51 \% > 0,04\%$ | Виконується |
| Загальний висновок про методику | КОРЕКТНА |

З даних, наведених в табл. 4.11 та 4.12, виходить, що методика кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною.

Як свідчать дані, наведені в табл. 4.11 и 4.12, в діапазоні концентрацій L-триптофану та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінальної концентрації методика його кількісного визначення не має значущої систематичної похибки.

Підводячи ризику під усім вище зазначеним можна сказати, що методика характеризується достатньою збіжністю, так як знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Δz для L-триптофану та тіотриазоліну не перевищує критичне значення для збіжності результатів (1,6 %) (табл. 4.11, 4.12). Також методика характеризується достатньою правильністю, так як виконується критерій незначущості систематичної похибки методики. Систематична похибка методики задовольняє вимоги статистичної та практичної незначущості. Високе значення коефіцієнта кореляції $r = 1,0000$ та $0,99994$ задовольняє вимоги критерію прийнятності ($r = 0,9998$) та підтверджує лінійність залежності між взятою та знайденою кількістю L-триптофану та тіотриазоліну в області від 80 % до 120 % відповідно до його номінального вмісту в препараті. Виконуються вимоги до параметрів лінійної залежності ($a, SD_0/b, r$)

методики визначення L-триптофану та тіотриазоліну у всьому діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення (табл. 4.9, 4.10).

Прогноз повної невизначеності методики

Для підтвердження коректності методики при відтворенні в інших лабораторіях був проведений прогноз повної невизначеності методики. Повна невизначеність методики аналізу (Δ_{As}) включає в себе невизначеність пробопідготовки (Δ_{SP}) та невизначеність кінцевої аналітичної операції (Δ_{FAO}):

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (4.11)$$

Вимоги до RSD площ піків у розділі «Придатність хроматографічної системи» для кількісного визначення встановлюють наступним чином:

- якщо прогнозована невизначеність пробопідготовки (Δ_{SP}) незначуща у порівнянні з максимально припустимою невизначеністю результатів аналізу ($\max\Delta_{As}$) для допусків вмісту $\pm 5\%$, як вимоги до RSD використовують такі, що зазначені в монографії ДФУ 2.2.46N «Хроматографічні методи розділення», Табл. 2.2.46-2 []:

$$\max\Delta_{As} = 1,6\%; \Delta_{SP} \leq 0,32 \cdot \max\Delta_{As} = 0,51\% \quad (4.12)$$

- якщо (Δ_{SP}) значуща у порівнянні з $\max\Delta_{As}$, для RSD встановлюють більш жорсткі вимоги, ніж наведені в Табл. 2.2.46-2. При цьому повна прогнозована невизначеність методики аналізу не повинна перевищувати $\max\Delta_{As}$.

Оцінка методики: очікувана невизначеність пробопідготовки складалася з невизначеності наважки препарату та наважки, яка була взята для приготування розчину порівняння, доведення до мітки розчинів та взяття аліквот. Розрахунки проведені з розрахункових формул проекту ФСП з використанням підходу до допустимої невизначеності мірного посуду. Розрахунки та величини невизначеності процедури пробопідготовки наведені в табл. 4.13.

Невизначеність взяття наважки розраховують за формулою:

$$\Delta_m = \frac{0,2}{m} \times 100\% \quad (4.13)$$

де m – маса наважки, в міліграмах.

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для методики кількісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну

| Операція пробопідготовки | Параметр для розрахункової формули | Невизначеність (Δ), % |
|--|------------------------------------|--------------------------------|
| Розчин порівняння | | |
| Взяття наважки L-триптофану та тіотриазоліну | $m_o = 200$ мг | 0,1 % |
| | $m_o = 50$ мг | 0,4 % |
| Доведення об'єму розчину в мірній колбі 25,0 мл до мітки | 25 | 0,23 % |
| Взяття розчину піпеткою 10 мл | 10 | 0,25 % |
| Доведення до об'єму 100 мл | 100 | 0,12 % |
| Випробуваний розчин | | |
| Взяття наважки препарату | $m = 450$ мг | 0,04 % |
| Доведення об'єму розчину в мірній колбі 25 мл до мітки | 25 | 0,23 % |
| Взяття розчину піпеткою 10 мл | 10 | 0,25 % |
| Доведення до об'єму 100 мл | 100 | 0,12 % |

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для L-триптофану) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.1^2 + 0.23^2 + 0.25^2 + 0.12^2 + 0.04^2 + 0.23^2 + 0.25^2 + 0.12^2} \approx 0.52\% \quad (4.14)$$

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для тіотриазоліну) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.4^2 + 0.23^2 + 0.25^2 + 0.12^2 + 0.04^2 + 0.23^2 + 0.25^2 + 0.12^2} \approx 0.65\% \quad (4.15)$$

Таким чином, невизначеність пробопідготовки є значущою для L-триптофану та тіотриазоліну. Тому розраховують більш жорсткі вимоги до RSD наступним чином. Для цього розраховують вимоги до $\max \Delta_{FAP}$, скореговані на прогнозоване значення Δ_{SP} :

$$\max \Delta_{FAP} = \sqrt{\max \Delta_{As}^2 - \Delta_{SP}^2} = \sqrt{1.6^2 - \Delta_{SP}^2}; \quad (4.16)$$

для L-триптофану: $\max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,52^2} = 1,51$;

для тіотриазоліну: $\max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,65^2} = 1,46$.

Розраховують вимоги для $\max RSD$ для 3 паралельних хроматограм, які необхідно одержати у відповідності з проектом методики:

$$\max RSD = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{t \cdot \sqrt{2}} = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{2,92 \cdot \sqrt{2}} = \max \Delta_{FAP} \cdot 0,4194; \quad (4.17)$$

для L-триптофану: $\max RSD = 0,4194 \cdot 1,51 = 0,63$;

для тіотриазоліну: $\max RSD = 0,4194 \cdot 1,46 = 0,61$.

де t – однобічний коефіцієнт Стьюдента для рівня надійності 95% та числа ступенів свободи $f = 3 - 1 = 2$; $\sqrt{3}$ – число паралельних хроматограм, яке одержують у відповідності з методикою; $\sqrt{2}$ – коефіцієнт, який враховує, що використовують випробовуваний розчин та розчин порівняння, RSD площ піків у яких належить до однієї генеральної сукупності.

Можна бачити, що критичні значення для $\max RSD$ декілька відрізняються від такого в 2.2.46N ($\max RSD = 0,67$), але невелике перевищення Δ_{SP} рівня незначущості призводить тільки до незначного збільшення вимог до $\max RSD$, які легко можуть бути виконані на практиці.

Для підтвердження виконання вимог до $\max RSD$ розраховували фактичні значення RSD для піків L-триптофану та тіотриазоліну з фактичних даних (табл. 4.13).

Відносне стандартне відхилення площ піків L-триптофану та тіотриазоліну (A)

| | L-триптофан | | Тіотриазолін | |
|---|-------------|------------|--------------|------------|
| | S_0^* | S_1^{**} | S_0^* | S_1^{**} |
| | 67774,89 | 67541,90 | 24671,44 | 24697,86 |
| | 67901,67 | 67529,53 | 24723,71 | 24683,34 |
| | 67998,45 | 67656,97 | 24611,88 | 24741,01 |
| RSD, % | 0,165 | 0,104 | 0,227 | 0,121 |
| RSD_{max}, % (n₀ = 3, B = 5 %) | 0,63 | | 0,61 | |
| * S_0 – площа піку L-триптофану та тіотриазоліну, отримана з хроматограм розчину порівняння. ** S_1 – площа піку L-триптофану та тіотриазоліну, отримана з хроматограм досліджуваного розчину. | | | | |

Отримані значення відносних стандартних відхилень для площ піків L-триптофану та тіотриазоліну суттєво менше $\max RSD$.

Висновок: методика визначення L-триптофану та тіотриазоліну методом ВЕРХ в діапазоні застосування методики відповідає критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність (сходимість) та лінійність. Повна прогнозована невизначеність результатів аналізів не перевищує критичне значення, регламентоване ДФУ.

4.7 Встановлення умов зберігання і терміну придатності таблеток L-триптофану з тіотриазоліном

Під вивченням стабільності таблетованих лікарських форм розуміють отримання інформації про те, яким чином змінюється їх якість з плином часу під впливом факторів навколишнього середовища (температури, вологості, освітлення). Отримані дані використовуються для встановлення рекомендованих умов зберігання і термінів придатності лікарського засобу. Тому було проведено дослідження стабільності таблетованого, комбінованого, фіксованого лікарського засобу з L-триптофаном та тіотриазоліном для визначення терміну придатності та умов їх зберігання [32, 106, 179, 221].

Дослідження стабільності проводили згідно настанови 42-3.3:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності», де вказані рекомендації стосовно вивчення стабільності препаратів [111]. При розробці складу нового лікарського препарату термін придатності визначають експериментально, шляхом періодичної оцінки вказаних в МКЯ показників якості.

Дослідження проводили для таблеток, які було виготовлено в лабораторних умовах та расфасовано у блістери.

За випробуваними зразками таблеток спостерігали протягом 24 місяців у сухому захищеному від світла місці, при температурі $25\pm 2^\circ\text{C}$, дослідження тривають. Для оцінки якості таблеток, що зберігалися у вищевказаних умовах, оцінювали зовнішній вигляд, проводили ідентифікацію, визначали кількісний вміст діючої речовини, проводили тест «розчинення» та «розпаданя» [174, 183, 199].

Встановлено, що при зберіганні впродовж 24 місяців та температурі $25\pm 2^\circ\text{C}$ і відносній вологості $60\pm 5\%$, захищеному від світла місці таблетки відповідали вимогам проекту МКЯ. Тому запропоновано встановити термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C (Додаток А).

Висновки до розділу 4

1. Розроблено методику для якісного та кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші L-триптофану та тіотриазоліну одним з найсучасніших методів ВЕРХ. Для проведення аналізу саме цим методом були підібрані рухома та нерухома фази, а також оптимізовано умови проведення дослідження: колонка, елюент, швидкість рухомої фази, довжина хвилі детектора, температура та об'єм введеної проби.

2. Розроблено та апробовано методику ВЕРХ для стандартизації діючих речовин в таблетковій масі, при цьому встановлено, що запропонована методика ВЕРХ відповідає вимогам специфікації на таблетки (Додаток С).

3. Розроблено та апробовано методику ВЕРХ для стандартизації (ідентифікація, розчинення, кількісне визначення) діючих речовин в таблетках з L-триптофаном та тіотриазоліном, при цьому встановлено, що запропонована методика ВЕРХ є високоточною

і відтворюваною. Проведено експериментальні дослідження основних показників якості розроблених таблеток L-триптофану з тіотриазоліном згідно вимог ДФУ.

4. За результатами проведених досліджень розроблено специфікацію та проект МКЯ на таблетки з L-триптофаном та тіотриазоліном (Додаток Т).

5. Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічну діяльність, кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (Додаток П), кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету (Додаток М).

6. Розроблена методика кількісного визначення діючих речовин у таблетках L-триптофану з тіотриазоліном була валідована та перевірена за такими характеристиками як специфічність, лінійність, діапазон застосування, правильність та прецизійність (збіжність).

7. Вивчено стабільність таблеток L-триптофану з тіотриазоліном в процесі зберігання та визначено термін і умови їх зберігання - 2 роки за температури (15 - 25) °C і відносній вологості (60±5) %, дослідження тривають (Додаток А).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна. *Фармац. часопис*. 2018. № 2. С. 54-58. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

2. О постадийном контроле таблеток L-триптофана с тиотриазолином / Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур, С. О. Борсук, Е. А. Портная, Г. И. Ткаченко. *Рецепт*. 2018. том № 21, №4, С. 508 – 515. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

3. Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом вискоєфективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, С. О. Борсук, І. А. Мазур, Л. Г. Черковська, Д. Ю. Скорина. *Актуальні питання фармац. і мед.*

науки та практики. 2018. Т. 11, № 2(27). С. 142-147. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

РОЗДІЛ 5

ПІДТВЕРДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ РОЗРОБКИ

Стан психічного здоров'я тісно пов'язаний з розвитком деяких захворювань, зниженням якості життя, зростанням інвалідності, а як наслідок і до збільшення смертності населення. Дані Всесвітньої організації охорони здоров'я показують, що через перенесений стрес, виникає 45% всіх патологій людського організму, інші фахівці вважають що ця цифра вдвічі більше [26, 155]. У зв'язку з цим, одним із актуальних завдань сучасної медицини є розробка заходів фармакологічної корекції емоційного стресу. Як відомо, гіперпродукція активних форм кисню (АФК) є одною з ланок патогенезу емоційного стресу [69]. В умовах антиоксидантної недостатності надлишок АФК призводить до окислювальної модифікації ліпідів, білків, а також нуклеїнових кислот [157]. До порушення утворення, генерації, провідності нервового імпульсу призводить окислювальна модифікація білкових фрагментів рецепторів, іонних каналів. Вона призводить до погіршення когнітивно-мнестичних функцій організму, порушує синаптичну передачу в головному мозку [40, 60, 104]. Також під дією АФК в клітині відбувається експресія редокс-чутливих генів, одні з яких необхідні для захисту клітин від токсичних ефектів окисного стресу, а інші, при надлишку АФК, ініціюють апоптоз [209, 218, 229].

У зв'язку з вищевикладеним, застосування антиоксидантів, ноотропів, анксиолітиків є перспективним напрямком фармакокорекції стресу і його наслідків. У клінічній практиці широке застосування в якості анксиолітиків і стреспротекторів знайшли структурні аналоги нейротрансмітерів - триптофан, фенібут, гліцин, ГАМК [61, 80, 138].

У наш час також простежується тенденція створення комбінованих лікарських засобів з анксиолітичною дією, які здатні знижувати неврологічні дефіцити, відновлювати порушені розумові і мнестичні функції, а також захищати мозок і підвищувати резистентність організму до екстремальних впливів [221].

Однак сучасний арсенал анксиолітичних засобів не завжди відповідає всім

вимогам клініцистів. Найчастіше такі препарати призначаються у вигляді окремих лікарських форм, що призводить до зниження комплаєнса пацієнтів, а також поліпрагмазії. Іноді препарати бувають недостатньо ефективними. Все це обумовлює необхідність створення нових комбінованих високоефективних і малотоксичних препаратів, які б поєднували в собі позитивні ефекти активних діючих речовин або ж навіть посилювали б їх терапевтичний ефект.

Також, інтерес в даний час викликає Ноофен, який використовується перорально. Препарат має анксиолітичні, антиамнестичні, антигіпоксичні властивості, крім того стимулює процеси навчання, покращує пам'ять, підвищує фізичну і розумову діяльність. Також Ноофен має транквілізуючі властивості: усуває страх, напругу, тривожність, емоційну лабільність, дратівливість, психоемоційну напругу, поліпшує сон; підсилює і подовжує дію наркотичних, нейролептичних, снодійних, протисудомних засобів. Препарат значно зменшує вазовегетативні симптоми (головний біль, відчуття тяжкості в голові) і прояви астенії. Уже з перших днів терапії Ноофен в емоційно лабільних осіб і у хворих з астеною підвищується інтерес і ініціативність, поліпшується самопочуття, мотивацію до активної діяльності без порушення і седативного ефекту. Ноофен також активно застосовується для лікування хворих з черепно-мозковою травмою, при цьому поліпшуються біоенергетичні процеси в мозку, а також збільшується кількість мітохондрій в клітинах перифокальних тканин. При наявності порушень діяльності шлунка і серця даний препарат нормалізує процеси пероксидації ліпідів. Але на жаль, Ноофен має вузький спектр ноотропної дії - засіб має тільки антиамнестичну активність (впливаючи на короткочасну пам'ять), не впливає на довготривалу пам'ять, кортикальний контроль, а також на рівень суджень. Також відомі випадки побічних ефектів Ноофену, що обмежує його застосування в практичній клініці, особливо в педіатричній і геронтологічній. Є дані, що ноофен може викликати залежність, а також має синдром відміни. Крім того, препарат чинить негативний вплив на печінку [68, 137].

