

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Хромильова Ольга Володимирівна
УДК 615.214.31.015.42:615.31:[547.792+547.466]].012/.014.07

**Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих
нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій
похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами**

15.00.03 – стандартизація та організація виробництва лікарських засобів

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук

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

О. В. Хромильова

підпис

ініціали та прізвище дисертанта

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

Запоріжжя - 2021

Хромильова О.В. Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора фармацевтичних наук за спеціальністю 15.00.03 «Стандартизація та організація виробництва лікарських засобів». – Запорізький державний медичний університет, Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2021

Дисертаційна робота присвячена комплексним дослідженням щодо розробки та стандартизації фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами.

У вступі наведено актуальність теми, мету, завдання дослідження, відзначено наукову новизну та практичну цінність отриманих результатів.

У розділі 1 дисертаційної роботи проведено аналіз даних наукової літератури щодо сучасного стану медичного застосування нейротрансмітерних амінокислот та тіотриазоліну і їх комбінацій з іншими лікарськими засобами. Проведено аналіз стану сучасного фармацевтичного ринку ноотропних та анксиолітичних препаратів. Обґрунтовано актуальність та перспективи створення нових комбінованих лікарських засобів на основі нейротрансмітерних амінокислот та тіотриазоліну у вигляді таблеток.

Розділ 3 присвячений розробці оптимального складу, технології та стандартизації нового комбінованого лікарського засобу L-аргініну з тіотриазоліном у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою. По-перше, були проведені квантово-хімічні розрахунки, які теоретично показали, що між діючими речовинами не виникають ковалентні зв'язки, а тільки нестійкі водневі. Крім того, проведено дериватографічні дослідження, які підтвердили, що L-аргінін та тіотриазолін є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою. Все вищенаведене дозволило поєднати діючі речовини в одній лікарській формі у формі таблеток.

Проведені дослідження, щодо розробки складу та технології таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Було досліджено чотири групи допоміжних речовин. При вивченні чотирьох якісних факторів використовували один із планів дисперсійного аналізу – чотирьохфакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату. Було вивчено вплив допоміжних речовин на: процес пресування таблеток-ядер; зовнішній вигляд поверхні таблеток-ядер після виготовлення; однорідність дозування маси таблеток-ядер; стійкість таблеток-ядер до роздавлювання; стиранисть таблеток-ядер та час розпадання таблеток-ядер. Результатами експериментальних досліджень було оброблено з використанням дисперсійного аналізу.

Після проведених фармако-технологічних досліджень та з урахуванням результатів дослідження якісного та кількісного співвідношення допоміжних речовин, запропоновано оптимальний склад таблеток-ядер. Отримані в лабораторних умовах таблетки-ядра за фармако-технологічними властивостями (однорідність маси, стійкість до роздавлювання, стиранисть, розпадання, розчинення) відповідають вимогам ДФУ.

Далі були проведені дослідження зі створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном. Як плівкоутворюючі композиції використовували готові суміші торгової марки Opadry, які найчастіше використовуються вітчизняними фармацевтичними підприємствами в якості захисного покриття таблеток. Проведені експериментальні дослідження дозволили вибрати плівкоутворюючу систему для нанесення покриття Opadry. В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток методом вологої грануляції, яку апробовано на базі ПрАТ «Лекхім-Харків».

Проведені дослідження щодо стандартизації діючих речовин. Було розроблено методику одночасного визначення L-аргініну з тіотриазоліном в модельній суміші, таблетковій масі та в таблетках методом ВЕРХ. Розроблену методику кількісного визначення діючих речовин в таблетковій масі та

таблетках методом ВЕРХ, апробовано та впроваджено у систему якості ПрАТ «Лекхім-Харків».

Методики кількісного визначення діючих речовин валідовано за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, прецизійність, правильність, робасність. Всі показники відповідали вимогам ДФУ.

Розроблена специфікація на отримані таблетки L-аргініну з тіотриазоліном. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, розпадання, розчинення, супровідні домішки, розчинення, мікробіологічна чистота та кількісне визначення.

Проведені дослідження стабільності створених таблеток для визначення терміну придатності та умов зберігання. Отримані результати довели стабільність таблеток і було визначено термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

Розділ 4 присвячений розробці складу, технології та стандартизації нового комбінованого лікарського засобу на основі гліцину та морфолінію тіазотату. Для підтвердження можливості комбінування гліцину та морфолінію тіазотату в одній лікарській формі були проведені квантово-хімічні розрахунки та термогравіметричні дослідження. Встановлено, що між компонентами відсутня стійка хімічна взаємодія, суміш гліцину з морфолінію тіазотатом є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою і це дає можливість комбінувати їх в одній лікарській формі в вигляді таблеток. Були вивчені фізико-хімічні та технологічні властивості субстанцій гліцину, тіотриазоліну та їх суміш та запропоновано для отримання комбінованих таблеток метод прямого пресування. Досліджено 16 допоміжних речовин. Для вивчення впливу якісних факторів на характеристики таблеток було використано один з планів дисперсійного аналізу - греко-латинський квадрат. Досліджували порошок суміші на текучість, кут природного укосу, насипну густину та насипну густину після усадки. Вивчали вплив природи допоміжних речовин на процес пресування та зовнішній вигляд таблеток, однорідність їх маси, стиранисть, час

розпадання та стійкість до роздавлювання. Дисперсійний аналіз результатів дослідження, дозволив на основі порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів вибрати оптимальні ДР. В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом методом прямого пресування, яку апробовано на базі ПрАТ «Лекхім-Харків».

Для стандартизації діючих речовин було розроблено методику ВЕРХ, яка дозволяє одночасно провести стандартизацію діючих речовин в одній наважці. По-перше, були підібрати оптимальні умови проведення аналізу діючих речовин. В ході проведенних досліджень встановили, що для спільного визначення гліцину з морфолінію тіазотатом, як в модельній суміші, так і в комбінованих лікарських формах доцільно використовувати як елюент - тетрабутиламоній в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі з одночасним використанням кислого буферу – 0.05% розчину трифтороцтової кислоти. Розроблені методики кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші, таблетковій масі та таблетках методом ВЕРХ, апробовано та впроваджено у систему якості ПрАТ «Лекхім-Харків».

Далі проводили валідацію методики кількісного визначення за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, прецизійність, правильність, робасність. Всі показники відповідали вимогам ДФУ.

На отримані таблетки гліцину з тіотриазоліном розроблена специфікація за наступними показниками: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, розпадання, супровідні домішки, мікробіологічна чистота та кількісне визначення, яку внесено до проєкту МКЯ.

Проведено дослідження стабільності створених таблеток гліцину з тіотриазоліном. Для встановлення терміну придатності спостерігали за випробуваними зразками таблеток, які зберігалися в сухому захищеному від світла місці при температурі не вище 25 °С. Отримані результати довели стабільність таблеток і було визначено термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°С.

У розділі 5 наведено дані досліджень, щодо розробки складу, технології та стандартизації нового лікарського засобу на основі ГАМК та морфолінію тіазотату у формі таблеток, вкритих плівковою оболонкою. Для врахування можливої хімічної взаємодії діючих речовин, були проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів ГАМК з тіотриазоліном, які показали, що між діючими речовинами не виникають ковалентні зв'язки, а тільки нестійкі водневі. Для підтвердження та усунування ризиків фізичної взаємодії між діючими речовинами були проведені термогравіметричні дослідження та встановлено, що суміш ГАМК і тіотриазоліну є сумішшю діючих речовин які не взаємодіють між собою, що дає можливість комбінувати їх в одній лікарській формі. Проведенні дослідження фізико-хімічних та фармако-технологічних показників субстанцій ГАМК та тіотриазоліну дозволили запропонувати можливість отримання таблеток методом вологої грануляції. Далі проводили дослідження, щодо вибору допоміжних речовин для отримання таблеток ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Для вивчення трьох факторів, кожен з яких взятий на чотирьох рівнях, використовували латинський квадрат третього порядку. Вивчали вплив природи допоміжних речовин на зовнішній вигляд таблеток, однорідність їх маси, стиранисть, час розпадання та стійкість до роздавлювання. В результаті проведених досліджень запропоновано оптимальний склад таблеток-ядер.

Далі проводили дослідження, щодо вибору плівкоутворюючого покриття для таблеток-ядер ГАМК з морфолінію тіазотатом. Як плівкоутворюючі композиції використовували готові суміші торгової марки Opadry. Кожну серію отриманих таблеток оцінювали за зовнішнім виглядом, однорідністю в масі, стійкістю таблеток до роздавлювання, часом розпадання. Аналіз експериментальних результатів показав, що найкращою плівкоутворюючою системою для нанесення покриття є «OPADRY® II Complete film coating system 85F18422 White».

Крім того, в ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток гама-аміномасляної кислоти з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції, яку апробовано на базі ПрАТ «Лекхім-Харків».

Для створених таблеток були розроблені методики їх стандартизації методом ВЕРХ.

Методики кількісного визначення валідовані за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, правильність, робасність та прецизійність.

На отримані таблетки ГАМК з тіотриазоліном розроблена специфікація, яку внесено до проєкту МКЯ.

Для визначення терміну придатності проведені дослідження стабільності створених таблеток ГАМК з тіотриазоліном. Отримані результати довели стабільність таблеток і було визначено термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

Розділ 6 присвячений вивченню кардіопротективної і ендотеліопротективної дії, антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів дії нового комбінованого лікарського засобу на основі L-аргініну з тіотриазоліном, нейропротективної, протиішемічної дії нового комбінованого лікарського засобу на основі гліцину з тіотриазоліном, ноотропної, протитривожної дії нового комбінованого лікарського засобу на основі гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном.

В ході проведених досліджень встановлено, що комбінація L-аргініну з тіотриазоліном достовірно перевершує референс-препарат Тівортін за впливом на досліджувані показники антиоксидантної, енерготропної і NO-модулюючої, кардіопротективної і протиішемічної дії; комбінація гліцину з тіотриазоліном за ступенем впливу на показники нейропротективної, протиішемічної, енерготропної дії перевершувала референс-препарати пірацетам і гліцин; комбінований засіб ГАМК з тіотриазоліном за силою ноотропної, антиамнестичної, анксиолітичної дії перевищує пірацетам.

Ключові слова: нейротрансмітерні амінокислоти, L-аргінін, гліцин, гамма-аміномасляна кислота, тіотриазолін, таблетки, ВЕРХ, пряме пресування, волога грануляція, математичне планування експерименту, стандартизація, нейропротектори, судинні захворювання мозку, інсульт

Список публікацій здобувача

1. Кучеренко Л. И., Хромыева О. В., Левых А. Э. Применение нейротрансмиттерных аминокислот в современной медицине. *Рецепт*. 2016. Т. 19, № 5. С. 616-620. (Особистий внесок: планування експерименту, обробка отриманих результатів, оформлення статті).
2. Theoretical study about L-arginine complexes formation with thiotriazolin / L. I. Kucherenko, O. V. Hromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 1. С. 108-112. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).
3. Исследование кардио- и эндотелиопротекторного действия нового комбинированного лекарственного препарата на основе L-аргинина и тиотриазолина / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, О. В. Хромыева. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1. С. 54-60. (Особистий внесок: приготування досліджуваного зразка, проведення морфометричних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
4. The formation of two thiotriazoline polymorphs: study from the energetic viewpoint / S. V. Shishkina, V. N. Baumer, O. V. Khromileva, L. I. Kucherenko I. A. Mazur. *CrystEngComm*. 2017. Vol. 19. P. 2394-2401. <https://doi.org/10.1039/C7CE00117G>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus)).
5. Theoretical study of the possibility of glycin with thiotriazoline complexes formation / L. I. Kucherenko, O. V. Khromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina.

Запорожский медицинский журнал. 2017. Т. 19, № 5. С. 675-679. <https://doi.org/10.14739/2310-1210>. 2017.5.110232. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).

6. Metabolithotropic aspects of cardioprotective action of new combined medicine based on L-arginine and thiotriazolin at modeling of myocardial infarction / L. I. Kucherenko, I. F. Belenichev, I. A. Mazur, O. V. Khromylova. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. Vol. 10, Iss. 10. P. 158-161. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i10.19895>. (Особистий внесок: приготування досліджуваного зразка, спектрофотометричне дослідження, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus)).

7. Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazoline on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia / L. Kucherenko, I. Belenichev, I. Mazur, O. Khromylova, N. Parniuk. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 14-21. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000598. (Особистий внесок: приготування досліджуваного зразка, спектрофотометричне дослідження зразків, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus)).

8. Optimization of L-arginine and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography method / L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova, I. A. Mazur, Z. B. Moriak. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 6. С. 837-840. <https://doi.org/10.14739/2310-1210>. 2018.6.146760. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).

9. Хромылева О. В. Выбор вспомогательных веществ для получения таблеток L-аргинина с тиотриазолином методом влажной грануляции. Сообщение 1. Влияние вспомогательных веществ на процесс прессования, внешний вид и однородность в массе таблеток L-аргинина с тиотриазолином,

полученных методом влажной грануляции. *Рецепт*. 2018. Т. 21, № 4. С. 516-524.

10. Хромильова О. В. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні характеристики таблеток L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4. С. 35-41. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2018.4.9704>

11. Щодо стандартизації L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 1. С. 47-52. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.1.158992>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

12. Хромильова О. В. Щодо поєднання гліцину та тіотриазоліну в одній лікарській формі. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2. С. 181-185. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.171010>

13. Хромильова О. В. Вибір захисної полімерної оболонки для таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 2. С. 23-29. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.2.9927>

14. Хромильова О. В. Дериватографические исследования тиотриазолина, L-аргинина, смеси L-аргинина с тиотриазолином. *Рецепт*. 2018. Т. 22, № 4. С. 544-549.

15. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 1. Вивчення впливу допоміжних речовин на насипну густину, насипну густину після усадки, текучість і кут природного укусу порошкових мас гліцину з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, З. Б. Моряк. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13,

№ 1. С. 98-104 <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198182>. (*Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті*).

16. Щодо підбору оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з тіотриазоліном методом вискоєфективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т.13, № 2. С. 244-248. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207180>. (*Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті*).

17. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 2. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники отриманих таблеток / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, Л. Г. Черковська. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 2. С. 32-39. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.2.11193>. (*Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті*).

18. Kucherenko L. I., Belenichev I. F., Khromyleva O. V. Creation of a new combined drug based on gamma-aminobutyric acid and thiotriazoline. *Biological markers and guided therapy*. 2020. Vol. 7, no. 1. P. 31-38. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2020.91017>. (*Особистий внесок: приготування штучних сумішей, проведення експерименту, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті*).

19. Валідація методики кількісного визначення діючих речовин в таблетках «Аргітріл» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, С. О. Борсук. *The scientific heritage*. 2020. No. 51-2. P. 59-64. (*Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті*).

20. Дериватографічні дослідження Гамма-аміномасляної кислоти, тіотриазоліну та суміші Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І.

Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. П. Лисянська, І. В. Павлюк. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 1. No. 47. P. 39-42. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

21. Розробка складу та технології таблеток Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Н. В. Дерев'янку. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 3. С. 15-23. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.3.11422>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

22. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Німенко Г. Р. Визначення Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії. *Österreichisches Multiscience Journal*. (Innsbruck, Austria). 2020. Vol. 1, No. 33. P. 16-19. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

23. Щодо стандартизації гліцину та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії / О. В. Хромильова, М. О. Авраменко, Г. Р. Німенко, Е. Ю. Гура. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т.13, № 3. С. 378-382. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216213>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

24. Визначення діючих речовин в таблетках "Тіогамк" методом високоефективної рідинної хроматографії / О. В. Хромильова, Л. І. Кучеренко. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 2. No. 50. P. 59-62. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

Патенти

1. Пат. на винахід № 110597 Україна, МПК (2015.01) А61К 31/198 (2006.01), А61К 9/00. Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії / І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, В. Г. Сюсюка ; патентовласник ТОВ «Науково-виробниче об'єднання «Фарматрон». № а 201506388 ; заявл. 30.06.2015 ; опубл. 12.01.16, Бюл. № 1. *(Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту)*.
2. Пат. на винахід №114270 Україна, МПК А61К 31/198 (2006.01), А61К 31/41(2006.01) А61Р 9/10(2006.01). Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова. № а201612503 ; заявл. 08.12.2016 ; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9. *(Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту)*.

Тези доповідей

1. Фармакологические портреты препаратов, разработанных в НПО «Фарматрон» в галерее инновационных лекарственных средств / И. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, О. В. Хромылева, Е. А. Нагорная. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 76-77.
2. Щодо доцільності створення нового комбінованого лікарського препарату для лікування захворювань центральної нервової системи / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 376-377.
3. Стратегія розробки нових фіксованих комбінованих лікарських засобів нейропротективної дії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 6-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 126.

4. Щодо створення нового комбінованого лікарського препарату на основі L-аргініну та тіотриазоліну / Л.І Кучеренко, І.Ф. Беленічев, І.А. Мазур, О.В. Хромильова. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф., Харків, 2017. С. 192.

5. Combined metabolitotropic endothelio protector "Argitryl" – new word in complex therapy of heart and vessel diseases / I. A. Mazur, I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova. *Актуальные вопросы медицины* : матеріали VI ежегодной междунар. науч.-практ. конф. Баку, 2017. С. 70-71.

6. Kucherenko L. I., Khromylova O. V. About possibility of L-arginine complexes formation with thiotriazolin. *Trends of modern science-2017* : materials of the XIII international scientific and practical conference. Sheffield, 2017. Vol. 17. P. 50-52.

7. Розробка нових лікарських засобів на основі морфолінію тіазотату / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, Харків, 2018. С. 169.

8. Деякі аспекти нейропротективної дії фіксованої комбінації гліцину з тіотриазоліном / І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 7-ї наук.-практ. конф. з між нар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2018. С. 255-256.

9. Drug development for the treatment of the cardiovascular diseases based on fixed combinations of thiotriazoline and transmitter amino acids/ I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, S. V. Shishkina, I. F. Belenichev, O.V. Khromylova. *Chemistry of nitrogen containing heterocycles* : materials of the XIII conference. Kharkiv, 2018. P. 91.

10. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Щодо технології отримання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Ліки людині.*

Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. (14-15 березня 2019 р.). Харків, 2019. С. 160.

11. Створення нового оригінального ендотеліопротектора на основі похідних 1,2,4-триазолу / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 327-328.

12. Використання високоефективної рідинної хроматографії при розробці нового лікарського засобу «Аргітрил» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 329-330.

13. Кучеренко Л. И., Хромилева О. В. Разработка технологии получения таблеток методом влажной грануляции на основе L-аргинина и морфолина тиазатата. *The world of science and innovation* : materials of II International Scientific and Practical Conference, London. United Kingdom 2020. P. 403-405.

14. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Підбір оптимальних умов визначення гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші методом ВЕРХ. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 8-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. С. 149-150.

15. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Розробка технології сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. *Eurasian scientific congress* : materials of X International Scientific and Practical Conference. Barcelona, 2020. P. 88-90.

16. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Modern science: problems and innovations* : materials of VIII International Scientific and Practical Conference. Stockholm, 2020. P. 96-98.

17. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Беленічев І. Ф. Створення нового комбінованого лікарського засобу на основі гамма-аміномасляної кислоти та морфолінія тіазотату. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V міжнар. наук.-практ. конф. Харків, 2020. С. 283.

Інформаційний лист

Спосіб комплексної, цитопротективної терапії вагітних із затримкою росту плода : інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я №161-2020 / В. Г. Сюсюка, Н. Г. Колокот, І. Ф. Беленічев, Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова. Київ, 2020. 3 с. (*Особистий внесок: участь у теоретичному обґрунтуванні досліджень*).

Khromylova O. V. Development and standardization of fixed combined neurometabolitotropic cerebroprotectors based on combinations of 1,2,4 triazole derivatives with aliphatic transmitter amino acids.- Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Pharmaceutical Sciences in specialty 15.00.03 "Standartization and organization of producing medicinal remedies". – Zaporizhzhia State Medical University, National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2021

The thesis is devoted to integrated study concerning the development and standardization of fixed combined neurometabolitotropic cerebroprotectors based on combinations of 1,2,4 triazole derivatives with aliphatic transmitter amino acids.

The introduction presents the rationale of the topic, the purpose, the task of the study, the scientific novelty and the practical value of the obtained results.

Section 1 of the thesis analyzes the data of scientific literature on the current state of medical application of neurotransmitter amino acids and amino acids. The analysis of the state of the modern pharmaceutical market of nootropic and anxiolytic drugs is carried out. The significance and prospects of creation of new combined

drugs on the basis of neurotransmitter amino acids and thiotiazoline in the form of substantiation are substantiated.

Section 3 is devoted to the preparation of the optimal composition, technology and standardization of a new combined drug L-arginine with thiotiazoline. Firstly, quantum chemical calculations were carried out, which theoretically showed that no covalent bonds arise between the active substances, but only unstable hydrogen ones. In addition, there have been deviatographic studies that have confirmed that L-arginine and thiotriazoline are a mixture of active substances that do not interact with each other. All of the above allowed to combine the active ingredients in one medical form in the form of drugs.

Studies have been carried out on the composition and technology of L-arginine tablets with thiotriazoline by the wet granulation method. Four groups of excipients were studied. When studying four qualitative factors, one of the plans of the analysis of variance was used - a four-factor experiment based on the Greco-Latin square. We also have studied the influence of excipients on: the process of pressing tablet core; the appearance of the surface of the tablet core after manufacturing; uniformity of dosing of tablet core mass; resistance of tablet core to crushing; friability of the tablet core and disintegration time of tablet core. The results of experimental studies were discussed using analysis of variance.

After the conducted pharmaco-technological studies and taking into account the results of the studies of qualitative and quantitative correlation of excipients, the optimal composition of tablet core was proposed. The tablet core obtained in laboratory conditions, with pharmacological and technological properties (homogeneity of mass, resistance to crushing, friability, disintegration, dissolution) comply with the requirements of the SPU.

Further, studies were carried out on the creation of a protective polymer shell on the surface of L-arginine-thiotriazoline. Ready-made mixtures of the Opadry brand were used as film-forming compositions, which are most often used by domestic pharmaceutical companies in the company. Experimental studies have made it possible to select a film-forming system for Opadry coating. In the course of the

study, the technological scheme of obtaining tablets by the method of wet granulation, which was tested on the basis of Private Joint Stock Company " Lekhim-Kharkiv", was developed.

Studies have been carried out on the standardization of active substances. The method of simultaneous determination of L-arginine with thiotriazoline in the model mixture, tablet mass and in tablets by the HPLC method was developed. The developed method of quantitative determination of active substances in tablet mass and tablets by the HPLC method, was tested and introduced into the quality system of Private Joint Stock Company "Lekhim-Kharkiv".

Methods of quantitative determination of active substances were validated with the following indicators: specificity, linearity, range of application, precision, robustness. All indicators met the requirements of the SFU.

The specification for the obtained L-arginine tablets with thiotriazoline has been developed. The following indicators were included: description, identification, average weight, uniformity of dosing, disintegration, dissolution, accompanying impurities, microbiological purity and quantification.

Studies of the stability of the created tablets have been carried out to determine the shelf life and storage conditions. The obtained results proved the stability of the tablets and the shelf life was determined to be 2 years in a dry, light-protected place at a temperature not exceeding 25 °C.

Section 4 is devoted to the development of composition, technology and standardization of a new combined drug based on glycine and morpholinium thiazotate. To confirm the possibility of combining glycine and morpholinium thiazotate in one dosage form, quantum chemical calculations and thermogravimetric studies were carried out. It is established that there is no stable chemical interaction between the components, a mixture of glycine and morpholinium thiazotate is a mixture of active substances that do not interact with each other and this makes it possible to combine them in one dosage form in the form of tablets. The physicochemical and technological properties of glycine, thiothiazoline and their mixture were studied and proposed to obtain combined tablets by direct compression.

16 excipients were studied. To study the influence of qualitative factors on the characteristics of the tablets, one of the plans of the analysis of variance was used - the Greco-Latin square. Powder mixtures were studied for fluidity, natural angle of repose, bulk density and bulk density after shrinkage. The influence of excipients on the process of compression and appearance of tablets, uniformity of their mass, friability, disintegration time and resistance to crushing were studied. Analysis of variance of the study results allowed choosing the optimal excipients on the basis of comparison of the obtained average values of the levels of the studied facts. In the course of the study, we have developed the technological scheme of obtaining glycine tablets with morpholinium thiazotate by direct compression, which was tested on the basis of Private Joint Stock Company " Lekhim-Kharkiv".

For the standardization of active substances, the HPLC methodology was developed, which allows the standardization of active substances in one weighed sample at the same time. Firstly, the optimal conditions for the analysis of active substances were selected. As the result of the conducted studies, it was found that for the joint determination of glycine with morpholinium thiazotate, both in the model mixture and in combined dosage forms, it is advisable to use as eluent - Tetrabutylammonium in the conditions of ion pair chromatography on the reverse phase with the simultaneous use of acidic buffer – 0.05% of trifluoroacetic acid solution. The developed methods of quantitative determination of active substances in the model mixture, tablet mass and tablets by the HPLC method, were tested and implemented in the quality system of Private Joint Stock Company "Lekhim-Kharkiv".

Next, the validation of the methodology of quantitative determination was carried out with the following indicators: specificity, linearity, range of application, precision, accuracy, robustness. All values met the requirements of the SFU.

The specification for the received tablets of glycine with thiotriazoline is developed according to the following indicators: description, identification, average weight, uniformity of dosing, disintegration, dissolution, accompanying impurities,

microbiological purity and quantification, which was included to the project of quality control methods.

A study of the stability of glycine tablets with thiotriazoline was carried out. To establish the shelf life, the tested samples of tablets were observed, which were stored in a dry place protected from light at a temperature not higher than 25 °C. The obtained results proved the stability of the tablets and the shelf life was determined to be 2 years in a dry, light-protected place at a temperature not exceeding 25 °C.

Section 5 provides study data on the composition, technology, and standardization of a new drug based on GABA and morpholinium thiazotate in the form of film-coated tablets. In order to account for the possible chemical interaction of the active substances, we have been carried out quantum-chemical calculations of GABA complexes with thiothiazoline that showed that there are no covalent bonds between the active substances, but only unstable hydrogen. To confirm and eliminate the risks of physical interactions between active substances, thermogravimetric studies were carried out and found that a mixture of GABA and thiotriazoline is a mixture of active substances that do not interact with each other. This makes it possible to combine them in one drug form. The carried out studies of physicochemical and pharmacological-technological indicators of GABA and thiotriazoline substances allowed suggesting the possibility of obtaining tablets by wet granulation. Further, studies were carried out on the selection of excipients for the obtaining of GABA tablets with the thiotriazoline by wet granulation. To study the three factors, each of which is taken on four levels, the Latin square of the third order was used. The influence of excipients on the appearance of tablets, uniformity of their weight, friability, disintegration time and resistance to crushing were studied. As a result of the conducted studies the optimum structure of tablet core was offered.

Further, a study was conducted regarding the choice of a film-forming coating for GABA-coated tablets with morpholinium thiazotate. Ready-made mixtures of the Opadry brand were used as film-forming compositions. Each batch of tablets obtained was evaluated for appearance, uniformity in weight, resistance of tablets to crushing, disintegration time. Analysis of experimental results showed that the best

film-forming system for coating is "OPADRY® II Complete film coating system 85F18422 White".

In addition, in the course of the study, we have developed the technological scheme of obtaining gamma-aminobutyric acid tablets with the morpholinium thiazotate by wet granulation which was tested on the basis of Private Joint Stock Company " Lekhim-Kharkiv".

The standardization methods by the HPLC method were developed for the created tablets.

Quantitative determination methods were validated for the following indicators: specificity, linearity, range of application, accuracy, robustness and precision.

The specification for the received GABA tablets with thiotriazoline was developed and included in the project of quality control methods.

To determine the shelf life, studies of the stability of the received GABA tablets with thiotriazoline were carried out. The obtained results proved the stability of the tablets and the shelf life was determined to be 2 years in a dry, light-protected place at a temperature not exceeding 25 °C.

Section 6 is devoted to the study of cardioprotective and endolioprotective actions, antioxidant, energetic and NO-modulating mechanisms of action of a new combined drug based on L-arginine with thiotriazoline, neuroprotective, anti-ischemic action of a new combined drug based on glycine with thiotriazoline, nootropic, antianxiety effect of a new combined drug based on gamma-aminobutyric acid with thiotriazoline.

As a result of the conducted studied, we have established that the combination of L-arginine with thiotriazoline significantly exceeds the reference drug Tivortin with an effect on the studied indicators of antioxidant, energetic and NO-modulating, cardioprotective and anti-ischemic actions; combination of glycine with thiotriazoline in the degree of influence on the indicators of neuroprotective, anti-ischemic, energetic action exceeded the reference drugs Piracetam and glycine; combined drug

GABA with thiotriazoline by force of neotropic, anti-amnesic, anxiolytic action exceeded Piracetam.

Key words: neurotransmitter amino acids, L-arginine, glycine, gamma-aminobutyric acid, thiotriazoline, tablets, HPLC, direct compression, wet granulation, mathematical planning of the experiment, standardization, cerebroprotectors, vascular diseases of the brain, stroke

ЗМІСТ

ВСТУП	29	
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ СТАН МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ НЕЙРОТРАНСМІТЕРНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА МОРФОЛІНІЮ ТІАЗОТАТУ І ЇХ КОМБІНАЦІЙ З ІНШИМИ ЛІКАРСЬКИМИ ЗАСОБАМИ (Огляд літератури).....		41
1.1 Сучасна стратегія нейропротекції	41	
1.2 Нейротрансмітерні амінокислоти	43	
1.3 L-Аргінін та його застосування в медицині	44	
1.4 Гліцин та його застосування в медицині.....	50	
1.5 Гамма-аміномасляна кислота та її застосування в медицині ..	54	
1.6 Морфолінію тіазотат та його застосування в медицині.....	56	
1.7 Технологічні аспекти створення і виробництва лікарських препаратів у формі таблеток	59	
1.8 Визначення ринку лікарських засобів України з групи засобів, що впливають на метаболічні процеси, а саме амінокислоти	63	
1.9 Вивчення асортиментної і фірмової структур психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів.....	69	
РОЗДІЛ 2 ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ 		79
2.1 Об'єкти і методи досліджень	79	
2.1.1 Характеристика діючих та допоміжних речовин як об'єктів дослідження.....	79	
2.2 Характеристика методів дослідження	84	
РОЗДІЛ 3 РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТАБЛЕТОК L-АРГІНІНУ З МОРФОЛІНІЮ ТІАЗОТАТОМ.....		90

3.1 Квантово-хімічні розрахунки суміші L-аргініну з морфолінію тiazотатом.....	91
3.2 Дериватографічні дослідження L-аргініну, морфолінію тiazотату та суміші L-аргініну з морфолінію тiazотатом.....	98
3.3 Розробка технології отримання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тiazотатом.....	101
3.4 Вибір плівкоутворюючого покриття для таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тiazотатом.....	117
3.5 Підбір оптимальних умов аналізу модельної суміші L-аргініну та морфолінію тiazотату методом високоефективної рідинної хроматографії.....	127
3.6 Визначення L-аргініну та морфолінію тiazотату в модельній суміші методом ВЕРХ.....	131
3.7 Визначення L-аргініну та морфолінію тiazотату в таблетковій масі методом ВЕРХ.....	135
3.8 Визначення доброякісності таблеток L-аргініну з морфолінію тiazотатом.....	137
3.9 Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток L-аргініну з морфолінію тiazотатом.....	150
3.10 Встановлення умов зберігання і терміну придатності таблеток L-аргініну з тіотриазоліном.....	169
Висновки до розділу 3.....	170

РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА

СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ГЛІЦИНУ З МОРФОЛІНІЯ ТІАЗОТАТОМ.....	175
4.1 Квантово-хімічні розрахунки діючих речовин.....	175
4.2 Дериватографічні дослідження.....	182
4.3 Розробка технології таблеток гліцину з морфолінія тiazотатом методом прямого пресування.....	184
4.4 Розробка методик стандартизації отриманих таблеток.....	214

4.4.1 Підбір оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з морфолінію тіазотатом методом ВЕРХ	214
4.4.2 Розробка методики стандартизації гліцину та морфолінію тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ	219
4.5 Визначення гліцину та морфолінію тіазотату в таблетковій масі методом ВЕРХ.....	222
4.6 Визначення доброякісності таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом.....	224
4.7 Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом	230
4.8 Вивчення стабільності таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом в процесі зберігання.....	250
Висновки до розділу 4	250
РОЗДІЛ 5 РОЗРОБКА СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ	
ТАБЛЕТОК ГАМК З ТІОТРИАЗОЛІНОМ.....	255
5.1 Моделювання можливості утворення комплексів тіотриазоліна з ГАМК	256
5.2 Термогравіметричні дослідження ГАМК, тіотриазоліну та їх суміші	258
5.3 Розробка складу та технології таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції	266
5.4 Розробка оптимального складу таблеток ГАМК з тіотриазоліном	280
5.5 Вибір плівкоутворюючого покриття для таблеток-ядер ГАМК з морфолінію тіазотатом.....	284
5.6 Розробка методики визначення ГАМК та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ.....	290
5.7 Розробка методики визначення ГАМК та тіотриазоліну в таблетковій масі методом ВЕРХ.....	292

5.8	Визначення доброякісності таблеток ГАМК з морфолінію тiazотатом.....	296
5.9	Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток ГАМК та тіотриазоліну.....	311
5.10	Вивчення стабільності таблеток ГАМК з морфолінію тiazотатом в процесі зберігання.....	326
	Висновки до розділу 5	327
РОЗДІЛ 6 ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ		330
6.1	Вивчення фармакологічної активності комбінації L-аргініну з тіотриазоліном	330
6.1.1	Вивчення кардіопротективної і ендотеліопротективної дії лікарської комбінації L-аргініну з тіотриазоліном та референс-препарату - тівортіну	330
6.1.2	Дослідження антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів кардіопротективної дії лікарської комбінації L-аргініну з тіотриазоліном та референс-препарату - тівортіну.....	337
6.2	Дослідження впливу гліцину, а також його комбінації з тіотриазоліном, на показники вуглеводно-енергетичних процесів та окисного метаболізму в умовах моделювання гострого порушення мозкового кровообігу	343
6.3	Дослідження фармакологічної дії комбінованого лікарського засобу на основі ГАМК з тіотриазоліном при корекції когнітивної дисфункції після кетамінової анестезії	349
6.4	Спосіб комплексної, цитопротективної терапії вагітних із затримкою росту плода.....	354
	Висновки до розділу 6	360
ВИСНОВКИ		365
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ		368
ДОДАТКИ		418

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АМФ	–	аденозинмонофосфорна кислота;
АДФ	–	аденозиндифосфорна кислота;
АТФ	–	аденозинтрифосфат;
АФК	–	активні форми кисню;
АФГ	–	альдегідфенілгідрозон;
АФІ	–	активний фармацевтичний інгредієнт;
ВЕРХ	–	високоєфективна рідинна хроматографія;
ВООЗ	–	Всесвітня організація охорони здоров'я;
ГАМК	–	гамма-аміномасляна кислота;
ГДК	–	глутаматдекарбоксилаза;
ГПМК	–	гостре порушення мозкового кровообігу;
ГПМЦ	–	гідроксіпропілметилцелюлоза;
ГПР	–	глутатіонпероксидаза;
ГР	–	глутатіонредуктаза;
ДНК	–	дезоксирибонуклеїнова кислота;
ДНФГ	–	дінітрофенілгідрозин;
ДР	–	допоміжна речовина;
ДФУ	–	Державна фармакопея України;
ЕД	–	ендотеліальна дисфункція;
ІМ	–	інфаркт міокарду;
КФК	–	загальна креатинфосфокіназа;
КФГ	–	кетонфенілгідрозон;
ЛЗ	–	лікарський засіб;
МВ-КФК	–	міокардіальна кардіоспецифічна креатинфосфокіназа;
МДГ	–	малатдегідрогеназа;
МКЦ	–	мікрокристалічна целюлоза;
МКЯ	–	методики контролю якості;

МОЗ	–	Міністерство охорони здоров'я;
МСТА	–	морфолінієва сіль тіазотної кислоти;
МТТА	–	3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтова кислота;
МЦ	–	мікроцелюлоза;
НАД	–	нікотінамідаденіндинуклеотид;
НАДН	–	нікотінамідаденіннуклеотид-фосфат;
NMDA	–	N-метил-D-аспартат;
NOS	–	синтаза оксида азота;
ПВП	–	полівінілпіролідон;
ПВС	–	полівініловий спирт;
ПЕГ	–	поліетиленгліколь;
РНК	–	рибонуклеїнова кислота;
СЗ	–	стандартний зразок;
ТШХ	–	тонкошарова хроматографія;
ФСЗ	–	фармакопейний стандартний зразок;
ЦНС	–	центральна нервова ситема;
ЦХО	–	цитохром-С-оксидаза;
ХСН	–	хронічна серцева недостатність.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження.

Судинні захворювання головного мозку – одна з головних причин захворюваності, смертності і інвалідизації населення країн Євросоюзу, США і Японії. Щорічно в світі переносять інсульт близько 6 млн осіб. Збільшення поширеності інсульту спостерігається у осіб працездатного віку – до 60 років. Згідно міжнародним дослідженням, в світі від інсульту щорічно вмирає 4,7 млн. людей. У більшості промислово розвинених країн інсульт займає 2-3 місце в структурі загальної смертності населення, поступаючись лише кардіоваскулярній патології. Рання 30-денна летальність після інсульту складає в середньому 30-40%, а протягом року вмирає близько 50% хворих. Інсульт є основною причиною інвалідизації населення. Лише близько 20% хворих, що вижили, можуть повернутися до роботи. За даними ВООЗ, середня вартість прямих і непрямих витрат на одного хворого складає близько 80 тисяч доларів США на рік. Таким чином, судинні захворювання головного мозку є надзвичайно важливою проблемою сучасної медицини.

На початку ХХ століття була розроблена поетапна стратегія комплексної терапії гострого порушення мозкового кровообігу, що включає в себе реперфузійну і реканалізаційну терапію, первинну і вторинну нейропротекцію. Реперфузійна і реканалізаційна терапія полягає в застосуванні в гострому періоді інсульту тромболітиків, антикоагулянтів і, з урахуванням формування ендотеліальної дисфункції (ЕД) - ендотеліопротекторів. З огляду на порушення в системі NO і дефіциту цього трансмітера в формуванні ЕД, як ендотеліопротектори розглядають: прекурсор NO L-аргінін, антиоксиданти та модулятори тіол-дисульфідної системи, що підвищують біодоступність NO - тіотриазолін, ангіолін. Первинна нейропротекція спрямована на переривання найраніших процесів ішемічного (глутамат-кальцієвого) каскаду, що розгортаються в межах «терапевтичного вікна» і лежать в основі швидкого некротичного пошкодження тканини мозку (J. Castillo, A. Davalos, Чекман І.С.,

Волошин Н.А.). До первинних нейропротекторів, ефективність яких доведена клінічно, відносять блокатори потенціалзалежних кальцієвих каналів (німодипін, цереброкрас, ісрадипін), блокатори натрієвих каналів, що запобігають пресинаптичному вивільненню глутамата (лубелузол, фенітоїн). До первинних нейропротекторів відносять антагоністи фенциклідинового і глутамінового сайтів NMDA-рецепторів – магнію сульфат та гліцин. Гліцин разом з нейротрансмітерною дією надає метаболітотропний, антиоксидантний і протиішемічний ефекти (Fisher M., Evans P., Клигуненко Е.Н., Площенко Ю.А.).

Вторинна нейропротекція входить до комплексу невідкладної терапії ішемічного інсульту, її дія спрямована на запобігання відстроченим механізмам пошкодження нейрону (оксидативний стрес, експресія прозапальних цитокінів, розвиток запальної реакції, індукція апоптозу, дискоординація метаболічних циклів, зменшення трофічної дисфункції тощо). До засобів вторинної нейропротекції відносять антиоксиданти (емоксипін, мексидол, тіотриазолін), ноотропи (пірацетам, семакс, неоглютил, ноопент, фенотропіл) та метаболітотропні препарати (мілдронат) (Дзяк Л.А., Мазур І.А., Беленічев І.Ф.).

Проте, сучасний арсенал засобів лікування мозкових інсультів не задовольняє всім вимогам клініцистів. Так, засоби первинної нейропротекції, особливо антагоністи глутаматних рецепторів, мають часті побічні ефекти, що не дає можливості для їх застосування в клініці, самотійна ефективність інших засобів мало доведена. Все це обумовлює створення нових високоефективних і малотоксичних препаратів нейропротективної дії. У створенні нових засобів основну роль відіграють фундаментальні дослідження, які дозволяють розкрити тонкі механізми загибелі нейрону в умовах гострої ішемії і намітити основні ланки-мішені. В цьому відношенні перспективними ланками є - глутаматна ексайтотоксичність, порушення в системі NO, оксидативний і нітрозативний стрес і ЕД. В даний час успіхи в розробці нових лікарських засобів пов'язані не тільки з синтезом нових хімічних сполук, але й, в значній мірі, з поліпшенням властивостей існуючих препаратів, зокрема, шляхом створення нових

лікарських форм з направленою доставкою до органу-мішені (Чекман І.С., Мазур І.А., Беленічев І.Ф.). Одним з перспективних підходів в розробці подібних лікарських форм є комбінація речовини, що діє, з антиоксидантами, які забезпечують посилення фармакологічної дії базового препарату. На теперішній час одним з відомих вітчизняних антиоксидантів є тіотриазолін. Тіотриазолін (морфолінію тiazотат) володіє антиоксидантною, мембраностабілізуючою, протиішемічною, антиаритмічною, імуномодулюючою, протизапальною, гепатопротекторною, кардіопротективною дією. Тіотриазолін регулює рівень АФК і NO, активує і регулює компенсаторний малат-аспартатний шунт енергії в умовах ішемії, підвищує активність тіол-дисульфідної системи. Крім того, тіотриазолін має унікальну властивість, а саме здатність підвищувати нейродоступність нейропсихотропних засобів та нейротрансмітерних амінокислот (Мазур І.А., Беленічев І.Ф., Коваленко С.І.). Як активні інгредієнти в потенційних комбінованих препаратах розглядаються нейротрансмітерні амінокислоти - ГАМК, гліцин, а також L-аргінін, які не тільки регулюють сигнали в нейронах, але беруть участь у механізмах нейроаптозу, синтезі білків шаперонів, енергетичному обміні, регуляції тонуусу церебральних судин (Комісаров І.В., Гусев Е.А., Геруш О.В.). Низкою робіт показана роль порушень в системі NO не тільки в патогенезі ішемічних інсультів, а й при інфаркті міокарда, ХСН, артеріальній гіпертензії, фетоплацентарній недостатності і т. інш. Все це обґрунтовує застосування нейротрансмітерних амінокислот, а також засобів, які нормалізують синтез NO, таких як L-аргінін, і створення на їх основі більш ефективних лікарських форм, в т.ч. комбінованих. Все вищезазначене дозволяє зробити висновок про доцільність і актуальність розробок у цьому напрямку.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами

Дисертаційна робота виконана згідно з планом науково-дослідних робіт Запорізького державного медичного університету "Цілеспрямований пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів та створення оригінальних лікарських засобів та фіксованих комбінацій лікарських препаратів" (номер

державної реєстрації 0113U000802) та "Пошук біологічно активних речовин в ряду азагетероциклів та розробка оригінальних і комбінованих лікарських препаратів" (номер державної реєстрації 0118 U 004257).

Мета дослідження: обґрунтування складу та створення нових фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами, розробка технології і стандартизація створених таблеток.

Завдання дослідження:

1. Провести аналіз джерел літератури у світлі новітніх уявлень щодо лікування захворювань ЦНС, методичних підходів до розробки лікарських засобів в таблетках та перспектив застосування антиоксидантів та нейротрансмітерних амінокислот – гліцину, L-аргініну та ГАМК як препаратів, що впливають на метаболічні процеси.

2. Методами молекулярного докінгу та термогравіметричного аналізу здійснити квантово-хімічні розрахунки та провести дериватографічні дослідження для обґрунтування можливості сумісного застосування тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот – гліцину, L-аргініну та ГАМК в розробці комбінованих засобів у твердих лікарських формах.

3. Методами математичного планування експерименту та фармако-технологічних випробувань здійснити дисперсійний аналіз та комплекс досліджень за вибором оптимальних складів діючих та допоміжних речовин розроблюваних комбінованих засобів «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» з вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно.

4. Розробити технологію одержання таблеток «Аргітрил» з фіксованим вмістом L-аргініну та тіотриазоліну, скласти технологічну схему їх виробництва, дослідити стабільність, встановити термін придатності розроблюваних таблеток, провести фармакологічні дослідження та відпрацювати технологію таблеток «Аргітрил» в умовах заводу-виробника.

5. Розробити технологію одержання таблеток «Гліцитрил» з фіксованим вмістом гліцину та тіотриазоліну, скласти технологічну схему їх виробництва, дослідити стабільність, встановити термін придатності розроблюваних таблеток, провести фармакологічні дослідження та відпрацювати технологію таблеток «Гліцитрил» в умовах заводу-виробника.

6. Розробити технологію одержання таблеток «Тіогамк» з фіксованим вмістом ГАМК та тіотриазоліну, скласти технологічну схему їх виробництва, дослідити стабільність, встановити термін придатності розроблюваних таблеток, провести дослідження за визначенням специфічної фармакологічної дії та відпрацювати технологію таблеток «Тіогамк» в умовах заводу-виробника.

7. Розробити методики визначення L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші та таблетковій масі методом ВЕРХ, методики стандартизації таблеток «Аргітрил» з фіксованим вмістом L-аргініну та тіотриазоліну, провести валідацію методики кількісного визначення L-аргініну та тіотриазоліну в розроблюваних таблетках, запропонувати специфікацію та розробити проєкт МКЯ на таблетки «Аргітрил».

8. Розробити методики визначення гліцину та тіотриазоліну в модельній суміші та таблетковій масі методом ВЕРХ, методики стандартизації таблеток «Гліцитрил» з фіксованим вмістом гліцину та тіотриазоліну, провести валідацію методики кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну в розроблюваних таблетках, запропонувати специфікацію та розробити проєкт МКЯ на таблетки «Гліцитрил».

9. Розробити методики визначення ГАМК та тіотриазоліну в модельній суміші та таблетковій масі методом ВЕРХ, методики стандартизації таблеток «Тіогамк» з фіксованим вмістом ГАМК та тіотриазоліну, провести валідацію методики кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну в розроблюваних таблетках, запропонувати специфікацію та розробити проєкт МКЯ на таблетки «Тіогамк».

Об'єкт дослідження: розробка нових комбінованих лікарських препаратів на основі похідних 1,2,4-триазолу (морфолінію тіазотат) з аліфатичними

нейротрансмітерними кислотами (L-аргінін, гліцин, гамма-аміномасляна кислота) у вигляді таблеток, дослідження їх властивостей і стабільності та розробка методів стандартизації отриманих комбінованих таблеток.

Предмет дослідження: фармацевтична розробка науково обґрунтованого складу і технології нових комбінованих таблеткованих лікарських препаратів на основі похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними нейротрансмітерними кислотами та їх стандартизація; вивчення фармако-технологічних та фізико-хімічних властивостей розроблених таблеток; розробка технологічних схем отримання комбінованих таблеток; дослідження їх стабільності в процесі зберігання; розробка МКЯ на отримані таблетки; фармакологічні дослідження комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними нейротрансмітерними кислотами.

Методи дослідження: У роботі були застосовані наступні методи досліджень: органолептичні (зовнішній вигляд), фізико-хімічні (кристалографічні властивості порошків, розчинність, термогравіметричний аналіз), фармакотехнологічні (стираність та стійкість таблеток до роздавлювання, середня маса, розпадання, однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу, однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу, розчинення), мікробіологічні (мікробіологічна чистота), якісний і кількісний аналіз АФІ (високоєфективна рідинна хроматографія, тонкошарова хроматографія), фармакологічні (вивчення специфічної дії препаратів у порівнянні з референтними препаратами), математичні (математичне планування експерименту та дисперсійний аналіз з метою оптимізації якісного та кількісного складу таблеток, статистична обробка експериментальних даних).

Наукова новизна отриманих результатів:

Вперше розроблено комбіновані засоби для лікування судинних захворювань головного мозку – «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно, які

за нейротропними властивостями значно переважають референс-препарати Тівортін, Гліцин та Пірацетам.

Запропонований оригінальний методологічний підхід щодо математичного планування експериментальних досліджень за вибором допоміжних речовин для таблеток-ядер з вмістом похідних 1,2,4-триазолу та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот. За результатами дисперсійного аналізу, проведеного при розробці таблеток «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк», складено ранжовані ряди переваг, що дозволяють оптимально обирати певні допоміжні речовини до складу розроблюваних комбінованих засобів на основі похідних 1,2,4-триазолу та амінокислот.

Науково та експериментально обґрунтовано оптимальну лікарську форму (таблетки), склад діючих і допоміжних речовин та розроблено технології одержання таблеток «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно; запропоновано технологічну схему їх виробництва та встановлено стабільність розроблюваних таблеток протягом 2 років спостереження.

Науково та експериментально обґрунтовано методики стандартизації таблеток «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк»; запропоновано методики кількісного визначення тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК в модельних сумішах, таблеткових масах та розроблених таблетках методом ВЕРХ; за результатами проведеної валідації методики кількісного визначення тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот в розроблених таблетках доведена її прийнятність для вирішення питань стандартизації.

За результатами фармакологічних досліджень вперше встановлено потенціювання нейропротективних властивостей тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот, що стало підґрунтям для чотириразового зниження терапевтичної дози тіотриазоліну у розроблених комбінованих засобах «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк». Вперше виявлено потужну їх

нейро-, кардіо- та ендотеліопротективну дії, а також антиоксидантні, протиішемічні, протитривожні та ноотропні властивості.

Наукову новизну досліджень захищено патентом України на винахід № 110597 «Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії» від 12.01.2016 р. та патентом України на винахід № 114270 «Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції» від 10.05.2017 р.

Практичне значення отриманих результатів

Розроблено та стандартизовано комбіновані засоби для лікування судинних захворювань головного мозку – «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно. Одержані результати досліджень можуть бути застосовані при розробці нових лікарських засобів на основі фармацевтичних комбінацій з антиоксидантами та амінокислотами.

Розроблено технологічні схеми одержання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном та ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції, гліцину з тіотриазоліном – методом прямого пресування, які відпрацьовано в умовах заводу-виробника ДП «ДНЦЛЗ» та впроваджено у технологічний процес лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ» (акти впровадження від 06.10.2020 р.); у систему контролю якості лабораторії таблетованих лікарських форм ПрАП «Лекхім» (акти впровадження від 16.10.2018 р.; 10.04.2019 р.; 29.05.2019 р.). Для комбінованих засобів «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» розроблено методики кількісного визначення діючих речовин в модельній суміші, таблетковій масі та таблетках методом ВЕРХ, які опрацьовано та впроваджено у систему якості ПрАТ «Лекхім-Харків» (акти впровадження від 10.02.2020 р.; 26.02.2020 р.; 05.03.2020 р.).

Розроблені методики стандартизації комбінованих засобів «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках з фіксованим вмістом

тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно покладено в основу проєктів документів «Методи контролю якості на лікарський засіб». Розроблені комбіновані засоби «Аргітрил» та «Гліцитрил» в таблетках включено до перспективного плану розвитку підприємства ПрАТ «Лекхім-Харків».

Базуючись на дослідженнях, що проведені при виконанні дисертаційної роботи, запропоновано комплексну цитопротективну терапію, яка включає в себе комбіноване застосування тіотриазоліну та L-аргініну у вагітних жінок. Даний метод впроваджений у систему охорони здоров'я відповідно Інформаційного листа про нововведення в сфері охорони здоров'я №161-2020: «Спосіб комплексної, цитопротективної терапії вагітних із затримкою росту плода».

Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси: кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (акт впровадження від 09.12.2020 р.); кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. Богомольця (акт впровадження від 28.09.2020 р.); кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет» (акт впровадження від 17.12.2019 р.); кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика (акт впровадження від 01.10.2020 р.); кафедри фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти (акт впровадження від 20.12.2019 р.), кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (акт впровадження від 03.10.2020 р.); кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету (акт впровадження від 03.12.2020 р.); кафедри фармації Івано-Франківського медичного університету (акт впровадження від 19.09.2020 р.); кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровської медичної академії МОЗ України» (акт впровадження від 18.01.2018 р.).

Особистий внесок здобувача

Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Безпосередньо автором проведено аналіз світових і вітчизняних інформаційних джерел щодо сучасного стану медичного застосування нейротрансмітерних амінокислот та морфолінія тіазотату, методичних підходів до створення таблетованих лікарських засобів, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі комбінацій антиоксидантів та нейротрансмітерних амінокислот з метою оптимізації лікування хвороб ЦНС. Дисертантом разом з науковим консультантом визначено мету та методологію досліджень, здійснено планування усіх експериментальних досліджень; обрано устаткування, необхідне для вирішення завдань; проведено науковий аналіз отриманих результатів; теоретично обґрунтовано і розроблено склад і технологію отримання таблеток на основі L-аргініну, гліцину, гамма-аміномасляної кислоти та тіотриазоліну; розроблено проєкти МКЯ; опрацьовано та узагальнено результати доклінічного вивчення лікарських засобів.

Усі наукові та практичні результати, положення, висновки та рекомендації, що викладені у дисертації, отримано автором самостійно. У всіх наукових працях, що опубліковані у фахових наукових виданнях у співавторстві (відповідно до списку опублікованих наукових праць за темою дисертації), дисертантом визначено мету, розроблено методи дослідження, реалізовано експериментальні дослідження, проведено аналіз і узагальнення одержаних результатів, підготовлено матеріали до друку.

Персональний внесок в усіх опублікованих працях з науковцями (Кучеренко Л. І., Мазур І.А., Бєленічев І. Ф., Шишкіна С. В., Портна О. О., Черковська Л. Г., Моряк З. Б., Німенко Г.Р., Дерев'янка Н.В., Скорина Д. Ю., Ткаченко Г.І., Левих А.Е., Баумер В.Н., Гура Е. Ю., Лисянська Г.П.) наведено за текстом дисертації, також в авторефераті у списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації

Основні положення дисертаційної роботи доповідались і обговорювались на: VIII Національному з'їзді фармацевтів України "Фармація XXI століття:

тенденції та перспективи" (Харків, 2016 р.); 6-ї науково-практичній конференції з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2016 р.); I міжнародній науково-практичній конференції "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 2017 р.); VI щорічній міжнародній науково-практичній конференції "Актуальные вопросы медицины" (Баку, 2017 р.); XIII international scientific and practical conference "Trends of modern science-2017" (Sheffield, 2017 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (Харків, 2018 р.); 7-ій науково-практичній конференції з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2018 р.); XIII conference in memoriam of Prof. Valeriy Orlov "Chemistry of nitrogen containing heterocycles" (Харків, 2018 р.); III міжнародній науково-практичній конференції "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 2019 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю "Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку" (Харків, 2019 р.); II International Scientific and Practical Conference "The world of science and innovation. London. United Kingdom" (London, 2020 р.); 8-ї науково-практичній конференції з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 2020 р.); X International Scientific and Practical Conference "Eurasian scientific congress" (Barcelona, 2020 р.); VIII International Scientific and Practical Conference "Modern science: problems and innovations" (Stockholm, 2020 р.); V міжнародна науково-практична конференція "Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії" (Харків, 2020 р.).

Апробацію роботи проведено на спільному засіданні кафедр аналітичної хімії; біологічної хімії, технології ліків; органічної і біоорганічної хімії; природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії;

фармацевтичної хімії; фармакогнозії, фармакології та ботаніки; фізикоїдної хімії; медичної та фармацевтичної інформатики і новітніх технологій; управління і економіки фармації; управління і економіки фармації; та фармацевтичної технології ФПО Запорізького державного медичного університету від 16 грудня 2020 року.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 470 сторінці друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, 6 розділів експериментальної частини, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків. Обсяг основного тексту – 312 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 64 таблицями та 180 рисунками. Список використаних джерел містить 403 найменування, з них 175 кирилицею.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНИЙ СТАН МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ
НЕЙРОТРАНСМІТЕРНИХ АМІНОКИСЛОТ ТА МОРФОЛІНІО
ТІАЗОТАТУ І ЇХ КОМБІНАЦІЙ З ІНШИМИ ЛІКАРСЬКИМИ
ЗАСОБАМИ
(Огляд літератури)

1.1 Сучасна стратегія нейропротекції

На сьогодні збільшення частоти гострих порушень мозкового кровообігу зумовило зростання поширеності судинних захворювань. Згідно з міжнародними дослідженнями щорічно в світі від інсульту вмирають 4,7 млн. В структурі загальної смертності населення, у більшості країн світу, інсульт посідає 3-є місце, поступаючись лише кардіоваскулярній патології. Інсульт є основною причиною інвалідизації населення. До колишньої роботи повертаються лише близько 20% тих хворих, що вижили. Серед всіх видів інсульту переважають ішемічні ураження мозку [44, 111, 112].

Тому концепція нейропротекції набуває останнім часом все більшого значення. Умовно можна виділити два основних напрямки нейропротективної терапії.

- первинна нейропротекція спрямована на переривання швидких механізмів некротичної смерті клітин - реакцій глутамат-кальцієвого каскаду. Цей вид нейропротекції повинен бути початий з перших хвилин ішемії і тривати протягом перших 3-х днів інсульту, особливо активно в перші 12 годин.

- вторинна нейропротекція спрямована на зменшення віддалених наслідків ішемії - гіперпродукції оксиду азоту, оксидативного стресу, активації мікроглії, експресії протизапальних цитокінів, локального запалення,

мітохондріальної дисфункції, посилення апоптозу. Вона може бути розпочата через 3-6 годин після розвитку інсульту і повинна тривати щонайменше 7 днів.

Нейропротектори важко класифікувати: сотні препаратів мають різну будову і неоднаковий механізм дії. Виділяють справжні ноотропи (провідна властивість - поліпшення когнітивних функцій: уваги, пам'яті, здатності до аналізу ситуації, прийняттю рішень, орієнтації в просторі) і ноотропні засоби (препарати полівалентної комплексної нейропротекторної дії) [13, 17, 54, 270, 320, 321, 371].

Для нейропротективних засобів характерно:

- поліпшення синаптичної передачі, нейрональної пластичності, міжполушарних взаємодій, кортикальних і субкортикальних зв'язків;
- стимуляція інтеграційних механізмів мозку (пам'яті, навчання);
- відновлення порушених функцій ЦНС після ішемії, травм, інтоксикацій;
- оптимізація пластичного і енергетичного обміну в нейронах;
- пригнічення процесів пероксидації білків, нуклеїнових кислот, ліпідів;
- збереження дихальної функції мітохондрій і активності АТФ-аз;
- інгібування лізосомальних ферментів;
- підвищення швидкості обороту АТФ, синтезу РНК, білків;
- здатність покращувати мозковий кровообіг і його ауторегуляцію;
- незначний вплив на психічні функції при відсутності стомлення;
- низька токсичність, добра переносимість;
- відсутність лікарської залежності.

Практично для кожного етапу патобіохімічного каскаду, що розвивається при церебральній ішемії, розроблено нейропротективний засіб. Проте, сучасний арсенал нейропротективної терапії не задовольняє всім вимогам клініцистів. Так, засоби первинної нейропротекції, особливо антагоністи глутаматних рецепторів, мають сильні побічні ефекти, що не дає можливості для їх застосування в клініці, самостійна ефективність других засобів мало доведена [59, 61, 62].

Тому перспективним напрямком в лікуванні гострої церебральної недостатності є пошук ефективної комбінації лікарських засобів, що впливають на різні етапи патобіохімічних процесів і стимулюючих відновлювальні процеси в нервовій тканині [118, 122, 139].

1.2 Нейротрансмітерні амінокислоти

Нейротрансмітерні амінокислоти - це хімічні речовини в головному мозку, що передають інформацію від одного нейрона іншому. Нейротрансмітерні амінокислоти керують головними функціями організму, включаючи рух, емоційні реакції і фізичну здатність відчувати задоволення і біль. Найбільш відомими нейротрансмітерними амінокислотами, що впливають на регуляцію настрою, є гліцин, аргінін, ГАМК, таурин, лізин, глутамінова кислота, аспартат [1, 13, 71, 142, 154, 279-283, 313, 325].

Нейротрансмітерні амінокислоти надають наступну дію на психічне здоров'я:

- впливають на настрій і розумовий процес;
- керують здатністю концентруватися і запам'ятовувати;
- керують центром апетиту в головному мозку;
- регулюють сон.

Крім того, нейротрансмітерні амінокислоти можна умовно розділити на дві категорії - збуджуючі і гальмуючі. Деякі нейротрансмітерні амінокислоти можуть здійснювати обидві ці функції. Збуджуючі нейротрансмітерні амінокислоти можна розглядати як "вмикачі" нервової системи, що збільшує ймовірність передачі збудливого сигналу. Збуджуючі нейротрансмітерні амінокислоти керують самими основними функціями організму, в тому числі: процесами мислення, реакцією боротьби або втечі, моторними рухами і вищим мисленням. Фізіологічно збуджуючі нейротрансмітерні амінокислоти діють як природні стимулятори організму, в цілому підвищують активність і енергійність. Якби не діяла гальмуюча система, що діє в зворотному напрямку,

це могло б привести до втрати управління організмом [71, 103, 121, 242, 243, 324].

Гальмуючі нейротрансмітерні амінокислоти є "вимикачами" нервової системи, зменшуючи ймовірність передачі збудливого сигналу. У головному мозку збудження повинно бути в рівновазі з гальмуванням. Занадто велике збудження призводить до занепокоєння, дратівливості, безсоння і навіть нападів. Гальмуючі нейротрансмітери регулюють активність збуджуючих нейротрансмітерів, діючи подібно гальмам автомобіля. Гальмуюча система уповільнює процеси. Фізіологічно гальмуючі нейротрансмітери виконують роль природних транквілізаторів організму, викликаючи сонливість, сприяючи спокою і зменшуючи агресивність [237, 239, 265, 268, 269, 272].

1.3 L-Аргінін та його застосування в медицині

Поява аргініну на фармацевтичному ринку пов'язана з сенсацією. Найбільш, мабуть, гучною, і самою останньою сенсацією в наукових медичних колах кінця ХХ століття. Аргінін - амінокислота, і звичайно, вона була відома задовго до того, як про неї заговорили, як про чудодійний засіб. Як про необхідний нашому організму елемент. З чим же пов'язаний такий інтерес до цієї давно відомої амінокислоти? Те, що аргінін здатний в організмі перетворюватися в оксид азоту, було відомо теж давно. Але оксид азоту завжди вважався вкрай шкідливою сполукою, згубною для всього живого. І з аргініном доводилося миритися, як з необхідною ланкою в побудові білкових молекул. Білок - основа життя. Всі наші тканини складаються з білків. Білки, в свою чергу, як з цеглинок, складаються з амінокислот. Аргінін і є така цеглинка. Одна з безлічі [188].

Все змінилося, як завжди, з волі випадку. Через лікарську помилку. У США, при дослідженнях ліків на серцеву діяльність, були переплутані препарати. Введений препарат, що містить оксид азоту, викликав різке розслаблення судин. Цим фактом зацікавився професор Ф.Ферчготт. Він і почав

вивчати вплив оксиду азоту на організм. Паралельно з ним дослідження проводили доктора Ф.Мурад і Л.Ігнарро.

В результаті троє цих американських вчених в 1998 р. були удостоєні Нобелівської премії за дослідження ролі оксиду азоту на людський організм. А медичний світ отримав сенсаційні відкриття. Оксид азоту - дуже важливий для всього організму [307].

В даний час проявляють великий інтерес до препаратів, що містять аргінін.

L-аргінін належить до полунезаміних кислот і вперше був виділений в 1886 році. У 1995 році визнали, що аргінін є продуктом гідролізу білків, а в 1910 році встановили його будову. Відомо, що з їжею доросла людина споживає 5,4 г амінокислоти, але біодоступність аргініну незначна, тому що фермент аргіназа слизової оболонки тонкого кішківника руйнує його і тільки 50% аргініну, споживаного з їжею, надходить в воротну вену і в подальшому в коло кровообігу.

Концентрація L-аргініну в крові становить 95250 мкмоль/л, проте це залежить від індивідуальної особливості організму, віку, дієти. Надходження аргініну в ендотелій також зумовлено генетичною особливістю мембранозв'язаних системи U^+ . Коли в організм людини надходить недостатня кількість аргініну, його рівень поповнюється внаслідок руйнування білків і/або в результаті цитрулінового циклу. Концентрація аргініну в ендотеліальній клітині залежить від активності аргінази, яка бере участь у перетворенні аргініну в орнітин і сечовину.

Оксид азоту є головною сполукою в регуляції судинного тону, мікроциркуляції та інших життєво важливих процесів. L-аргінін - головне джерело оксиду азоту [277, 306]. Синтез NO відбувається під впливом трьох форм NO-синтаз (NOS): двох конститутивних ендотеліальної (e-Nos) і нейрональної (n-Nos) і однієї індукційної (i-Nos). Цикл синтезу оксиду азоту, який каталізується NO-синтазою, відбувається в межах одного залізовмісного гематіолового центру і включає ряд послідовних стадій перетворення аргініну,

в результаті яких, крім оксиду азоту, утворюється також цитрулін [180, 181, 199, 323, 354, 403].

Проміжним первинним продуктом при перетворенні L-аргініну під впливом NO-сінтази є N-гідрокси-L-аргінін. Далі N-гідрокси-L-аргінін під впливом супероксиданіону продовжує метаболізуватися, генеруючи при цьому оксид азоту. При ферментативному окисленні аргініну NO-сінтазою окисником вважають молекулярний кисень (Wu G., Morris S.M., 1998). Інтенсивність ферментативного синтезу оксида азоту падає при зменшенні насичення крові киснем [Furchgott R.E., Zawadski J.V., 1980; Fike C.D. et al., 2000]. Вважають, що L-аргінін зв'язується з глобуліном білка близько залізовмісного гемтіолового центру і надалі залишається координованим в цьому положенні до утворення NO. Процес відбувається за участю НАДФН і кисню [Петренко Ю.М. та співавт., 2001]. Під час комплексної окисної реакції, що каталізується ферментом NO-сінтазою, фермент приєднує молекулярний кисень до кінцевого атома азоту в гуанідиновій групі L-аргініну [284, 291-296, 301, 305, 311, 318].

Вивільнення e-Nos з плазматичної мембрани, окислення L-аргініну і синтез NO підвищується під впливом рецепторзалежних (ацетилхоліну, брадикініну, серотоніну, тромбіну, АДФ, глутамату, субстанції P, яка підвищує концентрацію кальцію в ендотелії) і рецепторнезалежних агоністів (Ca^{2+} ; іонофори, Ca^{2+} АТФ) [Marin J., RodriguesMartinez MA, 1997]. Ефект вазодилатації L-аргініну опосередковується через NO завдяки властивості останнього активувати, як розчинну гуанілатциклазу, так і ЦГМФ-залежні протеїнкінази, знижувати вміст кальцію і його здатність до взаємодії з тропонінтропоміозіновим комплексом. Все перераховане грає дуже важливу роль в підтримці судинного тону, артеріального тиску кардіо і системної гемодинаміки [308-310]. При цьому посилюється вплив інших ендотелійзалежних дилататорів (ацетилхоліну, брадикініну, гістаміну) і гальмується вплив вазоконстрикторів (ангіотензину II, тромбоксану A2), в тому числі утворення ендотеліну-1, вивільнення норадреналіну закінченнями симпатичних нервів. Можливі також прояви антиоксидантної, гіполіпідемічної,

антитромбогенної, антиагрегатної активності NO. Оксид азоту бере участь в регуляції функції органів дихання [Пятин В.Ф., Татаренков В.С., 2005].

Таким чином, дефіцит NO призводить до порушення не тільки судинного тону, а й виникненню ішемічної хвороби і збільшенню зони інфаркту (Rossun G. et al., 2006), артеріальної гіпертензії (Lind I. Et al., 2000), в тому числі легеневої гіпертензії (Cooke JP, 2002, 2003), хронічної ішемії легенів (Masuda H. et al., 2002), системної гіпоксії, захворювань периферичних судин, церебральної ішемії, і як її наслідки мозкового інсульту (Kidd GA et al., 2002), атеросклерозу (Kauser K. et al., 2003), діабетичної ретинопатії, кардіоміопатії, резистентності до інсуліну (Shankar RR et al., 2000; Stuhlinger MC et al., 2002), ожиріння (Марков Х.М., Надірашвілі С.Х., 2003), порушень функції печінки (Бабак О.Я. і співавт., 2005), ниркової недостатності [225 - 228, 345, 346, 390, 392]

Вперше про роль ендотелію судин в регуляції судинного тону сповістили в 1980 році R. Furchgott і I. Zawadski (Тетері на О.Н., 2002). Надалі було встановлено, що ендотелій відіграє важливу роль не тільки в регуляції тону, а й зростання судин, в процесах адгезії лейкоцитів, в балансі профібрінолітичної і протромбогенної активності, причому головне значення при цьому має оксид азоту. Порушення біодоступності NO відіграє ключову роль в дисфункції ендотелію під впливом факторів ризику, в результаті пригнічення експресії/інактивації ендотеліальної NO-синтази (ферменту, який відповідає за синтез NO з аргініну) і зниження синтезу попередника NO - L-аргініну, зменшення на поверхні ендотеліальної клітини щільності рецепторів, активація яких веде до утворення NO [Марков Х.М., 2005]. У зв'язку з цим визначаються два основні шляхи підвищення синтезу NO: збільшення концентрації в клітині L-аргініну і/або підвищення експресії e-Nos [349, 381, 383].

В даний час існує достатня кількість експериментальних і клінічних робіт, що підтверджують доцільність застосування L-аргініну при захворюваннях, розвиток яких супроводжується дефіцитом NO [195, 196].

Нейротрансмітерна амінокислота в організмі бере участь в роботі серцево-судинної системи. Так відомо, що оксид азоту - це найважливіший регулятор судинної системи. Головний його ефект - здатність впливати на тонус судин, а якщо точніше, то розслабляти їх (зняти спазм). При цьому поліпшується робота серцевого м'яза. Тому L-аргінін, як і інші донатори NO, можуть не тільки попередити, але і зняти напад стенокардії. За рахунок розслаблення судин, збільшується приплив крові, а значить і кисню до серцевого м'яза. Серце знову здатне «дихати» відповідно до його навантажень. У деяких країнах (Японія, Греція) в разі гострого нападу стенокардії використовують L-аргінін, як препарат швидкої допомоги, у вигляді ін'єкцій [223, 224, 257].

Крім того, L-аргінін бере участь в комунікації між нервовими клітинами, сприяє синаптичній пластичності і поліпшенню пам'яті, а також є медіатором (імпульсного передавача), що обумовлює релаксацію гладком'язових клітин травного тракту, бронхів і ін [184, 185, 258, 372].

При дефіциті L-аргініну, в першу чергу, страждає система, що відповідає за виведення аміаку з організму і його знешкодження. У цій системі задіяні печінка і нирки, а ланцюг біохімічних реакцій носить назву орнітіновий цикл. Орнітіновий цикл - найважливіший шлях знешкодження аміаку, при його неспроможності страждає весь організм і в першу чергу печінка і нирки, тому що висока концентрація сечовини веде до їх пошкодження [190, 194, 230,].

Впливає L-аргінін і на імунну систему. NO, який синтезується в макрофагах і моноцитах, забезпечує їх цитотоксичну і цитостатичну активність по відношенню до чужорідних клітин, в тому числі і до мікробних, активує Т-лімфоцити і імуноглобулін Е [185, 187, 290, 340, 348].

Відомо, що L-аргінін входить до складу колагену, який підсилює каркас м'язів, хрящів [222, 229, 288].

Від нормального рівня в організмі L-аргініну залежить не тільки еректильна функція, але і сперматогенез. Відомо, що на тлі дефіциту L-аргініну змінюється склад сперми [206, 238, 343, 353, 365, 366, 389].

Так само L-аргінін покращує кровообіг і доставку кисню судинам головного мозку, периферичних судин (кінцівок). Збільшує приплив крові до зовнішніх статевих органів. Прийом L-аргінину супроводжується поліпшенням динаміки у хворих на цукровий діабет за рахунок поліпшення ендотеліальної функції [382].

Зниження NO є однією з передумов виникнення та прогресування атеросклерозу. Тому, пропонують спільно використовувати L-аргінін і антиоксиданти, з метою зниження рівня холестерину і зменшення прогресування атеросклерозу [303].

На основі наведеного вище можна сказати, що застосування нейротрансмітерної амінокислоти - L-аргінину, приводить до зменшення симптомів і поліпшення толерантності до фізичного навантаження та якості життя у людей, які страждають стенокардією. Існує припущення, що прийом L-аргінину перорально може знизити кров'яний тиск у здорових людей, людей з підвищеним артеріальним тиском, а також людей зі злегка підвищеним артеріальним тиском або без діабету [186, 193, 197, 300, 401].

Згідно літературних даних впливає, що прийом L-аргінину перорально або внутрішньовенно на термін до 8 тижнів збільшує приплив крові у людей із захворюванням периферичних артерій. Проте, при тривалому застосуванні (до 6 місяців) не покращує швидкість ходьби або відстань у людей із захворюванням периферичних артерій [250, 262, 263].

А прийом L-аргінину з рибонуклеїною кислотою (РНК) і ейкозапентаєною кислотою (ЕРА), перед операцією або після цього, допомагає скоротити час відновлення, зменшити кількість інфекцій, а також поліпшити загоєння рани після операції.

Таким чином, в даний час існує достатня кількість експериментальних та клінічних даних, що підтверджують доцільність застосування L-аргінину при захворюваннях (розвиток яких супроводжується дефіцитом NO): серцево-судинної системи, нервової системи, імунної системи, репродуктивної системи. Також L-аргінін бере участь в роботі детоксикаційної функції печінки (в тому

числі надає гепатопротективну дію), в роботі шлунково-кишкового тракту, є структурним компонентом сполучної тканини [285-289, 338, 373, 377, 379].

В роботах описана роль NO в цереброваскулярних захворюваннях. Так, дефіцит NO призводить до формування ендотеліальної дисфункції судин головного мозку. Вивчення судинного компонента кори головного мозку, представленого капілярною мережею, показало, що вже на 4-ту добу після ГПМК на тлі пригнічення експресії e-NOS спостерігається зниження щільності ядер ендотеліоцитів капілярів і судин м'язового типу, яке відображає процеси ішемізації кори мозку, закриття капілярів і зменшення щільності функціонуючих. Ендотеліальна дисфункція є предиктором таких грізних захворювань як ішемічний і геморагічний інсульту [176, 177, 297-299, 337]. У численних роботах також було показано безпосередню участь NO в процесі деструкції нейрона при ішемії. Отримано дані про зростання концентрації NO за рахунок експресії n-NOS та i-NOS в мозку тварин, як з фокальною, так і з глобальною ішемією на тлі депривації e-NOS. Концентрація NO в мозку починає збільшуватися з перших хвилин ішемії, досягаючи максимуму на 1-у та 3-тю добу. Вимірювання активності NOS показало різке збільшення активності цього ферменту, як у вогнищі ішемії, так і в пенумбрі, однак без урахування належності до певного типу NOS. Участь NO в пошкодженні і загибелі нейрона має свою специфіку і визначається ізоформами NOS, а також видом і стадією розвитку інсульту. Все це обґрунтовує застосування засобів, які нормалізують синтез NO, таких як L-аргінін і створення на їх основі більш ефективних лікарських форм, в т.ч. комбінованих [231-236, 362, 374, 393, 397, 402].

1.4 Гліцин та його застосування в медицині

Гліцин є однією із двадцяти амінокислот, які входять до складу білків. Крім того, гліцин це одна з цеглинок для збірки величезних молекул білків, вона бере участь в утворенні ще безлічі сполук: пурини - основа ДНК і РНК,

креатин - джерело енергії в м'язах, порфірини - основа гема, головною складовою гемоглобіну і інших гемвмісних білків, глутатіон - головний антиоксидант клітин, холін (вітамін В₄). Гліцин грає одну з головних ролей в роботі центральної нервової системи. За її участю відбувається гальмування передачі імпульсу в нервових клітинах. Ця амінокислота нейтралізує деякі токсичні сполуки в печінці. Всього налічують близько 16 важливих метаболічних шляхів за участю гліцину в нашому організмі. Назва гліцин походить від грецького "glycos"- солодкий. За структурою - це сама маленька з всіх теоретично можливих амінокислот.

На сьогодні гліцин викликає певний інтерес як перспективний первинний нейропротектор. Він забезпечує нормальне функціонування NMDA-рецепторів, завдяки впливу на гліцинові сайти, володіє метаболітотропним і енерготропним ефектом. На сьогоднішній день виявлена нейропротективна ефективність гліцину, він блокує NMDA-асоційовані канали потенціал-залежним способом, має значний нейропротективний ефект при відсутності побічних дій. Гліцин покращує енергетичний метаболізм нейронів за рахунок активації компенсаторного ГАМК-шунта. Гліцин покращує когнітивно-мнестичні функції ЦНС, з'являються гіпнотичні, седативні, анксиолітичні і протисудомні властивості.

Гліцин - природний активатор гальмівних нейротрансмітерних систем, в тому числі і при механізмах гострої церебральної ішемії. Поряд з нейротрансмітерними функціями, гліцин має також загальнометаболічну дію, пов'язує низькомолекулярні токсичні продукти (альдегіди, кетони), які у великих кількостях утворюються в процесі ішемії, підвищує активність антиоксидантних ферментів, знижуючи прояви мітохондріальної дисфункції.

Нейротрансмітерні властивості гліцин проявляє на рівні спинного та довгастого мозку. Пізніше була доведена роль гліцину, як гальмівного нейротрансмітера практично у всіх відділах ЦНС. У головному мозку висока щільність гліцинових рецепторів виявлена не тільки в структурах стовбура, але і в корі великих півкуль, стріатумі, ядрах гіпоталамуса, провідниках від лобової

кори до гіпоталамуса, мозочку. Експериментальними дослідженнями показано, що гліцин в субмікромолекулярних концентраціях необхідний для нормального функціонування NMDA-рецепторів. Активізація NMDA-рецепторів можлива за умови зв'язування гліцину з їх специфічними гліциновими сайтами, тобто гліцин є їх коагоністом. Гліцин знижує загибель нейронів при додаванні до інкубаційного середовища агоністів NMDA-рецепторів - глутамату і NMDA, причому не тільки зменшує загибель нейронів, а й впливає на морфологічний тип загибелі, перемикаючи його з некрозу на менш небезпечний апоптоз.

За літературними даними терапевтичний ефект амінокислоти гліцину використовують для лікування хворих з гострим порушенням мозкового кровообігу. Також дослідження відзначають, що депримує механізм гліцину на соматосимпатичні рефлекси має виражену виборчу гальмівну дію на функціональну активність нейронів ретикулярної формації [112].

Гліцин надає ноотропну, седативну, антистресову, стресопротективну дію. Антистресовий ефект гліцину реалізується внаслідок взаємодії амінокислоти з гліцинергічними рецепторами, яка активує процеси гальмування. Володіючи властивістю α_1 -адренолітика, гліцин запобігає надмірному впливу катехоламінів на клітину, збільшення вмісту яких, як правило, супроводжує стрес. Седативна дія препарату реалізується через ослаблення психоемоційних реакцій: знижується дратівливість, агресивна поведінка, знижується ймовірність конфліктних ситуацій, поведінка стає «адекватною» зовнішнім обставинам. Гліцин активує процеси гальмування [журнал "Фізіологія людини", 2001]. Гліцин впливає на процеси засинання, поглиблює сон [135].

Дія гліцину на вищу нервову діяльність проявляється підвищенням уваги, покращується процес навчання, він впливає на наростання швидкості лічильно-обчислювальних операцій і фізіологічних реакцій. Антитоксична дія гліцину є і щодо лікарських препаратів. Зокрема це відноситься до всіх груп психотропних засобів, застосування яких сприяє різкому зниженню вмісту цієї амінокислоти в нервовій тканині. Гліцин також здатний захищати нервову клітину за рахунок

впливу на мієлінові оболонки нейрона, оскільки гліцин включений в синтез лецитину, який є одним з головних компонентів фосфоліпідів.

Аналіз літературних даних підтверджує благотворний вплив гліцину на процеси адаптації при зміні рухових режимів, що виявляється в зниженні ступеня метаболічного дісгомеостаза [111, 112].

Метаболічні властивості гліцину сприяють посиленню відновних процесів [111, 112]. Він, також позитивно впливає на синтез колагену, перешкоджає швидкості і часу фізіологічного старіння. Як природний метаболіт організму гліцин проявляє властивості енергогенних антигіпоксантив прямої дії, зменшуючи ступінь гіпоксичного пошкодження дихального ланцюга. Відома здатність гліцину пригнічувати активацію адренергічної і гіпофізарно-адrenalової систем. Це ймовірно, пов'язане з антистресорним впливом на серцевий м'яз, за рахунок зменшення альтеративних змін міокарда при стресі [13].

Також, у літературі є відомості про використання нейропротективної дії гліцину в гострому періоді ішемічного інсульту. Автори при цьому вказують на важливість застосування високих доз препарату (1-2 г/сут) з перших годин розвитку інсульту, протягом 5 днів [111].

Вищезазначене показує терапевтичну широту застосування гліцину, з підтвердженням безпечності препарату. Гліцин може використовуватися для профілактики і лікування станів алкогольної інтоксикації, при лікуванні атаксії і тремору в разі розсіяного склерозу, для купірування больового синдрому в разі невралгії трійчастого нерва, при ураженні м'язової мускулатури і периферичних полінейропатіях. Оскільки гліцин постачає організму креатин, як необхідний елемент для функціонування м'язових клітин, він достатньо ефективний при лікуванні прогресуючої м'язової дистрофії.

Впливає гліцин і при лікуванні зниженої функції гіпофіза. Відомо також лікування менопаузального синдрому в поєднанні з замісною гормонотерапією. Патогенетично обгрунтовано застосування гліцину в комплексну терапію новонароджених з внутрішньоутробною гіпотрофією [111].

Гліцин активно залучений в забезпечення киснем процесу поділу клітин. Бере участь як важливий компонент вироблення регуляторних речовин, які беруть участь в роботі імунної системи. Гліцин - вихідний матеріал для синтезу інших амінокислот. Гліцин - донор аміногрупи при синтезі гемоглобіну і ряду інших речовин. Гліцин залучений в синтез сполучних тканин. У ситуації анаболічної фази необхідність в гліцині - підвищується. Підвищене споживання гліцину гальмує катаболізм білків. Гліцин - незамінний компонент в синтезі імуноглобулінів і антитіл.

1.5 Гамма-аміномасляна кислота та її застосування в медицині

Гамма-аміномасляна кислота була відкрита в 1950 році. Вперше вона стала продаватися в 1960-і роки в Японії, як лікарській засіб під назвою гаммалон.

ГАМК - це досить проста молекула, що синтезується з глутамату. Така хімія нашого мозку, що головне гальмо для медіатора є продуктом невеликого руйнування головного збудливого медіатора. Тобто від глутамату відщеплюється вуглекислий газ, і ось уже вийшла гамма-аміномасляна кислота, яка далі може використовуватися як медіатор і синтезується за місцем прямо в синапсах. ГАМК - це не харчова амінокислота. Ми її не їмо, тобто вона виходить в результаті синтетичних процесів в різних наших клітинах, насамперед в нервових клітинах. Цікаво, що в нейронах ГАМК виконує дві дуже різні функції. Так, приблизно 1% цієї речовини працює як медіатор, а 99% або, може бути, навіть більше працює в мітохондріях під час обміну енергією, під час синтезу АТФ і розпаду глюкози. Цей шлях - шлях розпаду глюкози - характерний саме для нейронів. Тобто в інших клітинах це не дуже помітно. А в нервових клітинах, коли глюкоза розпадається, один з проміжних продуктів - це як раз гамма-аміномасляна кислота. Вчені, свого часу довго не могли повірити, так само як у випадку з глутаматом, що дана речовина є медіатором. Тобто, здавалося б, медіатор же виконує дуже тонкі функції, його має бути мало і тільки в синапсах, а тут ми бачимо, що ГАМК багато у всьому нейроні, в

мітохондріях особливо. Гамма-аміномасляна кислота виконує функцію загального зміцнення діяльності нервової системи, поліпшення. Особливо це стосується вищих функцій мозку, таких як мислення, сприйняття, увага. Препарати такого роду називаються ноотропи. Тобто, ГАМК - це ноотропний засіб, який відновлює процеси метаболізму в головному мозку, сприяє утилізації глюкози мозком і видалення з нього токсичних продуктів обміну. Підвищує продуктивність мислення, покращує пам'ять, сприятливо впливає на відновлення рухів і мови після порушення мозкового кровообігу, надає легку психостимулюючу дію. Має легку гіпотензивну дію, знижує початково підвищений артеріальний тиск і вираженість обумовлених гіпертонією симптомів (запаморочення, безсоння), незначно знижує частоту серцевих скорочень. Має помірну антигіпоксичну і протисудомну дію. У хворих на цукровий діабет знижує вміст глюкози, при нормальному вмісті глюкози в крові надає зворотній ефект (за рахунок глікогенолізу) [120, 148, 164, 165, 208].