На сьогодні в світі велику увагу викликає створення комбінованих препаратів, до складу яких, крім основної діючої речовини, входять і

антиоксиданти. Введення антиоксидантів в комбіновану лікарську форму часто призводить до потенціювання фармакологічного ефекту, зменшення дози, і зниженню, а часто і до нівелювання побічних ефектів основної діючої речовини [101, 106, 129].

Одним з яскравих прикладів комбінованих вітчизняних препаратів є Тіоцетам, який в своєму складі, крім основної діючої речовини містить антиоксидант - тіотриазолін (4: 1), який був розроблений співробітниками НВО «Фарматрон», а також фахівцями кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету [27, 137, 119]. В даний час Тіоцетам активно застосовується в медичній практиці і серійно випускається у фармацевтичній промисловості. Препарат володіє ноотропними, церебропротекторними, протиішемічними, антиоксидантними властивостями. Але, нажаль, Тіоцетам не володіє анксиолітичною активністю, а також вираженими стрес-протекторними властивостями.

В даний час відомий один з попередників серотоніну - Триптофан. Він сприяє зняттю тривожності, гіперактивності, нав'язливих станів і синдрому хронічної втоми, підвищує настрій, усуває напругу і відчуття страху, покращує хороше засипання і нормалізує сон. Однак, даний засіб не має ноотропної, стреспротективної і антиоксидантної дії при самостійному застосуванні [74, 102].

Тому, особливу цікавість представляє потенціювання протекторних властивостей триптофану за рахунок комбінування з речовинами, які виявляють антиоксидантну дію і гальмують оксидативний стрес і тим самим відновлюють чутливість рецепторів нейрона, покращують енергозабезпечення головного мозку. До таких препаратів можна сміливо віднести антиоксидант, створений під керівництвом Мазура І. А. на базі НВО «Фарматрон», тіотриазолін [6, 99, 107, 130, 153, 157, 158]. Регулюючи Red/Oxi-залежні механізми підвищення афінності до серотонінових рецепторів, тіотриазолін здатний посилити анксиолітичну дію триптофану, в свою чергу, триптофан може посилити антиоксидантну дію тіотриазоліну. За допомогою перетворення в організмі в мелатонін, триптофан зможе утворити з тіотриазоліном своєрідний тандем з утилізації таких зловісних

кисневих радикалів, як пероксинітрит і гідроксил-радикал. Тіотриазолін спільно з триптофаном здатні впливати на механізми пам'яті, як довгострокової - за рахунок спільного впливу на АТФ-залежні механізми синтезу білків пам'яті, так само і короткочасну - за рахунок придушення амнезії, яка викликається надлишком вільних радикалів [40].

Направляючи спільну дію триптофану і тіотриазоліну на регуляцію Red/Oxi-залежних механізмів афінності серотонінових рецепторів, відновлення функції цієї системи (зниження страху, тривоги, порушень занепокоєння, сну), посилення антиоксидатної і енерготропної дії (процеси пам'яті), можна використовувати їх спільну комбінацію при лікуванні і профілактиці захворювань центральної нервової і серцево-судинної системи, в патогенезі яких головною ланкою є стрес [54].

Після вивчення механізмів дії обох компонентів пропонованого комбінованого засобу, що містить триптофан і тіотриазолін, можливо припустити, що новий комбінований засіб може мати більш ефективну антиоксидантну і анксиолітичну дію і додатковий стрес-протекторний і ноотропний ефекти. В цьому напрямку були проведені наші дослідження.

Дослідження проводили на базі центральної науково-дослідної лабораторії (керівник лабораторії професор Абрамов О. В.) та кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (завідувач професор Беленічев І. Ф.). В розділі наведені дослідження, в яких приймалась безпосередня участь дослідників.

Перед дослідниками було поставлено завдання розробити комбінований лікарський засіб, який буде мати високу анксиолітичну, а також антиоксидантну активності, і додатково проявляти стрес-протекторну і ноотропну дію. Дані дослідження є продовженням комплексної наукової програми «Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів і створення оригінальних лікарських засобів та фіксованих комбінацій лікарських препаратів», яка реалізується співробітниками НВО «Фарматрон» і фахівцями кафедр фармацевтичної хімії і фармакології та медичної рецептури ЗДМУ.

5.1 Встановлення оптимального співвідношення діючих речовин і вивчення анксиолітичних властивостей нового комбінованого лікарського засобу триптофану з тіотриазоліном

У зв'язку з тим, що запропонований комбінований засіб передбачається застосовувати у вигляді таблеток, були проведені дослідження щодо підбору оптимального співвідношення діючих речовин. В ході дослідження були вивчені різні співвідношення комбінацій триптофану і тіотриазоліну - 1:1, 2:1, 4:1, 5:1, 7:1 відповідно, в умовах тесту «підвішування за хвіст». В результаті проведених досліджень було встановлено, що найбільш активною є комбінація триптофану і тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 відповідно, крім того встановлено, що всі досліджені комбінації з іншим співвідношенням діючих речовин (1:1; 2:1; 5:1 і 7:1) також є фармакологічно ефективними. Результати досліджень, наведені в табл. 5.1.

Наступним етапом наших досліджень було визначення анксиолітичних властивостей досліджуваної комбінації (4:1) бліц-тестом «Підвішування тварин за хвіст» досліджувалась анксиолітична дія препаратів і їх комбінації [109, 110]. Для цього було взято 50 білих нелінійних щурів обох статей масою 170-230 г, отриманих з розплідника ДУ "Інститут фармакології та токсикології АМН України". Тривалість карантину (акліматизаційного періоду) для всіх тварин становила 14 днів. Протягом карантину проводили щоденний огляд кожної тварини (поведінка і загальний стан), двічі на день тварин спостерігали в клітках (захворюваність і смертність) [188]. Перед початком дослідження тварини, що відповідають критеріям включення в експеримент, були розподілені на групи за допомогою методу рандомізації, а ті, що не відповідають критеріям, були виключені з дослідження протягом карантину. Клітки з тваринами були розміщені в окремі кімнати. Світловий режим: 12:00 - світло, 12:00 - темрява. Температура повітря підтримувалася в межах 19-25°C, відносна вологість - 50-70 %. Температура і вологість повітря реєструвалися щодня. Був встановлений режим провітрювання, що забезпечує близько 15 об'ємів приміщення на годину. Тварини містилися в клітках (400 x 320 x 160 мм) по 6 голів у кожній. Раціон харчування - фуражне зерно, хліб, коренеплоди (буряк, морква) [89].

Саме застосування цього блиц-тесту можливо для з'ясування анкісіпрофіля препаратів і для визначення рівня тривожності [51, 66, 195].

Метод заснований на спостереженні, що тварини, при їх підвішуванні за хвіст, демонструватимуть відповідний період іммобільності, за тривалістю якого можна судити про рівень тривожності, страху і відчаю. Комбінація триптофану і тіотриазоліну вводили в дозі 250 мг/кг внутрішньошлунково у вигляді водного розчину за допомогою металевого зонду за 60 хв. до тестування. Цей шлях введення препарату забезпечує простоту введення і високу біодоступність, відповідає планованому в клінічній практиці введенню (пероральному) препарату у вигляді планованої лікарської форми – таблетках [129].

Після введення досліджуваних комбінацій, тварину витягували з клітки і тримали за хвіст біля тулуба у висячому положенні головою вниз. Реєструвався час, протягом якого тварина буде залишатися іммобільною (тобто до того моменту, поки морда тварини не досягне основи хвоста) [33, 91, 125, 187].

Таблиця 5.1

Вплив різних комбінацій L-триптофану і тіотриазоліну на тривалість іммобільності тварин в блиц-тесті «підвішування за хвіст»

| Групи (N=10) | Час, сек |
|---|----------------------|
| 1 | 2 |
| Контроль | 11,7±0,2 |
| комбінований препарат триптофан + тіотриазолін (1 : 1), 250 мг/кг | 14,8±0,3* +26,5% |
| комбінований препарат триптофан + тіотриазолін (2 : 1), 250 мг/кг | 15,5±0,3* +32,8% |
| комбінований препарат триптофан + тіотриазолін (4 : 1), 250 мг/кг | 17,5±0,2* +49,5% |
| комбінований препарат триптофан + тіотриазолін (5 : 1), 250 мг/кг | 16,7±0,2* +42,7,% |

| 1 | 2 |
|--|---------------------|
| комбінований препарат триптофан + тіотриазолін (7 : 1), 250 мг/кг | 15,1±0,2* +29,0% |

Примітка. * - $p < 0,05$ - відносно контролю

Результати проведених досліджень показали, що при введенні комбінації триптофану і тіотриазоліну (4 : 1) тварини довше перебували в іммобільному стані на 48,7% ($p < 0,05$) при проведенні експерименту, що можна розцінювати як зниження страху і тривожності (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Вплив досліджуваної комбінації, що складається з L-триптофану і тіотриазоліну (4 : 1) на тривалість іммобільності тварин в бліц-тесті «підвішування за хвіст»

| Груп (N=10) | Время, сек |
|---|------------------------|
| Контроль | 12,1±0,2 |
| комбінований препарат триптофан + тіотриазолін (4 : 1), 250 мг / кг | 18,0±0,2*,** +48,7% |
| Ноофен, 250 мг / кг | 16,4±0,3* +35,5% |
| триптофан, 250 мг / кг | 15,8±0,2* +30,5% |

Примітка. * - $p < 0,05$ - відносно контролю;

** - $p < 0,05$ - відносно Ноофену.

При введенні триптофану і Ноофену тривалість періоду іммобільності відзначалася менш вираженими змінами. Так, введення триптофану призводило до збільшення часу іммобільності на 30,5% в порівнянні з контролем ($p < 0,05$), а введення Ноофену призводило до збільшення часу іммобільності на 35,5% в порівнянні з контролем ($p < 0,05$).

Можна зробити висновок, що комбінований засіб, до складу якого входить

триптофан і тіотриазолін (4: 1) знижує рівень страху, відчаю і тривожності більш значно, ніж препарат порівняння - анксиолітик триптофан і анксиолітик і ноотроп Ноофен.

5.2 Вивчення ноотропних і стрес-протекторних властивостей нового комбінованого лікарського засобу L-триптофану з тіотриазоліном

Експерименти були проведені на 40 щурах - самцях масою 210-230 г у віці 6 місяців.

Хронічний іммобілізаційний стрес (ХІС) моделювали жорстокою двогодинною іммобілізацією на спині протягом 10 днів. У дослідженнях використані таблетки триптофану з тіотриазоліном (4: 1), отримані в лабораторних умовах. Як референс-препарат було використано таблетки Ноофен, які вводили в дозі 250 мг / кг перорально за допомогою металевого зонду на 0,5 мл води протягом 10 днів. На першу добу експерименту за 30 хвилин до стресування у тварин виробляли умовну реакцію пасивного уникнення (УРПУ) в двочовниковій камері. Через 10 діб, через 2 години після останнього стресування у щурів проводили тест «відкрите поле». Протягом 3 хвилин реєстрували кількість вертикальних, горизонтальних рухів, а також кількість заглядань в «норку», грумінг (акти) і кількість дефекацій. У ці ж терміни оцінювали збереження УРПУ по латентному періоду заходу в темний відсік двочовниковій камери. Потім тварини виводилися з експерименту під нембуталовим наркозом (40 мг / кг). Для біохімічних досліджень мозок промивали в охолодженому фізіологічному розчині КСІ (+5°C), потім гомогенізували в гомогенізаторі Поттера (1500 об / хв) протягом 3 хвилин в 5 об'ємах буфера, що містить 50 мМ Тріс-НСІ, 2 мМ ЕДТА і 2 мМ дитіотреїтолу (рН 7,4). Аліквоти цих гомогенатів центрифугували 10хвилин при 11 000 g [91, 190].

У супернатанті (5 мг/мл) визначали продукти окислювальної модифікації білка (ОМБ) за рівнем альдегідфенілгідрозонів (АФГ) і кетонфенілгідрозонів (КФГ) по реакції взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідрозом. Також визначали стабільні метаболіти NO за рівнем нітратів в реакції Грісса і активність NO-синтази (NOS). Активність NOS визначали за різницею між швидкістю окислення NADPH, реєструється

флуорометрично, в двох паралельних зразках, що не містить, так і містить інгібітор NOS-N-нітро-L-аргінін. Концентрацію білка оцінювали за методом Бредфорда. Ступінь окисної модифікації ДНК визначали по добовій екскреції 8-гідроксигуаніна (8-OHG) в сечі [59, 91, 127].

Результати проведених досліджень показали, що ХІС характеризується зміною рухової активності, що виражається в зниженні горизонтальної на 82,3%, вертикальної активності на 77%, пригніченням дослідницької активності (кількість заглядань) на 90%. А також підвищенням тривожності, про що свідчило зниження актів грумінгу на 43% і підвищення актів дефекації на 112,5% (табл. 5.3).

Також встановлено, що перенесений ХІС пригнічує когнітивно-мнестичні функції ЦНС, про що свідчило зменшення латентного періоду і зниження на 144% кількості навчених тварин. Введення щурам з ХІС таблеток триптофану з тіотриазоліном (4: 1) статистично достовірно по відношенню до контрольної групи тварин ($p < 0,05$) підвищувало орієнтовно-дослідницьку активність. Так, в цій групі тварин збільшилася кількість горизонтальних на 254%, вертикальних на 257% рухів, які свідчать про підвищення рухової активності. Під дією комбінованого препарату збільшилася кількість заглядань в «норку» в 5,75 рази.

Введення Ноофену поступалося досліджуваному препарату за ступенем впливу на досліджувані показники орієнтовно-дослідницької активності у тварин з ХІС. Також введення таблеток триптофану з тіотриазоліном (4:1) приводило до збільшення актів грумінгу на 57% і кількості дефекацій на 47%, що свідчило про зниження тривожності після стресу. Відтворення УРПУ, проведене через 10 діб щоденного стресування, показало, що у контрольних тварин порушено відтворення пам'ятного сліду, про що свідчило зменшення часу УРПУ на 79%. Майже всі щури цієї групи швидко заходили в темну «небезпечну» камеру. Введення тваринам таблеток триптофану з тіотриазоліном (4:1) послаблювало амнезію УРПУ, викликану ХІС, статистично достовірно збільшуючи латентний час рефлексу при відтворенні. Так, введення таблеток триптофану і тіотриазоліну (4:1) збільшувало латентний період УРПУ на 238%, а введення Ноофену на - 144%. Варто відзначити,

що введення таблеток триптофану і тіотриазоліну (4:1) достовірно збільшувало кількість навчених щурів в групі до 90%, а введення Ноофену до 60% (табл. 5.4).

Таблиця 5.3

Вплив комбінованого препарату L-триптофану з тіотриазоліном (4:1) на орієнтовно-дослідницьку активність тварин в умовах ХІС

| Серії тварин | Кількість горизонтальних рухів | Кількість вертикальних рухів | Кількість заглядань | Грумінг | Дефекація |
|--|-------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|
| Інтакtnі | 57,2±2,8 | 18,2±1,9 | 3,8±0,52 | 3,7±0,7 | 1,6±0,3 |
| ХІС (контроль) | 10,1±2,1 (-82,3%) | 4,2±0,31 (-77%) | 0,4±0,62 (-90%) | 2,1±0,4 (43,2%) | 3,4±0,4 (112,5%) |
| ХІС + комбінований препарат, 250 мг/кг | 35,8±3,2 ^{*,**} (+254%) | 15,0±1,4 [*] (+257%) | 2,7±0,25 ^{*,**} (+575%) | 3,3±0,7 [*] (+57%) | 1,8±0,3 ^{*,**} (-47%) |
| ХІС + Ноофен, 250 мг / кг | 28,2±2,3 [*] (+179%) | 13,2±1,6 [*] (+214%) | 1,2±0,18 [*] (+200%) | 3,0±0,4 [*] (+43%) | 2,5±0,3 [*] (-26%) |

Примітки. * - $P < 0,05$ по відношенню до контролю;

** - по відношенню до Ноофену.

Таблиця 5.4

Вплив комбінованого препарату триптофану з тіотриазоліном (4: 1) на збереження умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) у тварин в умовах ХІС

| Групи тварин | Латентний період в тесті УРПУ до навчання, сек. | Латентний період в тесті УРПУ через 24 години після навчання, сек. | Кількість навчених тварин, % |
|--------------|---|--|------------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 |
| Інтакtnі | 9,8±1,8 | 171,6±9,7 | 100 |

Продовж. табл. 5.4

| 1 | 2 | 3 | 4 |
|--|----------|---------------------------|--------|
| ХІС (контроль) | 7,2±0,82 | 36,1±3,1 (-79%) | 30 |
| ХІС + комбінований препарат, 250 мг / кг | 9,5±1,2 | 122,2±10,7*.** (+238%) | 90*.** |
| ХІС + Ноофен, 250 мг / кг | 6,8±0,81 | 88,2±6,7* (+144%) | 60* |

Примітки:* - $P < 0,05$ по відношенню до контролю;

** - по відношенню до Ноофену.

Моделювання ХІС протягом 10 діб призводило до розвитку оксидативного стресу в головному мозку експериментальних тварин, про що свідчило підвищення рівня маркерних продуктів окисної модифікації білка. Так, концентрація АФГ і КФГ в контрольній групі тварин на 120% і на 134% відповідно перевищувала такі показники інтактної групи. Введення таблеток триптофану з тіотриазоліном (4:1) достовірно ($p < 0,05$) знижувало концентрацію маркерів ОМБ - АФГ на 46%, КФГ на 36%. За ступенем зниження маркерів оксидативного стресу - АФГ і КФГ досліджуваних таблеток достовірно перевершували ефективність референс-препарату Ноофену. Окислювальна модифікація білків, на нашу думку, і думку інших авторів, призводить до зниження функції білків в ланцюгу переносників електронів, активності АТФази, вибіркової дії транспортних пор. Зміна Red/Оху-потенціалу мітохондріальної мембрани може відобразитися на дисфункції каскаду дихального ланцюга нейрональної клітини. Перераховані вище зміни в кінцевому підсумку призводять до порушення секреторної, інкреторної, транспортної функції нейрона і, як наслідок, до розвитку когнітивного дефіциту [40, 113].

Вплив комбінованого препарату триптофану з тіотриазоліном (4:1) на вміст продуктів окислювальної модифікації білка стабільних метаболітів NO і активність NO-синтази в головному мозку щурів і добову екскрецію 8-ОНГ в умовах ХІС

| Групи тварин | АФГ у. о./г білка | КФГ у. о./г білка | NO ₂ ⁻ мкм/г білка | NOS нмоль/мг/ хв | 8-ОНГ нмоль/доб |
|--|------------------------------|-------------------------|--|------------------------|------------------------------|
| Інтактні | 0,7±0,05 | 0,35±0,02 | 5,2±0,33 | 2,7±0,18 | 91,1±8,6 |
| ХІС (контроль) | 1,54±0,11 (+120%) | 0,82±0,05 (+134%) | 12,1±1,0 (+132%) | 7,3±0,44 (+170%) | 312,3±21,8 (+242%) |
| ХІС + комбіновани й препарат, 250 мг / кг | 0,82±0,052*, ** (-46%) | 0,52±0,02*,** (-36%) | 6,7±0,42*, ** (-44%) | 3,2±0,21*,** (-56%) | 161,4±11,7*, ** (-48%) |
| ХІС+Ноофен , 250 мг / кг | 1,16±0,105 * (-24%) | 0,71±0,03* (-13%) | 12,5±1,5 (+3%) | 6,2±0,32* (-15%) | 271,2±15,1 * (-13,2%) |

Примітки:* - P <0,05 по відношенню до контролю;

** - по відношенню до Ноофену.

На думку ряду дослідників, гіперпродукція NO і OH при деяких патологічних станах (ішемія, стрес, нейродегенеративні захворювання і т.д.) грає ключову роль в молекулярних механізмах окисного стресу і є пусковим механізмом у окислювальній деструкції ДНК клітини. Окислювальна модифікація ДНК призводить до утворення 8-гідроксигуаніна (8-ОНГ), який має виражену цито- і геномотоксичну дію, найважливішими наслідками якого є спотворення молекулярно-біологічних процесів в клітині-реплікації і транскрипції. З табл. 5.5 випливає, що ХІС супроводжується значним підвищенням концентрації 8-ОНГ (в 2,42 рази) в сечі щурів. Введення експериментальним тваринам таблеток триптофану і тіотриазоліну (4: 1) надавало протективну дію відносно нуклеїнових

кислот при оксидативному стресі, про що свідчило зниження добової екскреції 8-OHG на 48% ($p < 0,05$). Введення Ноофену призводило до зниження 8-OHG на 13,2% ($p < 0,05$) в сечі. Варто відзначити, що по даному тесту досліджувані таблетки достовірно перевершували ефект Ноофену, що свідчило про більш виражену антиоксидантну і генопротективну дії комбінованого препарату триптофану з тіотриазоліном [61].

Останнім часом з'явилися роботи, в яких переконливо доведена роль NO в патогенезі нейродеструктивних захворювань. Істотна роль в гіперпродукції NO належить індукційній NO-синтазі, яка експресується під дією факторів транскрипції - JunB; c-Fos; AP-1. Нашими дослідженнями було встановлено, що ХІС приводив до активації NO-синтази на 132% і гіперпродукції NO, про що свідчило підвищення на 170% в головному мозку щурів його стабільних метаболітів. Призначення експериментальним тваринам таблеток триптофану і тіотриазоліну (4: 1) приводило до зниження активності NO-синтази на 56% і гіперпродукції NO на 44%. Введення Ноофену не робило достовірного впливу на вміст нітритів і достовірно поступалося за ступенем впливу на активність NO-синтази (табл. 5.5).

Подібний ефект таблеток триптофану і тіотриазоліну (4: 1), вірогідно, є одним з ключових механізмів його нейропротективної дії, так як співвідношення внутрішньоклітинних концентрацій NO і АФК залежить від характеру дії цих сполук на процеси, пов'язані з регулюванням апоптозу в нейрональній клітині.

Таким чином, досліджуваний препарат - таблетки триптофану з тіотриазоліном (4: 1) мають виражені стреспротективні, ноотропні, анксиолітичні і антиоксидантні властивості, і за силою цих фармакологічних ефектів достовірно перевершує референс-препарат Ноофен.

5.3 Дослідження мікробіологічної чистоти таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном

Присутність деяких мікроорганізмів в нестерильних лікарських засобах може викликати зменшення або навіть інактивацію їх терапевтичної дії та,

внаслідок цього, негативно впливати на здоров'я пацієнтів. Саме тому треба забезпечити низький рівень біологічного забруднення готової дозованої форми шляхом виконання поточних директив належної виробничої практики (НВП, GMP) під час виробництва, пакування, зберігання, та розповсюдження лікарських засобів [96, 180].

Вивчення мікробіологічної чистоти нового препарату L-триптофану з тіотриазоліном (розробка кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ) проводили на базі мікробіологічної лабораторії кафедри мікробіології, вірусології та імунології ЗДМУ.

Дослідження мікробіологічної чистоти препарату проводили відповідно до вимог Другого видання Державної Фармакопеї України затвердженого наказом Міністерства охорони здоров'я України від 8 грудня 2015 року № 830 (ДФУ 2.0 введений в дію з 1 січня 2016 року) [42, 47].

Для проведення досліджень використовували зразки препарату, відібрані за умов, що забезпечували попередження стороннього мікробного забруднення. Вивчення мікробіологічної чистоти препарату проводили методом підрахунку колоній на чашках Петрі. Досліджуваний препарат у кількості 1 г розчиняли 1:10 у буферному розчині з хлоридом натрію та пептоном рН 7.0. Після чого 0,1 мл розведення висівали на поверхню живильного агару, розлитого у чашки Петрі. Для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) використовували соєво-казеїновий агар, для обчислення загального числа дріжджових та пліснявих грибів (ТҮМС) – агар Сабуро. У дослідженнях використовували по 2 чашки Петрі з кожним живильним середовищем. Посіви на соєво-казеїновому агарі інкубували в термостаті при $t = 35^{\circ}\text{C}$ впродовж 72 год., на агарі Сабуро – 120 год. при температурі 25°C .

При обліку результатів, для кожного живильного середовища обчислювали середнє арифметичне значення числа колоній, що вирости на паралельних чашках, визначали число КУО в грамі препарату. За загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) приймали число КУО/1 гр, виявлених при обліку результатів посівів на соєво-казеїновому агарі. Загальне число дріжджових та

плісневих грибів (ТУМС) дорівнювало числу КУО/1 гр препарату, виявлених при обліку результатів посівів на агарі Сабуро [42, 47].

Для визначення бактерій роду *Salmonella* 10 мл розведення 1:10 вносили у 100 мл буферного розчину з хлоридом натрію та пептоном рН 7.0, перемішували та інкубували при t 35°C 18 год. Для пересіву переносили 0,1 мл ростового розчину у 10 мл середовища накоплення сальмонел (магнієве) і витримували у термостаті продовж 18 год ($t = 35^\circ\text{C}$). Після чого проводили пересів на поверхню вісмут-сульфіт агару та інкубували у тому ж режимі.

Виявлення *Pseudomonas aeruginosa* проводили шляхом внесення 10 мл розведення препарату 1:10 у 100 мл буферного розчину з хлоридом натрію та пептоном рН 7.0. Суміш перемішували та інкубували при t 35°C 18 год. Після чого проводили висів на м'ясо-пептонний агар та термостатували впродовж 18 год. при t 35°C. За цією ж методикою проводили дослідження з метою виявлення *Escherichia coli*, проте замість м'ясо-пептонного агару використовували агар Ендо [42, 47].

Для визначення *Staphilococcus aureus* 10 мл розведення 1:10 вносили у 100 мл буферного розчину з хлоридом натрію та пептоном рН 7.0, перемішували та переносили у термостат. Наступного дня проводили висів на жовтково-сольовий агар та знов витримували у термостаті. Режим інкубації: t 35°C, тривалість 18 год.

Гриби роду *Candida*, а саме, *C. albicans* виділяли внесенням 10 мл розведення 1:10 у 100 мл бульйону Сабуро. Посіви інкубували при t 30°C впродовж 120 годин, після чого робили висів на поверхню агару Сабуро та знову витримували у термостаті при t 30°C протягом 48 год [42, 47].

Остаточний облік результатів проводили за наявністю/відсутністю росту характерних колоній *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella* spp.

Критерії прийнятності мікробіологічної чистоти для неводних лікарських засобів для орального застосування (ДФУ, 5.1.4) [42, 47]:

- загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) $\leq 10^3$ КУО/г.
- загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) $\leq 10^2$ КУО/г.
- Відсутність *Escherichia coli* в 1 г.

У ході вивчення мікробіологічної чистоти препарату були отримані наступні результати:

- ТАМС 200 КУО в 1 г.
- ТУМС 20 КУО в 1 г.
- *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp.

в 1 г зразка не виявлені, що повністю задовільняє всі вимоги ДФУ [42, 47].

З результатів дослідження мікробіологічної чистоти можна зробити висновок, що таблетки нового лікарського засобу L-триптофану з тіотриазоліном є біологічно чистою дозованою формою.

Результати дослідження впроваджені в науково-педагогічну діяльність кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровської медичної академії» (Додаток Е), ДП «Державна науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (Додаток Л).

Висновки до розділу 5

1. Обґрунтовано доцільність створення нового комбінованого препарату, до складу якого входять активні фармацевтичні інгредієнти, такі як триптофан і тіотриазолін.

2. Фармакологічними дослідженнями встановлено оптимальне співвідношення триптофану і тіотриазоліну (4:1) серед п'яти різних комбінацій цих активних фармацевтичних інгредієнтів (1:1, 2:1, 4:1, 5:1, 7:1), яке проявляє максимально ефективну анксиолітичну активність.

3. Бліц-тестом «Підвішування тварин за хвіст» встановлено, що анксиолітичний ефект комбінації триптофану і тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 достовірно перевершує дію референс-препарату Ноофен.

4. Таблетки триптофану з тіотриазоліном (4:1) мають виражену стрес-протективну, ноотропну активність, і за силою дії достовірно перевершують референс-препарат Ноофен. Це встановлено за допомогою дослідження впливу діючих речовин на збереження умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) у тварин в умовах хронічного іммобілізованого стресу.

5. Дослідження впливу комбінованого препарату триптофану з тіотриазоліном (4:1) на вміст продуктів окислювальної модифікації білка стабільних метаболітів NO і активність NO-синтази в головному мозку щурів і добову екскрецію 8-OHГ в умовах ХІС довело, що препарат володіє більш вираженим нейропротективними властивостями в порівнянні з референс-препаратом Ноофеном.

6. Були проведені дослідження мікробіологічної чистоти нового комбінованого препарату триптофану з тіотриазоліном, які довели його мікробіологічну чистоту.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Изучение ноотропных и стресс-протекторных свойств нового комбинированного лекарственного средства L-триптофана с тиотриазолином (Сообщение 2) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2017. Т. 20, № 6. С. 558–567. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

2. Изучение фармакологических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином. Установление оптимального соотношения действующих веществ и изучение анксиолитических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином (Сообщение 1) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2016. Т. 19, № 6. С. 696–703. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

3. Кучеренко Л. И., Беленичев И. Ф., Борсук С. О. Фармакологічні аспекти створення нового лікарського засобу нейропсихотропної дії на основі L-триптофану та тіотриазоліну. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI науково-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 листоп. 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 314.

4. Кучеренко Л. И., Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Борсук С. О. Дослідження анксиолітичної активності нового комбінованого лікарського засобу триптофану з

тіотриазоліном. *Сучасні перспективи розвитку науки* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (15-16 вересня 2017 р.). Київ : МЦНД, 2017. С. 31.

5. Кучеренко Л. И., Беленичев И. Ф., Мазур И. А., Борсук С. А. Изучение анксиолитической активности нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином. *V національний з'їзд фармакологів України* : тези доповідей (18-20 жовтня 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 77-78.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та практичне вирішення наукової задачі, що полягає у розробці складу, технології та методик стандартизації нового лікарського засобу, до складу якого входить нейротрансмітерна амінокислота – L-триптофан та антиоксидант – тіотриазолін, який у свою чергу зменшує дію побічних ефектів L-триптофану тим самим значно розширює сферу застосувань препарату в клініці.

1. Проведено аналіз даних наукової літератури щодо сучасного стану медичного застосування L-триптофану та тіотриазоліну і їх комбінацій з іншими лікарськими засобами. Проведено аналіз стану сучасного фармацевтичного ринку ноотропних та анксиолітичних препаратів. Обґрунтовано актуальність та перспективи створення і стандартизації нового препарату з L-триптофаном та тіотриазоліном у вигляді таблеток до складу якого входить L-триптофан та тіотриазолін.

2. Вперше проведено комплекс досліджень з метою обґрунтування оптимального складу діючих речовин, які введені до комбінованої лікарської форми – таблеток з L-триптофаном та тіотриазоліном. Встановлено, що оптимальними дозами для активних фармацевтичних інгредієнтів є L-триптофану – 200 мг та тіотриазоліну 50 мг.

3. В ході експериментальних досліджень вперше розроблено склад таблетованої лікарської форми на основі L-триптофану та тіотриазоліну:

– при проведенні фізико-хімічних, фармако-технологічних та морфометричних досліджень субстанцій L-триптофану та тіотриазоліну, встановлено розміри часток порошку L-триптофану та тіотриазоліну, що дозволяє спрогнозувати можливість отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції;

– для створення нового комбінованого таблетованого лікарського засобу, що містить L-триптофану та тіотриазолін методом вологої грануляції досліджено 16 допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, зв'язуючі розчини, солубілізатори).