Цікава ГАМК і для спортсменів. Причина цього - стимулювання ГАМК передньої долі гіпофіза, що відповідає за вироблення гормону росту. Відзначимо, що дефіцит гормону росту провокує уповільнений розвиток, провокує депресивні стани і пригнічує статеву функцію, збільшує ризик виникнення серцево-судинних патологій.

Важливість гормону росту при заняттях силовими видами спорту важко переоцінити - він сприяє зростанню м'язової тканини, добре впливає на стан серцево-судинної, кісткової системи і на зниження відсотка вмісту жиру в організмі. Атлети у яких вироблення гормону росту знаходиться на належному рівні значно легше досягають успіху, наприклад у бодібілдингу або важкій атлетиці.

Відомий комбінований препарат "Олатропіл", до складу якого входять ГАМК та пірацетам. Однак відомо, що застосування пірацетаму може призвести до підвищення тривожності, порушення сну, агресивності і т.д. Крім того, багато клініцистів відзначають недостатньо високу ефективність препарату. Введення пірацетаму часто викликає епілептоформні судомні

напади, особливо у дітей. Тому, створення нового комбінованого лікарського засобу, до складу якого входять ГАМК з тіотриазоліном буде мати значно більш високу ефективність, а також сприятиме значному зниженню побічних ефектів - безсоння, знижувати ризики розвитку гіпертонічного кризу, транзиторних ішемічних атак, епілептоформних нападів, агресивності, агресії, в порівнянні з відомими засобами.

1.6 Морфолінію тіазотат та його застосування в медицині

На сьогоднішній день в комплексній терапії все частіше використовують антиоксиданти. Одним з перших вітчизняних препаратів, який використовують в комплексній терапії при лікуванні захворювань ЦНС, серцево-судинної системи є морфолінію тіазотат. Багаторічні дослідження серед похідних 1,2,4-триазолу, що проводяться на НВО «Фарматрон», дозволили серед великої кількості синтезованих біологічно активних сполук у вісімдесятих роках виявити одну, що стала згодом препаратом «Тіотриазолін». У 1991 році ТОВ «НВО «Фарматрон» завершує доклінічні дослідження тіотриазоліну. В 1993 році Фармакологічний комітет дозволяє проведення другої фази клінічних випробувань препарату тіотриазоліну. В 2009 році за рішенням Фармакологічного центру МОЗ України було проведено подвійне сліпе багатоцентрове рандомізоване плацебо-контрольоване дослідження в паралельних групах на базі 11 клінічних центрів України. Морфолінію тіазотат став першим лікарським засобом в країні, якому присвячене багатоцентрове дослідження з ефективності застосування його при лікуванні кардіологічної патології [7, 8].

Морфолінію тіазотат (Морфоліній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат) - первісток національної фармації - зайняв гідне місце в арсеналі метаболітотропних і антиоксидантних засобів, і використовується у вигляді різних лікарських форм - таблеток, ін'єкційних розчинів, мазі, свічок, очних крапель. Морфолінію тіазотат має широкий спектр фармакологічної дії -

антиоксидантну, мембраностабілізуючу, протиішемічну, антиаритмічну, імуномодулюючу, протизапальну, гепатопротективну, кардіопротективну [36, 65, 107, 108, 144, 149, 174].

В даний час, з огляду на роль оксидативного стресу в механізмах пошкодження клітини при більшості захворювань людини, практично обов'язковим є включення антиоксидантів в комплекс медикаментозного лікування з метою потенціювання дії засобів базової терапії [240, 251]. І, по-друге, з огляду на ряд серйозних побічних ефектів базових засобів, спрямованих на порушення тонких ланок метаболізму органів і тканин, призначення в комплексну терапію антиоксидантів може підвищити безпеку пропонованого медикаментозного лікування. У зв'язку з цим, одним з перспективних підходів до розробки лікарських засобів, що розробляються на НВО «Фарматрон», є зв'язування діючих речовин в молекулярний комплекс з сумісними за фізико-хімічними та фармакологічними характеристиками антиоксидантами або метаболітами, і створення препарату на основі фіксованої комбінації, що забезпечує захист базового препарату від швидкого метаболізму в організмі і покращує його транспорт через біологічні мембрани. Такий підхід до створення комбінованих препаратів визначає і їх більш високу, у порівнянні з застосуванням у вигляді окремих компонентів комплексного лікування, терапевтичну ефективність, і дозволяє пролонгувати ефект діючої речовини за рахунок підвищення афінності до рецептора органу-мішені. Результатом цього напрямку стало створення двох комбінованих препаратів - Тіодарону і Тіоцетаму. Вдалим прикладом створення антиангінальних препаратів на основі фіксованих комбінацій з антиоксидантами є препарат «Тіодарон», де в якості антиоксидантного компонента був обраний морфолінію тіазотат, а як основний базовий компонент - антиаритмічний та антиангінальний препарат амідарон. На основі фіксованої комбінації тіотриазоліну і пірацетаму був створений ефективний ноотропний і нейропротективний препарат «Тіоцетам», широко застосовуваний в неврологічній, герантологічній, педіатричній і психіатричній практиці. Тіоцетам вдало поєднує у своїй дії ноотропну, мнемотропну,

антигіпоксичну дію пірацетаму, з антиоксидантним, протиішемічним, адаптогенним ефектом тіотриазоліну [14, 53, 55, 78, 142, 151, 163].

Численні експериментальні дані і результати клінічного застосування тіотриазоліну та його комбінованих лікарських форм дозволили виявити структурні фрагменти молекул, що визначають наявність і силу протиішемічної, антиоксидантної, нейропротективної, кардіопротективної і енерготропної активності. Аналіз взаємозв'язку «структура-активність» дозволив визначити перспективні напрями створення нових біологічно активних сполук на основі 1,2,4-триазолу [137].

Морфолінію тіазотат входить в комбінацію лікарських засобів, що випускаються серійно заводами України, такі як Тіоцетам, Тіодарон, Індотріл. Морфолінію тіазотат в цих комбінаціях знижує токсичність, нівелює побічні дії [124].

У теперішній час вітчизняними виробниками (Корпорація «Артеріум», до складу якої входять завод «Київмедпрепарат» і АТ «Галичфарм») випускаються таблетки тіотриазоліну по 0,1 г і 0,2 г, таблетки тіоцетаму і тіоцетаму-форте, таблетки тіодарону та індотрилу; ін'єкційні розчини тіотриазоліну 1% по 2 мл і 2,5% по 2 мл і 4 мл, тіоцетаму по 5 і 10 мл. Дослідний завод «ДНЦЛЗ» виготовляє очні краплі тіотриазоліну, ЗАО «Лекхім» м. Харків випускає супозиторії тіотриазоліну по 0,2 г, АТ «Червона Зірка», м. Харків - мазь тіотриазоліну 2%. Субстанція морфолінію тіазотат випускається заводом «Реактив».

Для узагальнення досвіду застосування препарату «Тіотриазолін» в медицині, оцінки досягнутого та вироблення перспектив застосування препарату в подальшому, в 2002 році була проведена науково-практична конференція «Тіотриазолін – підсумки та перспективи використання в медицині» на базі Запорізького державного медичного університету. На конференції зазначалось, що морфолінію тіазотат поступово зайняв гідне місце серед фармакологічних засобів, які використовують лікарі при лікуванні захворювань серця та внутрішніх органів.

30 вересня по 1 жовтня 2010 в Запорізькому державному медичному університеті при підтримці АМН України та Міністерства охорони здоров'я України була проведена міжнародна конференція «Тіотриазолін та його композиційні лікарські препарати: досягнення та перспективи». Конференція була включена в Реєстр з'їздів, конгресів, симпозіумів та науково-практичних конференцій Укрмедпатентінформа під №122 на 2010 рік. На конференцію було направлено більше 170 робіт вчених з 6 країн: Білорусії, Австрії, Казахстану, Російської Федерації, Узбекистану, України.

1.7 Технологічні аспекти створення і виробництва лікарських препаратів у формі таблеток

На сьогодні таблетована лікарська форма є найбільш широко використовуваною завдяки своїй зручності з точки зору введення, компактності та простоти у виробництві. Таблетки складають понад три чверті від загального обсягу готових лікарських засобів. Але основною проблемою, пов'язаною з пероральними лікарськими формами, є труднощі ковтання в основному для педіатрії, геріатрії, інвалідів, прикутих до ліжка та психічно хворих. Щоб подолати цю слабкість та поліпшити якість життя та лікування таких пацієнтів вчені розробили інноваційні системи доставки ліків, відомі як таблетки, що "тануть у роті" або "розчиняються у роті" [189]. Їх зростаюче значення було підкреслено нещодавно, коли Європейська Фармакопея прийняла термін "ородисперсійна таблетка" - таблетка, яку потрібно покласти в рот, де вона швидко розчиняється перед ковтанням [178, 212, 220, 221, 253]. Їх характерні переваги, такі як введення без води в будь-якому місці та в будь-який час, приводять до їхньої придатності для різних пацієнтів [254, 329, 330, 339, 350, 360]. На сучасному ринку ці таблетки стають популярними, як лікарська форма, за рахунок швидкого початку дії, підвищеної біодоступності та доброї стабільності [183, 191, 211, 213, 216, 217, 255, 256, 358, 368].

Процес виготовлення таблеток можна класифікувати, як грануляцію та пряме пресування. Грануляція може бути як вологою, так і сухою [4].

Пряме пресування, серед відомих методів виробництва таблеток, відрізняється простотою виконання, мінімальною кількістю стадій, низькою енергозатратністю, кращою стабільністю та мінімальною мікробною контамінацією готового препарату. Але метод прямого пресування застосовується для порошків, які мають добру текучість, пластичність, здатність до пресування, однорідний фракційний склад, низьку адгезію до прес-інструменту. Речовини із ізодіаметричною формою кристалів володіють кращою сипучістю, відносно високою насипною густиною, а анізодіаметрична форма кристалів сприяє добрій здатності до пресування, але призводить до погіршення текучості [123, 334, 335, 375].

Коли неможливо таблетовану форму отримати методом прямого пресування, використовується технологія грануляції. Процес гранулювання може бути визначений як процес збільшення розміру, при якому дрібні або грубі частинки перетворюються на фізично міцніші та більші агрегати [16]. Технологія пресування з попередньою вологою грануляцією полягає в попередньому змішуванні компонентів, зволоженні, сушці, обпудрюванні, таблетуванні та покритті таблеток оболонкою. Зволоження відіграє ключову роль у процесі грануляції, під час якої за рахунок рідини, відбувається злипання часток різної величини і питомої густини, при чому міцність гранул зростає при збільшенні кількості доданої рідини. Для технології пресування з попередньою вологою грануляцією на кожній стадії процесу важливо враховувати критичні параметри (розмір часток АФІ, марки та кількості ДР, кількість зволожувача, параметри зволоження та сушки та ін.). Щодо використання даної технології також існують обмеження: зволоження та дія температури під час сушки можуть призвести до хімічної нестабільності таблеток, труднощі з розподілом низькодозових АФІ, дана технологія є тривалою та енергозатратною. Таким чином, на теперішній час технологія пресування після вологої грануляції залишається перспективною для впровадження на фармацевтичних

підприємствах, тому досліджуються нові можливості (виробничі, економічні) для її використання [215, 218].

При виробництві таблетованої лікарської форми важливе значення має не лише вибір методу її одержання, але і вибір ДР та їх співвідношення в складі таблеток [2, 32, 43, 52, 57, 134, 192].

ДР використовуються у виробництві таблеток з метою надання масі для таблетування необхідних технологічних властивостей, забезпечення точності дозування, механічної міцності таблеток, розпадання і стабільність їх при зберіганні. Зазвичай таблетки містять наповнювачі, зв'язуючі, розпушуючі, змащуючі, ковзні та інші ДР [56, 126, 143, 400].

Для забезпечення необхідної (певної) маси, розміру таблетки, для поліпшення текучості використовуються наповнювачі: крохмалі (картопляний та кукурудзяний), лактоза, глюкоза, МКЦ, сахароза, кальцію карбонат, натрію гідрокарбонат, маніт, сорбіт, декстрин та багато інших. Кількість наповнювачів в таблетці може досягати до 90 %. Використання одного наповнювача може не забезпечити необхідних властивостей масі для таблетування та готовим таблеткам, тому склад ДР розширюють шляхом створення комбінацій, використовуючи їх різні властивості, що дозволяє в кожному окремому препараті оптимально підібрати склад і технологію при використанні різних методів одержання таблеток, які містять один і той же АФІ, але різний склад ДР можуть відрізнитися ефективністю дії [15, 67, 347, 361, 398].

Забезпечують процес розпадання таблеток у водному середовищі, в результаті чого відбувається вивільнення АФІ – розпушувачі (дезінтегранти) [278, 319, 331-333]. Роль розпушувачів у забезпеченні необхідного розпадання та, відповідно вивільнення АФІ, вкрай важлива. Розпушувачі додають до твердих ЛФ, щоб полегшити їх розпадання на менші частинки після контакту з шлунковим соком. Вони зазвичай додаються в кількості 1-10%, найпоширенішими представниками цієї групи є: крохмаль, натрію кроскармелоза, кросповідон та натрію крохмальгліколят [399]. Залежно від типу та кількості дезінтегранту, час розпадання таблетки може змінюватися.

Основним фактором при виборі розпушувачів є розчинність компонентів твердої ЛФ. В таблетках, в яких більшість компонентів розчинні в воді, використовують капілярні дезінтегранти [200, 201, 210, 261, 336]. Механізм дії полягає в тому, що дезінтегрант по капілярам транспортує воду та розчиняє компоненти таблетки, що призводить до швидкого розпадання. До таких відносять натрію кроскармелозу, що являє собою речовину на основі целюлози з оптимальною функціональністю та волокнистою природою. Якщо більшість компонентів в таблетці нерозчинні, доцільно використовувати набухаючі розпушувачі, які швидко поглинають воду, завдяки чому швидко збільшується об'єм та відбувається розпадання таблетки. До даного типу відносяться – натрію крохмальгліколят, кросповідон [49, 344, 351, 359, 363, 376].

Зв'язуючі речовини виконують роль клейких речовин, які забезпечують пластичність маси, що в свою чергу допомагає при пресуванні отримати необхідну механічну міцність. Тип, кількість, спосіб введення зв'язуючої речовини в комбінації з розпушувачами напряду впливають на розмір гранул та параметри таблеток (міцність, розпадання, розчинення), що призводить до досягнення необхідної біодоступності препарату [202, 341, 342].

Попереджують зчеплення гранул/порошку з прес-формою/поверхнею таблетпресу і сприяють їх легкому виштовхуванню з матриці після пресування – змащувальні речовини (лубриканти). Окрім зменшення тертя, лубриканти можуть також викликати небажані зміни, такі як зменшення міцності таблетки при пресуванні та уповільнення розпадання, розчинення та біодоступність таблеток завдяки гідрофобним властивостям. Таким чином, їх концентрація зазвичай складає 0,25-1 %, але в разі необхідності, при проведенні досліджень, які показують відсутність впливу на показники якості таблеток, допускається збільшення концентрації до 5 %. Найбільш поширеними представниками даного класу є магнію та кальцію стеарати. Альтернативою є кислота стеаринова, натрію стеарилфумарат та інші.

Покращують текучість – ковзні речовини. Вони прилипають до часток/гранул, завдяки чому зменшується тертя між ними. При розробці

потрібно враховувати, що надмірна кількість ковзних речовин може негативно вплинути на міцність, розпадання та розчинення таблеток. Найчастіше використовуються тальк в кількості до 3 % та кремнію діоксид колоїдний в кількості до 10 %.

Для створення необхідних органолептичних властивостей таблеток використовують ароматизатори, барвники та ін.

Ароматизатори – ДР, які вводять в композицію для видалення або маскуванню гіркого смаку, запаху. Ароматизатори вводять безпосередньо в таблетну масу або в плівкове покриття. Вони доступні в різних формах: розчини, масляні основи, емульсії, сухі порошки, гранули. Вид та кількість ароматизатору має бути підібрана таким чином, щоб його кількість не вплинула на міцність, розпадання та розчинення таблеток [50, 58, 204].

Барвники – ДР, що мають фарбувальні властивості, які використовують для покращення зовнішнього вигляду (маскування неприємного, неоднорідного кольору), для доповнення смаку таблеток (наприклад, апельсин, малина, лимон – додаються відповідні барвники), ідентифікації та диференціації таблеток (уникнення помилок при застосуванні препаратів, які мають однакові форму та розміри, але відносяться до різних фармакологічних груп). Також барвники широко використовуються при виготовленні препаратів, АФІ яких є світлочутливими. Додавання барвників в даному випадку забезпечує стабільність препарату. Діляться на розчинні і нерозчинні. Можуть додаватися в розчиненому вигляді або суспензії в масу або на стадії обпудрювання.

1.8 Визначення ринку лікарських засобів України з групи засобів, що впливають на метаболічні процеси, а саме амінокислоти

Аналіз ринку України згідно з даними Державного реєстру лікарських засобів України (на 20.05.2019 р.) був проведений для засобів які впливають на метаболічні процеси, а саме амінокислоти. Ця група налічує 30 препаратів різноманітних виробників під різними торговими марками [106, 162].

Аналіз фармакологічної групи за діючою речовиною. Фармакологічна групи представлена 16 діючими речовинами, більшість з них складають лізину гідрохлорид та таурин, а саме, вони є діючими речовинами 5 (16,7%) препаратів, що вивчалися. Також треба відмітити, що лікарські форми цих діючих речовин дуже різноманітні. Так, наприклад, лізину гідрохлорид входить до складу як розчинів для інфузій та ін'єкцій, так і таблеток та капсул, а таурин у таблетки та очні краплі. Наступною діючою речовиною є гліцин (13,3%), який є основною діючою речовиною 4 препаратів, всі вони є таблетками. Такі діючі речовини як: L-орнітину-L-аспартат, аргініна глутамат та кислота рибонуклеїнова входять до складу лише 2 (6,7%) препаратів з даної групи, а бета-аланін, левокарнітин, кальцію хлорид, кислота L-глутамінова, D, L-метіонін, цитрулін малат, L-лейцин, комплекс ембріональних пептидів та олігопептидів, концентрат церебралізіну, аргініну цитрат входять до складу тільки 1 (3,3%) лікарського засобу (рис. 1.1).

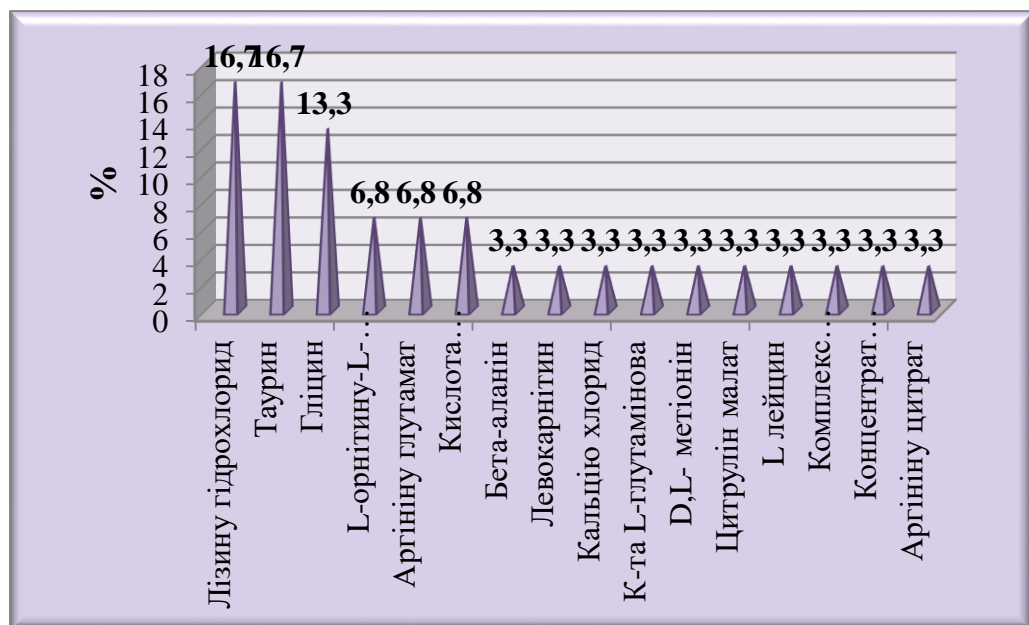


Рис. 1.1 Аналіз діючих речовин які входять до складу засобів що впливають на метаболічні процеси, які присутні на ринку України

Аналіз фармакологічної групи за місцем виробництва. Роблячи аналіз цього критерію ми дійшли висновку, що основний асортимент формується за

рахунок лікарських засобів вітчизняного виробництва: на їх частку припадає 53,3%, препарати закордонного виробництва займають на ринку відповідно 46,7% асортименту лікарських засобів з групи амінокислот (рис. 1.2).

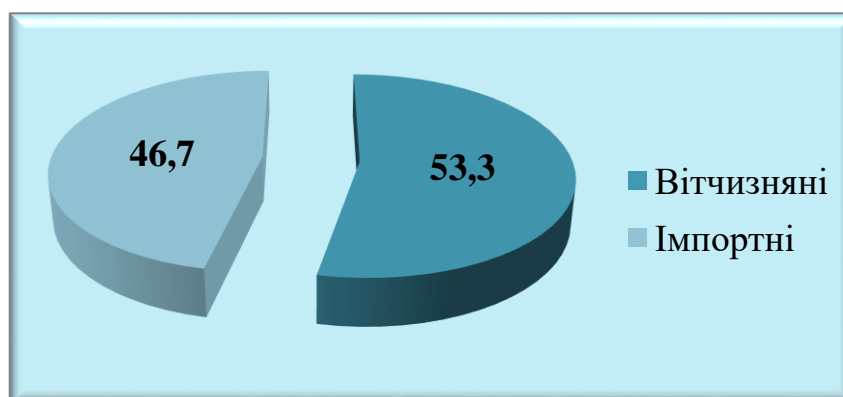


Рис. 1.2 Доля вітчизняних препаратів на ринку України

Аналіз фармакологічної групи за країною – виробником. Встановлено, що перше місце за кількістю лікарських засобів з групи амінокислот серед країн-виробників, які вивчалися, займає Україна, яка виробляє 53,3% (16 найменувань). За нею йде Франція 13,4% (4 найменування), Німеччина 10,0% (3 найменування). Далі РФ яка у свою чергу виробляє лише 6,8% (2 найменування), а Ірландія, Австрія, Китай, Таїланд, Індія тільки по 1 препарату – 3,3% (рис. 1.3).

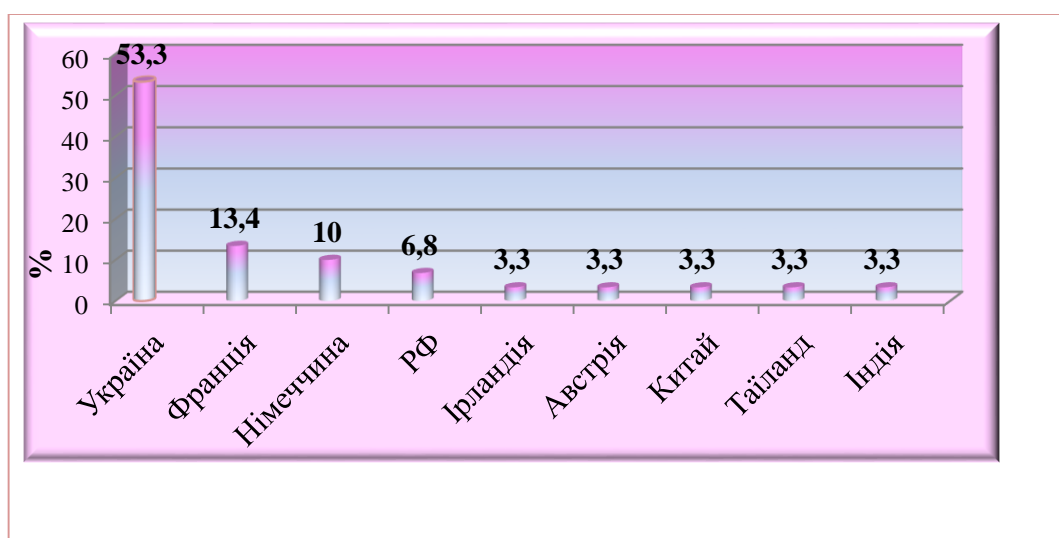


Рис. 1.3 Доля препаратів з групи амінокислот різних країн – виробників на ринку України

Аналіз фармакологічної групи за лікарською формою. Вивчені ЛЗ з групи амінокислот представлені у наступних лікарських формах: таблетки (30,6%), краплі очні (13,8%), розчин для ін'єкцій (13,8%), капсули (11,0%), порошки для орального застосування (5,6%), розчин для орального застосування (5,6%), розчин для інфузій (5,6%), гранулят (5,6%), концентрат для інфузійного розчину (5,6%), розчин для перорального застосування (2,8%). З усього вище зазначеного можна зробити висновок, що більшість країн-виробників випускають тверді лікарські форми, а саме таблетки, окрім Індії, Таїланду, Німеччини, Ірландії та Австрії. Україна випускає окрім таблеток, розчини для ін'єкцій, капсули, очні краплі та порошки для орального застосування. Також треба відзначити, що таблетки, як лікарська форма, займають перше місце через такі фактори:

- точність дозування лікарських речовин, що входять до складу таблетки;
- портативність таблеток, що забезпечує зручність їх відпускання, зберігання і транспортування;
- тривала цілісність лікарських речовин у спресованому стані;
- для речовин недостатньо стійких — можливість нанесення захисних оболонок;
- можливість маскування неприємних органолептичних властивостей (смак, запах, забарвлення), що досягається нанесенням покриттів;
- поєднання лікарських властивостей, несумісних за фізико-хімічними властивостями в інших лікарських формах;
- пролонгування дії лікарських речовин (нанесенням певних покриттів, використанням спеціальної технології і складу таблеток-ядер);
- регулювання послідовного всмоктування декількох лікарських речовин з таблетки у визначені проміжки часу (багатошарові таблетки);
- запобігання помилок при відпусканні і прийманні ліків завдяки нанесенню на поверхні таблеток відповідних написів.

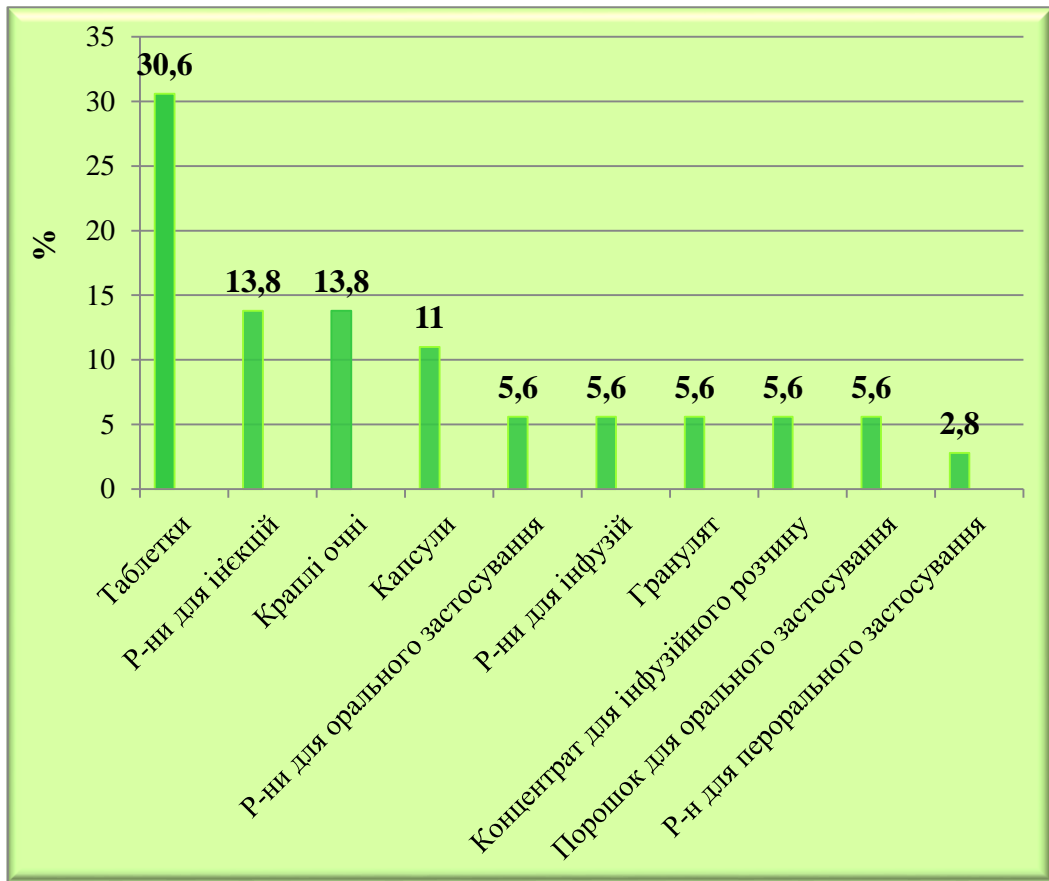


Рис. 1.4 Лікарські форми препаратів з групи амінокислот на ринку України

Аналіз фармакологічної групи за категорією відпуску. Треба зазначити, що увагу не оминув і той факт, що з перерахованих 30 препаратів рівно половина припадає на рецептурні (50,0%) та на безрецептурні (50,0%). Тому можна зробити висновок, що засоби які впливають на метаболічні процеси які реалізуються на території України, можна придбати як за рецептом, так і частково без рецепта (рис.1.5).

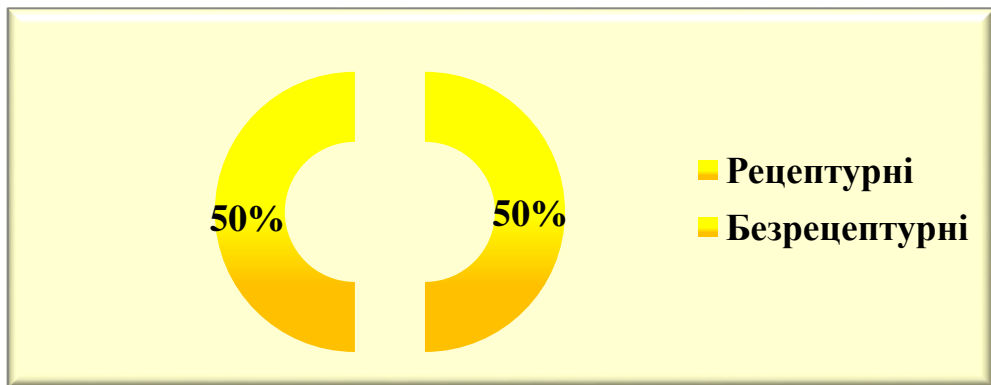


Рис. 1.5 Аналіз амінокислот на ринку України за категорією відпуску

1.8.1 Аналіз засобів, що впливають на метаболічні процеси вітчизняного виробництва

Спираючись на дані, які представлені у табл. 1.1, можливо зробити висновок, що серед вітчизняних виробників амінокислот беззаперечними лідерами є ВАТ «Київмедпрепарат» та ТОВ фармацевтична компанія «Здоров'я», які реалізують на фармацевтичний ринок України по 4 препарати (25,0%). По 2 препарати (12,5%) реалізують: ПАТ «Київський вітамінний завод», ТОВ «Дослідницький завод ГНЦЛС». Усі інші вітчизняні виробники які представлені у таблиці 1.1 реалізують по одному препарату (6,25%), а саме: АТ «Галичфарм», ПАТ «Фармак», ПрАТ «Біофарма», ТОВ «НІР».

Таблиця 1.1

Асортимент засобів вітчизняного виробництва, що впливають на метаболічні процеси

Виробник	Кількість наіменувань	Р*, %
ВАТ «Київмедпрепарат» (м. Київ, Україна)	4	25,0%
ТОВ Фармацевтична компанія «Здоров'я» (м. Харків, Україна)	4	25,0%
ПАТ «Київський вітамінний завод» (м. Київ, Україна)	1	4,0%
ТОВ «Дослідницький завод ГНЦЛС» (м. Харків, Україна)	1	4,0%
АТ «Галичфарм» (м. Львів, Україна)	2	8,0%
ПАТ «Фармак» (м. Київ, Україна)	1	4,0%
ПрАТ «Біофарма» (м. Київ, Україна)	1	4,0%
ТОВ «НІР» (м. Київ, Україна)	3	12,0%
Всього	8	100%

Примітка: Р*,% - питома вага %

Отже підводячи ризику під усім вищезазначеним можна зробити такі висновки:

- станом на 20.05.2019 р. можливо зазначити, що ринок налічує 30 зареєстрованих в Україні препарати;

- із десяти лікарських форм (таблетки, капсули, розчин для ін'єкцій, розчин оральний, гранулят, розчин для інфузій, краплі очні, концентрат для інфузійного розчину, порошок для орального застосування, розчин для перорального застосування) беззаперечним лідером є таблетки;

- 9 країн – виробників задіяні у створенні даної фармакологічної групи. Частка вітчизняних виробників у структурі реалізації цієї групи лікарських засобів трішки вище у порівнянні з імпортованими лікарськими засобами які представлені на українському фармацевтичному ринку, що є безпосередньо позитивним моментом.

1.9 Вивчення асортиментної і фірмової структур психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів

Вивчення асортиментної структури проводили згідно «Державного реєстру лікарських засобів України», в якому зареєстровано 70 найменувань ліків зазначеного дії [106, 136].

Загальний список виробників, які поставляють на національний ринок психостимулятори які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропні засоби налічує 38 фармацевтичних компаній більшість з яких є закордонними.

Аналіз фармакологічної групи за діючою речовиною.

Препарати даної фармакологічної групи представлені 15 діючими речовинами, більшість з яких складає цитиколін, а саме, він є діючою речовиною 18 (25,8%) препаратів, трохи відстає пірацетам він входить до складу 17 (24,3%) лікарських засобів. Наступною діючою речовиною є вінпоцетин (17,2%) та фенібут (10,0%) перший входить до складу 12 препаратів, а другий 7, гамма - аміномасляна кислота входить до складу 4

препаратів (5,8%), а мебікар – 3 (4,3%). Всі інші субстанції є діючими речовинами лише одного лікарського засобу (рис. 1.6).



Рис. 1.6 Аналіз діючих речовин які входять до складу психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів ринку України

Розподіл препаратів за основними країнами-виробниками. Результати аналізу асортименту психостимуляторів які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів за країнами – виробниками (рис. 1.9.2) показали, що перше місце за кількістю лікарських препаратів належить Україні (61,4%), друге – Італії (5,7%). Третє місце займають Латвія, Угорщина, Німеччина (по 4,3%), четверте – Польща, Іспанія, Індія, Швейцарія (по 2,9%). Крім того препарати пропонують фармацевтичні виробники з Японії, Великої Британії, Бельгії, Румунії, Ізраїлю та Австрії (по 1,4%).

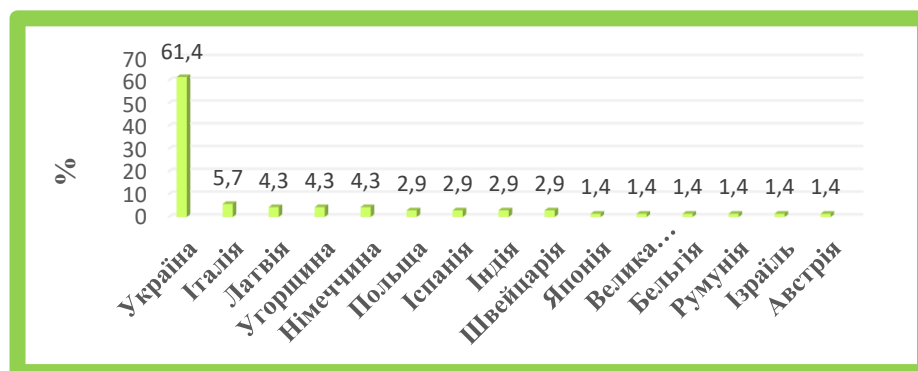


Рис. 1.7 Розподіл психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів за основними країнами-виробниками

Розподіл препаратів за формами випуску. На рис. 1.8 наведений аналіз асортименту психостимуляторів які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів за лікарськими формами. Як видно з рисунку, переважну кількість складають лікарські засоби у формі таблеток (38,9%), 27,4% складають препарати у вигляді розчинів для ін'єкцій. Третє місце посідають капсули (12,6%), 6,4% складають препарати у вигляді концентратів для приготування розчину для інфузій. На лікарські засоби у формах оральних розчинів та гранул, розчини для перорального застосування припадає по 4,2% та 3,2% відповідно. Найменший відсоток складають лікарські препарати у формі порошку для орального застосування 2,1% та розчину для інфузій, суспензія для перорального застосування (по 1,0%).



Рис. 1.8 Розподіл психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів за формами випуску

Аналіз фармакологічної групи за місцем виробництва. Лікарські засоби вітчизняного виробництва формують основний асортимент даної групи: на їх частку припадає 61,4%, у свою чергу імпорتنі препарати займають на ринку 38,6% асортименту психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів (рис. 1.9).

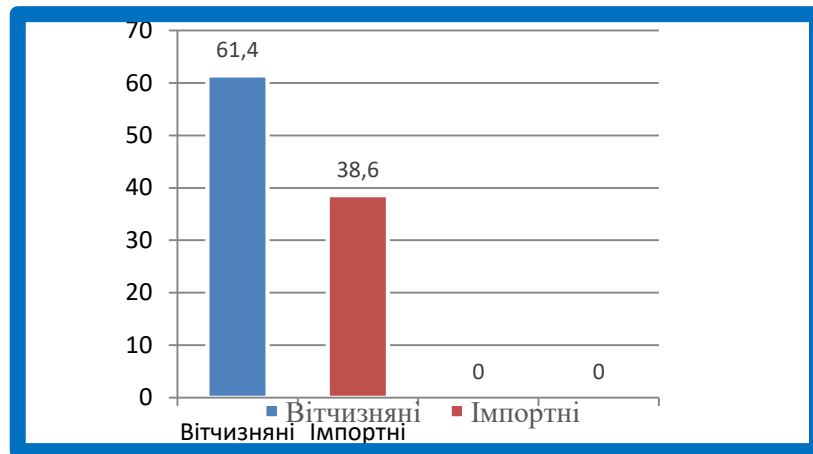


Рис. 1.9 Доля вітчизняних психостимуляторів які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів на ринку України

Аналіз фармакологічної групи за категорією відпуску. Треба зазначити, що нашу увагу не оминув і той факт, що з перерахованих 70 психостимуляторів які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів які реалізуються на території України відпускаються за рецептом лікаря (78,9%), з цього виходить, що інші можливо купити без перешкод в будь якій аптеці (21,1%) (рис. 1.10).

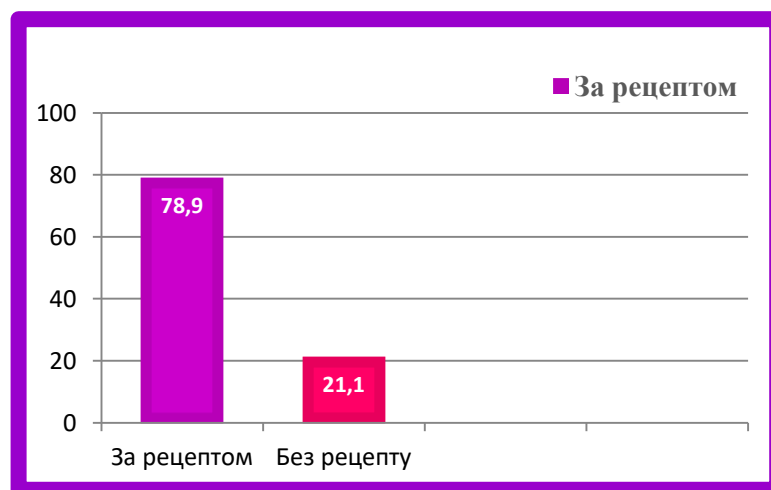


Рис. 1.10 Аналіз психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів на ринку України за категорією відпуску

Вивчення конкурентоспроможності фірм на національному ринку психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів. На наступному етапі була проаналізована конкурентоспроможність фірм, що надають лікарські засоби досліджуваної групи на національний фармацевтичний ринок.

Конкуренція – суперництво між товаровиробниками за кращі, економічно більш вигідні умови виробництва і реалізації товару.

Конкуренція – основа будь-якого ринкового господарства. Вона підпорядковує діяльність суб'єктів економіки законам ринку. Для підприємства головне складається в тому, щоб найбільш ефективно використати вкладені в виробництво ресурси та запропонувати на ринок більш дешеві, ніж у конкурента товари, але має значення не лише ціна. Щоб забезпечити успіх ринку, підприємство повинно запропонувати нові, більш сучасні товари кращої якості.

Конкурентоспроможність – спроможність витримати конкуренцію в порівняннях з аналогічними товарами та послугами інших виробників в умовах ринку. Рівень конкурентоспроможності визначається сукупністю різноманітних техніко-економічних факторів, таких як: якість, собівартість, форми та методи торгівлі, ціни, умови та терміни поставки та транспортування, відповідність вимогам норм та умов місцевого ринку, види та форми розрахунків та платежів з покупцями, престиж виробника, продавця, товару, ефективність реклами та ін.

Для визначення рівня конкуренції між виробниками препаратів-аналогів розраховували коефіцієнт напруженості K_{vi} за формулою:

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

де n - кількість всіх конкурентних аналогів фірм.

Значення K_{vi} змінюється в межах від 0 до 1. Чим вище K_{vi} , тим більша напруженість конкуренції між фірмами-виробниками і тим гірше положення у фірми, що створила вперше цей оригінальний препарат. Така фірма просто вимушена вступати в конкуренцію з тими виробниками, які цей препарат

випускають на ринок. Якщо препарат не має аналогів, напруженість конкуренції дорівнює 0. Збільшення загального числа аналогів на ринку і введення кожного нового, все сильніше впливає на загальну напруженість конкуренції.

При цьому досліджувані лікарські препарати були згруповані за діючими речовинами на 15 груп:

- Група цитиколіну;
- Група пірацетаму;
- Група вінпоцетину;
- Група фенібуту;
- Група гамма аміномасляної кислоти;
- Група мебікару;
- Група гопантенової кислоти;
- Група фенілпірацетаму;
- Група кальцію гіпофосфату;
- Група кальцію гопантенату;
- Група прамірацетаму;
- Група цереброкуріну;
- Група концентрату церебrolізину;
- Група піритинолу гідрохлориду.

Результати розрахунку наведені в таблиці 1.2. Проаналізувавши дані таблиці, можна зробити висновки, що найбільша конкуренція спостерігається серед фірм, які випускають аналоги з цитиколіном та пірацетамом ($K_{vi} = 0,94$). Також істотно висока конкуренція між фірмами, що випускають препарати-аналоги: вінпоцетину ($K_{vi} = 0,92$), фенібуту ($K_{vi} = 0,86$) і гамма-аміномасляної кислоти ($K_{vi} = 0,75$). Несуттєво поступаються їм по конкуренції фірми-виробники аналогів мебікару ($K_{vi} = 0,66$).

Ряд препаратів, що містять гопантенову кислоту, фенілпірацетам, кальцію

Таблиця 1.2

Показники коефіцієнта напруженості між виробниками психостимуляторів які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів

Назва діючих речовин лікарських засобів	Коефіцієнт напруженості (K_{vi})
Група цитиколіну	0,94
Група пірацетаму	0,94
Група вінпоцетину	0,92
Група фенібуту	0,86
Група гамма аміномасляної кислоти	0,75
Група мебікару	0,66
Група гопантенової кислоти	-
Група фенілпірацетаму	-
Група кальцію гіпофосфату	-
Група кальцію гопантенату	-
Група прамірацетаму	-
Група цереброкуріну	-
Група концентрату церебrolізіну	-
Група піритинолу гідрохлориду	-

гіпофосфат, кальцію гопантенат, прамірацетам, цереброкурин, концентрат церебrolізіну, піритинолу гідрохлорид не мають аналогів на фармацевтичному ринку України, таким чином в даному випадку конкуренція відсутня ($K_{vi} = 0$).

Вивчення частки ринку психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів. На наступному етапі розраховували частку сегмента національного фармацевтичного ринку, яку займає кожна з фірм-виробників психостимуляторів які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів.

Розрахунок проводили за формулою:

$$d_{ij} = \frac{n_{ij}}{\sum n_{ij}}$$

де n_{ij} - кількість препаратів j -й фірми в i -сегменті;

$\sum n_{ij}$ - сумарна кількість препаратів i -го сегмента, зареєстрованих в Україні.

Дані розрахунку наведені в таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

Частка сегмента національного ринку, яку займає кожна з фірм-виробників психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів

Підприємство-виробник, країна	Частка сегмента ринку (d_{ij})
1	2
ТОВ "Олфа", Київ	0,0285
ПАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ", Київ	0,0428
ПАТ «ВІТАМІНИ», Умань	0,0142
АТ "Київський вітамінний завод", Київ	0,0285
Приватне акціонерне товариство «Лекхім-Харків», Харків	0,0428
ТОВ Фарма Старт, компанія Asino Group, Київ	0,0428
ПАТ «Хімфармзавод «Червона зірка», Харків	0,0285
Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Харків	0,0571
ТОВ «АСТРАФАРМ», Вишневе	0,0428
"Фармацевтична фірма "Дарниця", Київ	0,0571
ТОВ «Рік-фарм», Київ	0,0285
АТ "Фармак", Київ	0,0714
ОДО "ІнтерХім", Одеса	0,0428
Корпорація Артеріум, Київ	0,0428
«Новофарм-Біосинтез», м. Новоград-Волинський	0,0142
ООО "НІР", Київ	0,0142
ТОВ «Юрія-Фарм», Черкаси	0,0142
БІОФАРМ Лтд, Польща	0,0285

Продовж. табл. 1.3

1	2
Феррер Інтернаціональ, С.А., Іспанія	0,0285
Magis Фармасьютічі С.р.л, Італія	0,0142
АТ «Олайнфарм»/JSC «Olainfarm», Латвія	0,0428
Gedeon Richter Ltd, Угорщина	0,0285
"Альпен Фарма АГ" Швейцарія	0,0285
«ЕГІС ФАРМАСЬЮТІКАЛС ПЛС», Угорщина	0,0142
Мікро Лабс Лімітед, Індія	0,0142
Амаха Pharma LTD, Велика Британія	0,0142
Лабораторіо Фармацеутіко Сі.Ті. Ес.ер.ел., Італія	0,0142
ЕССЕТІ ФАРМАЧЕУТІЧІ СРЛ., Італія	0,0142
UCB Pharma, Бельгія	0,0142
Ф.І.Р.М.А. С.п.А (Менаріні Груп), Італія	0,0142
Уорлд Медіцин, Румунія	0,0142
ТОВ «ФАРМАСЕЛ», Німеччина	0,0142
Teva Pharmaceutical Industries, Ізраїль	0,0142
Takeda, Японія	0,0142
"ЕВЕР Нейро Фарма ГмбХ", Австрія	0,0142
Мерк КГаА, Німеччина	0,0142
Stada, Німеччина	0,0142

Із табл. 1.3 видно, що найбільша питома вага в досліджуваному сегменті припадає на АТ "Фармак", Київ ($d_{ij}=0,0714$).

Таким чином, проведено маркетингове дослідження національного ринку психостимуляторів, які застосовуються при синдромі порушення уваги та гіперактивності, ноотропних засобів. Встановлено, що вітчизняні фармацевтичні фірми поставляють 61,4% лікарських препаратів (43 лікарські препарати) для цього сегмента ринку, а іноземні фармацевтичні фірми поставляють 38,6% лікарських препаратів (27 лікарських препаратів). Аналіз конкурентоспроможності показав, що найвища конкуренція спостерігається серед виробників препаратів-аналогів, що містять цитиколін та пірацетам ($K_{vi} = 0,94$).

Як видно з наведених вище даних, судинні захворювання головного мозку є надзвичайно важливою проблемою сучасної медицини. На сьогодні сучасний арсенал нейропротективної терапії неповністю задовольняє всім вимогам клініцистів. Тому є доцільним створення нових високоефективних і малотоксичних препаратів нейропротективної дії, а саме лікарських засобів до складу яких будуть входити нейротрансмітерні амінокислоти та вітчизняні антиоксиданти.

Тому, враховуючи фармакологічну дію вивчених трансмітерних амінокислот нами запропоновано створити комбіновані лікарські препарати до складу яких будуть входити L-аргінін, гліцин, ГАМК, а як антиоксидант – тіотриазолін. Вибір трансмітерних амінокислот, як АФІ був здійснений спираючись на дослідження, які проводили в лабораторії нейрохімічної фармакології НДІ фармакології ім. В.В. Закусова РАМН під керівництвом член-корра РАМН К.С. Раєвського, які доказали що вибрані амінокислоти мають досить високу нейродоступність та проникають через ГЄБ. Щодо тіотриазоліну, експериментально встановлено, що тіотриазолін який входить до складу комбінованих препаратів має досить високу нейродоступність і біля 2 % дози, яку введено доходить до головного мозку. Дослідження проведені під керівництвом завідувача кафедри фармації Буковинського державного медичного університету Геруша О.В. Крім того, тіотриазолін має унікальну властивість, а саме здатність підвищувати нейродоступність нейропсихотропних засобів та нейротрансмітерних амінокислот, дослідження проведені на базі Запорізького державного медичного університету під керівництвом професорів Мазура І.А., Беленічева І.Ф., Коваленко С.І.

В зв'язку з вищенаведеним, створення нових комбінованих лікарських форм до складу яких входять трансмітерні амінокислоти (L-аргінін, гліцин, ГАМК) та похідні 1,2,4-триазолу (тіотриазолін) є актуальним завданням сучасної фармації та медицини.

РОЗДІЛ 2

ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

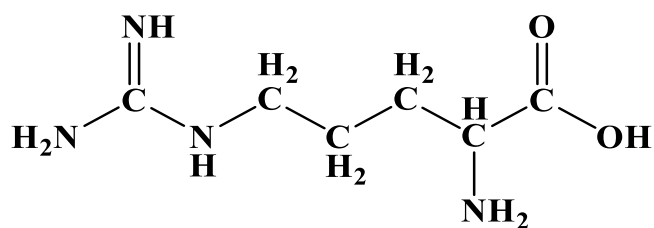
2.1 Об'єкти і методи досліджень

У даному розділі наведено об'єкти досліджень, їх характеристика, критерії вибору та характеристики методів дослідження і методик визначення, які були використані для проведення досліджень.

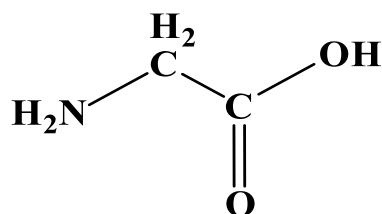
2.1.1 Характеристика діючих та допоміжних речовин як об'єктів дослідження

Основні та допоміжні речовини, які були використані в ході проведених досліджень, за якісними та кількісними показниками відповідали вимогам нормативно-технічної документації, та були отримані згідно договору сумісних досліджень L-аргінін (виробник: «Sigma-Aldrich», NX 20150531); гліцин (виробник: «Sigma-Aldrich», партія 101-1303008); ГАМК (виробник: «Sigma-Aldrich», партія 11-021); морфолінію тіазотат (виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серії 24511171 та 10460919).

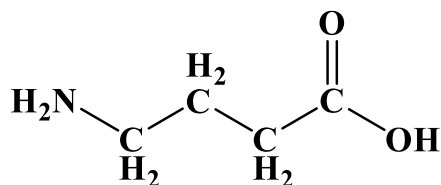
L-Аргінін [ДФУ, 2 Вид., Доп. 2, с. 56] – (S)-2-аміно-5-гуанідинпентанова кислота, кристалічний порошок білого або майже білого кольору або безбарвні кристали. Легко розчинний у воді *P*, дуже мало розчинний в етанолі (96%) *P*.
М.м. 174,2



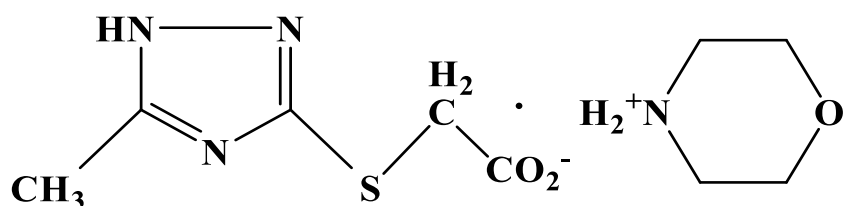
Гліцин [ДФУ, 2 Вид., Доп. 2, с. 169] - амінооцтова кислота, кристалічний порошок білого або майже білого кольору. Легко розчинний у воді *P*, дуже мало розчинний в етанолі (96 %) *P*. М.м. 75,1



Гамма-аміномасляна кислота - білий кристалічний порошок з температурою плавлення 200 ° - 205 ° С (з розкладанням). Легко розчинний у воді, розчинний у спирті, практично не розчинний в ефірі і хлороформі. В повітрі знаходиться у вигляді аерозолі. М.м. 103,1



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



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 *P*, кислотах *P* і розведених лугах *P*.

Арбоцель 290 European Pharmacopoeia (European Pharmacopoeia 5th edition 2007) - білий або майже білий, без запаху і смаку порошок, крупний тип порошкової целюлози з відмінною сипучістю. Нерозчинний у воді Р і органічних розчинниках [244].

Гідроксипропілметилцелюлоза марки Pharmacoat 603, фірма Syntapharm, Німеччина, ДФУ Дон. 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 [271].

Кальцію дигідрофосфат безводний, JRS Pharma, Німеччина, ЄФ 01/2005:0981. Білий кристалічний порошок, без запаху. Розчинний у воді.

Кальцію стеарат USP30-NF25, Р. 1077, PhEur. Дрібнодисперсний жирний на дотик порошок білого або жовтуватого-білого кольору з незначним запахом. Практично не розчинний в етанолі 96 % Р, хлороформі Р, ацетоні Р та воді Р; помірно розчинний у підігрітих етанолі Р та рослинних мінеральних оліях Р.

Кислота стеаринова ТОВ НВП «Електрогазохім», Україна.ТУ У 22942814. 004 - 2000 - Білий порошок, нерозчинний у воді, розчинний у ефірі

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 [384].

Крохмаль прежелатинізований (BP, USP NF) — продукт, отриманий хімічним та/або механічним методом з розривом усіх або частково гранул крохмалю, що надає йому добру сипкість та пресованість. Неоднорідний білий порошок без запаху, з легким характерним смаком. Практично не розчиняється в органічних розчинниках, набрякає і недостатньо розчиняється в холодній воді (залежно від ступеня прежелатинізації); у холодній воді розчиняється 10–20%.

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

Лудіпрес, BASF, Німеччина. Наповнювач на основі цукрів. Japanese Pharmасороеіа Гранули, що містять лактози моногідрату (93 %), Kollidon 30 (3,5 %) та Kollidon CL (3,5 %).

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

Магнію стеарат – USP30 – NF25, Р. 1151, Ph Eur. Дрібний порошок світло-білого кольору з характерним смаком і слабким запахом стеаринової кислоти. Практично не розчинний в етанолі 96 % Р, етері Р та воді Р; помірно розчинний у підігрітих спирті етиловому Р та бензені Р [385].

Маніт (Merck KGaA, Німеччина), ДФУ, 2 вид., Доп. 2, с.430. Кристали або порошок білого або майже білого кольору. Легко розчинний у воді Р, дуже мало розчинний в етанолі(96%)Р.

МКЦ 101 (мікрокристалічна целюлоза), Microcel® МС 101, Blanver Farmaquímica 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°

МКЦ 102 (Фірма MingtaiChemicalCo., Ltd, Тайвань) ЄФ. 2007 01/2007, С.0316 [246].

МКЦ 200 (Microcel® МС 200, Blanver Farmaquímica Ltda, Бразилія) ЄФ 01/2005:0316. Дрібний порошок мікрокристалічної целюлози з розміром часток 180 мкм, вологістю 7 % та насипною густиною 0,33-0,4 г/см³.

МЦ 100, мікрокристалічна целюлоза, Biogrand GmbH, Німеччина, USP30-NF25, Р.1094, PhEur, ВР, JP. Білий без смаку і запаху кристалічний порошок, що складається з пористих часток; мало розчинний у 5 % розчині натрію

гідроксиду Р; практично не розчинний у воді Р, розведених кислотах Р і в більшості органічних розчинників [247].

Натрію карбоксиметилкромаль, Itacel Farmoquimica Ltda, Бразилія, Japanese Pharmacopoeia, Excipients Handbook, ЄФ 07/2005:0983. Білий аморфний порошок без смаку і запаху, не розчинний в спирті, ефірі [244].

Натрію кроскармелоза - USP30-NF25, Р. 1106, PhEur, ВР: 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 [248].

Натрію 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 [244].

Неусілін від Fuji chemical industry CO. LTD: аморфна форма алюмініметасилікату - USP30-NF25, Р. 1247.

Полівінілпіролідон. Applichem, Німеччина. Порошок або пластинки білого або жовтувато-білого кольору. Гігроскопічний. Легко розчинний у воді, 96% спирті і метанолі, мало розчинний в ацетоні

Поліетиленгліколь 4000 подрібнений (ПЕГ 4000), CARBOWAX™ Dow Chemical, Німеччина Високомолекулярний продукт (М.м. 3500-4500) полімеризації окису етилену з нижчими гліколями (або поліетиленгліколем зі зниженою молекулярною масою). Воскоподібні лусочки білого кольору

Prosolv від JRS PHARMA GmbH & Co. KG, Німеччина: суміш мікрокристалічної целюлози - USP30-NF25, Р. 109 та кремнію діоксиду колоїдного - USP30-NF25, Р. 1205

Сахароза USP-NF (Фармакопея США). Безбарвні кристали, добро розчинні у воді.

Фруктоза ЄФ, п. 2.6. Japanese Pharmacopoeia Excipients Handbook. Дрібнодисперсний порошок білого кольору. Легко розчинний у воді, розчинний у спирті [271].

Цукор компрі О (Comprisugar O, Suedzucker AG, Німеччина) ЄФ 07/2007:0204 Гранульована сахароза з розміром часток близько 0,1- 0,6 мм, насипна густина 0,65- 0,72 г/см³, кут насипу 31-33° [245].

Характеристика речовин, що входять до складу плівкового покриття, як об'єктів дослідження. При виробництві таблеток в якості плівкового покриття використовували суміш для покриття «Opadry», що містить: гідроксипропілметилцелюлоза 2910; титану діоксид; заліза оксид жовтий; макрогол; тальк

2.2 Характеристика методів дослідження

В ході виконання дисертаційної роботи використовували комплекс фізичних, фізико-хімічних, хімічних, фармакотехнологічних, біофармацевтичних та біологічних методів випробувань. Оцінку технологічних параметрів проводили загальноприйнятими методами згідно вимог ДФУ [45, 46].

Текучість. Текучість визначали за методикою ДФУ (2 Вид., п. 2.9.16, с.425) за допомогою методу нерухокої лійки та методу лійки з вібропристроєм.

Плинність порошків є одним з параметрів, який має важливий вплив на процеси переробки сипких матеріалів. Плинність порошків характеризується швидкістю їх висипання з лійки, вираженою в секундах і десятих частках секунди, віднесених до 100 г зразка.

Кут природного укосу (2 Вид., п. 2.9.36, с.477) визначає потенційну текучість матеріалу. Вимірювання кута природного укосу проводили за допомогою візирної лінійки і шкали, котрі додаються до приладу ВП-12 А. В лійку, отвір якої знизу закрито, засипали точну наважку (50,0 г) порошку з точністю 0,01 г. Вмикали вібратор і відкривали вихідний отвір, даючи можливість порошку висипатись. Після цього підводили кутомір і за його шкалою визначали кут, який утворився між конусом та площиною поверхні.

Для добре сипучих матеріалів кут має бути в межах 25 – 35 °, для зв'язаних матеріалів >66 °. Тим краща текучість, чим менше кут природного укосу.

Насипну густину та густину після усадки. Визначення проводили за методикою ДФУ (2 Вид., п. 2.9.34, с. 473). Насипну густину визначали шляхом вимірювання об'єму певної маси порошку 100 г просіяного крізь сито в градуйований циліндр, який закріплювали на відповідному приладі.

Насипну густину після усадки одержували механічним струшуванням градуйованого мірного циліндра, що містить зразок порошку.

Зовнішній вигляд таблеток. Згідно ДФУ (2 Вид., 1 Том, с. 1121). Визначали зовнішній вигляд таблеток візуально при денному освітленні, розглядаючи їх на білому фоні, відбираючи пробу з 20 таблеток. Контролювали форму, колір таблеток і рівномірність поверхні.

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 10 мм стійкість до роздавлювання повинна бути не менше 30Н.

Однорідність дозованих одиниць. Випробування проводили згідно ДФУ (2 Вид., 1 Том, п. 2.9.40, с.490). Для цього визначали вміст діючих речовин в кожній дозованій одиниці. Вміст діючих речовин в кожній дозованій одиниці визначали методом ВЕРХ [33, 46].

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. Згідно з методикою, в експериментальних умовах таблетки мають розпадатися у межах визначеного часу, якщо вони поміщені в рідке середовище ($t=37\pm 2$ °C) [46].

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 [9, 10, 33, 40, 109].

Однорідність маси для одиниці дозованого лікарського засобу. Випробовування проводили згідно ДФУ (2 Вид., п. 2.9.5, с. 409). При цьому зважували 20 таблеток окремо, розраховували середню масу, жодна індивідуальна маса не має відхилитися від середньої на $\pm 5\%$.

Визначення стираності таблеток. Згідно з ДФУ (2 Вид., п. 2.9.7, с.410-411). Випробування проводили з метою з'ясування стійкості таблеток до дії механічного удару або стирання. При визначенні стираності використовували пристрій барабанного типу з однією лопаттю.

Тонкошарова хроматографія – визначення домішок згідно ДФУ (2 Вид., п.2.2.27, с. 82).

Рідинна хроматографія - визначення діючих речовин згідно ДФУ (2 Вид., п. 2.2.29, с.86).

Кристалографічні дослідження. Кристалографічні властивості порошків визначали згідно з ДФУ (Доп. 2, п. 2.9.37, С. 175-177) за допомогою оптичної кристалографії та мікрофотографування з використанням мікроскопу Ulab XY-B2BLED [34].

Засоби виміральної техніки, випробувальне та допоміжне обладнання, які використовувались при виконанні дисертаційної роботи наведено в дод. Б.

Вивчення біодоступності, фармакологічних властивостей, кардіопротективної і ендотеліопротективної, ноотропної, протитривожної дії, антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів кардіопротективної дії. Для проведення доклінічних досліджень в повному об'ємі були використані 170 білих безпородних щурів обох статей масою 170-180 г, отриманих з розплідника ДУ "Інститут фармакології та токсикології АМН України".

Методи квантово-хімічних розрахунків

Для моделювання структури і стабільності комплексів тіотриазоліна з аргініном, гліцином використана методика, запропонована Пульманом для побудування можливий гідратованих комплексів органічних молекул. Початкове наближення до геометрії комплексів отримано з використанням

процедури молекулярного докінгу за допомогою програми AutoDock Vina. На другому етапі отримані трикомпонентні комплекси, які були попередньо оптимізовані напівемпіричним методом PM7 з моделюванням впливу середовища методом COSMO. Розрахунки проводилися за допомогою програми MORAC2012. За результатами розрахунків для кожного з комплексом були відібрані 100 найбільш низьколежачих по енергії структур, які потім були оптимізовані методом функціонала щільності з емпіричною дисперсионною поправкою B97-D3/SVP + COSMO (Water) із застосуванням геометричної поправки на неповноту базисного набору gCP.10 З отриманих структур трикомпонентних комплексів, були відібрані 10 кращих по енергії, для яких було проведено остаточний розрахунок геометрії і термодинамічних параметрів в наближенні жорсткого ротора методом B97-D3 / TZVP + COSMO. Більш точний розрахунок енергії сольватації було проведено методом SMD. Розрахунки методом функціонала щільності проведені за допомогою програми ORCA 3.0.3 [273, 322, 367].

Для моделювання структури і розрахунку стабільності комплексів тіотриазоліна з ГАМК на першому етапі використовували процедуру молекулярного докінгу (програма AutoDock Vina). На другому етапі отримані трикомпонентні комплекси, були оптимізовані методом m06-2x/cc-pvtz. Оптимізація комплексів і розрахунок енергій проводився за допомогою програми GAUSSIAN09 [259].

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 [141].

Як об'єкти термогравіметричних досліджень використовували: субстанції тіотриазоліну, L-аргініну, гліцину, ГАМК та суміші L-аргініну і тіотриазоліну, гліцину і тіотриазоліну, ГАМК і тіотриазоліну. 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). Як еталонну субстанцію 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 дані 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

Статистичний аналіз результатів проведених досліджень і випробувань проводили за вимогами ДФУ 2.1, п.5.3.N.1 та п.5.3.N.2.

Результати фармакологічних досліджень оброблені із застосуванням стандартного статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc, № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «MicrosoftExcel 2003». Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk. Дані представлені у вигляді середнього значення. Достовірність відмінностей між середніми значеннями визначали за критерієм Стьюдента при нормальному розподілі. У разі розподілу, що відрізняється від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій U Mann-Whitney. Для порівняння незалежних змінних в більш ніж двох вибірках застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Kruskal-Wallis для розподілу, відмінного від нормального. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$ (95 %).

Також, статистичну обробку результатів проводилася за допомогою MicrosoftExcel 2016 з пакетом статистичної обробки AtteStat 12. Для оцінки достовірності відмінностей в досліджуваних групах використовувався критерій Краскела-Уолліса с поправкою Данна. Вірогідним вважалися відмінності при $p < 0,05$ [86].

Референс*/ (стандартні препарати)

Як референс-препарат використано:

- 4,2% розчин для ін'єкцій «Тівортін» (ТОВ "Юрія-Фарм", Україна);
- гліцисед таблетки №30 (Корпорація "Артеріум", Україна);
- пірацетам таблетки 400 мг №30 (Корпорація "Артеріум", Україна).

Висновки до розділу 2

1. Охарактеризовано активні фармацевтичні інгредієнти та сучасні допоміжні речовини, які використовували для створення комбінованих таблетованих лікарських форм.

2. Наведено характеристику фармакотехнологічних, фізико-хімічних, фармакологічних, математичних методів дослідження, які дозволили обрати раціональний склад, обґрунтовану технологію та методики стандартизації комбінованих таблеток.

РОЗДІЛ 3

РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТАБЛЕТОК L-АРГІНІНУ З МОРФОЛІНІО ТІАЗОТАТОМ

Судинні захворювання головного мозку - одна з основних причин захворюваності, смертності та інвалідизації населення промислово розвинених країн світу. Щорічно переносять інсульт близько 6 млн. чоловік, з них 4,7 млн. вмирає. Незважаючи на постійні зусилля щодо оптимізації лікування захворювань центральної нервової і серцево-судинної систем, проблема залишається невирішеною. Важливим елементом вирішення даної комплексної проблеми, є створення нових високоефективних і безпечних лікарських препаратів, застосування яких призводило б до зниження смертності, поліпшення якості та тривалості життя. Тому розробка нейромоболітотропних церебропротекторів є актуальною проблемою фармації та медицини. В даний час все частіше для корекції і регуляції настрою, неврологічних станів хворих, які перенесли інсульт використовують нейротрансмітерні амінокислоти. Нейротрансмітерні амінокислоти керують головними функціями організму, включаючи рух, емоційні реакції і фізичну здатність відчувати задоволення і біль. Найбільш відомими нейротрансмітерними амінокислотами, що впливають на регуляцію настрою, є аргінін, гліцин, ГАМК, таурин, триптофан, лізин, глутамінова кислота та ін [302, 304, 369, 378].

Одним з перспективних підходів до розробки нових лікарських засобів, є створення препарату на основі фіксованої комбінації діючої речовини з антиоксидантами [352, 356, 391]. Один з відомих вітчизняних антиоксидантів - морфолінію тіазотат. Морфолінію тіазотат має широкий спектр фармакологічної дії - антиоксидантної, мембраностабілізуючої, протишемічної, антиаритмічної, імуномодулюючої, протизапальної,

гепатопротективної, кардіопротективної [144]. Тому було створено новий комбінований препарат на основі L-аргініну з морфолінію тіазотатом. Спільно з фармакологами були вивчені різні комбінації L-аргініну з морфолінію тіазотатом – 1:1; 2:1; 3:1; 4:1; 5:1; 6:1 та 7:1 і була виявлена оптимальна комбінація - 4:1 [115, 171, 209, 317]. Для нового комбінованого лікарського препарату були обрана раціональна лікарська форма - таблетки.

3.1 Квантово-хімічні розрахунки суміші L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Спільне застосування L-аргініну з морфолінію тіазотатом ставить питання про можливість утворення досить стійких міжмолекулярних комплексів цих сполук. Тому, по-перше, було розглянуто можливу структуру і енергетичні характеристики комплексів, утворених L-аргініном, 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетатом (МТТА) і морфоліном.

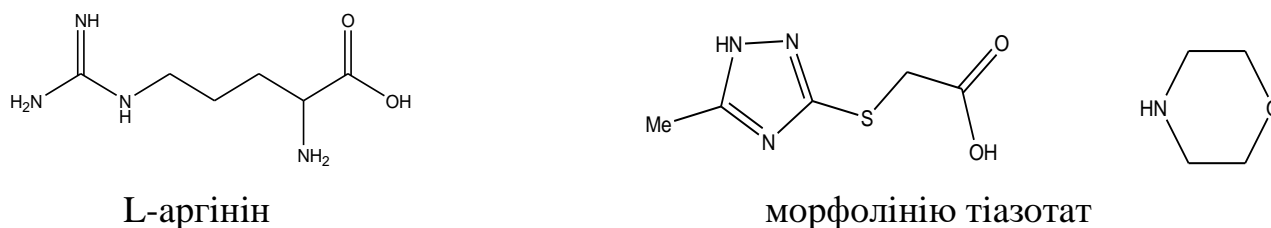


Рис. 3.1 Молекули, які входять до складу досліджуваних комплексів

Моделювання будови і стабільності комплексів L-аргініну з морфолінію тіазотатом було проведено за методикою, схожою з методикою, яку використовували раніше при вивченні комплексів ізоніазиду з тіатріазоліном [396].

Початкове наближення до будови комплексів отримано за допомогою процедури молекулярного докінгу з використанням програми AutoDock Vina [394]. Для побудови трикомпонентних комплексів на першому етапі проводився докінг МСТА і морфоліну, за результатами якого було відібрано 50 структур з найменшою енергією. Далі проводився докінг отриманих

комплексів МСТА і морфоліну з молекулою L-аргініну, і також відбиралися 50 найбільш стабільних структур. Така процедура проводилася для кожної з можливих таутомерних форм трикомпонентних комплексів. В результаті для кожного з комплексів було отримано 2500 вихідних структур.

На другому етапі отримані трикомпонентні комплекси були попередньо оптимізовані напівемпіричним методом PM7 з урахуванням впливу середовища, яке моделювали в рамках методу COSMO [273]. Розрахунки проводилися за допомогою програми MOPAC2012 [367]. За результатами розрахунків для кожного з комплексів були відібрані 100 структур, що мають найменші розраховані загальні енергії, які потім були оптимізовані методом функціонала щільності з емпіричною дисперсійною поправкою B97-D3/SVP + COSMO (Water) [260, 274] із застосуванням геометричної поправки на неповноту базисного набору gCP [274, 370]. З отриманих структур трикомпонентних комплексів були відібрані 10 найбільш стабільних за енергією, для яких було проведено остаточний розрахунок геометрії і термодинамічних параметрів в наближенні жорсткого ротора методом B97-D3/TZVP + COSMO. Більш точний розрахунок енергії сольватації було проведено методом SMD [314]. Розрахунки методом функціонала щільності проведені за допомогою програми ORCA 3.0.3 [322] Енергія утворення комплексів в розчині розраховувалася як різниця вільних енергій Гіббса сольватованих комплексу і сольватованих окремих його компонент.

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

Раніше проведені дослідження морфолінію тiazотату [214, 380, 388, 395] 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-аргінін, будучи амінокислотою, повинен існувати у вигляді цвіттер-іона. Однак, на відміну від багатьох інших амінокислот, молекула L-аргініну містить три атома водню, за якими можливо протонування (рис. 3.1). При цьому, цвіттер-іонна форма L-аргініну виступає одночасно і донором, і акцептором в утворенні зарядово посиленних водневих зв'язків з катіоном морфоліну і аніоном МТТА. Це дозволяє припустити можливість утворення як двох-компонентних комплексів за участю L-аргініну і одного з компонентів морфолінію тіазотату, так і трьох-компонентних комплексів за участю всіх трьох молекул. Множинність донорних і акцепторних сайтів у всіх трьох досліджуваних молекулах (рис. 3.2) створює можливість утворення досить великого числа можливих комплексів.

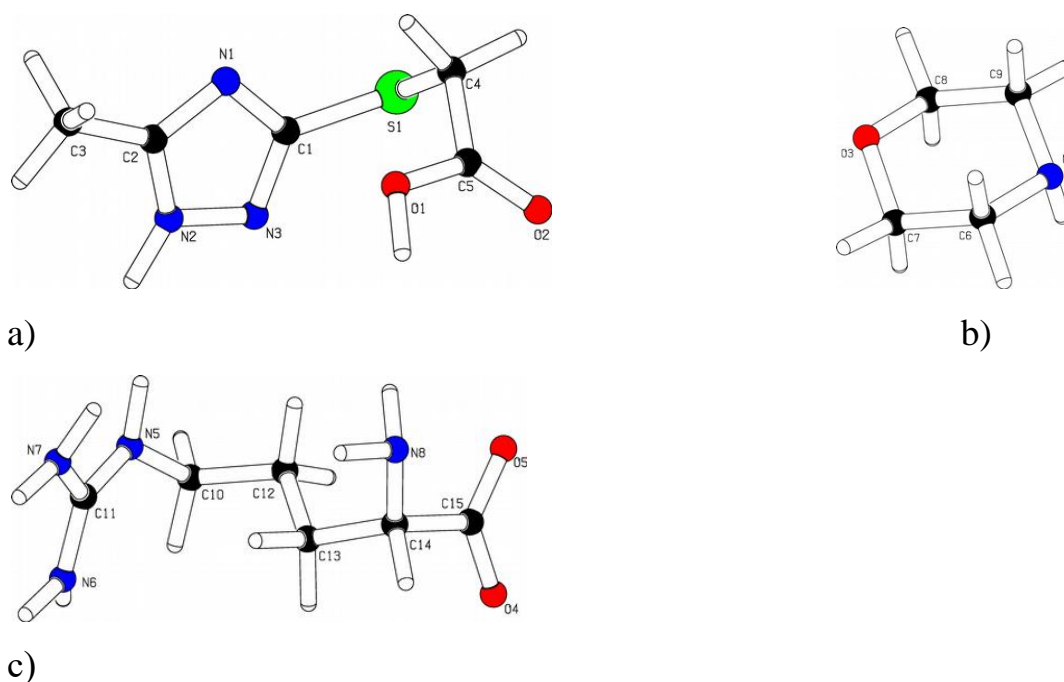
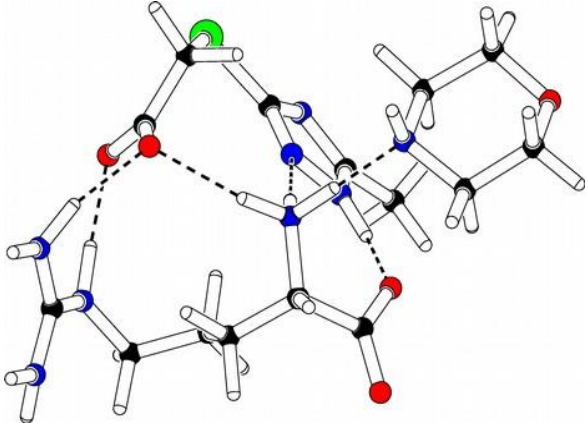
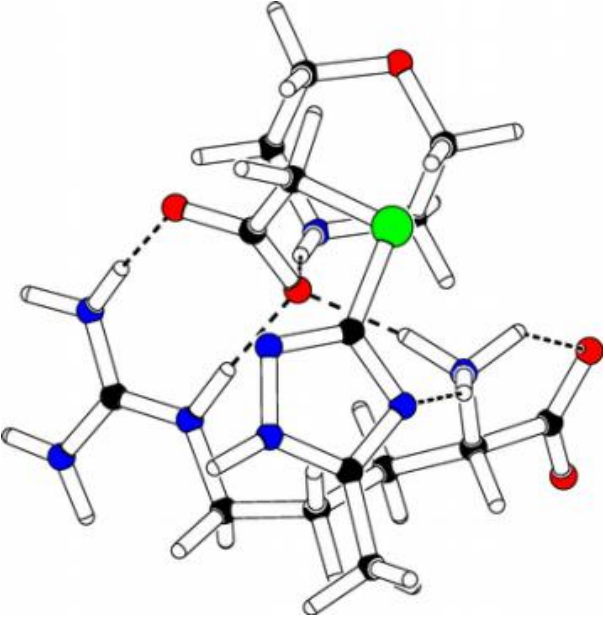


Рис. 3.2 Будова молекул морфолінію тіазотату (a-b) та L-аргініну (c) з нумерацією атомів за даними квантово-хімічних розрахунків

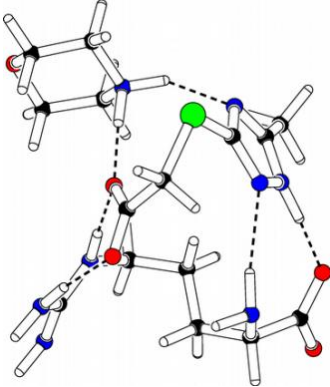
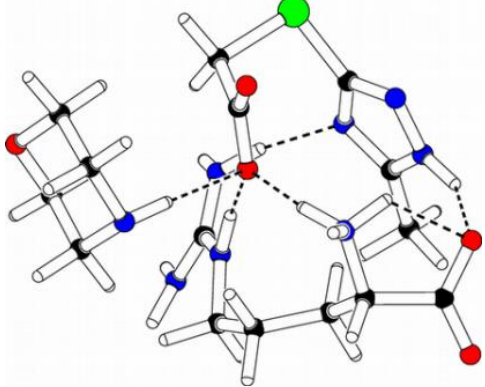
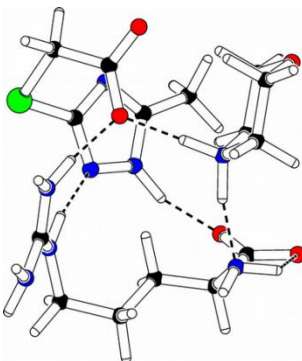
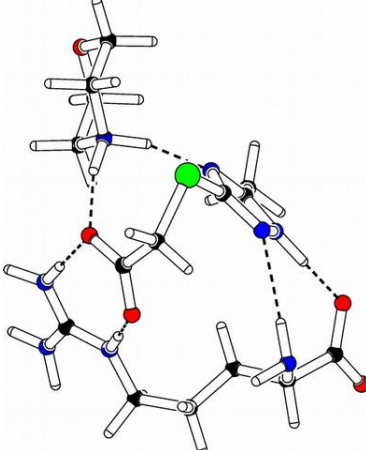
Квантово-хімічні розрахунки показують, що морфолінію тіазотат і L-аргінін здатні утворювати трикомпонентні комплекси, молекули в яких пов'язані за рахунок множинних водневих зв'язків. У найбільш стабільних комплексах (табл. 3.1) утворюються від 5 до 7 водневих зв'язків. При цьому в комплексах кожна з молекул утворює водневі зв'язки з двома іншими.

Таблиця 3.1

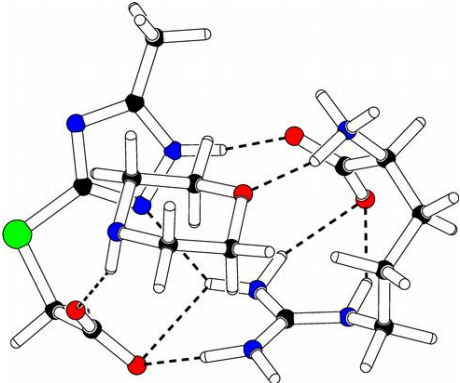
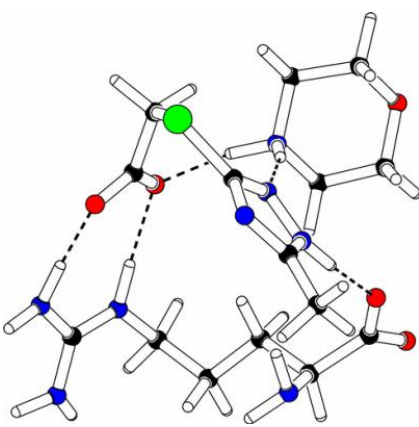
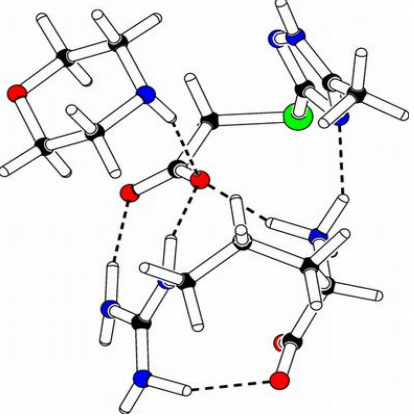
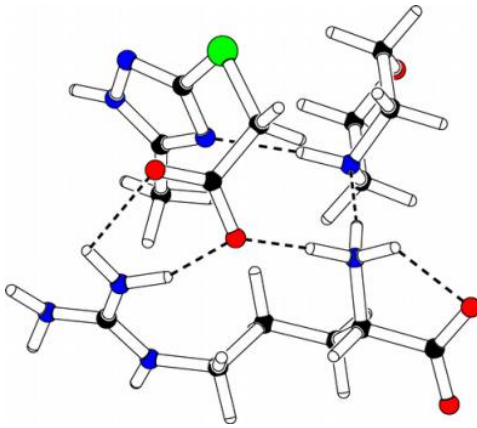
Будова найбільш стійких комплексів морфолінію тіазотату з аргініном, їх енергії утворення (ΔG_{form}^{298} , ккал/моль) та характеристики водневих зв'язків (Н...А, Å и D-Н...А, град.) за даними методу B97-D3/TZVP+SMD(Water).

Комплекс 1			Комплекс 2		
					
$\Delta G_{form}^{298} = 2.0$ ккал/моль			$\Delta G_{form}^{298} = 3.3$ ккал/моль		
N2-H...O5	1.71	159	N4-H...O2	2.13	166
N5-H...N4	1.69	173	N7-H...O1	1.82	173
N5-H...O1	2.04	147	N5-H...O2	1.78	176
N5-H...N1	1.88	170	N8-H...O2	1.78	171
N8-H...O1	1.84	165	N8-H...O5	1.89	121
N6-H...O2	1.77	177	N8-H...N3	1.94	150

Продовж. табл. 3.1

Комплекс 3	Комплекс 4																																				
 <p data-bbox="199 716 566 761">$\Delta G_{form}^{298} = 4.5$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="199 784 710 1041"> <tbody> <tr> <td>N2-H...O5</td> <td>1.56</td> <td>177</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O2</td> <td>1.67</td> <td>167</td> </tr> <tr> <td>N4-H...N3</td> <td>1.87</td> <td>149</td> </tr> <tr> <td>N7-H...O1</td> <td>1.81</td> <td>170</td> </tr> <tr> <td>N5-H...O2</td> <td>1.79</td> <td>177</td> </tr> <tr> <td>N8-H...N1</td> <td>2.26</td> <td>169</td> </tr> </tbody> </table>	N2-H...O5	1.56	177	N4-H...O2	1.67	167	N4-H...N3	1.87	149	N7-H...O1	1.81	170	N5-H...O2	1.79	177	N8-H...N1	2.26	169	 <p data-bbox="845 716 1212 761">$\Delta G_{form}^{298} = 6.6$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="845 784 1356 1041"> <tbody> <tr> <td>N2-H...O5</td> <td>1.84</td> <td>152</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O1</td> <td>2.22</td> <td>167</td> </tr> <tr> <td>N7-H...N1</td> <td>1.89</td> <td>169</td> </tr> <tr> <td>N5-H...O1</td> <td>1.76</td> <td>165</td> </tr> <tr> <td>N8-H...O1</td> <td>1.64</td> <td>172</td> </tr> <tr> <td>N8-H...O5</td> <td>1.99</td> <td>119</td> </tr> </tbody> </table>	N2-H...O5	1.84	152	N4-H...O1	2.22	167	N7-H...N1	1.89	169	N5-H...O1	1.76	165	N8-H...O1	1.64	172	N8-H...O5	1.99	119
N2-H...O5	1.56	177																																			
N4-H...O2	1.67	167																																			
N4-H...N3	1.87	149																																			
N7-H...O1	1.81	170																																			
N5-H...O2	1.79	177																																			
N8-H...N1	2.26	169																																			
N2-H...O5	1.84	152																																			
N4-H...O1	2.22	167																																			
N7-H...N1	1.89	169																																			
N5-H...O1	1.76	165																																			
N8-H...O1	1.64	172																																			
N8-H...O5	1.99	119																																			
Комплекс 5	Комплекс 6																																				
 <p data-bbox="199 1657 566 1702">$\Delta G_{form}^{298} = 6.8$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="199 1724 710 1937"> <tbody> <tr> <td>N2-H...O5</td> <td>1.73</td> <td>160</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O2</td> <td>1.70</td> <td>177</td> </tr> <tr> <td>N4-H...N5</td> <td>1.75</td> <td>167</td> </tr> <tr> <td>N7-H...O2</td> <td>1.73</td> <td>167</td> </tr> <tr> <td>N6-H...N3</td> <td>2.13</td> <td>162</td> </tr> </tbody> </table>	N2-H...O5	1.73	160	N4-H...O2	1.70	177	N4-H...N5	1.75	167	N7-H...O2	1.73	167	N6-H...N3	2.13	162	 <p data-bbox="845 1612 1212 1657">$\Delta G_{form}^{298} = 6.9$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="845 1680 1356 1937"> <tbody> <tr> <td>N2-H...O5</td> <td>1.52</td> <td>180</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O2</td> <td>1.73</td> <td>159</td> </tr> <tr> <td>N4-H...N3</td> <td>1.74</td> <td>162</td> </tr> <tr> <td>N5-H...N1</td> <td>2.35</td> <td>177</td> </tr> <tr> <td>N8-H...O2</td> <td>1.79</td> <td>174</td> </tr> <tr> <td>N6-H...O1</td> <td>1.76</td> <td>179</td> </tr> </tbody> </table>	N2-H...O5	1.52	180	N4-H...O2	1.73	159	N4-H...N3	1.74	162	N5-H...N1	2.35	177	N8-H...O2	1.79	174	N6-H...O1	1.76	179			
N2-H...O5	1.73	160																																			
N4-H...O2	1.70	177																																			
N4-H...N5	1.75	167																																			
N7-H...O2	1.73	167																																			
N6-H...N3	2.13	162																																			
N2-H...O5	1.52	180																																			
N4-H...O2	1.73	159																																			
N4-H...N3	1.74	162																																			
N5-H...N1	2.35	177																																			
N8-H...O2	1.79	174																																			
N6-H...O1	1.76	179																																			

Продовж. табл. 3.1

Комплекс 7	Комплекс 8																																				
 <p data-bbox="199 705 566 750">$\Delta G_{form}^{298} = 8.3$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="199 772 694 1075"> <tbody> <tr><td>N2-H...O5</td><td>1.77</td><td>160</td></tr> <tr><td>N4-H...O2</td><td>2.11</td><td>153</td></tr> <tr><td>N5-H...O4</td><td>1.90</td><td>146</td></tr> <tr><td>N6-H...O1</td><td>1.67</td><td>164</td></tr> <tr><td>N7-H...O4</td><td>2.24</td><td>137</td></tr> <tr><td>N7-H...N1</td><td>2.26</td><td>138</td></tr> <tr><td>N8-H...O3</td><td>1.80</td><td>161</td></tr> </tbody> </table>	N2-H...O5	1.77	160	N4-H...O2	2.11	153	N5-H...O4	1.90	146	N6-H...O1	1.67	164	N7-H...O4	2.24	137	N7-H...N1	2.26	138	N8-H...O3	1.80	161	 <p data-bbox="845 795 1212 840">$\Delta G_{form}^{298} = 9.2$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="845 862 1340 1075"> <tbody> <tr><td>N2-H...O5</td><td>1.55</td><td>176</td></tr> <tr><td>N4-H...O1</td><td>1.82</td><td>154</td></tr> <tr><td>N4-H...N1</td><td>1.79</td><td>164</td></tr> <tr><td>N8-H...O2</td><td>1.69</td><td>177</td></tr> <tr><td>N6-H...O1</td><td>1.93</td><td>177</td></tr> </tbody> </table>	N2-H...O5	1.55	176	N4-H...O1	1.82	154	N4-H...N1	1.79	164	N8-H...O2	1.69	177	N6-H...O1	1.93	177
N2-H...O5	1.77	160																																			
N4-H...O2	2.11	153																																			
N5-H...O4	1.90	146																																			
N6-H...O1	1.67	164																																			
N7-H...O4	2.24	137																																			
N7-H...N1	2.26	138																																			
N8-H...O3	1.80	161																																			
N2-H...O5	1.55	176																																			
N4-H...O1	1.82	154																																			
N4-H...N1	1.79	164																																			
N8-H...O2	1.69	177																																			
N6-H...O1	1.93	177																																			
Комплекс 9	Комплекс 10																																				
 <p data-bbox="199 1612 566 1657">$\Delta G_{form}^{298} = 9.7$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="199 1680 694 1926"> <tbody> <tr><td>N4-H...O2</td><td>2.14</td><td>165</td></tr> <tr><td>N6-H...O1</td><td>1.90</td><td>170</td></tr> <tr><td>N7-H...O4</td><td>1.99</td><td>150</td></tr> <tr><td>N5-H...O2</td><td>1.73</td><td>163</td></tr> <tr><td>N8-H...O2</td><td>1.81</td><td>165</td></tr> <tr><td>N8-H...N3</td><td>1.92</td><td>147</td></tr> </tbody> </table>	N4-H...O2	2.14	165	N6-H...O1	1.90	170	N7-H...O4	1.99	150	N5-H...O2	1.73	163	N8-H...O2	1.81	165	N8-H...N3	1.92	147	 <p data-bbox="845 1657 1212 1702">$\Delta G_{form}^{298} = 10.3$ ккал/моль</p> <table border="1" data-bbox="845 1724 1340 1926"> <tbody> <tr><td>N4-H...N1</td><td>2.02</td><td>175</td></tr> <tr><td>N5-H...O4</td><td>2.01</td><td>116</td></tr> <tr><td>N5-H...N4</td><td>1.75</td><td>169</td></tr> <tr><td>N5-H...O1</td><td>1.69</td><td>173</td></tr> <tr><td>N7-H...O1</td><td>1.81</td><td>160</td></tr> </tbody> </table>	N4-H...N1	2.02	175	N5-H...O4	2.01	116	N5-H...N4	1.75	169	N5-H...O1	1.69	173	N7-H...O1	1.81	160			
N4-H...O2	2.14	165																																			
N6-H...O1	1.90	170																																			
N7-H...O4	1.99	150																																			
N5-H...O2	1.73	163																																			
N8-H...O2	1.81	165																																			
N8-H...N3	1.92	147																																			
N4-H...N1	2.02	175																																			
N5-H...O4	2.01	116																																			
N5-H...N4	1.75	169																																			
N5-H...O1	1.69	173																																			
N7-H...O1	1.81	160																																			

Аналіз 10 найбільш стабільних комплексів показав, що їх можливо розділити на дві групи. В одній групі (комплекси 1, 2, 4, 7, 9, 10) молекула морфоліну нейтральна, а молекула L-аргініну містить два протоновані атома азоту, в результаті чого її заряд +2. А в другій групі (комплекси 3, 5, 6, 8) молекула морфоліну протонована по атому азоту і є катіоном, також як і молекула L-аргініну з одним протонованим атомом азоту. Негативні заряди в усіх розрахованих комплексах локалізовані на карбоксильних групах L-аргініну і МТТА. Також слід зазначити, що в молекулі L-аргініну у всіх випадках протонована іміногрупа гуанідинового фрагмента, в той час як α -аміногрупа може бути як протонованою, так і нейтральною.

Порівняння водневих зв'язків в двох найбільш стабільних комплексах показало, що атом азоту нейтральної молекули морфоліну може виступати як акцептором (комплекс 1), так і донором (комплекс 2) протона. При цьому як донор протона нейтральна молекула морфоліну утворює водневі зв'язки, характеристики яких дуже близькі до водневих зв'язків, утворених протонованим морфоліном. У ролі ж акцептора протона морфолін утворює більш слабкі міжмолекулярні водневі зв'язки.

Результати розрахунків дозволяють припустити, що вивчені комплекси термодинамічно нестабільні в розчині. Енергії утворення комплексів позитивні, але досить низькі (табл. 3.1) незважаючи на зарядове посилення ряду водневих зв'язків. По всій вірогідності, це обумовлено високою конформаційною гнучкістю молекул, в яких групи, які беруть участь в утворенні водневих зв'язків, розділені містком, що містить кілька метиленових груп, і досить легким перенесенням протонів, що беруть участь в утворенні водневих зв'язків. Також можна 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.

Таким чином, проведені квантово-хімічні розрахунки свідчать, що між діючими речовинами не виникають стійких хімічних зв'язків, а тільки нестійкі водневі, що дає можливість поєднання L-аргініну та тіотриазоліну в одній лікарській формі у вигляді таблеток [386].

3.2 Дериватографічні дослідження L-аргініну, морфолінію тіазотату та суміші L-аргініну з морфолінію тіазотатом

З метою вивчення термічного розкладу, окислення, сумісності активних та допоміжних речовин, температурних режимів введення їх до основи нами були проведені термогравіметричні дослідження. В ході роботи проводили термогравіметричний аналіз субстанції L-аргініну, морфолінію тіазотату, суміші L-аргініну-морфолінію тіазотату [159]. Результати проведених досліджень представлені на рис. 3.3, 3.4, 3.5.

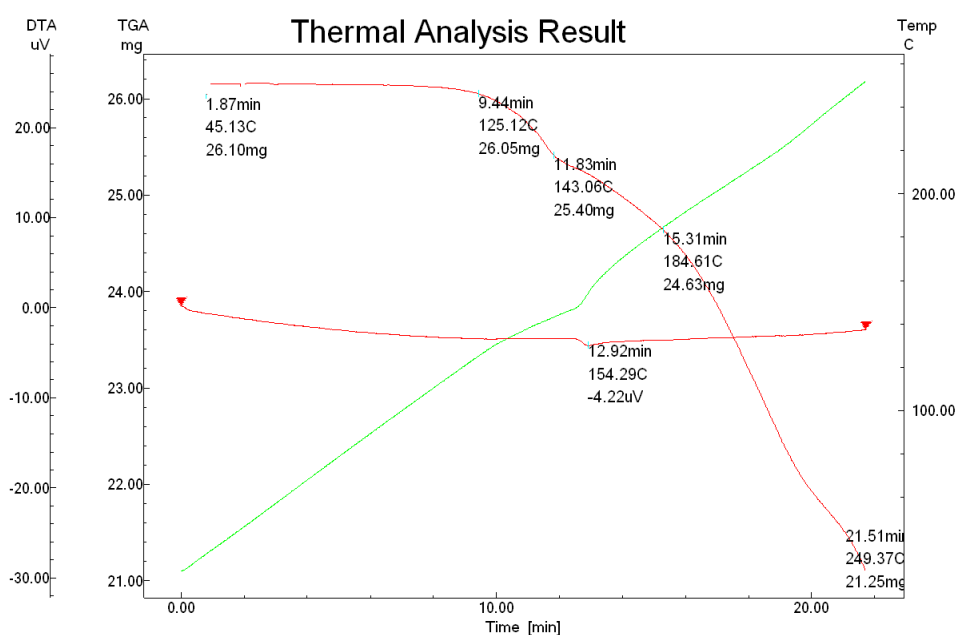


Рис.3.3 Дериватограма морфолінію тіазотату

Як видно з наведених даних (рис.3.3) діюча речовина - морфолінію тіазотат є термічно-стійкою сполукою в діапазоні температур від 26 до 125 °С. На дев'ятій хвилині експерименту при температурі 125,12 °С маса дослідного

зразка зменшилася на 0,19% (0,05 мг), а вже на одинадцятій хвилині досліду при температурі 143,06 °С спостерігали незначний ендотермічний ефект, при цьому маса морфолінію тіазотату зменшилася на 2,68% (0,7 мг). На п'ятнадцятій хвилині експерименту маса морфолінію тіазотату зменшилася на 5,63% (1,47 мг), потім поступово зменшувалася до 21,25 мг при температурі 249,37 °С.

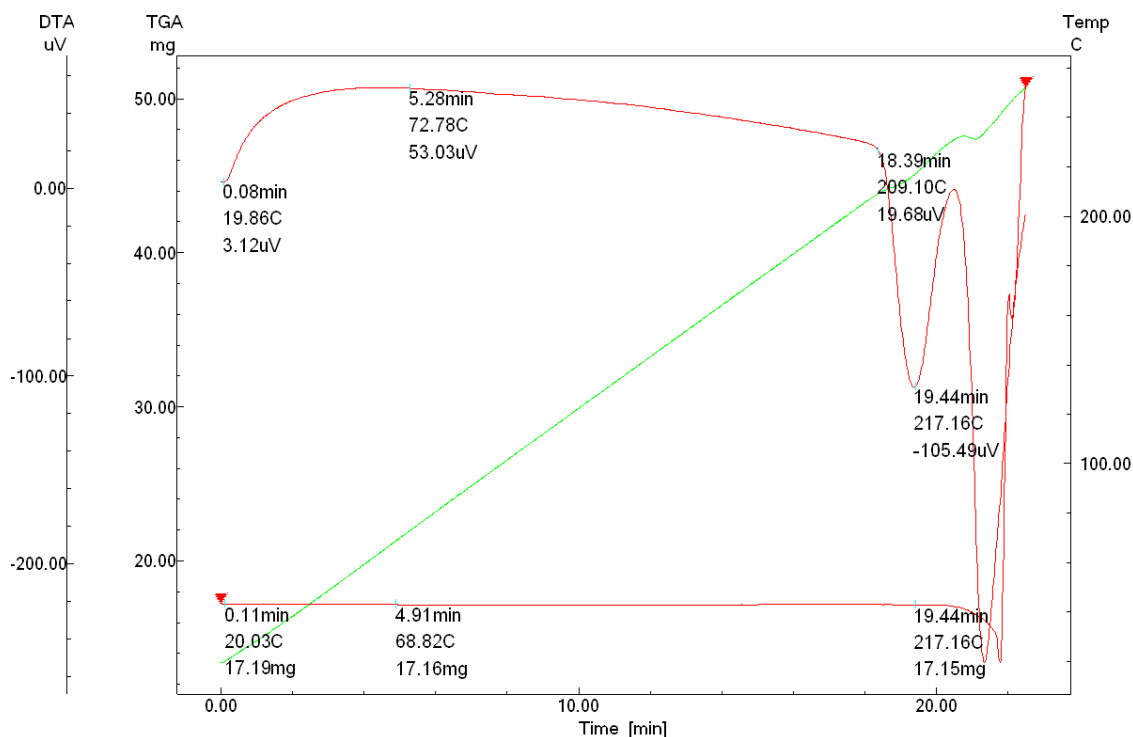


Рис. 3.4 Дериватограма L-аргініна

Аналіз отриманої дериватограми L-аргініну (рис. 3.4) показав, що даний зразок є відносно термічно стабільною сполукою в діапазоні температур від 19 до 209 °С. На вісімнадцятій хвилині експерименту при температурі 209,10 °С спостерігається початок ендотермічного ефекту. На дев'ятнадцятій хвилині експерименту при температурі 217,16 °С маса зразка змінилася на 0,23%

(0,0023

мг).

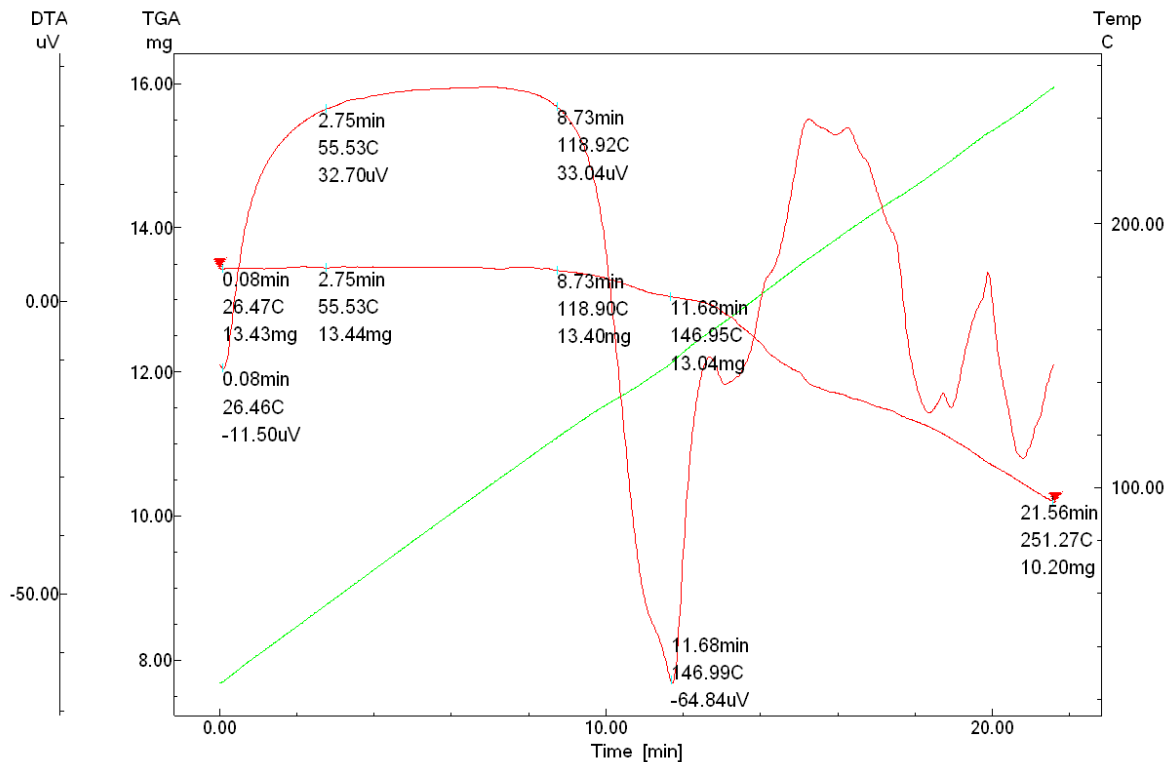


Рис.3.5 Дериватограма суміші L-аргініна з морфолінію тіазотатом

Отримана дериватограма суміші L-аргініну та морфолінію тіазотату (рис. 3.5) показує подібний характер теплових ефектів окремих інгредієнтів суміші - це свідчить про відсутність взаємодії компонентів між собою. Так на восьмій хвилині експерименту при температурі 118, 90 °C зміна маси склала 0,3% (0,0030 мг). На одинадцятій хвилині експерименту при температурі 146, 99 °C зміна маси склала 2,98% (0,0298 мг). Таким чином, в ході проведених досліджень виявлено, що суміш L-аргініну і морфолінію тіазотату є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою і дає можливість комбінувати їх в одній лікарській формі.

3.3 Розробка технології отримання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Для нового комбінованого лікарського препарату була обрана раціональна лікарська форма - таблетки. По-перше, для створення нового комбінованого таблетованого лікарського засобу потрібно відібрати оптимальні допоміжні речовини [19, 49, 68, 72, 76, 166].

Спочатку були проведені морфометричні дослідження порошоків L-аргініну, морфолінію тіазотату та їх суміші. Дослідження проводили на мікроскопі Ulab XY-B2BLED, в лабораторії по стандартизації і технології лікарських засобів Запорізького державного медичного університету (рис. 3.6).

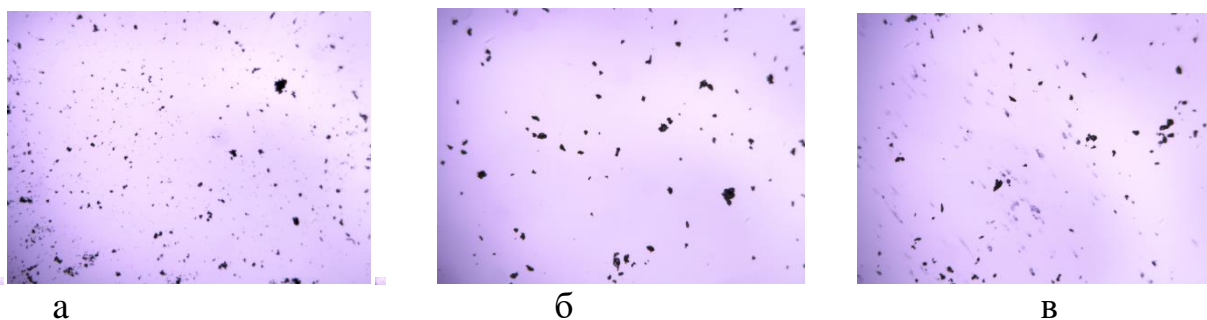


Рис. 3.6 Мікроснімок порошоків L-аргініна в масштабі 1:100 (а), морфолінію тіазотата в масштабі 1: 100 (б) та суміші L-аргініна з морфолінію тіазотатом в масштабі 1: 100 (в)

Вивчивши розміри кристалів L-аргініну та морфолінію тіазотату, які мають різну форму і розміри, їх технологічні властивості, для отримання комбінованих таблеток був запропонований метод вологої грануляції [77, 79].

На другому етапі, були проведені дослідження з вибору раціональних допоміжних речовин для отримання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції. Для цього вивчали чотири групи допоміжних речовин, а саме наповнювачі на основі цукрів, розпушувачі, регулятори вологи, зв'язуючі речовини, які повинні забезпечувати необхідні фармако-технологічні показники таблеток. Допоміжні речовини, які вивчали

при отриманні таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом представлені в табл. 3.2.

Таблиця 3.2

Фактори і їх рівні, які вивчали при отриманні таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Фактори	Рівні факторів	
Фактор А наповнювачі на основі цукрів	a ₁	Лактози моногідрат
	a ₂	Сахароза
	a ₃	Маніт
	a ₄	Фруктоза
Фактор В розпушувачі	b ₁	Крохмаль картопляний
	b ₂	Крохмаль прежелатинізований
	b ₃	Натрію кроскармелоза
	b ₄	Натрію карбоксиметилкрохмаль
Фактор С регулятори вологи	c ₁	МКЦ 101
	c ₂	МКЦ 301
	c ₃	Арбоцель 290
	c ₄	Арбоцель 80
Фактор D зв'язуючі речовини	d ₁	3%-вий крохмальний клейстер
	d ₂	3% розчин МЦ 100
	d ₃	3% розчин ГПМЦ 2910
	d ₄	3% розчин ПВП К-17

Далі в лабораторних умовах були виготовлені 16 серій таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом згідно плану 4x4 греко-латинського квадрата 4x4 [105, 114, 119]. Матриця планування експерименту і результати дослідження таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом наведені в табл. 3.3.

У всіх серіях отриманих таблеток процес пресування проходив без видимих ускладнень.

Дисперсійний аналіз (Додаток А) показав, що на зовнішній вигляд таблеток мають вплив фактори А, В, D. Фактор С статистично незначущий. Наповнювачі на основі цукрів за впливом на зовнішній вигляд таблеток розміщуються в наступний ряд переваг: лактоза > маніт > сахароза > фруктоза (рис. 3.6).

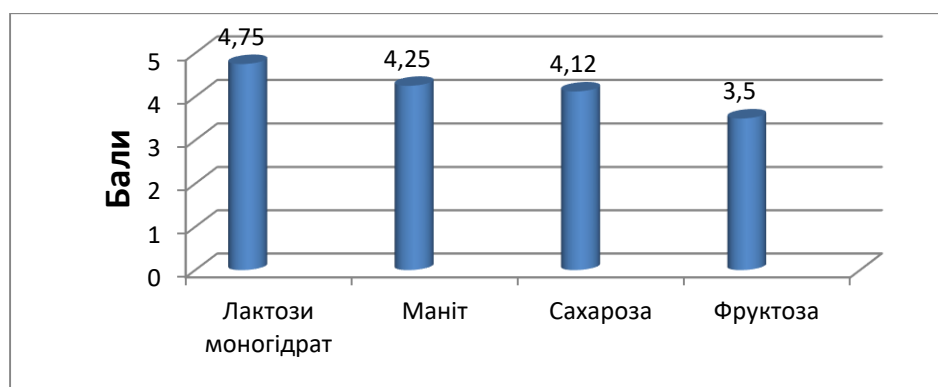


Рис.3.6 Вплив природи наповнювачів на основі цукрів на зовнішній вигляд таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Допоміжні речовини фактора В (розпушувачі) за впливом на зовнішній вигляд таблеток розміщуються в такій послідовності: $b_3 = b_4 > b_1 > b_2$ (рис. 3.7).

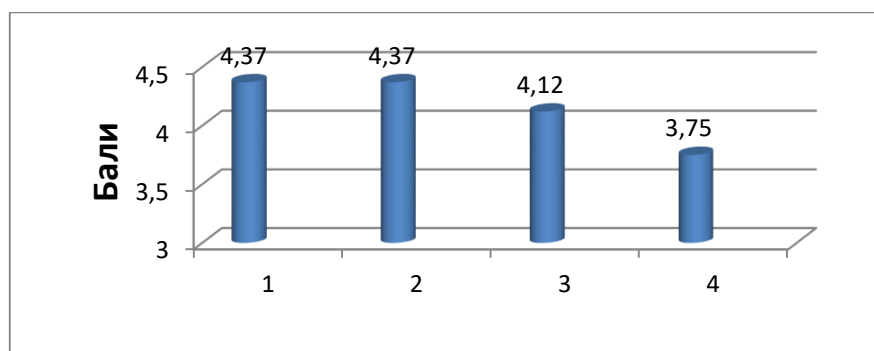


Рис.3.7 Вплив природи розпушувачів на зовнішній вигляд таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом (1- натрію кроскармелоза; 2- натрію карбоксиметилкрохмаль; 3- крохмаль картопляний; 4-крохмаль прежелатинізований)

Таблиця 3.3

**Чотирьох факторний експеримент на основі 4x4 греко-латинського квадрата і результати дослідження
таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом**

N III	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	D ₁	D ₂
1	a ₁	b ₁	c ₁	d ₁	5	4	5	5	2,11	2,8	0,06	0,07	72,8	74,7	0,45	0,36	0,908	0,916
2	a ₁	b ₂	c ₂	d ₄	4	4	4	4	1,45	1,75	0,03	0,02	64,8	69,5	1,33	1,08	0,858	0,891
3	a ₁	b ₃	c ₃	d ₂	4	5	5	5	4,42	5,76	0,02	0,01	36,0	38,6	2,33	2,07	0,465	0,316
4	a ₁	b ₄	c ₄	d ₃	5	4	5	5	4,33	5,17	0,03	0,02	94,3	97,9	4,11	3,50	0,868	0,765
5	a ₂	b ₁	c ₂	d ₃	4	4	4	4	2,68	3,48	0,08	0,07	98,6	102,4	0,24	0,18	0,957	0,945
6	a ₂	b ₂	c ₁	d ₂	4	4	3	4	5,32	6,05	0,06	0,05	102,6	105,4	6,11	7,54	0,594	0,000
7	a ₂	b ₃	c ₄	d ₄	4	4	4	4	4,65	5,88	0,04	0,05	44,5	47,6	1,44	1,14	0,582	0,394
8	a ₂	b ₄	c ₃	d ₁	4	5	5	5	4,66	5,46	0,14	0,14	49,7	52,8	0,44	0,27	0,687	0,489
9	a ₃	b ₁	c ₃	d ₄	4	4	4	4	2,76	3,49	0,04	0,03	65,8	68,5	4,44	3,53	0,832	0,837
10	a ₃	b ₂	c ₄	d ₁	4	4	4	4	5,32	6,24	0,06	0,04	78,2	82,1	5,22	4,36	0,666	0,459
11	a ₃	b ₃	c ₁	d ₃	5	5	5	5	2,07	2,39	0,03	0,02	109,4	112,3	5,45	4,36	0,955	0,954
12	a ₃	b ₄	c ₂	d ₂	4	4	4	4	2,77	3,39	0,03	0,02	79,6	83,6	3,33	3,26	0,9045	0,900
13	a ₄	b ₁	c ₄	d ₂	4	4	3	4	5,49	6,84	1,23	1,54	76,9	82,3	0,34	0,23	0,000	0,000

Продовж. табл. 3.3

14	a₄	b₂	c₃	d₃	4	4	3	4	5,33	6,76	0,02	0,01	80,3	84,8	1,55	0,58	0,553	0,000
15	a₄	b₃	c₂	d₁	4	4	3	4	2,12	2,44	0,02	0,01	81,3	85,0	2,44	2,08	0,776	0,925
16	a₄	b₄	c₁	d₄	4	4	3	4	4,87	6,45	2,51	3,44	74,6	74,2	0,33	0,28	0,000	0,000

Примітка: y_1, y'_1 - процес пресування таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, першої і другої серії відповідно, бали;
 y_2, y'_2 - зовнішній вигляд поверхні таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, першої і другої серії відповідно, бали;
 y_3, y'_3 - однорідність в масі таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, першої і другої серії відповідно, $\pm\%$;
 y_4, y'_4 - стираність таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, першої і другої серії відповідно, %;
 y_5, y'_5 - міцність таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, першої і другої серії відповідно, Н;
 y_6, y'_6 - час розпадання таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, першої і другої серії відповідно, хв.

Серед вивчених зразків в'язучих речовин за впливом на зовнішній вигляд таблеток перевагу над іншими речовинами мають 3%-вий крохмальний клейстер і 3% розчин ГПМЦ 2910 (рис. 3.8).

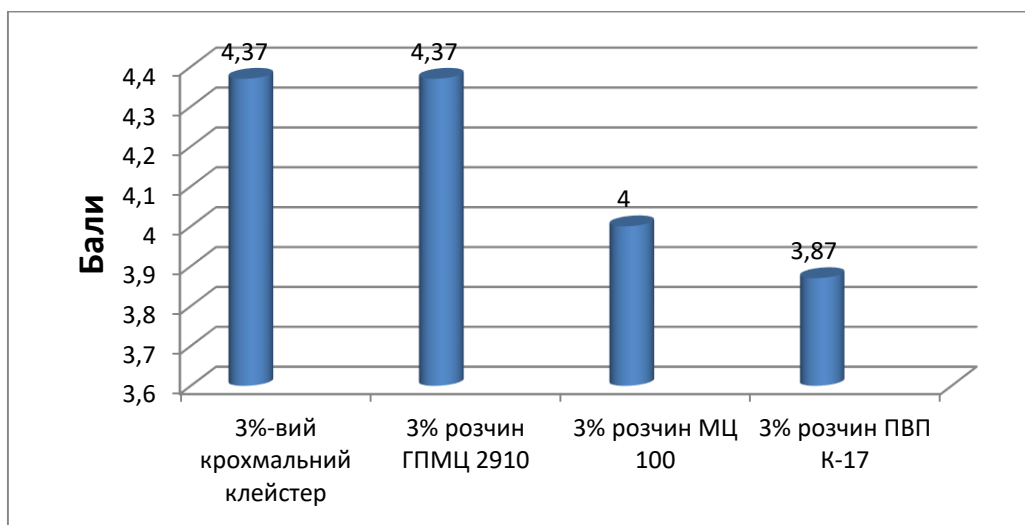


Рис. 3.8 Вплив природи зв'язуючих речовин на зовнішній вигляд таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Результати дисперсійного аналізу експериментальних даних показали, що на однорідність в масі таблеток впливають всі фактори. Серед зразків регуляторів вологи перевагу має МКЦ 301 (рис. 3.9).

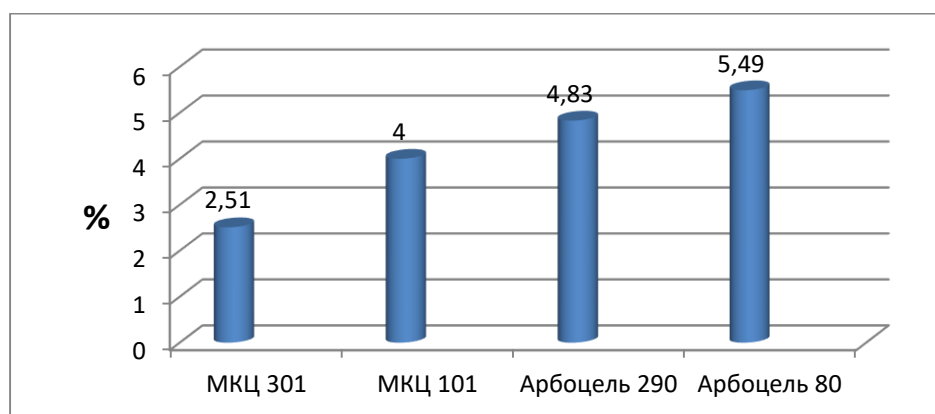


Рис.3.9 Середні значення однорідності в масі таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних регуляторів вологи

Для фактора А (наповнювачі на основі цукрів) отримали наступний ряд переваг: $a_1 > a_3 > a_2 > a_4$. Лактоза моногідрат має перевагу над іншими допоміжними речовинами (рис. 3.10).

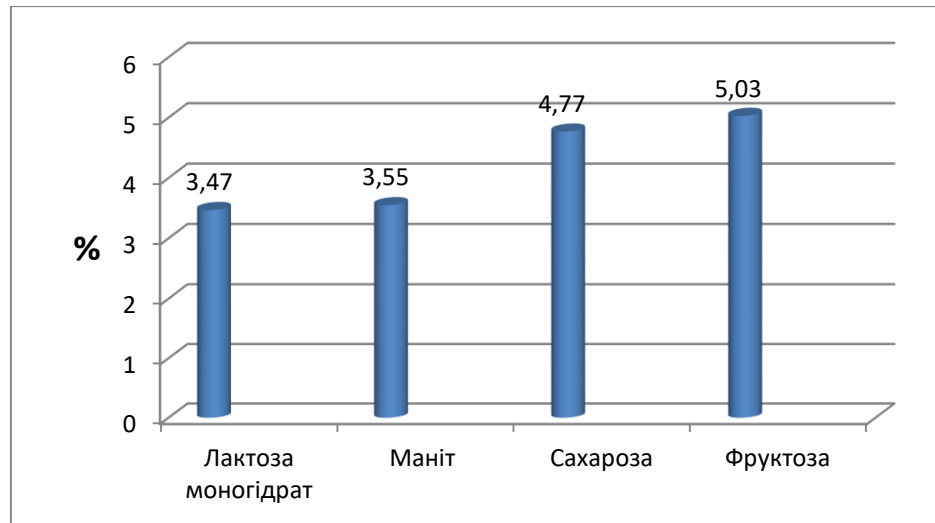


Рис.3.10 Середні значення однорідності в масі таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних наповнювачів на основі цукрів

Серед вивчених зразків розпушувачів, за впливом на однорідність в масі таблеток, перевагу має крохмаль картопляний (рис. 3.11).

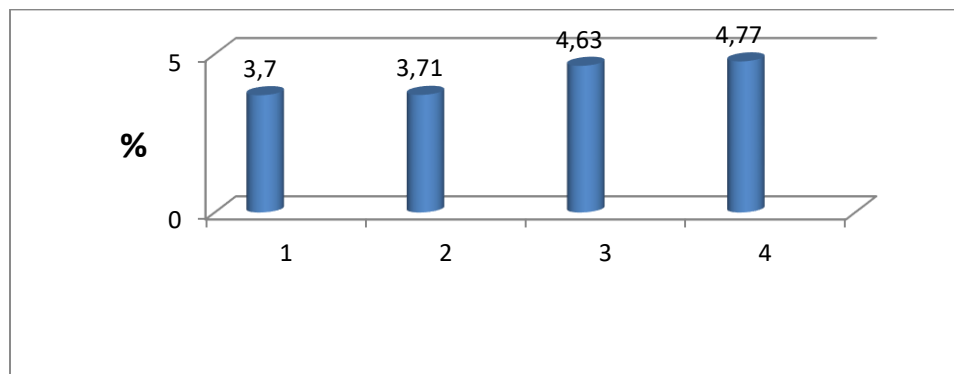


Рис. 3.11 Середні значення однорідності в масі таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних розпушувачів (1-крохмаль картопляний; 2-натрію кроскармелоза; 3-натрію карбоксиметилкрохмаль; 4-крохмаль прежелатинізований)

Для фактора D отримали наступний ряд переваг: $d_1 \geq d_4 > d_3 > d_2$.

Кращою допоміжною речовиною серед вивчених зразків зв'язуючих речовин виявився 3% -вий крохмальний клейстер, який має деяку перевагу над 3% розчином ПВП К-17 і 3% розчином ГПМЦ 2910 і значну над 3% розчином МЦ 100 (рис. 3.12).

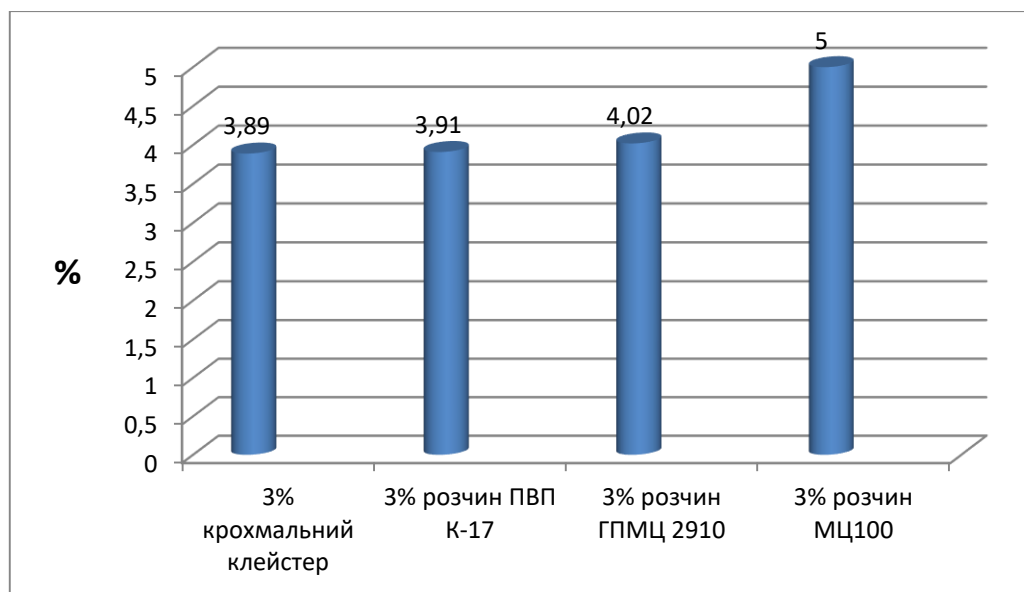


Рис. 3.12 Середні значення однорідності в масі таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних зв'язуючих речовин

Дисперсійний аналіз показав, що вплив на стиранисть таблеток мають фактори А, В, С. Фактор D статистично незначущий.

Серед зразків наповнювачів на основі цукру кращою допоміжною речовиною виявилась лактоза моногідрат, яка має деяку перевагу над манітом і сахарозою та значну над фруктозою (рис. 3.13).

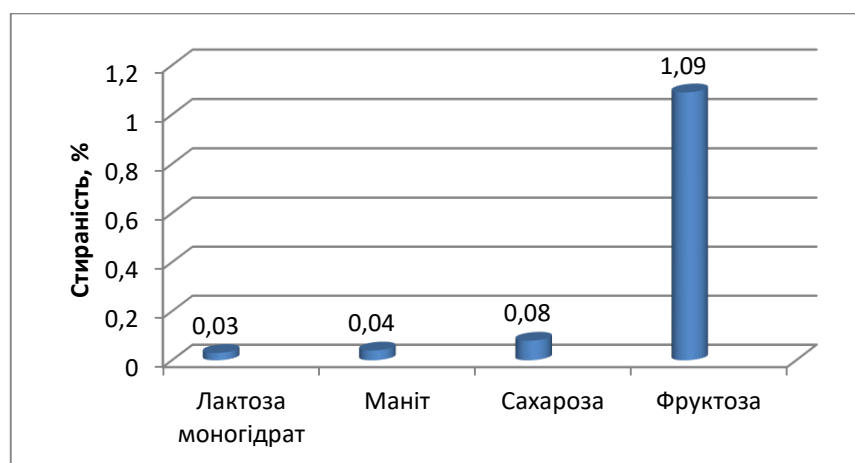


Рис 3.13 Вплив природи наповнювачів на основі цукрів на стиранисть таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Ефективність розпушувачів за впливом на стиранисть таблеток ілюструє наступний ряд переваг: $b_3 > b_2 > b_1 > b_4$. Натрію кроскармелоза має незначну

перевагу над крохмалем прежелатинізованим та значну над крохмалем картопляним і натрію карбоксиметилкрохмалем (рис. 3.14).

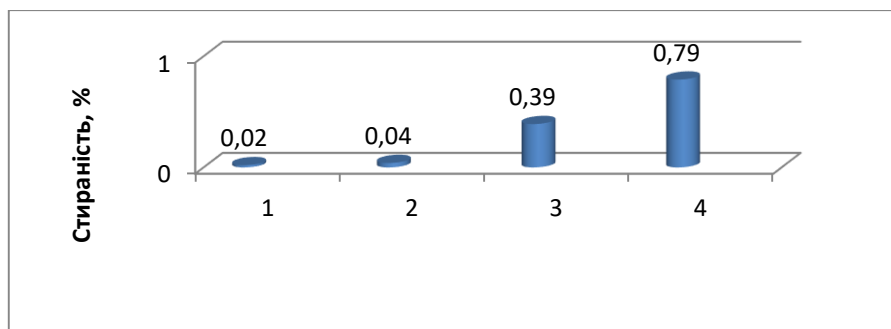


Рис 3.14 Вплив природи розпушувачів на стираність таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом (1- натрію кроскармелоза; 2-крохмаль прежелатинізований; 3- крохмаль картопляний; 4-натрію карбоксиметилкрохмаль)

Серед вивчених зразків регуляторів вологи за впливом на стирання таблеток перевагу має МКЦ 301 (рис. 3.15).

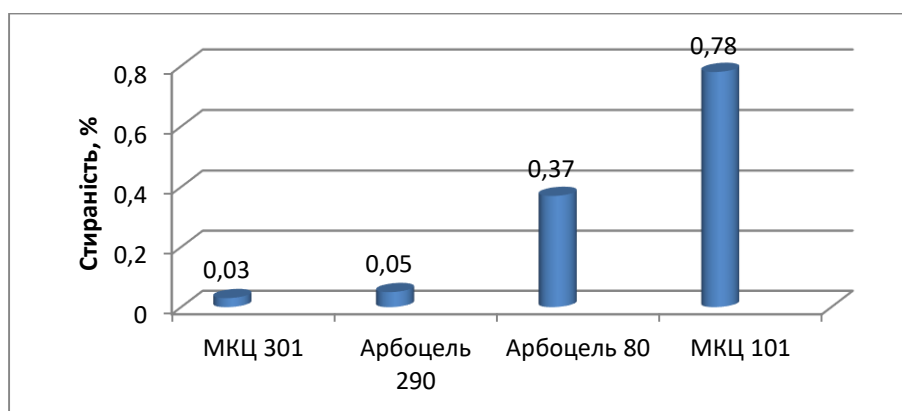


Рис 3.15 Вплив регуляторів вологи на стираність таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Дисперсійний аналіз показав статистичну значущість ефектів всіх факторів на стійкість таблеток до роздавлювання. Рівні фактору D (зв'язуючі речовини) розташовуються в наступний ряд переваг: $d_3 > d_2 > d_1 > d_4$. Найбільша стійкість до роздавлювання спостерігається при використанні 3% розчину ГПМЦ 2910 (рис. 3.16).

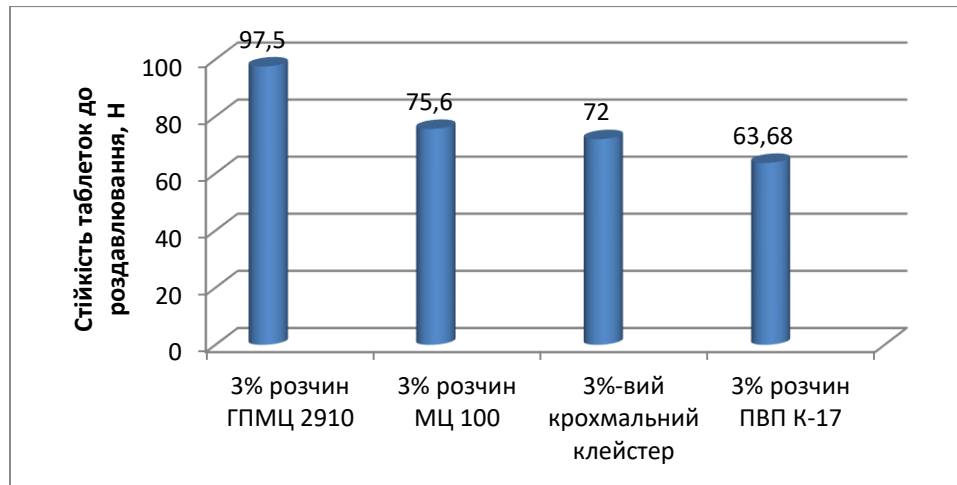


Рис 3.16 Вплив природи зв'язуючих речовин на міцність таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Серед вивчених зразків регуляторів вологи за впливом на стійкість таблеток до роздавлювання найкращим виявився МКЦ 101 (90,75 Н), який має перевагу над МКЦ 301 (83,1 Н), арбоцель 80 (75,47 Н), арбоцель 290 (59,56 Н).

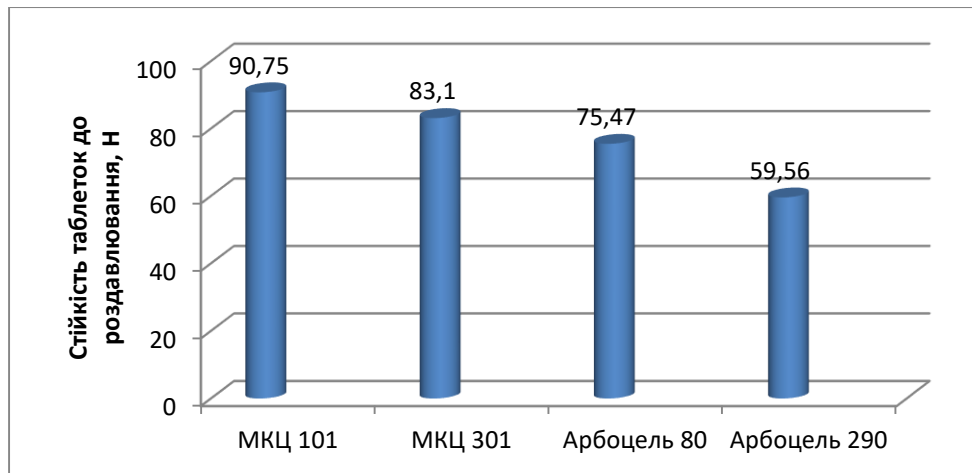


Рис. 3.17 Вплив природи регуляторів вологи на міцність таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Для фактора А (наповнювачі на основі цукрів) отримали наступний ряд переваг: $a_3 > a_4 > a_2 > a_1$. Маніт (83,94 Н) має перевагу над фруктозою (79,92 Н), сахарозою (75,45 Н) та лактозою моногідратом (68,57 Н).

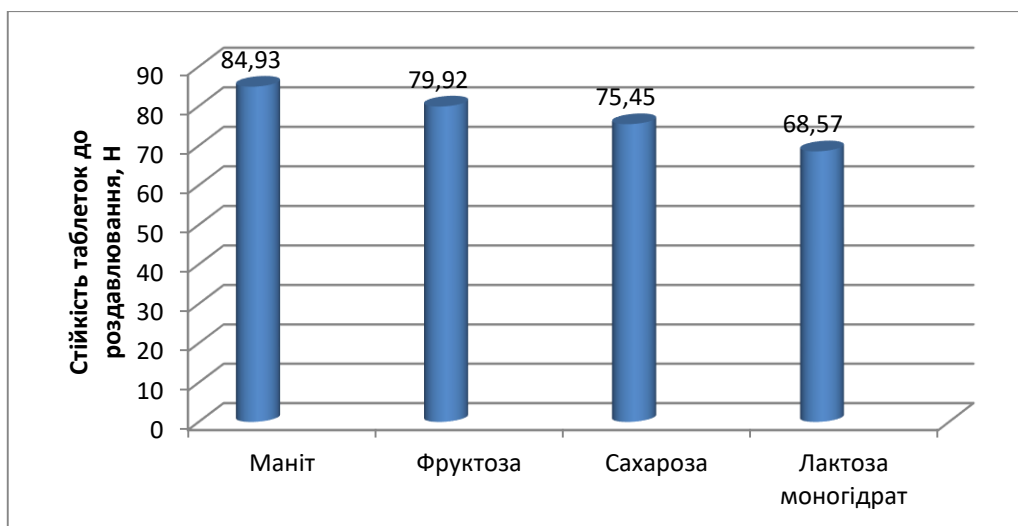


Рис. 3.18 Вплив природи наповнювачів на основі цукрів на міцність таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Кращою допоміжною речовиною серед вивчених зразків фактору В виявився крохмаль прежелатинізований (83,48 Н), який має перевагу над іншими рівнями фактору.

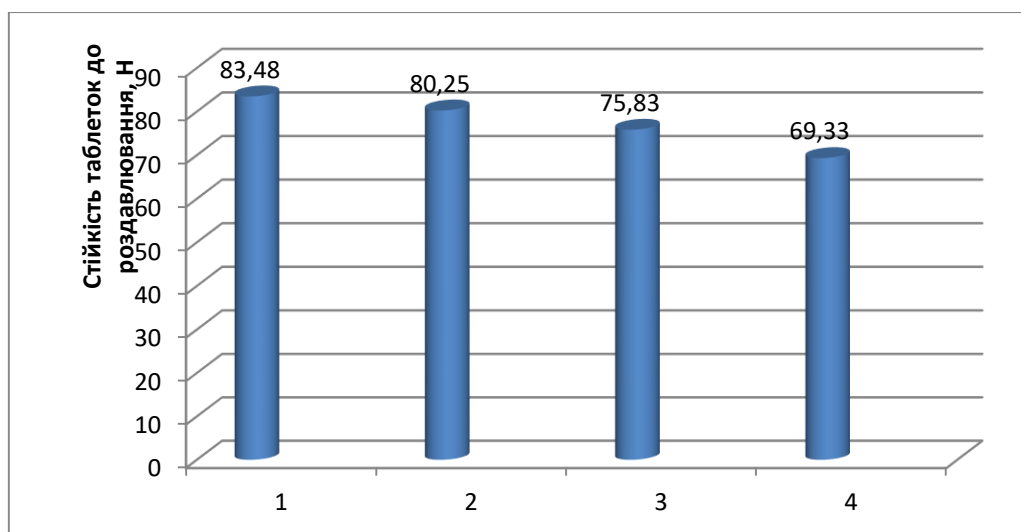


Рис. 3.19 Вплив природи розпушувачів на міцність таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом (1- крохмаль прежелатинізований; 2- крохмаль картопляний; 3-натрію карбоксиметилкрохмаль; 4-натрію кроскармелоза)

Вплив наповнювачів на основі цукрів (фактор А) на час розпадання таблеток ілюструє наступний ряд переваг: $a_4 > a_1 > a_2 > a_3$ (рис. 3.20).

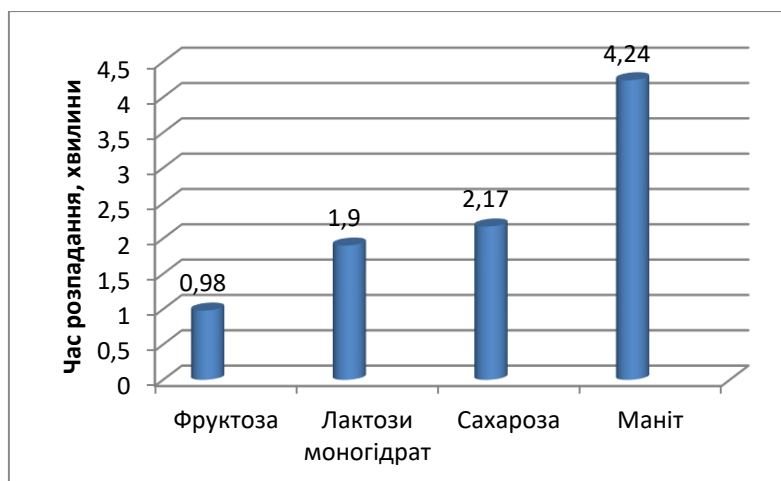


Рис. 3.20 Середні значення часу розпадання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних наповнювачів на основі цукрів

Розпушувачі за впливом на час розпадання таблеток розміщуються в такій послідовності: $b_1 > b_4 > b_3 > b_2$. Серед вивчених допоміжних речовин перевагу має крохмаль картопляний (1,22 хв) > натрію карбоксиметилкрохмаль (1,94 хв) > натрію кроскармелоза (2,66 хв) > крохмаль прежелатинізований (3,47 хв).

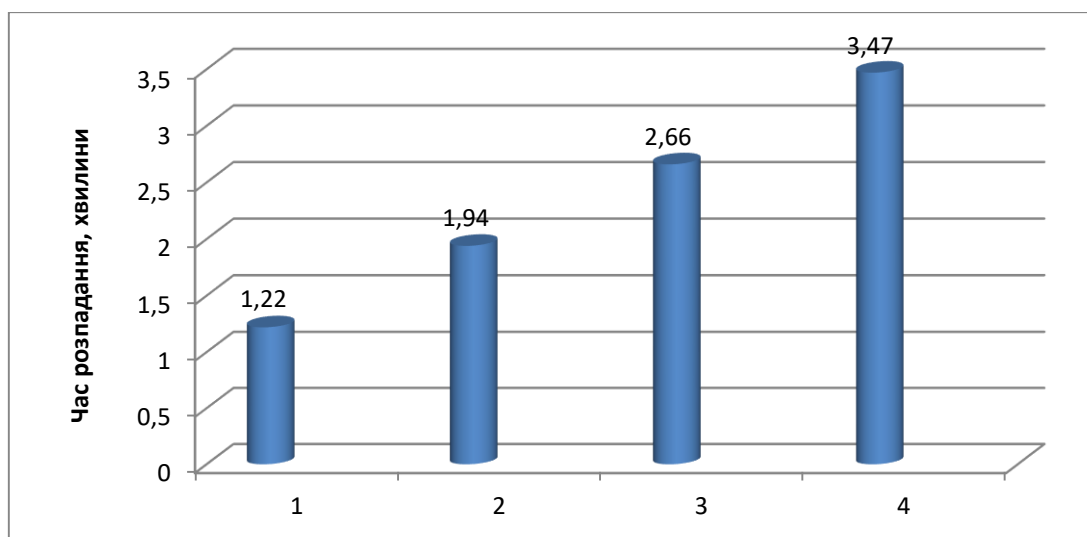


Рис. 3.21 Середні значення часу розпадання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних розпушувачів (1-крохмаль картопляний; 2-натрію карбоксиметилкрохмаль; 3-натрію кроскармелоза; 4-крохмаль прежелатинізований)

Серед вивчених зразків зв'язуючих речовин на час розпадання таблеток найкращим виявився 3% розчин ПВП К-17 (1,69 хв), який має перевагу над 3%-вим крохмальним клейстером (1,95 хв), 3% розчином ГПМЦ 2910 (2,49 хв), 3% розчином МЦ 100 (3,15 хв).

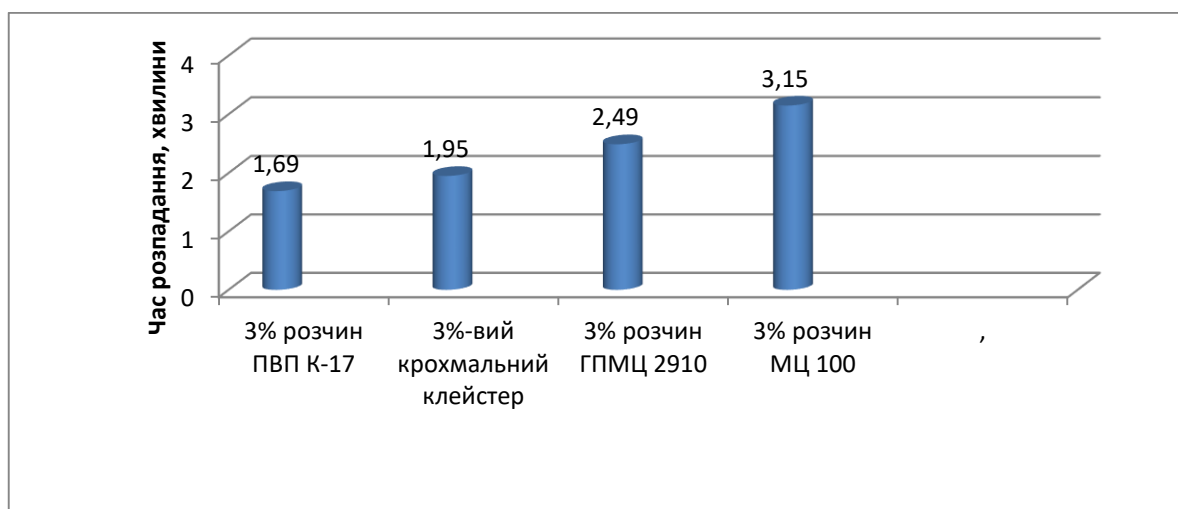


Рис. 3.22 Середні значення часу розпадання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних зв'язуючих речовин

Вплив зразків регуляторів вологи на час розпадання таблеток наступний: МКЦ 301 (1,74 хв) > Арбоцель 290 (1,9 хв) > Арбоцель 80 (2,54 хв) > МКЦ 101 (3,11 хв).

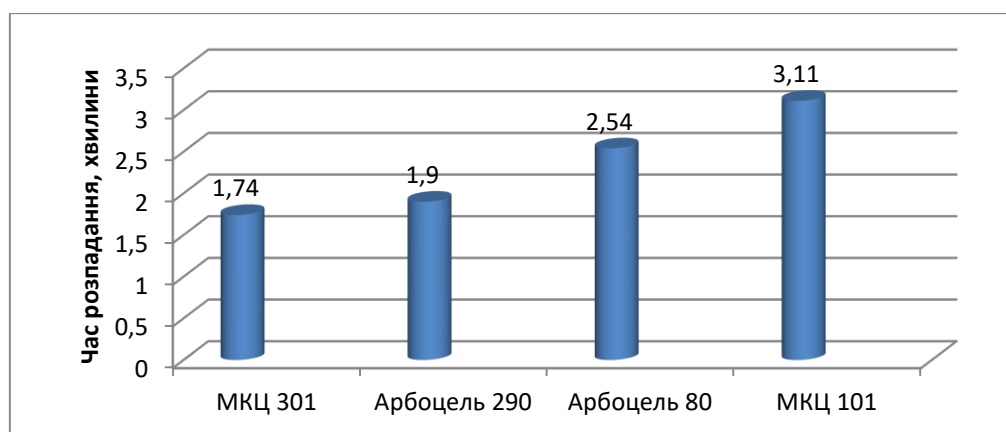


Рис. 3.23 Середні значення часу розпадання таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом для різних регуляторів вологи

Для вибору кращих допоміжних речовин з метою отримання таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції

використовували узагальнений показник – функцію бажаності [29]. Для цього експериментальні значення за зовнішнім виглядом, однорідністю маси таблеток, їх стійкістю до роздавлювання, стиранистю і розпаданням за допомогою функції бажаності переводили в безрозмірні величини, потім визначали узагальнений показник (рис.3.24). Отримані значення наведені в табл. 3.3.2 (графа **D i D'**).

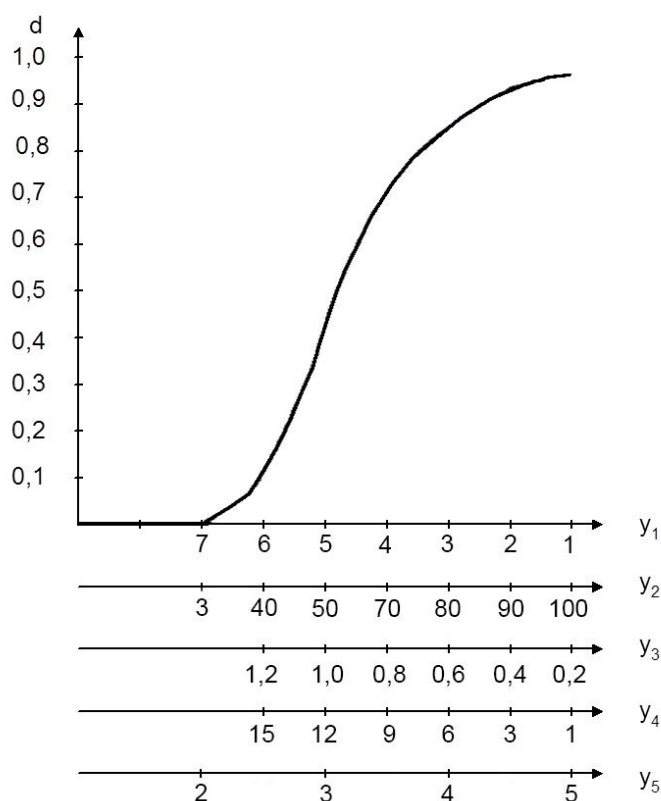


Рис. 3.24 Функція бажаності для переведення первинних результатів експерименту в безрозмірні величини

Результати дисперсійного аналізу показали статистичну значущість всіх чотирьох факторів за впливом на узагальнений показник.

Вплив наповнювачів на основі цукрів на узагальнений показник таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 3.25. Аналіз рис. показав, що визначальний вплив на чотири основні показники отриманих таблеток має маніт, який має переваги над лактозою моногідратом та суттєву перевагу над

сахарозою і фруктозою. Тому для подальших досліджень раціонально використовувати маніт.

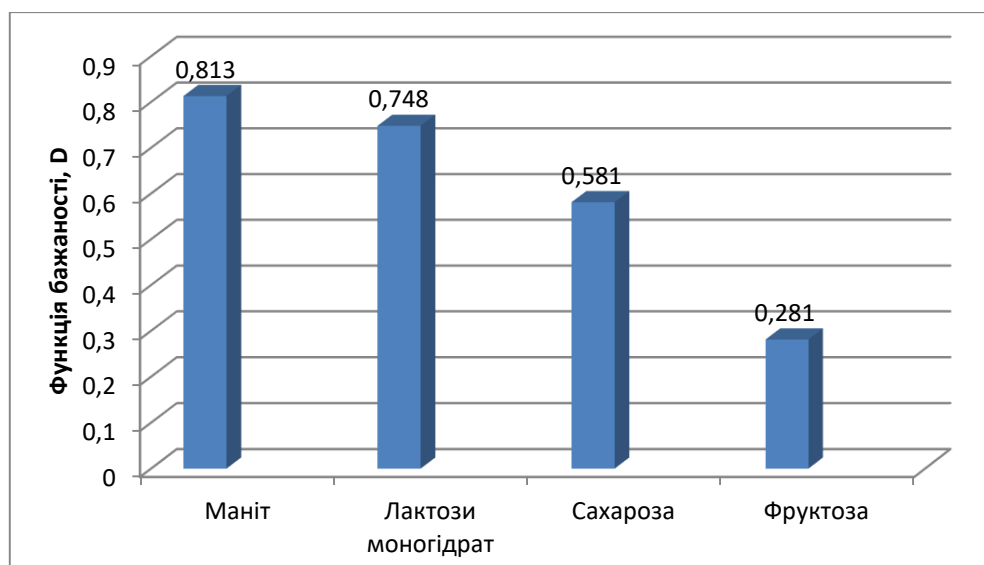


Рис. 3.25 Вплив наповнювачів на основі цукрів на узагальнений показник таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Вплив природи розпушувачів на узагальнений показник зображено на рис. 3.26.

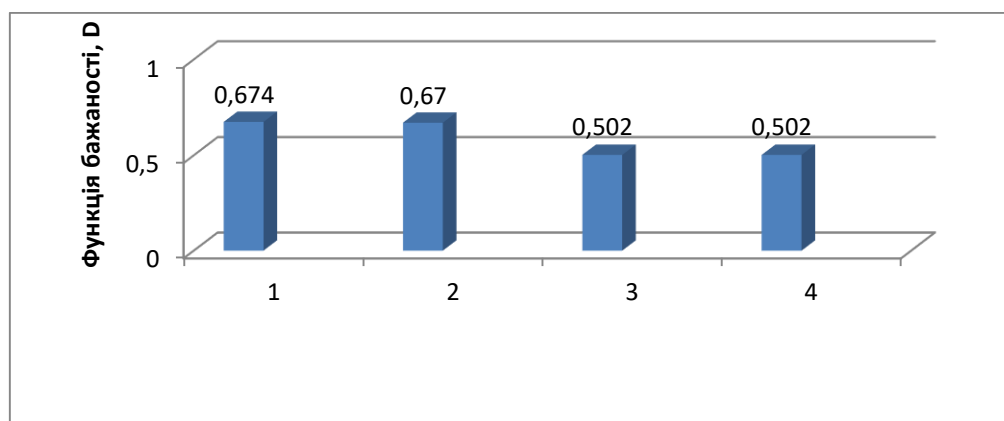


Рис. 3.26 Вплив природи розпушувачів на узагальнений показник таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом (1-крохмаль картопляний; 2-натрію кроскармелоза; 3-натрію карбоксиметилкрохмаль; 4-крохмаль прежелатинізований)

Ранжований ряд переваг для розпушувачів має наступний вигляд:
 крохмаль картопляний \geq натрію кроскармелоза $>$ натрію

карбоксиметилкрохмаль \geq крохмаль прежелатинізований. Після проведення додаткових експериментальних досліджень для подальших експериментів вибраний крохмаль картопляний.

Серед вивчених регуляторів вологи (рис. 3.27), найбільше значення узагальненого показника одержали при використанні МКЦ 301. Інші ДР із вказаної групи мали менший вплив на узагальнений показник.

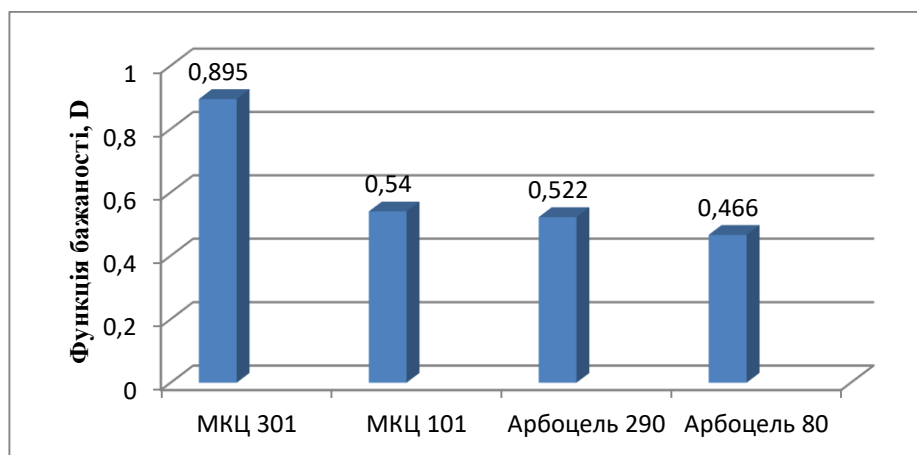


Рис. 3.27 Вплив природи регуляторів вологи на узагальнений показник таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Вплив зв'язуючих речовин на узагальнений показник зображено на рис. 3.28.

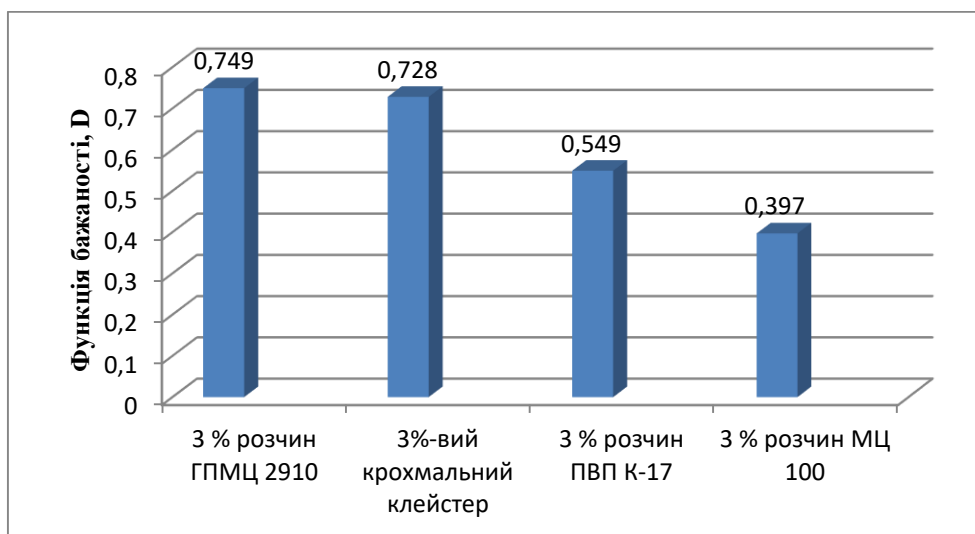


Рис. 3.28 Вплив природи зв'язуючих речовин на узагальнений показник таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Ранжувальний ряд переваг для зв'язуючих речовин (рис. 3.29), має такий вигляд: 3% розчин ГПМЦ 2910 (0,749) \geq 3%-вий крохмальний клейстер (0,728) $>$ 3% розчин ПВП К-17 (0,549) $>$ 3 % розчин МЦ 100 (0,397).

Дисперсійний аналіз результатів, отриманих за допомогою функції бажаності, дозволив на основі порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів вибрати кращі допоміжні речовини, враховуючи їх дію та наявність на ринку допоміжних речовин: маніт із зразків наповнювачів на основі цукрів, крохмаль картопляний із зразків розпушувачів, МКЦ 301 з групи регуляторів вологи, з групи зв'язуючих речовин обрано 3% розчин ГПМЦ 2910 [70, 84, 157, 158].

Що дало нам можливість запропонувати наступний склад таблетки:

L-аргінін	0,200 г
Морфолінію тіазотат	0,050 г
Маніт	0,048
МКЦ 301	0,054
Крохмаль картопляний	0,034
Магнію стеарат	0,004
3% розчин ГПМЦ 2910	Qs

3.4 Вибір плівкоутворюючого покриття для таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Отримані таблетки-ядра L-аргініну з тіотриазоліном відносяться до аміновмісних лікарських засобів, які мають низький термін зберігання, попередньо було спрогнозовано використання захисного декоративного покриття [32, 201]. Протягом вказаного часу перевіряли кількісний вміст діючих речовин, який фактично не змінився, однак якість поверхні таблеток не відповідала вимогам щодо зовнішнього вигляду. Тому були проведені

дослідження із створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном.

Як плівкоутворюючі композиції використовували готові суміші торгової марки Опадрай, які найчастіше використовуються вітчизняними фармацевтичними підприємствами в якості захисного покриття таблеток.

Перелік плівкоутворюючих систем, які використовували для покриття таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом наведений в таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Плівкоутворюючі системи та їх склад, які використовували для покриття таблеток-ядер L-аргініну з морфолінію тіазотатом захисною оболонкою

Назва плівкоутворюючої системи	Склад плівкоутворюючої системи
85F22	Полівініловий спирт, макрогол, тальк, титану діоксид, заліза оксид жовтий, заліза оксид червоний
OPADRY QX	Полівініловий спирт, тальк, титану діоксид, моно/дігліцериди, заліза оксид жовтий
03F22	ГПМЦ 2910, титану діоксид, заліза оксид жовтий, макрогол, тальк, заліза оксид червоний
OPADRY	ГПМЦ 2910, титану діоксид, тальк, макрогол, заліза оксид жовтий
OPADRY II	Полівініловий спирт, титану діоксид, макрогол тальк, заліза оксид жовтий

Кожну серію отриманих таблеток оцінювали за зовнішнім виглядом, однорідністю в масі, стійкістю таблеток до роздавлювання, часом розпадання. Результати дослідження представлені у табл. 3.5.

Результати дослідження таблеток, вкритих плівковою оболонкою L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Тип оболонки	y_1	y'_1	y_2	y'_2	y_3	y'_3	y_4	y'_4	y_5	y'_5	D	D'
85F22	4	4	0,65	0,79	269,05	256,24	13,46	12,58	97,56	98,42	0,54	0,79
OPADRY QX	4	5	0,74	0,63	264,3	272,42	7,5	7,24	99,78	99,34	0,92	0,95
03F22	4	5	0,51	0,65	247,2	223,36	8,27	8,04	98,69	99,02	0,88	0,87
OPADRY	5	5	0,77	0,81	287,15	268,25	6,52	7,12	99,87	100,02	0,95	0,95
OPADRY II	5	4	1,17	1,24	249,6	237,53	11,47	12,87	99,38	98,56	0,84	0,75

Примітка: y_1, y'_1 – зовнішній вид таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, бали, y_2, y'_2 – однорідність маси покритих таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, $\pm\%$, y_3, y'_3 – стійкість таблеток до роздавлювання першої і другої серії дослідів відповідно, Н, y_4, y'_4 – час розпаданя таблеток першої і другої серії дослідів відповідно, хв, y_5, y'_5 – вміст L-аргініну діючий речовин після 3 місяців зберігання першої і другої серії дослідів відповідно, **D** і **D'** – функція бажаності першої і другої серії дослідів відповідно.

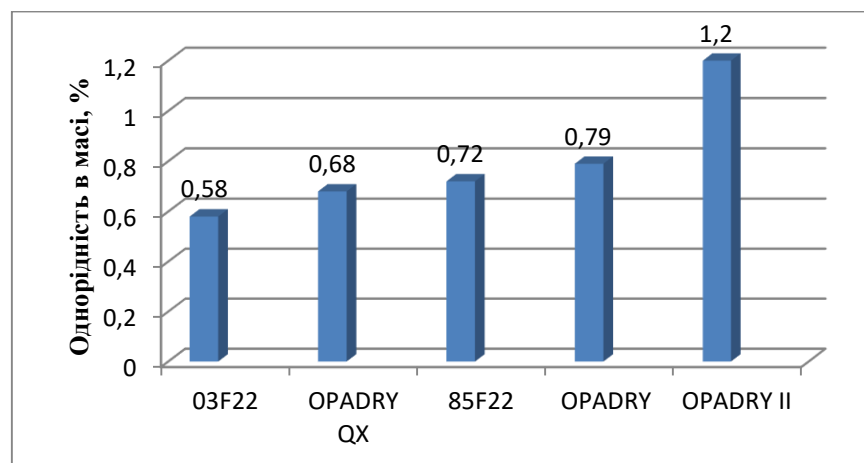


Рис. 3.30 Вплив різних видів плівкоутворюючого покриття на однорідність в масі таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Процес плівкоутворення на таблетках також характеризується їх стійкістю до роздавлювання - чим більше значення цього показника, тим рівномірніше проходить адгезія покриття до поверхні таблеток та більш міцнішою утворюється плівка. Дисперсійний аналіз даних показав статистичну значущість стійкості покритих таблеток від природи використаних плівкоутворюючих суспензій $F_{екс.} = 4,76$, $F_{0,05} = 3,63$. Вплив природи плівкоутворюючих суспензій на стійкість покритих таблеток до роздавлювання показано на рис. 3.31.

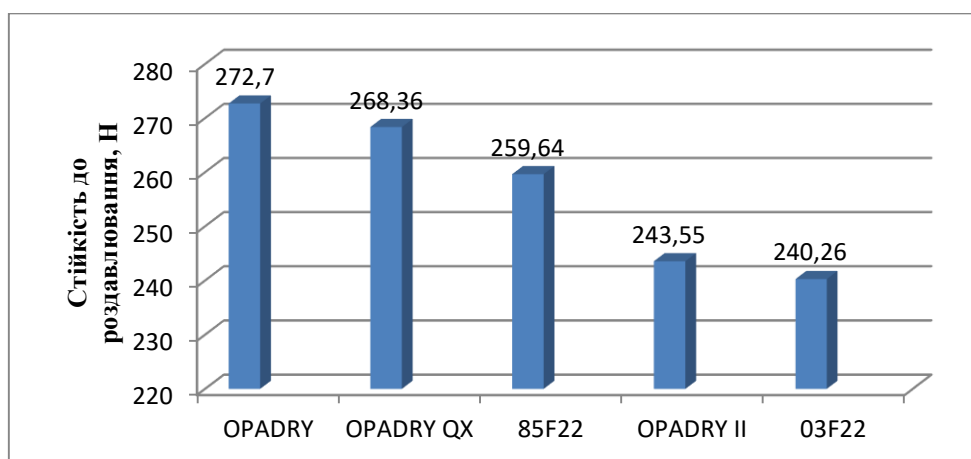


Рис. 3.31 Вплив різних видів плівкоутворюючого покриття на стійкість таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом до роздавлювання

Як видно з рисунку, найбільш стійкими до роздавлювання покриті таблетки отримали при використанні в якості плівкоутворювача OPADRY (272,7 Н), якому дещо поступається OPADRY QX (268,36 Н) і суттєво поступаються 85F22 (259,64 Н), OPADRY II (243,55 Н) і 03F22 (240,26 Н). Зазначимо, що стійкість непокритих таблеток-ядер не перевершувала 99 Н. Плівкова оболонка збільшує стійкість покритих таблеток в 2,23-2,77 рази в порівнянні з непокритою.

Дисперсійний аналіз показав, що природа плівкоутворюючої суспензії суттєво впливає на час розпадання покритих таблеток $F_{експ.} = 51,42$, $F_{0,05} = 3,63$. Вплив природи плівкоутворюючої суспензії на час розпадання покритих таблеток зображено на рис. 3.32.

За впливом на час розпадання таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом плівкові покриття розміщуються в наступній послідовності: OPADRY (6,8 хв) > OPADRY QX (7,4 хв) > 03F22 (8,1 хв) > OPADRY II (12,2 хв) > 85F22 (13,0 хв). Час розпадання непокритих таблеток-ядер не перевищував 5,3 хв. Нанесена на таблетки полімерна плівка дещо сповільнює

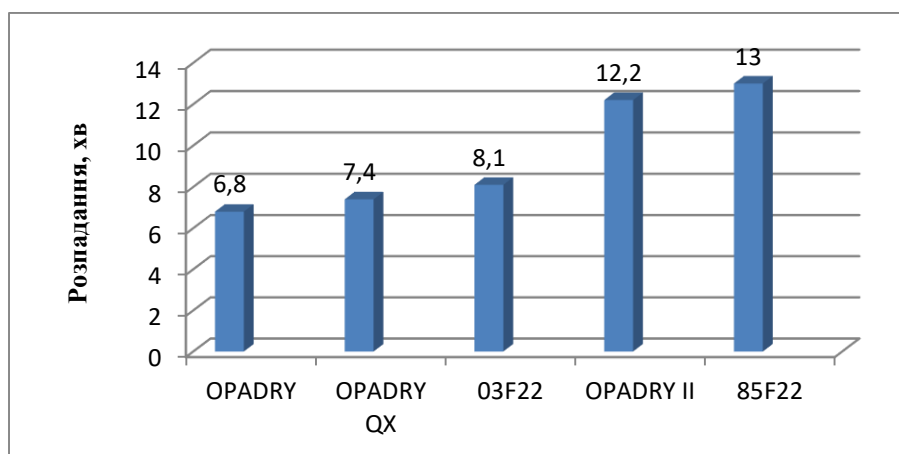


Рис. 3.32 Вплив різних видів плівкоутворюючого покриття на час розпадання таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

час їх розпадання, однак у всіх серіях дослідів час розпадання покритих таблеток не перевершував вимоги ДФ України до покритих оболонкою таблеток.

Дисперсійний аналіз даних показав статистичну значущість кількісного вмісту L-аргініну покритих таблеток від природи використаних плівкоутворюючих суспензій $F_{\text{експ}} = 6,23$, $F_{0,05} = 3,63$. Кількісний вміст тіатриазоліну був в межах норми, тому даних за цим показником не наводимо. Вплив природи плівкоутворюючої суспензії на кількісний вміст L-аргініну покритих таблеток зображено на рис. 3.33.

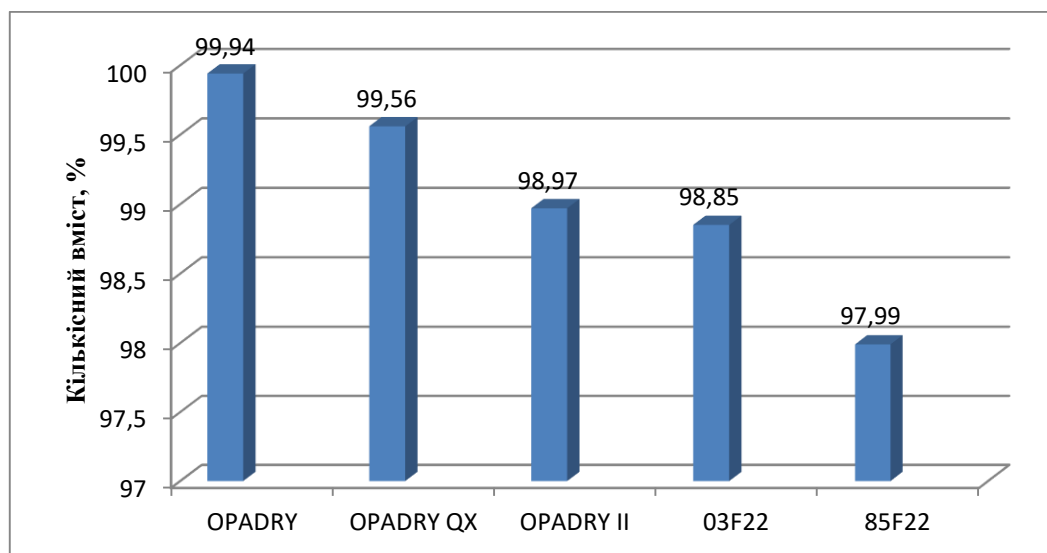


Рис. 3.33 Вплив природи плівкоутворюючої суспензії на кількісний вміст L-аргініну покритих таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Як видно з рис. за впливом на кількісний вміст L-аргініну плівкові покриття розміщуються в наступній послідовності: OPADRY (99,94%) > OPADRY QX (99,56%) > OPADRY II (98,97%) > 03F22 (98,85%) > 85F22 (97,99%).

Первинні результати за показниками зовнішній вигляд таблеток, однорідності маси таблеток, стійкості до роздавлювання, часу розпадання, кількісне визначення (дані із табл. 3.5) переводили в безрозмірні величини за процедурою, яка описана в роботі [105]. Отримані значення наведені в табл. 3.4.2 (графа **D i D'**).

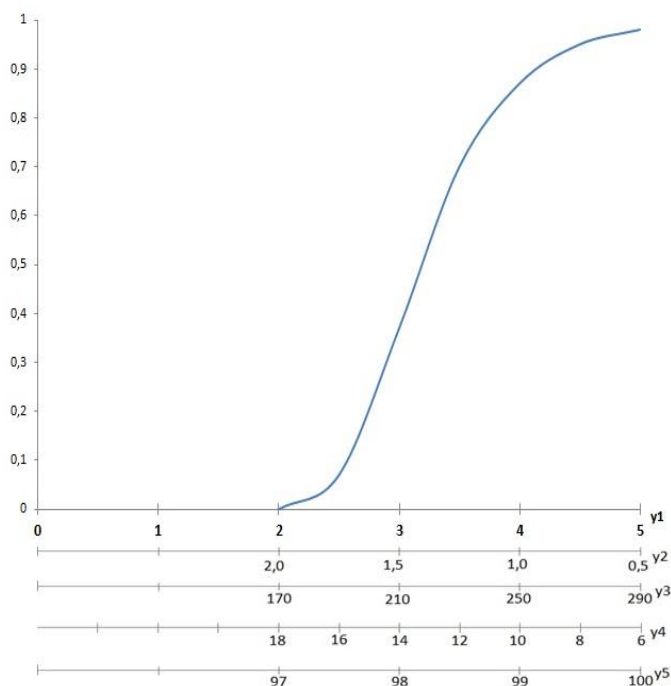


Рис. 3.34 Функція бажаності для переведення первинних результатів експерименту в безрозмірні величини

Вплив різних видів плівкоутворюючого покриття на узагальнений показник таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом показано на рис. 3.34.