Встановлено, що оптимальними допоміжними речовинами, які забезпечують всі фармако-технологічні вимоги, які висуваються до таблеткованої лікарської форми згідно вимог ДФУ (суміш МКЦ 101 + крохмаль картопляний + магній карбонат основний, натрій крохмальгліколят, 5 % розчин ГПМЦ 5, аеросил, кальція стеарат);

– розроблено склад та технологію отримання таблеток, вкритих плівковою оболонкою, L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Результати дослідження впроваджені в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика МОЗ України, кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського;

– розроблено технологічну схему виробництва таблеток, вкритих плівковою оболонкою, з L-триптофаном та тіотриазоліном, яку апробовано на базі ДП «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції» (акт впровадження від 03.09.2018 р.)

4. Для створених комбінованих таблеток L-триптофану з тіотриазоліном вперше розроблені оптимальні відтворювані методики їх стандартизації:

– розроблено методику для якісного та кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші: L-триптофану та тіотриазоліну методом ВЕРХ;

– розроблено методики стандартизації діючих речовин в таблетковій масі, які в подальшому плануються до застосування під час постадійного контролю серійного виробництва таблеток;

– розроблено методику ВЕРХ для стандартизації (ідентифікація, кількісне визначення) діючих речовин в таблетках з L-триптофаном та тіотриазоліном, при цьому встановлено, що запропонована методика ВЕРХ є відтворюваною. Проведені експериментальні дослідження основних показників якості розроблених таблеток L-триптофану з тіотриазоліном згідно з вимогами ДФУ. Розроблено методику визначення тесту «розчинення» методом високоефективної рідинної хроматографії;

– за результатами проведених досліджень розроблено специфікацію та проект МКЯ на таблетки з L-триптофаном та тіотриазоліном;

– проведено валідацію методики кількісного визначення діючих речовин у таблетках L-триптофану з тіотриазоліном за параметрами, які регламентує ДФУ: специфічність, лінійність, діапазон застосування, правильність та прецизійність (збіжність);

– вивчена стабільність таблеток L-триптофану з тіотриазоліном у процесі зберігання та визначено термін і умови їх зберігання – 2 роки за температури (15 - 25) С° і відносній вологості (60±5) %, дослідження тривають.

5. Ефективність фармацевтичної розробки підтверджено результатами фармакологічних досліджень: встановлено, що таблетки L-триптофану з тіотриазоліном (4:1) мають виражену анксиолітичну, стрес-протективну та ноотропну властивості, і за силою дії достовірно перевершують референс-препарат Ноофен.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Абдуллах А. Ж. Изучение влияния температурного фактора на структурно-механические свойства суппозиторий с каптоприлом / А. Ж. Абдуллах, Б. Бурлака, С. Гладышева, Д. Романина // *Актуальні питання фармацевтично медичної науки та практики*. - 2012. – с. 72–75.
2. Актуальність створення нового таблеткованого комбінованого нейропсихотропного лікарського засобу / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, І. Ф. Бєленічев, С. О. Борсук. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня 2016 р) : у 2 т. Т. 1. Харків : НФаУ, 2016. С. 373.
3. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств : в 3-х т. Т. 1. / под ред. В. П. Георгиевского. Харьков : НТМТ, 2011. 464 с.
4. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств : в 3-х т. Т. 2. / под ред. В. П. Георгиевского. Харьков : НТМТ, 2011. 474 с.
5. Антиоксидантная система защиты / І. Ф. Бєленічев, Ю. І. Губська, Є. Л. Левицький та ін. *Совр. пробл. токсикологии*. 2002. № 3. С. 24–31.
6. Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Н. А. Горчакова та ін. *Укр. мед. часопис*. 2014. № 1. С. 22–28.
7. Арзамасцев А. П., Садчикова Н. П., Лутцева Т. Ю. Оценка высвобождения лекарственных веществ из твердых дозированных лекарственных форм в испытаниях in vitro. *Фармация*. 2004. № 4. С. 6-9.
8. Арзамасцев А. П., Садчикова Н. П., Лутцева Т. Ю. Сравнительная оценка уровня требований к испытанию «Растворение». *Хим.-фармац. журн.* 2003. Т. 37, № 1. С. 39-45.
9. Арзамасцев А. П., Садчикова Н. П., Харитонов Ю. Я. Валидация аналитических методов. *Фармация*. 2006. № 4. С. 8-12.

10. Арзамесцев А. П. Стандартные образцы для фармакопейного анализа *Вопр. биол., мед. и фармац. химии*. 2010. № 5. С. 6-10.
11. Белошапка В. А., Загорий Г. В., Усенко В. А. Стратегическое управление и маркетинг в практике фармацевтических фирм : учеб. пособие / под ред. В. А. Белошапки. Киев : РИА Триумф, 2001. 368 с.
12. Березкін В. Г. Про внесок Ізмайлова Н.А. та Шрайбера М.С. у розвиток тонкошарової хроматографії. *Журн. аналіт. хімії*. 2008. Т. 63, № 4. С. 438–443.
13. Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток "Ангіолін" методом вологої грануляції. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, 13-16 вересня 2016 р. Харків : НФаУ, 2016. Т. 1. С. 323.
14. Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. Стратегія створення фіксованих комбінацій з тіотриазоліном. *Теоретичні та практичні підходи до вирішення сучасних питань фармацевтичної та медичної науки* : матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів, 18 квіт. 2013 р. Луганськ, 2013. С. 146.
15. Бобрицкая Л. А., Дмитриевский Д. И., Гончаров Н. И. Перспективы использования различных видов лактозы в технологии твердых лекарственных форм. *Сьогодення та майбутнє фармації* : тези доп. Всеукр. конгресу (16-19 квіт. 2008 р., м. Харків). Харків, 2008. С. 246.
16. Бобрицька Л. О. Значення пластичної міцності в технології вологої грануляції. *Зб. наук. праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2012. Т. 21 № 3. С. 531–536.
17. Борсук С. А., Сорокопуд Л. Ю. Выбор оптимальных вспомогательных веществ с целью создания таблеток L-триптофана и тиотриазолина методом влажной грануляции. *Медицинская наука : новые возможности* : материалы XIII науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали абни Сино с междунар. участием (27 апреля, 2018). Душамбе, 2018. Т. 2. С. 12.
18. Борсук С. О. Обґрунтування вибору лікарської форми нового комбінованого нейропсихотропного препарату. *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2017* : тези доповідей. Запоріжжя, 2017. С. 142.

19. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна фармакопея України / Держ. п-во “Науково-експертний фармакопейний центр”. 1-е вид. 2 допов. Харків : Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр», 2008. С. 85-100.
20. Ветютнева Н. О., Буднікова Т. М., Пилипчук Л. Б. Методи управління якістю у фармацевтичному секторі. *Зб. наук. праць НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2011. Вип. 20(2). С. 708-716.
21. Ветютнева Н. О., Шукаєва О. П. Актуальные вопросы обеспечения качества биологических лекарственных средств. *Актуальные вопросы медицины : тез. докл. II Междунар. науч.-практ. конф., г. Баку, Азербайджан. Баку, 2013. С. 121-122.*
22. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна. *Фармац. часопис*. 2017. № 3. С. 31-38.
23. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, О. С. Бідненко та ін. *Фармац. часопис*. 2016. № 2. С. 16-22.
24. Використання математичного планування експерименту при створенні лікарських засобів / Т. А. Грошовий, Н. М. Белей, М. М. Васенда та ін. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 1-ї Міжнар. наук.-практ. конф. Тернопіль, 2006. С. 50–51.
25. Використання методів апріорного ранжування факторів при проведенні маркетингових досліджень / Т. А. Грошовий, М. Б. Павлюк, О. В. Тригубчак та ін. *Економічна освіта та наука: досвід та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. Харків : Вид-во НФаУ, 2007. С. 311–313.
26. Влияние эмоционального напряжения на психофизиологические показатели и содержание половых гормонов у девушек / Ю. А. Васильева, А. П. Кузнецов, Л. Н. Смелышева и др. *Биология и экология*. 2016. № 4. С. 7-16.
27. Волошин Н. А., Визир В. А., Волошина И. Н. Тиотриазолин, тиоцетам, тиодарон в практике врача. Запорожье : ЗДМУ, 2008. 224 с.

28. Воробьева О. В., Рябокони И. В. Стресс и антистрессовая терапия. *Лечащий врач*. 2011. Т. 5. С. 85–90.
29. Выполнение тестов «Однородность содержания» и «Растворение» хроматографическими методами при серийном контроле качества лекарственных средств / А. И. Гризодуб, Д. А. Леонтьев, М. Г. Левин и др. *Журн. органічної та фармацевтичної хімії*. 2004. Т. 2, вип. 1(5). С. 24-34 ; 2005. Т. 3, вип. 1(9). С. 60-64.
30. Георгиевский Г. В. Биологическая активность производных 1,2,4-триазола. *Фармаком*. 2006. № 3. С. 27–31.
31. Георгиевский Г. В. Разработка комплекса физико-химических методик, обеспечивающих создание и контроль качества оригинальных отечественных препаратов, производных 1,2,4-триазола. *Запорож. мед. журн.* 2011. Т. 13, № 1. С. 58-69.
32. Георгиевский Г. В. Стабильность и установление сроков годности лекарственных средств. *Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств* : в 3 т. Т. 3. / под ред. чл.-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. Харьков : НТМТ, 2011. С. 1220-1262.
33. Геруш І. В. Розподіл тіотриазоліну у тканинах організму щурів. *Фармакологія 2001 - крок в майбутнє* : тези доп. ІІ Нац. з'їзду фармакологів України. Дніпропетровськ, 2001. С. 53–54.
34. Горчакова Н. А., Олейник С. А., Гаркавая Е. Г. Антиоксидантные средства, необходимые компоненты комплексной фармакотерапии. *Фитотерапия в Украине*. 2000. № 1. С. 7-12.
35. Гризодуб А. И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. *Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств* : в 3 т. Т. 3. / под ред. чл.-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. Харьков : НТМТ, 2011. С. 934-1063.
36. Гризодуб А. И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. Харьков : Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств, 2016. 396 с.

37. Гризодуб А. И., Леонтьев Д. А., Денисенко Н. В. Стандартизованная процедура валидации методик количественного анализа лекарственных средств методом стандарта. *Фармаком.* 2004. № 3. С. 3–17.
38. Гризодуб А. И., Леонтьев Д. А., Дмитриева М. В. Обеспечение фармакопейных требований к растворению твердых дозированных форм с традиционным высвобождением. *Фармаком.* 2006. № 4. С. 39-50.
39. Гризодуб А. И., Леонтьев Д. А., Левин М. Г. Метрологические аспекты официальных методик контроля качества лекарственных средств. 1. Методики ВЭЖХ. *Фізіологічно активні речовини.* 2001. № 1 (31). С. 32-44.
40. Губский Ю. И., Беленичев И. Ф., Левицкий Е. Л. Токсикологические последствия окислительной модификации белка. *Совр. пробл. токсикологии.* 2005. № 3. С. 4-20.
41. Демчук М. Б., Грошовий Т. А. Оптимізація складу й технології таблеток фамотидину з тіотриазоліном. *Запорозж. мед. журн.* 2010. Т. 12, № 5. С. 218–220.
42. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Харків : РІРЕГ, 2001. 556 с.
43. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 1 допов. Харків : РІРЕГ, 2004. 520 с.
44. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 2 допов. Харків, 2008. 620 с.
45. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид. Доповнення 3. Харків, 2009. 280 с.
46. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид., 4 допов. – Харків, 2001. – 540 с.
47. Державна Фармакопея України : в 3 т. Т. 1 / Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. 1126 с.

48. Державна Фармакопея України : в 3 т. Т. 2 / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. 724 с.
49. Державна Фармакопея України : в 3 т. Т. 3 / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. 723 с.
50. Дмитриева М. В., Леонтьев Д. А. Анализ критических факторов и стандартизация испытаний на растворении в соответствии с требованиями Дополнение 2 ГФУ. *Запорож. мед. журн.* 2008. №4(49). С. 103-107.
51. Доклинические исследования лекарственных средств : метод. рекомендации / под ред. А. В. Стефанова. – Киев : Авиценна, 2002. 568 с.
52. Допоміжні речовини в технології ліків : вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність / за ред. І. М. Перцева. Харків : Золоті сторінки, 2010. 600 с.
53. Досвід створення комбінованих препаратів на основі Тіотриазоліну / М. Б. Демчук, О. В. Тригубчак, М. М. Васенда та ін. *Фармація України. Погляд у майбутнє* : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України (м. Харків, 15-17 вер. 2010 р.). Харків, 2010. Т. 1. С. 469.
54. Дослідження пероксидної оксидації ліпідів та антиоксидантного захисту організму в клінічній практиці: метод. рекомендації / Б. В. Качоровський, В. Л. Новак, В. П. Руденко та ін. Львів, 2002. 20 с.
55. Доцільність створення комбінованих лікарських засобів, що містять тіотриазолін / Т. А. Грошовий, І. А. Мазур, В. П. Марценюк та ін. *Технологія та стандартизація таблеткованих біологічно активних добавок* : зб. матеріалів конф. «Здобутки клінічної і експериментальної медицини». Тернопіль, 2008. С. 111.
56. Евтифеева О. А., Георгианц В. А. Стандартизованная процедура валидации методик количественного определения экстенпоральных лекарственных средств в условиях аптек и лабораторий по контролю качества. *Фармаком.* 2007. № 1. С. 69-81.

57. Егощина Ю. А., Поцелуева Л. А., Галлиуллина Т. Н. Современные вспомогательные вещества в таблеточном производстве : учеб.-метод. пособие. Казань, 2003. 15 с.

58. Емшанова С. В. Методологические подходы к выбору вспомогательных веществ для получения таблетированных препаратов методом прямого прессования. *Хим.-фармац. журн.* 2008. Т. 42, № 2. С. 38–43.

59. Зупанець І. А., Москаленко В. Ф., Місюрова С. В. Клінічні лабораторні методи дослідження. Харків : НФАУ, 2001. 177 с.

60. Изучение анксиолитической активности нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук *V національний з'їзд фармакологів України* : тези доповідей (18-20 жовтня 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 77-78.

61. Изучение ноотропных и стресс-протекторных свойств нового комбинированного лекарственного средства L-триптофана с тиотриазолином (Сообщение 2) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2017. Т. 20, № 6. С. 558–567.

62. Изучение фармакологических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином. Установление оптимального соотношения действующих веществ и изучение анксиолитических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином (Сообщение 1) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2016. Т. 19, № 6. С. 696–703.

63. Казаринов М. О., Штейнгарт М. В., Грошовий Т. А. Проблеми і сучасний стан виробництва таблетованих лікарських засобів. *Фармац. журн.* 1994. № 4. С. 64–67.

64. Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна. *Фармац. часопис.* 2018. № 2(46). С. 54-58.

65. Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, С. О. Борсук та ін. *Науково-технічний прогрес і*

оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів : тези доп. VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль, 2018. С. 77-78.

66. Клинические испытания лекарств / под ред. В. И. Мальцева, Т. Е. Ефимцевой, Ю. Б. Белоусова, В. Н. Коваленко. Киев : Морин, 2002. 352 с.

67. Клиническое применение тиотриазолина в терапии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман и др. *Сучасна гастроентерологія*. 2005. № 6(26). С. 77-81.

68. Коваленко В. Н. Компендиум. Лекарственные препараты. Киев : Морион, 2013. 2320 с.

69. Крыжановский Г. Н. Патологические доминанта и детерминанта в патогенезе нервных и психических расстройств. *Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова*. 2002. Т. 102, № 3. С. 4-8.

70. Кукушкин М. Л. Неврогенная (невропатическая) боль. *Міжнар. неврол. журн.* 2007. № 2. С. 141-145.

71. Кучеренко Л. И. О постадийном контроле таблеток L-триптофана с тиотриазолином / Кучеренко Л. И., Мазур И. А., Борсук С. О. [и др.]. *Рецепт*. 2018. Т. 21, № 4. С. 508–515.