Аналіз експериментальних результатів за узагальненим показником показав, що найкращою плівкоутворюючою системою для нанесення покриття є OPADRY.

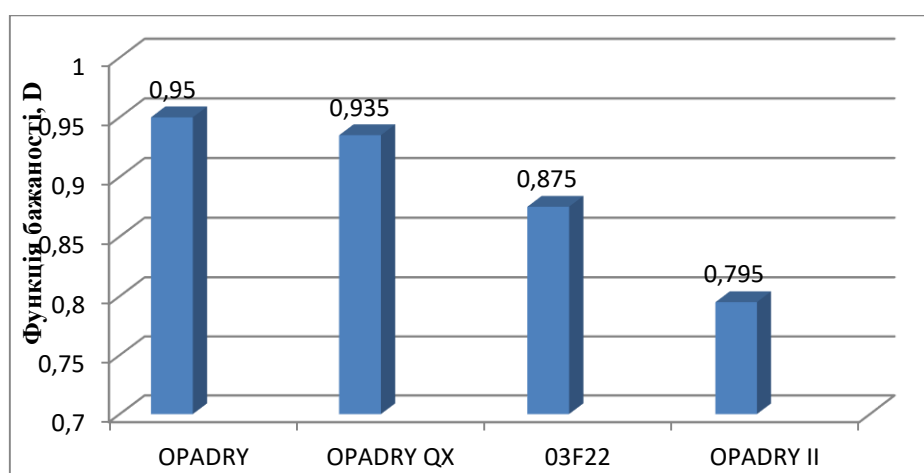
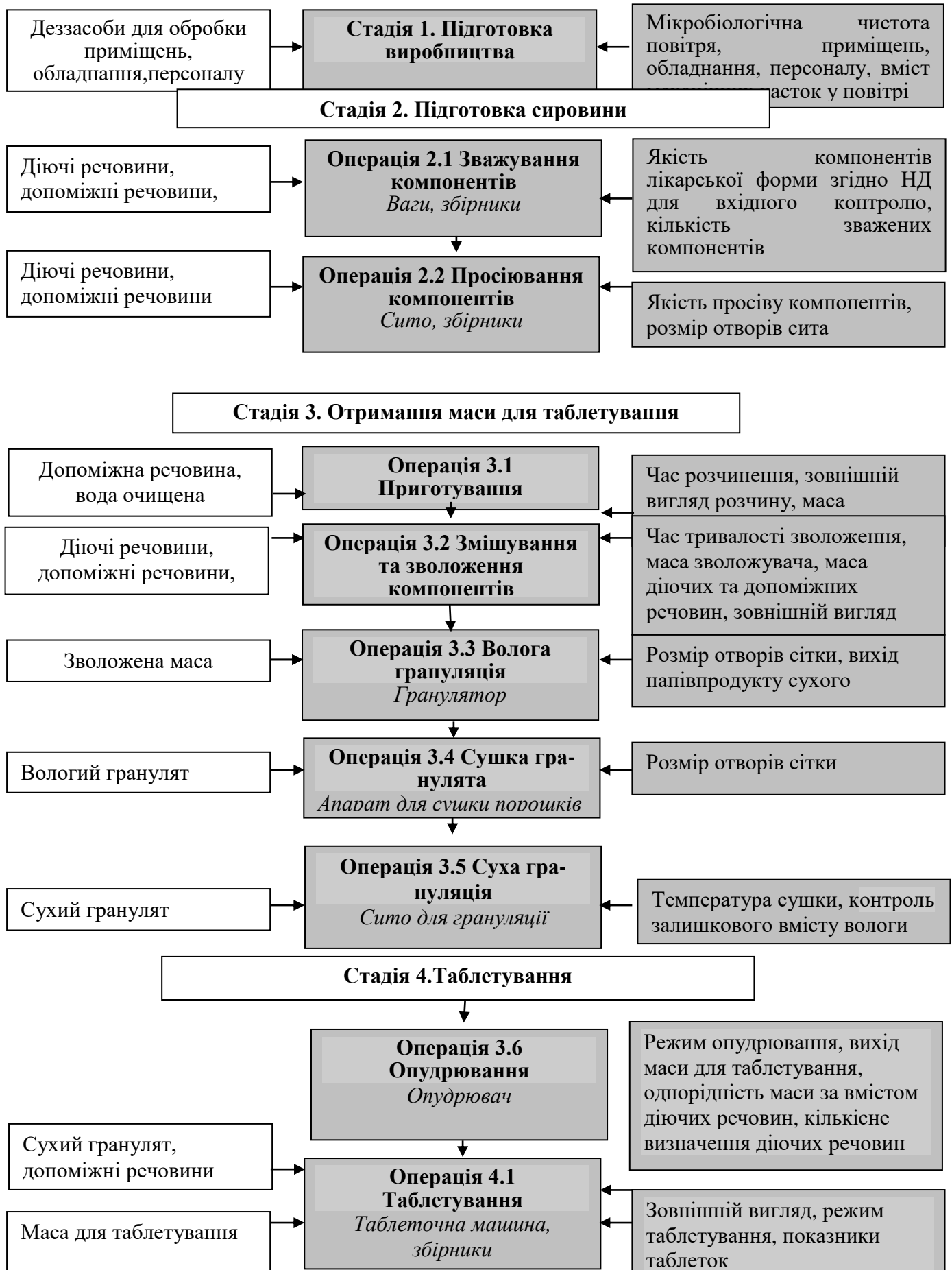


Рис. 3.35 Вплив різних видів плівкоутворюючого покриття на узагальнений показник таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Таким чином, проведені експериментальні дослідження дозволили вибрати плівкоутворюючу систему для нанесення покриття. Доцільно використовувати 15 % суспензію OPADRY [156].

В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції (рис. 3.36), яку апробовано на базі ПрАТ «Лекхім-Харків» (Додаток Н).

Вихідна сировина,
проміжна продукція та
матеріали



Продовж.рис. 3.36

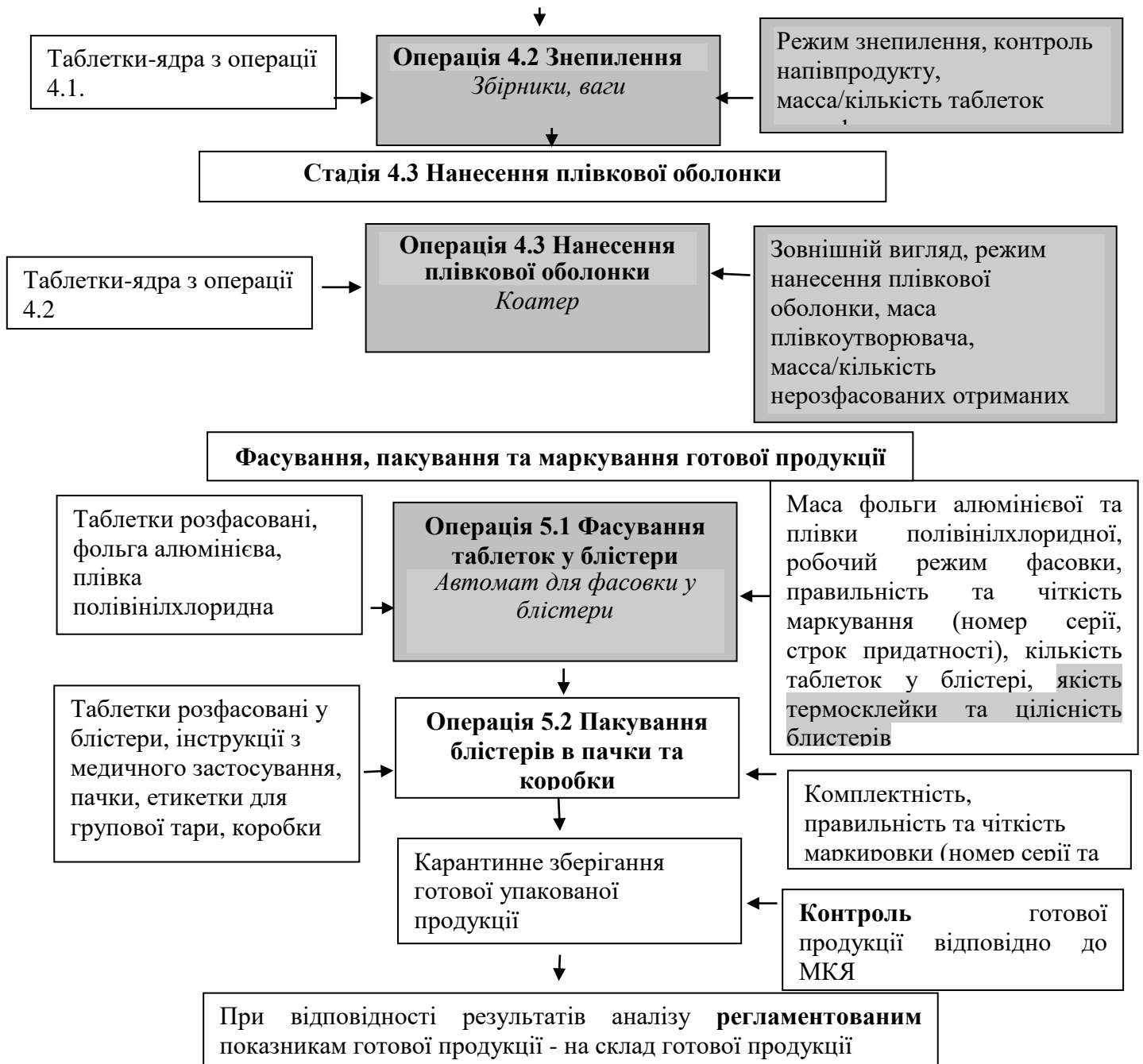


Рис. 3.36 Технологічна схема виробництва таблеток, вкритих плівковою оболонкою, L-аргініну з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції (сірим кольором відмічені критичні стадії і критичні точки контролю в процесі виробництва)

3.5 Підбір оптимальних умов аналізу модельної суміші L-аргініну та морфолінію тіазотату методом високоефективної рідинної хроматографії

На сьогодні для стандартизації лікарських форм все частіше використовують сучасні фізико-хімічні методи аналізу [179]. Саме тому звернули увагу на сучасний, високоефективний метод ВЕРХ [5, 6, 102, 104, 172, 173].

За літературними даними визначення аліфатичних амінокислот методом ВЕРХ, через їхнє низьке поглинання, в більшості випадків проводять після попередньої їх дериватизації різними модифікуючими реагентами. Однак, при одночасному визначенні L-аргініну і морфолінію тіазотату, застосування подібної дериватизації було б недоцільно. Тому при виборі методу аналізу зупинилися на детектуванні при довжині хвилі 210 нм без модифікації L-аргініну.

Спочатку визначення проводили на оберненій фазі, при цьому L-аргінін практично не утримується (виходить на «мертвому об'ємі»), а використання ціанованої фази не дозволило суттєво вплинути на утримування L-аргініну.

Далі при визначенні в умовах іонпарної хроматографії на оберненій фазі і використанні як елюенту - тетрабутиламонію, дещо збільшився час утримування L-аргініну, а найбільш прийнятний результат був отриманий при використанні поряд з іонпарним реагентом кислого буфера - 0.05% розчину трифтороцтової кислоти (табл.3.6).

Тому для визначення L-аргініну з морфолінію тіазотатом в модельній суміші запропоновано використовувати іон-парне хроматографування з використанням кислого буфера - 0.05% розчину трифтороцтової кислоти (табл. 3.5.1, п.5) [328].

Дослідження проводили з використанням модульної системи ВЕРХ BISCHOFF (BISCHOFF Analysentechnik GmbH, Німеччина) з спектрофотометричним детектором Lambda 1010.

Таблиця 3.6

Результати визначення L-аргініна з морфолінію тіазотатом методом ВЕРХ

Колонка	Елюент	λ , нм	T_R , хв		Примітка
			А	Т	
Prontosil 120-5-CN	Вода	210	1,6	2,3	Розчини у воді з концентрацією по 0.04 мг/мл L-аргініну і морфолінію тіазотату. Подвійні піки поблизу мертвого об'єму колонки
Prontosil 120-5-CN	0.05% водний розчин трифтороцтової кислоти	210	~2	4,1	Розчини в елюенті з концентрацією по 0.04 мг / мл L-аргініну і морфолінію тіазотату. Задовільна форма піка і час виходу морфолінію тіазотату. Негативні або подвійні піки L-аргініну
Hypersil ODS- C18-5u	Cu_4NHSO_4 3.4 г/л в воді	210	~2,5	~8	Розчин в елюенті з концентрацією по 0.04 мг / мл аргініну і морфолінію тіазотату. Нечіткий пік L-аргініну. Подвійний пік морфолінію тіазотату.
Hypersil ODS- C18-5u	Cu_4NHSO_4 3.4 г/л, 0.02M Na_2HPO_4 в воді	210	~2,5	~12	Розчин в елюенті з концентрацією по 0.04 мг / мл L-аргініну і морфолінію тіазотату. Високий фон. Негативний пік аргініну. Подвійний пік морфолінію тіазотату.
Hypersil ODS- C18-5u	Cu_4NHSO_4 3.4 г/л, 0.05% розчин трифтороцтової кислоти в воді	210	2,3	5,2	Розчини в елюенті з концентраціями 1:1 L-аргініну та морфолінію тіазотату (0.4 мг / мл). В цілому покращилася форма піків. Чи не ідентифікований пік на 10 хв

Примітка: А -L-аргінін, Т – морфолінію тіазотат;

T_R – час утримання піку компоненту, який аналізують

Умови проведення аналізу:

- Колонка Нупersil ODS-C18-5u, 4.6 x 250 mm, діаметр часток 5 мкм;
- Елюент: водний розчин, що містить 3.4 г/л Bu_4NHSO_4 і 0.05% трифтороцтової кислоти;
- Швидкість рухомої фази: 1 мл/хв;
- Аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм;
- Об'єм введеної проби: 20 мкл.

У цих умовах час утримування піку морфолінію тіазотату близько 5,4 хв, час утримування піку L-аргініну близько 2,4 хв.

Приготування розчинів.

Розчин 1. 0.01г (точна наважка) морфолінію тіазотату розчиняють в 5 мл елюента в мірній колбі на 25.0 мл і доводять елюентом до мітки. Отримують розчин з концентрацією 0.4 мг/мл (рис.3.37).

Розчин 2. 0.01г (точна наважка) L-аргініну розчиняють в 5 мл елюента в мірній колбі на 25.0 мл і доводять елюентом до мітки. Отримують розчин з концентрацією 0.4 мг/мл (рис. 3.38).

Розчин 3. 0.01г (точна наважка) морфолінію тіазотату і 0.01г (точна наважка) L-аргініну розчиняють в 10 мл елюента в мірній колбі на 25.0 мл і доводять елюентом до мітки. Отримують розчин з концентрацією 0.4 мг/мл кожного компонента (рис.3.39).

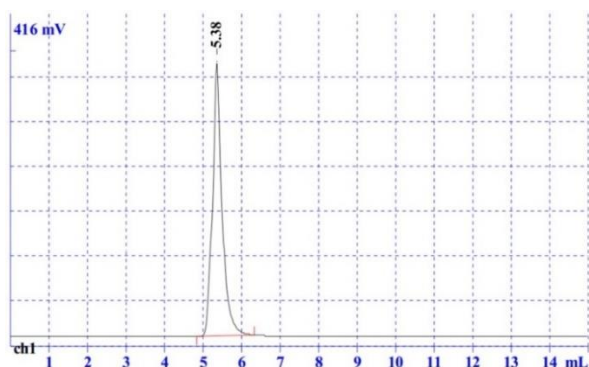


Рис.3.37 Хроматограма розчину морфолінію тіазотата

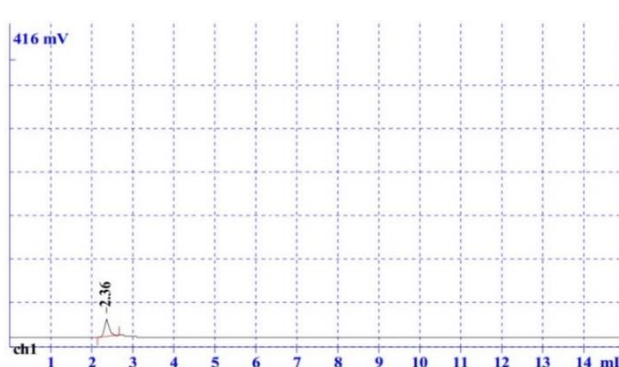


Рис.3.38 Хроматограма розчину L-аргініна

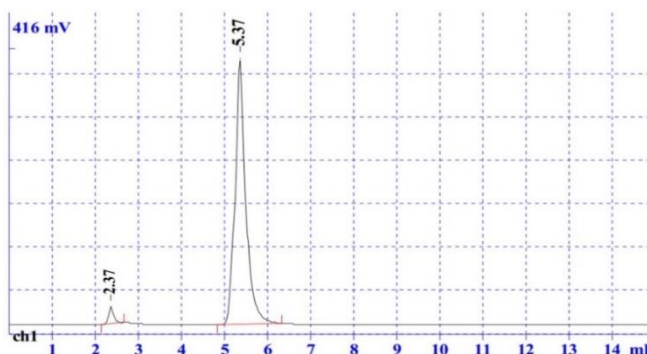


Рис.3.39 Хроматограма розчину суміші морфолінію тіазотата та L-аргініна з вмістом компонентів по 0.4 мг/мл

Згідно сучасних вимог для визначення ефективності і селективності методу розраховували такі показники як, ступінь розділення піків, число теоретичних тарілок, коефіцієнт симетрії.

В результаті були отримані наступні параметри придатності хроматографічної системи: ефективність хроматографічної системи, розрахована по піку L-аргініну склала 2160 теоретичних тарілок, по піку морфолінію тіазотату - 3993 теоретичних тарілок; ступінь розділення піків L-аргініну і морфолінію тіазотату склав 11,6; коефіцієнт симетрії піка L-аргініну дорівнює - 1,25, морфолінію тіазотату - 1,0).

Як видно з вищезазначеного, серед різних елюентів та фаз, які були використані, в подальшому для сумісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату, як в модельній суміші, так і в комбінованих лікарських формах доцільно використовувати в якості елюенту - тетрабутиламоній в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі з одночасним використанням кислого буферу – 0.05% розчину трифтороцтової кислоти.

3.6 Визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ

Наступним етапом роботи необхідно було розробити методіку стандартизації L-аргініну та морфолінію тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ.

Спершу в лабораторних умовах виготовлено шість серій модельної суміші L-аргініну та морфолінію тіазотату в оптимальному співвідношенні 4:1.

Грунтуючись на матеріалах попередніх досліджень [276], було запропоновано проводити одночасне визначення вмісту L-аргініну та морфолінію тіазотату шляхом іон-парного хроматографування з використанням кислого буферу – 0,05% розчину трифтороцтової кислоти.

Хроматографування проводили за наступних умов:

- Хроматограф моделі LC-20 Prominence Shimadzu в наступній комплектації: два насоси LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат СТО-20А, системний контролер CBM-20 ALITE;

- Колонка Hypersil ODS-C18-5u, 4,6 x 250 мм, діаметр часток 5 мкм;

- Елюент: водний розчин 3,4 г/л Bu_4NHSO_4 та 0,05% трифтороцтової кислоти;

- Швидкість рухомої фази: 1 мл/хв;

- Аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм;

- Об'єм проби: 20 мкл.

Почергово хроматографували випробуваний розчин і розчин робочого стандартного зразка, отримуючи не менше трьох хроматограм для кожного розчину [12, 88-90].

Готували розчини згідно з методиками, наведеними нижче.

Випробуваний розчин. Близько 250 мг (точна наважка) модельної суміші розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25,0 мл та доводять водою до мітки.

5,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50,0 мл та доводять водою до мітки.

Розчин робочого стандартного зразка.

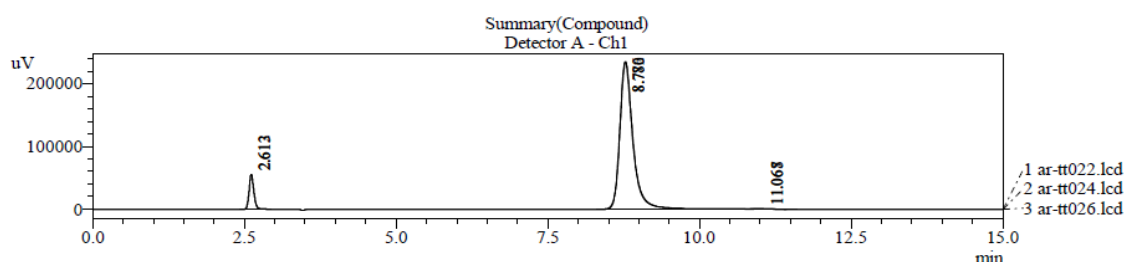
Робочий розчин 1. 200 мг (точна наважка) L-аргініну розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки.

Робочий розчин 2. 50 мг (точна наважка) морфолінію тіазотату розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки.

Робочий розчин 3. 5.0 мл робочого розчину 1 та 5.0 мл робочого розчину 2 поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Зразки одержаних хроматограм наведені на рис. 3.40, 3.41.

Як видно з наведеної хроматограми, утримуваний об'єм L-аргініну за цих умов становить 2,61 мл, морфолінію тіазотату – близько 8,8 мл. Симетрія піків задовільна (коефіцієнт симетрії піку L-аргініну дорівнює 1,1; морфолінію тіазотату – 1,0). Ступінь розділення піків дорівнює 2,2.



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: arg 2.613

Title	Sample Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	heoretical Plat	Resolution	Separation
ar-tt022.lcd	r-r stand	2.613	297516	55398	7.738	5602.591	0.000	0.000
ar-tt024.lcd	r-r stand	2.613	297427	55345	7.756	5600.775	0.000	0.000
ar-tt026.lcd	r-r stand	2.612	297420	55322	7.750	5592.178	0.000	0.000
Average		2.613	297454	55355	7.748	5598.515	0.000	0.000
%RSD		0.029	0.018	0.071	0.118	0.099	0.000	0.000

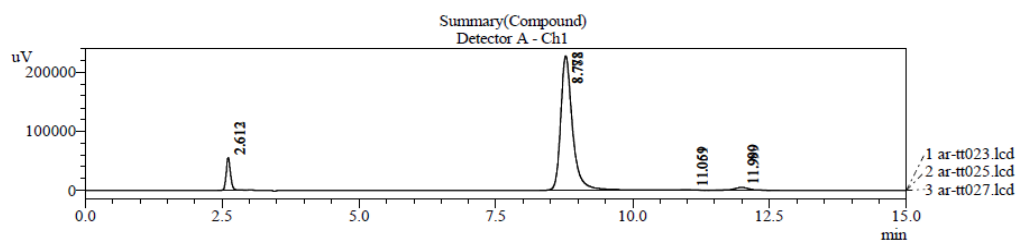
ID#2 Compound Name: TT 8.782

Title	Sample Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	heoretical Plat	Resolution	Separation
ar-tt022.lcd	r-r stand	8.782	3544840	234977	92.194	9214.216	24.402	0.000
ar-tt024.lcd	r-r stand	8.780	3534882	235137	92.176	9214.741	24.396	0.000
ar-tt026.lcd	r-r stand	8.776	3537740	234998	92.181	9204.844	24.383	0.000
Average		8.779	3539154	235037	92.184	9211.267	24.394	0.000
%RSD		0.035	0.145	0.037	0.010	0.060	0.040	0.000

ID#3 Compound Name: RT11.068

Title	Sample Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	heoretical Plat	Resolution	Separation
ar-tt022.lcd	r-r stand	11.068	2605	203	0.068	18830.469	6.638	1.370
ar-tt024.lcd	r-r stand	11.065	2626	204	0.068	17451.853	6.521	1.371
ar-tt026.lcd	r-r stand	11.067	2642	205	0.069	16686.629	6.466	1.372
Average		11.067	2625	204	0.068	17656.317	6.542	1.371
%RSD		0.013	0.706	0.555	0.809	6.153	1.341	0.048

Рис. 3.40 Хроматограма випробуваного розчину



<< Detector A >>

ID#1 Compound Name: arg 2.612

Title	Sample Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	heoretical Plat	Resolution	Separation
ar-tt023.lcd	issl r-r	2.613	297689	55439	7.794	5598.703	0.000	0.000
ar-tt025.lcd	issl r-r	2.612	296892	55270	7.794	5598.426	0.000	0.000
ar-tt027.lcd	issl r-r	2.612	297406	55375	7.796	5596.704	0.000	0.000
Average		2.612	297329	55361	7.795	5597.944	0.000	0.000
%RSD		0.019	0.136	0.154	0.013	0.019	0.000	0.000

ID#2 Compound Name: TT 8.778

Title	Sample Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	heoretical Plat	Resolution	Separation
ar-tt023.lcd	issl r-r	8.782	3442211	228041	90.125	9212.153	24.400	0.000
ar-tt025.lcd	issl r-r	8.778	3432868	227625	90.120	9211.662	24.396	0.000
ar-tt027.lcd	issl r-r	8.778	3438164	228166	90.124	9206.663	24.387	0.000
Average		8.779	3437747	227944	90.123	9210.159	24.394	0.000
%RSD		0.030	0.136	0.124	0.003	0.033	0.026	0.000

ID#3 Compound Name: RT11.059

Title	Sample Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	heoretical Plat	Resolution	Separation
ar-tt023.lcd	issl r-r	11.061	1193	99	0.031	19842.025	6.702	1.369
ar-tt025.lcd	issl r-r	11.059	1334	105	0.035	15413.934	6.319	1.370
ar-tt027.lcd	issl r-r	11.059	1339	107	0.035	19196.163	6.658	1.370
Average		11.060	1288	104	0.034	18150.707	6.560	1.370
%RSD		0.013	6.436	3.780	6.540	13.179	3.199	0.025

ID#4 Compound Name: RT11.989

Title	Sample Name	Ret. Time	Area	Height	Conc.	heoretical Plat	Resolution	Separation
ar-tt023.lcd	issl r-r	11.999	78286	4696	2.050	12255.417	2.509	1.111
ar-tt025.lcd	issl r-r	11.989	78145	4688	2.051	12241.495	2.356	1.110
ar-tt027.lcd	issl r-r	11.990	78036	4692	2.046	12217.135	2.473	1.110
Average		11.993	78155	4692	2.049	12238.016	2.446	1.110
%RSD		0.045	0.160	0.088	0.148	0.158	3.256	0.042

Рис. 3.41 Хроматограма розчину робочого стандартного зразка

Вміст L-аргініну та морфолінію тіазотату (X) в модельній суміші, в міліграмах, розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100} \quad (3.1),$$

де: S_1 – середнє значення площі піків L-аргініну (морфолінію тіазотату), розраховане з хроматограм досліджуваного розчину;

S_0 – середнє значення площі піків L-аргініну (морфолінію тіазотату), розраховане з хроматограм розчину робочого стандартного зразка;

m_1 – маса наважки модельної суміші, у міліграмах;

m_0 – маса наважки СЗ L-аргініну (морфолінію тіазотату), у міліграмах;

P – вміст основної речовини СЗ L-аргініну (морфолінію тіазотату), у відсотках (відсотковий вміст L-аргініну в СЗ 99,95%, а морфолінію тіазотату – 100%);

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

Результати кількісного визначення вмісту L-аргініну та морфолінію тіазотату в модельній суміші наведені в таблиці 3.7.

Таблиця 3.7

Кількісне визначення вмісту компонентів модельної суміші L-аргініну та морфолінію тіазотату (в співвідношенні 4:1) методом ВЕРХ

№	Аргінін			Статистика	Морфолінію тіазотат			Статистика
	Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг		Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг	
1	294849	294915	198,38	$\bar{x} = 199,8$ $S_x = 0,79$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta \bar{x} = 1,59$	3491688	349327	50,85	$\bar{x} = 51,14$ $S_x = 0,34$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta \bar{x} = 0,69$
	3491784				4			
	3496350				6			
2	296733	296833	199,67	$S_x = 0,79$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta \bar{x} = 1,59$	3547587	354572	51,61	$\bar{x} = 51,14$ $S_x = 0,34$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta \bar{x} = 0,69$
	3542901				9			
	3546700				9			
3	297521	297516	200,12	$\bar{x} = 199,86$ $\pm 0,65$ $e^{\bar{x}} = 0,33\%$	3489826	349133	50,82	$\bar{x} = 51,14$ $\pm 0,28$ $e^{\bar{x}} = 0,55\%$
	3492826				2			
	3491344				2			
4	298128	297689	200,24	$\bar{x} = 199,86$ $\pm 0,65$ $e^{\bar{x}} = 0,33\%$	3497982	350095	50,95	$\bar{x} = 51,14$ $\pm 0,28$ $e^{\bar{x}} = 0,55\%$
	3502821				1			
	3502051				1			
5	298647	298321	200,66	$\bar{x} = 199,86$ $\pm 0,65$ $e^{\bar{x}} = 0,33\%$	3503209	351122	51,11	$\bar{x} = 51,14$ $\pm 0,28$ $e^{\bar{x}} = 0,55\%$
	3512342				5			
	3518125				5			
6	297516	297454	200,08	$\bar{x} = 199,86$ $\pm 0,65$ $e^{\bar{x}} = 0,33\%$	3544840	353915	51,52	$\bar{x} = 51,14$ $\pm 0,28$ $e^{\bar{x}} = 0,55\%$
	3534882				4			
	3537740				4			
С 3	297689	297329			3442211	343774		
	296892				7			
	297406				7			

Встановлено, що вміст L-аргініну в модельній суміші знаходиться в межах від 198,38 мг до 200,66 мг, а морфолінію тіазотату – від 50,82 мг до 51,61 мг. Тобто за вмістом діючих речовин досліджувана серія модельної суміші L-аргініну та морфолінію тіазотату в співвідношенні 4:1 відповідає вимогам ДФУ. В подальшому були проаналізовані інші п'ять серій модельної суміші, які також відповідали фармакопейним вимогам за вмістом діючих речовин [170].

3.7 Визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату в таблетковій масі методом ВЕРХ

На сьогодні в процесі контролю виробництва таблетованих лікарських форм, особливу увагу приділяють контролю якості таблеткової маси [94, 95, 98, 133]. В проведених попередніх дослідженнях доведено можливість стандартизації модельної суміші діючих речовин методом ВЕРХ. Встановлено оптимальні умови проведення аналізу, тому використовували для якісного і кількісного визначення діючих речовин в таблетковій масі саме цей метод.

Приготування випробуваного розчину таблеткової маси L-аргініну та морфолінію тіазотату.

Близько 400 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.

5.0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Зразок хроматограми випробуваного розчину L-аргініну та морфолінію тіазотату наведено на рис.3.42.

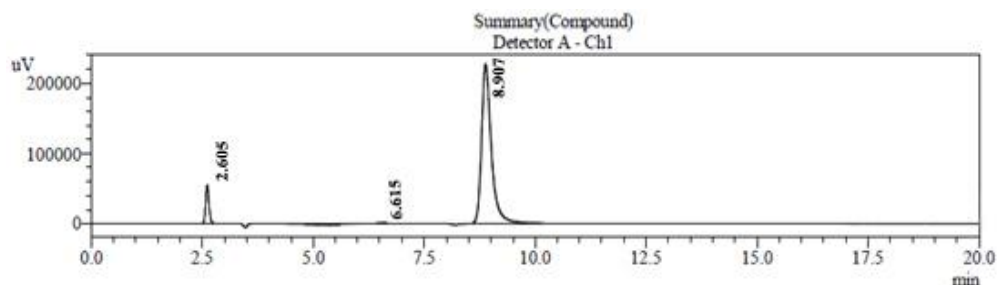


Рис. 3.42 Хроматограма випробуваного розчину таблеткової маси L-аргініну та морфолінію тіазотату

Приготування стандартного розчину порівняння (розчину порівняння)

Розчин порівняння 1. 200 мг (точна наважка) L-аргініну (РСЗ відкалібрований ФСЗ ДФУ) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) морфолінію тіазотату (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 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 5.0 мл розчину порівняння 1 і 5.0 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 50.0 мл і доводять водою до мітки. Розчини застосовують свіжоприготованим.

Зразок хроматограми розчину стандартного зразку L-аргініну та морфолінію тіазотату наведено на рис.3.43.

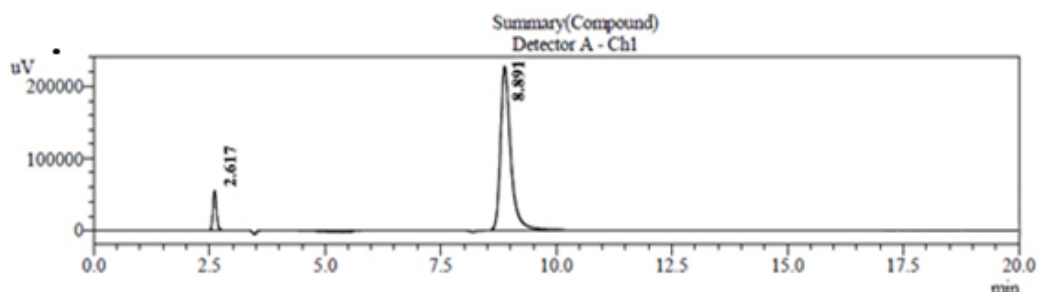


Рис. 3.43 Хроматограма розчину стандартного зразку L-аргініну та морфолінію тіазотату

Вміст L-аргініну та морфолінію тіазотату (X) в таблетковій масі у перерахунку на одну таблетку, розраховували за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100} \quad (3.2),$$

де: S_1 – середнє значення площі піків L-аргініну (морфолінію тіазотату), розраховане з хроматограм досліджуваного розчину;

S_0 – середнє значення площі піків L-аргініну (морфолінію тіазотату), розраховане з хроматограм розчину робочого стандартного зразка;

m_1 – маса наважки таблеткової маси, у міліграмах;

m_0 – маса наважки СЗ L-аргініну (морфолінію тіазотату), у міліграмах;

P – вміст основної речовини СЗ L-аргініну (морфолінію тіазотату), у відсотках (відсотковий вміст L-аргініну в СЗ 99,95%, а морфолінію тіазотату – 100%);

b – середня вага таблетки в міліграмах.

Результати аналізу шести зразків таблеткової маси методом ВЕРХ наведені в табл. 3.8.

З наведених в таблиці даних кількісного визначення діючих речовин в таблетковій масі видно, що кількісний вміст діючих речовин відповідає фармакопейним вимогам. Таким чином, запропонована нами методика ВЕРХ є відтворюваною і високоточною.

3.8 Визначення доброякісності таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Згідно вимог ДФУ доброякісність таблеток характеризується цілим рядом показників, таких як:

- опис;
- ідентифікація;
- однорідність маси;
- середня маса;

- вміст тальку;
- супровідні домішки;
- розчинення або розпадання;
- кількісне визначення діючих речовин;
- умови зберігання;
- терміни придатності.

В роботі зупинимось на деяких з них, а саме опису, середній масі, ідентифікації, розпадання, розчинення, кількісне визначення. Розробку методів стандартизації проводили на 6 серіях таблеток з використанням методик, наведених у розділі 2. В ході дослідження встановлені та обґрунтовані нижче наведені показники:

Склад таблетки:

L-аргінін	0,200 г
Морфолінію тіазотат	0,050 г
Маніт	0,048
МКЦ 301	0,054
Крохмаль картопляний	0,034
Магнію стеарат	0,004
3% розчин ГПМЦ 2910	Qs
Opadry	Qs
	0,412

Опис. Таблетки, вкриті оболонкою світло-жовтого кольору, круглої форми, з двоопуклою поверхнею. На розламі видно ядро білого кольору.

Ідентифікація. Для якісного визначення діючих речовин у складі таблеток було використано метод ВЕРХ, який є дуже зручним, точним і дозволяє одночасно проводити як ідентифікацію, так і кількісне визначення [46].

На хроматограмі випробовуваного розчину, отриманій при кількісному визначенні, час утримання основного піку L-аргінину (морфолінію тіазотату)

має співпадати з часом утримання піку L-аргініну (морфолінію тіазотату) на хроматограмі розчину порівняння (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.29) [46].

Середня маса (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.5). Середня маса таблеток має бути $380,0 \pm 420,0$ мг.

Проведеними дослідженнями на 6-ти серіях отриманих таблеток встановили, що середня маса розроблених таблеток складає від 399,6 мг до 400,2 мг, тобто лежить у допустимих межах і відповідає вимогам ДФУ [45, 46].

Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.40). Мають виконуватися вимоги ДФУ.

Тест проводили методом ВЕРХ використовуючи 10 таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом, отриманих в лабораторних умовах [46].

Приготування випробуваного розчину таблеток L-аргініну та морфолінію тіазотату. Близько 400 мг (точна наважка) розтертих таблеток поміщають в мірну колбу місткістю 25.0 мл, додають 15 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-аргініну (РСЗ, відкалібрований по ФСЗ ДФУ, або СЗ ДФУ) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) морфолінію тіазотату (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 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 10.0 мл розчину порівняння 1 і 10.0 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки.

Таблиця 3.8

Результати кількісного визначення вмісту L-аргініну та морфолінію тіазотату в таблетковій масі методом ВЕРХ

№	L-Аргінін				Статистика	Морфолінію тіазотат			Статистика
	Площа піку	Середня площа піку	Маса наважки таблеткової маси	Знайдено, мг		Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг	
1.	297849	297739	400,50	199,68	$\bar{x} = 199,74$ $S_x = 0,86$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,73$ $\Delta \bar{x} = 0,71$	3499764	3504297	50,00	$\bar{x} = 50,34$ $S_x = 0,39$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 0,79$ $\Delta \bar{x} = 0,33$
	297389					3506768			
	297979					3506359			
2.	294274	294911	399,90	198,07	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $199,74 \pm$ $0,71$ $e^{\bar{x}} = 0,35\%$	3500873	3495546	49,91	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $50,34 \pm 0,33$ $e^{\bar{x}} = 0,65\%$
	294187					3491785			
	296272					3493981			
3.	298681	297963	400,10	200,02	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $199,74 \pm$ $0,71$ $e^{\bar{x}} = 0,35\%$	3559929	3554052	50,72	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $50,34 \pm 0,33$ $e^{\bar{x}} = 0,65\%$
	297952					3549989			
	297257					3552238			

Продовж. табл. 3.8

4.	298122	298067	400,00	200,14		3563386	3561570	50,84	
	298391					3552896			
	297653					3552189			
5.	298947	298708	400,20	200,47		3502109	3510083	50,08	
	298236					3512116			
	298941					3516025			
6.	298236	297829	399,80	200,08		3533840	3534582	50,48	
	297827					3536967			
	297424					3532940			
СЗ	297879	298097	L-аргініну 200,10 та морфоліні ю тіазотату 49,90			3492348	3497467		
	298897					3502758			
	297516					3497296			

Розчин застосовують свіжоприготованим.

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

Отримані результати показали, що вміст L-аргініну в кожній з 10 випробуваних таблеток знаходиться в межах 97,45 % - 99,28 %, а відносне стандартне відхилення становить від 0,03% до 1,06%, морфолінію тіазотату 97,10% - 98,91%, а відносне стандартне відхилення становить від 0,15% до 1,01% що відповідає вимогам ДФУ за однорідністю вмісту діючої речовини.

Результати проведених досліджень наведені в дод. А.

Супровідні домішки. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії (ДФУ, 2 Вид., 2.2.27), використовуючи пластинку «Silica gel 60 F₂₅₄» (фірма «Merck» № 1.05548 або аналогічна) [46].

Випробовуваний розчин. До 0,400 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 10,0 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. 25,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм розчину 96% спиртом до мітки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготованим.

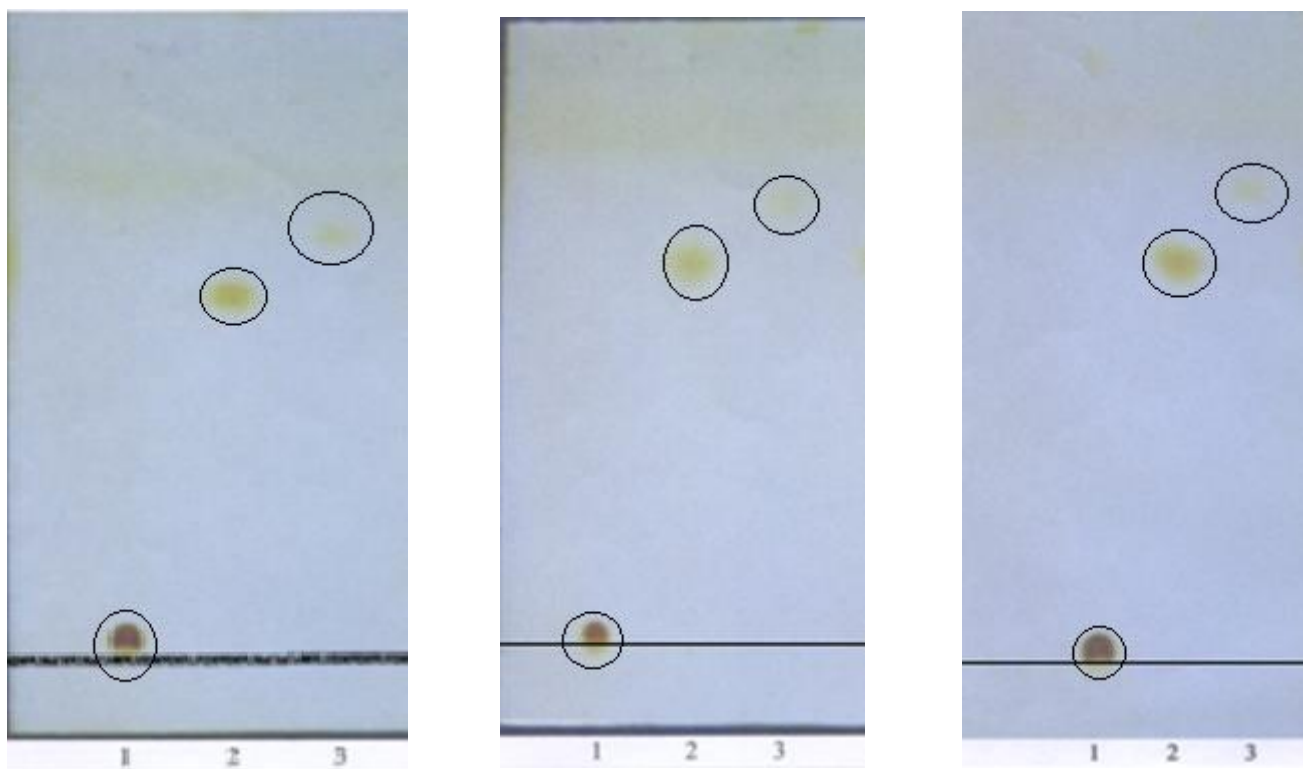
Розчин порівняння (b). 0,010 г СЗ ацетилтіосемікарбазиду (СЗ ДФУ) поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 80 мл 96% спирту Р, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до мітки і перемішують. 25,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм розчину 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 (b) 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 (b) (суміш для перевірки придатності хроматографічної системи).

Пластинку сушать на повітрі протягом 5 хв, потім поміщають у камеру із сумішшю 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 (b) 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 вважали вірогідними, бо виконувалися вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»: на хроматограмі суміші для перевірки придатності хроматографічної системи виявлені плями чітко діляться [113]. Результати аналізу наведені на рис. 3.44.



серія 1

серія 2

серія 3

Рис. 3.44 Визначення технологічних домішок у досліджуваних серіях таблеток L-аргініну та морфолінію тіазотату: 1- «Аргітрил» - стандартний зразок; 2- Ацетилтіосемікарбазид; 3 - 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіон

Розпадання. Дослідження проводили згідно з ДФУ, 2.9.1. При визначенні результатів значення досліджуваного показника в 6-ти серіях не перевищувало 15 хв.

Розчинення. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ (2 Вид., том 1 п. 2.9.3) [46, 50, 93].

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

При дослідженні кількісного вмісту діючих речовин в модельній суміші та таблетковій масі використовували метод ВЕРХ, тому в тесті «Розчинення» використовували саме цей метод. 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-аргініну 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-аргініну з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 3.45 та 3.46.

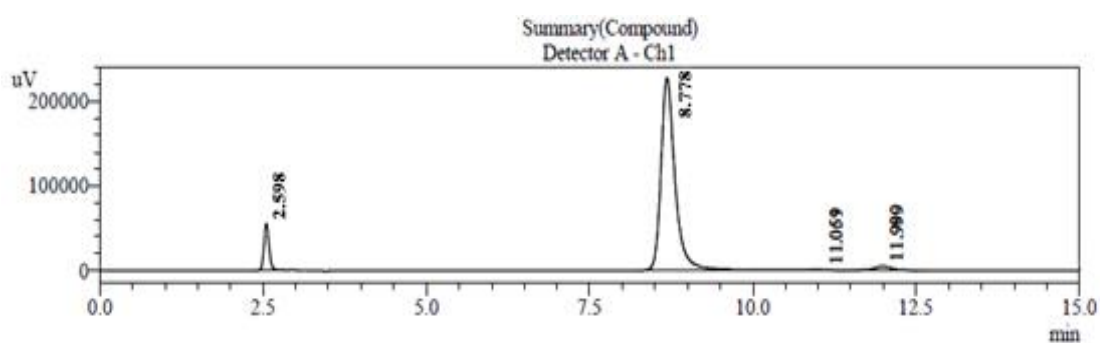


Рис. 3.45 Хроматограма випробуваного розчину L-аргініну з морфолінію тіазотатом

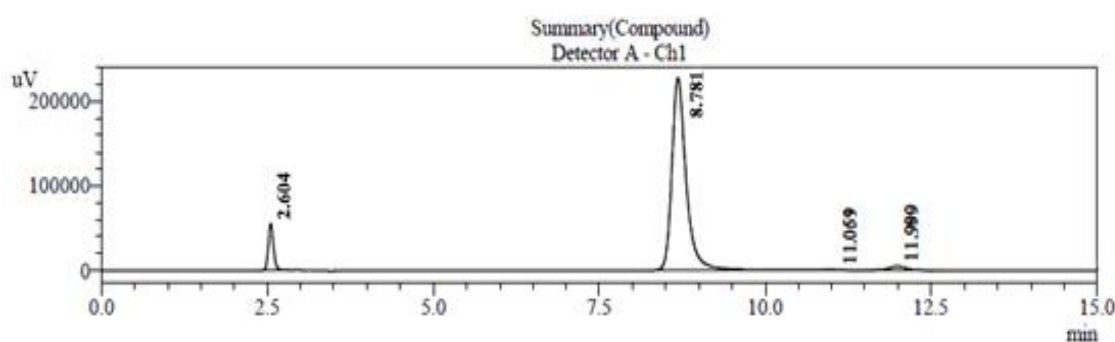


Рис. 3.46 Хроматограма розчину порівняння L-аргініну з морфолінію тіазотатом

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

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 1000 \cdot 10 \cdot 100 \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P}{S_0 \cdot m_1} \quad (3.3),$$

де: X – кількість L-аргініну, яка перейшла в розчин, у відсотках;

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

S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для L-аргініну та морфолінію тіазотату;

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

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

Таблиця 3.9

Результати тесту «Розчинення» зразків таблеток методом ВЕРХ

№ лабораторної серії	Номер досліду	Вміст L-аргініну в одній таблетці	Площа піку L-аргініну	Знайдено у відсотках
1	2	3	4	5
1	1	0,2000	294047	98,06
	2		293412	97,85
	3		293432	97,86
	4		293021	97,72
	5		294101	98,08
	6		293016	97,72
2	1	0,2000	292876	97,67
	2		293141	97,76
	3		294032	98,06
	4		293047	97,72
	5		293114	97,75
	6		292754	97,63
3	1	0,2000	292041	97,39
	2		293116	97,75
	3		292432	97,52
	4		293245	97,79
	5		293023	97,72
	6		292584	97,57

Продовж. табл. 3.9

1	2	3	4	5
4	1	0,2000	294017	98,05
	2		292612	97,58
	3		293124	97,75
	4		293019	97,72
	5		292245	97,46
	6		292324	97,49
5	1	0,2000	294104	98,08
	2		294211	98,12
	3		293014	97,72
	4		293216	97,79
	5		294049	98,06
	6		292178	97,44
6	1	0,2000	294023	98,05
	2		294017	98,05
	3		292187	97,44
	4		292364	97,50
	5		293056	97,73
	6		293104	97,75
Розчин порівняння	РСЗ L-аргініну 0,2001	299857		

Отримані в результаті дослідження дані довели, що відсотковий вміст діючої речовини (L-аргініну), що перейшла в розчин з таблеток з L-аргініном та морфолінію тіазотатом через 45 хв становить 97,95 %, що відповідає вимогам ДФУ (табл. 3.9).

Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 [46]. Проводили вивчення мікробіологічної чистоти препарату методом підрахунку колоній на чашках Петрі. В ході досліджень визначали загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС), загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС). Для кожного живильного середовища обчислювали середнє арифметичне значення числа колоній, що виростили 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.

Визначали бактерій роду *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphilococcus aureus*, гриби роду *Candida*, а саме, *C. albicans*. 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) [45]:

- 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 150 КУО в 1 г.
- ТУМС 15 КУО в 1 г.
- *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphilococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. в 1 г зразка не виявлені, що повністю задовільняє всі вимоги ДФУ [45, 46].

Таким чином, проведені дослідження мікробіологічної чистоти показали, що таблетки L-аргініну з морфолінію тіазотатом є біологічно чистою дозованою формою.

Кількісне визначення проводять відповідно до вимог ДФУ (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.46) [46]. Вміст L-аргініну в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 185,0 мг до 215,0 мг.

Вміст морфолінію тіазотату в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 45,0 мг до 55,0 мг.

Дослідження 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 Вміст L-аргініну

(морфолінію тіазотату) (X_3) в одній таблетці, в грамах, розраховують за формулою:

$$X_3 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 5 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 5 \cdot 25 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot 100} \quad (3.4),$$

де: S_1 - середнє значення площ піків L-аргініну (морфолінію тіазотату) в таблетковій масі;

S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для L-аргініну та морфолінію тіазотату;

m_1 - маса наважки таблеткової маси в міліграмах;

m_0 - маса наважки ФСЗ або РСЗ L-аргініну (морфолінію тіазотату), в міліграмах;

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

b - середня вага таблетки в міліграмах.

Приклад хроматограми випробуваного розчину таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 3.47.

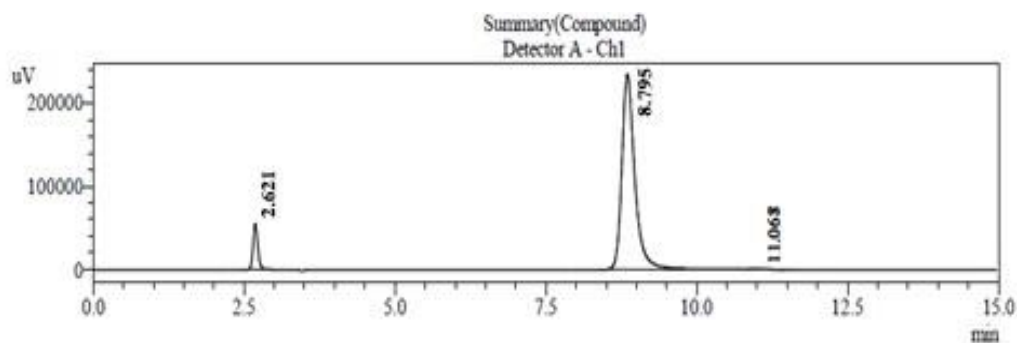


Рис. 3.47 Хроматограма випробуваного розчину таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Приклад хроматограми розчину порівняння L-аргініну з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 3.48.

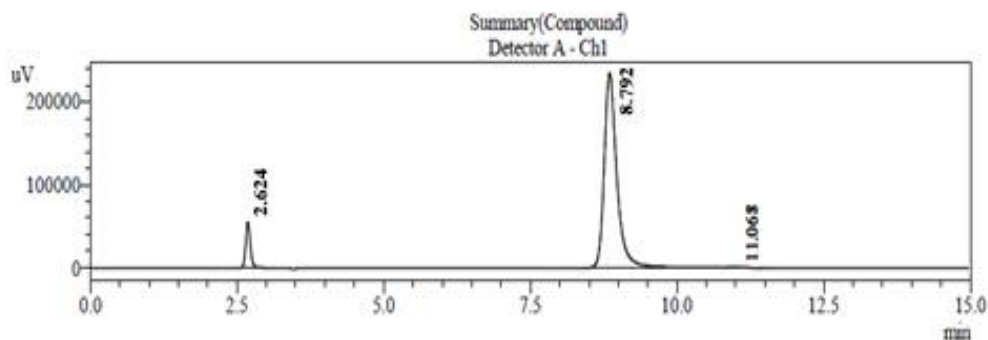


Рис. 3.48 Хроматограма розчину порівняння L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Результати визначення кількісного вмісту діючих речовин таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом наведені в табл. 3.10.

Як видно з наведених в таблиці даних, в досліджених серіях вміст L-аргініну становив від 0,1907 г до 0,2013 г, морфолінію тіазотату - від 0,0475 мг до 0,0514 мг, що відповідає вимогам ДФУ, яка регламентує вміст L-аргініну - $200 \text{ мг} \pm 7,5\%$, морфолінію тіазотату - $50 \text{ мг} \pm 10\%$.

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

3.9 Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Згідно вимог діючого законодавства всі методики стандартизації повинні бути валідні [46, 219]. Валідація аналітичних методик підтверджує те, що розроблена методика в межах запропонованого діапазону вимірювань дозволяє

отримати правильні результати досліджень з необхідною прецизійністю, правильністю та робастністю. Аналізували методи стандартизації таблеток L-аргініну з морфолінію тiazотатом саме за цими валідаційними характеристиками. Також, була розрахована гранична розрахункова невизначеність методики кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тiazотату в таблетках з даними діючими речовинами [11, 20, 21, 37-39, 87].

При проведенні валідаційних досліджень незалежною величиною (абсцисою) виступає зазвичай концентрація, а залежною (ординатою) – аналітичний сигнал (в даному 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.

Так, 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:

$$X_i = \frac{C_i}{C_i^{st}} * 100\%, Y_i = \frac{A_i}{A_i^{st}} * 100\%, Z_i = \frac{Y_i}{X_i^{st}} * 100\% \quad (3.5)$$

Таблиця 3.11

Результати кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотат в таблетках методом ВЕРХ

Зразок	Наважк а таблеток	L-аргінін				Морфолінію тіазотат			
		Площа, S, mV*sec		Знайден о в г	Статистика	Площа, S, mV*sec		Знайден о в г	Статистика
			середня				середня		
№ 1	0,4001	299282 298961 299451	299231	0,2008	$\bar{x} = 0,19$ $S_x = 0,004$ $t(0,95) = 2,02$	3519694 3508793 3526597	3518361	0,0502	$\bar{x} = 0,05$ $S_x = 0,0013$ $t(0,95) = 2,02$
№ 2	0,3998	298216 297209 297128	297518	0,1998	$\Delta x = 0,001$ $\bar{\Delta x} = 0,003$	3470316 3491656 3480143	3480705	0,0497	$\Delta x = 0,003$ $\bar{\Delta x} = 0,001$
№ 3	0,4000	285145 283057 284126	284109	0,1907	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 0,19 \pm 0,003$ $e_{\bar{x}} = 1,69\%$	3565769 3581876 3572965	3573537	0,0510	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 0,05 \pm 0,001$ $e_{\bar{x}} = 2,25\%$

Продовж. табл. 3.11

№ 4	0,3999	299847 300245 299385	299826	0,2013		3341649 3314397 3326340	3327462	0,0475	
№ 5	0,4000	298456 297859 298472	298262	0,2002		3518483 3510765 3502176	3510475	0,0501	
№ 5	0,4001	299825 298917 299846	299529	0,2010		3619065 3599104 3589226	3602465	0,0514	
<i>Розч ин порі внян ня</i>	<i>РСЗ L- аргінін у 0,2002 РСЗ морфо лінію тіазота ту 0,0501</i>	298846 297798 298412	298352			3508205 3512362 3516123	3512230		

Ґрунтуючись на матеріалах попередніх досліджень [276], було запропоновано проводити одночасне визначення вмісту L-аргініну та морфолінію тіазотату шляхом іон-парного хроматографування з використанням кислого буферу – 0,05% розчину трифтороцтової кислоти.

Хроматографування проводили за наступних умов:

Хроматограф моделі LC-20 Prominence Shimadzu в наступній комплектації: два насоси LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат СТО-20А, системний контролер CBM-20 ALITE; колонка Hypersil ODS-C18-5u, 4,6 x 250 мм, діаметр часток 5 мкм; елюент: водний розчин 3,4 г/л Bu_4NHSO_4 та 0,05% трифтороцтової кислоти; швидкість рухомої фази: 1 мл/хв; аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм; об'єм проби: 20 мкл.

Межі: вміст L-аргініну і морфолінію тіазотату 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 [46].

Досліджуваний розчин та розчин порівняння L-аргініну та морфолінію тіазотату готували відповідно до методики: в 10 мірних колбах місткістю 25.0 мл поміщають вказані в табл. 3.9.1 кількості L-аргініну (серія – NX 20150531) та морфолінію тіазотату (серія - 110460919), 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. 5.0 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 50.0 мл і доводять водою до мітки.

Таблиця 3.12

Модельні суміші

№ модельного зразку	L-аргінін		Морфолінію тіазотат	
	Маса наважки (мг)	Вміст, в % від номінального значення	Маса наважки (мг)	Вміст, в % від номінального значення
1	2	3	4	5

Продовж. табл. 3.12

1	2	3	4	5
1	160,00	80	40,00	80
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

Також, була розроблена методика валідаційних досліджень таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом: 250 мг суміші L-аргініну та морфолінію тіазотату в співвідношенні 4:1 розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки. 5.0 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 50.0 мл і доводять водою до мітки.

8 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (80%); 8,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (85%); 9 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (90%); 9,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (95%); 10 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (100%); 10,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (105%); 11 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (110%); 11,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (115%); 12 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (120%).

Специфічність. Аналіз приготованих за методикою розчинів, проводимо за допомогою ВЕРХ. Критеріями прийнятності є: 1) На хроматограмах розчину «плацебо» препарату (зразок 0) повинні бути відсутні піки з часом утримування, співпадаючим з часом утримування L-аргініну з морфолінію тіазотатом на хроматограмах випробуваного розчину; 2) Час утримування піків L-аргініну та морфолінію тіазотату на хроматограмах випробуваного розчину повинні співпадати з часом утримування піків L-аргініну та морфолінію тіазотату на хроматограмах розчину порівняння L-аргініну та морфолінію тіазотату; 3) Піки L-аргініну та морфолінію тіазотату на хроматограмах випробуваного розчину повинні добре розділятися з піками інших можливих домішок та самих субстанцій L-аргініну та морфолінію тіазотату.

Специфічність методики визначення ідентифікації та кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату продемонстрована на рис. 3.49.

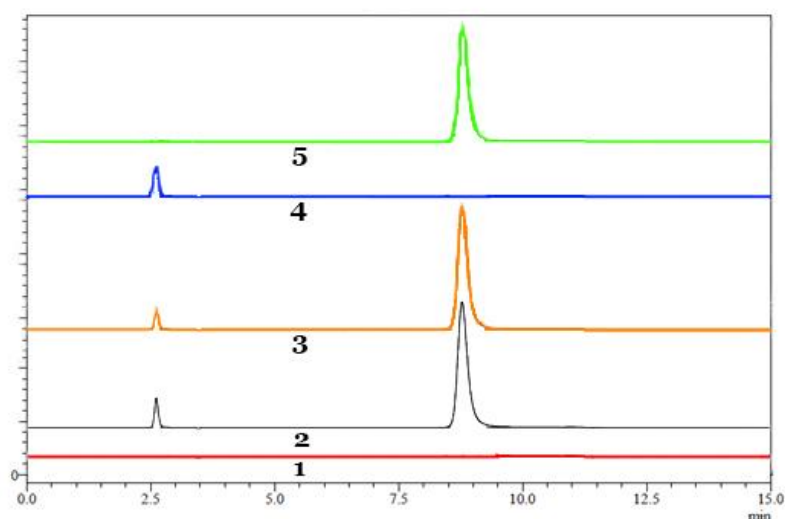


Рис. 3.49 Хроматограми розчинів: 1 - розчин «плацебо», 2 - випробуваний розчин препарату, 3 - розчин порівняння L-аргініну та морфолінію тіазотату, 4 – модельний розчин препарату з L-аргініном, 5 – модельний розчин препарату з морфолінію тіазотатом

Підтверджується специфічність методики кількісного та якісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату тим, що:

- на хроматограмі розчину «плацебо» відсутні піки з часом

утримування піків L-аргініну з морфолінію тіазотатом;

- час утримування піків L-аргініну та морфолінію тіазотату на хроматограмах досліджуваного розчину співпадають з часом утримування піків L-аргініну та морфолінію тіазотату на хроматограмах розчину порівняння L-аргініну та морфолінію тіазотату;

- на хроматограмах досліджуваного розчину та розчину порівняння L-аргініну з морфолінію тіазотатом спостерігається повне розділення піків L-аргініну та морфолінію тіазотату.

Таким чином можна сказати, що методика ідентифікації та кількісного визначення L-аргініну з морфолінію тіазотатом в препараті методом ВЕРХ є специфічною.

Приготування модельних випробуваних розчинів. Характеристики правильності та прецизійності досліджували на модельних розчинах препарату з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату, які відповідають 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105%, 110 %, 115 % та 120 % від їх номінального вмісту (табл. 3.12).

Хроматограми модельних розчинів наведені на рис. 3.50 – 3.60

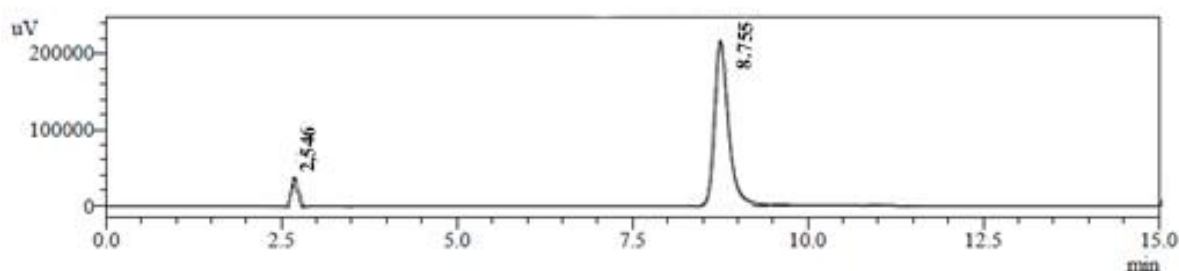


Рис 3.50 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 80 % від номінального значення

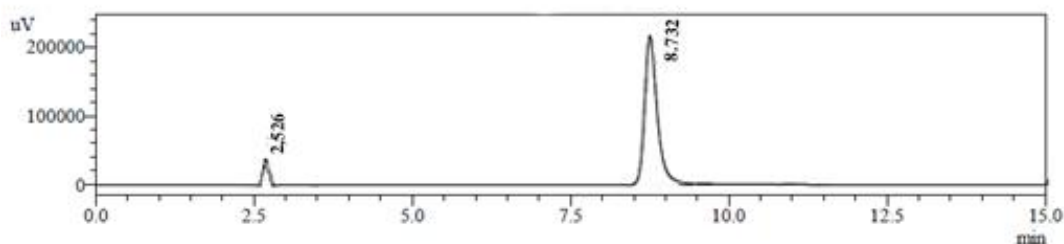


Рис 3.51 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 80% від номінального значення

та морфолінію тіазотату відповідними до 85 % від номінального значення

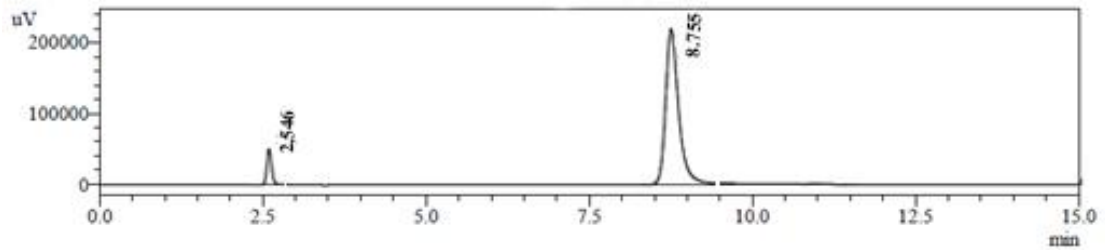


Рис 3.52 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 90 % від номінального значення

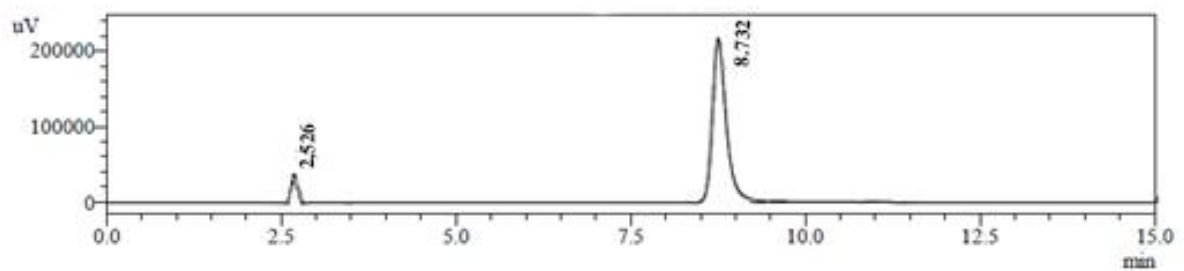


Рис 3.53 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 95 % від номінального значення

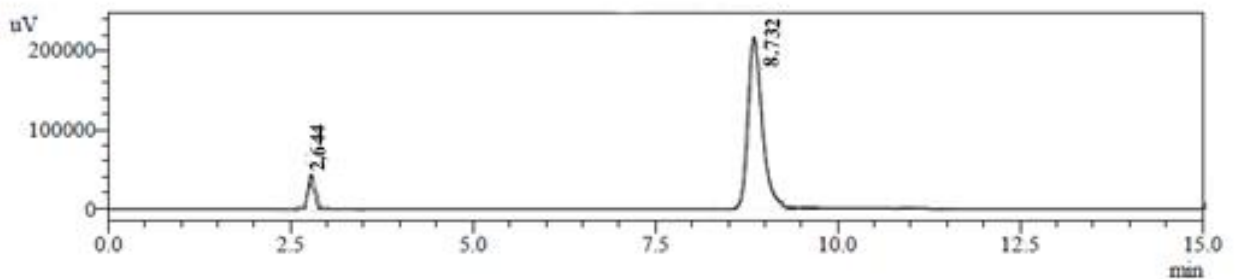


Рис 3.54 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 100 % від номінального значення

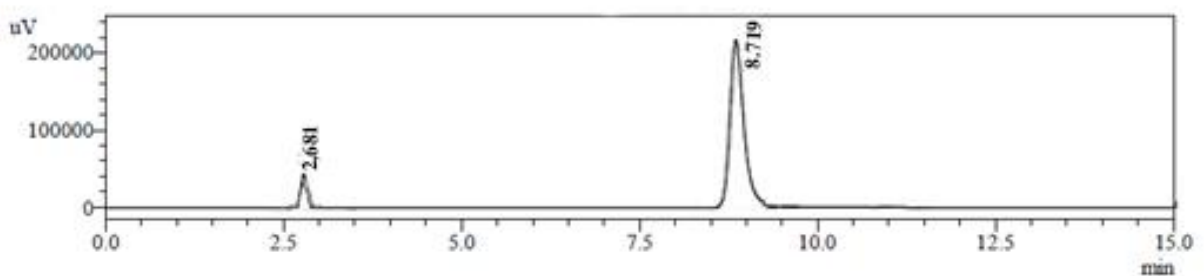


Рис 3.55 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 105 % від номінального значення

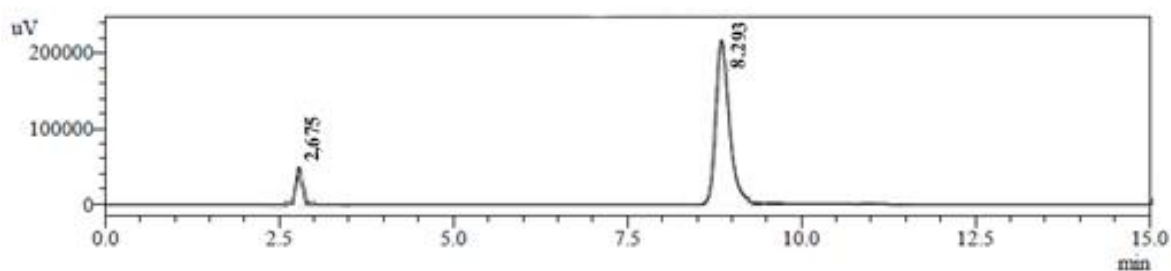


Рис 3.56 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідно до 110 % від номінального значення

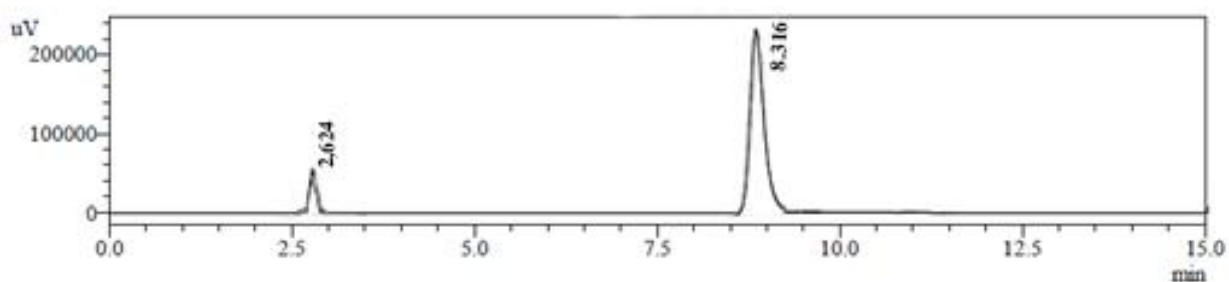


Рис 3.57 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 115 % від номінального значення

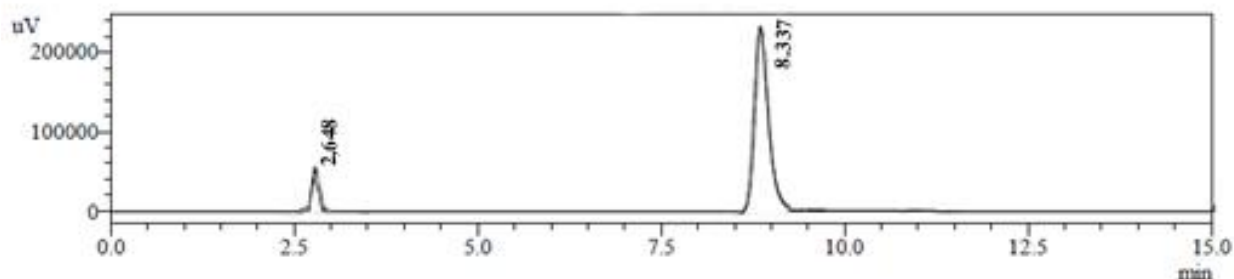
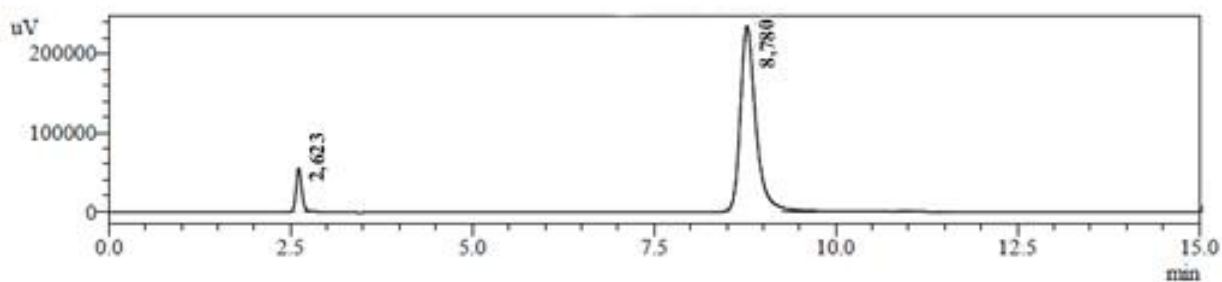


Рис 3.58 Хроматограма модельного розчину з концентраціями L-аргініну та морфолінію тіазотату відповідними до 120 % від номінального значення



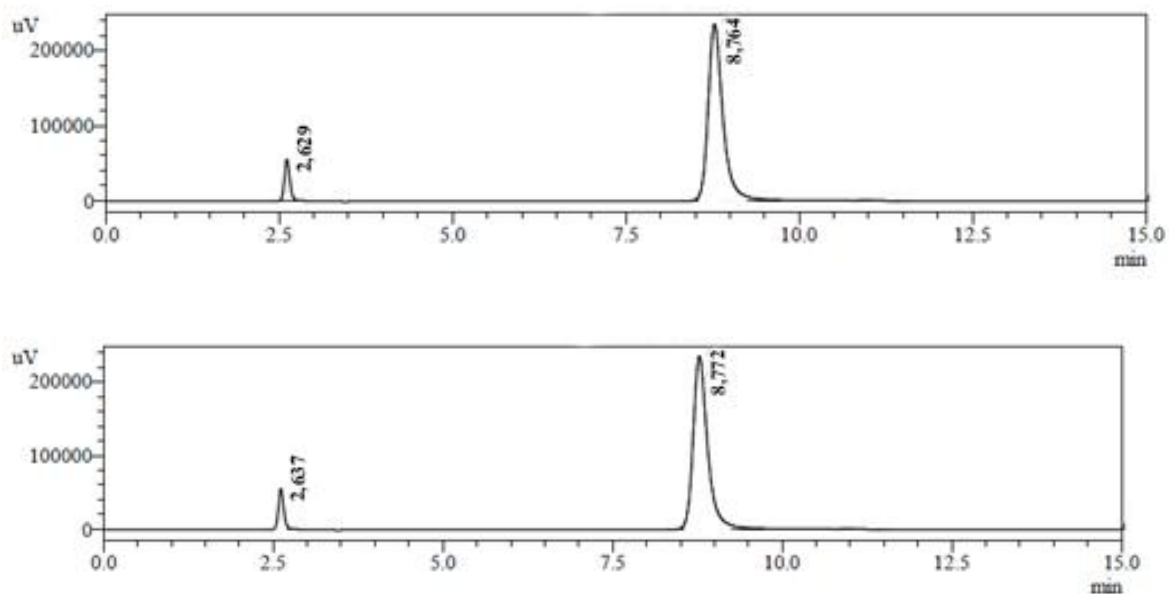


Рис. 3.59 Хроматограми випробуваного розчину L-аргініну та морфолінію тіазотату

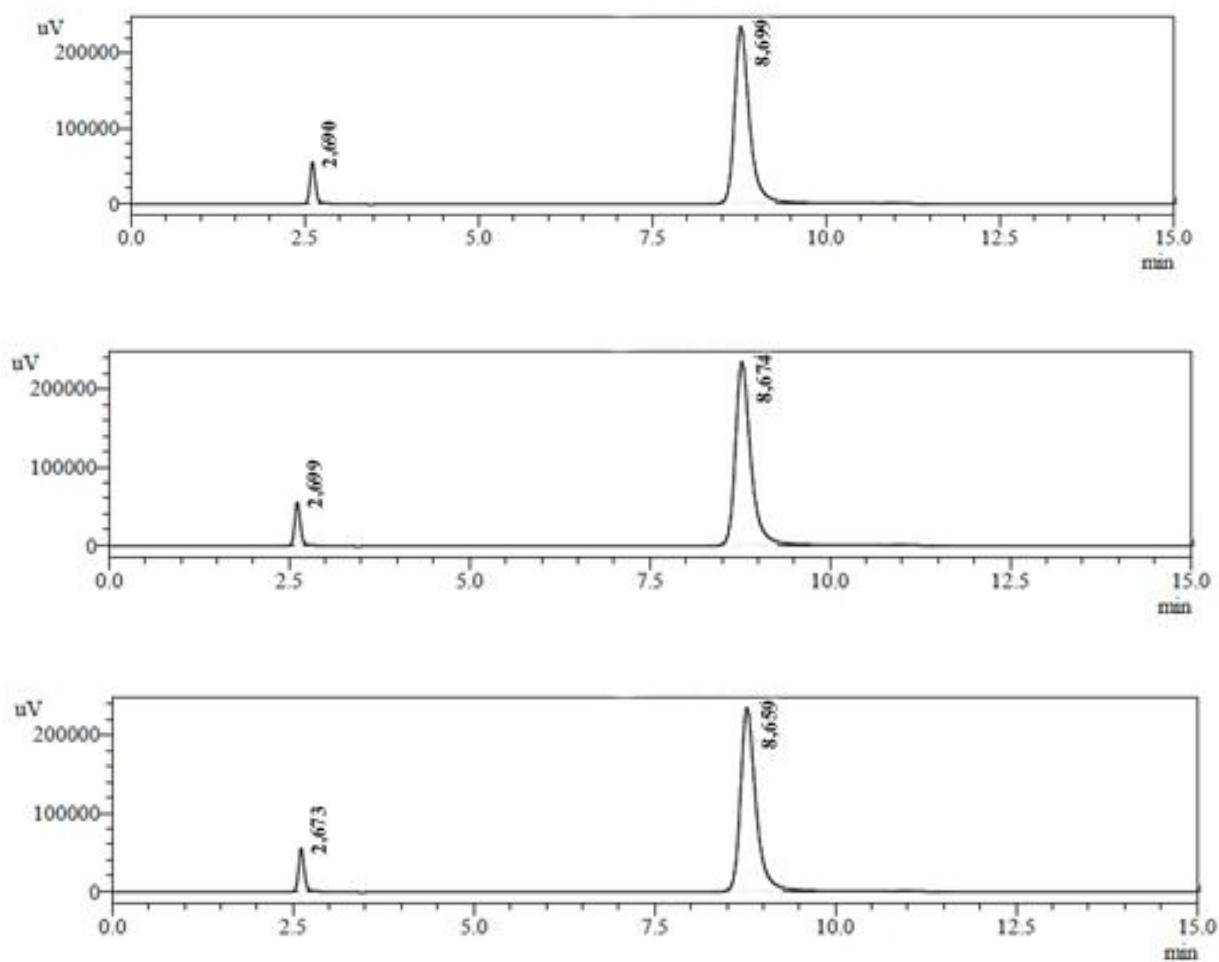


Рис 3.60 Хроматограми розчину порівняння L-аргініну та морфолінію тіазотату

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.

Досліджували характеристику лінійності в діапазоні концентрацій L-аргініну та морфолінію тіазотату від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення.

На рис. 3.61 та 3.62 представлений графік лінійної залежності, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності наведені в табл. 3.13 та 3.14.

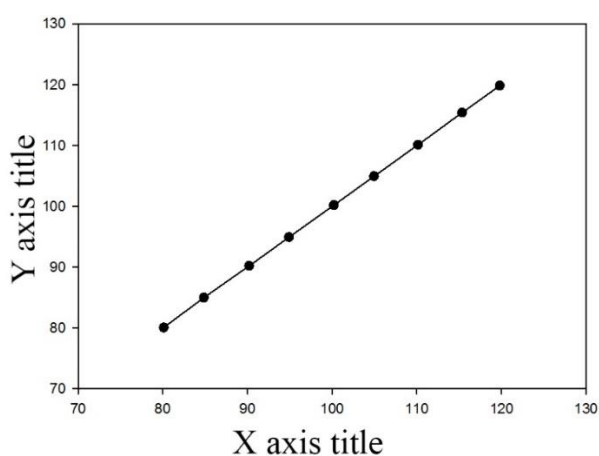


Рис. 3.61 Лінійна залежність знайденої концентрації L-аргініну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

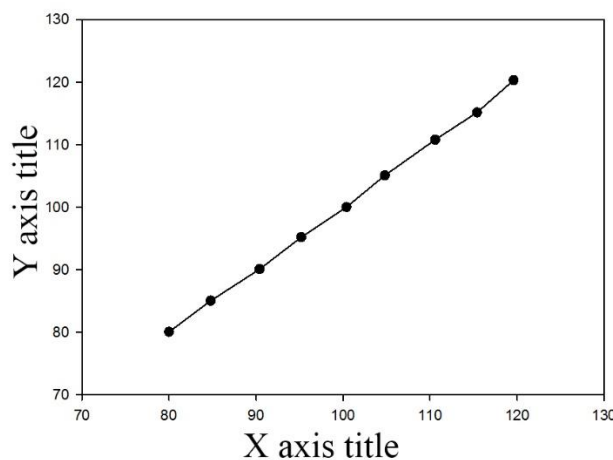


Рис. 3.62 Лінійна залежність знайденої концентрації морфолінію тіазотату від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

З представлених даних видно, що вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто підтверджується лінійність методики

кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту ± 5 %.

Правильність характеризує ступінь відповідності між відомим вмістом речовини, що визначається 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.

Була перевірена правильність та збіжність методики методом «введено-знайдено».

Таблиця 3.13

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації L-аргініну від його введеної концентрації

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	1,0003			
S _b	0,0014			
a	0,0009	$\leq 0,24 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 1 критерієм
S _a	0,1427			
SD ₀	0,0548			
SD ₀ /b	0,05478	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	1,0000	$> 0,99810 $		Виконуються

Результати кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 3.13 та 3.14. З даних, представлених в табл. 3.13 та 3.14, виходить, що методика кількісного

Таблиця 3.14

**Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої
концентрації морфолінію тіазотату від його введеної концентрації**

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	1,0083			
S _b	0,0090			
a	- 0,7509	≤ 0,66	≤ 2,6	Витримується за 1 критерієм
S _a	0,9074			
SD ₀	0,3484			
SD ₀ /b	0,346	≤ 0,84		Виконуються
r	0,99997	> 0,99810		Виконуються

визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною.

Як свідчать дані, наведені в табл. 3.15 и 3.16, в діапазоні концентрацій L-аргініну та морфолінію тіазотату від 80 % до 120 % по відношенню до номінальної концентрації методика його кількісного визначення не має значущої систематичної похибки.

Виходячи з всього вище зазначеного можна сказати, що методика характеризується достатньою збіжністю, так як знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Δ_Z для L-аргініну та морфолінію тіазотату не перевищує критичне значення для збіжності результатів (1,6 %) (табл. 3.15, 3.16). Також методика характеризується достатньою правильністю, так як виконується критерій незначущості систематичної похибки методики. Систематична похибка методики задовольняє вимоги статистичної та практичної незначущості.

Таблиця 3.15

Результати аналізу модельних розчинів, які містять від 80 % до 120 % L-аргініну по відношенню до номінальної концентрації, і їх статистичної обробки

№ розчину	Наважка L-аргініну, г ($m_{st} = 0,2000$)	Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %)	Середня площа піку ($A_i^{st} = 297329$)	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	0,1602	80,1	238101	80,06	99,95
2	0,1697	84,85	252707	84,99	100,16
3	0,1804	90,2	309397	90,22	100,02
4	0,1898	94,9	282514	94,94	100,04
5	0,2004	100,2	297983	100,22	100,02
6	0,2099	104,95	312113	104,97	100,02
7	0,2203	110,15	327493	110,14	99,99
8	0,2307	115,35	397747	115,42	100,06
9	0,2396	119,8	356557	119,86	100,05
Середнє, Z_{cp} , % =					100,03
Відносне стандартне відхилення, $RSDz$, % =					0,06
Відносний довірчий інтервал Δz % = $t(95\%, 9 - 1) \times RSDz = 1.86 \times 0.06 =$					0,11
Критичне значення для збіжності результатів ΔAs , % =					1,6
Систематична похибка δ % = $ Z_{cp} - 100 =$					0,03
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.11/3 = 0.04\%$ $0.03\% < 0.04\%$ Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0.32 \times 1.6 = 0.51\%$ $0.03\% < 0.51\%$					Виконується Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕКТНА

Таблиця 3.16

Результати аналізу модельних розчинів які містять від 80 % до 120 % морфолінію тіазотату по відношенню до номінальної концентрації, та їх статистична обробка

№ розчину	Наважка морфолінію тіазотату, г ($m_{st} = 0,0500$)	Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %)	Середня площа піку ($A_i^{st} = 3437747$)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %)	Знайдено в % до введенного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	0,04	80	2752260	80,06	100,08
2	0,0424	84,8	2923804	85,05	100,29
3	0,0452	90,4	3097410	90,1	99,67
4	0,0476	95,2	3273079	95,21	100,01
5	0,0502	100,4	3439466	100,05	99,65
6	0,0524	104,8	3612728	105,09	100,28
7	0,0553	110,6	3809711	110,82	100,20
8	0,0577	115,4	3959597	115,18	99,81
9	0,0598	119,6	4136985	120,34	100,62
Середнє, Z_{cp} , % =					100,07
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % =					0,32
Відносний довірчий інтервал Δz % = $t(95\%, 9 - 2) \times RSD_z = 1,89 \times 0,32 =$					0,60
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична похибка δ % = $ Z_{cp} - 100 =$					0,07
Критерій незначущості систематичної похибки:					
1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0,60 : 3 = 0,2\%$ $0,07\% < 0,2\%$					Виконується
Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0,32 \times 1,6 = 0,51\%$ $0,07\% < 0,51\%$					Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕКТНА

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-аргініну та морфолінію тіазотату 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-аргініну та морфолінію тіазотату у всьому діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення.