72. Кучеренко Л. И., Нищенко А. Р., Портная Е. А. Разработка методов контроля качества смеси карбамазепина и тиотриазолина. *Рецепт*. 2016. Т. 19, № 6. С. 683-689.

73. Кучеренко Л. И. Визначення основних параметрів доброякісності препарату МТ. *Запорж. мед. журн.* 2009. Т. 11, № 3. С. 96-99.

74. Кучеренко Л. И., Беленічев І. Ф., Борсук С.О. Фармакологічні аспекти створення нового лікарського засобу нейропсихотропної дії на основі L-триптофану та тіотриазоліну. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: матеріали VI науково-практ. Конф. з між нар. участю. Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 314.

75. Кучеренко Л. И., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір оптимальних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення*

лікарських препаратів різної направленості дії : тези доп. III Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. Харків : НФаУ, 2017. С. 122.

76. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *V Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих вчених «ВІМСО»*. 2018. С. 417.

77. Кучеренко Л. І., Groшовий Т. А. Оптимізація складу таблеток тіотриазоліну. *Вісник фармації*. 2001. № 3 (27). С. 54.

78. Кучеренко Л. І., Groшовий Т. А., Калинюк Т. Г. Вивчення впливу кількісних факторів на властивості таблеток тіотриазоліну, які одержані прямим пресуванням. *Фармаком*. 2003. № 2. С. 81–84.

79. Кучеренко Л. І., Groшовий Т. А., Калинюк Т. Г. Вивчення впливу кількісних фармацевтичних факторів на властивості таблеток «Тіотриазолін». *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики* : зб. наук. ст. Запоріжжя, 2002. Вип. 8. С. 87–93.

80. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Дослідження анксиолітичної активності нового комбінованого лікарського засобу триптофану з тіотриазоліном. *Сучасні перспективи розвитку науки* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (15-16 вересня 2017 р.). Київ : МЦНД, 2017. С. 31.

81. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Фармац. часопис*. 2017. № 4. С. 22-29.

82. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80-річчю з дня народження д. ф. н. проф. О. М. Гайдукевича. (12-13 квітня 2018 р.). Харків : НФаУ, 2018. С. 167-168.

83. Кучеренко Л. І., Німенко Г. Р., Беленічев І. Ф. Доцільність комбінації протисудомних препаратів з лікарськими засобами які проявляють виражену

антиоксидантну дію. *Ліки - людині* : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, 08 квіт. 2016 р. Харків, 2016. С. 108–109.

84. Кучеренко Л. І., Німенко Г. Р., Моряк З. Б. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток на основі карбамазепіну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Повідомлення 2. *Фармац. часопис*. 2017. № 3. С. 39–46.

85. Кучеренко Л. І., Німенко Г. Р., Портна О. О. Розробка специфікації на таблетки під умовною назвою «Карбатрил». *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2017. № 2. С. 162-167.

86. Кучеренко Л. І., Т. А., Грошовий Г. В. Георгієвський Вивчення впливу допоміжних речовин на властивості таблеток тіотриазоліну. *Науч. направления в создании лек. средств в фармац. секторе Украины* : сб. тезисов. Харьков, 2000. С. 84–85.

87. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Фармац. часопис*. 2013. № 4 (29). С. 83-87.

88. Кучеренко, Л. І., Німенко Г. Р., Моряк З. Б. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток на основі карбамазепіну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Повідомлення 1. *Фармац. часопис*. 2017. № 2. С. 52–58.

89. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е. А. Захария, Западнюк Б. В.. Киев : Вища школа, 1983. С. 383.

90. Лапач С. Н., Губенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. Кив : МОРИОН, 2002. 640 с.

91. Лебедев И. В., Плескачева М. Г., Анохин К. В. Анализ поведения мышей линии C57BL/6 в аренах открытого поля разных размеров. *Журн. высшей нервной деятельности*. 2012. № 62 (4). С. 485-496.

92. Леонтьев Д. А. Валидация аналитических методик и испытаний. Система Фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины. *Фармаком*. 2002. № 1. С. 36-43.

93. Леонтьев Д. А. Вопросы создания системы фармацевтических стандартных образцов в Украине. *Вісник фармації*. 2001. № 3 (27). С. 75.
94. Леонтьев Д. А., Подпружников Ю. В., Воловик Н. В. Роль стандартных образцов в обеспечении качества лекарственных средств : регуляторные и метрологические аспекты. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016. № 3 (16). С. 180-189.
95. Леонтьев Д. Д., Леонтьев Д. А., Гризодуб А. И. Аттестация стандартных образцов с использованием стандартизации свойств хроматографическими методами. *Аналитична хімія у фармації* : матеріали Міжнар. наук.-практ.інтернет-конф. (Харків, 19-20 березня 2015 року). Харків : Вид-во НФаУ, 2015. С. 45-47.
96. Леонтьев Д. А., Гризодуб О. І., Чікалова С. О., Підпружников Ю. В. Використання фармацевтичних стандартних зразків відповідно до вимог GMP. *Ліки та життя* : II Міжнар. мед.-фармац. конгрес : тези доп. (15-18 лютого 2005 р., м. Київ). Київ, 2005. С. 140.
97. Лікарські засоби. Випробування стабільності : настанова 42-3.3:2004. – Київ : МОРИОН, 2004. 60 с.
98. Луцкевич Д. Д., Мороз А. С., Рибальська О. В. Хроматографія. *Аналитична хімія*. Київ : Здоров'я, 2003. С. 278–285.
99. Мазур И. А., Беленичев И. Ф., Кучеренко Л. И. Необходимость и пути создания лекарственных средств на основе фиксированных комбинаций. *Фармація України. Погляд у майбутнє* : матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України. (Харків, 15-17 вер. 2010 р.). Харків, 2010. Т. 1. С. 514.
100. Мазур И. А., Волошин Н. А., Чекман И. С. Тиотриазолин / И. А. Мазур. – Запорожье ; Львов : Наутилус, 2005. 156 с.
101. Малахова І. І., Красіков В. Д. Сучасна високоефективна тонкошарова хроматографія. *Лабораторний журнал*. 2002. № 1 (1). С. 15–19.
102. Машковский М. Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. М. : Новая волна : Издатель Умеренков, 2012. 1216 с.
103. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев и др. Запорожье, 2007. 304 с.

104. Механізм енерготропної та антиоксидантної дії тіотриазоліну / І. Ф. Беленічев, І. А. Мазур, М. А. Волошин та ін. *Клиническая фармакология*. 2008. № 13-14. С.10-12.
105. Механізм протиішемічної та антиоксидантної дії тіотриазоліну / І. Ф. Беленічев, І. А. Мазур, М. А. Волошин та ін. *Новости медицины и фармации*. 2007. № 2. С. 8-9.
106. Мешковский А. П. Испытания стабильности и установление сроков годности лекарственных препаратов. *Аптека*. 2000. № 16. URL : <http://www.apтека.ua/article/10658> (дата обращения: 06.07.2018). Название с экрана.
107. Молекулярный механизм энерготропного и антиоксидантного действия тиотриазолина / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, И. С. Чекман, Н. А. Волошин. *Ліки*. 2006. № 3-4. С. 12–16.
108. Мострянская Н. М., Лимарева Е. В., Котова Э. Э. Особенности разработки документируемых процедур системы качества при производстве фармакопейных стандартных образцов. *Вестн. Перм. гос. фармацев. акад.* 2013. № 11. С. 109-111.
109. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності : Настанова 42-7.1:2005). Київ : Моріон, 2005. 22 с.
110. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності : (СТ-Н МОЗУ 42-7.1:2014). Київ : Моріон, 2014. 62 с.
111. Настанови з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності Настанова 42-3.3:2004. Київ : МОЗ України, 2004. 59 с.
112. Неврозы и стресс / Ю. А. Фесенко, Л. П. Чурилов, В. А. Худик и др. СПб: Фолиант, 2018.
113. Нейропротекция и нейропластичность : монография / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная и др. Киев : Логос, 2015. 512 с.
114. Об общей фармакопейной статье «Растворение» / В. Л. Багирова, Л. Н. Вздорова, Л. К. Граковская и др. *Хим.-фармац. журн.* 2001. Т. 35, № 4. С. 39-41.

115. Оптимізація технологічних процесів створення лікарських засобів за допомогою математичного планування експерименту / Т. А. Грошовий, Н. М. Белей, Л. І. Кучеренко та ін. *Фармац. часопис*. 2007. № 1 (4). С. 21–29.

116. Оценка фармакодинамических эффектов тиотриазолина при гиперлипидемии / В. В. Дунаев, И. М. Белей, И. А. Мазур и др. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики* : зб. наук. ст. Запоріжжя, 2002. Вип. 8. С. 70–73.

117. Пат. 112513, Україна, МПК (2016.01) А61К 9/00 А61К 31/00 А61К 31/405 (2006.01) А61К 31/41 (2006.01) А61Р 25/00 А61Р 25/28 (2006.01). Комбінований лікарський засіб анксиолітичної стрес-протективної, ноотропної і антиоксидантної дії / Л. І. Кучеренко, С. О. Борсук, І. Ф. Беленічев та ін. № а 201604961; заявл. 04.05.2016; 12.09.2016, бюл. № 17.

118. Пат. 1988 Україна, МПК С07D 413/12 (2006.01). Морфоліній 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетат, який має гепатозахисну, ранозагоюючу та противірусну активність / І. А. Мазур, Є. Г. Книш, В. Р. Стець та ін. № 4167912/SU; заявл. 30.11.1993; опубл. 20.12.94, Бюл. № 4/1994.

119. Пат. 2625754, Росія, МПК (2016), А61К 31/405 (2006.01) А61К 31/4196 (2006.01) А61К 31/5377 (2006.01) А61Р 25/00 (2006.01). Комбіноване лікарське засіб анксиолітичного, стрес-протективного, ноотропного і антиоксидантного дії / Л. І. Кучеренко, С. А. Борсук, І. Ф. Беленічев та др. № 2016123907; заявл. 15.06.2016; опубл. 18.07.17, Бюл. № 20.

120. Пахомов В. П. Хроматографія у хіміко-фармацевтичних дослідженнях. *Хім.-фармац. журн.* 2003 Т. 37, № 8. С. 55-56.

121. Перспективи створення високоефективних лікарських засобів на основі комбінацій з антиоксидантами / І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, Т. А. Грошовий та ін. *Актуальні проблеми синтезу і створення нових біологічно-активних сполук та фармацевтичних препаратів* : тези доп. Нац. наук.-техн. конф. з міжнар. участю, м. Львів, 15-18 жовт. 2008 р. Львів, 2008. С. 174.

122. Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тиотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, С. О. Борсук, І.

А. Мазур та ін. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2018. Т. 11, № 2(27). С. 142-147.

123. Підбір оптимальних умов аналізу штучної суміші ізоніазиду та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, З. Б. Моряк, Г. І. Ткаченко. *Запорозж. мед. журн.* 2014. № 2. С. 118-120.

124. Планування експерименту та аналіз експериментальних даних при проведенні наукових досліджень у фармації / Грошовий Т. А., Марценюк В. П., Вронська Л. В. та ін. *Сьогодення та майбутнє фармації* : тези доп. Всеукр. конгресу, 16-19 квіт. 2008 р., м. Харків. Х., 2008. С. 521.

125. Плескачева М. Г. Методы оценки начальной ориентации и поведения на старте у мелких млекопитающих при ближнем хоминге / М. Г. Плескачева, О. С. Лучкина, П. А. Купцов и др. *Труды Звенигородской биологической станции имени С.Н. Скадовского*. Москва : Изд-во Московского университета, 2011. Т 5. С. 232-238.

126. Подбор оптимальных условий анализа смеси изониазида и тиотриазолина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии Международная научная конференция / Л. И. Кучеренко, О. В. Хромылева, В. В. Ващенко, З. Б. Моряк. *Современная фармацевтика: потенциал роста в долгосрочной перспективе* : материалы междунар. науч. конф., г. Киров, 26-27 нояб. 2013 г. Киров, 2013. С. 15-21.

127. Посібник з клінічної лабораторної діагностики / под ред. проф. В. Г. Денисюка. Київ : Здоров'я, 1992. 290 с.

128. Про лікарські засоби : Закон України від 04.04.1996 р. № 123/96-ВР. URL: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/123/96-%D0%B2%D1%80>. (дата звернення: 06.05.2018). Назва з екрану.

129. Проведення порівняльних досліджень *in vitro* для підтвердження еквівалентності лікарських засобів у твердій дозованій формі системної дії : метод. рек. К. : Моріон, 2007. 41 с.

130. Разработка лекарственных средств на основе фиксированных комбинаций с антиоксидантами - перспективное направление современной

фармакологии / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев и др. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2011. № 5. С. 199–200.

131. Руководства по качеству. Лекарственные средства. Вспомогательные вещества : руководство 42-3.6:2004. Киев, 2004. 12 с.

132. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / В. Л. Багирова, А. И. Гризодуб, Т. Х. Чибиляев и др. ; под ред. Н. В. Юргеля. М. : Фарм. пром., 2007. 58 с.

133. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / под ред. Н. В. Юргеля, А. Л. Младенцева, А. В. Бурдейна, М. А. Гетьмана. М., 2007. 46 с.

134. Савченкова Л. В., Фидатов Д. А., Белоусова И. П. Клиническая фармакология тиотриазолина (обзор литературы). *Укр. мед. альманах*. 2008. Т. 11, № 3. С. 212-217.

135. Садек П. Растворители для ВЭЖХ. Москва : Бином. Лаборатория знаний, 2009. 704 с.

136. Сапрыкин Л. В. Практика и методические основы высокоэффективной жидкостной хроматографии : учеб. пособие. Краснодар, 2006. 151 с.

137. Современные вспомогательные вещества в производстве таблеток. Использование высокомолекулярных соединений для совершенствования лекарственных форм и оптимизации технологического процесса / И. В. Воскобойникова, С. Б. Авакян, Т. А. Сокольская и др. *Хим.-фармац. журн.* 2005. Т. 39, № 1. С. 22–28.

138. Современные ноотропные препараты: классификация, механизм действия, перспективы применения / И. Ф. Беленичев, Д. А. Середа, Ю. К. Дейниченко и др. *Запорож. мед. журн.* 2010, Т. 12, № 5. С. 122-126.

139. Современные принципы диагностики нервно-психического напряжения и профессионального стресса в сочетании с нарушениями сна / Д. Ю. Каллистов, А. И. Романов, Л. В. Смитюхова и др. *Клиническая неврология*. 2016. № 1. С. 20-23.

140. Соколова Е. Д., Березин Ф. Б., Барлас Т. В. Эмоциональный стресс: психологические механизмы, клинические проявления, психотерапия. *MateriaMedica*. 1996. № 1(9). С. 5-25

141. Сорокопуд Л. Ю., Борсук С. О. Вивчення фармацевтичного ринку анксиолітичних та ноотропних препаратів. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* (до 50-річчя заснування ЗДМУ) : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. (18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р.). Запоріжжя, 2018. С. 172.

142. Справочник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии / О. Б. Рудаков, И. А. Востров, С. В. Федоров и др. ; под ред. С. В. Селеменова. В. : Водолей, 2004. 520 с.

143. Сучасний стан створення виробництва та дослідження таблетованих лікарських препаратів. Повідом. 4 : Сучасні аспекти створення та виробництва шипучих таблеток / І. І. Басакіна, Д. І. Дмитрієвський, О. В. Тригубчак та ін. *Фармац. часопис*. 2010. Т. 16, № 4. С. 82–86.

144. Сучасні аспекти медико-соціальної реабілітації інвалідів-учасників антитерористичної операції / Н. М. Беляєва, І. В. Куриленко, О. Б. Яворовенко. *Вісник соц. гігієни та орг. охорони здоров'я України*. 2017. № 3 (73). С. 25-29.

145. Технология и стандартизация лекарств : сб. науч. тр. / под ред. В. П. Георгиевского, Ф. А. Конева. Харьков : РИРЕГ, 1996. Т. 1. 786 с. ; 2000. Т. 2. 784 с.

146. Тиотриазолин - создание, механизм действия, достижения и перспективы применения в медицине / А. Д. Визир, В. А. Визир, В. В. Дунаев и др. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики* : зб. наук. ст. Запоріжжя, 2002. Вип. 8. С. 3–17.

147. Титова А. В. Вспомогательные вещества, используемые в производстве лекарственных средств. Проблемы и подходы к их решению. *Фарммедобращение-2005* : материалы совещания, (Москва, 24-26 окт. 2005 г.). Москва, 2005. С. 205.

148. Тихонов А. И., Ярных Т. Г. Технология лекарств : учеб. для фармац. вузов и фак. / под ред. А. И. Тихонова. Харьков : Золотые страницы, 2002. 704 с.

149. Тіотриазолін : фармакологічні аспекти та клінічне застосування / І. А. Мазур, Н. А. Волошин, І. С. Чекман та ін. *Новини медицини та фармації*. 2005. 160 с.

150. Тригубчак О. В., Павлюк М. Б., Грошовий Т. А. Шляхи усунення побічної дії деяких лікарських засобів за рахунок технологічних прийомів. *Безпечна фармакотерапія в Україні* : матеріали наук.-практ. конф. Тернопіль, 2008. С. 34–35.

151. Трунова Т.В. Термогравіметричні дослідження супозиторіїв з N, N-добензиламідом малонової кислоти (дибамком) / Т.В. Трунова, Т.В. Крутських, О.С. Кухтенко // *Фармацевтичний часопис*.-2010.-№4.-С. 35-38.

152. Удосконалення методики визначення технологічних домішок у субстанції тіотриазоліну / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, З. Б. Моряк та ін. *Людина та ліки - Україна* : тези доп. VI нац. конгресу, 21-22 бер. 2013 р. Київ, 2013. С. 36.

153. Фармакобіохімічні аспекти противоішемического действия препарата тиотриазолин в условиях эксперимента / В. В. Дунаев, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, В. Р. Стец. *Актуальні питання фармац. та мед. науки і практики*: зб. наук. ст. Запорож'є, 2002. № 8. С. 73-81.

154. Фармацевтичне законодавство / Т. А. Грошовий, К. Л. Косяченко, Т. І. Калинюк та ін.; під ред. Т. А. Грошового. Тернопіль: Вид-во ТДМУ, 2008. 468 с.

155. Фармацевтичні та медико-біологічні аспекти ліків: навч. посібник / І. М. Перцев, О. Х. Пімінов, М. М. Слободянюк та ін. ; за ред. І. М. Перцева. 2-е вид., перероб. та доп. Вінниця : Нова книга, 2007. 728 с.

156. Формування лікарських порошкових систем в умовах вібраційного поля / П. П. Печерський, І. А. Вишневський, В. В. Нежувака та ін. *Фармац. журн.* 2000. № 4. С. 51–55.

157. Хлистун В. М. Вплив тіотриазоліну на стан системи перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту у хворих на інфільтратний туберкульоз легенів у початковому періоді лікування. *Фармакологія 2001 - крок в майбутнє* : тези доп. II Нац. з'їзду фармакологів України. Дніпропетровськ, 2001. С. 263.

158. Хухліна О. С., Воеводкіна О. С., Шоріков Є. І. Диференційоване застосування тіотриазоліну при хронічному гепатиті та цирозі печінки з детоксикаційною метою. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики*: зб. наук. ст. Запоріжжя, 2002. Вип. 8. С. 233–238.

159. Чекман І. С. Метаболічні препарати в сучасній експериментальній та клінічній фармакології. *Актуальні питання фармац. та мед. науки та практики*: зб. наук. ст. Запоріжжя, 2002. Вип. 8. С. 11–17.

160. Чижова Д. А., Бунятян Н. Д., Василенко Г. Ф. Высвобождение веществ из твердых дозированных лекарственных форм. *Фармация*. 2008. № 2. С. 50-52.

161. Чумак В. Т. Аналіз стану ринку лікарських засобів в Україні. *Аптечний аудит*. 2008. № 10. С. 6-11.

162. Чучалин А. Г. Система оксиданты-антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции. *Пульмонология*. 2004. № 2. С. 111–114.

163. Щодо постадійного контролю виробництва таблеток / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, З. Б. Моряк та ін. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2014. № 2. С. 31–34.

164. Щодо сумісного визначення L-триптофану та тіотриазоліну в штучній суміші методом ВЕРХ / Л. І. Кучеренко, С. О. Борсук, І. А. Мазур та ін. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : тези доп. VII наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль, 2018. С. 77-78.

165. Щодо сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ. Повідомлення 1: підбір фази для сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну у модельної суміші методом ВЕРХ / Л. І. Кучеренко, Г. Р. Німенко, О. В. Ващенко, В. В. Ващенко. *Фармац. часопис*. 2016. № 1. С. 54-58.

166. Щодо сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ. Повідомлення 2: Вибір фази для сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ (градієнтне елюювання) / Л. І. Кучеренко, Г. Р. Німенко, О. В. Ващенко, В. В. Ващенко. *Фармаком*. 2016. № 2. С. 27-32.

167. Экспериментальное исследование влияния тиотриазолина на органы и системы организма / В. Г. Ковешников, К. А. Фомин, В. Н. Волошин и др. *Запорож. мед. журн.* 2010. Т. 12, № 5. С. 174-176.

168. Яхно Н. Н. Когнитивные расстройства в неврологической клинике. *Неврологический журнал.* 2006. Т. 11, Приложение № 1. С. 4–12.

169. A consistent and accurate ab initio parametrization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu / S. Grimme, J. Antony, S. Ehrlich, H. Krieg. *J. Chem. Phys.* 2010. Vol. 132, No 15. P. 154104.

170. A novel bending point criterion for dissolution profile interpretation / L. Van Vooren, G. Krikilion, J. Rosier et al. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 2001. Vol. 27, Issue 8. P. 885–892. <https://doi.org/10.1081/DDC-100107254>.

171. A statistical approach to evaluate the potential use of compression parameters for classification of pharmaceutical powder materials / I. Klevan, J. Nordström, I. Tho, G. Alerdborn. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2010. Vol. 75, Issue 3. P. 425–435. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.04.006>.

172. Acute mental stress elicits delayed increases in circulating inflammatory cytokine levels / A. Steptoe, G. Willemsen, N. Owen et al. *Clin. Sci.* 2001. Vol. 101, No 2. P. 185-192.

173. Adamovics J. A. Chromatographic analysis of pharmaceuticals. N. Y. : Marcel Dekker, 1997. 544 p.

174. Allen V. L. Compounding, stability and beyond-use dates. *Secundum artem.* Vol. 7, No 3. URL: http://drofrx.com/Compounding_files/Secundum%20Artem/Sec%20Artem%207.3.pdf (дата звернення : 06.07. 2018).

175. Ansel H. C., Allen L. V., Popovich N. G. Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. 8th ed. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins, 2005. 27 p.

176. Antikainen O. Density functional theory including dispersion corrections for intermolecular interactions in a large benchmark: PhD Theses Dissertationes Biocentri Viikki Universitatis Helsingiensis. Helsinki, 2003. P. 1129–1136.

177. Antikainen O., J. Yliruusi Determining the compression behaviour of pharmaceutical powders from the force-distance compression profile. *Int. J. Pharm.* 2003. Vol. 252, No 1-2. P. 253–261.
178. Ayyappan J., Umapathi P., Darlin S. Quine. Crystal, molecular structure and tautomerism of (5-methyl-1H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid (HPLC) method for the estimation of isoniazid and its related substances in fixed dose combination of isoniazid and ethambutol hydrochloride tablets. *Afr. J. Pharm. and Pharmacol.* 2011. Vol. 5 (12). P. 1513–1521.
179. Bajaj S., Singla D., Sakhuja N. Stability Testing of Pharmaceutical Products. *J. Appl. Pharm. Sci.* 2012. Vol. 02, No 03. P. 129–138.
180. Behrens D. GMP-gerechte Herstellung von Filmcoating- und Dragiersuspensionen. *Pharma Int.* 2000. No 2. P. 68–70.
181. Boese M. Biopharmaceutical formulations studied by FTIR spectroscopy: Industriemesse for Forschung und Entwicklung, Umwelt- und Verfahrenstechnik in Pharmas, Chemie und Biotechnologie (ILMAC). *Chimia.* 2005. Vol. 59, No 4. P. 173.
182. Crystal, molecular structure and tautomerism of (5-methyl-1H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid / R. I. Zubatyuk, S. V. Shishkina, L. I., Kucherenko et al. *Struct. Chem.* 2008. Vol. 19, No 3. P. 407–412.
183. Development and validation of a stability-indicating high performance liquid chromatographic (HPLC) assay for biperiden in bulk form and pharmaceutical dosage forms / A. Mohammadi, A. Mehramizi, F. A. Moghaddam et al. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2007. Vol. 854, No 1-2. P. 152-157.
184. European Pharmacopoeia. 5-th ed. Strasbourg : Council of Europe, 2005. 3503 p.
185. European Pharmacopoeia. 6-th ed. Strasbourg : EDQM, 2007. P. 1568–1571.
186. European Pharmacopoeia. 6-th ed. Strasbourg : EDQM, 2007. P. 1663–1664.
187. European Pharmacopoeia. Vol. 2. 6-th ed. Strasbourg : European Directorate for the Quality of Medicines, 2008. 3308 p.
188. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986. No 123. P. 52.

189. Evans P. H. Free radicals in brain metabolism and pathology. *Med. Bull.* 1993. Vol. 49, No 5. P. 577-587.
190. Expression of the multidrug transporter MRP2 in the blood-brain barrier after pilocarpine-induced seizures in rats / K. Hoffmann, A. M., Gastens H. A. Volk, W. Löscher. *Epilepsy Res.* 2006. Vol. 69, No 1. P. 1-14.
191. Felton L. A. Characterization of coating systems. *Pharm. Sci. Tech.* 2007. 2007. Vol. 8, No 4. P. E112.
192. Florey K. Analytical Profiles of Drug Substances. New Delhi : Reed Elsevier India Pvt Ltd, 2005. 162 p.
193. Florey K. O. Files of Drugs Analytical Prubstances. New Delhi : Reed Elsevier India Pvt Ltd, 2005. 162 p.
194. GAUSSIAN 09, Revision B.01, Gaussian / M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel et al. Wallingford, Conn, USA, 2009. 141 p.
195. Gould T. D. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice, *Neuromethods.* Humana Press, 2009. 237 p.
196. Grimme S. Semiempirical GGA-type density functional constructed with a long-range dispersion correction. *J. Comput. Chem.* 2006. Vol. 27, No 15. P. 1787–1799.
197. Grimme S., Ehrlich S., Goerigk L. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *J. Comput. Chem.* 2011. Vol. 32, No 7. P. 1456–1465.
198. Henry J., Grim C. Psychosocial mechanisms of primary hypertension. *J. Hypertens.* 1990. Vol. 8. P. 783-793.
199. Huynh-Ba K. Handbook of stability testing in pharmaceutical development. N. Y. : Springer, 2009. 406 p.
200. Individualized guidelines: the potential for increasing quality and reducing costs / D. M. Eddy, J. Adler, B. Patterson et al. *Ann. Intern. Med.* 2011. Vol. 154, No 9. P. 627–634.
201. Innovations in tablet coating technology : a review / N. D. Kamble, P. S. Chaudhari, R. J. Oswal et al. *Int. J. Appl. Biol. Pharm. Technol.* 2011. Vol. 2, No 1. P. 214–218.

202. Johansen U., Christophersen A. S. Drug screening of preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem.* 2007. No 53. P. 300-309.
203. Klamt, A.; Schuurmann, G. COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions for the screening energy and its gradient. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2.* 1993. Issue 5. P. 799.
204. Kruse H., Grimme S. A geometrical correction for the inter- and intramolecular basis set superposition error in Hartree-Fock and density functional theory calculations for large systems. *J. Chem. Phys.* 2012. Vol. 136, No 15. P. 154101.
205. Kucherenko L., Nimenko A., Moryak Z. About staged control of "Karbatriil" tablets. *Peçenm.* 2017. № 1. C. 17-24.
206. Lantz P., House J., Lepkowski J. Socioeconomic factors, health behaviors and mortality: results from nationally representative prospective study of US adults. *JAMA.* 1998. Vol. 279, No 21. P. 1703-1708.
207. Maejima T., McGinity J. W. Influence of film additives on stabilizing drug release rates from pellets coated with acrylic polymers. *Pharm. Dev. Tech.* 2001. Vol. 6, No 2. P. 211–221.
208. Marenich A. V., Cramer C. J., Truhlar D. G. Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions. *J. Phys. Chem. B.* 2009. Vol. 113, No 18. P. 6378–6396.
209. Mental stress induces transient endothelial dysfunction in humans / L. Gbiadoni, A. E. Donald, M. Cropley. *Circulation.* 2000. Vol. 102, No 20. P. 2473-2478.
210. Neese F. The ORCA program system. *Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci.* 2012. Vol. 2, Issue 1. P. 73–78. <https://doi.org/10.1002/wcms.81>.
211. Patel S., Kaushal A. M., Bansal A. K. Effect of particle size and compression force on compaction behavior and derived mathematical parameters of compressibility. *Pharm. Res.* 2007. Vol. 24, No 1. P. 111–124.
212. Pitfalls and prevention strategies for liquid chromatography-tandem mass spectrometry in the selected reaction-monitoring mode for drug analysis / F.-L. Sauvage, J.-M. Gaulier, G. Lachatre, P. Marquet. *Clin. Chem.* 2008. Vol. 54, No 9. P. 1519–1527.

213. Polyplasdone® Crospovidone NF: Technical Profile. *Int. Specialty Products*. New Jersey : ISP, 1999. 4 p.
214. Prediction of drug content and hardness of intact tablets using artificial neural network and near-infrared spectroscopy / Y. Chen, S. S. Thosar, R. A. Forbess et al. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2001. Vol. 27, No 7. P. 623–631.
215. Preparation of rapidly disintegrating tablet using new types of microcrystalline cellulose (PH-M series) and low substituted-hydroxypropylcellulose or spherical sugar granules by direct compression method / T. Ishikawa, B. Mukai, S. Shiraishi et al. *Chem. and Pharm. Bull.* 2001. Vol. 49, No 2. P. 134–139.
216. Ritschel W. A., A. Bauer-Brandl Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung. 2. Aufl. Berlin, 2002. S. 25.
217. Role of antioxidants in treatment of male infertility : an overview of the literature / A. Agarwal, K. P. Nallella, S. S. Allamaneni, T. M. Said. *Reprod Biomed. Online*. 2004. Vol. 8, No 6. P. 616-627. 49.
218. Scandalios J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2005. Vol. 38, No 7. P. 995–1014.
219. Schäfer A., Horn H., Ahlrichs R. Fully optimized contracted Gaussian basis sets for atoms Li to Kr. *J. Chem. Phys.* 1992. Vol. 97. P. 2571–2577.
220. Shlieout G., Arnold K., Müller G. Powder and mechanical properties of microcrystalline cellulose with different degrees of polymerization. *AAPS PharmSciTech*. 2002. Vol. 3, No 2. P. 45–54.
221. Stability testing of active substances and pharmaceutical products. Working document QAS/06.179 / World Health Organization. Geneva, 2006. 33 p.
222. Steptoe A., Marmot M. The role of psychobiological pathways in socio-economic inequalities in cardiovascular disease risk. *Eur. Heart J.* 2002. Vol. 23, No 1. P. 13-25.
223. Stewart, J. J. P. MOPAC2012, 2012. 4 p.

224. The Japanese Pharmacopoeia. 16th ed. URL :<https://www.pmda.go.jp/english/rs-sb-std/standards-development/jp/0005.html> (дата звернення: 04.03.2018). Назва з екрану.