Прогноз повної невизначеності методики

Для того щоб підтвердити коректність методики при відтворенні в інших лабораторіях провели прогноз повної невизначеності методики. Повна невизначеність методики аналізу (Δ_{As}) включає в себе невизначеність пробопідготовки (Δ_{SP}) та невизначеність кінцевої аналітичної операції (Δ_{FAO}):

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (3.6)$$

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 [46]:

$$\max\Delta_{As} = 1,6\%; \Delta_{SP} \leq 0,32 \cdot \max\Delta_{As} = 0,51\% \quad (3.7)$$

- 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. 3.9.6.

Невизначеність взяття наважки розраховують за формулою:

$$\Delta_m = \frac{0,2}{m} \times 100 \% \quad (3.8)$$

де m – маса наважки, в міліграмах.

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для L-аргініну) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.1^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2 + 0.05^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2} \approx 0.67\% \quad (3.9)$$

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для морфолінію тіазотату) дорівнює:

Таблиця 3.17

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для методики кількісного визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату

Операція пробопідготовки	Параметр для розрахункової формули	Невизначеність (Δ), %
Розчин порівняння		
Взяття наважки L-аргініну та морфолінію тіазотату	$m_o = 200$ мг $m_o = 50$ мг	0,1 % 0,4 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 25,0 мл до мітки	25	0,23 %
Взяття розчину піпеткою 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %
Випробуваний розчин		
Взяття наважки препарату	$m = 400$ мг	0,05 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 25 мл до мітки	25	0,23 %
Взяття розчину піпеткою 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.4^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2 + 0.05^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2} \approx 0.77\% \quad (3.10)$$

Таким чином, невизначеність пробопідготовки є значущою для L-аргініну та морфолінію тіазотату. Тому розраховують більш жорсткі вимоги до RSD наступним чином. Для цього розраховують вимоги до $\max \Delta_{FAP}$, скореговані на прогнозоване значення Δ_{SP} :

$$\max \Delta_{FAP} = \sqrt{\max \Delta_{As}^2 - \Delta_{SP}^2} = \sqrt{1,6^2 - \Delta_{SP}^2} ; \quad (3.11)$$

$$\text{для L-аргініну: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,67^2} = 1,45 ;$$

$$\text{для морфолінію тіазотату: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,77^2} = 1,40 .$$

Розраховують вимоги для $\max RSD$ для 3 паралельних хроматограм, які необхідно одержати у відповідності з проектом методики:

$$\max RSD = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{t \cdot \sqrt{2}} = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{2,92 \cdot \sqrt{2}} = \max \Delta_{FAP} \cdot 0,4194 ; \quad (3.12)$$

$$\text{для L-аргініну: } \max RSD = 0,4194 \cdot 1,45 = 0,61 ;$$

$$\text{для морфолінію тіазотату: } \max RSD = 0,4194 \cdot 1,40 = 0,59 .$$

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-аргініну та морфолінію тіазотату з фактичних даних (табл. 3.18).

Отримані значення відносних стандартних відхилень для площ піків L-аргініну та морфолінію тіазотату суттєво менше $\max RSD$.

Як видно з наведених вище даних, методика одночасного кількісного визначення L-аргініну та тіотриазоліну методом ВЕРХ в діапазоні застосування

методики відповідає критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність та лінійність. Повна прогнозована невизначеність результатів аналізів не перевищує критичне значення, регламентоване ДФУ.

Таблиця 3.18

Відносне стандартне відхилення площ піків L-аргініну та морфолінію тiazотату (S)

	L-аргінін		Морфолінію тiazотат	
	S_0^*	S_I^{**}	S_0^*	S_I^{**}
	297184	297528	3431642	3432877
	297348	297704	3439858	3430071
	297641	297207	3438403	3439637
RSD, %	0,078	0,084	0,127	0,143
RSD_{max}, % (n₀ = 3, B = 5 %)	0,61		0,59	
* S_0 – площа піку L-аргініну та морфолінію тiazотату, отримана з хроматограм розчину порівняння.				
** S_I – площа піку L-аргініну та морфолінію тiazотату, отримана з хроматограм досліджуваного розчину.				

3.10 Встановлення умов зберігання і терміну придатності таблеток L-аргініну з тіотриазоліном

Дослідження стабільності таблеток L-аргініну з тіотриазоліном, які було виготовлено в лабораторних умовах та расфасовано у блістери, проводили згідно настанови 42-8.2:2013 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності», де вказані рекомендації стосовно вивчення стабільності препаратів [91]. 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, оцінювали зовнішній вигляд, проводили ідентифікацію, визначали кількісний вміст діючої

речовини, мікробіологічну чистоту, супровідні домішки, проводили тест «розчинення» та «розпадання» [364].

В ході проведених досліджень, встановлено, що при зберіганні впродовж 27 місяців та температурі $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості $60\pm 5\%$, захищеному від світла місті 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 В).

Висновки до розділу 3

1. В результаті проведених квантово-хімічних розрахунків виявлено, що між діючими речовинами не виникають ковалентні зв'язки, а тільки нестійкі водневі, що дає можливість поєднання L-аргініну та тіотриазоліну в одній лікарській формі у вигляді таблеток.

2. Згідно з отриманими даними термогравіметричного аналізу субстанції морфолінію тіазотату, L-аргініну, суміші L-аргініну-морфолінію тіазотату виявлено, що суміш L-аргініну і морфолінію тіазотату є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою, що дає нам можливість комбінування їх в одній лікарській формі.

3. Попередньо проведено морфометричні дослідження субстанцій L-аргініну та тіотриазоліну, що дозволило запропонувати в якості отримання таблеток метод вологої грануляції.

4. Для створення нового комбінованого таблеткованого лікарського засобу, що містить L-аргінін та тіотриазолін методом вологої грануляції було досліджено чотири груп допоміжних речовин. В результаті було відібрано оптимальні ДР для створення таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном, які забезпечують всі фармако-технологічні вимоги, які висуваються до таблеткованої лікарської форми згідно вимог ДФУ.

5. Проведені експериментальні дослідження дозволили вибрати плівкоутворюючу систему для нанесення покриття на основі ПВС. Було

встановлено доцільність використання Oradry. В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток методом вологої грануляції.

6. За результатами проведених досліджень, розроблено: методику стандартизації діючих речовин L-аргініну та морфолінію тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ; підібрані оптимальні умови проведення аналізу; методику стандартизації діючих речовин в таблетковій масі методом ВЕРХ; методики стандартизації (ідентифікація, розчинення, кількісне визначення) діючих речовин в таблетках L-аргініну та морфолінію тіазотату.

7. Методика визначення L-аргініну та морфолінію тіазотату методом ВЕРХ в діапазоні застосування методики відповідає критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність та лінійність.

8. За результатами проведених досліджень розроблено специфікацію та проект МКЯ на таблетки з L-аргініну з морфолінію тіазотатом (Додаток О).

9. В ході проведених досліджень вивчено стабільність таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом в процесі зберігання та визначено термін і умови їх зберігання - 2 роки за температури (15 - 25) °С і відносній вологості (60±5) %, дослідження тривають.

10. Результати дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної хімії та фармакогнозії Київського медичного університету (Додаток П), фармації Івано-Франківського медичного університету (Додаток Р), кафедри фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (Додаток С), у технологічний процес на базі лабораторії таблетованих ЛП ДП «ДНЦЛЗ» (Додаток Т), у виробництво на базі ПрАТ «Лекхім-Харків» (Додаток У).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Кучеренко Л. И., Хромылева О. В., Левых А. Э. Применение нейротрансмиттерных аминокислот в современной медицине. *Рецепт*. 2016. Т. 19, № 5. С. 616-620. (Особистий внесок: планування експерименту, обробка отриманих результатів, оформлення статті).
2. Theoretical study about L-arginine complexes formation with thiotriazolin / L. I. Kucherenko, O. V. Hromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 1. С. 108-112. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).
3. The formation of two thiotriazoline polymorphs: study from the energetic viewpoint / S. V. Shishkina, V. N. Baumer, O. V. Khromileva, L. I. Kucherenko I. A. Mazur. *CrystEngComm*. 2017. Vol. 19. P. 2394-2401. <https://doi.org/10.1039/C7CE00117G>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus)).
4. Optimization of L-arginine and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography method / L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova, I. A. Mazur, Z. B. Moriak. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 6. С. 837-840. <https://doi.org/10.14739/2310-1210>. 2018.6.146760. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).
5. Хромылева О. В. Выбор вспомогательных веществ для получения таблеток L-аргинина с тиотриазолином методом влажной грануляции. Сообщение 1. Влияние вспомогательных веществ на процесс прессования, внешний вид и однородность в массе таблеток L-аргинина с тиотриазолином, полученных методом влажной грануляции. *Рецепт*. 2018. Т. 21, № 4. С. 516-524.
6. Хромильова О. В. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні характеристики таблеток L-аргініну з тіотриазолином.

Фармацевтичний часопис. 2018. № 4. С. 35-41. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2018.4.9704>

7. Хромильова О.В. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні характеристики таблеток L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис*. 2018. №4 (48). С.35-41. DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2018.4.9704>

8. Щодо стандартизації L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 1. С. 47-52. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.1.158992>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

9. Хромильова О. В. Вибір захисної полімерної оболонки для таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 2. С. 23-29. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.2.9927>

10. Хромильова О. В. Дериватографические исследования тиотриазолина, L-аргинина, смеси L-аргинина с тиотриазолином. *Рецепт*. 2018. Т. 22, № 4. С. 544-549.

11. Валідація методики кількісного визначення діючих речовин в таблетках «Аргітрил» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, С. О. Борсук. *The scientific heritage*. 2020. No. 51-2. P. 59-64. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

12. Kucherenko L. I., Khromylova O. V. About possibility of L-arginine complexes formation with thiotriazolin. *Trends of modern science-2017* : materials of the XIII international scientific and practical conference. Sheffield, 2017. Vol. 17. P. 50-52.

13. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Щодо технології отримання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Ліки людині*.

Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : матеріали ІІІ міжнар. наук.-практ. конф. (14-15 березня 2019 р.). Харків, 2019. С. 160.

14. Використання вискоєфективної рідинної хроматографії при розробці нового лікарського засобу «Аргітрил» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 329-330.

15. Кучеренко Л. И., Хромилева О. В. Разработка технологии получения таблеток методом влажной грануляции на основе L-аргинина и морфолина тиазатата. *The world of science and innovation* : materials of II International Scientific and Practical Conference, London. United Kingdom 2020. P. 403-405.

РОЗДІЛ 4

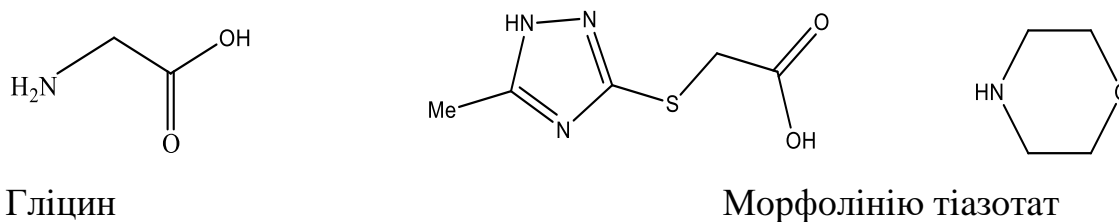
РОЗРОБКА ОПТИМАЛЬНОГО СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ГЛІЦИНУ З МОРФОЛІНІЯ ТІАЗОТАТОМ

Початок нинішнього тисячоліття ознаменувався значним поширенням серцево-судинних захворювань, які посідають 1-2 місце в структурі смертності промислово розвинених країн світу. Певний інтерес в якості перспективного первинного нейропротектора викликає гліцин. Він забезпечує нормальне функціонування NMDA-рецепторів, завдяки впливу на гліцинові сайти, володіє метаболітотропним і енерготропним ефектом. Є дані про здатність антиоксиданту морфолінію тіазотату потенціювати терапевтичну дію нейрометаболічних церебропротекторів [111]. Тому цікавим є створення нового комбінованого препарату на основі гліцину та морфолінію тіазотату. Спільно з фармакологами були вивчені різні комбінації гліцину з морфолінію тіазотатом – 1:1; 2:1; 4:1; 5:1; 7:1 і була виявлена оптимальна комбінація - 4:1 [48, 116, 160].

4.1 Квантово-хімічні розрахунки діючих речовин

Для нового комбінованого лікарського препарату обрано раціональну лікарську форму - таблетки. Під час розробки нового препарату до складу якого входять декілька компонентів одним з важливих факторів є їх сумісність. Тому для врахування можливої хімічної взаємодії діючих речовин попередньо були проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів гліцину з морфолінію тіазотатом, з метою вивчити будову, оцінити енергію утворення і геометричні характеристики водневих зв'язків для комплексів, утворених гліцином, 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіоацетатом (МТТА) і морфоліном. Дослідження проводили на базі Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-

технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України. На рис. 4.1 представлені молекули, які входять до складу досліджуваних комплексів.



Гліцин

Морфолінію тіазотат

Рис. 4.1 Молекули, які входять до складу досліджуваних комплексів

Моделювання будови і стабільності комплексів гліцину з морфолінію тіазотатом було проведено за методикою, схожою з методикою, яку використовували раніше при вивченні комплексів ізоніазиду з тіатріазоліном [140].

Методика проведення розрахунків наведена в розділі 3.1.1.

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

Дослідження будови морфолінію тіазотата в кристалі рентгеноструктурним методом показало, що ця сполука є органічною сіллю. Карбоксильна група МТТА досить легко депротонується, стаючи негативно зарядженою, а атом азоту морфоліну приєднує протон, отримуючи позитивний заряд. Третій компонент досліджуваної системи, гліцин, існує в кристалі в цвіттер-іонному вигляді [387]. Таким чином, в досліджуваній системі міститься дві депротоновані карбоксильні групи, протонована аміногрупа, протонований морфолін, здатні брати участь в утворенні міжмолекулярних зарядово-посилених водневих зв'язків. Крім того, тiazольний цикл може бути як донором, так і акцептором протона, утворюючи кілька слабші водневі зв'язки. Можна припустити, що множинність можливих донорів і акцепторів протона

створює умови для варіативності водневих зв'язків. В результаті виникають передумови для утворення поліморфних модифікацій за рахунок можливості існування комплексів досліджуваних молекул з дуже близької енергією утворення. Додатковим аргументом на користь такого висновку є те, що методом рентгеноструктурного аналізу було знайдено дві поліморфні модифікації морфолінія тіазотату [395] і чотири поліморфні модифікації гліцину.

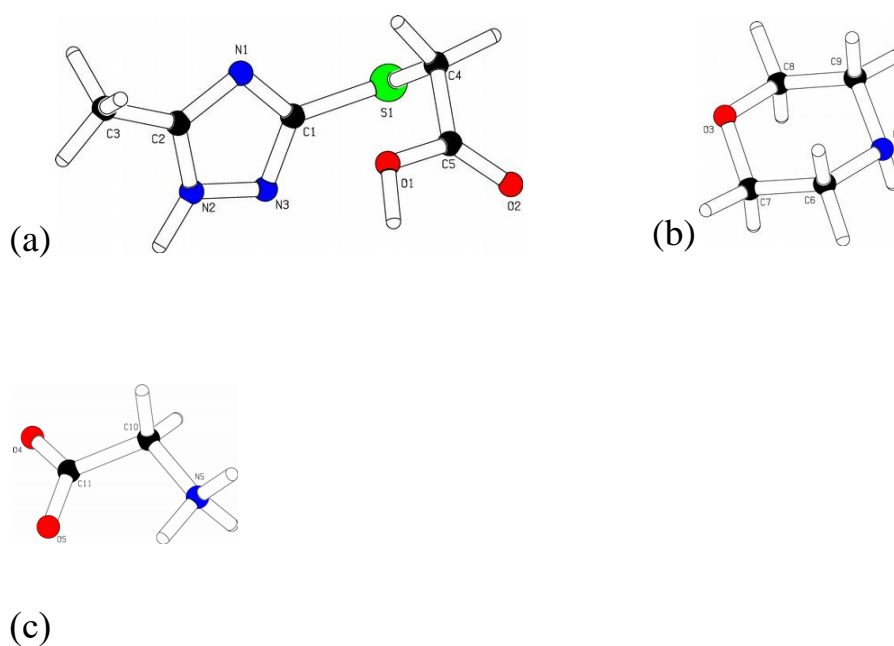


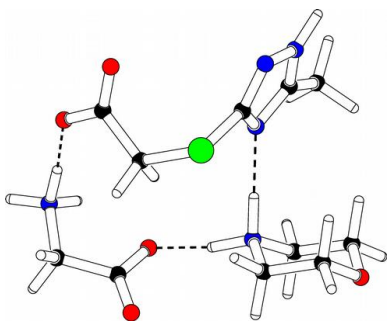
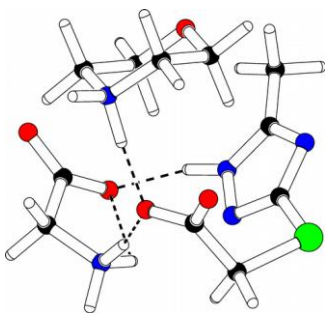
Рис. 4.2 Будова молекул морфолінія тіазотата (а-б) та гліцина (с) з нумерацією атомів

Квантово-хімічне моделювання комплексів морфолінія тіазотата і гліцину показало можливість утворення в них множинних водневих зв'язків (табл. 4.1). Однак варто зазначити, що кількість водневих зв'язків в комплексах МТТА з гліцином (3-4) менше, ніж в комплексах МТТА з аргініном [276]. Можливо, це пов'язано з меншим розміром амінокислоти, яка бере участь в комплексоутворенні. Крім того, енергія 10 найбільш стабільних комплексів з гліцином знаходиться в діапазоні 6.6÷9.2 ккал/моль.

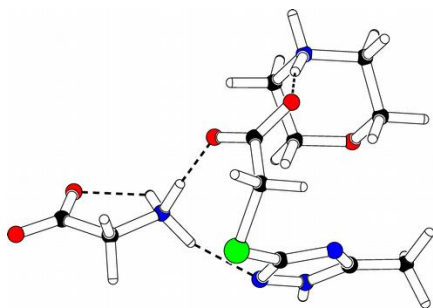
Детальний аналіз міжмолекулярних взаємодій в 10 найбільш стабільних трикомпонентних комплексах дозволив виявити деякі закономірності. Всі вибрані комплекси можна розбити на дві групи. До першої групи можна

Таблиця 4.1

Структура найбільш стійких комплексів морфолінія тіазотата з гліцином, їх енергії утворення (ΔG_{form}^{298} , ккал/моль) та характеристики водневих зв'язків (Н...А, Å и D-Н...А, град) за даними методу B97-D3/TZVP+SMD(Water)

Комплекс 1			Комплекс 2		
					
$\Delta G_{form}^{298} = 6.6$ ккал/моль			$\Delta G_{form}^{298} = 6.9$ ккал/моль		
N4-H...O4	1.61	170	N2-H...O5	1.80	150
N4-H...N1	1.81	176	N4-H...O1	1.62	173
N5-H...O1	1.57	175	N5-H...O1	1.65	169
			N5-H...O5	2.16	112

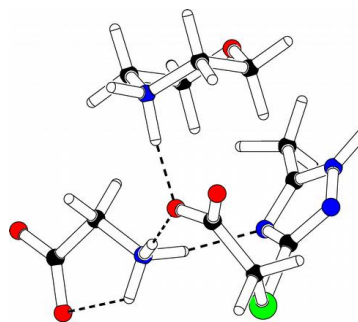
Комплекс 3



$$\Delta G_{form}^{298} = 8.3 \text{ ккал/моль}$$

N4-H...O1	1.60	170
N5-H...O2	1.68	173
N5-H...O5	1.94	120
N5-H...N3	1.98	152

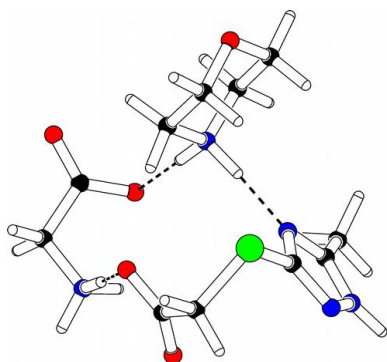
Комплекс 4



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

N4-H...O2	1.63	171
N5-H...O2	1.77	164
N5-H...N3	1.92	152
N5-H...O4	2.04	115

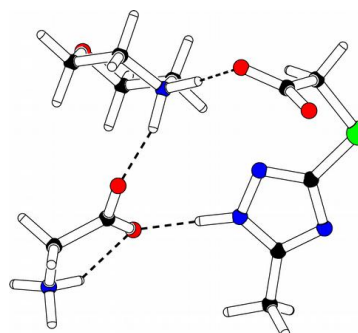
Комплекс 5



$$\Delta G_{form}^{298} = 8.7 \text{ ккал/моль}$$

N4-H...O5	1.63	174
N4-H...N3	1.77	175
N5-H...O2	1.55	177

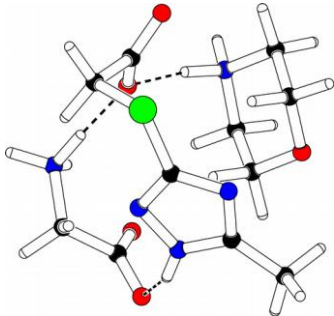
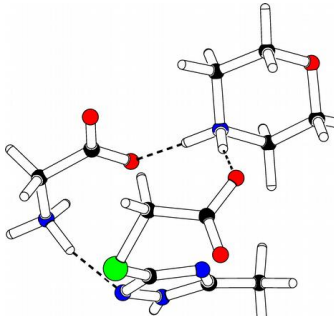
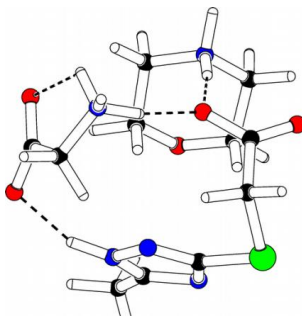
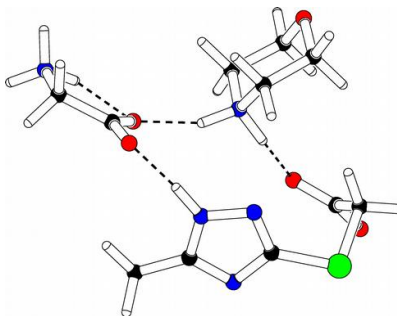
Комплекс 6



$$\Delta G_{form}^{298} = 8.7 \text{ ккал/моль}$$

N2-H...O4	1.73	179
N4-H...O1	1.61	169
N4-H...O5	1.77	163
N5-H...O4	1.97	118

Продовж. табл. 4.1

<p>Комплекс 7</p>  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 8.8$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>N2-H...O5</td> <td>1.80</td> <td>157</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O1</td> <td>1.62</td> <td>171</td> </tr> <tr> <td>N5-H...O1</td> <td>1.67</td> <td>171</td> </tr> </tbody> </table>	N2-H...O5	1.80	157	N4-H...O1	1.62	171	N5-H...O1	1.67	171	<p>Комплекс 8</p>  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 8.8$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>N4-H...O1</td> <td>1.62</td> <td>172</td> </tr> <tr> <td>N4-H...O4</td> <td>1.69</td> <td>178</td> </tr> <tr> <td>N5-H...N3</td> <td>1.83</td> <td>167</td> </tr> </tbody> </table>	N4-H...O1	1.62	172	N4-H...O4	1.69	178	N5-H...N3	1.83	167										
N2-H...O5	1.80	157																											
N4-H...O1	1.62	171																											
N5-H...O1	1.67	171																											
N4-H...O1	1.62	172																											
N4-H...O4	1.69	178																											
N5-H...N3	1.83	167																											
<p>Комплекс 9</p>  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 9.0$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>N2-H...O4</td> <td>1.80</td> <td></td> </tr> <tr> <td>N4-H...O1</td> <td>1.62</td> <td></td> </tr> <tr> <td>N5-H...O5</td> <td>2.13</td> <td></td> </tr> <tr> <td>N5-H...O1</td> <td>1.67</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	N2-H...O4	1.80		N4-H...O1	1.62		N5-H...O5	2.13		N5-H...O1	1.67		<p>Комплекс 10</p>  <p>$\Delta G_{form}^{298} = 9.2$ ккал/моль</p> <table border="1"> <tbody> <tr> <td>158</td> <td>N2-H...O5</td> <td>1.71</td> <td>172</td> </tr> <tr> <td>171</td> <td>N4-H...O4</td> <td>1.78</td> <td>157</td> </tr> <tr> <td>110</td> <td>N4-H...O1</td> <td>1.60</td> <td>165</td> </tr> <tr> <td>170</td> <td>N5-H...O4</td> <td>1.94</td> <td>119</td> </tr> </tbody> </table>	158	N2-H...O5	1.71	172	171	N4-H...O4	1.78	157	110	N4-H...O1	1.60	165	170	N5-H...O4	1.94	119
N2-H...O4	1.80																												
N4-H...O1	1.62																												
N5-H...O5	2.13																												
N5-H...O1	1.67																												
158	N2-H...O5	1.71	172																										
171	N4-H...O4	1.78	157																										
110	N4-H...O1	1.60	165																										
170	N5-H...O4	1.94	119																										

віднести комплекси 1, 5, 6, 8 і 10, в яких кожна з молекул пов'язана з двома іншими (рис. 3), а в комплексах другої групи (2, 3, 4, 7 і 9) гліцин і МТГА пов'язані двома водневими зв'язками, утворюючи димер, а молекула протонованого морфоліну зв'язується тільки одним водневим зв'язком з депротонованою карбоксильною групою МТГА.



Рис. 4.3 Два види зв'язування в досліджуваних трикомпонентних комплексах

Друга виявлена закономірність стосується молекули гліцину. Незважаючи на те, що гліцин є найпростішою і найменшою за розміром амінокислотою, він схильний до утворення внутрішньомолекулярного зарядово-поширеного водневого зв'язку між протонованою аміногрупою і карбоксилат-аніоном. Такий внутрішньомолекулярний водневий зв'язок реалізується в шести найбільш стабільних комплексах з десяти, незалежно від групи, до якої ці комплекси відносяться. Слід зазначити, що молекула гліцину з внутрішньомолекулярним водневим зв'язком, має два вільних донора протона і два акцептора протона, здатних брати участь в межмолекулярному зв'язуванні. Порівняння будови найбільш стабільних комплексів дозволяє стверджувати, що ці сайти гліцину, які беруть участь в міжмолекулярних взаємодіях, рівноцінні.

Молекула МТГА містить депротоновану карбоксильну групу, яка у всіх аналізованих комплексах бере участь в утворенні водневих зв'язків і триазольний цикл, який може виступати як донором, так і акцептором протона. При цьому на атомах триазольного циклу нелокалізований додатковий заряд, тому водневі зв'язки з його участю помітно слабкіші. Однією з особливостей розглянутих комплексів є той факт, що протонована молекула морфоліну бере участь в водневих зв'язках тільки як донор протона, незважаючи на присутність атома кисню, здатного бути акцептором. Результати розрахунків свідчать про те, що множинність зарядово-поширених донорних і акцепторних сайтів для водневого зв'язування призводить до утворення комплексів, різних за будовою, але близьких по енергії утворення. Можна припустити, що це обумовлює відносну термодинамічну нестабільність вивчених комплексів в розчині. Це означає, що сольватація окремих молекул значно вигідніше сольватації

комплексів. Також необхідно відзначити, що енергії сольватації були розраховані в наближенні нескінченного розведення. У розчинах кінцевої концентрації слід чекати більшої стабільності молекулярних комплексів.

Таким чином, квантово-хімічні розрахунки комплексів морфолінія тіазотата і гліцину показали можливість утворення в них лише множинних водневих зв'язків. Однак варто зазначити, що енергія взаємодії найбільш стабільних комплексів дуже мала та знаходиться в діапазоні 6.6÷9.2 ккал/моль. Таким чином, це теоретично доказує відсутність стійкої хімічної взаємодії між компонентами та підтверджує можливість комбінування гліцину та морфолінію тіазотату в одній лікарській формі.

4.2 Дериватографічні дослідження

Далі, для усунення сумнівів щодо можливості комбінування діючих речовин також проводили термогравіметричний аналіз субстанції гліцину, суміші гліцину-морфолінія тіазотату [168]. Результати проведених досліджень представлені на рис. 4.4, 4.5. Термогравіметричний аналіз субстанції морфолінія тіазотату наведено в розділі 3.2.

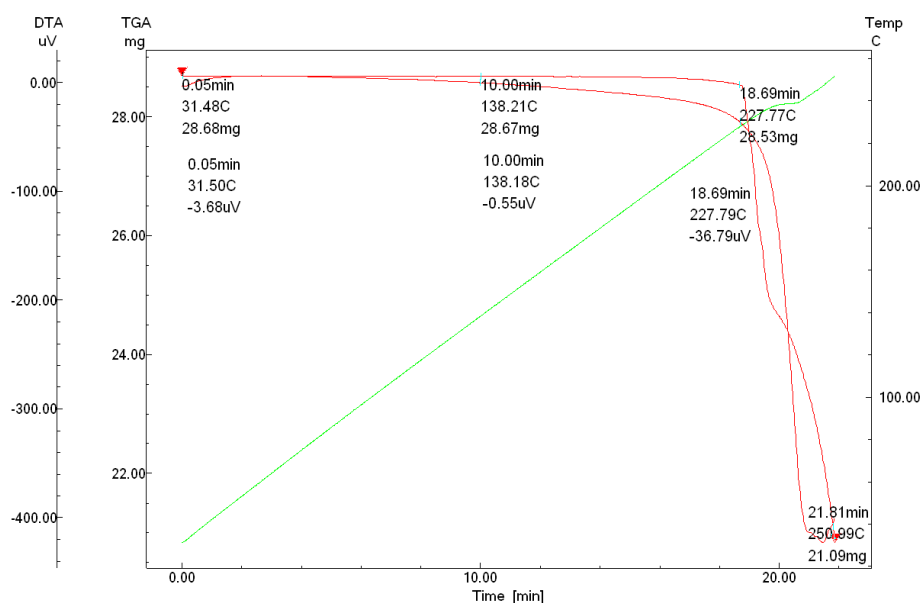


Рис.4.4 Дериватограма гліцину

Аналіз отриманої дериватограми гліцину (рис. 4.4) показав, що даний зразок є відносно термічностабільною сполукою в діапазоні температур від 31 до 227 °С. Втрата маси зразку при 138,18 °С від початку експерименту склала всього 0,03 %. На вісімнадцятій хвилині експерименту при температурі 227,77 °С втрата маси зразку склала 0,52 % (0,0052 мг).

Отримана дериватограма суміші гліцину та морфолінія тіазотату (рис. 4.5) висвітлює подібний характер теплових ефектів окремих інгредієнтів суміші - це свідчить про відсутність взаємодії компонентів між собою. Так на дев'ятій хвилині експерименту при температурі 127,45 °С зміна маси склала 0,41 % (0,0041 мг). На одинадцятій хвилині експерименту при температурі 148,12 °С зміна маси склала 2,26 % (0,0226 мг). Таким чином

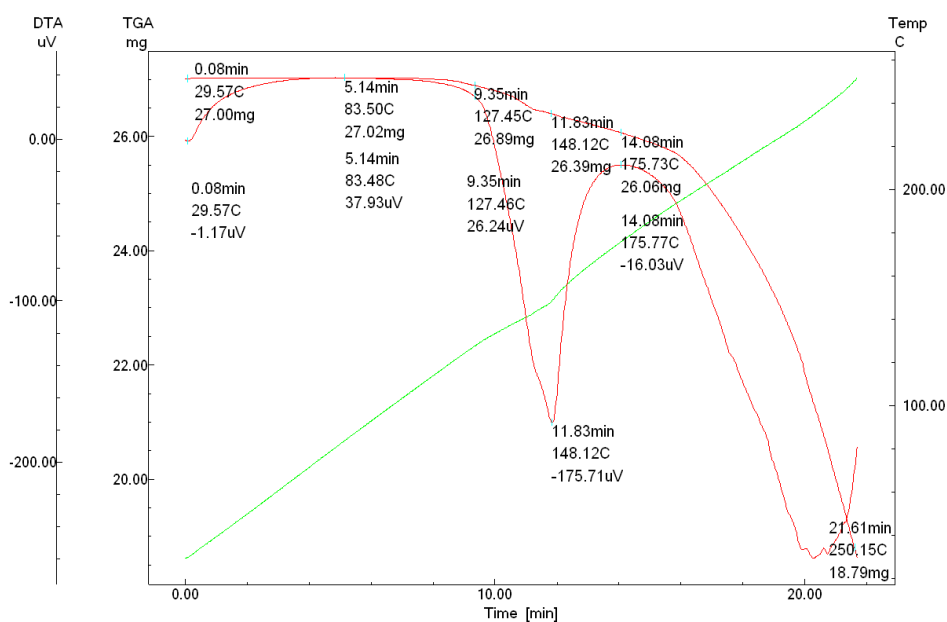


Рис.4.5 Дериватограма суміші гліцину та морфолінія тіазотату

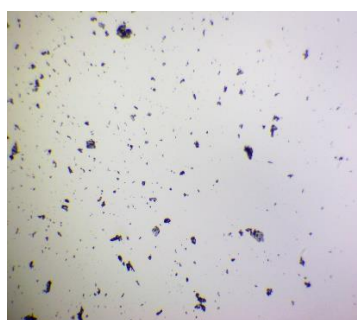
виявлено, що при нагріванні суміші гліцину і морфолінія тіазотату до 118⁰С речовини залишаються у вигляді порошків, а при подальшому нагріванні маса зразку зменшується. Тому можливо зробити висновок, що суміш гліцину з морфолінія тіазотатом є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою і це дає можливість комбінувати їх в одній лікарській формі в вигляді

таблеток, а в технологічному процесі операції здійснювати при температурі до 118⁰С.

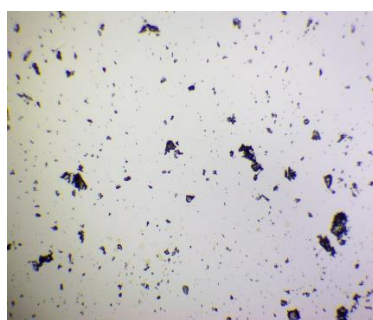
4.3 Розробка технології таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом методом прямого пресування

По-перше, були вивчені фізико-хімічні та технологічні властивості субстанцій гліцину, тіотриазоліну та їх суміш, з метою вибору способу отримання таблеток [145, 146]. За допомогою електронно-мікроскопічних методів з використанням комп'ютерної програми Inter VideoWinDVR були проведені дослідження форми та розміру часток. В результаті виявили, що субстанції гліцину та тіотриазоліну представляють собою полідисперсні кристалічні порошки у вигляді пластинчастих багатогранників та їх уламків. Домінуюча фракція представлена ізодіаметричними частинками неправильної форми. Вивчили розміри кристалів гліцину та тіотриазоліну, їх технологічні властивості. Для отримання комбінованих таблеток було запропоновано метод прямого пресування [42, 69, 73].

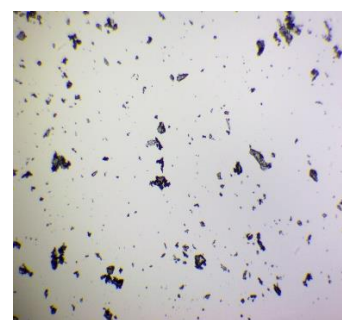
На рис. 4.6 представлені мікроснімки порошоків гліцину, тіотриазоліну та їх суміші.



а)



б)



в)

Рис. 4.6 Мікроснімки порошоків: а) гліцину в масштабі 1:100, б) тіотриазоліну в масштабі 1:100, в) суміші гліцину з тіотриазоліном в масштабі 1:100

Серед допоміжних речовин вибрали речовини, які за літературними даними найчастіше використовуються для отримання таблеток методом прямого пресування. допоміжні речовини за технологічними ознаками згрупували в чотири групи. Фактори і їх рівні наведені в табл. 4.2

Таблиця 4.2

Допоміжні речовини, які вивчалися при розробці таблеток

Фактори	Рівні факторів
<i>A</i> – допоміжні речовини на основі мікрокристалічної целюлози	a_1 - МКЦ 102 a_2 - Просолв 90 a_3 - МКЦ 302 a_4 - МКЦ 200
<i>B</i> – допоміжні речовини на основі цукрів	b_1 – Манітол 300 b_2 – Лікотаб PGS b_3 – Лудіпрес b_4 – Цукор компрі О
<i>C</i> – допоміжні речовини на основі гранульованих неорганічних солей	c_1 – Кальцій фосфат 2-х основний безводний c_2 – Маггран магній оксид гранульований c_3 – Екомпрес c_4 – Неусілін УС 2
<i>D</i> – змащуючі речовини	d_1 – Магния стеарат d_2 – Кислота стеаринова d_3 – Кальция стеарат d_4 – ПЄГ 4000

Співвідношення між діючими та допоміжними речовинами при створенні таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом було наступним:

Склад на 1 таблетку:

Гліцин	0,200
Тіотриазолин	0,050
Фактор А	0,0664
Фактор В	0,0200
Фактор С	0,0200
Фактор <i>D</i>	0,0036
	0,3600

Для вивчення якісних факторів було використано один з планів дисперсійного аналізу - греко-латинський квадрат [29]. В табл. 4.3 наведена матриця планування експерименту та результати дослідження порошкових мас та отриманих таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом. По-перше, приготували порошкові маси.

Далі порошкові суміші досліджували на текучість, кут природного укосу, насипну густина та насипну густина після усадки. Пресували таблетки на лабораторному таблеточному пресі "ТП -1". Вивчали вплив природи допоміжних речовин на процес пресування та зовнішній вигляд таблеток. Отримані таблетки досліджували на однорідність їх маси, стиранисть, час розпадання та стійкість до роздавлювання.

Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав, що всі вивчені фактори статистично незначущі за впливом на вільну насипну масу порошкових мас гліцину з морфолінія тіазотатом. Це означає, що при використанні будь-якої із 16-ти вивчених ДР отримуємо близький за значенням результат вільної насипної маси.

Далі досліджувані порошкові маси піддавали ущільненню. За впливом на насипну густина після усадки порошоків гліцину з морфолінія тіазотатом якісні фактори можна розмістити в наступній послідовності: $A > D = res > B > C$.

Вплив допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на насипну густина після усадки порошоків гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис.4.3.

Як видно з рис. 4.6 найкращою допоміжною речовиною виявилась МКЦ 200.

Аналіз рисунку показав, що найбільше значення насипної густини після усадки отримали при використанні магнію стеарату.

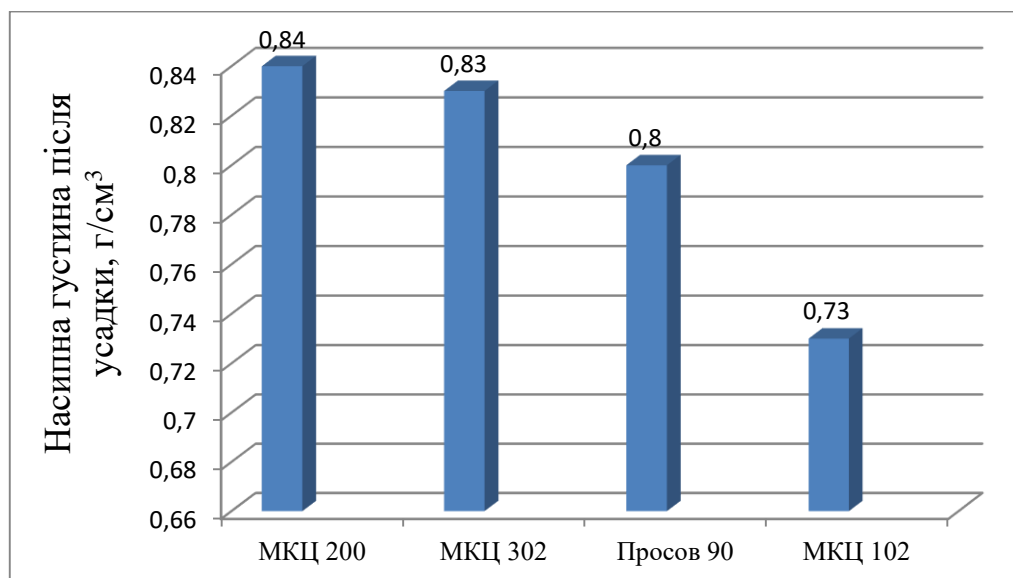


Рис.4.6 Вплив фактору А на насипну густина після усадки порошоків гліцину з морфолінія тiazотатом

Вплив змащувачих речовин на насипну густина після усадки порошоків гліцину з морфолінія тiazотатом наведено на рис.4.7.

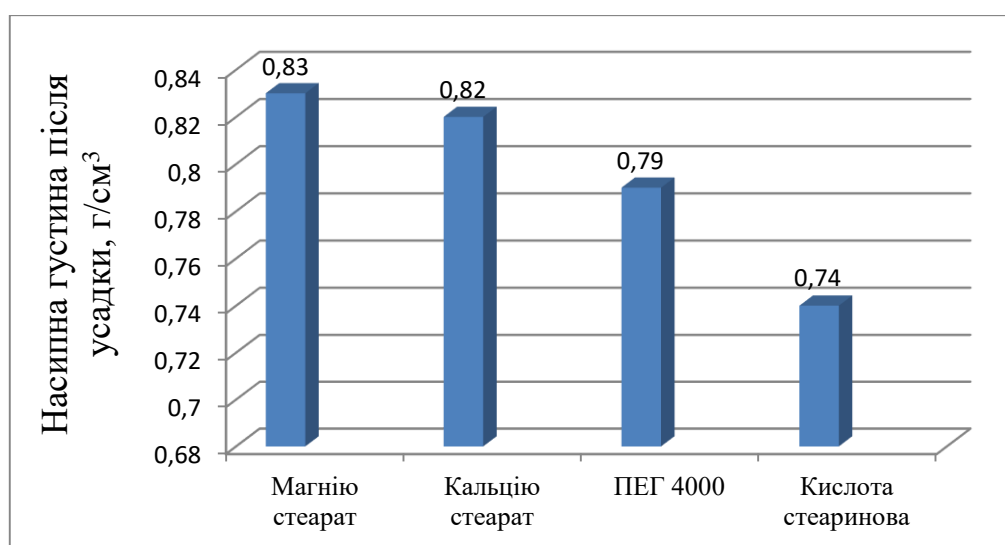


Рис.4.7 Вплив фактору D на насипну густина після усадки порошоків гліцину з морфолінія тiazотатом

Таблиця 4.3

**Чотирьохфакторний експеримент на основі греко-латинського квадрату та результати дослідження
порошкових і таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом**

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 '	y ₈	y ₈ '	y ₉	y ₉ '	y ₁₀	y ₁₀ '	y ₁₁	y ₁₁ '	D	D'
a ₁	b ₁	c ₁	d ₁	0,68	0,69	0,81	0,82	1,8	1,65	31	32	5	5	5	4	1,13	1,15	52,8	47,9	0,10	0,12	2,18	2,2	5	4	0,91	0,88
a ₁	b ₂	c ₂	d ₄	0,72	0,71	0,80	0,81	2,3	1,97	26	27	4	4	3	3	0,67	0,69	85,1	89,1	0,07	0,09	0,89	0,87	4	3	0,81	0,81
a ₁	b ₃	c ₃	d ₂	0,53	0,51	0,55	0,54	2,3	2,6	42	41	5	4	5	4	0,67	0,68	44	46,6	8,81	8,79	8,01	8,19	3	3	0,00	0,00
a ₁	b ₄	c ₄	d ₃	0,65	0,66	0,76	0,78	8,97	7,01	40	39	4	5	5	5	1,13	1,15	64,7	72,1	10,03	9,97	4,22	4,19	3	4	0,00	0,00
a ₂	b ₁	c ₂	d ₃	0,72	0,71	0,82	0,84	2,17	2,19	35	34	5	4	4	4	1,06	1,08	47,8	49,9	0,09	0,1	8,58	9,19	4	3	0,82	0,83
a ₂	b ₂	c ₁	d ₂	0,65	0,64	0,76	0,78	2,36	2,38	38	37	5	4	5	4	1,89	1,91	55,6	58,4	0,24	0,25	0,4	0,42	4	3	0,92	0,88
a ₂	b ₃	c ₄	d ₄	0,61	0,63	0,72	0,73	1,8	1,65	39	40	3	3	3	3	2,2	2,25	88,8	79,7	0,07	0,08	3,1	3,2	3	3	0,69	0,68
a ₂	b ₄	c ₃	d ₁	0,8	0,79	0,85	0,87	4,84	5,01	31	30	4	5	5	5	0,53	0,55	35,9	37,3	6,57	6,6	5,45	5,5	3	3	0,00	0,00
a ₃	b ₁	c ₃	d ₄	0,63	0,65	0,80	0,79	11,98	12,02	43	42	3	3	3	3	1,23	1,25	50,7	49,5	0,03	0,04	5,4	5,7	5	4	0,65	0,65
a ₃	b ₂	c ₄	d ₁	0,65	0,67	0,80	0,82	12,29	12,3	31	30	4	4	5	5	1,89	1,91	76,7	66,9	0,02	0,03	6,52	7,02	4	3	0,94	0,91
a ₃	b ₃	c ₁	d ₃	0,72	0,73	0,85	0,87	1,76	1,8	33	32	5	4	5	4	0,96	0,98	32,3	36,2	0,06	0,07	3,47	3,52	4	3	0,65	0,68
a ₃	b ₄	c ₂	d ₂	0,72	0,71	0,85	0,84	2,35	2,37	27	26	3	3	3	3	2,8	2,92	29,5	30	0,15	0,17	0,15	0,17	4	3	0,42	0,43
a ₄	b ₁	c ₄	d ₂	0,72	0,73	0,8	0,82	4,84	5,01	31	30	4	4	4	4	2,1	2,2	45,5	47	0,11	0,12	2,53	2,48	3	3	0,82	0,83
a ₄	b ₂	c ₃	d ₃	0,72	0,74	0,8	0,82	1,18	1,2	29	28	4	4	4	5	1,26	1,28	37,7	36,6	0,24	0,25	6,56	7,24	3	4	0,72	0,71
a ₄	b ₃	c ₂	d ₁	0,72	0,71	0,85	0,84	1,45	1,47	29	30	4	4	4	4	1,1	1,3	34,3	30,5	7,2	7,1	6,12	6,24	4	3	0,00	0,00
a ₄	b ₄	c ₁	d ₄	0,69	0,7	0,85	0,84	1,38	1,36	27	26	3	3	3	3	2,89	2,87	55,8	53,6	0,06	0,07	2,02	3,01	4	4	0,64	0,68

Примітка: y_1 і y_1' – вільна насипна густина першої і другої серії відповідно, г,см³; y_2 і y_2' -насипна густина порошоків після ущільнення першої і другої серії відповідно, г,см³; y_3 і y_3' – текучість порошкових мас першої і другої серії відповідно, 100 г/ сек.; y_4 і y_4' – кут природного укосу порошкових мас першої і другої серії відповідно, град.; y_5 і y_5' – процес пресування таблеток першої і другої серії відповідно,бал.: y_6 і y_6' – зовнішній вигляд таблеток першої і другої серії відповідно,бал. : y_7 і y_7' - однорідність маси таблеток першої і другої серії відповідно, ±%; y_8 і y_8' – стійкість таблеток до роздавлювання першої і другої серії відповідно, Н; y_9 і y_9' – стираність таблеток першої і другої серії відповідно, %; y_{10} і y_{10}' - розпадання таблеток першої і другої серії відповідно, y_{11} і y_{11}' – органоліптичні характеристики таблеток першої і другої серії відповідно, бал; хв **D** і **D'** - функції бажанності.

Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на насипну густину після усадки наведено на рис.4.8.

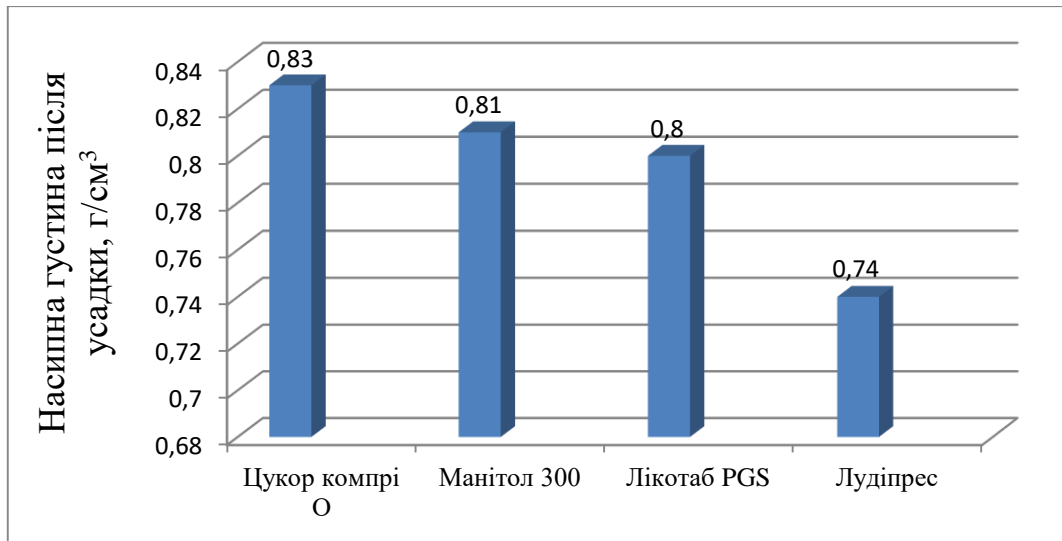


Рис.4.8 Вплив фактору В на насипну густину після усадки порошоків гліцину з морфолінія тіазотатом

Як видно з рис.4.3.3, лідером серед допоміжних речовин на основі цукрів є цукор компрі О, найгірші результати отримали при використанні лудіпресу.

Вплив фактору С на насипну густину після усадки порошоків гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.9.

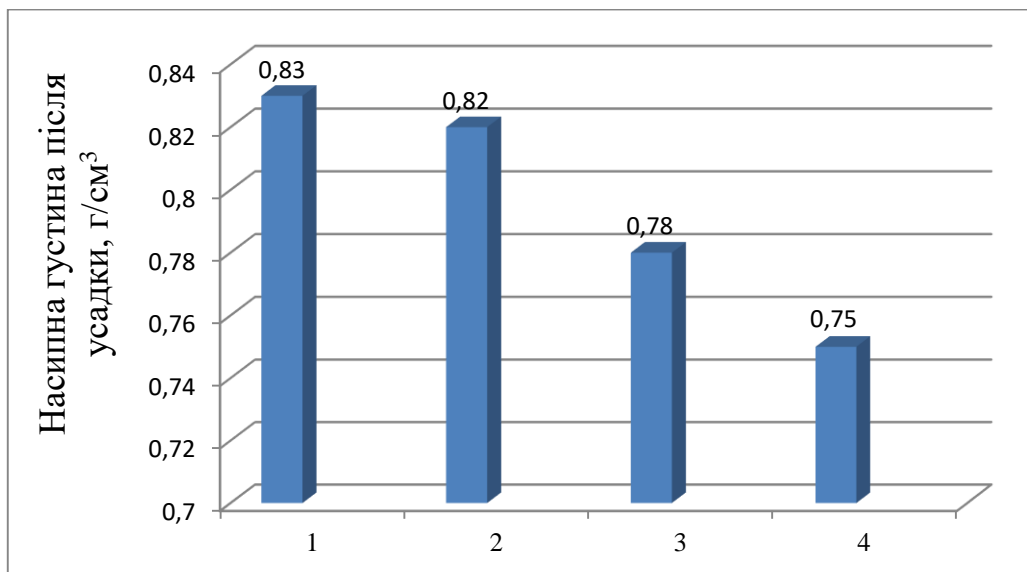


Рис.4.9 Вплив фактору С на насипну густину після усадки порошоків гліцину з морфолінія тіазотатом (1-маг гран магнію оксид гранульований; 2-кальція фосфат 2-х основний безводний; 3-неуселін УС2; 4-екмпрес)

Ранжований ряд переваг рівнів фактору С на насипну густину після усадки досліджуваних порошків має наступний вигляд: $c_2 > c_1 > c_4 > c_3$.

В подальшому порошкові суміші досліджували на текучість. Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав, що найбільш суттєвий вплив на цей показник має природа змащувачів речовин.

Вплив фактору D на текучість порошків гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис.4.10.

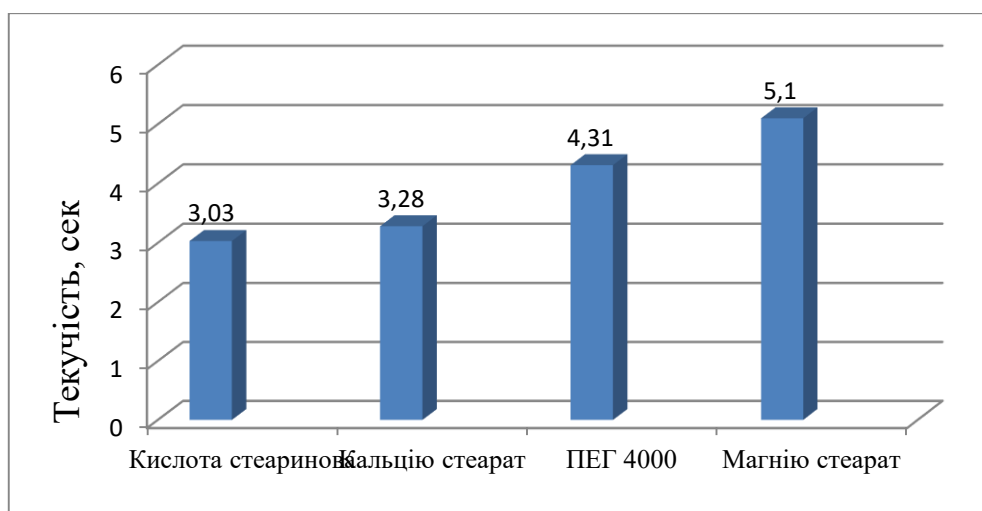


Рис.4.10 Вплив фактору D на текучість порошків гліцину з морфолінія тіазотатом

Як видно з рис. 4.10, ефективність змащувачів речовин ілюструє наступний ряд: кислота стеаринова > кальцію стеарат > ПЕГ 4000 > магнію стеарат.

Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на текучість порошків наведено на рис.4.11.

Вивчені допоміжні речовини на основі цукрів за впливом на текучість досліджуваних порошків можна розмістити в наступний ряд переваг: лудіпрес > цукор компрі О > лікотаб PGS > манітол 300.

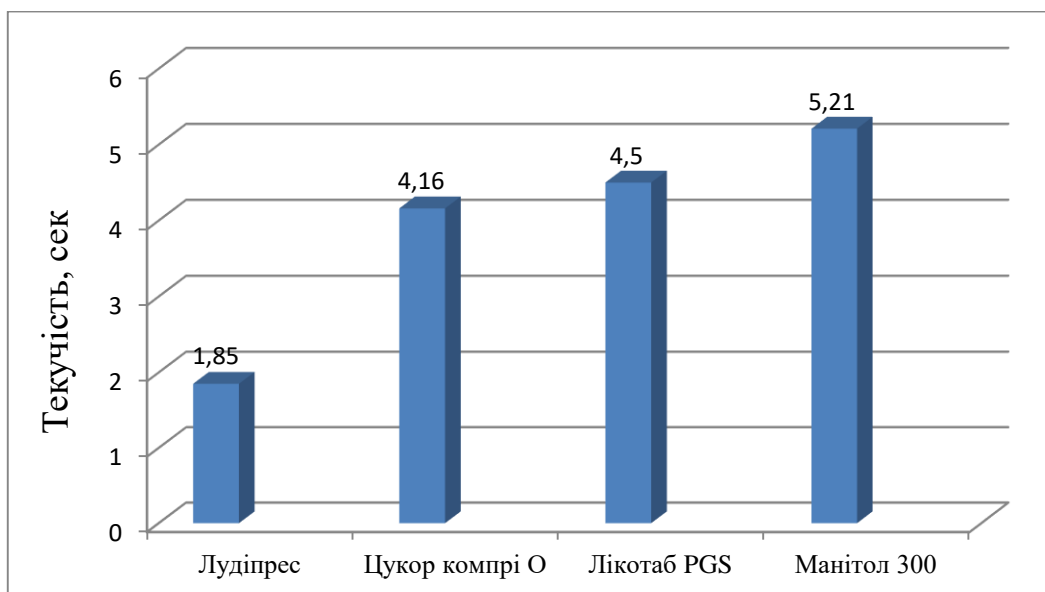


Рис. 4.11 Вплив фактору В на текучість порошків гліцину з морфолінія тiazотатом

Вплив допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на текучість порошків гліцину з морфолінія тiazотатом наведено на рис. 4.12.

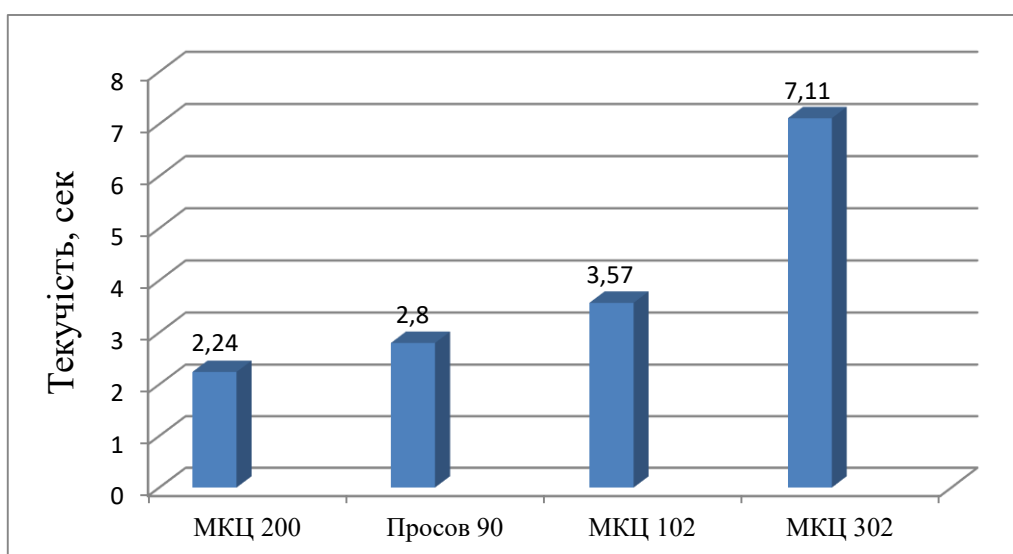


Рис. 4.12 Вплив фактору А на текучість порошків гліцину з морфолінія тiazотатом

Аналіз рис. 4.12 показав, що допоміжні речовини на основі мікрокристалічної целюлози за впливом на текучість порошкових мас гліцину з

морфолінія тіазотатом можна розмістити в наступній послідовності: МКЦ 200 >Просолв 90 >МКЦ 102 >МКЦ 302.

Вплив природи фактору С на текучість порошкових мас гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис.4.13.

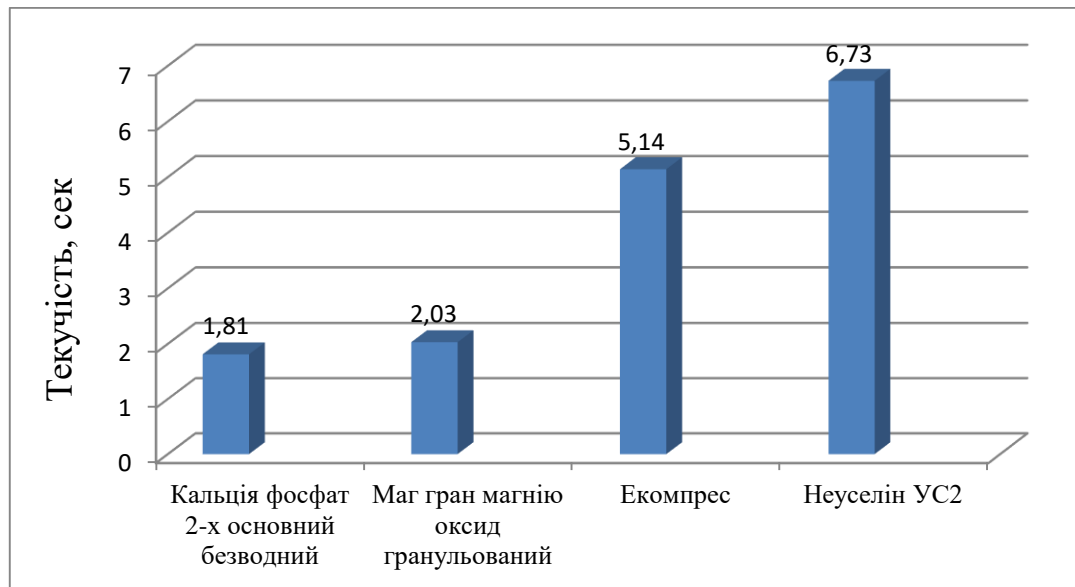


Рис. 4.13 Вплив фактору С на текучість порошків гліцину з морфолінія тіазотатом

Як видно з рис. 4.13, лідером виявився кальція фосфат 2-х основний безводний.

В подальшому розглянули вплив допоміжних речовин на кут природного укосу.

Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав, що на цей показник впливають три вивчені фактори: $A \geq C > B$.

Вплив природи допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на кут природного укосу порошкових мас гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис.4.14.

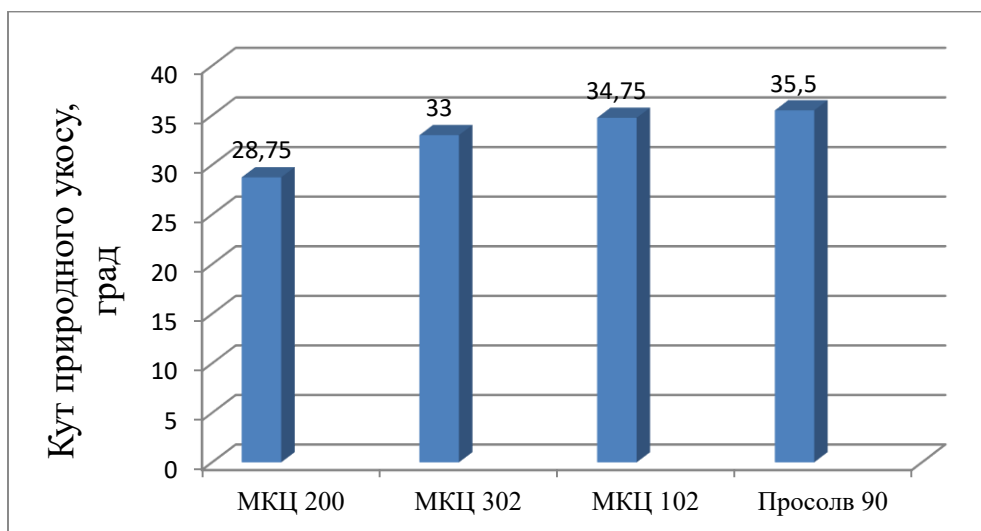


Рис. 4.14 Вплив природи допоміжні речовини на основі мікрокристалічної целюлози на кут природного укосу

Як видно з рис. 4.14 найкращий результат отримали при використанні МКЦ 200.

Вплив природи фактору С на кут природного укосу порошкових мас гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис.4.15.

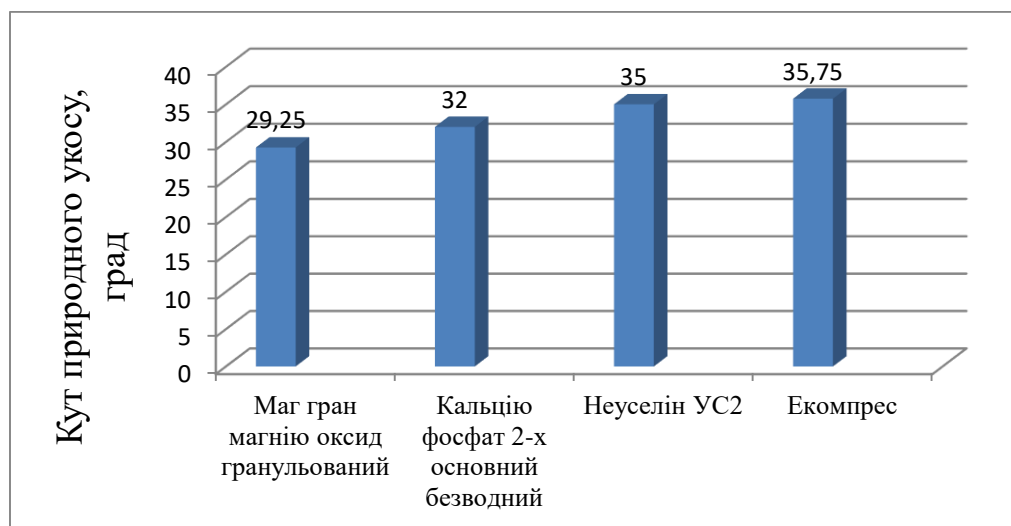


Рис. 4.15 Вплив природи фактору С на кут природного укосу

Аналіз рис. 4.15 показав, що найменше значення кута природного укосу отримали при використанні маг гран магнію оксиду гранульованого, якому дещо поступаються інші допоміжні речовини.

Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на кут природного укосу наведено на рис.4.16.

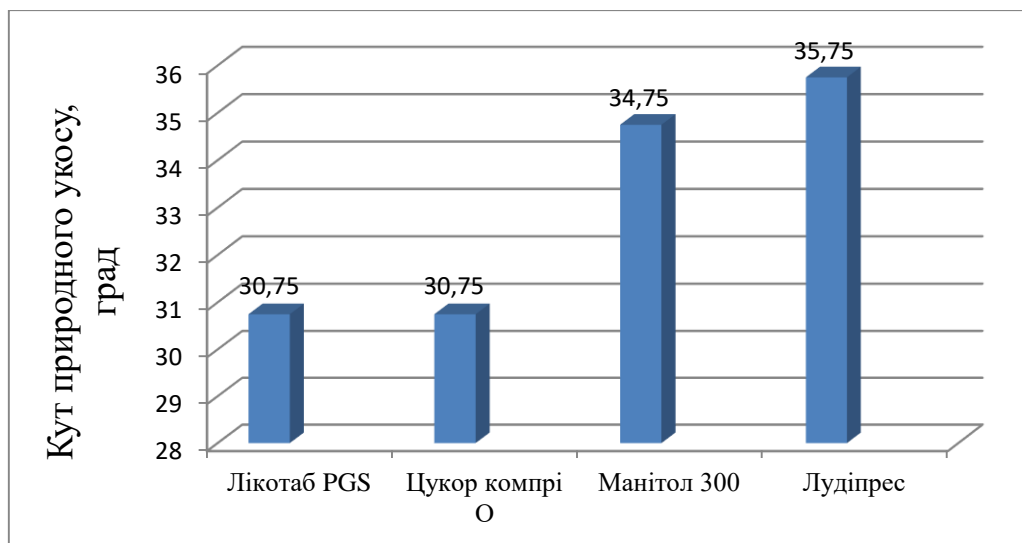


Рис. 4.16 Вплив допоміжні речовини на основі гранульованих цукрів на кут природного укосу

Як видно з рис. 4.16 найкращий результат отримали при використанні лікотаб PGS та цукру компрі О, найгірший при використанні лудіпресу.

З приготовлених порошкових мас пресували таблетки гліцину з морфолінія тіазотатом на лабораторній таблетковій машині. В подальшому вивчали вплив допоміжних речовин на процес пресування. Дисперсійний аналіз експериментальних даних з оцінки процесу пресування таблеток гліцину з тіотриазоліном показав значущість факторів А і D. Фактори В і С статистично незначущі.

Порівняння середніх значень для змазуючих речовин дозволило побудувати наступний ряд переваг: магнія стеарат (4,4 бал.) > кальція стеарат (4,4 бал.) > кислота стеаринова (4 бал.) > ПЕГ 4000 (3,2 бал.).

Вплив природи фактору D на процес пресування таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.17.

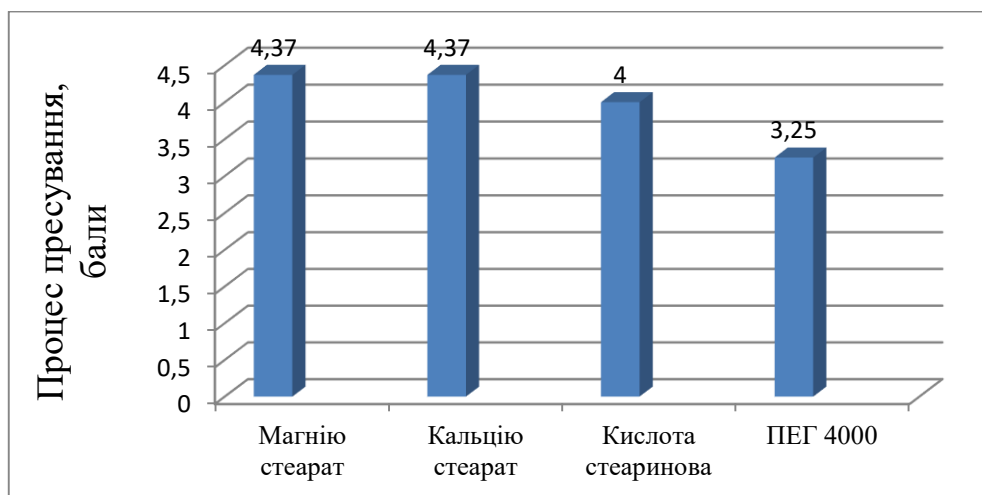


Рис. 4.17 Вплив природи змащувачих речовин на процес пресування таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом

Сила впливу ДР на основі МКЦ на процес пресування таблеток гліцину з тіотриазоліном відображається наступним чином: МКЦ 102 (4,5 бал.) > просолв 90 (4,1 бал.) > МКЦ 200 (3,7 бал.) > МКЦ 302 (3,6 бал.). Вплив природи фактору А на процес пресування наведено на рис. 4.18.

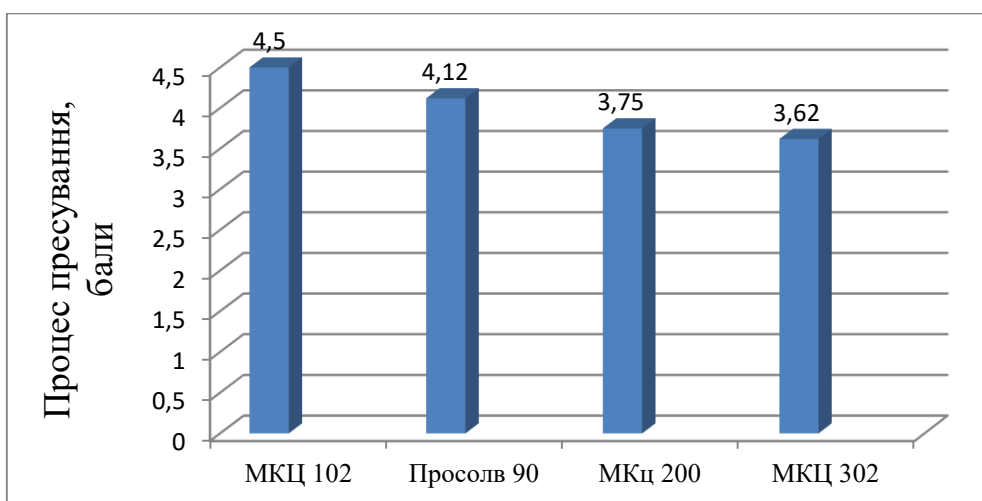


Рис. 4.18 Вплив природи допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на процес пресування таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом

Отримані таблетки експерти оцінювали за зовнішнім виглядом (наявність тріщин, плям тощо). Диперсійний аналіз експериментальних даних за вказаним

показником показав статистичну значущість факторів С і D. Досліджувані зразки МКЦ та гранульованих цукрів не вплинули значущо на зовнішній вигляд таблеток.

Порівняння середніх значень вивчених змащуючих речовин дозволило побудувати наступний ранжований ряд переваг: магнію стеарат (4,6 бал.) > кальцію стеарат (4,5 бал.) > кислота стеаринова (4,0 бал.) > ПЕГ 4000 (3,0 бал.)

Вплив природи змащуючих речовин на зовнішній вигляд таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом показано на рис.4.19.

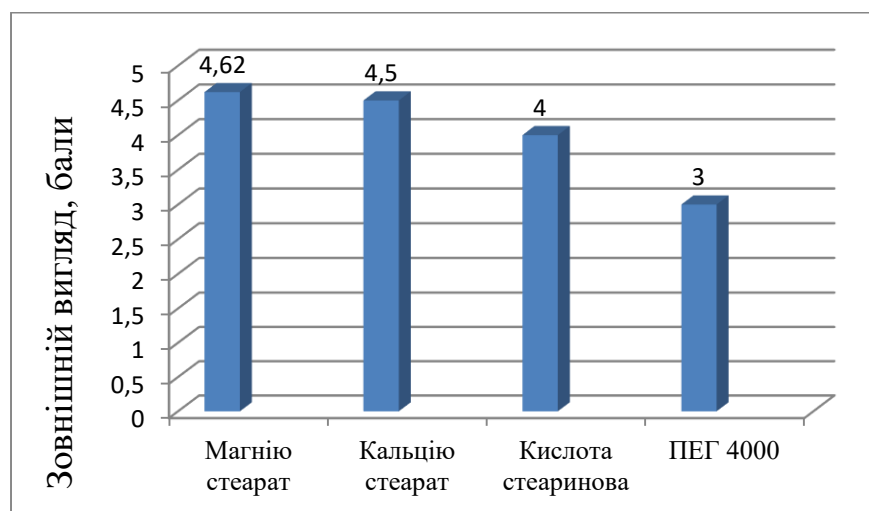


Рис. 4.19 Вплив природи змащуючих речовин на зовнішній вигляд таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом

Вивчені ДР гранульованих неорганічних солей за впливом на зовнішній вигляд таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом дають наступний ряд: Неусілін УС 2 (4,2 бал.) = Екомпрес (4,2 бал.) > кальцій фосфат 2-х основний безводний (4,1бал.) > магній оксид гранульований (3,5 бал.).

Вплив природи допоміжних речовин на основі гранульованих неорганічних солей на зовнішній вигляд таблеток наведено на рис.4.20.

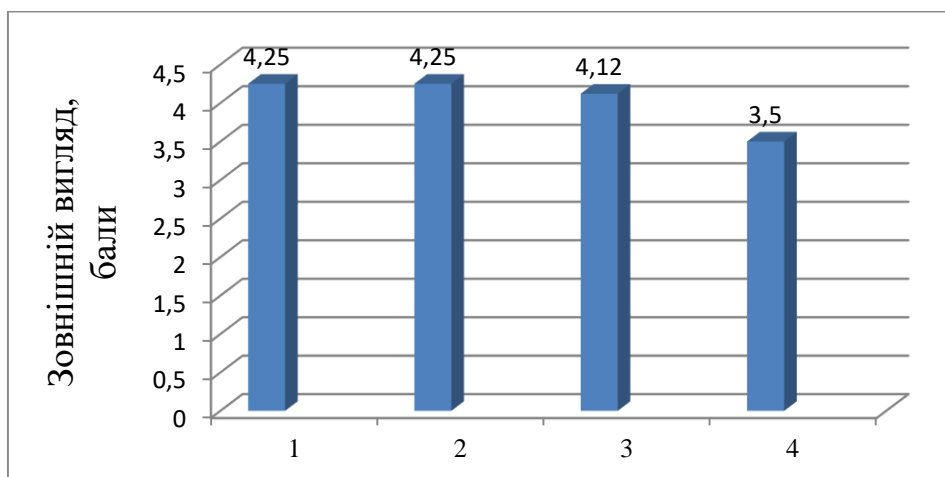


Рис. 4.21 Вплив природи допоміжних речовин на основі гранульованих неорганічних солей на зовнішній вигляд таблеток гліцину з морфолінія тiazотатом (1- неуселін УС2; 2-екомпрес; 3 -кальція фосфат 2-х основний безводний; 4-маг гран магнію оксид гранульований)

Далі вивчали вплив допоміжних речовин на однорідність таблеток гліцину з морфолінія тiazотатом. На цей показник впливають всі вивчені фактори: $A > C > D > B$.

Вплив природи допоміжних речовини на основі мікрокристалічної целюлози на однорідність отриманих таблеток наведено на рис. 4.22.

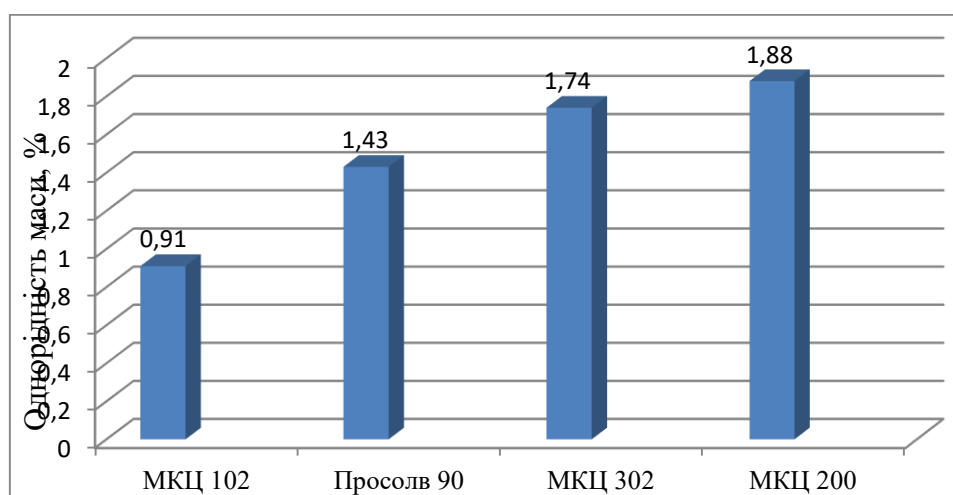


Рис.4.22 Вплив природи допоміжні речовини на основі мікрокристалічної целюлози на однорідність таблеток гліцину з морфолінія тiazотатом

Як видно з рис. 4.22 найменше відхилення в середній масі таблеток отримали при використанні МКЦ $102 \pm 0,91\%$, найгірший результат отримали при використанні МКЦ 200 ($\pm 1,88\%$).

Вплив природи фактору С на однорідність таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом наведено на рис. 4.23.

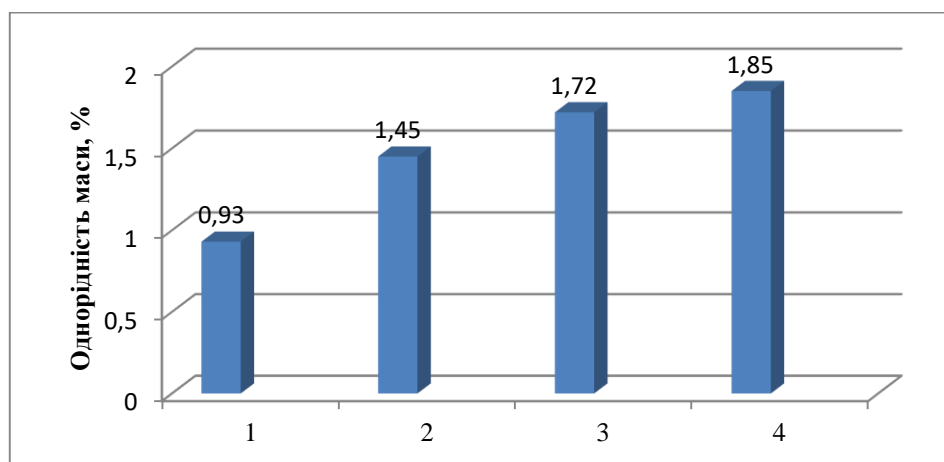


Рис. 4.23 Вплив природи фактору С на однорідність таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом (1- екомпрес; 2- маг гран магнію оксид гранульований; 3- кальція фосфат 2-х основний безводний; 4-неуселін УС2)

З рис. 4.23 видно, що найкращим виявився екомпрес ($\pm 0,93\%$).

Вплив природи змащувальних речовин на однорідність таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом наведено на рис.4.24.

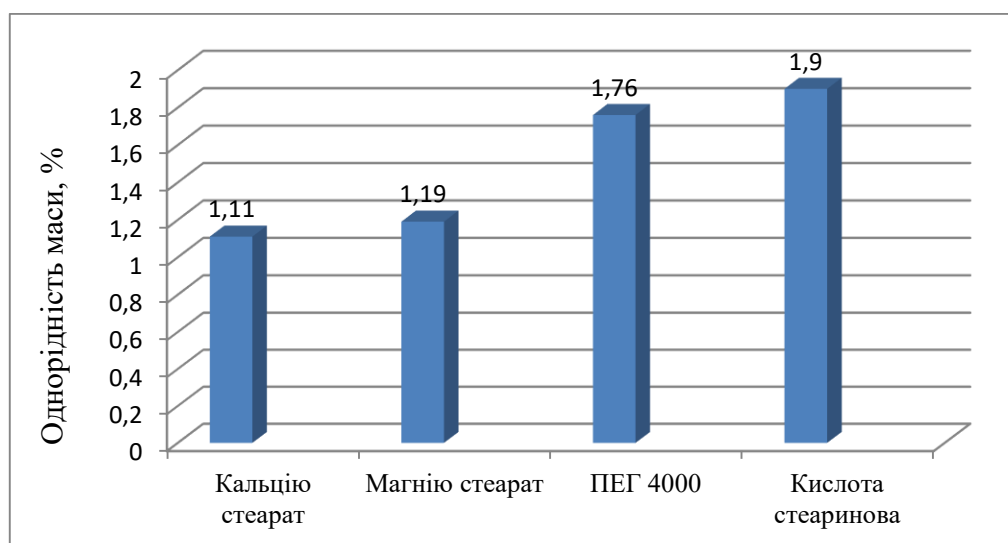


Рис.4.24 Вплив природи змащувальних речовин на однорідність таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом

Ранжований ряд переваг змащувальних речовин має наступний вигляд: кальцію стеарат > магнію стеарат > ПЕГ 4000 > кислота стеаринова.

Вплив природи допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на однорідність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.25.

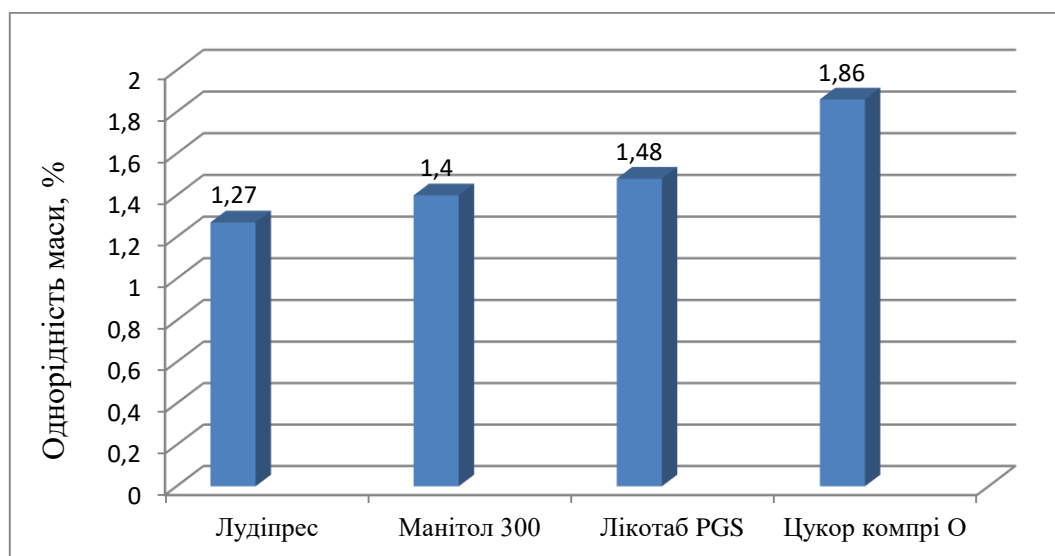


Рис.4.25 Вплив природи допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на однорідність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом

Вплив дії допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на однорідність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом демонструє наступний ряд переваг: лудіпрес > манітол 300 > лікотаб PGS > цукор компрі О.

Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав, що за впливом вивчених факторів на стійкість до роздавлювання таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом можна розмістити в наступній послідовності:

$$D > C > A > B > res.$$

Змащувальні речовини за впливом на стійкість таблеток до роздавлювання можна розмістити в наступній послідовності: ПЕГ 4000 > магнію стеарат > кальцію стеарат > кислота стеаринова.

Вплив природи змащувальних речовин на стійкість таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом до роздавлювання зображено на рис. 4.26.

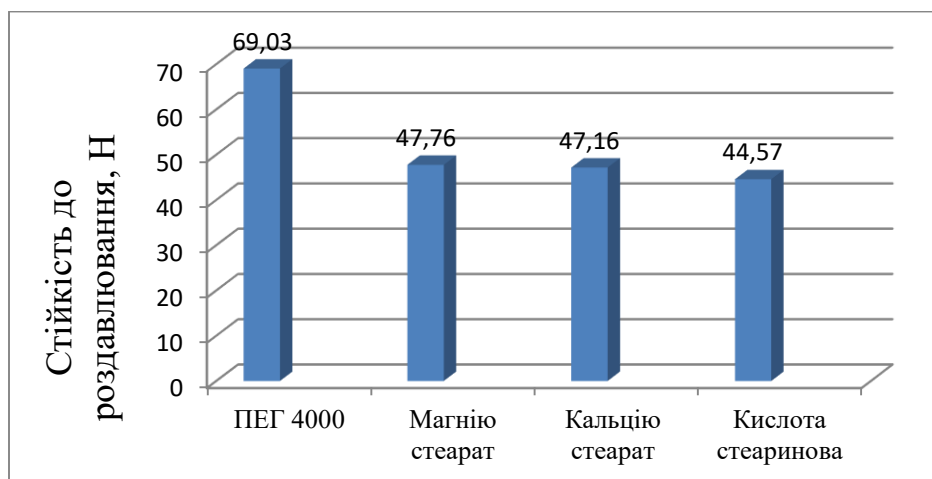


Рис. 4.26 Вплив природи змащувачих речовин на стійкість до роздавлювання таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом

Як видно з рис.4.26 найбільшу стійкість до роздавлювання отримували при використанні ПЕГ 4000.

Вплив фактору С на стійкість таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом до роздавлювання представлено на рис. 4.27.

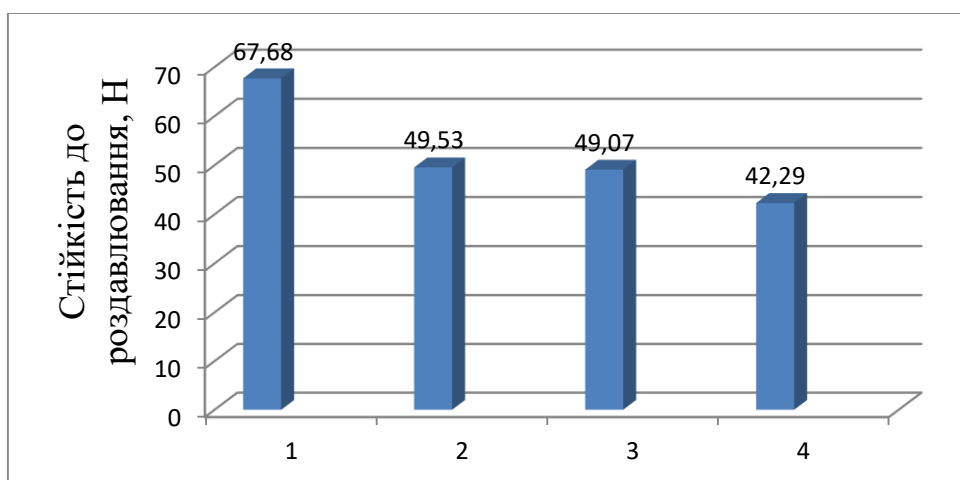


Рис. 4.27 Вплив Фактору С на стійкість таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом до роздавлювання (1- неуселін УС2; 2- маг гран магнію оксид гранульований; 3 -кальція фосфат 2-х основний безводний; 4-екмпрес)

Як видно з рис. 4.27 вивчені допоміжні речовини за впливом на стійкість таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом до роздавлювання можна розмістити в наступній послідовності: $c_4 > c_2 \geq c_1 > c_3$. З рисунку видно, що найкращим

виявився неуселін УС2 (67,68Н), маг гран магнію оксид гранульований (49,53 Н) та кальцію фосфат 2-х основний безводний (49,07 Н) практично не відрізняються за впливом на стійкість таблеток до роздавлювання.

За впливом на стійкість таблеток до роздавлювання допоміжні речовини на основі мікрокристалічної целюлози можна розмістити в наступній послідовності МКЦ 102 > Просолв 90 > МКЦ 302 > МКЦ 200. Вплив допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на стійкість таблеток гліцину з морфолінія тiazотатом представлено на рис. 4.28.

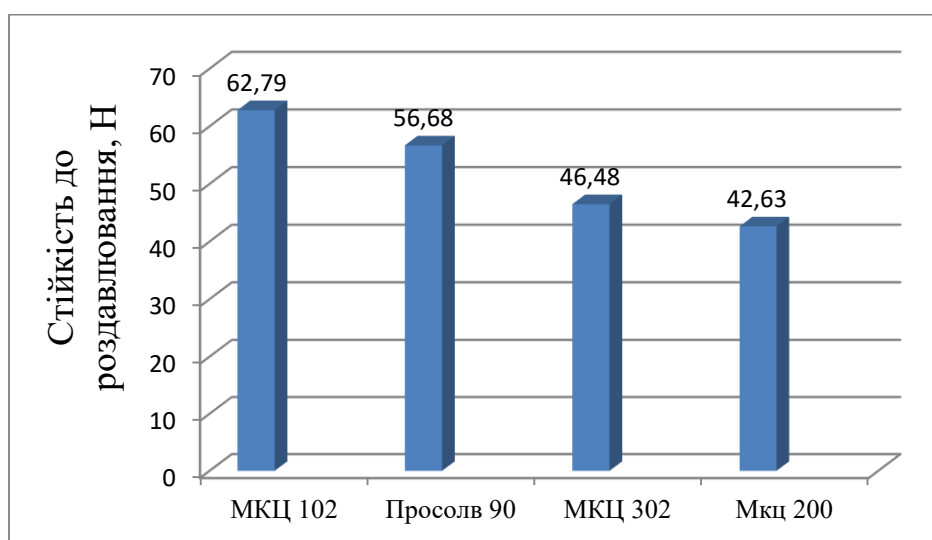


Рис. 4.28 Вплив допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на стійкість таблеток гліцину з морфолінія тiazотатом до роздавлювання

Як видно з рисунку МКЦ 102 (62,79 Н) має перевагу серед інших допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози.

Далі розглянули вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на стійкість таблеток гліцину з морфолінія тiazотатом до роздавлювання. Вплив фактору В наведено на рис. 4.28.

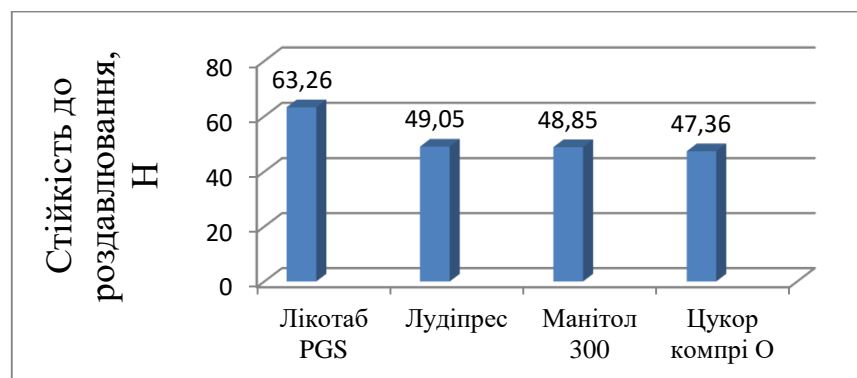


Рис. 4.28 Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на стійкість таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом до роздавлювання

Аналіз рис. 4.28 показав, що серед допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів за впливом на стійкість таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом до роздавлювання значну перевагу над іншими має лікотаб PGS (63,26 Н). Найгірший результат отримали при використанні цукру компрі О (47,36 Н).

Далі вивчали вплив допоміжних речовин на стираність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом. На цей показник впливають всі вивчені фактори: $B > A > C > D$.

Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на стираність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.29.

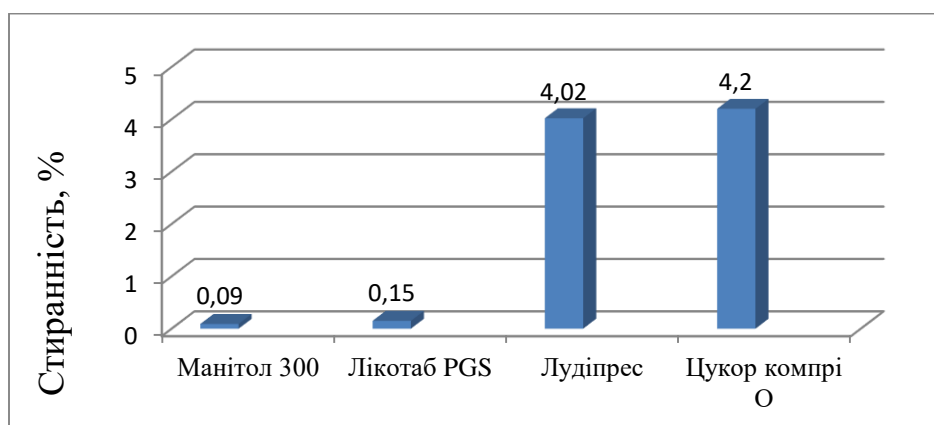


Рис. 4.29 Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на стираність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом

Аналіз рис. 4.29 показав, що найменше значення стираності таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом отримували при використанні манітолу 300 (0,09%), який має незначну перевагу над лікотабом PGS (0,15%) та суттєву над лудіпресом (4,02 %) та цукром компрі О (4,2%).

Вплив допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на стираність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.30.

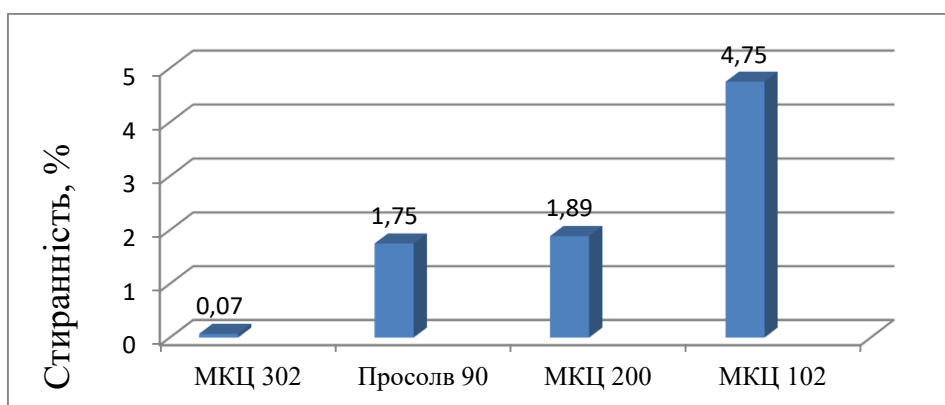


Рис. 4.30 Вплив допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози на стираність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом

Як видно з рис. 4.30 серед допоміжних речовин на основі мікрокристалічної целюлози спостерігається наступний ряд переваг: МКЦ 302 > Просолв 90 > МКЦ 200 > МКЦ 102.

Вплив фактору С на стираність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.31.

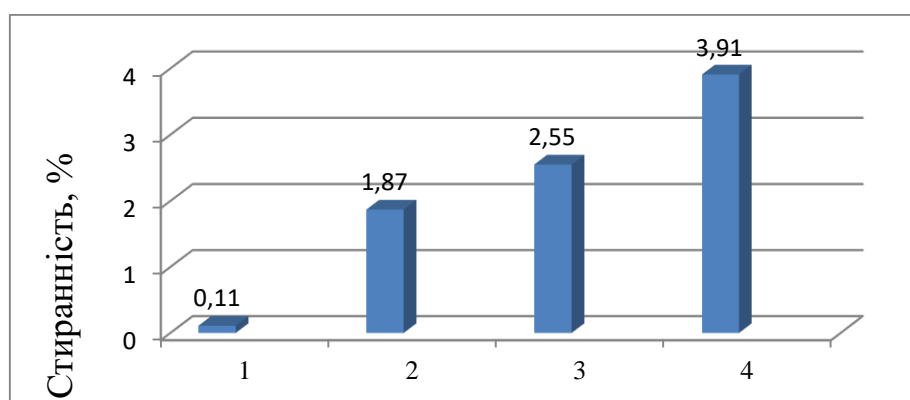


Рис. 4.31 Вплив фактору С на стираність таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом (1- кальція фосфат 2-х основний безводний; 2 -маг гран магнію оксид гранульований; 3-неуселін УС2; 4-екомпрес)

Серед зразків допоміжних речовин на основі гранульованих неорганічних солей за показником стираності найкращий результат отримали при використанні кальцію фосфату 2-х основного безводного (0,11%), який має суттєву перевагу над іншими вивченими речовинами.

Вплив змащуючих речовин на стираність таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом наведено на рис. 4.32.

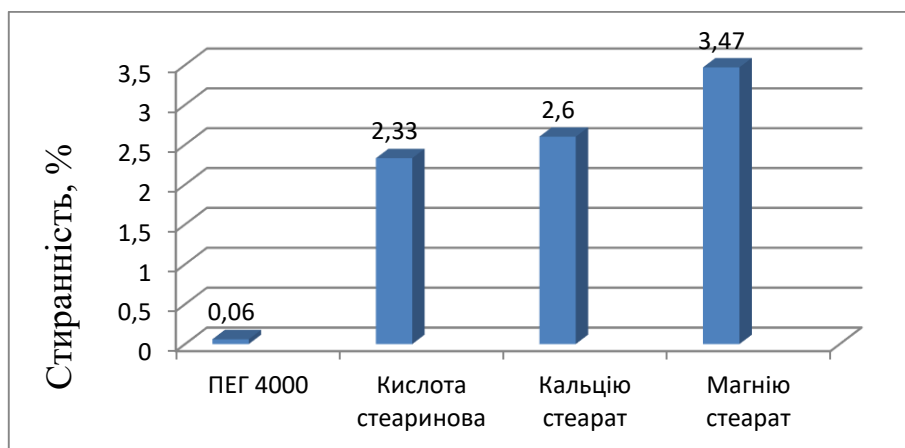


Рис. 4.32 Вплив змащуючих речовин на стираність таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом

Як видно з рис. 4.32 серед змащуючих речовин значну перевагу над іншими має ПЕГ 4000 (0,06%).

Дисперсійний аналіз експериментальних показників часу розпадання таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом показав статистичну значущість трьох факторів: $C > D > B$.

Найкращий час розпадання таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом отримали при використанні кальцію фосфату 2-х основного безводного (2,15 хв). При використанні кислоти стеаринової час розпадання таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом склав 2,79 хв, цукру компрі О - 3,09 хв.

Вплив фактору С на час розпадання таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом наведено на рис. 4.33.

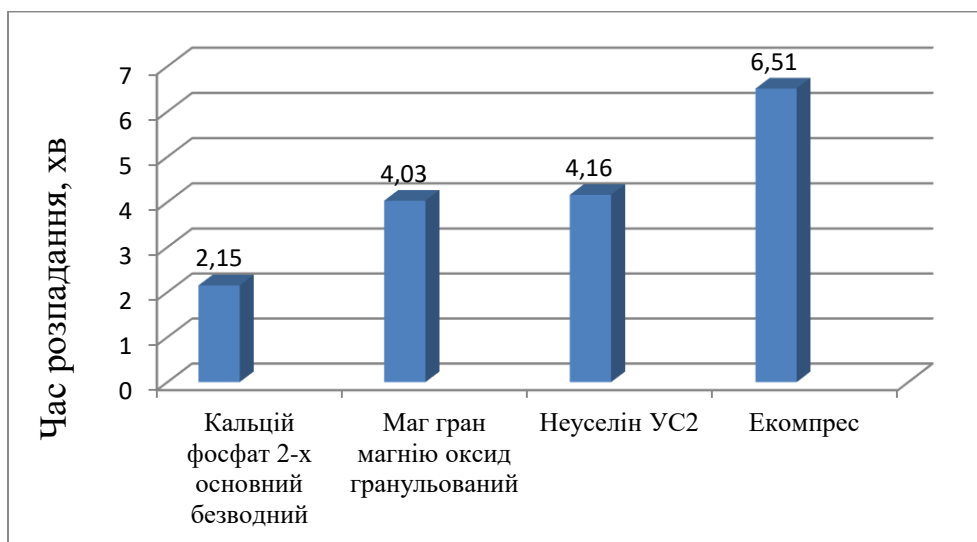


Рис. 4.33 Вплив фактору С на час розпадання таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом

Допоміжні речовини фактору С за впливом на час розпадання таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом можна розмістити в наступній послідовності: кальцію фосфат 2-х основний безводний > маг гран магнію оксид гранульований > неуселін УС2 > екомпрес.

Вплив змащуючих речовин на час розпадання таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.34.

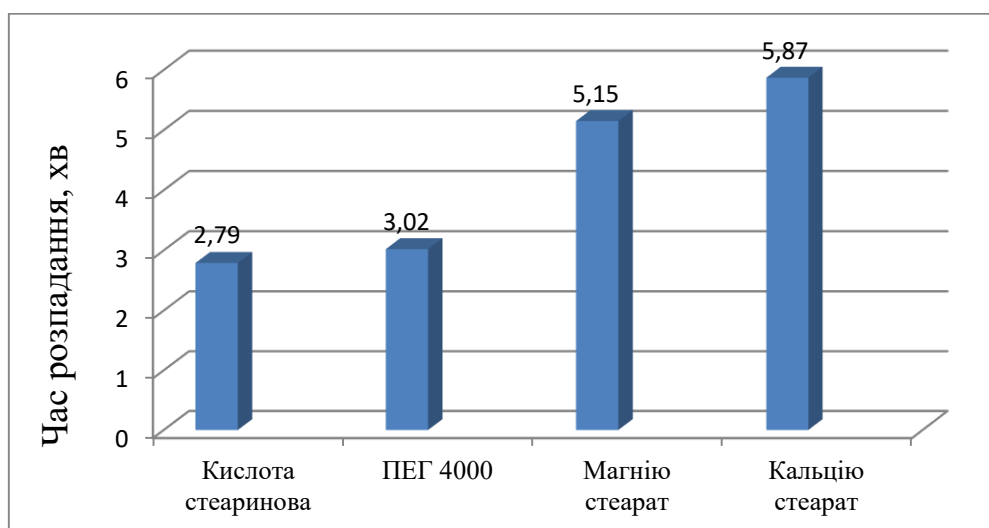


Рис. 4.34 Вплив змащуючих речовин на час розпадання таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом

Як видно з рис. 4.34 найкращий час розпадання таблеток отримали при використанні кислоти стеаринової.

Вплив ДР на основі гранульованих цукрів на час розпадання таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом наведено на рис. 4.35.

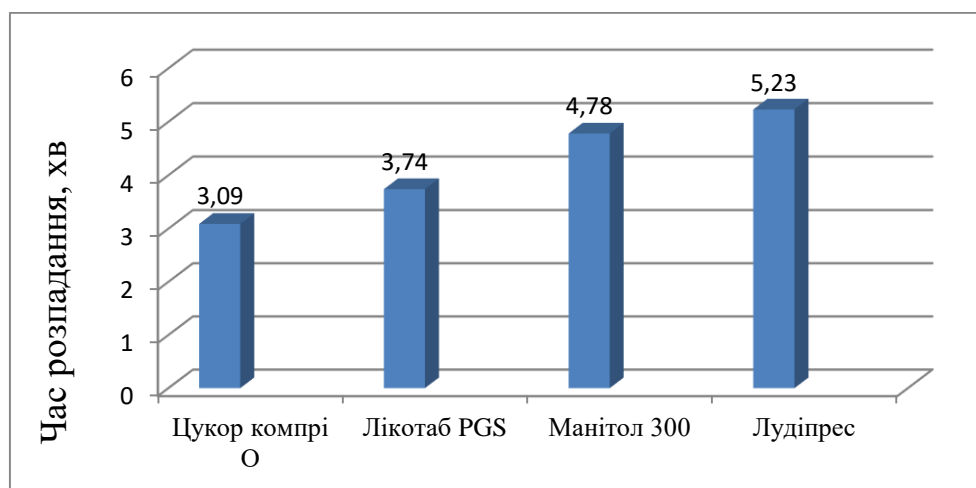


Рис. 4.35 Вплив допоміжних речовин на основі гранульованих цукрів на час розпадання таблеток гліцину з морфолінія тіазотатом

Аналіз рис. 4.35 показав, що швидше розпадаються досліджувані таблетки при використанні цукру компрі О, який має незначну перевагу над лікотабом PGS та значну над манітолом 300 та лудіпресом.

Отримані таблетки гліцину з морфолінія тіазотатом досліджувалися на органоліптичні характеристики, так як вони призначені для використання в ротовій порожнині. Експерти оцінювали солодкість, гіркість таблеток за 5-ти бальною шкалою. Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав статистичну незначущість всіх 4-х вивчених факторів. Це означає, що при використанні будь-якої із вивчених ДР отримуємо близькі за значенням результати щодо органоліптичних властивостей отриманих таблеток.

Проведені дослідження показали, що в багатьох серіях дослідів отримували порошкові маси з необхідною для прямого пресування насипною масою, текучістю та кутом природнього відкосу. Отримані таблетки гліцину з тіотриазоїном в багатьох серіях дослідів відповідали вимогам ДФУ щодо фармако-технологічних показників. Для вибору кращих ДР, які би

забезпечували всі досліджувані показники використовували узагальнений показник – функцію бажаності. Для цього первинні результати за 7-ма показниками ($y_5 \dots y_{11}$) за допомогою рисунка переводили в безрозмірні величини. Значення функції бажаності наведено в табл. 4.4 (графік **D і D'**).

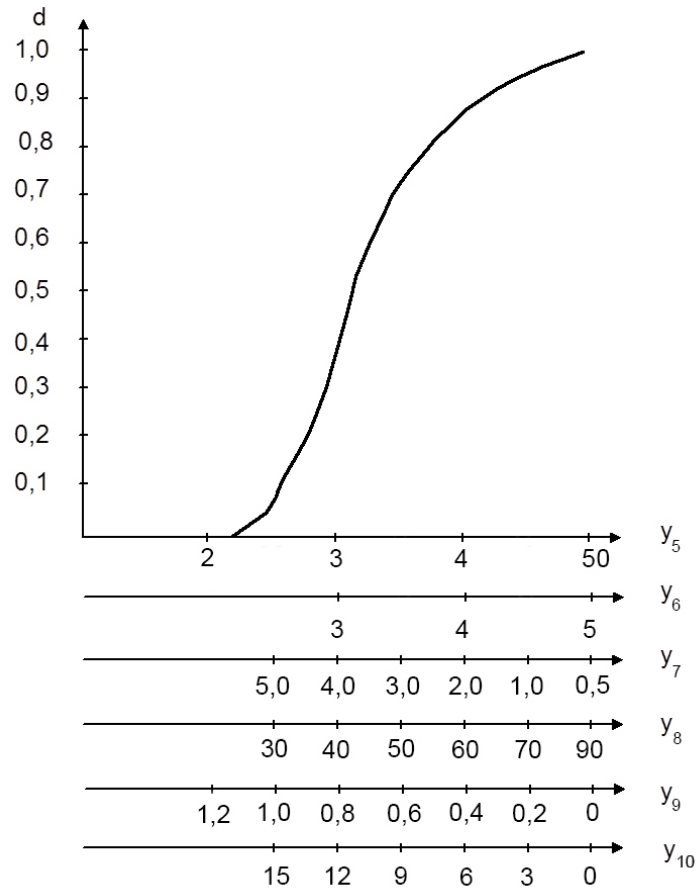


Рис. 4.36 Функція бажаності для переведення первинних результатів експерименту в безрозмірні величини

Результати дисперсійного аналізу показали, що вплив вивчених факторів на функцію бажаності можна розмістити в наступній послідовності: $B > C > res > D > A$.

Вплив природи цукрів на функцію бажаності показано на рис. 4.37.

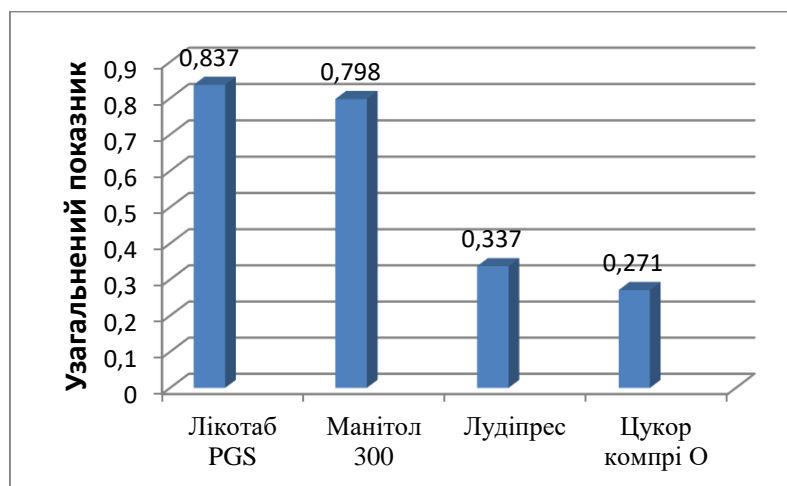


Рис. 4.37 Вплив природи цукрів на узагальнений показник

Як видно з рисунку, лікотаб PGS та манітол 300 майже в однаковій мірі впливають на узагальнений показник і мають суттєву перевагу над лудіпресом та цукром компрі О. Для подальших досліджень відібрали манітол 300, який при рівних з лікотаб PGS показниками, має кращі органолептичні властивості (серія 1 і 9).

Вплив гранульованих ДР на основі неорганічних солей на функцію бажаності зображено на рис. 4.38.

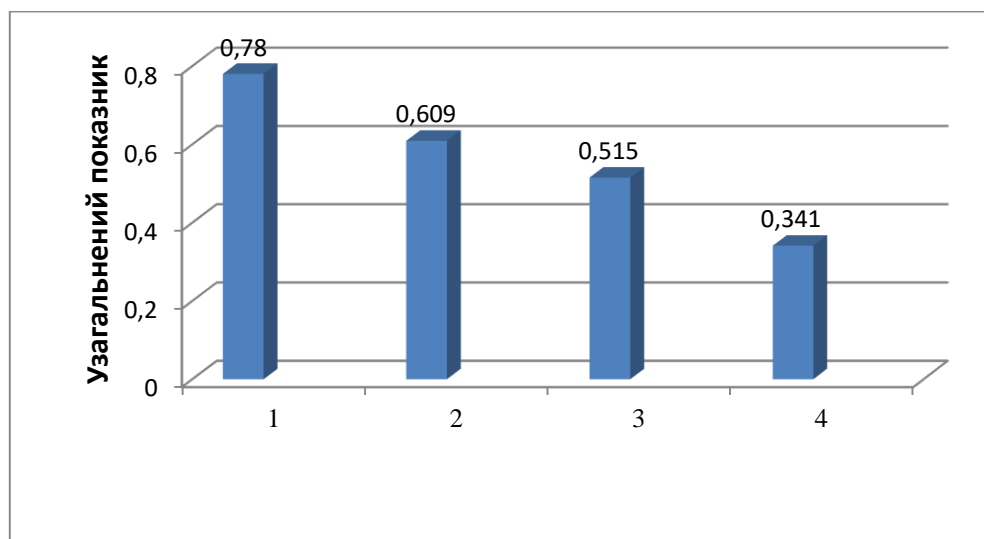


Рис. 4.38 Вплив гранульованих ДР на основі неорганічних солей на узагальнений показник (1- кальція фосфат 2-х основний безводний; 2 -неуселін УС2; 3 -маг гран магнію оксид гранульований ; 4-екомпрес)

Як видно з рисунку, найбільший позитивний вплив на узагальнений показник має кальцій фосфат 2-х основний безводний, який має переваги над неусіліном УС 2, магнія оксидом гранульованим та екомпресом. Для подальших досліджень відібрані кальція фосфат 2-х основний та неусілін УС 2, який має найкращі показники щодо стійкості таблеток до роздавлювання, що є важливим при прямому пресуванні.

Вплив змазуючих речовин на узагальнений показник показано на рис. 4.39.

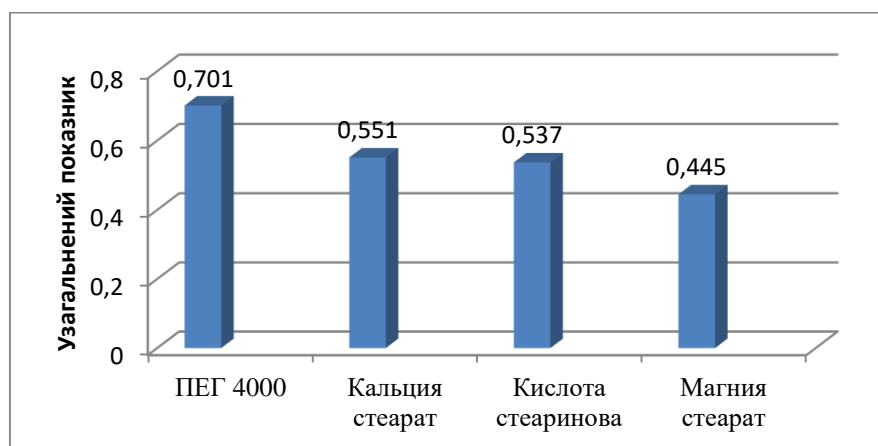


Рис. 4.39 Вплив змазуючих речовин на узагальнений показник

Отриманий ряд переваг за впливом змазуючих речовин за впливом на узагальнений показник має наступний вигляд: ПЕГ4000 > кальція стеарат > кислота стеаринова > магнія стеарат. Для оцінки змазуючих речовин були проведені додаткові дослідження. ПЕГ 4000 дає можливість отримати таблетки з високою стійкістю до роздавлювання, низькою стиранистю та невеликим часом розпаданя. Однак, процес пресування таблеток гліцину з морфолініа тіазотатом та їх зовнішній вигляд експерти оцінили невисокою оцінкою (менше 4 балів). Додаткові дослідження теж підтвердили, що процес пресування та зовнішній вигляд отриманих таблеток, що містять ПЕГ, гірший ніж при використанні кальцію стеарату, тому для подальших досліджень відібрана вказана ДР.

Вплив ДР на основі зразків МКЦ на узагальнений показник показано на рис. 4.40.

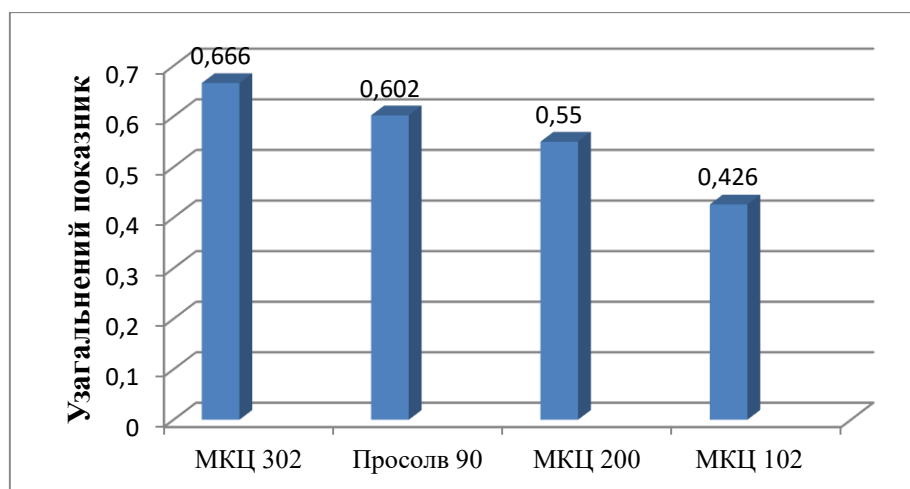


Рис. 4.40 Вплив ДР на основі зразків мікрокристалічної целюлози на узагальнений показник

Як видно з рисунку, найбільш позитивний вплив на узагальнений показник проявляє МКЦ 302 (0,66), яка має переваги над просолвом 90 (0,60), МКЦ 200 (0,55) та МКЦ 102 (0,42). Для подальших досліджень зі створення таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом відібрана МКЦ 302.

Дисперсійний аналіз результатів дослідження, отриманих за допомогою функції бажаності, дозволив на основі порівняння отриманих середніх значень рівнів вивчених факторів вибрати кращі ДР: із зразків ДР на основі мікрокристалічної целюлози – МКЦ 302, із зразків ДР на основі цукрів – манітол 300, із зразків ДР на основі гранульованих неорганічних солей – неуселін УС 2, серед зразків змащуючих речовин – кальцію стеарат [24, 26, 83].

Склад таблетки:

Гліцин	0,200 г
Морфолінію тіазотат	0,050 г
МКЦ 302	0,0660
Манітол 300	0,0200
Неуселін УС2	0,0204
Кальцію стеарат	0,0036
	0,3600

В ході проведених досліджень розроблена технологічна схема виробництва таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом (рис.4.41), яку апробовано на базі ПрАТ "Лекхім-Харків" (Додаток Н).

Технологічний процес отримання таблеток гліцину з морфолінію тіазотату складається із таких стадій.

Стадія 1. Підготовка виробництва. Контролюються мікробіологічна чистота повітря, приміщень, обладнання, персоналу, вміст механічних часток у повітрі.

Стадія 2. Підготовка сировини. Відважують компоненти: гліцин, морфолінію тіазотат, МКЦ 302, манітол 300, неуселін УС2, кальцію стеарат на вагах (КП 1) у тарований маркований збірник (З 2). Далі компоненти маси для таблетування просіюють крізь сито ГФ 3 з діаметром отворів 1 мм у таровані збірники (З 5, З 6). Контролюються кількість зважених компонентів, якість просіву, розмір пор сита. Отриману масу передають до збірника (З11).

Стадія 3. Отримання маси для таблетування. Зважені компоненти: гліцин, морфолінію тіазотат, МКЦ 302, манітол 300, неуселін УС2, кальцію стеарат подають у змішувач (ГФ 16). Контролюють кількість завантажених компонентів, час змушування, зовнішній вигляд. Масу вивантажують у збірник (З 17).

Стадія 4. Таблетування. Масу для таблетування зі збірника (З 17) завантажують у бункер ротаційної таблеткової машини (ГФ 18). Таблетують на прес-інструменті з діаметром отвору матриці 10 мм. Регулювання заповнення матриць проводиться за допомогою регулятора наповнення. Таблетки знепилюють на знепилювачі (ГФ19). Вибірково кожні 20 хв перевіряють масу таблеток за допомогою електронних терезів (КП 21). У процесі таблетування відбирають пробу для проведення хімічного аналізу. Приймач із таблетками (З 22) після отримання позитивних результатів аналізу з паспортом ВКЯ, транспортують на стадію пакування.

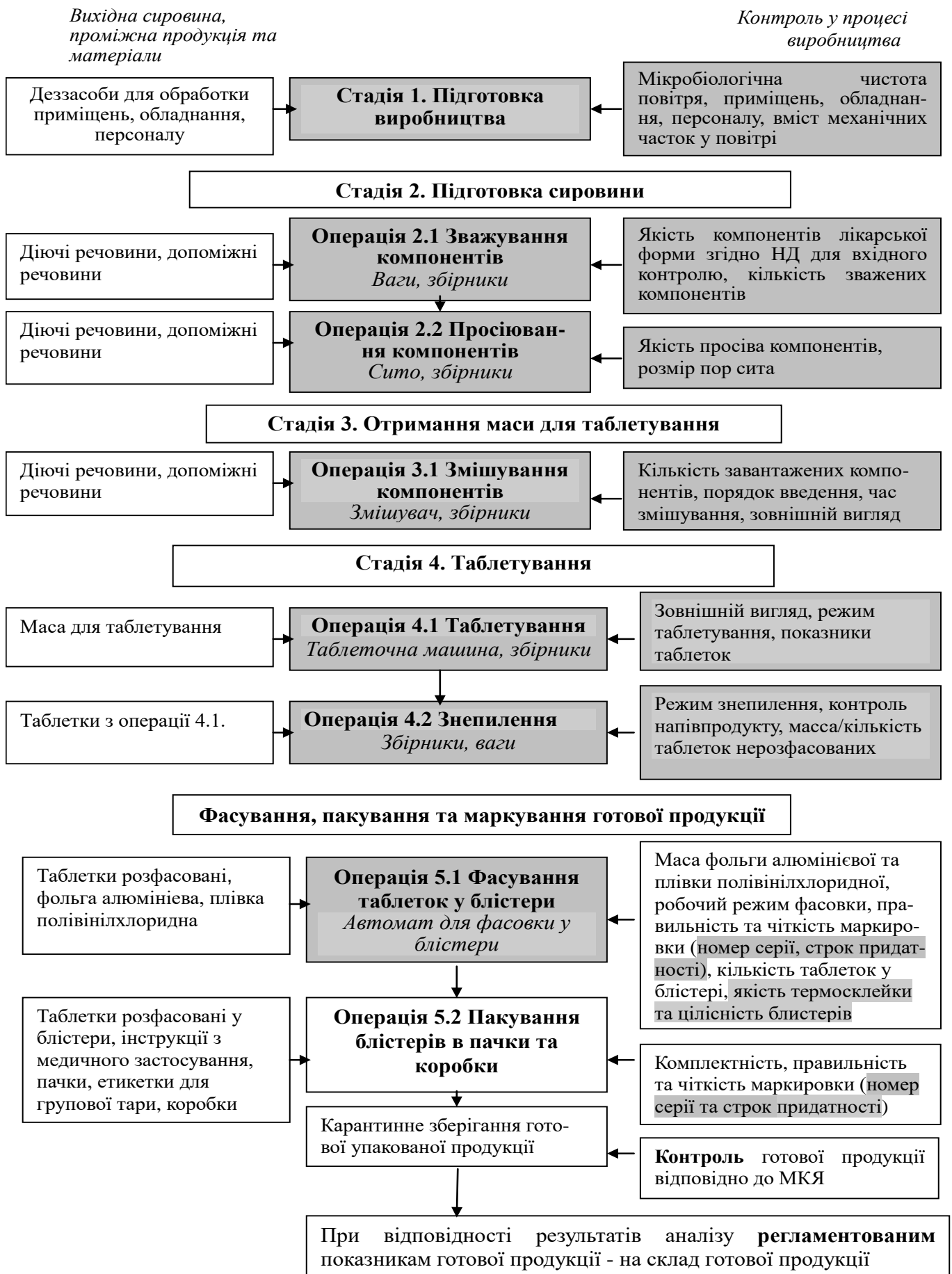


Рис. 4.41 Технологічна схема виробництва таблеток гліцину з морфолінія

тіазотатом

Стадія 5. Фасування, пакування та маркування готової продукції. Таблетки гліцину з морфолінію тіазотатом фасують по 10 штук у блістери, які разом з листком-вкладкою вкладають у картонні пачки. На цій стадії проводять контроль препарату за основними показниками якості, перевіряють герметичність, правильність маркування, друку.

4.4 Розробка методик стандартизації отриманих таблеток

На теперішній час, для визначення органічних діючих речовин, як в моно так і в комбінованих лікарських формах все частіше використовується метод ВЕРХ [5, 6, 102, 104, 172, 173]. Цей метод дозволяє одночасно проводити, як ідентифікацію так і кількісне визначення діючих речовин в лікарських засобах. Тому, для визначення діючих речовин у новому комбінованому лікарському засобі на основі гліцину з морфолінію тіазотату був запропонований саме цей метод.

4.4.1 Підбір оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з морфолінію тіазотатом методом ВЕРХ

Для створених комбінованих таблеток необхідно розробити методи їх стандартизації [3, 22, 23]. На сьогодні найчастіше для стандартизації готових лікарських форм, як аптечного, так і заводського виготовлення, все частіше використовують фізико-хімічні методи дослідження [35, 41]. Проаналізувавши дані наукової літератури щодо стандартизації діючих речовин, які входять до складу готових лікарських форм, було встановлено, що частіше за все для стандартизації основних діючих речовин використовують метод ВЕРХ. І саме цей метод, який дозволяє одночасно провести стандартизацію діючих речовин в одній наважці, привернув увагу [117, 131, 132, 155]. Для розробки методики ВЕРХ, по-перше, необхідно підібрати оптимальні умови проведення аналізу діючих речовин.

Аналіз даних наукової літератури показав, що визначення аліфатичних амінокислот методом ВЕРХ проводять після їх попередньої дериватизації різними модифікуючими агентами, в зв'язку з їх низьким поглинанням. При виборі методу аналізу гліцину з морфолінія тіазотатом зупинились на детектуванні при довжині хвилі 210 нм без попередньої модифікації амінокислоти.

Дослідження проводили з використанням модульної системи ВЕРХ BISCHOFF (BISCHOFF Analysentchnik GmbH, Германія) зі спектрофотометричним детектором Lambda 1010. В роботі використовували колонки: Prontosil 120-5-CN, Hypersil ODS-C18-5u. Швидкість рухомої фази: 1 мл/хв. Довжина хвилі детектору: 220 нм. Як елюенти використовували: воду; 0.05% водний розчин трифтороцтової кислоти; Cu_4NHSO_4 3.4 г/л у воді; Cu_4NHSO_4 3.4 г/л, 0,02М Na_2HPO_4 у воді; Cu_4NHSO_4 3.4 г/л, 0.05% розчин трифтороцтової кислоти у воді.

Досліджували концентрації діючих речовин в межах від 0.04 мг/мл до 0.4 мг/мл.

По-перше, аналізували розчини на оберненій фазі, але аліфатичні амінокислоти за таких умов виходять на «мертвому об'ємі» (рис. 4.42).

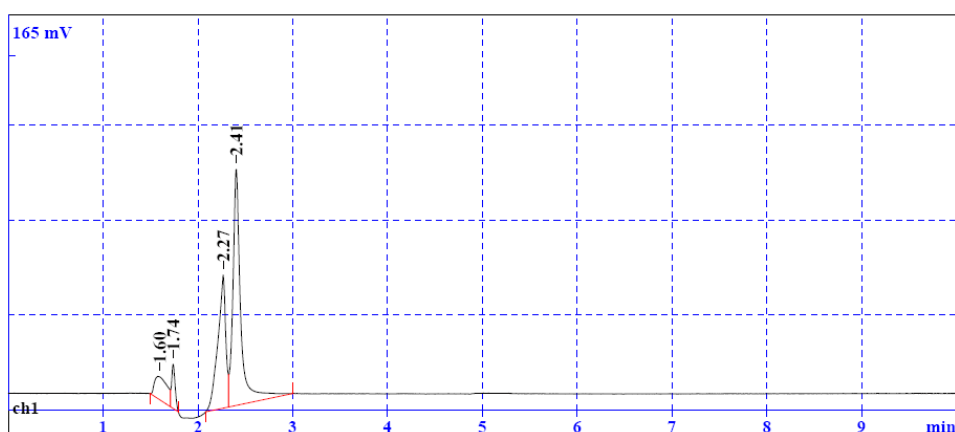


Рис. 4.42 Хроматограма гліцину з морфолінія тіазотатом. Елюент – вода. Фаза – С18

Далі використовували ціановану фазу, але це не дозволило суттєво вплинути на утримання амінокислоти (отримали задовільні форму піка та час виходу морфолінія тіазотату та подвійні піки гліцину) (рис. 4.43).

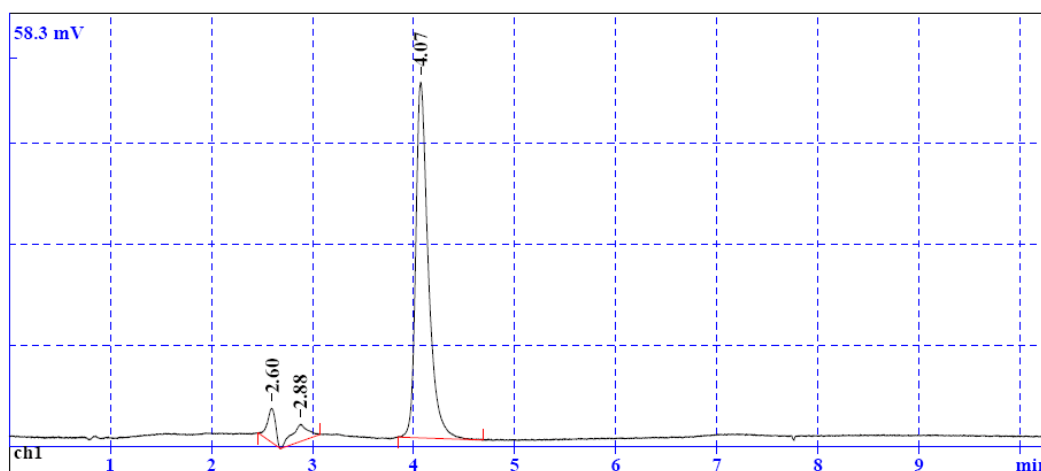


Рис. 4.43 Хроматограма гліцину з морфолінія тіазотатом. Елюент – 0,05% водний розчин трифтороцтової кислоти. Фаза – CN

Час утримування гліцину збільшився при використанні елюенту з тетрабутиламонієм в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі. Результати, які були найбільш достовірними, отримали при використанні одночасно з іон парним реагентом кислого буферу. Тому для визначення гліцину з морфолінія тіазотатом в модельній суміші було запропоновано використовувати іон парне хроматографування з використанням кислого буферу - 0,05% розчину трифтороцтової кислоти.

За цих умов час утримування гліцину близько 2,38 хв, час утримування морфолінія тіазотату близько 5,25 хв.

В подальшому для проведення аналізу були приготовані:

1. Стандартні розчини гліцину та морфолінія тіазотату:

- розчин 1. 0.01г (точна наважка) гліцину розчиняють у 5 мл елюента в мірній колбі на 25.0 мл та доводять елюентом до мітки. Отримують розчин з концентрацією 0.4 мг/мл (рис. 4.44);

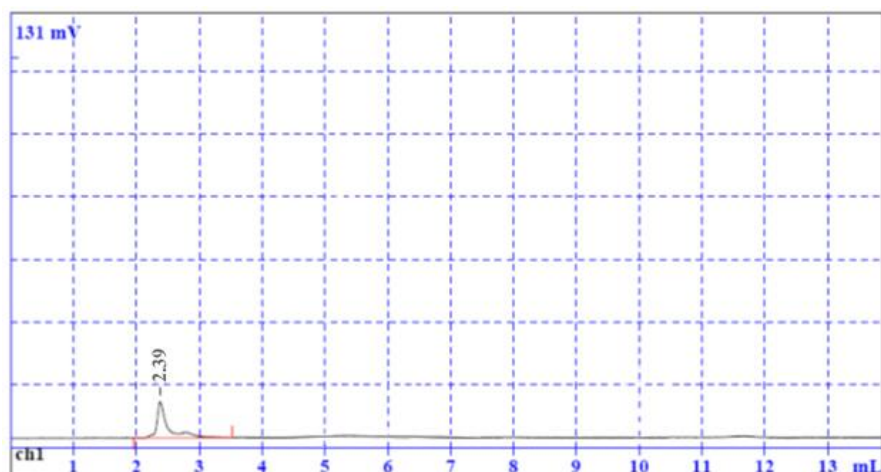


Рис. 4.44 Хроматограмма розчину гліцину. Елюент – Bu_4NHSO_4 3.4 г/л та 0.05% трифтороцтової кислоти у воді. Фаза – С18

- розчин 2. 0.01г (точна наважка) морфолінія тіазотату розчиняють у 5 мл елюента в мірній колбі на 25.0 мл та доводять елюентом до мітки. Отримують розчин з концентрацією 0.4 мг/мл (рис. 4.45).

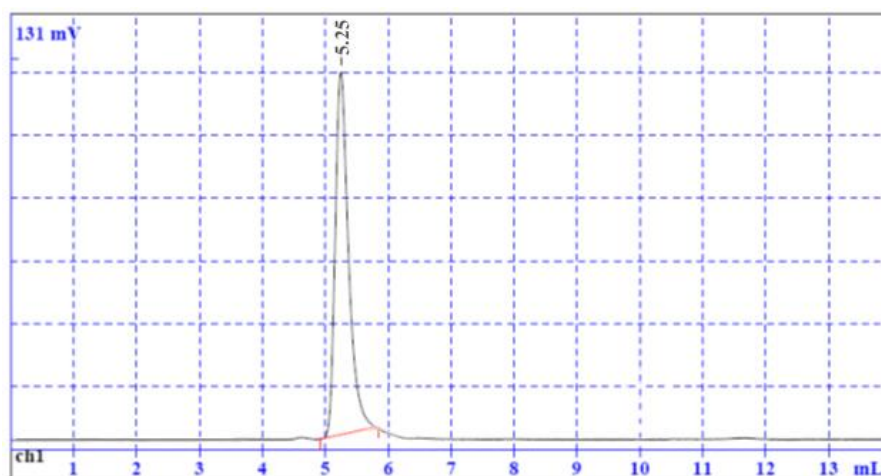


Рис. 4.45 Хроматограмма морфолінія тіазотату. Елюент – Bu_4NHSO_4 3.4 г/л та 0.05% трифтороцтової кислоти у воді. Фаза – С18

2. Досліджуваний розчин: 0.02г (точна наважка) суміші гліцину з морфолінія тіазотатом у співвідношенні 1:1, розчиняють в 10 мл елюента в мірній колбі на 25.0 мл та доводять елюентом до мітки. Отримують розчин з концентрацією 0.4 мг/мл кожного компонента (рис. 4.46).

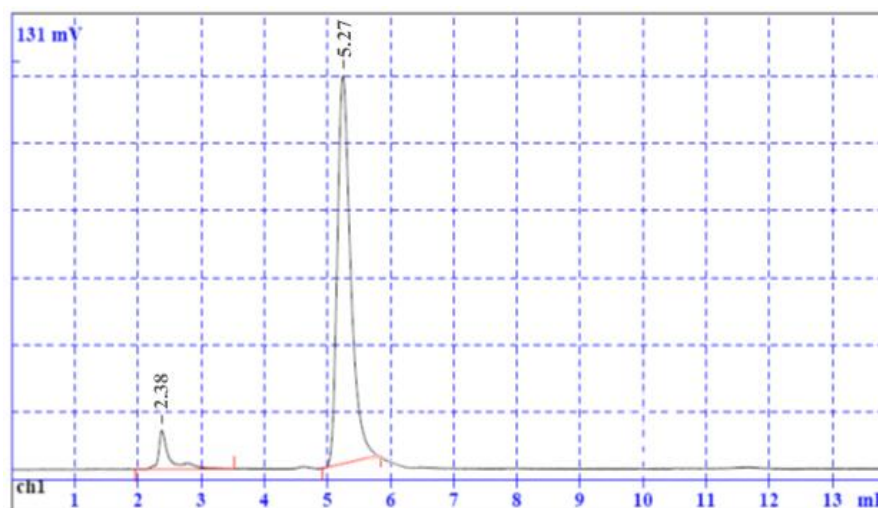


Рис. 4.46 Хроматограма модельної суміші гліцину з морфолінія тіазотатом. Елюент – Bu_4NHSO_4 3.4 г/л та 0.05% трифтороцтової кислоти у воді. Фаза – C18

Далі для визначення ефективності і селективності методу розраховували коефіцієнт розділення, число теоретичних тарілок, коефіцієнт симетрії [46]. В результаті підрахунків, отримали наступні параметри придатності хроматографічної системи:

- ступінь розділення піків гліцину і морфолінія тіазотату склав 7,9 (згідно вимог повинен бути більше 1,5);
- ефективність хроматографічної системи за піком гліцину склала 2183 теоретичних тарілок, за піком морфолінія тіазотату – 3248;
- коефіцієнт симетрії піку гліцину – 1,07, морфолінія тіазотату – 1,1 (згідно вимог повинен бути від 0,8 до 1,5).

Як видно з отриманих результатів, серед різних елюентів та фаз, які були використані, в подальшому для сумісного визначення гліцину з морфолінія тіазотатом, як в модельній суміші, так і в комбінованих лікарських формах доцільно використовувати як елюент - тетрабутиламоній в умовах іон парного хроматографування на оберненій фазі з одночасним використанням кислого буферу – 0.05% розчину трифтороцтової кислоти [169].

4.4.2 Розробка методики стандартизації гліцину та морфолінія тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ

Наступним етапом дослідження була розробка методики стандартизації гліцину та морфолінію тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ.

По-перше, в лабораторних умовах було виготовлено шість серій модельної суміші гліцину та морфолінія тіазотату в терапевтичних дозах - співвідношення 4:1.

Готували розчини згідно з методиками, наведеними нижче.

Випробуваний розчин. Близько 250 мг (точна наважка) модельної суміші розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки. 5.0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Розчин робочого стандартного зразка.

Робочий розчин 1. 200 мг (точна наважка) гліцину (РСЗ відкалібрований ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст гліцину в СЗ 99,97%) розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки.

Робочий розчин 2. 50 мг (точна наважка) морфолінія тіазотату (РСЗ Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, відкалібрований по ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст морфолінію тіазотату в СЗ 100 %) розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки.

Досліджуваний розчин. 5.0 мл робочого розчину 1 та 5.0 мл робочого розчину 2 поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Зразки одержаних хроматограм наведені на рис. 4.47, 4.48.

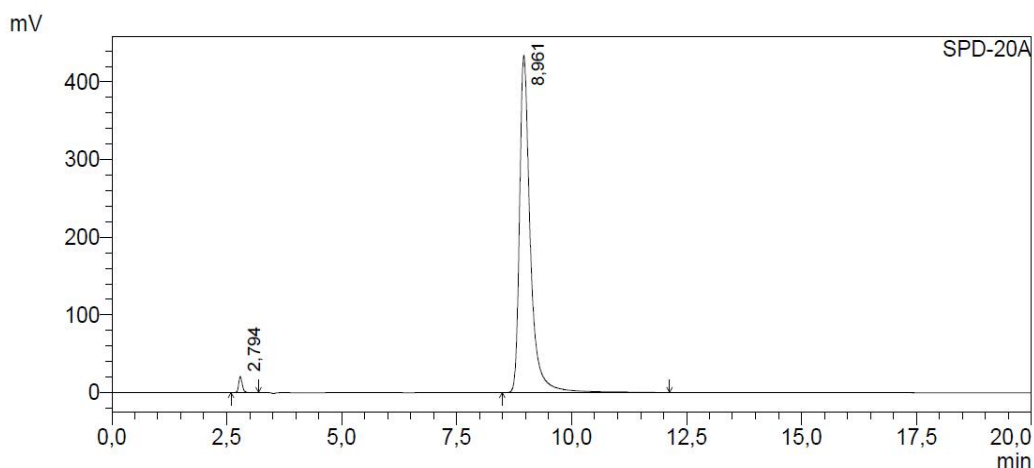


Рис. 4.47 Хроматограма випробуваного розчину (час утримування гліцину - 2,79, час утримування морфолінія тіазотату - 8,96)

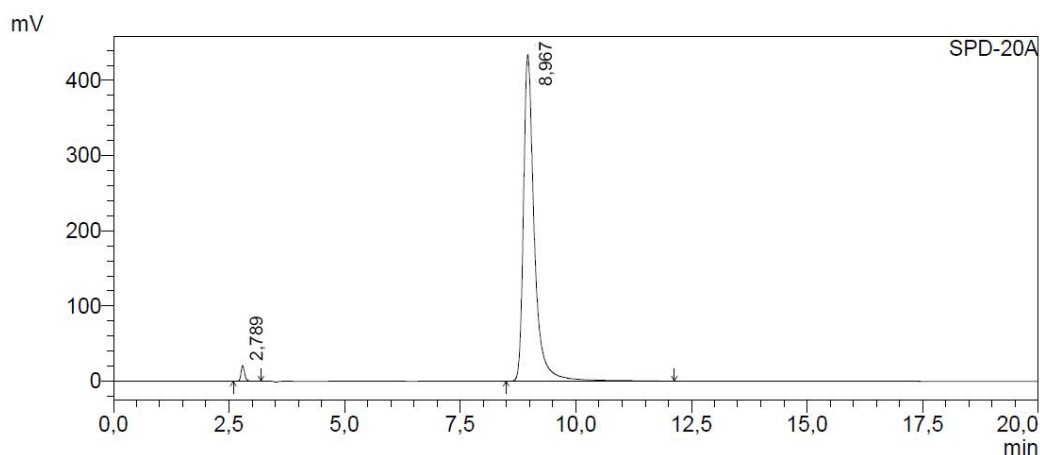


Рис. 4.48 Хроматограма розчину стандартного зразку (час утримування гліцину - 2,79, час утримування морфолінія тіазотату - 8,97)

З наведеної хроматограми видно, що час утримування гліцину за цих умов становить 2,79 хв, морфолінія тіазотату – 8,96 хв. Розрахували ступінь розділення піків гліцину і морфолінія тіазотату складає 21,8. Ефективність хроматографічної системи за піком гліцину склала 6776 теоретичних тарілок, за піком морфолінія тіазотату – 13755; коефіцієнт симетрії піку гліцину – 1,2, морфолінія тіазотату – 1,25.

Вміст гліцину та морфолінія тіазотату в модельній суміші, в міліграмах, розраховували за формулою 3.1.

В таблиці 4.5 наведені результати визначення кількісного вмісту діючих речовин в модельній суміші (серія 1).

Таблиця 4.5

**Кількісне визначення вмісту гліцину та морфолінія тіазотату в
модельній суміші методом ВЕРХ**

№	Гліцин			Статистика	Морфолінія тіазотат			Статистика
	Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг		Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг	
1.	208054	208599	200,22	$\bar{x} = 199,91$ $S_x = 0,96$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,93$ $\Delta \bar{x} = 0,79$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 199,91 \pm 0,79$ $e_{\bar{x}} = 0,40\%$	3501256	3498594	50,1	$\bar{x} = 50,1$ $S_x = 0,64$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 1,29$ $\Delta \bar{x} = 0,53$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} = 50,1 \pm 0,53$ $e_{\bar{x}} = 1,05\%$
	209590				3502184			
	208153				3492342			
2.	207596	207709	199,32		3607287	3611068	50,86	
	208423				361970			
	207107				3606214			
3.	209872	208081	199,70		3587342	3543831	49,88	
	207042				3522416			
	207328				3521735			
4.	208785	209104	200,67	3607862	3600919	50,69		
	209437			359247				
	209089			360242				
5.	207052	206763	198,46	3513807	352180	49,59		
	206124			352425				
	207114			352734				
6.	209985	209545	201,11	3521232	357873	50,37		
	209887			3609234				
	208763			3605727				
С3	208489	208333		352825	3551627			
	208052			357786				
	209458			354876				
				4				

Як видно з таблиці, вміст гліцину в модельній суміші знаходиться в межах від 198,46 мг до 201,11 мг, а морфолінія тіазотату – від 49,59 мг до 50,86 мг. Таким чином, за вмістом діючих речовин досліджувана серія модельної суміші гліцину та морфолінія тіазотату в співвідношенні 4:1 відповідає вимогам ДФУ [46]. Далі були проаналізовані інші п'ять серій модельної суміші. Всі проаналізовані серії відповідали вимогам ДФУ за кількісним вмістом діючих речовин. Вважаємо, що розроблена методика стандартизації гліцину з морфолінія тіазотатом в модельній суміші є відтворюваною [82, 167].

4.5 Визначення гліцину та морфолінію тіазотату в таблетковій масі методом ВЕРХ

На сьогодні особливу увагу в процесі контролю виробництва таблетованих лікарських форм приділяють контролю якості таблеткової маси [96, 99-101]. В попередніх дослідженнях було доведено можливість стандартизації модельної суміші діючих речовин методом ВЕРХ та встановлено оптимальні умови проведення аналізу. Тому для якісного і кількісного визначення діючих речовин в таблетковій масі ми використовували саме цей метод.

По-перше, приготували розчини.

Методика приготування випробуваного розчину таблеткової маси гліцину та морфолінію тіазотату.

Близько 360 мг (точна наважка) таблеткової маси 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.

5.0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Зразок хроматограми випробуваного розчину гліцину та морфолінію тiazотату наведено на рис.4.48.

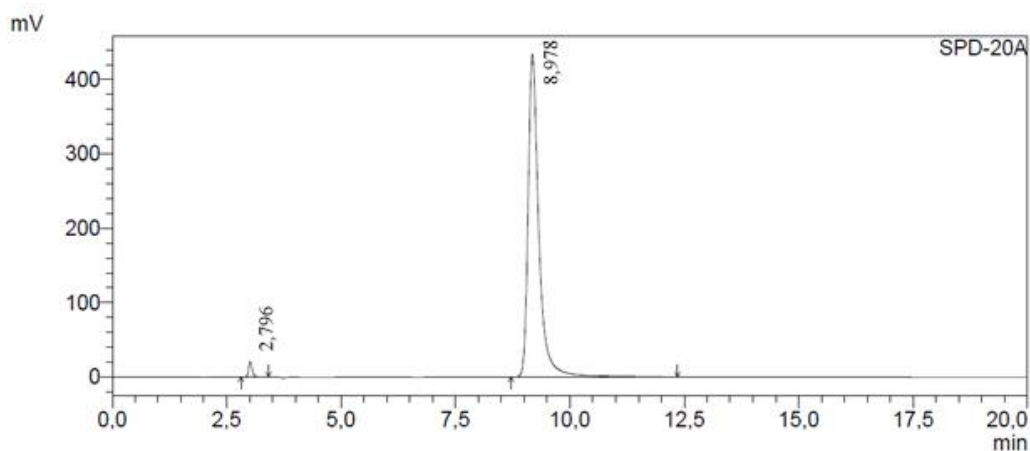


Рис. 4.48 Хроматограма випробуваного розчину таблеткової маси гліцину та морфолінію тiazотату (час утримування гліцину - 2,8, час утримування морфолінію тiazотату - 8,98)

Методика приготування стандартного розчину порівняння (розчину порівняння)

Розчин порівняння 1. 200 мг (точна наважка) гліцину (РСЗ відкалібрований ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст гліцину в СЗ 99,97%) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) морфолінію тiazотату (РСЗ Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, відкалібрований по ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст морфолінію тiazотату в СЗ 100 %) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 5.0 мл розчину порівняння 1 і 5.0 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 50.0 мл і доводять водою до мітки. Розчини застосовують свіжоприготованим.

Зразок хроматограми розчину стандартного зразку гліцину та морфолінію тiazотату наведено на рис. 4.49.

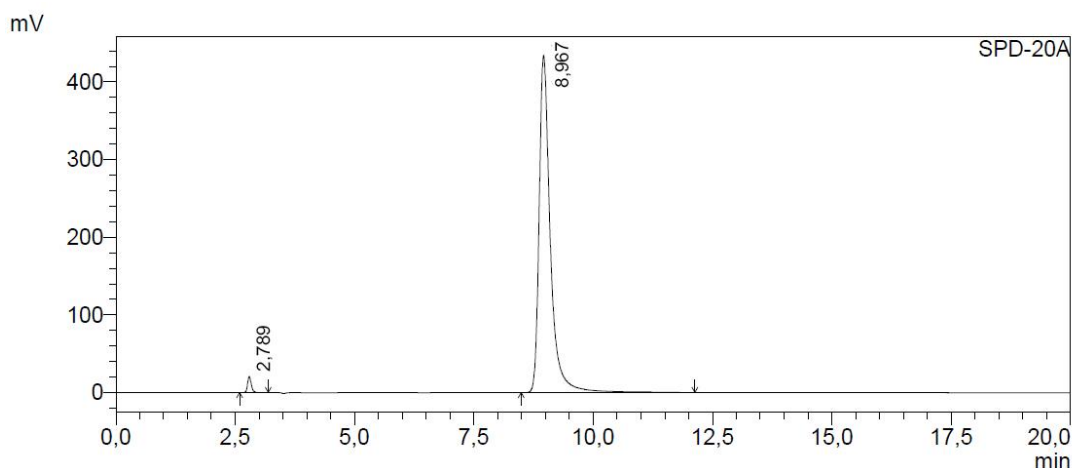


Рис. 4.49 Хроматограма розчину стандартного зразку гліцину та морфолінію тіазотату (час утримування гліцину - 2,79, час утримування морфолінію тіазотату - 8,97)

Вміст гліцину та морфолінію тіазотату в таблетковій масі у перерахунку на одну таблетку, розраховували за формулою 3.2.

Результати аналізу шести зразків таблеткової маси методом ВЕРХ наведені в табл. 4.6.

З наведених в таблиці 4.6 даних видно, що кількісний вміст діючих речовин відповідає вимогам ДФУ. Таким чином, запропонована нами методика ВЕРХ є відтворюваною і високоточною.

4.6 Визначення доброякісності таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом

Відповідно до вимог ДФУ для специфікації таблеток ми внесли наступні показники: опис, середня маса, однорідність маси, ідентифікація, розпадання, розчинення, мікробіологічна чистота, кількісне визначення. Проводили розробку методів стандартизації на 6 серіях таблеток з використанням методик, наведених у розділі 2.

Таблиця 4.6

**Результати кількісного визначення вмісту гліцину та морфолінію тіазотату в
таблетковій масі методом ВЕРХ**

№	Площа піку	Гліцин			Статистика	Морфолінію тіазотат			Статистика
		Середня площа піку	Маса наважки таблеткової маси	Знайдено, мг		Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг	
1.	206047	206424	360,01	198,06	\bar{x} =199,9 1	3471319	3474371	48,97	\bar{x} =49,9 1
	207123					3461245			
	206104					3490548			
2.	207114	206243	359,95	197,92	$S_x =$ 1,71 $t(0,95) =$ 2,02	3529973	3520611	49,63	$S_x =$ 0,59 $t(0,95) =$ 2,02
	206028					3504885			
	205586					3526974			
3.	209972	210631	359,97	202,12	Δx =3,47 $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ = 199,91 $\pm 1,41$ $e^{\bar{x}} =$ 0,71%	3599087	3595294	50,68	Δx =1,18 $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ = 49,91 $\pm 0,48$ $e^{\bar{x}} =$ 0,97%
	210937					3589796			
	210984					3596998			
4.	209015	208483	360,02	200,03		3562353	3556061	50,12	
	208121					3553221			
	208314					3552610			
5.	208098	208263	360,00	199,83		3541322	3534579	49,82	
	208189					3525257			
	208501					3537159			
6.	209937	209984	360,02	201,47		3601523	3564575	50,24	
	209576					3570745			
	210438					3521457			

Продовж. табл. 4.6

С 3	207987	208419	гліци ну 200,02 та морф оліні ю тіазот ату 50,02			3567562	3548769		
	208426					3529435			
	208843					3549312			

Склад таблетки:

Гліцин	0,200 г
Морфолінію тіазотат	0,050 г
МКЦ 302	0,0660
Манітол 300	0,0200
Неуселін УС2	0,0204
Кальцію стеарат	0,0036
	0,3600

Опис. Таблетки білого кольору.

Ідентифікація. Для якісного визначення діючих речовин у складі таблеток було використано метод ВЕРХ, який дозволяє одночасно проводити як ідентифікацію, так і кількісне визначення (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.29) [46].

Середня маса (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.5). Середня маса таблеток має бути $0,3420 \pm 0,3780$ г.

Дослідження проводили на 6-ти серіях отриманих таблеток. Встановили, що середня маса розроблених таблеток складає від 0,3524 г до 0,3687 мг, тобто лежить у допустимих межах і відповідає вимогам ДФУ [46].

Однорідність вмісту діючої речовини в одиниці дозованого лікарського засобу (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.40). Згідно вимог ДФУ вимоги тесту вважаються виконаними, якщо відносне стандартне відхилення (стандартне

відхилення, виражене у відсотках до середнього результату) не перевищує 7,5 % для гліцину та 10% для морфолінію тіазотату.

Тест проводили методом ВЕРХ використовуючи 10 таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом, отриманих в лабораторних умовах.

Отримані результати показали, що в кожній з 10 випробуваних таблеток вміст гліцину знаходиться в межах 97,36 % - 99,43 %, а відносне стандартне відхилення становить від 0,12% до 1,16%, морфолінію тіазотату 97,62% - 99,58%, а відносне стандартне відхилення становить від 0,15% до 1,01% що відповідає вимогам ДФУ за однорідністю вмісту діючої речовини.

Результати проведених досліджень наведені в дод. Г.

Супровідні домішки. Визначення проводили методом ВЕРХ (ДФУ, 2.2.29) [46].

Розпадання. Дослідження проводили згідно з ДФУ, 2.9.1. В 6-ти серіях таблеток значення досліджуваного показника не перевищувало 3 хв.

№ серії	Час розпадання, хв
1	2,41
2	2,36
3	2,28
4	2,57
5	2,63
6	2,47

Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 [45].

Для проведення досліджень використовували зразки препарату, відібрані за умов, що забезпечували попередження стороннього мікробного забруднення. Проводили вивчення мікробіологічної чистоти препарату методом підрахунку колоній на чашках Петрі. Визначали загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС), загальне число дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС). 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.

Визначали бактерій роду *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, гриби роду *Candida*, а саме, *C. albicans*. 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) [45]:

- 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 120 КУО в 1 г.
- ТУМС 12 КУО в 1 г.
- *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. в 1 г зразка не виявлені, що повністю задовільняє всі вимоги ДФУ [45, 46].

Таким чином, проведені дослідження мікробіологічної чистоти показали, що таблетки гліцину з тіотриазоліном є біологічно чистою дозованою формою.

Кількісне визначення проводять відповідно до вимог ДФУ (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.46) [46]. Вміст гліцину в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 185,0 мг до 215,0 мг.

Вміст морфолінію тіазотату в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 45,0 мг до 55,0 мг.

Дослідження проводили згідно методик ВЕРХ, які наведені вище та у тих самих умовах. Вміст гліцину (морфолінію тіазотату) в одній таблетці, в грамах, розраховують за формулою 3.4.

Приклад хроматограми випробуваного розчину таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 4.50.

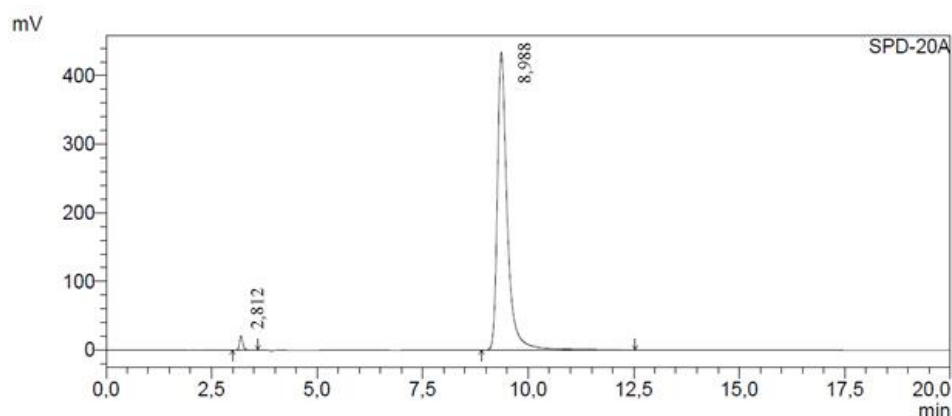


Рис. 4.50 Хроматограма випробуваного розчину таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом (час утримування гліцину - 2,81, час утримування морфолінію тіазотату - 8,99)

Приклад хроматограми розчину порівняння гліцину з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 4.51.

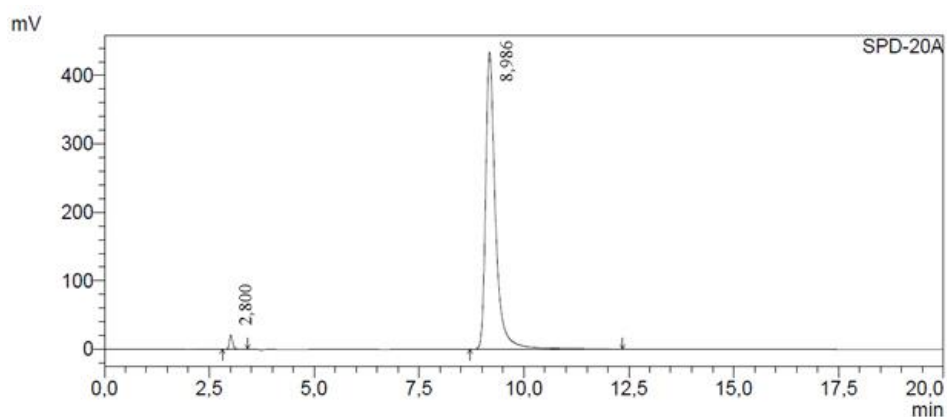


Рис. 4.51 Хроматограма розчину порівняння гліцину з морфолінію тіазотатом (час утримування гліцину - 2,8, час утримування морфолінію тіазотату - 8,99)

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючих речовин таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом наведені в табл. 4.7.

З наведених в таблиці даних видно, що в досліджених серіях вміст гліцину становив від 0,1907 г до 0,2013 г, морфолінію тіазотату - від 0,0475 мг до 0,0514 мг, що відповідає вимогам ДФУ, яка регламентує вміст гліцину - $200 \text{ мг} \pm 7,5\%$, морфолінію тіазотату - $50 \text{ мг} \pm 10\%$.

В ході дослідження розроблена специфікація на таблетки гліцину з морфолінію тіазотатом, а також розроблена методика якісного та кількісного визначення діючих речовин в таблетках методом ВЕРХ. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, мікробіологічна чистота, розпадання, супровідні домішки та кількісне визначення. В ході дослідження складено проєкт МКЯ (Додаток О), який в подальшому планується запропонувати заводу-виробнику.

4.7 Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом

Валідація будь-яких методик є гарантом їх достовірності та точності [37, 127, 128]. Згідно вимог ДФУ проводять валідацію методик за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робастність. В роботі аналізували методи стандартизації таблеток з гліцином та тіотриазоліном саме за цими валідаційними характеристиками. Також, була розрахована гранична розрахункова невизначеність методики кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну в таблетках з даними діючими речовинами.

При проведенні валідаційних досліджень використовували наступне аналітичне обладнання:

Проводили валідаційні дослідження з використанням хроматографу моделі LC-20 Prominence Shimadzu в наступній комплектації: два насоси LC-20AD, автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, термостат CTO-20A, системний

Таблиця 4.7

Результати кількісного визначення гліцину в таблетках методом ВЕРХ

Зразок	Наважк а табле ток	Гліцин				Морфолінію тіазотат			
		Площа, S, mV*sec		Знай дено в мг	Статисти ка	Площа, S, mV*sec		Знай дено в мг	Статисти ка
			серед ня				середня		
№ 1	359,99	205379 207286 205227	20596 4	196,93	$\bar{x} = 199,51$ $S_x = 1,63$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 3,29$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $199,51 \pm 1,34$ $e^{\bar{x}} = 0,67\%$	3472482 3487343 3474234	3478020	48,83	$\bar{x} = 50,09$ $S_x = 0,76$ $t(0,95) =$ $2,02$ $\Delta x = 1,54$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $50,09 \pm$ $0,63$ $e^{\bar{x}} = 1,25\%$
№ 2	360,04	209255 207823 211287	20945 5	200,24		3601289 3572614 3571486	3581796	50,28	
№ 3	360,12	210982 211953 209931	21095 5	201,63		3657619 3609738 3638599	3635319	51,02	
№ 4	359,96	206932 207345 209218	20782 9	198,73	$\bar{x} = 199,51$ $S_x = 1,63$ $t(0,95) = 2,02$ $\Delta x = 3,29$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $199,51 \pm 1,34$ $e^{\bar{x}} = 0,67\%$	3606372 3614453 3596962	3605929	50,63	$\bar{x} = 50,09$ $S_x = 0,76$ $t(0,95) =$ $2,02$ $\Delta x = 1,54$ $\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $50,09 \pm$ $0,63$ $e^{\bar{x}} = 1,25\%$
№ 5	360,00	208123 207656 209127	20830 2	199,16		3565463 3541786 3523694	3543648	49,75	
№ 6	360,06	209985 209987 208989	20965 4	200,42		3581429 3559576 3562238	3567748	50,08	

Продовж. табл. 4.7

<i>Розч ин порі внян ня</i>	РСЗ гліцину 200,1 РСЗ морфо лінію тіазота ту 49,9	208917 209389 209423	20924 3			3564742 3544822 3553431	3554332		
---	--	----------------------------	------------	--	--	-------------------------------	---------	--	--

контролер CBM-20 ALITE. Використовували колонку Hypersil ODS-C18-5u, 4,6 x 250 мм, діаметр часток 5 мкм; елюєнт: водний розчин 3,4 г/л Bu_4NHSO_4 та 0,05% трифтороцтової кислоти; швидкість рухомої фази: 1 мл/хв; аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм; об'єм проби: 20 мкл. В попередніх дослідженнях було запропоновано проводити одночасне визначення вмісту гліцину та тіотриазоліну шляхом іон-парного хроматографування з використанням кислого буферу – 0,05% розчину трифтороцтової кислоти.

Межі: вміст гліцину 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.

Приготування досліджуваного розчину та розчину порівняння гліцину та тіотриазоліну проводили відповідно до методики:

в 10 мірних колбах місткістю 25 мл поміщають вказані в табл. кількості гліцину (виробник: «Sigma-Aldrich», партія 101-1303008) та тіотриазоліну (виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 2451117), 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. 5.0 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 200.0 мл і доводять водою до мітки.

Крім того, була розроблена методика валідаційних досліджень таблеток гліцину з тіотриазоліном: 250 мг суміші гліцину та тіотриазоліну в співвідношенні 4:1 розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки. 5.0 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки: 8 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (80%); 8,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (85%); 9 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки (90%); 9,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і

Модельні суміші

№ модельного зразку	Гліцин		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
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

доводять водою до мітки (95%); 10 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (100%); 10,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (105%); 11 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (110%); 11,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 мл і доводять водою до мітки (115%); 12 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100.0 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 утримування, співпадаючим з часом утримування гліцину з тіотриазоліном на хроматограмах випробуваного розчину; 2) Час утримування піків гліцину та тіотриазоліну на хроматограмах випробуваного розчину повинні співпадати з часом утримування піків гліцину та тіотриазоліну на хроматограмах розчину порівняння гліцину та тіотриазоліну; 3) Піки гліцину та тіотриазоліну на хроматограмах випробуваного розчину повинні добре розділятися з піками інших можливих домішок та самих субстанцій гліцину та тіотриазоліну.

Специфічність методики визначення ідентифікації та кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну продемонстрована на рис. 4.52.

Специфічність методики кількісного та якісного визначення гліцину та тіотриазоліну підтверджується тим, що:

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

Таким чином, можна сказати, що методика ідентифікації та кількісного визначення гліцину з тіотриазоліном в препараті методом ВЕРХ є специфічною.

Характеристики правильності та прецизійності досліджували на модельних розчинах препарату з концентраціями гліцину та тіотриазоліну, які відповідають 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105%, 110 %, 115 % та 120 % від їх номінального вмісту (табл. 4.9).

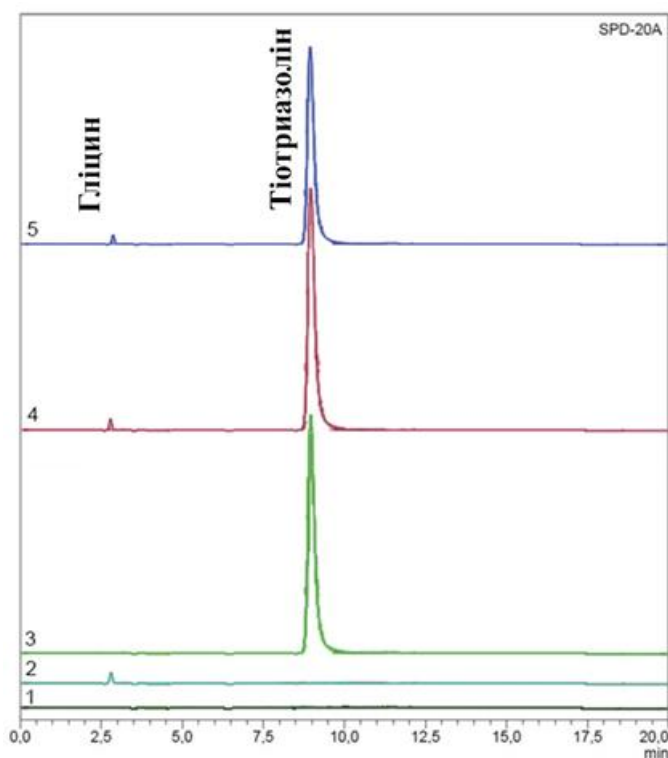


Рис. 4.52 Хроматограми розчинів: 1 - розчин «плацебо» препарату, 2 - модельний розчин препарату з гліцином, 3 - модельний розчин препарату з тіотриазоліном, 4 – випробуваний розчин препарату, 5 – розчин порівняння гліцину та тіотриазоліну

Хроматограми модельних розчинів наведені на рис. 4.53 - 4.63.