225. The Korean Pharmacopoeia. 10th ed. URL :<http://www.mfds.go.kr/eng/search/searchEn.do> (дата звернення: 20.12.2017). Назва з екрану.

226. The United State Pharmacopeia : 30 - NF25. Rockville : The United State Pharmacopeia Inc., 2007. 3503 p.

227. Theoretical Structural Study of Isoniazid Complexes with Thiotriazoline / R. I. Zubatyuk, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur et al. *Chem. Heterocycl. Compd.* 2014. Vol. 50, Issue 3. P. 438–443.

228. Theoretical study of the possibility of L-tryptophan with thiotriazoline complex formation / L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, S. A. Borsuk et al. *Запорозж. мед. журн.* 2018. Т. 20, № 1. С. 110-115.

229. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility - a clinical perspective. *Hum. Reprod. Update.* 2008. Vol. 14, No 3. P. 243–258.

230. Triggering of acute myocardial infarction onset by episodes of anger / M. A. Mittleman, M., Maclure J. B. Sherwood et al. *Circulation.* 1995. Vol. 92, No 7. P. 1720-1725.

231. Trott O., Olson A. J. Software news and update AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J. Comput. Chem.* 2010, Vol. 31, No 2. P. 455–461.

232. Two polymorphs of morpholin-4-ium 2-(5-methyl-1H-1,2,4-triazol-3-ylsulfanyl)acetate / S. V. Shishkina, R. I. Zubatyuk, L. I. Kucherenko et al. *Acta Crystallographica Section C.* 2009. Vol. 65. P. o24-o26.

233. Vidal. M. : АстраФармаСервис, 2003. С. 458.

234. Vivapur® MCG: Microcrystalline Cellulose and Carboxymethylcellulose Sodium / JRS Pharma. Rosenberg : JRS Pharma, 2004. 2 p.

235. Weigend F., Ahlrichs R. Balanced basis sets of split valence, triple zeta valence and quadruple zeta valence quality for H to Rn: Design and assessment of accuracy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2005. Vol. 7, No 18. P. 3297–3305.

236. Zubatyuk R. I., Shichkina S. V., Mazur I. A. Crystal Molecular structure and tautomerism of (5-methyl-1H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-acetic acid. *Struct. Chem.* 2008. Vol. 19, Issue 3. P. 407–412.

ДОДАТКИ

Додаток А

Результати дослідження таблеток L-триптофану з тіотриазоліном в процесі зберігання

| № зразка | Дата аналізу | Опис | Ідентифікація | Супровідні домішки | Мікробіологічна чистота | | Кількісне визначення | | Термін придатності | Висновок | |
|----------|--------------|------------|---------------|--------------------|--|--|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------|-------------|-------------------------------------|
| | | | | | В субстанції допускається загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) $\leq 10^3$ КУО/г | Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС) $\leq 10^2$ КУО/г | Відсутність Escherichia coli в 1г | L-триптофану: Від 0,185 г до 0,215 г | | | Тіотриазоліну: Від 0,45 г до 0,55 г |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | |
| 1 | 15.09.16 | Відповідає | Відповідає | Відповідає | | | Відсут. | 0,198 | 0,051 | " | Придатний |
| | 16.12.16 | Теж | Теж | Теж | | | " | 0,196 | 0,050 | 3 міс. | Теж |
| | 17.03.17 | " | " | " | | | " | 0,197 | 0,049 | 6 міс. | " |
| | 14.06.17 | " | " | " | | | " | 0,196 | 0,047 | 9 міс. | " |
| | 14.09.17 | " | " | " | | | " | 0,195 | 0,048 | 1 рік | " |
| | 05.03.18 | " | " | " | 160 | 15 | " | 0,194 | 0,046 | 1 р. 6 міс. | " |
| | 15.09.18 | " | " | " | 200 | 20 | " | 0,193 | 0,047 | 2 роки | " |

Продовж. дод. А

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | | 10 | 11 |
|---|----------|---|------------|------------|-----|----|---------|-------|-------|-------------|-----------|
| 2 | 22.09.16 | " | Відповідає | Відповідає | | | Відсут. | 0,204 | 0,052 | " | Придатний |
| | 23.12.16 | " | Теж | Теж | | | Теж | 0,205 | 0,052 | 3 міс. | Теж |
| | 24.03.17 | " | " | " | | | " | 0,203 | 0,051 | 6 міс. | " |
| | 22.06.17 | " | " | " | | | " | 0,203 | 0,051 | 9 міс. | " |
| | 21.09.17 | " | " | " | | | " | 0,201 | 0,050 | 1 рік | " |
| | 23.03.18 | " | " | " | 110 | 10 | " | 0,202 | 0,049 | 1 р. 6 міс. | " |
| | 24.09.18 | | | | 190 | 15 | | 0,201 | 0,047 | 2 роки | " |
| | | | | | | | | | | | |
| 3 | 29.09.16 | " | Відповідає | Відповідає | | | Відсут. | 0,208 | 0,050 | " | Придатний |
| | 28.12.16 | " | Теж | Теж | | | Теж | 0,209 | 0,049 | 3 міс. | Теж |
| | 30.03.17 | " | " | " | | | " | 0,207 | 0,048 | 6 міс. | " |
| | 29.06.17 | " | " | " | | | " | 0,206 | 0,047 | 9 міс. | " |
| | 28.09.17 | " | " | " | | | " | 0,205 | 0,048 | 1 рік | " |
| | 30.03.18 | " | " | " | 100 | 10 | " | 0,207 | 0,047 | 1 р. 6 міс. | " |
| | 29.09.18 | " | " | " | 150 | 20 | " | 0,205 | 0,046 | 2 роки | " |

Упаковка в блістерах.

Зберігання. При температурі не вище 25 °С і відносній вологості (60±5) %, у захищеному від світла місці.

Додаток Б

**Дисперсійний аналіз експериментальних даних з контролю таблеток на
основі L-триптофану та тіотриазоліну**

| Джерело дисперсії | Число ступенів свободи | Сума квадратів | Середній квадрат | $F_{\text{експ.}}$ | $F_{0,05}$ | Гіпотеза H_0 |
|---|------------------------|----------------|------------------|--------------------|------------|-------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| y_1 - однорідність дозування таблеток | | | | | | |
| Фактор <i>A</i> | 3 | 0,267359 | 0,08912 | 500,3216 | 3,2 | $\alpha_i \neq 0$ |
| Фактор <i>B</i> | 3 | 0,317734 | 0,105911 | 594,5906 | 3,2 | $\beta_j \neq 0$ |
| Фактор <i>C</i> | 3 | 0,688159 | 0,229386 | 1287,784 | 3,2 | $\gamma_k \neq 0$ |
| Фактор <i>D</i> | 3 | 0,954409 | 0,318136 | 1786,029 | 3,2 | $\delta_l \neq 0$ |
| Залишок (взаємодія) | 3 | 0,613759 | 0,204586 | 1148,556 | 3,2 | $res \neq 0$ |
| Похибка всередині клітинки | 16 | 0,00285 | 0,000178 | | | |
| Загальна сума | 31 | 2,844272 | | | | |
| y_2 - процес пресування таблеток | | | | | | |
| Фактор <i>A</i> | 3 | 1,09375 | 0,364583 | 1,666667 | 3,2 | $\alpha_i \neq 0$ |
| Фактор <i>B</i> | 3 | 2,34375 | 0,78125 | 3,571429 | 3,2 | $\beta_j \neq 0$ |
| Фактор <i>C</i> | 3 | 4,59375 | 1,53125 | 7 | 3,2 | $\gamma_k \neq 0$ |
| Фактор <i>D</i> | 3 | 3,09375 | 1,03125 | 4,714286 | 3,2 | $\delta_l \neq 0$ |
| Залишок (взаємодія) | 3 | 1,09375 | 0,364583 | 1,666667 | 3,2 | $res \neq 0$ |
| Похибка всередині клітинки | 16 | 3,5 | 0,21875 | | | |

Продовж. дод. Б

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|--|----|------------|------------|------------|-----|-------------------|
| Загальна сума | 31 | 15,71875 | | | | |
| у ₃ - зовнішній вигляд таблеток | | | | | | |
| Фактор <i>A</i> | 3 | 1,5 | 0,5 | 2 | 3,2 | $\alpha_i \neq 0$ |
| Фактор <i>B</i> | 3 | 1 | 0,333333 | 1,333333 | 3,2 | $\beta_j \neq 0$ |
| Фактор <i>C</i> | 3 | 0,5 | 0,166667 | 0,666667 | 3,2 | $\gamma_k \neq 0$ |
| Фактор <i>D</i> | 3 | 0,5 | 0,166667 | 0,666667 | 3,2 | $\delta_l \neq 0$ |
| Залишок (взаємодія) | 3 | 6,5 | 2,166667 | 8,666667 | 3,2 | $res \neq 0$ |
| Похибка всередині клітинки | 16 | 4 | 0,25 | | | |
| Загальна сума | 31 | 14 | | | | |
| у ₄ - стиранність таблеток | | | | | | |
| Фактор <i>A</i> | 3 | 0,05488437 | 0,01829479 | 67,2911877 | 3,2 | $\alpha_i \neq 0$ |
| Фактор <i>B</i> | 3 | 0,08515937 | 0,02838645 | 104,409961 | 3,2 | $\beta_j \neq 0$ |
| Фактор <i>C</i> | 3 | 0,07403437 | 0,02467812 | 90,7701149 | 3,2 | $\gamma_k \neq 0$ |
| Фактор <i>D</i> | 3 | 0,04993437 | 0,01664479 | 61,2222222 | 3,2 | $\delta_l \neq 0$ |
| Залишок (взаємодія) | 3 | 0,12343437 | 0,04114479 | 151,337164 | 3,2 | $res \neq 0$ |
| Похибка всередині клітинки | 16 | 0,00435 | 0,00027187 | | | |
| Загальна сума | 31 | 0,3917968 | | | | |

Продовж. дод. Б

| у ₅ - міцність таблеток | | | | | | |
|---|----|----------|-------------|-------------|-----|-------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Фактор <i>A</i> | 3 | 9938,951 | 3312,984 | 481,2105 | 3,2 | $\alpha_i \neq 0$ |
| Фактор <i>B</i> | 3 | 4192,211 | 1397,404 | 202,9727 | 3,2 | $\beta_j \neq 0$ |
| Фактор <i>C</i> | 3 | 2720,936 | 906,9786 | 131,7385 | 3,2 | $\gamma_k \neq 0$ |
| Фактор <i>D</i> | 3 | 12121,28 | 4040,426 | 586,8714 | 3,2 | $\delta_l \neq 0$ |
| Залишок (взаємодія) | 3 | 5984,933 | 1994,978 | 289,7703 | 3,2 | $res \neq 0$ |
| Похибка всередині клітинки | 16 | 110,155 | 6,884688 | | | |
| Загальна сума | 31 | 35068,46 | | | | |
| у ₆ - процес розпадання таблеток | | | | | | |
| Фактор <i>A</i> | 3 | 3650,84 | 1216,947 | 766,7753 | 3,2 | $\alpha_i \neq 0$ |
| Фактор <i>B</i> | 3 | 4314,358 | 1438,119 | 906,132 | 3,2 | $\beta_j \neq 0$ |
| Фактор <i>C</i> | 3 | 10588,94 | 3529,646 | 2223,964 | 3,2 | $\gamma_k \neq 0$ |
| Фактор <i>D</i> | 3 | 3930,269 | 1310,09 | 825,4629 | 3,2 | $\delta_l \neq 0$ |
| Залишок (взаємодія) | 3 | 2322,925 | 774,3083 | 487,8772 | 3,2 | $res \neq 0$ |
| Похибка всередині клітинки | 16 | 25,39355 | 1,587097 | | | |
| Загальна сума | 31 | 24832,72 | | | | |
| у ₇ – зовнішній вигляд таблеток після 6 місяців зберігання першої і другої серії дослідів відповідно, бали | | | | | | |
| Фактор <i>A</i> | 3 | 1,34375 | 0,447916667 | 1,592592593 | 3,2 | $\alpha_i \neq 0$ |
| Фактор <i>B</i> | 3 | 1,84375 | 0,614583333 | 2,185185185 | 3,2 | $\beta_j \neq 0$ |

| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
|----------------------------------|----|----------|-------------|-------------|-----|-------------------|
| Фактор C | 3 | 0,34375 | 0,114583333 | 0,407407407 | 3,2 | $\gamma_k \neq 0$ |
| Фактор D | 3 | 1,09375 | 0,364583333 | 1,296296296 | 3,2 | $\delta_l \neq 0$ |
| Залишок (взаємодія) | 3 | 5,59375 | 1,864583333 | 6,62962963 | 3,2 | $res \neq 0$ |
| Похибка всередині клітинки | 16 | 4,5 | 0,28125 | | | |
| Загальна сума | 31 | 14,71875 | | | | |

Додаток В

Результати визначення однорідності вмісту діючих речовин в таблетках L-триптофану з тіотриазоліном

| № | L-триптофан | | | | Тіотриазолін | | | |
|------------|--------------------|-----------------------------------|----------|-------------------------------------|--------------------|------------------------------------|----------|-------------------------------------|
| | Середня площа піку | Маса L-триптофану (мг) в таблетці | Знайдено | Відносне стандартне відхилення, ± % | Середня площа піку | Маса тіотриазоліну (мг) в таблетці | Знайдено | Відносне стандартне відхилення, ± % |
| 1 | 66530,55 | 200,0 | 97,77 | 0,70 | 23949,42 | 50,0 | 97,68 | 0,25 |
| 2 | 66469,31 | 200,0 | 97,68 | 0,60 | 24260,79 | 50,0 | 98,95 | 1,05 |
| 3 | 65822,85 | 200,0 | 96,73 | 0,37 | 24221,57 | 50,0 | 98,79 | 0,89 |
| 4 | 65489,41 | 200,0 | 96,24 | 0,88 | 23951,87 | 50,0 | 97,69 | 0,24 |
| 5 | 65747,99 | 200,0 | 96,62 | 0,49 | 23843,99 | 50,0 | 97,25 | 0,69 |
| 6 | 65986,17 | 200,0 | 96,97 | 0,13 | 24003,36 | 50,0 | 97,90 | 0,02 |
| 7 | 65972,56 | 200,0 | 96,95 | 0,15 | 23902,83 | 50,0 | 97,49 | 0,44 |
| 8 | 66299,19 | 200,0 | 97,43 | 0,35 | 23954,32 | 50,0 | 97,70 | 0,23 |
| 9 | 65863,68 | 200,0 | 96,79 | 0,31 | 24106,33 | 50,0 | 98,32 | 0,41 |
| 10 | 66523,74 | 200,0 | 97,76 | 0,69 | 23895,48 | 50,0 | 97,46 | 0,47 |
| Сер. знач. | | | 97,09 | 0,47 | | 50,0 | 97,92 | 0,47 |
| РП | 67707,78 | 200,0 | | | 24518,24 | 50,0 | | |

Додаток Г

Список публікацій здобувача

1. Theoretical study of the possibility of L-tryptophan with thiotriazoline complex formation / L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, S. A. Borsuk, O. V. Khromylova, S. V. Shishkina. *Запорозж. мед. журн.* 2018. Т. 20, № 1. С. 110-115. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).
2. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції / Л. І. Кучеренко., І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна. *Фармац. часопис.* 2017. № 3. С. 31-38. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).
3. Изучение ноотропных и стресс-протекторных свойств нового комбинированного лекарственного средства L-триптофана с тиотриазолином (Сообщение 2) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2017. Т. 20, № 6. С. 558–567. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).
4. Изучение фармакологических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином. Установление оптимального соотношения действующих веществ и изучение анксиолитических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином (Сообщение 1) / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, С. А. Борсук. *Рецепт.* 2016. Т. 19, № 6. С. 696–703. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).
5. Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші / Л. І. Кучеренко., І. А. Мазур, С. О. Борсук, О. О. Портна. *Фармац. часопис.* 2018. № 2. С. 54-58. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

6. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Фармац. часопис*. 2017. № 4. С. 22-29. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).
7. О постадийном контроле таблеток L-триптофана с тиотриазолином / Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур, С. А. Борсук, Е. А. Портная, Г. И. Ткаченко. *Рецепт*. 2018. том № 21, №4, С. 508 – 515. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).
8. Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Мазур І. А., Черковська Л. Г., Скорина Д. Ю. *Актуальні питання фармац. і мед. науки та практики*. 2018. Т. 11, № 2(27). С. 142-147. (Особистий внесок: виконання експериментальних досліджень, узагальнення результатів, підготовка до публікації).

Патент:

9. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Беленічев І. Ф., Мазур І. А., Стеблюк В. С. Комбінований лікарський засіб анксиолітичної стрес-протективної, ноотропної і антиоксидантної дії: пат. № 112513 Україна. № № а 2016 04961; заявл. 04.05. 2016; опубл. 12.09.2016, Бюл. № 17 (Особистий внесок – приймав участь в патентному пошуку та в оформленні патенту).

Тези доповідей:

10. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Актуальність створення нового комбінованого таблеткованого нейропсихотропного лікарського засобу. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня 2016 р) : у 2 т. Т. 1. Харків : НФаУ, 2016. С. 373.
11. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Фармакологічні аспекти створення нового лікарського засобу нейропсихотропної дії на основі L-триптофану та

- тіотриазоліну. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI науково-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 листоп. 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 314.
12. Борсук С. О. Обґрунтування вибору лікарської форми нового комбінованого нейропсихотропного препарату. *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2017* : тези Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студ. з міжнар. участю, присвяч. Дню науки (11-12 трав. 2017 р., м. Запоріжжя). Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. С. 142.
13. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Беленічев І. Ф., Борсук С. О. Дослідження анксиолітичної активності нового комбінованого лікарського засобу триптофану з тіотриазоліном. *Сучасні перспективи розвитку науки* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (15-16 вересня 2017 р.). Київ : МЦНД, 2017. С. 31.
14. Кучеренко Л. И., Беленичев И. Ф., Мазур И. А., Борсук С. А. Изучение анксиолитической активности нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином. *V національний з'їзд фармакологів України* : тези доповідей (18-20 жовтня 2017 р.). Запоріжжя, 2017. С. 77-78.
15. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір оптимальних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. інтернет–конф. (14-15 листоп. 2017 р.). Харків : НФаУ, 2017. С. 122.
16. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Портна О. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Інновації та перспективи сучасної медицини», ВІМСО 2018* : тези доп. V Міжнар. мед.-фармац. конгресу студентів та молодих вчених (Чернівці, 4-6 квітня 2018 р.) Чернівці, 2018. С. 417.
17. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 80-

річчю з дня народження д. ф. н. проф. О. М. Гайдукевича. (12-13 квітня 2018 р.). Харків : НФаУ, 2018. С. 167-168.

18. Борсук С. А., Сорокопуд Л. Ю. Выбор оптимальных вспомогательных веществ с целью создания таблеток L-триптофана и тиотриазолина методом влажной грануляции. *Медицинская наука : новые возможности* : материалы XIII науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов ТГМУ им. Абуали абни Сино с междунар. участием (27 апреля, 2018). Душамбе, 2018. Т. 2. С. 12.
19. Сорокопуд Л. Ю., Борсук С. О. Вивчення фармацевтичного ринку анксиолітичних та ноотропних препаратів. Актуальні питання сучасної медицини і фармації (до 50-річчя заснування ЗДМУ) : тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. (18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р.). Запоріжжя, 2018. С. 172.

Продовж. дод. Г

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня:

1. VIII національний з'їзд фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (Харків, 13-16 вересня 2016 р., форма участі – публікація тез);

2. VI науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 10 – 11 листопада 2016 р. форма участі – публікація тез);

3. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених та студентів з міжнародною участю «Сучасні аспекти медицини і фармації - 2017» (Запоріжжя, 11-12 травня 2017 р., форма участі – усна доповідь);

4. I міжнародна науково-практична конференція «Сучасні перспективи розвитку науки» (Київ, 15-16 вересня 2017р., форма участі – публікація тез);

5. V національний з'їзд фармакологів України (Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р., форма участі – публікація тез);

6. III Міжнародна науково-практична інтернет–конференція «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (Харків, 14-15 листопада 2017 р., форма участі – публікація тез);

7. V Міжнародний медико-фармацевтичний конгрес студентів та молодих вчених «ВІМСО» (Чернівці, 4-6 квітня 2018р., форма участі – усна доповідь);

8. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 80-річчю з дня народження д. фарм. н., проф. О. М. Гайдукевича (Харків, 12-13 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);

9. VIII науково-практична конференція молодих вчених та студентів ТДМУ ім. Абуалі абні Сіно з міжнародною участю (Душамбе, 27 квітня 2018р., форма участі – публікація тез);

10. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (Запоріжжя, 17-18 травня 2018 р., форма участі – публікація тез);

11. VII Науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (Тернопіль, 27-28 вересня 2018 р., форма участі – публікація тез);

Додаток Д

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи,
 інноваційних та комп'ютерних
 технологій Тернопільського
 державного медичного університету
 ім. І.Я.Горбачевського
 д.біол.н., проф. І.М.Кліщ

« 06 » *вересня* 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: теоретичне дослідження можливості утворення комплексів L-триптофану з тіотриазоліном.

2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О., Хромильова О. В., Шишкіна С. В.

3. Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані): Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані): Theoretical study of the possibility of L-tryptophan with thiotriazoline complex formation, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, S. A. Borsuk [et al.]. // Запорізький медичний журнал, №1 – 2018. – Р. 110-114.

4. Впроваджено: кафедра фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського.

5. Термін впровадження: 08.2018– 01.2019 р.

6. Ефективність впровадження: методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.

7. Пропозиції та зауваження: немає

Завідувач кафедри фармації
 навчально-наукового інституту
 післядипломної освіти
 Тернопільського державного медичного
 університету ім. І.Я.Горбачевського
 д.біол.н., професор



Л.С.Фіра

Додаток Е

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та
лікувальної роботи

ДЗ "ДМА МОЗ України"

д. мед. н., професор Мамчур В.Й.

«25» _____ 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** вивчення фармакологічних властивостей нового комбінованого лікарського засобу триптофану з тіотриазоліном.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Мазур І. А., Борсук С. О.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Кучеренко Л. И. Изучение фармакологических свойств нового комбинированного лекарственного средства триптофана с тиотриазолином / Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.]. Журнал «Рецепт», том № 19, №6, 2016, С. 696 – 703.
4. **Ким впроваджено:** кафедра фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
5. **Термін впровадження:** 09.2017-01.2018.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає.

Професор кафедри фармакології і клінічної фармакології
ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
д. мед. н., професор



В. І. Опришко

Додаток Ж

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з наукової роботи
Тернопільського державного
медичного університету

ім. І.Я.Горбачевського
д. біол. н., проф. І.М.Кліщ



«18» вересня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О., Портна О. О.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Кучеренко Л. І. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. [та ін.]. Фармацевтичний часопис. 2017. № 3. С. 31-38.
4. **Впроваджено:** кафедра управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського.
5. **Термін впровадження:** червень – грудень 2018 р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі медичних ВНЗів України.

Завідувач кафедри управління та
економіки фармації з технологією ліків
Тернопільського державного медичного
університету ім. І. Я. Горбачевського
д.фарм.н., професор

Т. А. Грошовий

Додаток К

Затверджую

Перший проректор
 Національної медичної академії
 післядипломної освіти
 імені П.Л.Шупика
 член-кор. НАМН України
 проф. Ю.П. Вдовиченко



«17» січня 2018 р.

впровадження у навчальний процес

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції.
- 2. Ким впроваджено, адреса:** кафедра фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету, пр. Маяковського, 26, м. Запоріжжя, 69035.
Виконавець: Борсук Сергій Олександрович.
- 3. Джерело інформації:** Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. Вибір допоміжних речовин для отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Фармацевтичний часопис. 2017. №4. С. 22-29.
- 4. Ким впроваджено:** кафедра фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П.Л.Шупика МОЗ України, вул. Дорогожицька, 9, м. Київ, 04112.
- 5. Результати застосувань:** 09.2017-01.2018.
- 6. Ефективність впровадження:** підвищення якості та ефективності навчального процесу за рахунок впровадження технологічних методів отримання таблеток.
- 7. Пропозиції та зауваження:** розповсюдити отримані позитивні результати впровадження для застосування у навчальному процесі медичних ВНЗів України.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармацевтичної
 технології та біофармації
 Національної медичної академії
 післядипломної освіти імені П.Л. Шупика
 д-р. фарм.наук, професор



Л.Л.Давтян

Л.Л. Давтян
 ЗАСВІДЧУЮ
 14.09.18

Додаток Л

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Директор ДП «ДНЦЛЗ»,
 Н.С. Нікітіна

«22» травня 2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Вивчення ноотропних і стрес-протекторних властивостей нового комбінованого лікарського засобу L-триптофану з тіотриазоліном.

2. Установа, її адреса, виконавці: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О., Портна О. О.

3. Джерела інформації: Кучеренко Л. И. Изучение ноотропных и стресс-протекторных свойств нового комбинированного лекарственного средства L-триптофана с тиотриазолином (Сообщение 2) / Кучеренко Л. И., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. [и др.]. Рецепт», 2017, том № 20, №6, С. 558 – 567.

4. Де впроваджено: у науковий процес в науково-дослідних лабораторіях фармако-токсикологічного профілю ДП «Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції».

5. Термін впровадження: 12.2017- 05.2018 р.

6. Результат впровадження: отримана інформація висвітлює дані щодо оцінки вивчення ноотропних та стрес-протекторних властивостей лікарських засобів, яка застосовується при формуванні інформаційного забезпечення наукового процесу в лабораторіях фармако-токсикологічного.

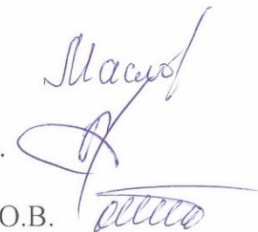
7. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні ДП «Державного наукового центру лікарських засобів і медичної продукції», протокол № 2 від “ 4 ” вересня 2018 р.

Відповідальний за впровадження:
 Голова комісії: проф., докт.біол.н. Маслова Н.Ф.

Члени комісії: проф. докт.фарм.н. Казарінов М.О.

ст.н.сотр., канд.фарм.н. Тімченко О.В.



Додаток М

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботиКиївського медичного університету
д.м.н., професор Доан С.І.

вересня 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші.

2. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О., Портна О. О.

3. Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані): Кучеренко Л. І. Кількісне визначення L-триптофану та тіотриазоліну в модельній суміші / Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О. [та ін.]. Фармацевтичний часопис. 2018. № 2(46). С. 54-58.

4. Ким впроваджено: кафедра фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету

5. Термін впровадження: 06.2018 –12.2018 р.

6. Ефективність впровадження: методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.

7. Пропозиції та зауваження: немає.

Завідувач кафедри
фармацевтичної та біологічної хімії,
фармакогнозії
д.фарм.н., професор

О.Ю. Коновалова

Додаток Н

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Директор ДП "Державний науковий
центр лікарських засобів і медичної
продукції" канд. біол. наук



Н.С. Нікітіна

2018 р.

А К Т

**впровадження та апробації результатів наукових досліджень Борсука С. О.
та їх впровадження у технологічний процес на базі лабораторії технології
готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ»**

На базі лабораторії технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ» в лабораторних умовах апробовано технологічну схему отримання таблеток L-триптофану з тіотриазоліном методом вологої грануляції, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Борсук С. О. на тему: «Розробка технології та стандартизація нового комбінованого нейропсихотропного лікарського засобу з триптофаном та тіотриазоліном».

Виконуючий обов'язки завідувача лабораторії технології готових лікарських засобів Державного підприємства «Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції», доктор фармацевтичних наук, професор

М.О. Казарінов

Додаток П

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи Національного
фармацевтичного університету

Д.біол. наук, проф.

А.Л.Загайко

« 31 » вересня 2018 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: щодо постадійного контролю таблеток L-триптофану з тіотриазоліном.

2. Установа-розробник, адреса, ПБ авторів: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Мазур І. А., Борсук С. О., Портна О. О., Ткаченко Г. І.

3. Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані): Кучеренко Л. И. О постадийном контроле таблеток L-триптофана с тиотриазолином / Кучеренко Л. И., Мазур И. А., Борсук С. О. [и др.]. Журнал «Рецепт», 2018.

4. Ким впроваджено: кафедра фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету.

5. Термін впровадження: 09.2018-01.2019.

6. Ефективність впровадження: методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.

7. Пропозиції та зауваження: немає.

Протокол засідання кафедри фармацевтичної хімії
№1 від «31»серпня 2018 р.

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії
д.фарм.н., професор

В.А.Георгіянц

Додаток Р

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної
(навчально-методичної) роботи
Одеського національного
медичного університету,
д. мед. н., проф. В. О. Ульянов



_____ 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Мазур І. А.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Підбір оптимальних умов аналізу суміші L-триптофану та тіотриазоліну методом високоефективної рідинної хроматографії / Кучеренко Л. І., Борсук С. О., Мазур І. А. [та ін.]. // «Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики»: Междунар. науч.-практ. журн. 2018. Том 11, № 2(27). С. 142-147.
4. **Впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** 06.2018 – 12.2018.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії
Одеського національного медичного університету
д. хім. н., професор

В. О. Гельмбольдт

Додаток С



Приватне акціонерне товариство «ЛЕКХІМ-ХАРКІВ»

вул. Северина Потоцького, 36
м. Харків, 61115, Україна

тел.: +38 057 293 70 44
+38 057 717 46 32
факс: +38 057 714 77 91

e-mail:
www.lekhim.ua

24.09.2018 № 01/2720

на № _____

А К Т

апробації результатів наукових досліджень асистента кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ Борсука С. О. та їх впровадження у виробництво на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»

На заводі ПрАТ «Лекхім-Харків», в умовах відділу досліджень та розробок, апробовано методику визначення кількісного вмісту L-триптофану та тіотриазоліну в таблетковій масі та в комбінованих таблетках L-триптофану з тіотриазоліном методом ВЕРХ, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету асистентом Борсуком С. О.

Голова правління
ПрАТ «Лекхім-Харків»



Д.Д. Колесников

АТ «ЛЕКХІМ»
вул. Шота Руставелі, 23
м. Київ, 01033, Україна
тел.: +38 044 246 63 12
факс: +38 044 246 63 07

ПрАТ «ЛЕКХІМ-ХАРКІВ»
вул. Северина Потоцького, 36
м. Харків, 61115, Україна
тел.: +38 057 293 70 44
факс: +38 057 714 77 91

ПрАТ «ТЕХНОЛОГ»
вул. Стара прорізна, 8
м. Умань, Черкаська обл., 20300, Україна
тел.: +38 047 44 4 03 02
факс: +38 047 44 3 33 32

www.lekhim.ua

Додаток Т

ЗАТВЕРДЖЕНО

В. о. ректора Запорізького державного
медичного університету
доц. Авраменко М. О.



М. О. Авраменко
«*січня*» 20*18*р.

Заявник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

Виробник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

**ПРОЕКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

ТРИПТОФАН Т**ТРУРТОРНАН Т**

Таблетки, вкриті плівковою оболонкою,

По 10 таблеток у блістері

Продовж. дод. Т

11

Вміст $C_5H_7N_3O_2S \cdot C_4H_9NO$ (тіотриазоліну) в одній таблетці, у перерахуванні на середню масу однієї таблетки, має бути: від 45 мг до 55 мг.

УПАКОВКА

По 10 таблеток у блістері, 3 або 6 блістерів разом із листком-вкладишем поміщають у пачку із картону для лікарських засобів.

Пачки поміщають у групову тару.

МАРКУВАННЯ

Згідно оригінал-макету упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Асистент

Кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ



Борсук С. О.