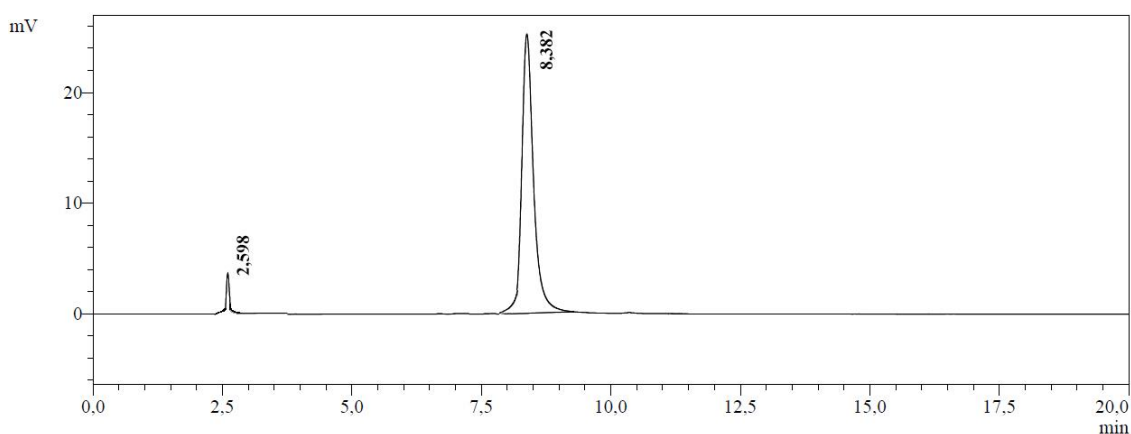


Рис. 4.53 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 80 % від номінального значення

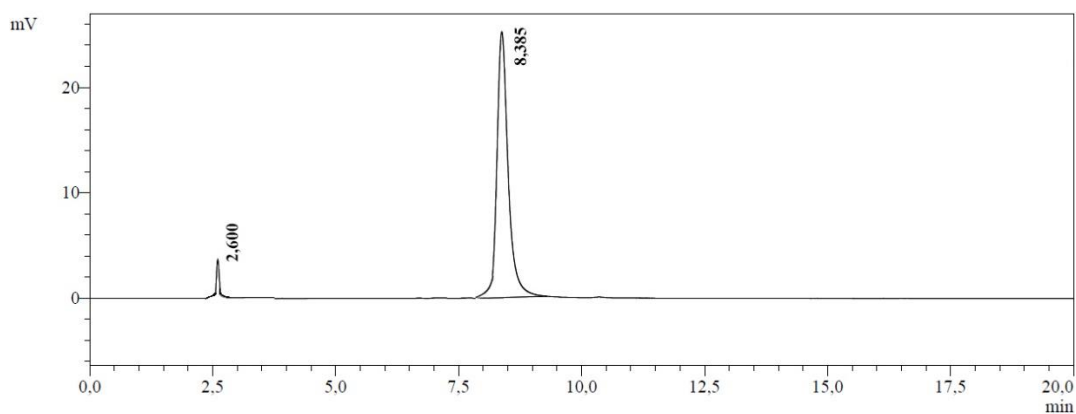


Рис. 4.54 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 85 % від номінального значення

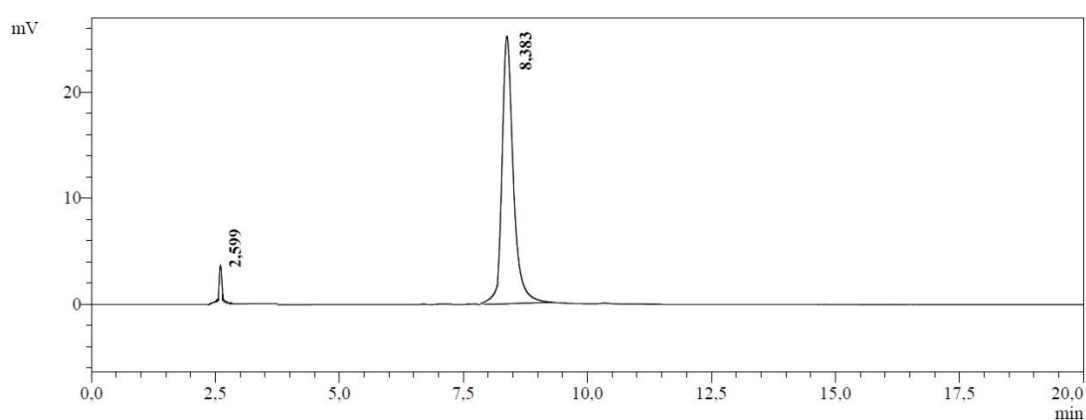


Рис. 4.55 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 90 % від номінального значення

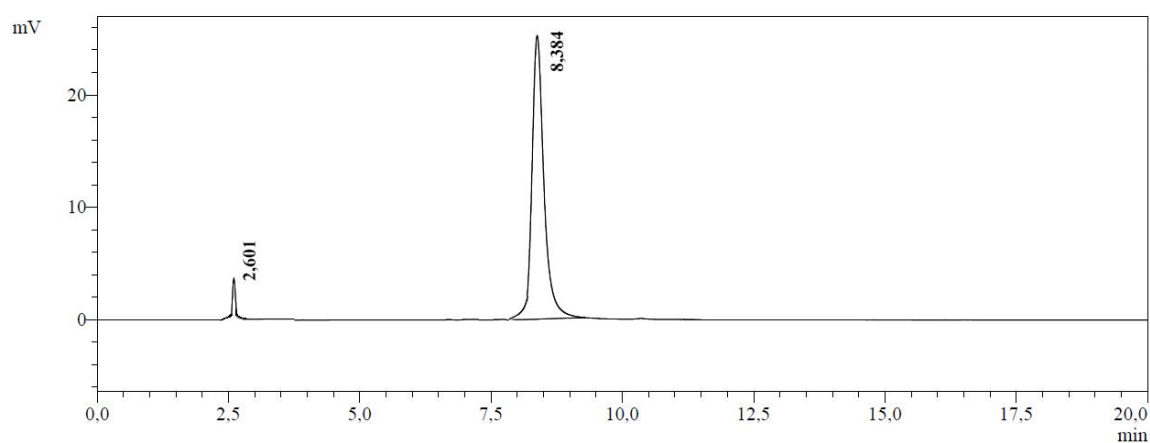


Рис. 4.56 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 95 % від номінального значення

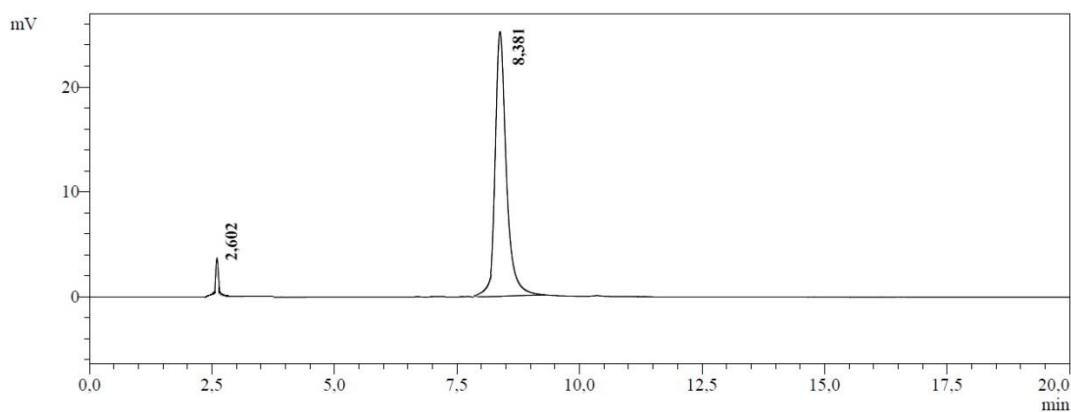


Рис. 4.57 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 100 % від номінального значення

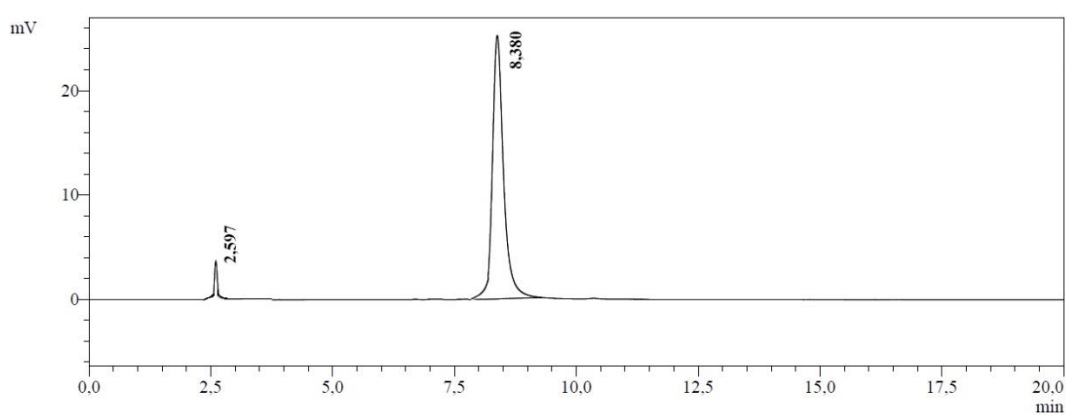


Рис. 4.58 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 105 % від номінального значення

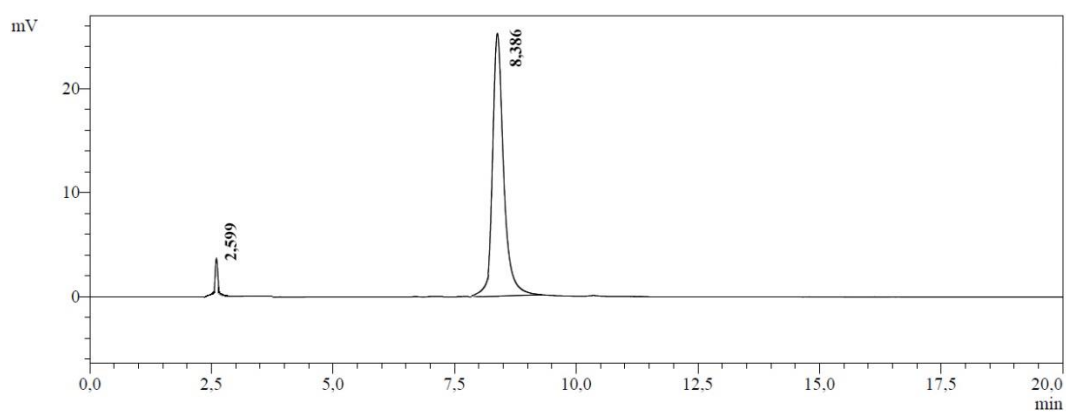


Рис. 4.59 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідно до 110 % від номінального значення

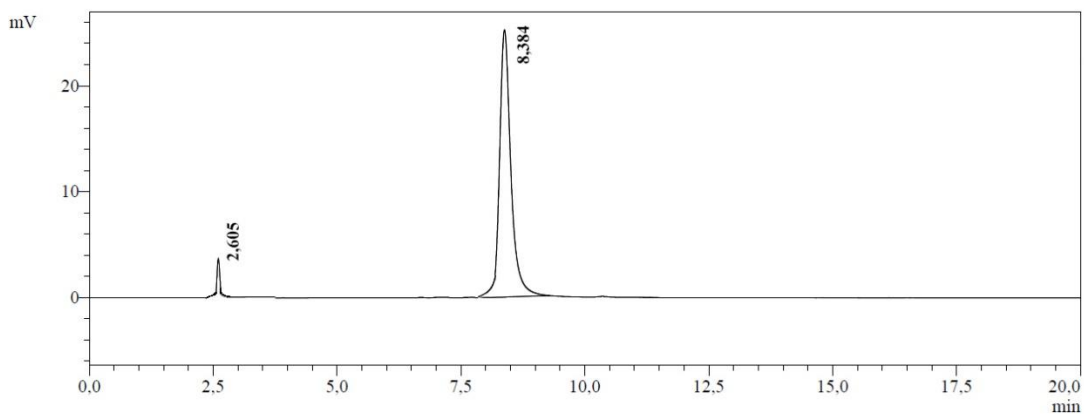


Рис. 4.60 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 115 % від номінального значення

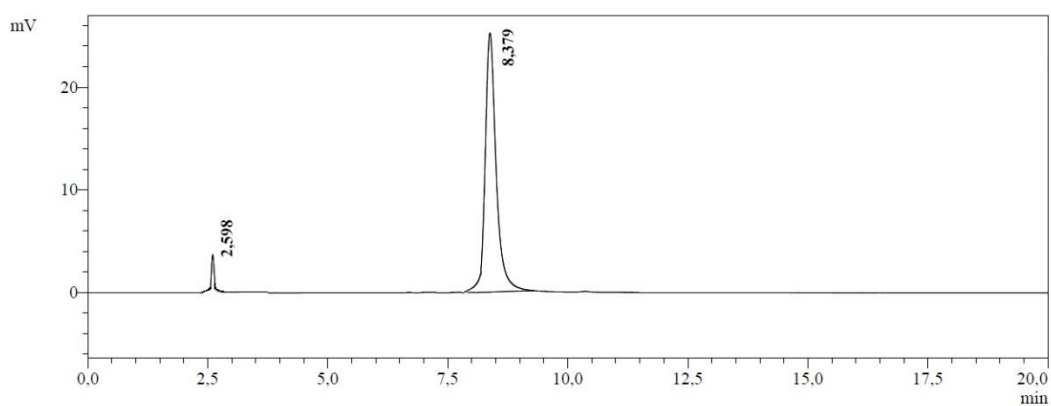
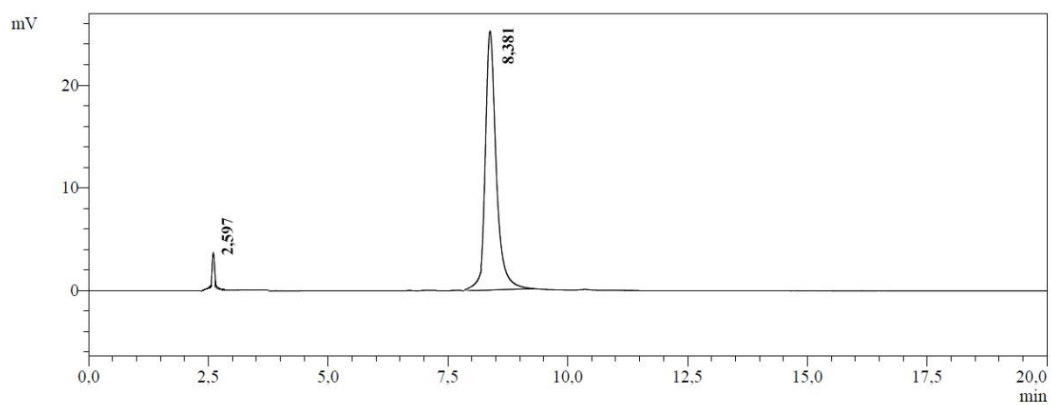


Рис. 4.61 Хроматограма модельного розчину з концентраціями гліцину та тіотриазоліну відповідними до 120 % від номінального значення



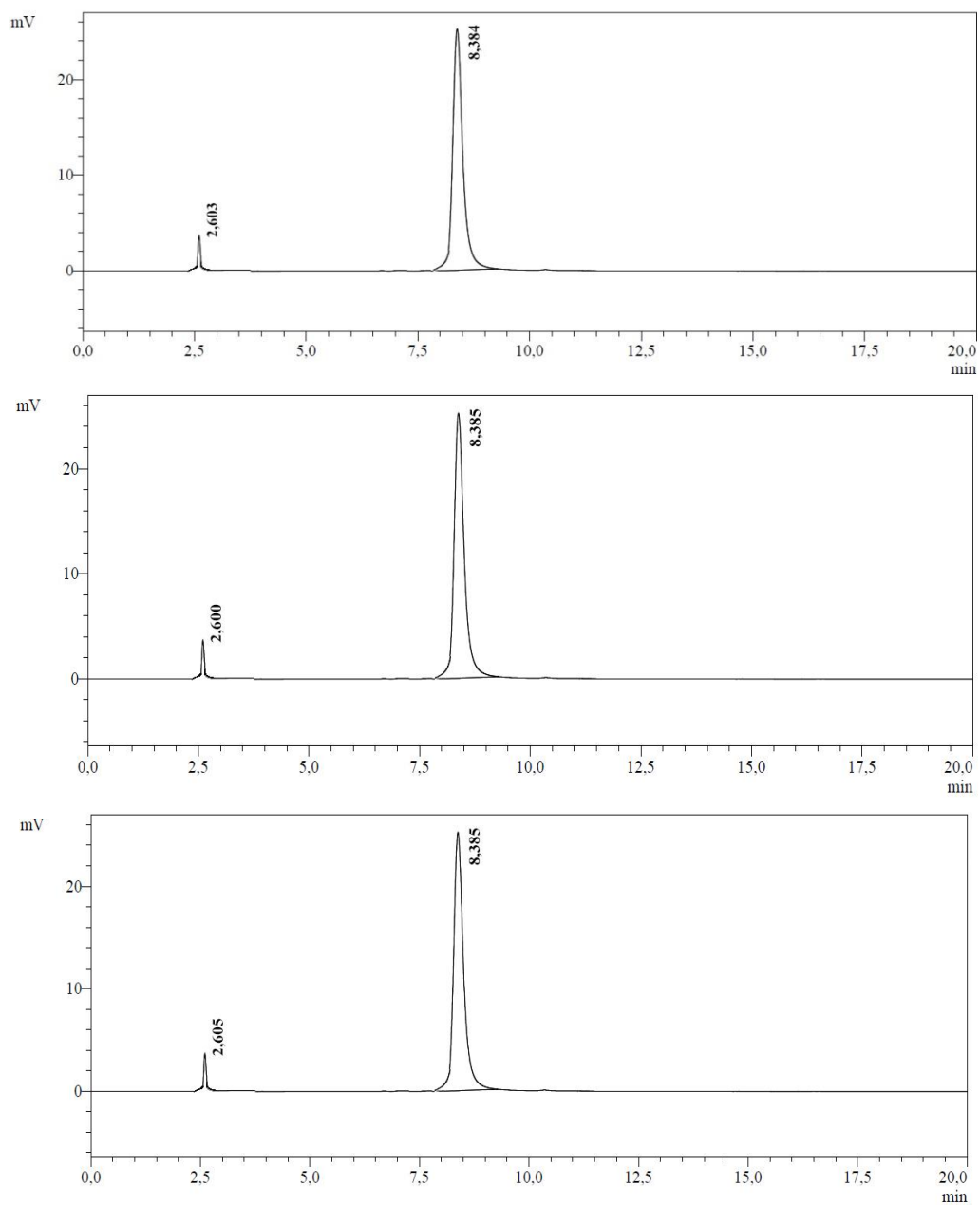
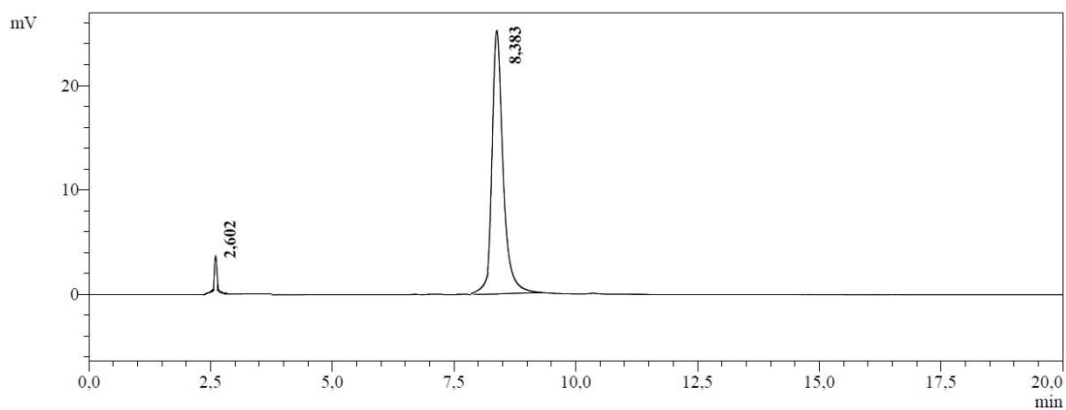


Рис. 4.62 Хроматограми випробуваного розчину гліцину та тіотриазоліну



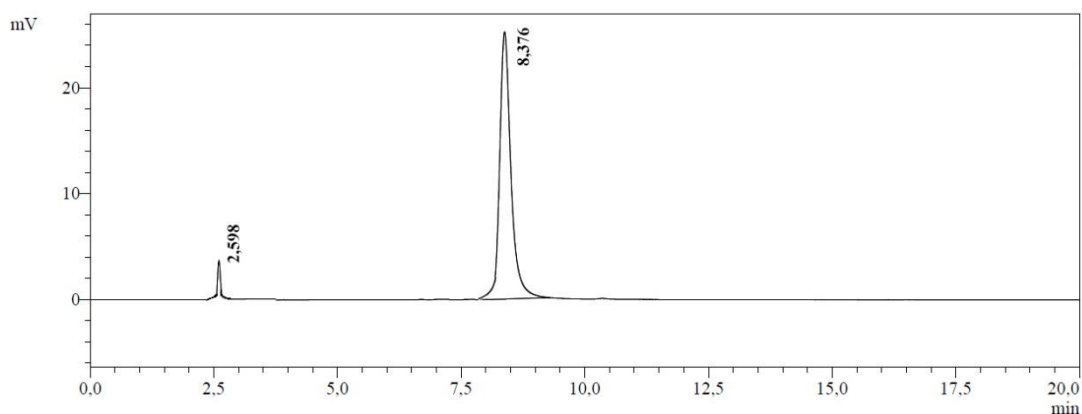


Рис. 4.63 Хроматограми розчину порівняння гліцину та тіотриазоліну

Характеристику лінійності досліджували в діапазоні концентрацій гліцину та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення.

Графік лінійної залежності представлений на рис. 4.64 та 4.65, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності в табл. 4.10 та 4.11.

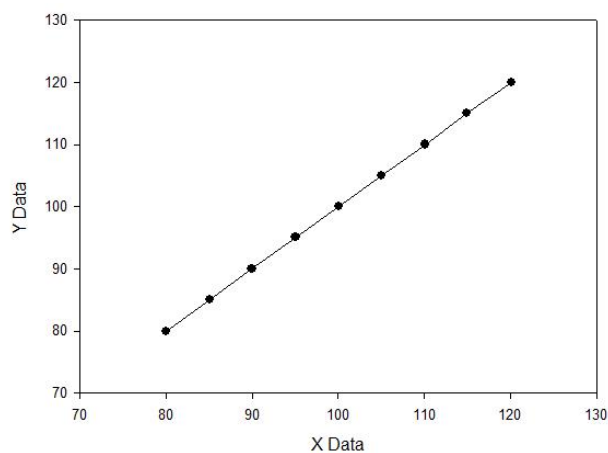


Рис. 4.64 Лінійна залежність знайденої концентрації гліцину від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

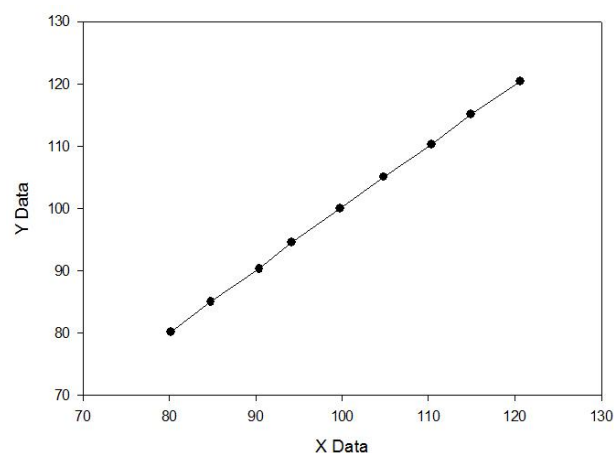


Рис. 4.65 Лінійна залежність знайденої концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

Таблиця 4.10

**Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації
гліцину від його введеної концентрації**

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	1,0012			
S _b	0,0021			
a	-0,1446	$\leq 0,24 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 1 критерієм
S _a	0,2116			
SD ₀	0,0813			
SD ₀ /b	0,08120	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	1,0000	$> 0,99810 $		Виконуються

Таблиця 4.11

**Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації
тіотриазоліну від його введеної концентрації**

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	1,0067			
S _b	0,0103			
a	-0,5328	$\leq 0,66 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 2 критерієм
S _a	1,0346			
SD ₀	0,3984			
SD ₀ /b	0,3957	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	0,99993	$> 0,99810 $		Виконуються

З представлених в таблицях даних видно, що вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто лінійність методики кількісного

визначення гліцину та тіотриазоліну підтверджується в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту ± 5 %.

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 гліцину та тіотриазоліну в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 4.10 та 4.11.

З даних, наведених в табл. 4.10 та 4.11, виходить, що методика кількісного визначення гліцину 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. 4.12 і 4.13, в діапазоні концентрацій

Таблиця 4.12

Результати аналізу модельних розчинів, які містять від 80 % до 120 % гліцину по відношенню до номінальної концентрації, і їх статистичної обробки

№ розчину	Наважка гліцину, г ($m_{st} = 0,2000$)	Введено в % від номінальної концентрації (X_i , факт., %)	Середня площа піку ($A_i^{st} = 19316$)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %)	Знайдене в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	2	3	4	5	6
1	0,1600	80,04	15450	79,97	99,91

Продовж. табл. 4.12

1	2	3	4	5	6
2	0,1701	85,07	16414	84,96	99,87
3	0,1799	89,96	17387	90,00	100,04
4	0,1901	95,06	18361	95,04	99,98
5	0,2000	100,02	19335	100,08	100,06
6	0,2099	104,99	20274	104,94	99,95
7	0,2201	110,09	21253	110,008	99,93
8	0,2298	114,93	22227	115,05	100,10
9	0,2402	120,11	23189	120,03	99,93
Середнє, $Z_{\text{ср}}$, % =					99,97
Відносне стандартне відхилення, $RSDz$, % =					0,08
Відносний довірчий інтервал Δz % = $t(95\%, 9 - 1) \times RSDz = 1.86 \times 0.10 =$					0,14
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична похибка δ % = $ Z_{\text{ср}} - 100 =$					0,02
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.14/3 = 0.05\%$ $0.02\% < 0.05\%$ Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0.32 \times 1.6 = 0.51\%$ $0.02\% < 0.51\%$					Виконується Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕК ТНА

Таблиця 4.13

**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 ($A_i^{st} = 323067$)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y_i , %)	Знайдено в % до введеного $Z_i = 100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	0,0401	80,2	258808	80,11	99,89
2	0,0424	84,8	274380	84,93	100,15
3	0,0452	90,4	291567	90,25	99,83
4	0,0471	94,2	305362	94,52	100,34
5	0,0499	99,8	322776	99,91	100,11
6	0,0524	104,8	339284	105,02	100,21
7	0,0552	110,4	356084	110,22	99,84
8	0,0575	114,9	371979	115,14	100,21
9	0,0603	120,6	389101	120,44	99,87
Середнє, Z_{cp} , % =					100,05
Відносне стандартне відхилення, RSD_z , % =					0,19
Відносний довірчий інтервал $\Delta z \% = t(95\%, 9 - 2) \times RSD_z = 1,89 \times 0,19 =$					0,37
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична похибка $\delta \% = Z_{cp} - 100 =$					0,05
Критерій незначущості систематичної похибки:					
1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0,37 : 3 = 0,12\%$ $0,05\% < 0,12\%$					Виконується

Продовж. табл. 4.13

Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0,32 \times 1,6 = 0,51\%$ $0,05\% < 0,51\%$	Виконується
Загальний висновок про методику	КОРЕКТНА

гліцину та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінальної концентрації методика його кількісного визначення не має значущої систематичної похибки.

Таким чином виходячи з усього вищезазначеного можна сказати, що методика характеризується достатньою збіжністю, так як знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини Δ_Z для гліцину та тіотриазоліну не перевищує критичне значення для збіжності результатів (1,6 %). Також методика характеризується достатньою правильністю, так як виконується критерій незначущості систематичної похибки методики. Систематична похибка методики задовольняє вимозі статистичної та практичної незначущості. Високе значення коефіцієнта кореляції $r = 1,0000$ та $0,99993$ задовольняє вимозі критерію прийнятності ($r = 0,9998$) та підтверджує лінійність залежності між взятою та знайденою кількістю гліцину 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 гліцину та тіотриазоліну у всьому діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення.

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})(формула 3.6).

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 [46]:

$$\max\Delta_{As} = 1,6\%; \Delta_{SP} \leq 0,32 \cdot \max\Delta_{As} = 0,51\% \quad (4.1)$$

- 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 проєкту ФСП з використанням підходу до допустимої невизначеності мірного посуду. Розрахунки та величини невизначеності процедури пробопідготовки наведені в табл. 4.14.

Невизначеність взяття наважки розраховують за формулою 3.7.

Таблиця 4.14

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для методики кількісного визначення гліцину та тіотриазоліну

Операція пробопідготовки	Параметр для розрахункової формули	Невизначеність (Δ), %
1	2	3
Розчин порівняння		
Взяття наважки гліцину 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 %

Продовж. табл. 4.14

1	2	3
Взяття розчину піпеткою 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %
Випробуваний розчин		
Взяття наважки препарату	m = 360 мг	0,05 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 25 мл до мітки	25	0,23 %
Взяття розчину піпеткою 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для гліцину) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.1^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2 + 0.05^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2} \approx 0.66\% \quad (4.2)$$

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для тіотриазоліну) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.4^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2 + 0.05^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2} = 0,77\% \quad (4.3)$$

Таким чином, невизначеність пробопідготовки є значущою для гліцину 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} :

$$\max \Delta_{FAP} = \sqrt{\max \Delta_{As}^2 - \Delta_{SP}^2} = \sqrt{1.6^2 - \Delta_{SP}^2} ;$$

$$\text{для гліцину: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,66^2} = 1,46 ;$$

$$\text{для тіотриазоліну: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,77^2} = 1,40 .$$

Розраховують вимоги для $\max RSD$ для 3 паралельних хроматограм, які необхідно одержати у відповідності з проектом методики:

$$\max RSD = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{t \cdot \sqrt{2}} = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{2,92 \cdot \sqrt{2}} = \max \Delta_{FAP} \cdot 0,4194 ;$$

для гліцину: $\max RSD = 0,4194 \cdot 1,46 = 0,61$;

для тіотриазоліну: $\max RSD = 0,4194 \cdot 1,40 = 0,59$

де t – односторонній коефіцієнт Стюдента 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 ($\max RSD = 0,67$), 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 гліцину та тіотриазоліну з фактичних даних (табл. 4.15).

Таблиця 4.15

Відносне стандартне відхилення площ піків гліцину та тіотриазоліну (А)

	Гліцин		Тіотриазолін	
	S_0^*	S_I^{**}	S_0^*	S_I^{**}
	19328	19342	322375	322776
	19312	19315	323113	323202
	19351	19357	322592	322144
RSD, %	0,1	0,11	0,12	0,16
RSD_{max}, % (n₀ = 3, B = 5 %)	0,61		0,59	
* S_0 – площа піку гліцину та тіотриазоліну, отримана з хроматограм розчину порівняння.				
** S_I – площа піку гліцину та тіотриазоліну, отримана з хроматограм досліджуваного розчину.				

Отримані значення відносних стандартних відхилень для площ піків гліцину та тіотриазоліну суттєво менше $\max RSD$.

Виходячи з вищенаведених даних можемо сказати що методика валідована і відповідає критеріям прийнятності для таких валідаційних характеристик, як: специфічність, правильність, прецизійність, лінійність та робасність.

4.8 Вивчення стабільності таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом в процесі зберігання

Для дослідження стабільності таблетки, отримані в лабораторних умовах, зберігалися при кімнатній температурі 15–25°C. Для оцінки якості таблеток, оцінювали зовнішній вигляд, проводили ідентифікацію, визначали кількісний вміст діючих речовин, проводили тест «розчинення», супровідні домішки, мікробіологічну чистоту. Результати вивчення стабільності, наведені у Додатку Д, показали, що при зберіганні впродовж 24 місяців та температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$ і відносній вологості $60 \pm 5\%$, захищеному від світла місті таблетки відповідали вимогам проекту МКЯ. Тому запропоновано встановити термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C.

Висновки до розділу 4

1. Результатами проведених квантово-хімічних розрахунків комплексів морфолінія тіазотата і гліцину показали можливість утворення в них лише множинних водневих зв'язків, але енергія взаємодії найбільш стабільних комплексів дуже мала. І це вказує на відсутність стійкої хімічної взаємодії між компонентами та підтверджує можливість комбінування гліцину та морфолінію тіазотату в одній лікарській формі.

2. Проведено дериватографічні дослідження субстанції гліцину, морфолінія тіазотату, суміші гліцину-морфолінія тіазотату. Встановлено, що гліцин з морфолінію тіазотатом є сумішшю діючих речовин які не взаємодіють

між собою та можуть бути поєднанні в одній лікарській формі у вигляді таблеток.

3. Для створення нового комбінованого таблеткованого лікарського засобу, що містить гліцин та морфолінію тіазотат методом прямого пресування було досліджено 16 допоміжних речовин (ДР на основі мікрокристалічної целюлози, ДР на основі цукрів, ДР на основі гранульованих неорганічних солей, змащуючі речовини). В результаті було відібрано оптимальні ДР, які забезпечують всі фармако-технологічні вимоги, які висуваються до таблеткованої лікарської форми згідно вимог ДФУ. В ході проведеної роботи розроблено склад та технологію отримання таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом методом прямого пресування.

4. За результатами проведених досліджень, розроблено: методику стандартизації діючих речовин гліцину та морфолінію тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ; підібрані оптимальні умови проведення аналізу; методику стандартизації діючих речовин в таблетковій масі методом ВЕРХ; методики стандартизації (ідентифікація, розчинення, кількісне визначення) діючих речовин в таблетках гліцину та морфолінію тіазотату.

5. За результатами проведених досліджень розроблено специфікацію та проект МКЯ на таблетки з гліцину з морфолінію тіазотатом.

6. В ході роботи були валідовані методики визначення гліцину та морфолінію тіазотату методом ВЕРХ за такими характеристиками: специфічність, правильність, прецизійність (сходимість) та лінійність.

7. Вивчено стабільність таблеток гліцину з морфолінію тіазотатом в процесі зберігання та визначено термін і умови їх зберігання - 2 роки за температури (15 - 25) °С і відносній вологості (60±5) %, дослідження тривають.

8. Результати дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (Додаток Ф), кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України (Додаток Ф), кафедри

управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (Додаток Х), кафедри фармацевтичної хімії та технології лікарських засобів Одеського національного медичного університету (Додаток Ц), у технологічний процес на базі лабораторії таблетованих ЛП ДП «ДНЦЛЗ» (Додаток Т), у виробництво на базі ПрАТ "Лекхім-Харків" (Додаток У).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. The formation of two thiotriazoline polymorphs: study from the energetic viewpoint / S. V. Shishkina, V. N. Baumer, O. V. Khromileva, L. I. Kucherenko I. A. Mazur. *CrystEngComm*. 2017. Vol. 19. P. 2394-2401. <https://doi.org/10.1039/C7CE00117G>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus)).

2. Theoretical study of the possibility of glycin with thiotriazoline complexes formation / L. I. Kucherenko, O. V. Khromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 5. С. 675-679. <https://doi.org/10.14739/2310-1210>. [2017.5.110232](https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.5.110232). (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).

3. Хромильова О.В. Хромильова О. В. Щодо поєднання гліцину та тіотриазоліну в одній лікарській формі. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2. С. 181-185. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.171010>

4. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 1. Вивчення впливу допоміжних речовин на насипну густину, насипну густину після усадки, текучість і кут природного укусу порошкових мас гліцину з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, З. Б. Моряк.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. Т. 13, № 1. С. 98-104 <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198182>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

5. Щодо підбору оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з тіотриазоліном методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2020. Т.13, № 2. С. 244-248. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207180>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

6. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 2. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники отриманих таблеток / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, Л. Г. Черковська. *Фармацевтичний часопис.* 2020. № 2. С. 32-39. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.2.11193>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

7. Щодо стандартизації гліцину та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії / О. В. Хромильова, М. О. Авраменко, Г. Р. Німенко, Е. Ю. Гура. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2020. Т.13, № 3. С. 378-382. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216213>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

8. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Підбір оптимальних умов визначення гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші методом ВЕРХ. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 8-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. С. 149-150.

9. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Розробка технології сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. *Eurasian scientific congress : materials of X International Scientific and Practical Conference*. Barcelona, 2020. P. 88-90.

РОЗДІЛ 5

РОЗРОБКА СКЛАДУ, ТЕХНОЛОГІЇ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТАБЛЕТОК ГАМК З ТІОТРИАЗОЛІНОМ

Загальна анестезія, особливо кетамінова, може бути причиною виникнення в післяопераційному періоді ушкоджень центральної нервової системи (ЦНС), серед яких особливе місце займає післяопераційна когнітивна дисфункція (ПОКД), яка може розвинутися у хворих різних вікових груп, в тому числі, і в випадках необтяжених психоневрологічним анамнезом. Нейропротективна терапія набуває найважливіше значення для запобігання ушкоджень нейронів або усунення когнітивної дисфункції, яка виникла в ранньому післяопераційному періоді, коли ці зміни ще потенційно оборотні. Вона попереджає або перериває патологічні каскади, що викликають дисфункцію або загибель нейронів [175, 312, 315].

Особливе місце в нейропротекції займають препарати нейрометаболічної дії - ноотропи. Дослідженнями в області нейрохімії було встановлено, що застосування наркозних засобів призводить до порушення ГАМК-ергічної системи головного мозку, зниження афінності ГАМК-рецепторів. Все це спрямовує пошуки фармакологів при розробці ноотропів, ефективних при ПОКД, в сторону структурних аналогів ГАМК. Тіотриазолін, будучи антиоксидантом і протиішемічним засобом, здатний регулювати АФК/NO-залежні механізми передачі клітинних сигналів, ступінь афінності центральних рецепторів в т.ч. і ГАМК. Тому є актуальним, розробка комбінованого лікарського засобу на основі ГАМК і тіотриазоліну, який буде мати значно більш високу ефективність в корекції когнітивної дисфункції після кетамінової анестезії, а також демонструвати значне зниження побічних ефектів [130]. Спільно з фармакологами вивчали різні комбінації ГАМК з тіотриазоліном в співвідношенні 1:1; 2:1; 3:1; 4:1 і 5:1. Найбільш ефективною виявилися комбінації ГАМК з тіотриазоліном в співвідношенні 4:1 [275].

5.1 Моделювання можливості утворення комплексів тіатриазоліна з ГАМК

Для моделювання структури і розрахунку стабільності комплексів тіатриазоліна з ГАМК була використана вдосконалена методика в порівнянні з вживаною раніше.

На першому етапі за допомогою процедури молекулярного докінгу (програма AutoDock Vina) були отримані вихідні геометрії тіотриазоліна, що представляє собою сіль депротонованої МСТА і протонованого морфоліну. При моделюванні молекула морфоліну задавалася як більш жорсткий фрагмент, а молекула МСТА мала можливість змінювати свою конформацію. З огляду на конформаційну гнучкість МСТА і можливість утворення різних типів міжмолекулярних взаємодій між органічними катіоном і аніоном, для подальшого моделювання було відібрано 25 найбільш енергетично вигідних структур. Попередні дослідження [380] показали, що МСТА в тіотриазоліні існує переважно в одній таутомерній формі (рис.5.1), тому моделювання інших можливих таутомерів не представляється необхідним.

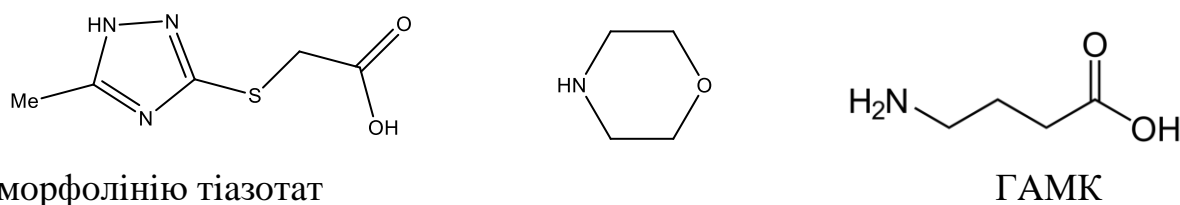


Рис. 5.1 Молекули, які входять до складу досліджуваних комплексів

На наступному етапі також використовувалася процедура докінгу для отримання стартових геометрій трикомпонентних комплексів тіатриазоліна і ГАМК. Кожна з 25 відібраних структур тіатриазоліна задавалася як жорсткий фрагмент, в той час як молекула амінокислоти могла змінювати свою конформацію. В результаті для кожної з 25 структур тіатриазоліна було отримано 25 його комплексів з амінокислотою.

Всі 625 трикомпонентних комплексів були оптимізовані методом m06-2x/cc-pvtz, спочатку в наближенні вакууму, а потім з урахуванням впливу розчинника, використовуючи модель РСМ. Як розчинник, була обрана вода,

тому що і тіатріазолін, і ГАМК добре розчинні у воді. З 625 оптимізованих комплексів були відібрані 25 найбільш енергетично вигідних і для них розраховані енергії взаємодії між органічною сіллю і амінокислотою з урахуванням поправки на базисний набір і енергії утворення (табл. 5.1). Оптимізація комплексів і розрахунок енергій проводився за допомогою програми GAUSSIAN09 [357]. Обрана методика з високим ступенем ймовірності дозволяє знайти найбільш стабільні комплекси та оцінити можливість їх формування.

Аналіз геометрії оптимізованих комплексів показав, що вони утворені за рахунок множинних водневих зв'язків (табл. 5.1). З огляду на те, що тіатріазолін є органічною сіллю, що складається із катіона протонованого морфоліну і аніона депротонованого МСТА, а амінокислота існує в розчині в цвіттер-іонному вигляді, практично всі міжмолекулярні водневі зв'язки в трикомпонентних комплексах є зарядово-посиленими. Наслідком цього можна вважати дуже великі значення енергій взаємодії між тіатріазоліном і амінокислотою. Слід зазначити, що розрахунки в наближенні вакууму дещо перебільшують енергії взаємодії. Моделювання поляризуючого впливу розчинника показало, що в реальному розчині енергії взаємодії будуть набагато менше (табл. 5.1).

Енергії утворення комплексів, отримані з урахуванням поляризуючого впливу розчинника як різниця вільних енергій Гіббса сольватованого комплексу і сольватованих окремих його компонент, виявилися значно більше, ніж енергії взаємодії солі і амінокислоти, і можна порівняти з розрахованими раніше для інших комплексів тіатріазоліна з кислотами. Слід зазначити, що для кількох найбільш енергетично вигідних комплексів енергія утворення має від'ємне значення, але її величина по модулю дуже мала. Також варто взяти до уваги, що тільки 17 комплексів (з 625) мають негативну енергію утворення. Беручи до уваги різницю між енергіями взаємодії між сіллю і амінокислотою, розрахованими в наближенні вакууму і з урахуванням впливу розчинника,

можна очікувати, що в реальному розчині утворення трикомпонентних комплексів мало ймовірно.

Як видно з наведених вище даних, між компонентами можливо утворення лише множинних водневих зв'язків, що теоретично доводить відсутність стійкої хімічної взаємодії між компонентами та теоретично підтверджує можливість комбінування ГАМК та морфолінію тіазотату в одній лікарській формі.

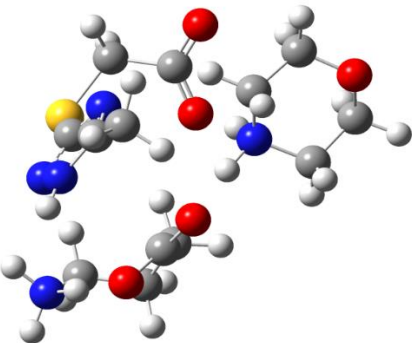
5.2 Термогравіметричні дослідження ГАМК, тіотриазоліну та їх суміші

В процесі створення нового комбінованого лікарського препарату необхідно враховувати можливість виникнення взаємодії між компонентами, що входять до його складу. Попередньо, для врахування можливої хімічної взаємодії діючих речовин, нами були проведені квантово-хімічні розрахунки комплексів ГАМК з тіотриазоліном, які показали, що між діючими речовинами не виникають стійких хімічних зв'язків, а тільки водневі, це дає можливість комбінування ГАМК та тіотриазоліну в одній лікарській формі у вигляді таблеток. Для підтвердження та усунування ризиків фізичної взаємодії між діючими речовинами доцільно провести проведення термогравіметричні дослідження [60, 147].

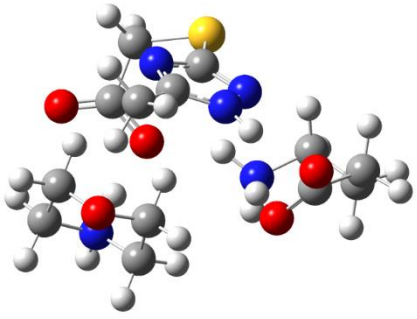
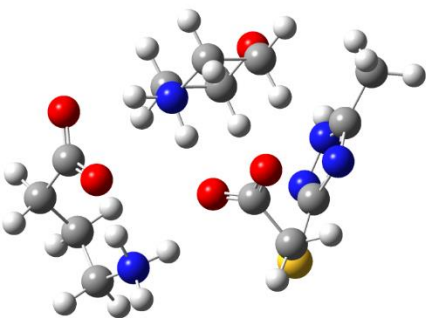
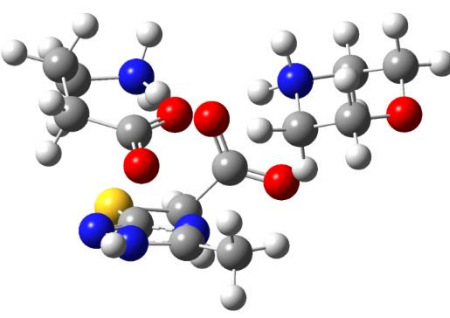
Проводили термогравіметричний аналіз субстанції тіотриазоліну, ГАМК та суміші тіотриазоліну і ГАМК, результати проведених досліджень представлені на рис. 5.2, 5.3, 5.4 [47].

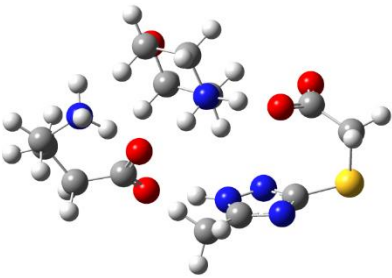
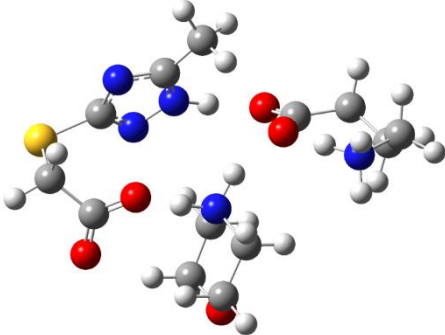
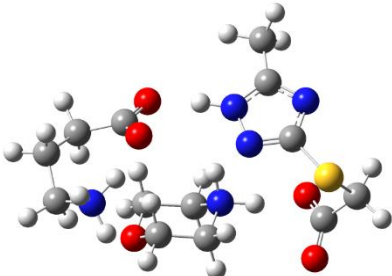
Таблиця 5.1

Структура найбільш стійких комплексів морфолінія тіазотата з ГАМК, їх енергії утворення (ΔG_{form}^{298} , ккал/моль) та характеристики водневих зв'язків (Н...А, Å и D-Н...А, град) за даними методу B97-D3/TZVP+SMD(Water)

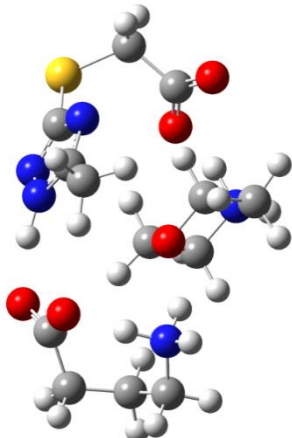
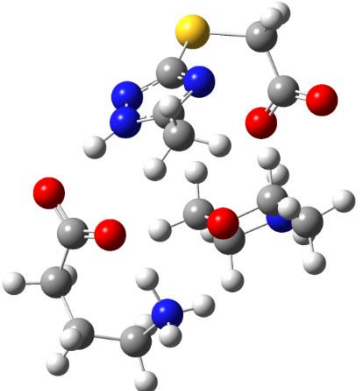
Комплекс	E _{взаим.} м. ккал/моль, вакуум	E _{взаим.} ккал/моль, PCM вода	$\Delta G_{обр}^{298}$ ккал/моль, вакуум	Просторова будова	Водневі зв'язки*	Геометричні характеристики	
						Н...А, Å	D-Н...А, град.
1	-47.91	-25.46	-0.3		NH _M ...COO ⁻ _{AA} NH _M ...COO ⁻ _{TA} NH _{AA} ...COO ⁻ _{AA} CH _{AA} ...S _{TA} CH _M ...COO ⁻ _{AA}	1.61 1.65 1.54 2.86 2.37	173 166 168 167 135

Продовж. табл. 5.1

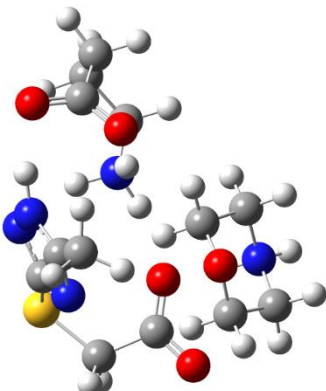
2	- 44.4 2	-21.78	0.4		$\text{CH}_{\text{TA}} \dots \text{O}_{\text{M}}$ $\text{NH}_{\text{TA}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{AA}}$ $\text{NH}_{\text{M}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{AA}}$	2.35 1.86 1.56 1.87 1.61	144 143 170 150 162
3	- 41.3 4	-20.88	0.6		$\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{M}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{AA}}$ $\text{NH}_{\text{M}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{AA}}$ $\text{CH}_{\text{TA}} \dots \text{CH}_{\text{M}}$	1.86 1.87 1.63 1.56 2.86	149 144 165 159 115
4	- 40.8 9	-18.81	0.7		$\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{M}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^{-}_{\text{AA}}$ $\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{S}_{\text{TA}}$ $\text{CH}_{\text{AA}} \dots \text{N}_{\text{TA}}$	1.85 1.53 1.52 2.89 2.66	147 169 167 132 136

5	- 29.3 1	-30.19	1.4		NH _M ...COO ⁻ _{AA} NH _M ...COO ⁻ _{TA} NH _{AA} ...COO ⁻ _{AA} CH _M ...N _{TA} (π)	1.83 1.52 1.57 2.54	162 176 164 134
6	- 29.2 5	-30.90	1.5		NH _M ...COO ⁻ _{AA} NH _M ...COO ⁻ _{TA} NH _{AA} ...COO ⁻ _{AA} CH _M ...N _{TA} CH _M ...COO ⁻ _{TA}	1.75 1.58 1.56 2.48 2.48	159 169 164 135 156
7	- 27.1 8	-20.66	1.7		NH _{AA} ...COO ⁻ _{AA} NH _M ...COO ⁻ _{TA} NH _{TA} ...COO ⁻ _{AA} NH _M ...NH _{TA} (π) NH _M ...N _{TA} (π)	1.61 1.60 1.67 2.50 2.45	163 166 171 155 127

Продовж. табл. 5.1

8	- 24.3 2	-21.27	2.0		$\text{NH}_M \dots \text{COO}^-_{TA}$ $\text{NH}_{AA} \dots \text{COO}^-_{AA}$ $\text{NH}_{AA} \dots \text{O}_M$ $\text{CH}_M \dots \text{N}_{TA} (\pi)$ $\text{CH}_M \dots \text{NH}_{TA} (\pi)$ $\text{NH}_{TA} \dots \text{COO}^-_{AA}$	1.47 1.61 1.93 2.53 2.59 1.67	168 157 153 132 108 162
9	- 20.0 8	-15.95	2.5		$\text{NH}_M \dots \text{COO}^-_{TA}$ $\text{NH}_{AA} \dots \text{COO}^-_{AA}$ $\text{NH}_{AA} \dots \text{O}_M$ $\text{CH}_M \dots \text{N}_{TA} (\pi)$ $\text{CH}_M \dots \text{NH}_{TA} (\pi)$ $\text{NH}_{TA} \dots \text{COO}^-_{AA}$	1.46 1.51 2.25 2.67 2.67 1.69	169 167 119 139 116 163

Продовж. табл. 5.1

10	- 49.6 4	-27.21	-0.6		$\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^-_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{M}} \dots \text{COO}^-_{\text{TA}}$ $\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{COO}^-_{\text{AA}}$ $\text{NH}_{\text{AA}} \dots \text{N}_{\text{TA}}$ $\text{CH}_{\text{TA}} \dots \text{CH}_{\text{M}}$	1.87 1.60 1.82 2.04 2.74	152 171 153 141 117
----	----------------	--------	------	--	---	--------------------------------------	---------------------------------

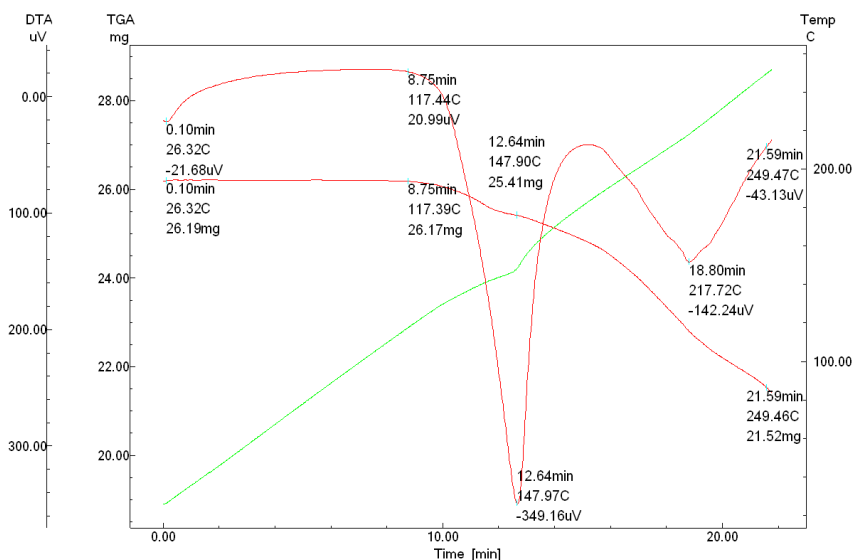


Рис. 5.2 Дериватограма тіотриазоліну

З графічних даних рис.5.2 видно, що діюча речовина тіотриазолін – є термічно стійкою сполукою в діапазоні температур від 26 до 148,00 °С. На восьмій хвилині експерименту при температурі 117,44 °С маса дослідного зразку зменшилась на 0,08% (0,02 мг), а вже на дванадцятій хвилині досліді при температурі 147,90 °С спостерігали ендотермічний ефект, при цьому маса тіотриазоліну зменшилась на 2,98% (0,78 мг). На двадцять першій хвилині експерименту маса тіотриазоліну зменшилась на 17,83% (4,67 мг) при температурі 249,46 °С.

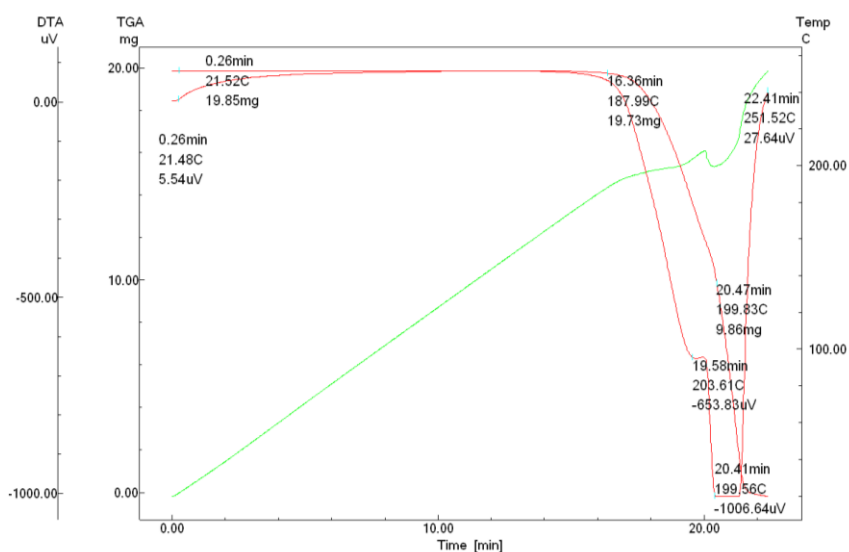


Рис. 5.3 Дериватограма ГАМК

Аналіз дериватограми ГАМК (рис. 5.3) показав, що даний зразок є відносно термічно стабільною сполукою в діапазоні температур від 21 до 187 °С. На шістнадцятій хвилині експерименту при температурі 187,99 °С маса сполуки змінилася на 0,6% (0,12 мг). Потім спостерігали стрімке зниження маси зразку і вже на 20 хвилині маса зразку змінилась на 50,33% (9,86 мг) при температурі 199, 83 °С.

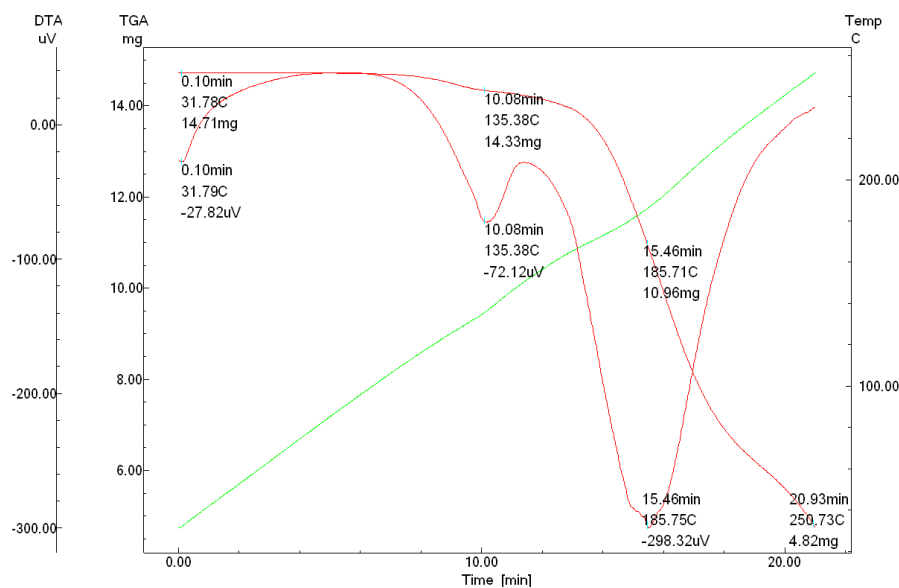


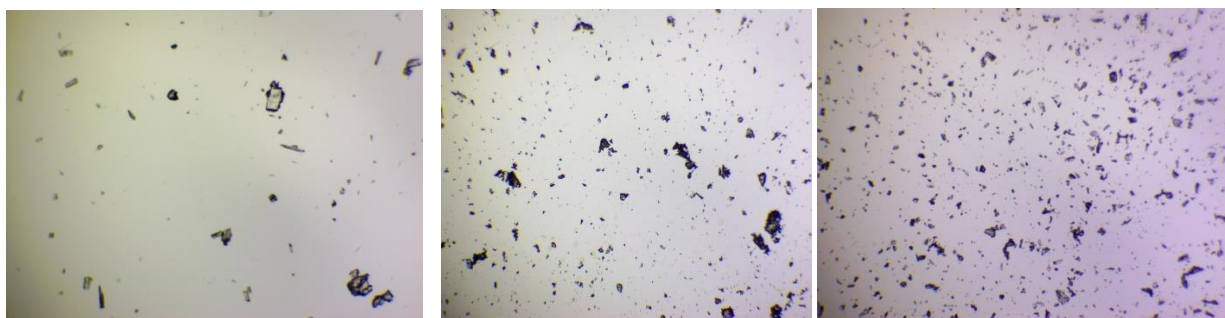
Рис. 5.4 Дериватограма суміші ГАМК та тіотриазоліну

Отримана дериватограма ГАМК та тіотриазоліну (рис. 5.4) демонструє подібний характер теплових ефектів окремих інгредієнтів суміші - це свідчить про відсутність взаємодії компонентів між собою. Так, на десятій хвилині експерименту при температурі 135,38 °С маса зразку змінилась на 2,58 % (0,38 мг), на п'ятнадцятій хвилині зміна маси при температурі 185,75 °С склала 25,49 % (3,75 мг), а в кінці експерименту (двадцять хвилин дослідження) маса зразку змінилася на 67,23% (9,89 мг).

Як видно з наведених дериватограм, суміш ГАМК і тіотриазоліну є сумішшю діючих речовин які не взаємодіють між собою, що дає нам можливість комбінувати їх в одній лікарській формі, а в технологічному процесі виготовлення лікарських форм здійснювати технологічні операції доцільно при температурі не вище 135 °С.

5.3 Розробка складу та технології таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції

По-перше, були проведені морфометричні дослідження порошків ГАМК, тіотриазоліну та їх суміші. Дослідження проводили на мікроскопі Ulab XY-B2BLED. Вивчали розміри кристалів ГАМК та тіотриазоліну, їх технологічні властивості. За даними кристалографії субстанція ГАМК – це кристалічний порошок білого кольору, середнє значення ширини часток порошку – 197 мкм, середнє значення довжини часток порошку ГАМК – 264 мкм. Субстанція тіотриазоліну – це полідисперсний кристалічний порошок у вигляді пластинчастих багатогранників та їх уламків, середнє значення ширини часток - 154 мкм, середнє значення довжини часток порошку тіотриазоліну – 238 мкм. Проведенні дослідження фізико-хімічних та фармако-технологічних показників субстанцій ГАМК та тіотриазоліну дозволили запропонувати можливість отримання таблеток методом вологої грануляції [8, 9, 27]. На рис. 5.3.1 представлені мікроснімки порошків ГАМК, тіотриазоліну та їх суміші.



а)

б)

в)

Рис. 5.5 Мікроснімки порошків: а) ГАМК в масштабі 1:100, б) тіотриазоліну в масштабі 1:100, в) суміші ГАМК з тіотриазоліном в масштабі 1:100.

Далі проводили дослідження, щодо вибору допоміжних речовин для отримання таблеток ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції. Допоміжні речовини за технологічними ознаками згрупували в три групи. ДР,

які вивчалися при розробці таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном наведені в таблиці 5.2.

Таблиця 5.2

Фактори і їх рівні, які вивчалися при створенні таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном

Фактори	Рівні факторів
Фактор А – наповнювачі на основі мікрокристалічної целюлози	a ₁ - МКЦ 102 a ₂ - МКЦ 200 a ₃ - МКЦ 101 a ₄ - МКЦ 301
Фактор В – зв'язуючі розчини	b ₁ - 3%-вий крохмальний клейстер b ₂ - 3% розчин МЦ 100 b ₃ - 3% розчин ГПМЦ 2910 b ₄ - 3% розчин ПВП К-90
Фактор С – змазуючі речовини	c ₁ - кислота стеаринова 1% c ₂ - магній стеарат 1% c ₃ - кальцій стеарат 1% c ₄ - натрій лаурилсульфат

Співвідношення між діючими та ДР було наступним:

Склад на 1 таблетку:

ГАМК	0,200
Тіотриазолін	0,050
Фактор А	0,045
Фактор В	ск. потрібно
<u>Фактор С</u>	<u>0,0030</u>
	0,3000

Готували таблетки ГАМК з тіотриазоліном за класичною схемою, яка використовується для отримання таблеток методом вологої грануляції. Тобто, порошок ГАМК, тіотриазоліну і наповнювача (фактор А) старанно перемішували додавали зв'язуючий розчин (фактор С) в кількості, необхідній для отримання пластичної гомогенної маси. Вологу масу протирали через сито з розміром отворів 3 мм і висушували в сушильній шафі при температурі 40 °С до залишкової вологи не більше 0,50%. Сухі гранули регранулювали через сито з розмірами отворів 1 мм, опудрювали змазуючою речовиною (фактор С), старанно перемішували і пресували таблетки.

Для вивчення трьох факторів, кожен з яких взятий на чотирьох рівнях використовували латинський квадрат третього порядку [10]. Матриця планування експерименту і результати дослідження отриманих таблеток наведені в таблиці 5.3.

Таблиця 5.3

Трьохфакторний експеримент на основі 3x3 латинського квадрату і результати дослідження таблеток-ядер Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном

A	B	C	y ₁	y ₁ '	y ₂	y ₂ '	y ₃	y ₃ '	y ₄	y ₄ '	y ₅	y ₅ '
a ₁	B ₁	c ₁	3	3	1,08	1,13	35,9	34,1	0,11	0,19	5,11	5,54
a ₁	B ₂	c ₂	5	4	2,32	2,55	38,4	40,6	0,81	0,76	2,24	2,16
a ₁	B ₃	c ₃	3	3	1,54	1,65	34,9	31,0	0,74	0,79	4,18	4,43
a ₁	B ₄	c ₄	4	4	2,07	2,34	45,1	43,2	0,15	0,18	2,81	2,53
a ₂	B ₁	c ₂	4	5	1,22	1,54	36,1	34,5	0,65	0,60	4,31	4,54
a ₂	B ₂	c ₃	5	5	1,22	1,25	33,8	32,4	0,06	0,07	5,2	5,54
a ₂	B ₃	c ₄	4	5	1,53	1,65	47,1	45,0	0,15	0,18	3,29	3,55
a ₂	B ₄	c ₁	4	4	1,54	1,63	44,3	42,1	0,18	0,19	3,44	3,54

Продовж. табл. 5.3

a ₃	B ₁	C ₃	3	3	2,74	2,97	34,2	32,7	1,11	1,34	6,20	6,55
a ₃	B ₂	C ₄	5	5	3,09	3,02	52,5	49,8	0,08	0,09	11,52	11,62
a ₃	B ₃	C ₁	5	5	1,58	1,73	53,2	51,7	0,05	0,07	7,04	7,54
a ₃	B ₄	C ₂	5	5	1,1	1,15	42,9	42,5	0,13	0,18	5,29	5,43
a ₄	B ₁	C ₄	3	4	1,03	1,32	65,9	63,7	0,14	0,19	5,13	5,32
a ₄	B ₂	C ₁	5	5	1,91	1,99	57,9	55,7	0,05	0,07	11,06	11,36
a ₄	B ₃	C ₂	4	4	0,87	0,98	37,9	37,7	0,07	0,08	8,55	8,43
a ₄	B ₄	C ₃	3	3	1,17	1,43	34,1	33,9	0,19	0,23	5,47	5,54

Примітка: y_1 і y_1' - зовнішній вигляд таблеток першої і другої серії відповідно, бали; y_2 і y_2' - однорідність в масі таблеток першої і другої серії відповідно, $\pm\%$; y_3 і y_3' - стійкість таблеток до роздавлювання, Н; y_4 і y_4' - стиранисть таблеток першої і другої серії відповідно, $\%$; y_6 і y_5' - час розпадання таблеток першої і другої серії відповідно, хв.

Вивчали вплив природи допоміжних речовин на зовнішній вигляд таблеток, однорідність їх маси, стиранисть, час розпадання та стійкість до роздавлювання [29].

Дисперсійний аналіз (додаток Е) отриманих даних з оцінки зовнішнього виду таблеток показав, що всі фактори статистично значущі: $B > C > A$.

Розглянемо вплив природи зв'язуючих речовин на зовнішній вигляд таблеток (рис. 5.6).

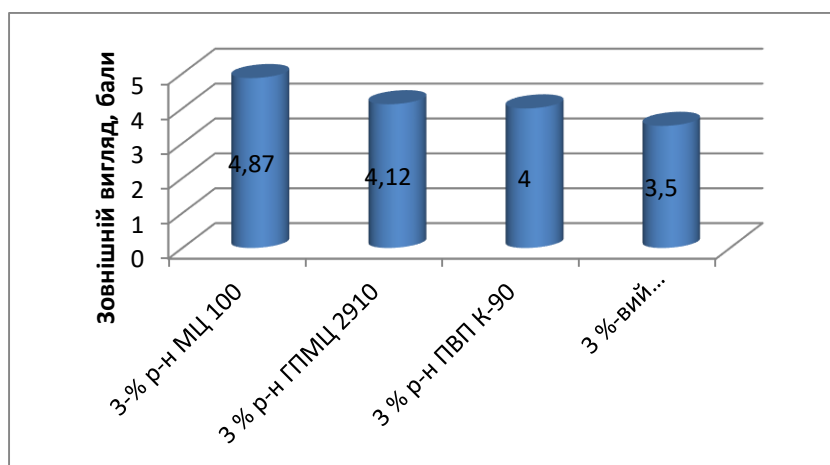


Рис. 5.6 Середні значення зовнішнього вигляду таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних зв'язуючих речовин

Як видно з рис. 5.6, найкращий зовнішній вигляд мали таблетки, для виготовлення яких використовували 3 % р-н МЦ 100. Ця речовина має перевагу над 3 % р-ном ГПМЦ 2910, 3 % р-ном ПВП К-90 та істотну перевагу над 3 %-вим крохмальним клейстером.

Ряд переваг для змащуючих речовин має наступний вигляд: $c_2 > c_1 > c_4 > c_3$. Вплив природи змащуючих речовин на зовнішній вигляд таблеток наведено на рис. 5.7.

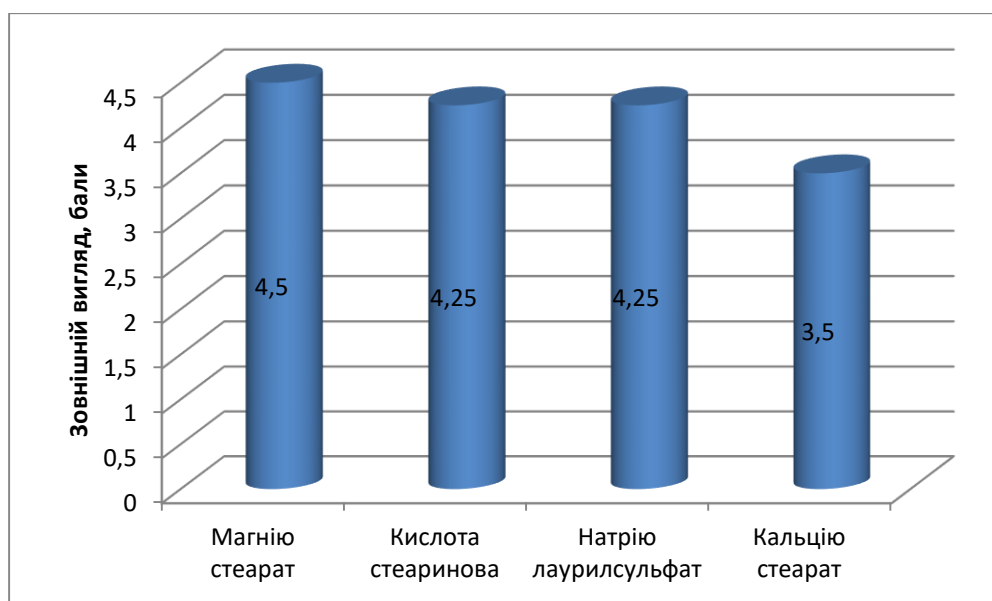


Рис. 5.7 Середні значення зовнішнього вигляду таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних змащуючих речовин

Найкращим виявився магнію стеарат (4,5 бали), якому дещо поступаються кислота стеаринова (4,25 бали) та натрію лаурилсульфат (4,25 бали), та суттєво кальцію стеарат (3,5 бали).

Вплив наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози на зовнішній вигляд таблеток ілюструє наступний ряд переваг: $a_2 > a_3 > a_4 > a_1$ (рис. 5.8).

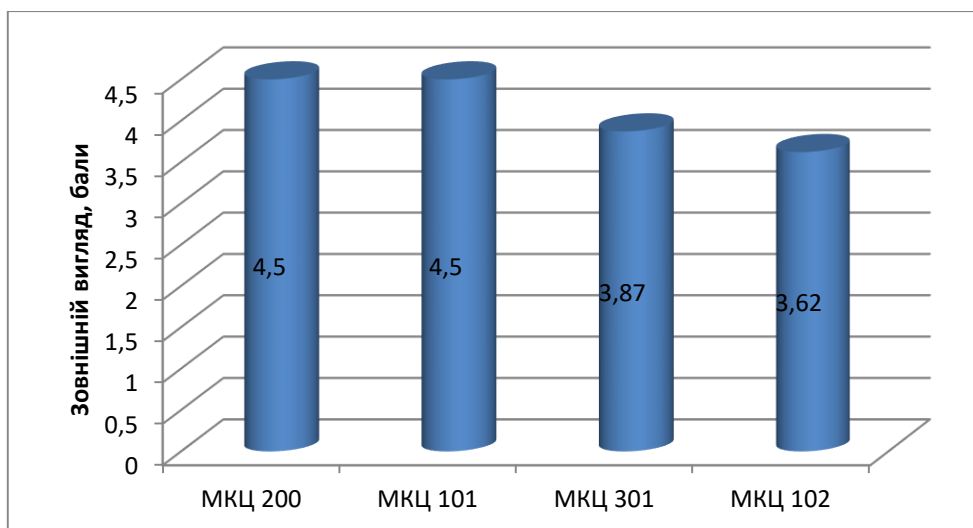


Рис. 5.8 Середні значення зовнішнього вигляду таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози

Як видно з рисунка 5.8, найкраща якість поверхні спресованих таблеток ГАМК з тіотриазоліном спостерігається при використанні МКЦ 200 (4,5 бали). При використанні в якості наповнювача МКЦ 102 якість поверхні таблеток була гіршою (3,62 бали).

Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав, що всі вивчені фактори мають вплив на однорідність маси таблеток ГАМК з тіотриазоліном із силою в ряді: $A > B > C$.

Вплив природи наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози на однорідність маси таблеток наведено на рис. 5.9.

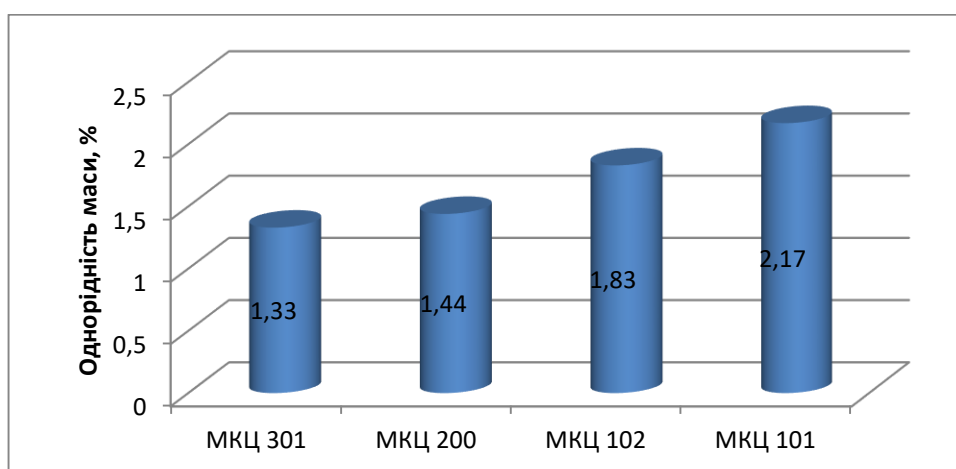


Рис. 5.9 Середні значення однорідності в масі таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози

Порівняння наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози дає наступний ряд переваг: $a_4 > a_2 > a_1 > a_3$. МКЦ 301 має невелику перевагу над МКЦ 200 та суттєву над МКЦ 102 та МКЦ 101.

На рисунку 5.10 наведено вплив природи зв'язуючих речовин на однорідність в масі таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном.

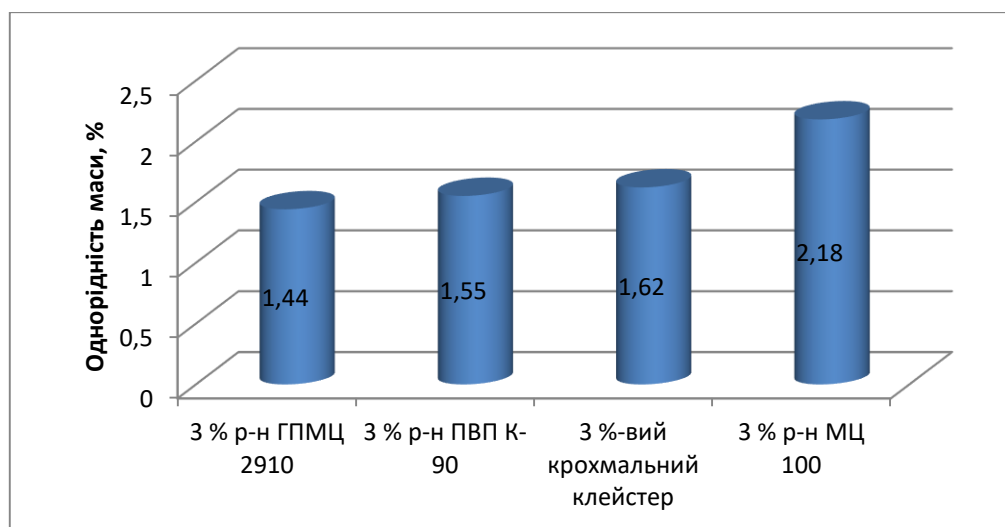


Рис. 5.10 Середні значення однорідності в масі таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних зв'язуючих речовин

Як видно з рис.5.10, ефективність зв'язуючих речовин за їх впливом на однорідність маси ілюструє наступний ряд переваг: $b_3 > b_4 > b_1 > b_2$. Найкращий результат за досліджуваним показником отримали при використанні 3 % р-ну ГПМЦ 2910 ($\pm 1,44$ %). Відхилення від середньої маси таблеток ГАМК з тіотриазоліном при використанні 3 % р-ну ПВП К-90 складало $\pm 1,55\%$, 3-ого крохмального клейстеру $\pm 1,62\%$, 3 % р-ну МЦ 100 $\pm 2,18\%$.

Ряд переваг для змащуючих речовин за впливом на однорідність маси таблеток-ядер має наступний вигляд: $c_2 > c_1 > c_3 > c_4$.

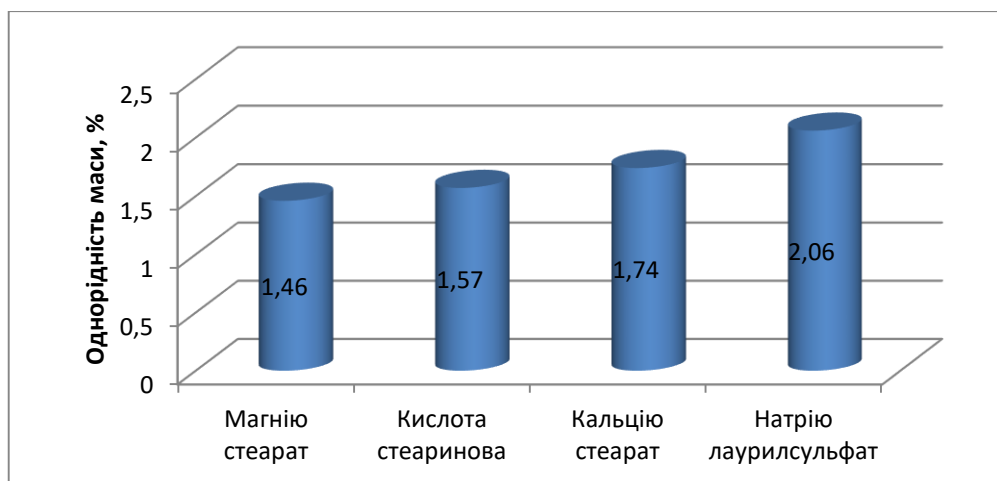


Рис. 5.11 Середні значення однорідності в масі таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних змащувачих речовин

З рис. 5.11 видно, найменше відхилення від середньої маси таблеток отримали при використанні магнію стеарату ($\pm 1,46\%$), який має перевагу над кислотою стеариною ($\pm 1,57\%$), кальцію стеаратом ($\pm 1,74\%$) та суттєву над натрію лаурилсульфатом ($\pm 2,06\%$).

На стійкість таблеток до роздавлювання впливають всі вивчені фактори, а сила впливу визначається наступним рядом: $C > A > B$.

Вплив змащувачих ДР на стійкість таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном до роздавлювання наведено на рисунку 5.12.

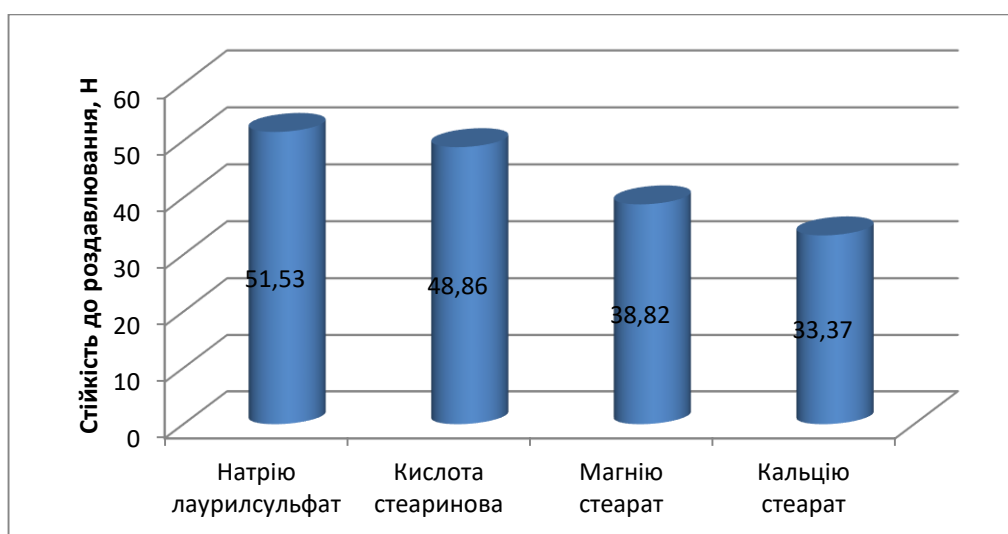


Рис. 5.12 Середні значення стійкості до роздавлювання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних змащувачих ДР

Вплив фактору С на стійкість таблеток до роздавлювання можна розмістити в наступній послідовності: $c_4 > c_1 > c_2 > c_3$. З рис.5.3.8 видно, що найбільш стійкі до роздавлювання таблетки ГАМК з тіотриазоліном були отримані при використанні натрію лаурилсульфат (51,53 Н), який має перевагу над кислотою стеариною (48,86 Н), магнію стеаратом (38,82 Н) і кальцію стеаратом (33,37 Н).

Вплив природи наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози на стійкість до роздавлювання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном представлено на рис. 5.13.

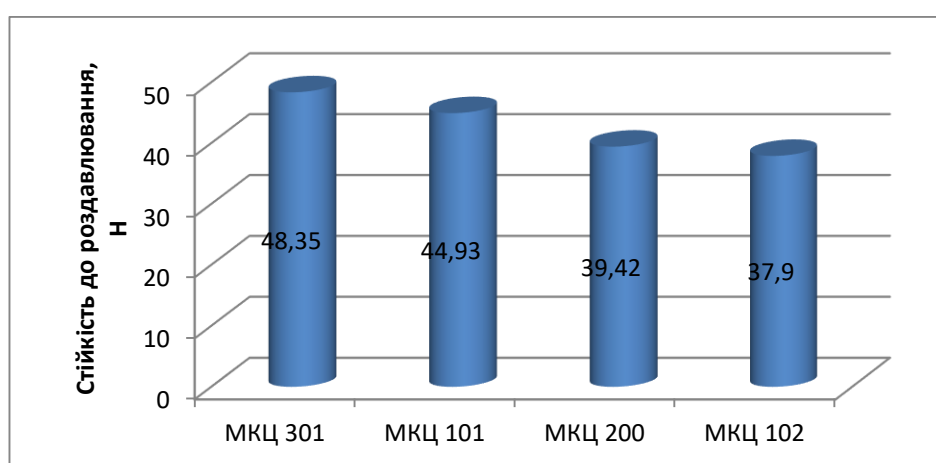


Рис. 5.13 Середні значення стійкості до роздавлювання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози

Серед зразків наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози, МКЦ 301 дозволяє отримати таблетки з найбільшою стійкістю до роздавлювання (48,35 Н). Цьому зразку дещо поступається МКЦ 101 (44,93 Н) та суттєво МКЦ 200 (39,42 Н) і МКЦ 102 (37,9 Н).

Вплив зв'язуючих речовин на стійкість таблеток до роздавлювання має наступний вигляд: $b_2 > b_3 > b_1 > b_4$. Результати дослідження представлені на рис. 5.14.

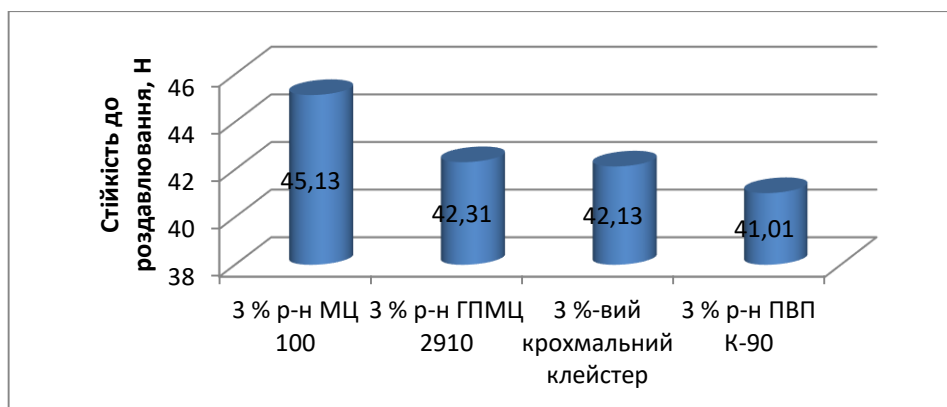


Рис. 5.14 Середні значення стійкості до роздавлення таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних зв'язуючих речовин

Як видно з рис. 5.14, найкращі результати отримали при використанні 3 % розчину МЦ 100 (45,13 Н). Найгіршими з стійкості до роздавлення виявилися таблетки, для виготовлення яких використовували 3 % розчин ПВП К-90 (41,01 Н). При використанні 3 % розчину ГПМЦ 2910 стійкість таблеток до роздавлення складала 42,31 Н, а при використанні 3%-вого крохмального клейстеру 42,13 Н.

Дисперсійний аналіз експериментальних даних показав, що вплив вивчених факторів на стіраність таблеток ГАМК з тіотриазоліном можливо зобразити наступним рядом переваг: $A > B > C$.

Вплив природи наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози на стіраність таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном (рис. 5.15).

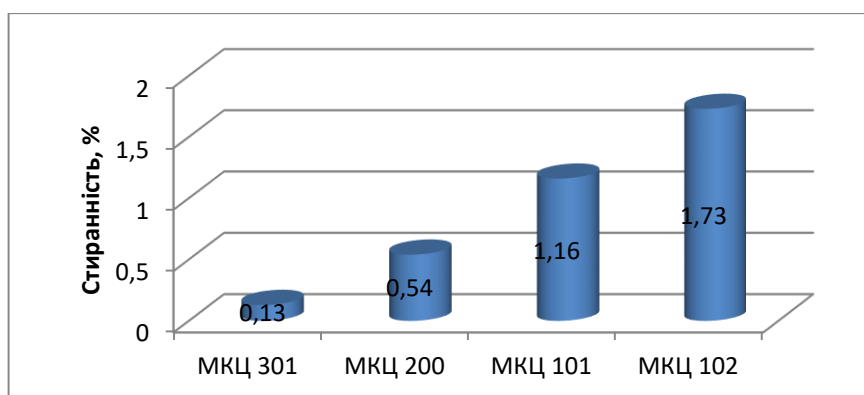


Рис. 5.15 Середні значення стійкості до роздавлення таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози

З рис. 5.15 видно, найменша стиранисть таблеток ГАМК з тіотриазоліном спостерігається при використанні в якості наповнювача на основі мікрокристалічної целюлози МКЦ 301 (0,13%), який має перевагу над МКЦ 200 (0,54 %), МКЦ 101 (1,16 %), МКЦ 102 (1,73 %).

Вплив природи зв'язуючих речовин на стиранисть таблеток ГАМК з тіотриазоліном наведено на рис. 5.16.

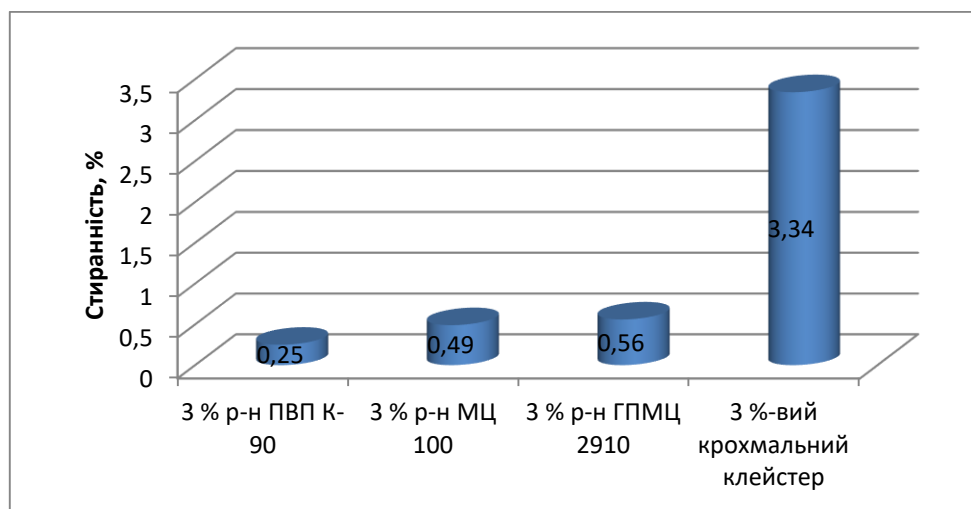


Рис. 5.16 Середні значення стиранисті таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних зв'язуючих речовин

Вплив ефектів зв'язуючих речовин на стиранисть таблеток ілюструє наступний ряд переваг: $b_4 > b_2 > b_3 > b_1$. Серед досліджуваного переліку зв'язуючих речовин найбільш ефективним виявився 3 % розчин ПВП К-90 (0,25 %). Ця речовина має перевагу над іншими досліджуваними зразками: 3 % розчин МЦ 100 (0,49 %) > 3 % розчин ГПМЦ 2910 (0,56%) > 3 %-вий крохмальний клейстер (2,34%).

Вплив природи змашуючих речовин на стиранисть таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном наведено на рис. 5.17. Ефективність впливу фактору С на стиранисть таблеток ілюструє наступний ряд переваг: $c_1 > c_4 > c_2 > c_3$.

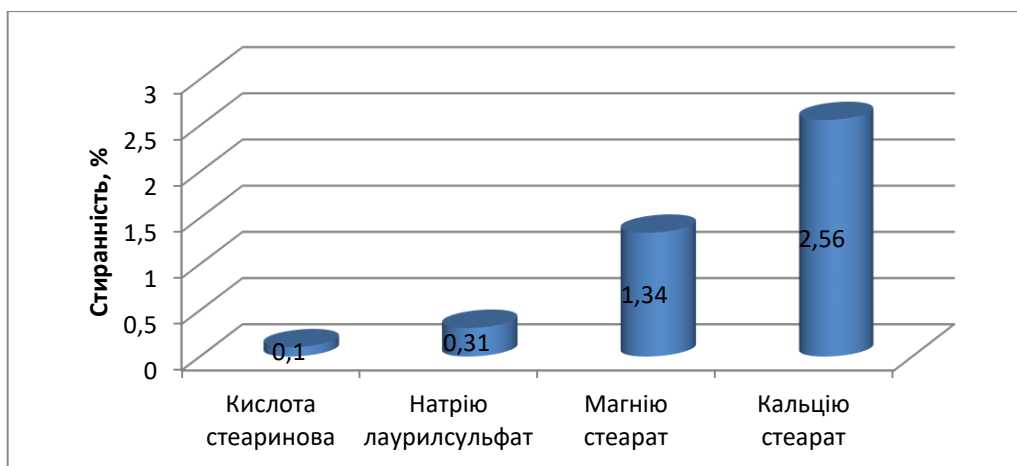


Рис. 5.17 Середні значення стираності таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних змащуючих речовин

Отже кращим серед змащуючих речовин є кислота стеаринова (0,1 %), яка має перевагу над натрію лаурилсульфатом (0,31 %) та суттєву над магнію стеаратом (1,34 %) та кальцію стеаратом (2,56 %).

Дисперсійний аналіз експериментальних даних розпадання таблеток показав статистичну значущість впливу на цей показник всіх факторів: А >В >С. Найбільш швидко розпадалися таблетки при використанні наповнювачів на основі мікростисталічної целюлози. Вплив зразків МКЦ має перевагу порівняно з впливом вивчених зразків зв'язуючих і змащуючих речовин.

Вплив наповнювачів на основі мікростисталічної целюлози на час розпадання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном наведено на рис. 5.18.

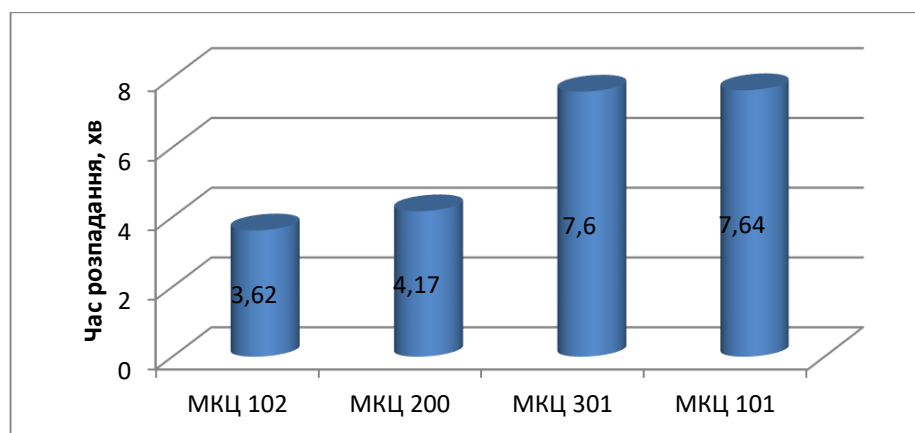


Рис. 5.18 Середні значення часу розпадання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних наповнювачів на основі мікростисталічної целюлози

Як видно з рис. 5.18, найскоріше розпадалися таблетки при використанні як наповнювача МКЦ 102. Йому дещо поступається МКЦ 200. МКЦ 102 має суттєву перевагу над МКЦ 301 та МКЦ 101.

Вплив природи зв'язуючих речовин на час розпадання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном наведено на рис. 5.19.

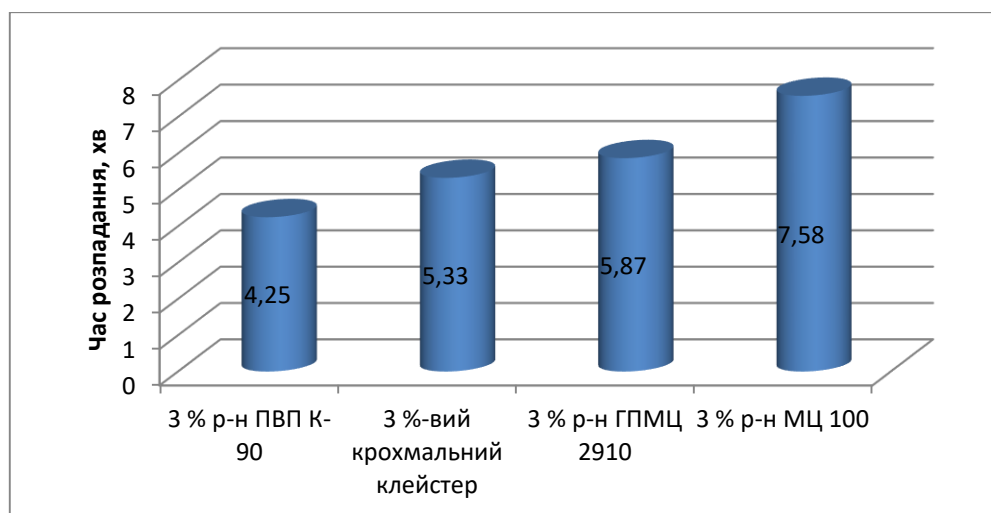


Рис. 5.19 Середні значення часу розпадання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних зв'язуючих речовин

Тобто, при використанні 3 % розчину ПВП К-90 (4,25 хв) в якості зв'язуючої речовини отримували таблетки з найменшим часом розпадання. З близьким значенням за часом розпадання отримували таблетки при використанні 3-вого крохмального клейстеру (5,33 хв) та 3% розчину ГПМЦ 2910 (5,87 хв). Найбільший час розпадання таблеток отримували при використанні 3 % розчину МЦ 100 (7,58 хв).

Ранжувальний ряд для змащуючих речовин має наступний вигляд: $c_2 > c_3 > c_4 > c_1$ (рис. 5.20).

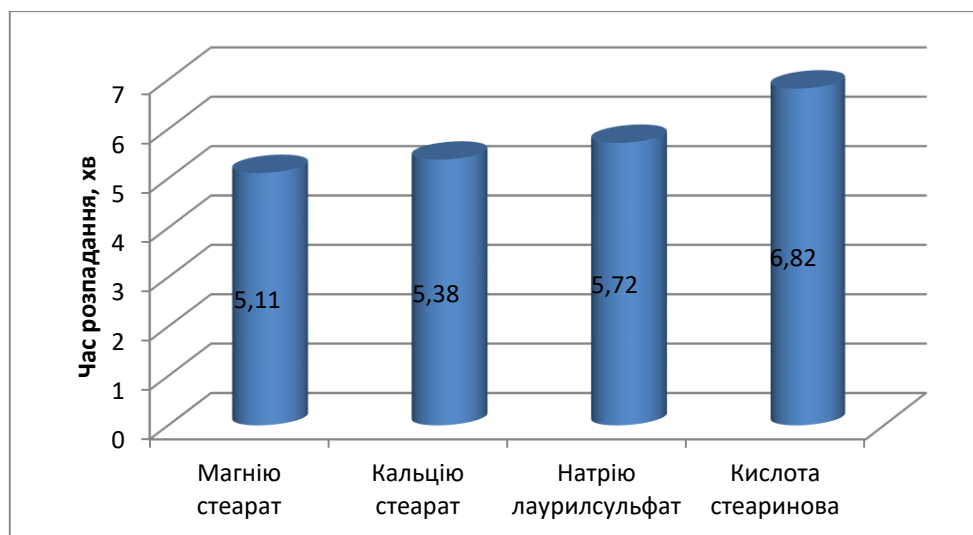


Рис. 5.20 Середні значення часу розпадання таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном для різних змащуючих речовин

Як видно з рис. 5.20, використання магнію стеарату (5,11 хв), в якості змащуючої речовини, дозволяє отримати таблетки з найменшим часом розпадання. При використанні кальцію стеарату час розпадання таблеток ГАМК з тіотриазоліном склав 5,38 хв, натрію лаурилсульфату - 5,72 хв, кислоти стеаринової - 6,82 хв. Слід зазначити, що у всіх серіях дослідів середнє значення часу розпадання таблеток не перевершувало вимоги ДФУ (15 хв).

Проведені нами дослідження дозволили вивчити вплив основних груп ДР, які найчастіше використовуються при створенні таблеток методом вологої грануляції. За дослідженими фармако-технологічними показниками отримані позитивні результати щодо більшості із вивчених ДР. При виборі кращих ДР для створення оптимального складу таблеток ГАМК з тіотриазоліном до уваги приймали усі досліджені відгуки.

Серед вивчених зразків наповнювачів на основі мікрокристалічної целюлози найкращим раціонально вважати - МКЦ 301, за допомогою якої забезпечується найкраща однорідність маси, стійкість до роздавлювання та стираність таблеток. Із зразків зв'язуючих речовин найкращі фармако-технологічні показники таблеток забезпечувались за допомогою 3 % розчину МЦ 100, за допомогою якого забезпечується найкращі зовнішній вигляд,

стійкість до роздавлювання таблеток, із зразків змашуючих речовин - магнію стеарат, за допомогою якого забезпечуються найкращі зовнішній вигляд, однорідність маси та час розпадання таблеток [81, 125].

Таким чином, можемо запропонувати наступний склад таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном:

ГАМК	0,200 г
Морфолінію тіазотат	0,050 г
МКЦ 301	0,0450
3% р-н МЦ 100	0,0020
Магнію стеарат	0,003
	0,3000

5.4 Розробка оптимального складу таблеток ГАМК з тіотриазоліном

Для відібраних кращих допоміжних речовин необхідно встановити оптимальне співвідношення в таблетках ГАМК з тіотриазоліном [74, 75]. Рационально дослідити вплив концентрації розчину МЦ 100, кількості магнію стеарату в складі таблеток та їх середню масу.

Перелік кількісних факторів, які вивчалися при створенні таблеток ГАМК з тіотриазоліном наведено в табл. 5.4.

Таблиця 5.4

Кількісні фактори, які вивчалися при розробці оптимального складу таблеток ГАМК з тіотриазоліном

Фактори	Рівні факторів		
	Нижній «-»	Основний «0»	Верхній «+»
1	2	3	4
x ₁ – концентрація розчину МЦ 100,%	2,5%	3%	3,5%

Продовж. табл. 5.4

1	2	3	4
x_2 – середня маса таблеток, г	0,3	0,325	0,35
x_3 – кількість магнія стеарату в складі таблеток, %	0,5	0,75	1,0

Як наповнювач використовували МКЦ 301, яку вводили до складу таблеток в різних кількостях в залежності від їх середньої маси та кількості магнію стеарату.

Готовили таблетки методом вологої грануляції. Температура сушки гранул була 40⁰С. В залежності від середньої маси таблеток використовували пуанسونи з діаметром 9 або 10 мм.

Для вивчення трьох кількісних факторів використовували дробний факторний експеримент типу 2^{3-1} . За основу був взятий повний факторний експеримент 2^2 з побудовою матриці для 2-х факторів, а для третього фактора використали генеруюче відношення $x_3 = x_1x_2$. Такий план експерименту дозволяє при мінімальній кількості дослідів отримати математичну модель та прийняти рішення про алгоритм руху до оптимуму.

Математична модель для вибраного плану експерименту має вигляд:

$$y = b_0x_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3$$

Матриця планування експерименту за схемою дробного плану та результати дослідження таблеток ГАМК з тіотриазоліном наведені в табл. 5.5.

Таблиця 5.5

Матриця планування дробного факторного експерименту 2^{3-1} та результати дослідження таблеток ГАМК з тіотриазоліном

Номер серії	x_1	x_2	x_3	y_1	y_2	y_3	y_4
1	2	3	4	5	6	7	8

Продовж. табл. 5.5

1	2	3	4	5	6	7	8
1	+	+	+	1,19	65,0	0,18	9,17
2	-	+	-	0,63	60,4	0,13	9,21
3	+	-	-	1,49	39,6	0,28	5,25
4	-	-	+	1,5	36,9	0,49	5,15
5	0	0	0	1,28	51,4	0,23	7,39
6	0	0	0	1,19	52,1	0,29	7,11

Примітка: y_1 – однорідність в масі таблеток, $\pm\%$, y_2 – стійкість таблеток до роздавлювання, Н, y_3 - стиранисть таблеток, %, y_4 – час розпадання таблеток, хв

Для кожного відгуку розраховували дисперсії досліду, проводили перевірку статистичної значущості коефіцієнтів та перевірку адекватності моделі за допомогою F-критерію.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та однорідністю в масі таблеток ГАМК з тіотриазоліном описується наступним рівнянням регресії:

$$y_1 = 1,202 + 0,137x_1 - 0,292x_2 + 0,142x_3$$

Як видно з рівняння регресії, із збільшенням середньої маси таблеток їх однорідність в масі покращується. Коефіцієнт фактора x_2 вдвічі більший коефіцієнтів факторів x_1 і x_2 . Із збільшення концентрації розчину МЦ 100 та кількістю магнію стеарату на стадії опудрення таблеток, їх однорідність в масі погіршується, однак у всіх серія дослідів не перевершує фармакопейні вимоги.

Взаємозв'язок між вивченими фактора та стійкістю таблеток ГАМК з тіотриазоліном до роздавлювання описується рівняння регресії першого порядку:

$$y_2 = 50,47 + 1,625 x_1 + 12,22 x_2 + 0,475x_3$$

Як видно з рівняння регресії, визначальний вплив на стійкість таблеток ГАМК з тіотриазоліном до роздавлювання має середня таблеток, із збільшенням якої досліджуваний показник покращується. Зазначимо, що із збільшенням концентрації розчину МЦ 100 та кількості магнію стеарату в

складі таблеток ГАМК з тіотриазоліном, їх стійкість до роздавлювання покращується.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та стиранистю таблеток ГАМК з тіотриазоліном описується наступним рівнянням регресії:

$$y_3 = 0,27 - 0,04x_1 - 0,115x_2 + 0,065x_3$$

Як видно з рівняння регресії, із збільшенням середньої маси таблеток та концентрації розчину МЦ 100 їх старанність зменшується, а кількості магнію стеарату – збільшується. Зазначимо, що у всіх серіях дослідів стиранисть отриманих таблеток не перевершували $\pm 1\%$.

Взаємозв'язок між вивченими факторами та часом розпадання таблеток ГАМК з тіотриазоліном описується наступним рівнянням регресії:

$$y_4 = 7,19 + 0,015x_1 + 1,99x_2 - 0,01x_3$$

Як видно з рівняння регресії, найбільш суттєво впливає на час розпадання таблеток ГАМК з тіотриазоліном їх середня маса, із збільшенням якої час розпадання підвищується майже на 2 хв, порівняння з середньою масою таблеток, які вивчалися на нижньому рівні.

Проведені дослідження показали, що у багатьох серіях дослідів отримали таблетки ГАМК з тіотриазоліном, які відповідають вимогам ДФУ. Досліди № 5 і 6, які реалізовані на основному рівні теж підтверджують відтворюваність повторних серій. Реалізовані додаткові серії дослідів, які включають середню масу таблеток 0,35 г, 3% концентрацію розчину МЦ 100 та 1% магнію стеарату підтвердили оптимальність виконаних досліджень. Показники оптимальних серій таблеток ГАМК з тіотриазоліном: однорідність маси - $\pm 1,5\%$, стійкість до роздавлювання – не менше 55 Н, стиранисть – не більше 0,5% , розпадання – не більше 7 хв.

На основі проведених досліджень в якості оптимального пропонується наступний склад таблеток ГАМК з тіотриазоліном:

Гамма-аміномасляна кислота	0,200
Тіотриазолін	0,05
МКЦ 301	0,0965
3% розчин МЦ 100	ск.потр.
Магнія стеарат	0,0035

5.5 Вибір плівкоутворюючого покриття для таблеток-ядер ГАМК з морфолінію тіазотатом

Відомо, що аміновмісні лікарські засоби мають низький термін зберігання. Тому, для отриманих таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном, було спрогнозовано використання захисного декоративного покриття. Протягом терміну зберігання перевіряли кількісний вміст діючих речовин, який фактично не змінився, однак якість поверхні таблеток не відповідала вимогам щодо зовнішнього вигляду. Тому, були проведені дослідження із створення захисної полімерної оболонки на поверхні таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном.

Як плівкоутворюючі композиції використовували готові суміші торгової марки Опадрай, які найчастіше використовуються вітчизняними фармацевтичними підприємствами в якості захисного покриття таблеток.

Для покриття таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом використовували наступний перелік плівкоутворюючих систем (табл. 5.6.)

Таблиця 5.6

Плівкоутворюючі системи та їх склад, які використовували для покриття таблеток-ядер ГАМК з морфолінію тіазотатом захисною оболонкою

Назва плівкоутворюючої системи	Склад плівкоутворюючої системи
OPADRY® II Complete film coating system 85F18422 White	Полівініловий спирт, титану діоксид, поліетиленгліколь (макрогол)
OPADRY	ГПМЦ 2910, титану діоксид, тальк, макрогол, заліза оксид жовтий
OPADRY II	Полівініловий спирт, титану діоксид, макрогол тальк, заліза оксид жовтий

Досліджувані плівкоутворюючі покриття при однаковій концентрації забезпечують різну в'язкість, тому для експерименту використовували

рекомендоване виробником Colorcon співвідношення: для покриття з ГПМЦ готували 12 % суспензію, а для покриття на основі ПВС 18 % суспензію.

При нанесенні оболонки використовували установку для нанесення плівкоутворюючого покриття Glatt, об'єм барабану 0,8 л, маса завантаження 400 г. Таблетки при обертанні в котлі прогривають до 40 °С. На таблетки-ядра наносили 3 % плівкоутворювача до досягнення середньої маси таблеток 0,3605 г.

Кожну серію отриманих таблеток оцінювали за зовнішнім виглядом, однорідністю в масі, стійкістю таблеток до роздавлювання, часом розпадання.

Аналіз експериментальних результатів показав, що найкращою плівкоутворюючою системою для нанесення покриття є «OPADRY® II Complete film coating system 85F18422 White».

В ході досліджень була розроблена технологічна схема отримання таблеток Гамма-аміномасляної кислоти з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції (рис. 5.21), яку апробовано на базі ПрАТ «Лекхім-Харків» (Додаток Н).

Технологічний процес отримання таблеток ГАМК з морфолінію тіазотату складається із таких стадій.

Стадія 1. Підготовка виробництва. Контролюються мікробіологічна чистота повітря, приміщень, обладнання, персоналу, вміст механічних часток у повітрі.

Стадія 2. Підготовка сировини. Відважують компоненти: ГАМК, морфолінію тіазотат, МКЦ 301, МЦ 100, магнію стеарат на вагах (КП 1) у тарований маркований збірник (З 2). Далі компоненти маси для таблетування просіюють крізь сито ГФ 3 з діаметром отворів 1 мм у таровані збірники (З 5, З 6). Контролюються кількість зважених компонентів, якість просіву, розмір пор сита.

Стадія 3. Отримання маси для таблетування. Зважені компоненти: ГАМК, морфолінію тіазотат, МКЦ 301 подають у змішувач (ГФ 16). Контролюють

кількість завантажених компонентів, час змішування, зовнішній вигляд. Масу вивантажують у збірник (З 17).

Відмірюють воду очищену у мірник (М 7) і подають до реактора (Р 8), куди завантажують МЦ 100, перемішують протягом 20 хв. Отриману рідку масу охолоджують до кімнатної температури та змішують з ГАМК, морфолінію тіазотатом, МКЦ 301 у грануляторі-змішувачі (ГФ 10) при працюючій приточно-витяжній вентиляції протягом (10 ± 1) хв до рівномірного розподілення вологи в усій масі. Контролюють час розчинення, зовнішній вигляд розчину, час тривалості зволоження, зовнішній вигляд зволоженої маси. Отриману масу передають до збірника (З11). Масу зі збірника (З 11) подають у сушарку з подачею вакууму $0,8 \text{ кгс/см}^2$ (СШ 12) і висушують при температурі $(40 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ протягом 30 хв до залишкової вологості $0,5 \pm 0,1 \%$. Контроль, регулювання температури, вакууму, часу сушіння та залишкової вологості здійснюється автоматично. Суха маса для таблетування відвантажується у збірник (З 13). Зі збірника (З 11) суху масу для таблетування пропускають крізь калібратор (ГФ 12) з діаметром отворів 1,0 мм, збираючи в ємність (З 13). Отриману масу подають у змішувач (ГФ 14) і проводять опудрювання (5 ± 1) хв. Контролюють розмір отворів, час опудрювання. Масу вивантажують у збірник (З 15).

Стадія 4. Таблетування. Масу для таблетування зі збірника (З 15) завантажують у бункер ротаційної таблеткової машини (ГФ 18). Таблетують на прес-інструменті з діаметром отвору матриці 10 мм. Регулювання заповнення матриць проводиться за допомогою регулятора наповнення. Таблетки знепилюють на знепилювачі (ГФ19). Вибірково кожні 20 хв перевіряють масу таблеток за допомогою електронних терезів (КП 21).

Для приготування 18 % плівкоутворювальної суспензії використовують реактор з перемішувачим пристроєм пропелерного типу із змінною частотою обертання, здатним створювати та підтримувати енергійний вихор (лійку) посередині ємності. Діаметр перемішувачого пристрою має бути $1/3-1/2$ діаметра реактора.

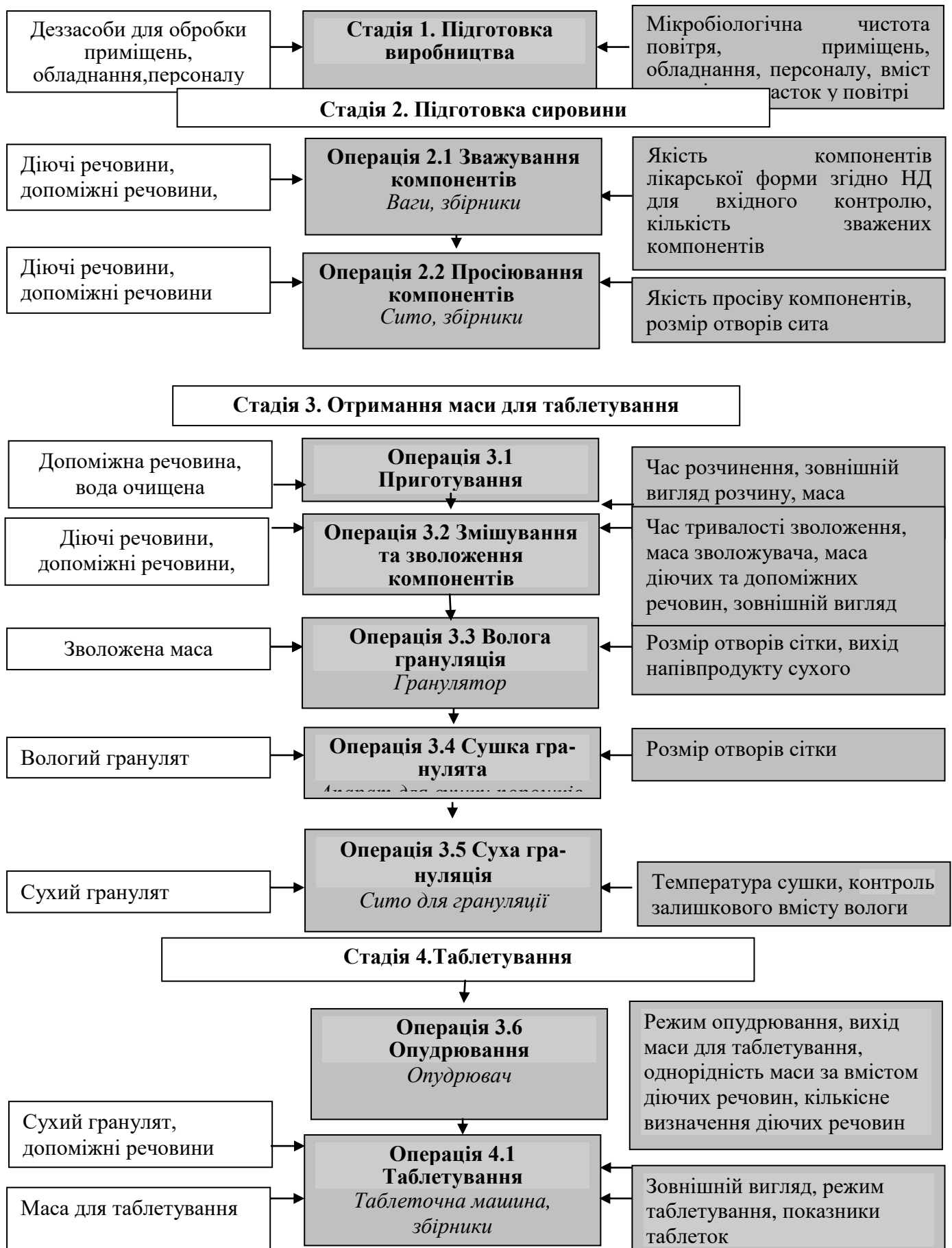
В реактор завантажують воду очищену, включають перемішуючий пристрій з частотою обертів 550-600 об/хв. В рідину між стінками ємності і перемішуючим пристроєм завантажують поступово порціями (у повільному потоці) наважку сухої суміші «OPADRY® II» і перемішують до отримання однорідної суспензії. Після додавання всього порошку при частоті обертів 550-600 об/хв підтримується достатнє перемішування 45 хв. Готову суспензію фільтрують через капронову сітку 250 мкм (60 меш) у збірник, ідентифікують та передають на наступну операцію.

Кондиційні таблетки-ядра завантажують в установку для нанесення покриття. Заливають порцію плівкоутворювальної суспензії до ємності пістолету. Таблетки при обертанні в котлі прогрівають до 40 °С. Контролюють режим нанесення плівкової оболонки, масу плівкоутворювача. По закінченню процесу проміжний продукт контролюють за показниками якості. Після отримання позитивних результатів таблетки, вкриті оболонкою, вивантажують в приймачі, ідентифікують та передають на стадію фасування.

Стадія 5. Фасування, пакування та маркування готової продукції. Таблетки Гамма-аміномасляної кислоти з морфолінію тіазотатом фасують по 10 штук у блістери, які разом з листком-вкладкою вкладають у картонні пачки. На цій стадії проводять контроль препарату за основними показниками якості, перевіряють герметичність, правильність маркування, друку.

Вихідна сировина,
проміжна продукція та
матеріали

Контроль у процесі
виробництва



Продовж. рис. 5.21



Рис. 5.21 Технологічна схема виробництва таблеток, вкритих плівковою оболонкою, ГАМК з морфолінію тіазотатом методом вологої грануляції (сірим кольором відмічені критичні стадії і критичні точки контролю в процесі виробництва)

5.6 Розробка методики визначення ГАМК та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ

Для створених таблеток необхідно розробити методи їх стандартизації. По-перше, необхідно розробити методику визначення діючих речовин в модельній суміші. На теперішній час для стандартизації діючих речовин, які входять до складу готових лікарських форм доцільно застосовувати нові, більш чутливі методи аналізу, зокрема ВЕРХ [28, 326, 327]. Тому, увагу привернув саме цей метод, який дозволяє одночасно провести стандартизацію діючих речовин в одній наважці. В попередніх дослідженнях, були розроблені методики одночасного визначення вмісту амінокислот (гліцин, L-аргінін) та тіотриазоліну шляхом іон-парного хроматографування з використанням кислого буферу – 0,05% розчину трифтороцтової кислоти, тому для визначення ГАМК з тіотриазоліном ми використовували саме цю методику.

В лабораторних умовах було виготовлено шість серій модельної суміші ГАМК та тіотриазоліну в терапевтичних дозах - співвідношення 4:1.

Хроматографували випробуваний розчин модельної суміші і розчин робочого стандартного зразка поперемінно, отримуючи не менше трьох хроматограм для кожного розчину [30]. Дослідження проводили в умовах наведених вище.

Методика за якою проводили дослідження:

Випробуваний розчин. Близько 250 мг (точна наважка) модельної суміші (200 мг ГАМК та 50 мг тіотриазоліна) розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки. 5.0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Розчин робочого стандартного зразка.

Робочий розчин 1. 200 мг (точна наважка) ГАМК (РСЗ відкалібрований ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст ГАМК в СЗ 99,97%) розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки.

Робочий розчин 2. 50 мг (точна наважка) тіотриазоліну (РСЗ Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, відкалібрований по ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст морфолінію тіазотату в СЗ 100 %) розчиняють у 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл та доводять водою до мітки.

Досліджуваний розчин. 5.0 мл робочого розчину 1 та 5.0 мл робочого розчину 2 поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Зразки одержаних хроматограм наведені на рис. 5.22, 5.23.

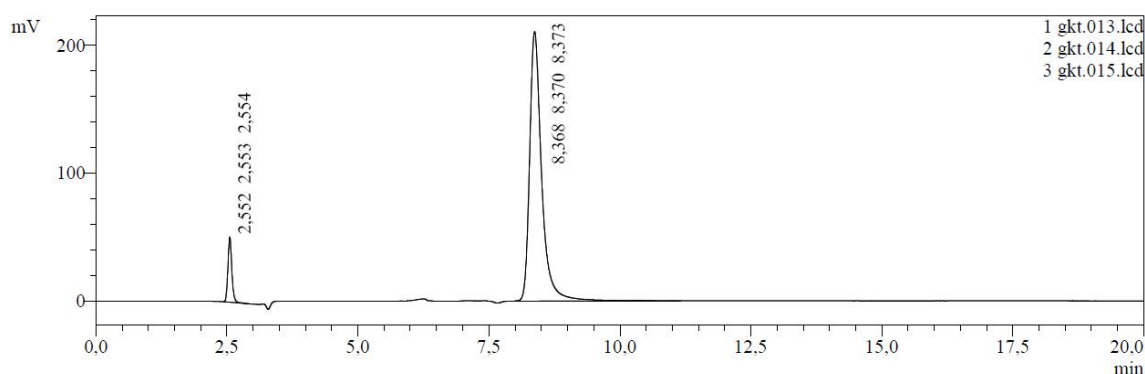


Рис. 5.22 Хроматограма досліджуваного розчину (час утримування ГАМК - 2,55, час утримування морфолінію тіазотату - 8,37)

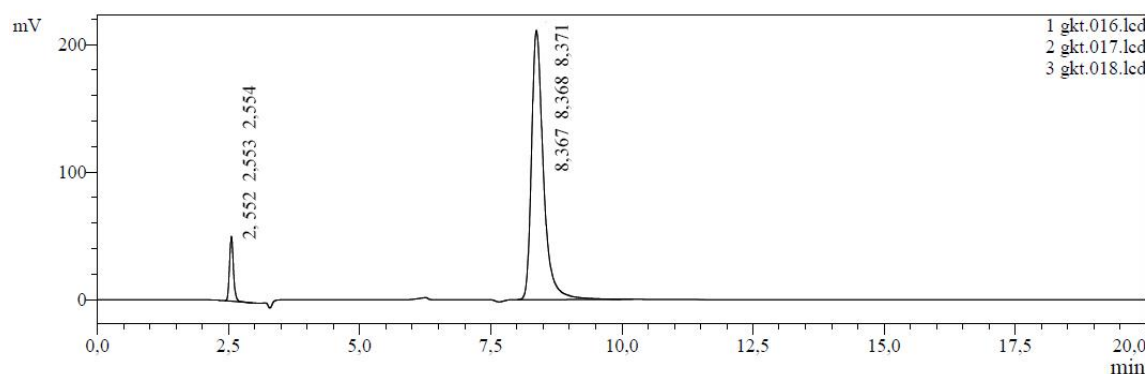


Рис. 5.23 Хроматограма розчину стандартного зразку (час утримування ГАМК - 2,55, час утримування морфолінію тіазотату - 8,37)

Як видно з наведених хроматограм, час утримування ГАМК за цих умов становить 2,55 хв, тіотриазоліну – 8,39 хв. В результаті проведених дослідів були отримали наступні параметри придатності хроматографічної системи:

- ефективність хроматографічної системи за піком ГАМК склала 5726 теоретичних тарілок, за піком тіотриазоліну – 7414;
- коефіцієнт симетрії піку ГАМК – 1,2, тіотриазоліну – 1,0;
- ступінь розділення піків ГАМК і тіотриазоліну складає 13,2.

Результати кількісного визначення вмісту ГАМК та тіотриазоліну в модельній суміші (серія 1) наведені в таблиці 5.7.

Як видно з наведених в таблиці даних, вміст ГАМК в модельній суміші (серія №1) знаходиться в межах від 198,93 мг до 201,23 мг, а тіотриазоліну – від 49,12 мг до 51,18 мг, що відповідає вимогам ДФУ [46]. В подальшому були проаналізовані всі серії модельної суміші. Всі отримані результати відповідали вимогам ДФУ. Таким чином, можна зазначити, що розроблена методика стандартизації ГАМК з тіотриазоліном в модельній суміші в співвідношенні 4:1 є відтворюваною та досить точною.

5.7 Розробка методики визначення ГАМК та тіотриазоліну в таблетковій масі методом ВЕРХ

В попередніх дослідженнях було доведено можливість стандартизації модельної суміші діючих речовин методом ВЕРХ та встановлено оптимальні умови проведення аналізу [85]. Тому, для якісного і кількісного визначення діючих речовин в таблетковій масі використовували саме цей метод.

По-перше приготували розчини.

Методика приготування випробуваного розчину таблеткової маси ГАМК та морфолінію тіазотату.

Близько 350 мг (точна наважка) таблеткової маси поміщають в мірну колбу місткістю 25.0 мл, додають 15.0 мл дистильованої води, перемішують намагнітній мішалці протягом 15 хв, доводять об'єм розчину тим же

Таблиця 5.7

Кількісне визначення вмісту ГАМК та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ

	ГАМК			Статистика	Тіотриазолін			Статистика
	Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг		Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг	
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1.	263535	263244	199,52	$\bar{x}=200,04$ $S_x = 0,89$ $t(0,95)=$ 2,02 $\Delta x = 1,81$ $\Delta \bar{x} = 0,74$ $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$ $= 200,04 \pm$ 0,74 $e_{\bar{x}} = 0,37\%$	3355269	3354253	49,9	$\bar{x}=50,05$ $S_x = 0,71$ $t(0,95)= 2,02$ $\Delta x = 1,43$ $\Delta \bar{x} = 0,58$ $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = 50,05$ $\pm 0,58$ $e_{\bar{x}} = 1,17\%$
	263260				3354202			
	262937				3353288			
2.	264438	264227	200,18	$\bar{x}=200,04$ $S_x = 0,89$ $t(0,95)=$ 2,02 $\Delta x = 1,81$ $\Delta \bar{x} = 0,74$ $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}}$ $= 200,04 \pm$ 0,74 $e_{\bar{x}} = 0,37\%$	3367354	3364940	50,05	$\bar{x}=50,05$ $S_x = 0,71$ $t(0,95)= 2,02$ $\Delta x = 1,43$ $\Delta \bar{x} = 0,58$ $\bar{x} \pm \Delta_{\bar{x}} = 50,05$ $\pm 0,58$ $e_{\bar{x}} = 1,17\%$
	263725				3368242			
	264517				3359224			

1	2	3	4	5	6	7	8	9
3.	263267	263092	199,48		3436218	3439260	51,18	
	263156				3439235			
	262854				3442326			
4.	265489	265294	201,23		3301645	3302150	49,12	
	264568				3299372			
	265824				3305434			
5.	262373	262482	198,93		3384216	3389520	50,46	
	262932				3389824			
	262141				3394521			
6.	264976	264780	200,92		3329237	3337770	49,63	
	264968				3332342			
	264396				3339732			
C C3	263446	263831			3361103	3360637		
	264015				3359313			
	264031				3361494			

розчинником до позначки, перемішують і фільтрують крізь фільтр з діаметром пор не більше 0,45 мкм, відкидаючи перші 5.0 мл фільтрату.

5.0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Зразок хроматограми випробуваного розчину ГАМК та морфолінію тіазотату наведено на рис. 5.24.

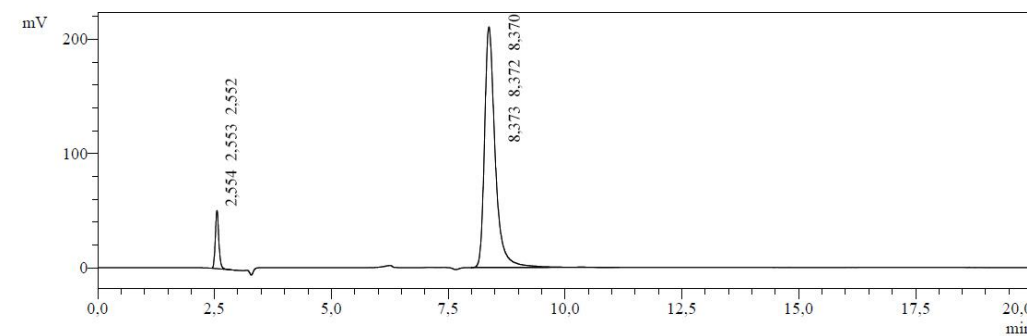


Рис. 5.24 Хроматограма випробуваного розчину таблеткової маси ГАМК та морфолінію тіазотату (час утримування ГАМК - 2,55, час утримування морфолінію тіазотату - 8,37)

Методика приготування стандартного розчину порівняння (розчину порівняння)

Розчин порівняння 1. 200 мг (точна наважка) ГАМК (РСЗ відкалібрований ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст ГАМК в СЗ 99,98%) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння 2. 50 мг (точна наважка) морфолінію тіазотату (РСЗ Державного підприємства «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, відкалібрований по ФСЗ ДФУ, відсотковий вміст морфолінію тіазотату в СЗ 100 %) розчиняють в 10 мл води в мірній колбі на 25.0 мл і доводять водою до мітки.

Розчин порівняння. 5.0 мл розчину порівняння 1 і 5.0 мл розчину порівняння 2 поміщають в мірну колбу на 50.0 мл і доводять водою до мітки. Розчини застосовують свіжоприготованим.

Зразок хроматограми розчину стандартного зразку ГАМК та морфолінію тіазотату наведено на рис. 5.25.

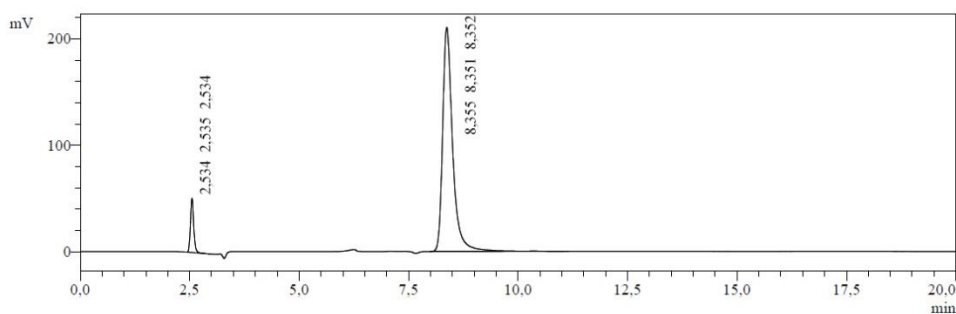


Рис. 5.25 Хроматограма розчину стандартного зразку ГАМК та морфолінію тіазотату (час утримування ГАМК - 2,53, час утримування морфолінію тіазотату - 8,36)

Вміст ГАМК та морфолінію тіазотату в таблетковій масі у перерахунку на одну таблетку, розраховували за формулою 3.2.

Результати аналізу шести зразків таблеткової маси методом ВЕРХ наведені в табл. 5.8.

З наведених в таблиці 5.8 даних видно, що кількісний вміст діючих речовин відповідає вимогам ДФУ. Таким чином, запропонована методика ВЕРХ є відтворюваною і високоточною.

5.8 Визначення доброякісності таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом

Відповідно до вимог ДФУ якість таблеток характеризується цілим рядом показників.

В нашій роботі ми зупинимось на деяких з них, а саме опису, середній масі, ідентифікації, розпадання, розчинення, кількісне визначення. Проводили розробку методів стандартизації на 6 серіях таблеток з використанням методик, наведених у розділі 2.

Таблиця 5.8

Результати кількісного визначення вмісту ГАМК та морфолінію тіазотату в таблетковій масі методом ВЕРХ

№	ГАМК				Статистика	Морфолінію тіазотат			Статистика
	Площа піку	Середня площа піку	Маса наважки таблеткової маси	Знайдено, мг		Площа піку	Середня площа піку	Знайдено, мг	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1.	262056	261543	350,02	197,83	$\bar{x} = 200,06$ $S_x = 1,47$ $t(0,95) = 2,02$	3277358	3271704	48,74	$\bar{x} = 50,34$ $S_x = 0,39$ $t(0,95) = 2,02$
	261340					3268231			
	261234					3269524			
2.	263132	263569	350,01	199,47	$\Delta x = 2,96$ $\bar{\Delta x} = 1,21$	3346217	3346118	49,85	$\Delta x = 0,79$ $\bar{\Delta x} = 0,33$
	264049					3339423			
	263526					3352713			
3.	264127	264008	349,98	199,82	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $200,06 \pm 1,21$ $e^{\bar{x}} = 0,60\%$	3336763	3335092	49,69	$\bar{x} \pm \Delta \bar{x} =$ $50,34 \pm 0,33$ $e^{\bar{x}} = 0,65\%$
	263946					3342641			
	263952					3325873			

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
4.	265869	265694	349,99	201,09		3359872	3358680	50,04	
	264921					3366278			
	266293					3349891			
5.	268198	267089	350,00	202,14		3457434	3455431	51,48	
	267289					3458987			
	265770					3449873			
6.	264979	264316	350,02	200,03		3384937	3374406	50,27	
	264985					3359783			
	262983					3378497			
СЗ	264672	264182	ГАМК 199,98 та морфолінію тіазотату 50,01			3364342	3356762		
	263982					3351422			
	263893					3354523			

Склад таблетки:

ГАМК	0,200 г
Морфолінію тіазотат	0,050 г
МКЦ 301	0,0965
Магнію стеарат	0,0035
3% р-н МЦ 100	Qs
OPADRY® II 85F18422 White	Qs
	0,3605

Опис. Таблетки, вкриті оболонкою білого кольору, круглої форми, з двоопуклою поверхнею. На розламі видно ядро білого кольору.

Ідентифікація. Для якісного визначення діючих речовин у складі таблеток було використано метод ВЕРХ, який дозволяє одночасно проводити як ідентифікацію, так і кількісне визначення [46].

Наявність ГАМК та тіотриазоліну в таблетках визначають наступним чином: на хроматограмі випробуваного розчину при визначенні "тесту кількісне визначення" час утримування піків повинен співпадати з часом утримування піків розчину робочого стандартного зразку ГАМК (морфолінію тіазотату) (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.29) [46]. .

Середня маса (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.9.5). Середня маса таблеток має бути $0,3325 \pm 0,3675$ г.

Дослідження проводили на 6-ти серіях отриманих таблеток. Встановили, що середня маса розроблених таблеток складає від 348,9 мг до 362,5 мг, тобто лежить у допустимих межах і відповідає вимогам ДФУ [46].

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 ГАМК з морфолінію тіазотатом, отриманих в лабораторних умовах [46].

Отримані результати показали, що в кожній з 10 випробуваних таблеток вміст ГАМК знаходиться в межах 97,83 % - 99,72 %, а відносне стандартне відхилення становить від 0,01% до 0,96%, морфолінію тіазотату 97,89% - 99,63%, а відносне стандартне відхилення становить від 0,1% до 0,94% що відповідає вимогам ДФУ за однорідністю вмісту діючої речовини.

Результати проведених досліджень наведені в дод. Ж.

Супровідні домішки. Визначення проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ, 2.2.29), в умовах описаних в розділі «Кількісне визначення» [45].

Розчини використовують свіжоприготованими.

Випробовуваний розчин. Близько 350 мг (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають в мірну колбу місткістю 50.0 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.

10.0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 50.0 мл та доводять водою до мітки.

Зразок хроматограми випробовуваного розчину наведено на рис. 5.26

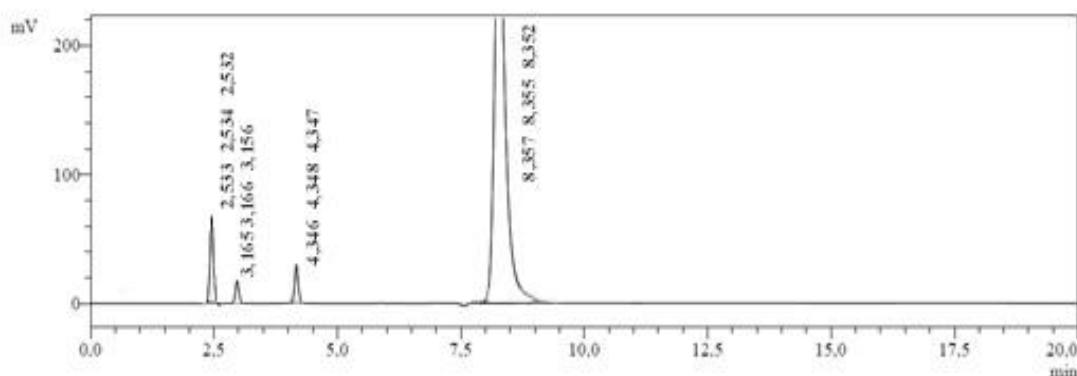


Рис. 5.26 Хроматограма випробовуваного розчину

Розчин порівняння. 10,0 мг СЗ 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону (СЗ ДФУ) і 10,0 мг СЗ ацетилтіосемікарбазиду (СЗ ДФУ) розчиняють у воді, доводять

об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл і перемішують. (розчин (а)).
1,0 мл розчину (а) доводять рухомою фазою до 100,0 мл і перемішують).

Зразок хроматограми розчину порівняння наведено на рис. 5.27

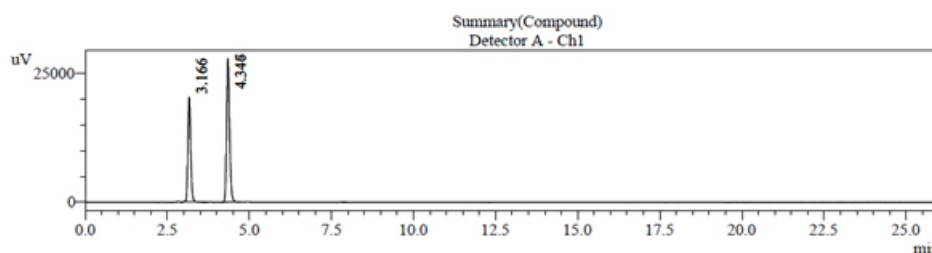


Рис. 5.27 Хроматограма розчину порівняння

Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи. 50,0 мг СЗ морфолінію тіазотату розчиняють у воді, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл і перемішують. 20,0 мл одержаного розчину і 1,0 мл розчину (а) доводять рухомою фазою до 100,0 мл і перемішують.

Хроматографують розчин для перевірки придатності хроматографічної системи отримуючи не менше 3 хроматограм.

Придатність хроматографічної системи:

- ступінь розділення піків 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону і ацетилтіосемікарбазиду, розрахований з хроматограм розчину для перевірки придатності хроматографічної системи, має бути не менше 3;
- ступінь розділення піків 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону і тіотриазоліну, розрахований з хроматограм розчину для перевірки придатності хроматографічної системи, має бути не менше 4.

Хроматографують випробуваний розчин і розчин порівняння отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного з розчинів. На хроматограмі випробуваного розчину площа додаткових піків не повинна перевищувати площі піків на хроматограмі розчину порівняння (не більше 0,5% 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону і не більше 0,5% ацетилтіосемікарбазиду).

Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо виконуються вимоги тесту «Придатність хроматографічної системи» [46].

Розпадання. Дослідження проводили згідно з ДФУ, 2.9.1. В 6-ти серіях таблеток значення досліджуваного показника не перевищувало 15 хв.

Розчинення. Тест «Розчинення» проводили відповідно до вимог ДФУ (2 Вид., том 1 п. 2.9.3) [161]. Мають виконуватися вимоги ДФУ.

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

Визначення кількісного вмісту діючих речовин в модельній суміші та таблетковій масі проводили методом ВЕРХ, тому в тесті «Розчинення» використовували саме цей метод. 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) ГАМК поміщають в мірну колбу на 100.0 мл. 10.0 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 ГАМК з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 5.26 та 5.27.

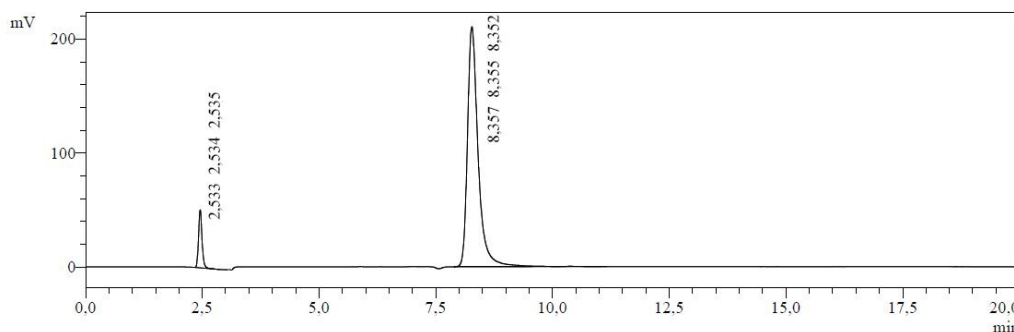


Рис. 5.26 Хроматограма випробуваного розчину ГАМК з морфолінію тіазотатом

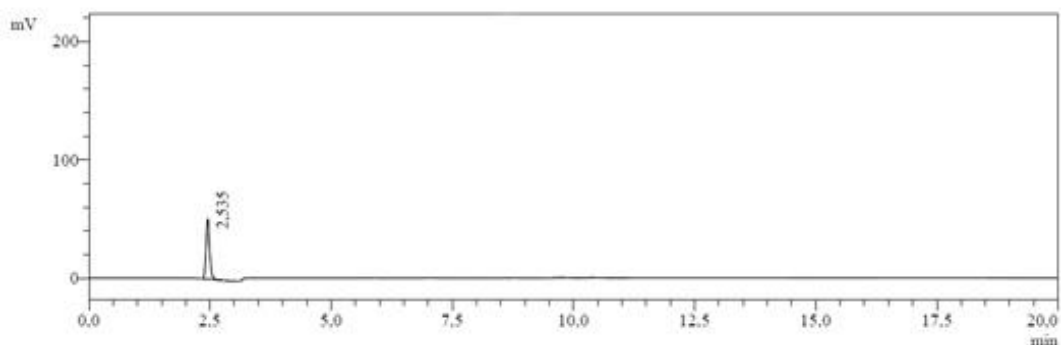


Рис. 5.27 Хроматограма розчину порівняння ГАМК

Вміст ГАМК, який перейшов у розчин з таблетки, у відсотках, вираховують за формулою 3.3.

Як видно з наведених в таблиці даних, відсотковий вміст діючої речовини (ГАМК), що перейшла в розчин з таблеток з ГАМК та морфолінію тіазотатом через 45 хв становить від 95,12 до 98,82 відсотків, що лежить в межах відповідно вимог ДФУ (табл. 5.9).

Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12, 2.6.13 [46]. Під час технологічного процесу отримання нестерильних лікарських форм можливе забруднення препаратів макроорганізмами, внаслідок чого його стабільність під час зберігання може знижуватись, що негативно впливає на здоров'я пацієнтів. На сьогодні, для кожного виду лікарської форми, ДФУ чітко регламентує максимально допустимий рівень контамінації макроорганізмами. Для проведення досліджень використовували зразки препарату, відібрані за умов, що забезпечували попередження стороннього мікробного забруднення. Проводили вивчення мікробіологічної чистоти препарату методом підрахунку колоній на чашках Петрі. По-перше, 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.

Таблиця 5.9

**Результати тесту «Розчинення» зразків таблеток ГАМК з морфолінію
тіазотатом методом ВЕРХ**

№ лабораторної серії	Номер досліджу	Вміст ГАМК в одній таблетці	Площа піку ГАМК	Знайдено у відсотках
1	2	3	4	5
1	1	0,2000	254146	96,42
	2		255991	97,12
	3		259444	98,43
	4		257467	97,68
	5		254014	96,37
	6		257810	97,81
2	1	0,2000	254963	96,73
	2		257836	97,82
	3		256571	97,34
	4		255306	96,86
	5		257652	97,75
	6		255517	96,94
3	1	0,2000	258680	98,14
	2		254041	96,38
	3		260736	98,92
	4		257599	97,43
	5		260472	98,82
	6		257151	97,56

Продовж. табл. 5.9

1	2	3	4	5
4	1	0,2000	254700	96,63
	2		252617	95,84
	3		254014	96,37
	4		255464	96,92
	5		251431	95,39
	6		255517	96,94
5	1	0,2000	257863	97,83
	2		260024	98,65
	3		258100	97,92
	4		258627	98,12
	5		260261	98,74
	6		255596	96,97
6	1	0,2000	252591	95,83
	2		254252	96,46
	3		250720	95,12
	4		251141	95,28
	5		254199	96,44
	6		255280	96,85
Розчин порівняння	РСЗ ГАМК 0,2002	263846		

Для визначення загального числа аеробних мікроорганізмів (ТАМС) використовували соєво-казеїновий агар, для обчислення загального числа дріжджових та пліснявих грибів (ТУМС) – 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 .

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.

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.

Для визначення *Staphylococcus 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.

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) [45]:

- 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 140 КУО в 1 г.
- ТУМС 14 КУО в 1 г.
- *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. в 1 г зразка не виявлені, що повністю задовільняє всі вимоги ДФУ [45, 46].

Таким чином, проведені дослідження мікробіологічної чистоти показали, що таблетки ГАМК з тіотриазоліном є біологічно чистою дозованою формою.

Кількісне визначення проводять відповідно до вимог ДФУ (ДФУ 2 видання, Том 1 п. 2.2.46) [46]. Вміст ГАМК в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 185,0 мг до 215,0 мг.

Вміст морфолінію тіазотату в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 45,0 мг до 55,0 мг.

Дослідження проводили згідно вище наведених методик ВЕРХ та у тих самих умовах. Вміст ГАМК (морфолінію тіазотату) в одній таблетці, в грамах, розраховують за формулою 3.4.

Приклад хроматограми випробуваного розчину таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 5.28.

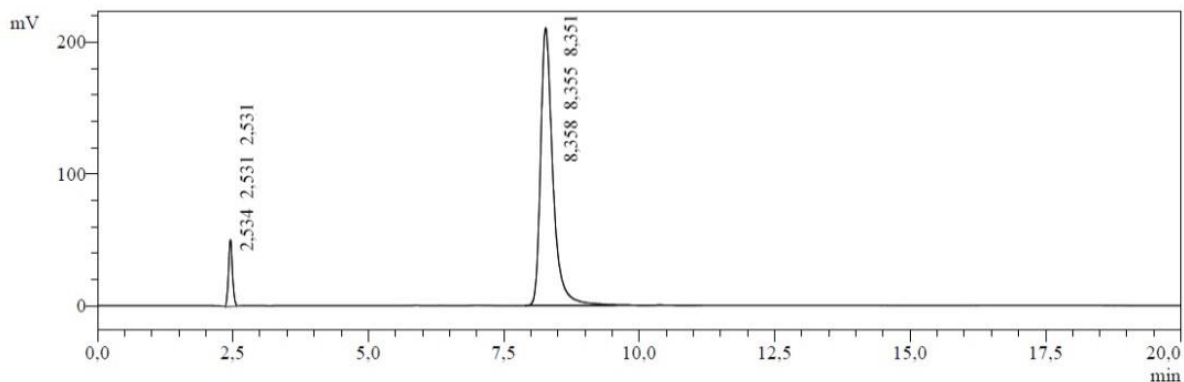


Рис. 5.28 Хроматограма випробуваного розчину таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом

Приклад хроматограми розчину порівняння ГАМК з морфолінію тіазотатом наведено на рис. 5.29.

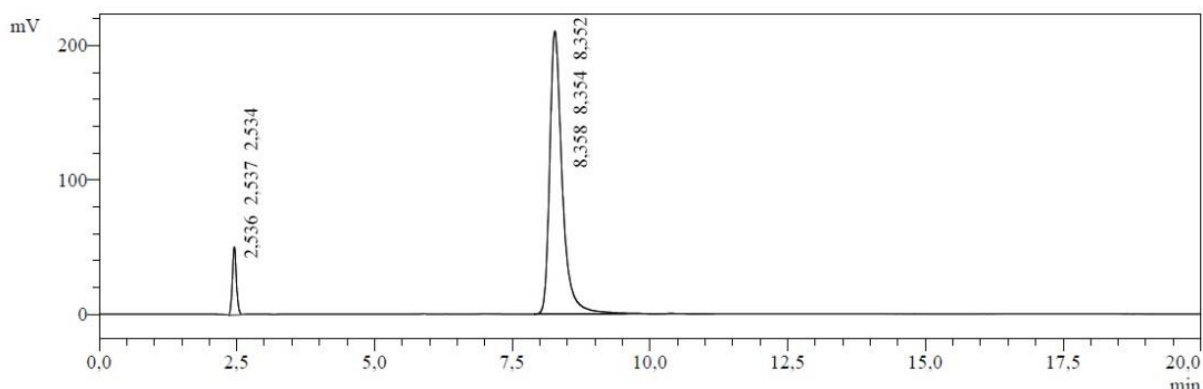


Рис. 5.29 Хроматограма розчину порівняння ГАМК з морфолінію тіазотатом

Результати проведених досліджень кількісного вмісту діючих речовин таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом наведені в табл. 5.8.2. З наведених в таблиці даних видно, що в досліджених серіях вміст ГАМК становив від 197,58 мг до 202,28 мг, морфолінію тіазотату - від 48,53 мг до 51,34 мг, що відповідає вимогам ДФУ, яка регламентує вміст гліцину - $200 \text{ мг} \pm 7,5\%$, морфолінію тіазотату - $50 \text{ мг} \pm 10\%$.

Таблиця 5.10

**Результати кількісного визначення ГАМК в таблетках методом
ВЕРХ**

Зразок	Наважка а таблеток	ГАМК				Морфолінію тіазотат			
		Площа, S, mV*sec		Знайдено в мг	Статистика	Площа, S, mV*sec		Знайдено в мг	Статистика
			середня				середня		
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
№ 1	350,1	26212	26122	197,58	\bar{x} =200, 00 S_x = 1,57 $t(0,95)$ = 2,02	32628	32596	48,53	\bar{x} =49,96 S_x = 1,03 $t(0,95)$ = 2,02 Δx =2,09 $\Delta \bar{x}$ = 0,86 $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ = 49,96 $\pm 0,86$ $e^{\bar{x}}$ = 1,71%
		3	9			72	33		
		26023				32575			
		4				34			
		26133				32584			
№ 2	349,9	26454	26377	199,62	\bar{x} =200, 00 S_x = 1,57 $t(0,95)$ = 2,02 Δx =3,17 $\Delta \bar{x}$ = 1,30 $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ = 200,00 $\pm 1,30$ $e^{\bar{x}}$ = 1,64%	34492	34464	51,34	\bar{x} =49,96 S_x = 1,03 $t(0,95)$ = 2,02 Δx =2,09 $\Delta \bar{x}$ = 0,86 $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ = 49,96 $\pm 0,86$ $e^{\bar{x}}$ = 1,71%
		6	6			39	04		
		26373				34515			
		9				18			
		26304				34384			
№ 3	350,0	26398	26455	200,15	\bar{x} =200, 00 S_x = 1,57 $t(0,95)$ = 2,02 Δx =3,17 $\Delta \bar{x}$ = 1,30 $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ = 200,00 $\pm 1,30$ $e^{\bar{x}}$ = 1,64%	34198	34144	50,85	\bar{x} =49,96 S_x = 1,03 $t(0,95)$ = 2,02 Δx =2,09 $\Delta \bar{x}$ = 0,86 $\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$ = 49,96 $\pm 0,86$ $e^{\bar{x}}$ = 1,71%
		1	1			58	86		
		26483				33978			
		1				12			
		26484				34257			
		2		87					

Продовж. табл. 5.10

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
№ 4	350,2	26596 7 26625 2 26498 4	26573 4	200,93		33028 92 33067 98 32989 85	33028 92	49,16	
№ 5	349,8	26804 7 26647 3 26712 3	26721 4	202,28		33676 92 33480 13 33245 96	33467 67	49,87	
№ 6	350,2	26395 2 26413 7 26328 2	26379 0	199,46		33614 32 33593 83 33631 27	33613 14	50,03	
<i>Розч ин порі внян ня</i>	РСЗ ГАМК 199,8 РСЗ морфо лінію тіазота ту 50,02	26462 8 26364 9 26383 0	26403 6			33596 25 33628 13 33538 22	33587 53		

В ході дослідження розроблена специфікація на таблетки ГАМК з морфолінію тіазотатом, а також розроблена методика якісного та кількісного визначення діючих речовин в таблетках методом ВЕРХ. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, середня маса, однорідність дозування, мікробіологічна чистота, розпадання, супровідні домішки, розчинення та кількісне визначення [80]. В ході дослідження складено проект МКЯ (Додаток О), який в подальшому планується запропонувати заводу-виробнику.

5.9 Валідація розроблених методик кількісного визначення таблеток ГАМК та тіотриазоліну

Для того, щоб аналітична методика зайняла гідне місце в системі забезпечення якості, сприяла своєму призначенню, тобто гарантувала достовірні та точні результати аналізу, передбачена процедура валідації аналітичних методик. Процедура проведення валідації розробляється під конкретну задачу з урахуванням умов проведення та набору необхідних випробувань. Послідовність розгляду валідаційних характеристик та об'єм експерименту залежить від методу аналізу, допусків вмісту окремих інгредієнтів за НТД, обраного аналітичного діапазону, типу випробувань та інших факторів. Державна Фармакопея України 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 ГАМК та тіотриазоліном. Крім того, була розрахована гранична розрахункова невизначеність методики кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну в таблетках з даними діючими речовинами.

З практичної точки зору, концентрацію і аналітичні сигнали доцільно представляти в нормалізованих координатах. Це дозволяє сформулювати єдині критерії, пов'язані тільки з допусками вмісту, але не залежать від специфіки

конкретних речовин. Спосіб визначення нормалізованих координат X_i , Y_i , Z_i наведено в 3.5.

Проводили валідаційні дослідження з використанням хроматографу моделі LC-20 Prominence Shimadzu в наступній комплектації: автосамплер SIL-20A, детектор SPD-20AV, два насоси LC-20AD, термостат CTO-20A, системний контролер CBM-20 ALITE.

В дослідженнях використовували як елюент водний розчин 3,4 г/л Cu_4NHSO_4 та 0,05% трифтороцтової кислоти; колонку Hypersil ODS-C18-5u, 4,6 x 250 мм, діаметр часток 5 мкм; аналітична довжина хвилі детектора: 220 нм; об'єм проби: 20 мкл швидкість рухомої фази: 1 мл/хв. В попередніх дослідженнях нами було запропоновано проводити одночасне визначення вмісту ГАМК та тіотриазоліну шляхом іон-парного хроматографування з використанням кислого буферу – 0,05% розчину трифтороцтової кислоти.

Межі: вміст ГАМК 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.

Приготування досліджуваного розчину та розчину порівняння ГАМК та тіотриазоліну проводили відповідно до методики, яка застосовувалася при валідаційному дослідженні аргініну та гліцину, яка наведена вище.

Специфічність. Після приготування розчинів за методикою, яка представлена вище, проводимо їх аналіз за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії. Критеріями прийнятності є: 1) На хроматограмах розчину «плацебо» препарату (зразок 0) повинні бути відсутні піки з часом утримування, співпадаючим з часом утримування ГАМК з тіотриазоліном на хроматограмах випробуваного розчину; 2) Час утримування піків ГАМК та тіотриазоліну на хроматограмах випробуваного розчину повинні співпадати з часом утримування піків ГАМК та тіотриазоліну на хроматограмах розчину порівняння ГАМК та тіотриазоліну; 3) Піки ГАМК та тіотриазоліну на хроматограмах випробуваного розчину повинні добре

розділятися з піками інших можливих домішок та самих субстанцій ГАМК та тіотриазоліну.

Специфічність методики визначення ідентифікації та кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну продемонстрована на рис. 5.30.

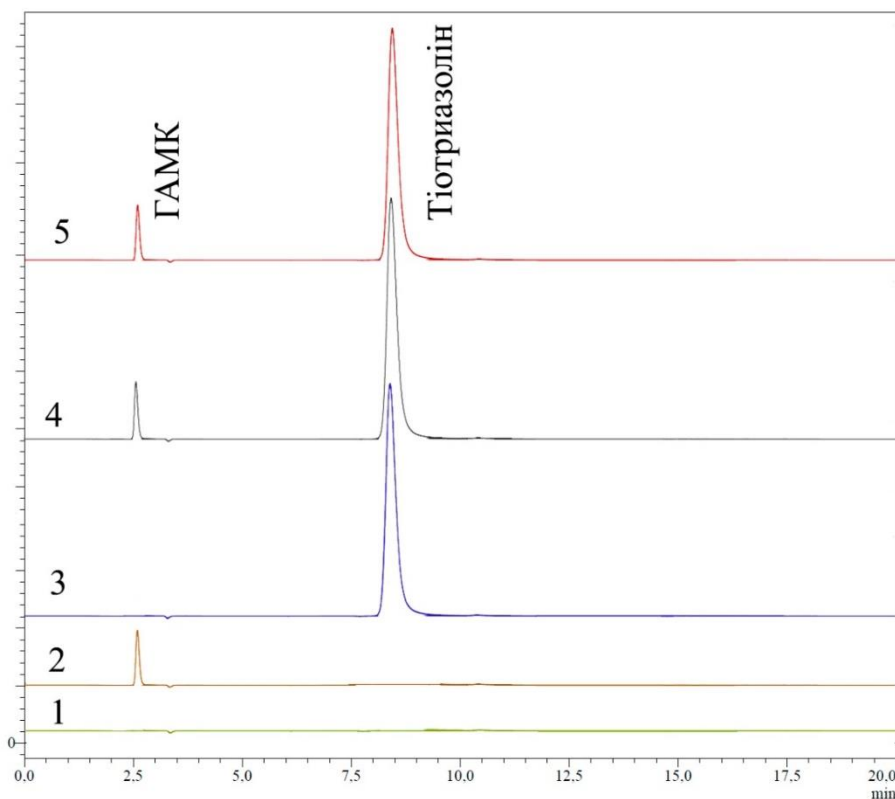


Рис. 5.30 Хроматограми розчинів: 1 - розчин «плацебо» препарату, 2 - модельний розчин препарату з ГАМК, 3 - модельний розчин препарату з тіотриазоліном, 4 – випробуваний розчин препарату, 5 – розчин порівняння ГАМК та тіотриазоліну

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

Характеристики правильності та прецизійності досліджували на модельних розчинах препарату з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну, які відповідають 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105%, 110 %, 115 % та 120 % від їх номінального вмісту.

Хроматограми модельних розчинів наведені на рис. 5.31-5.41.

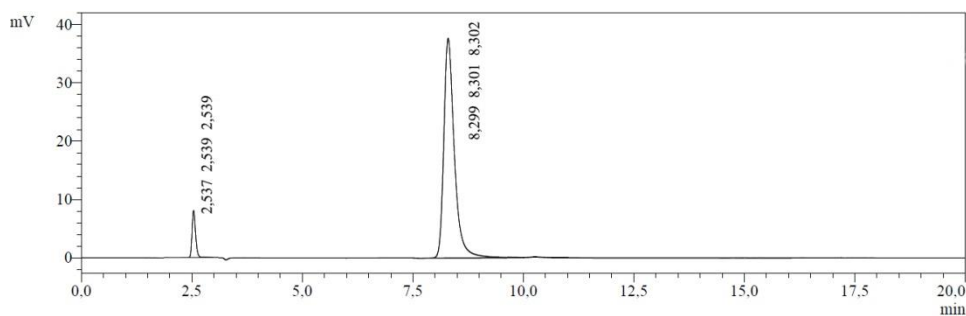


Рис. 5.31 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 80 % від номінального значення

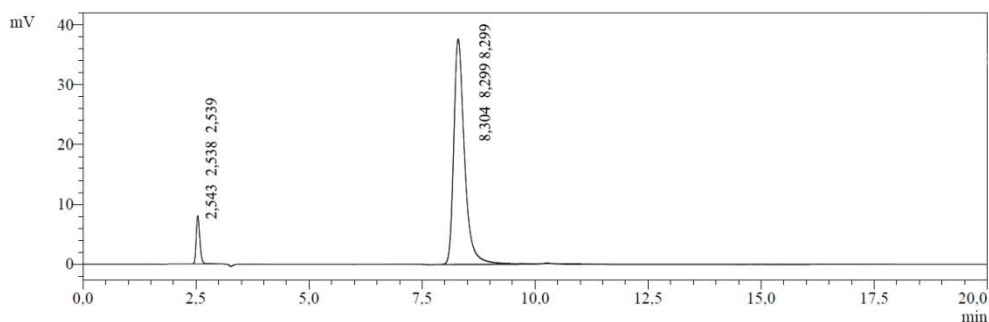


Рис. 5.32 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 85 % від номінального значення

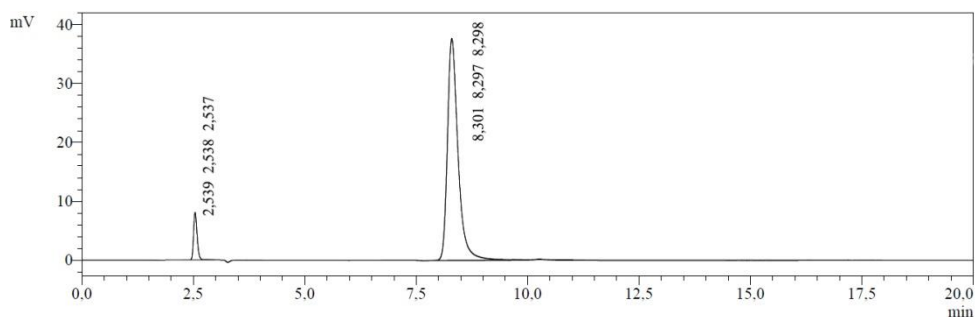


Рис. 5.33 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 90 % від номінального значення

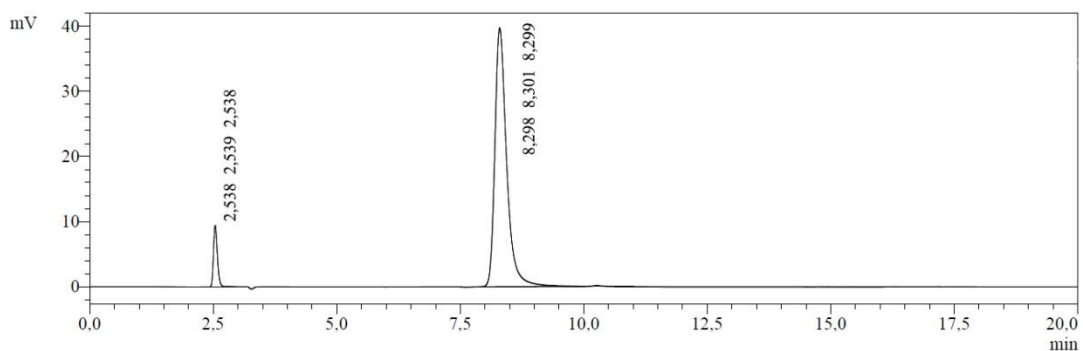


Рис. 5.34 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 95 % від номінального значення

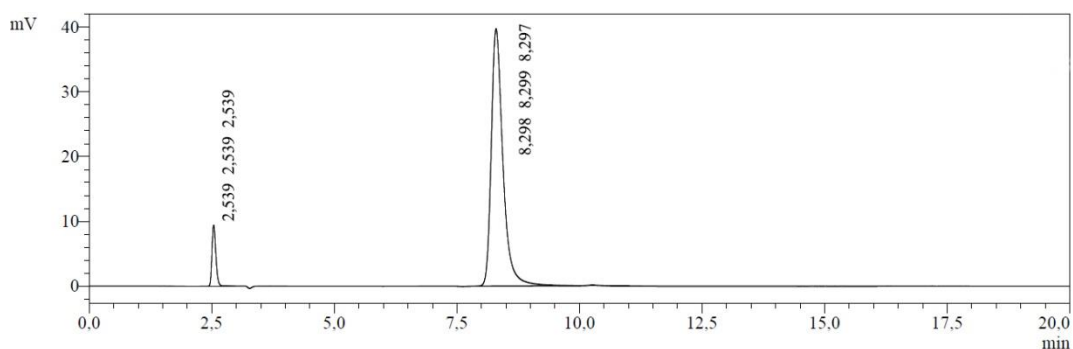


Рис. 5.35 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 100 % від номінального значення

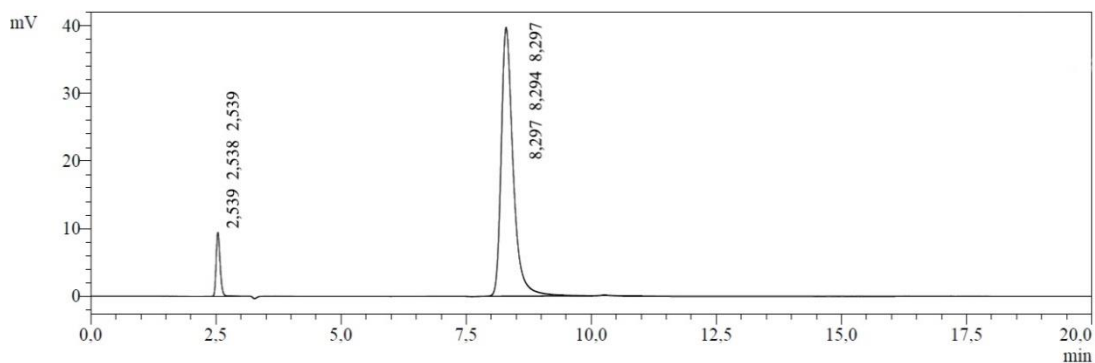


Рис. 5.36 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 105 % від номінального значення

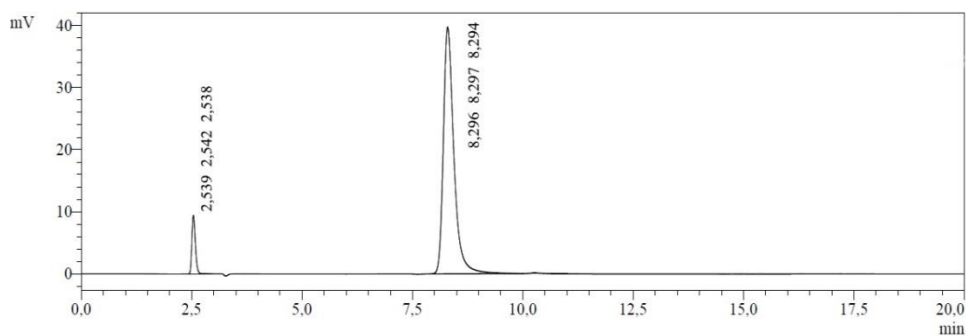


Рис. 5.37 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідно до 110 % від номінального значення

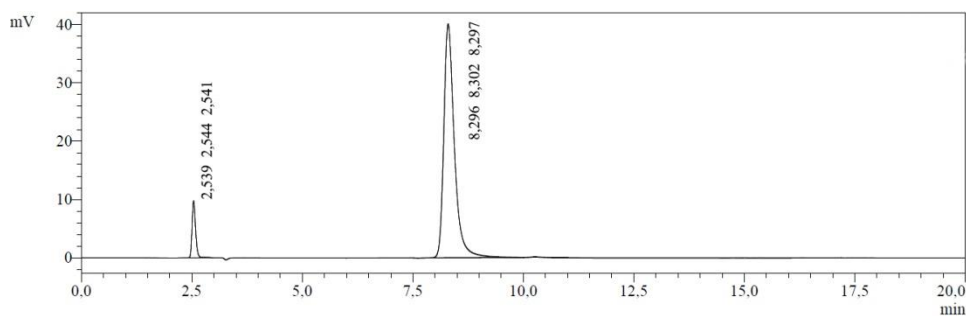


Рис. 5.38 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 115 % від номінального значення

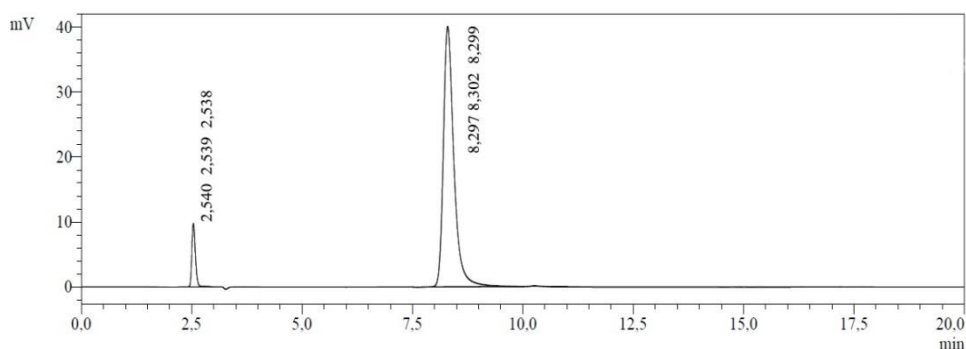


Рис. 5.39 Хроматограма модельного розчину з концентраціями ГАМК та тіотриазоліну відповідними до 120 % від номінального значення

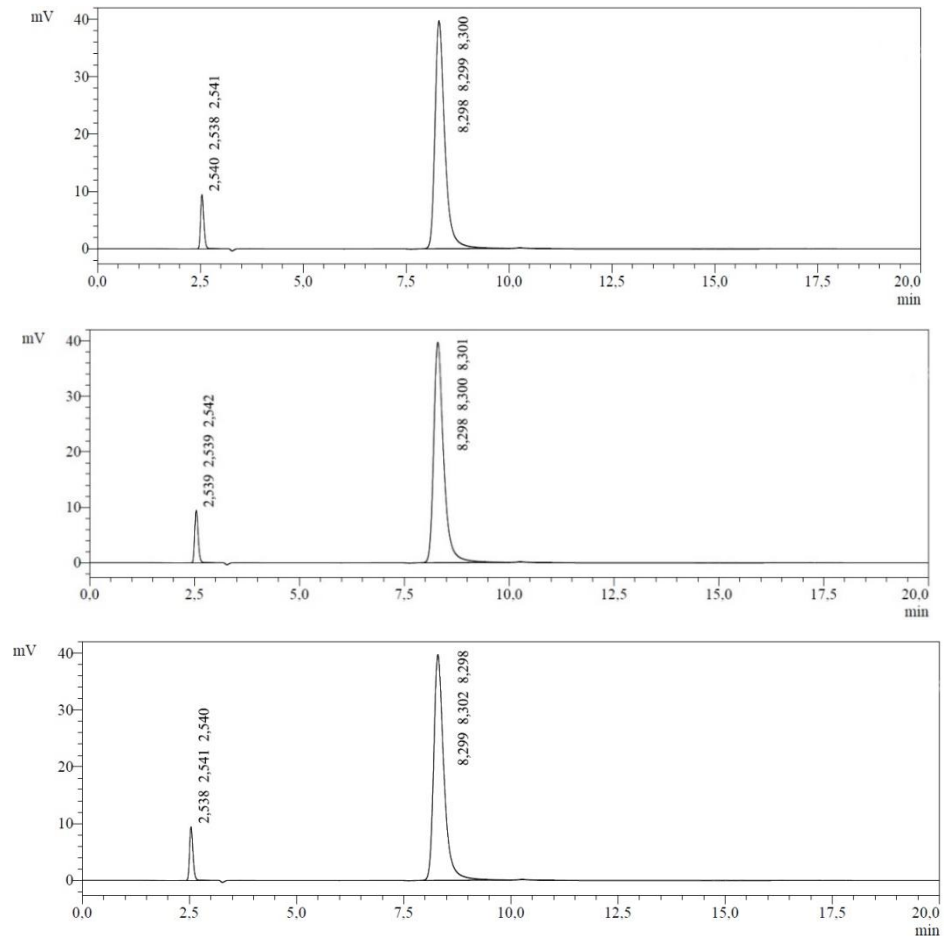
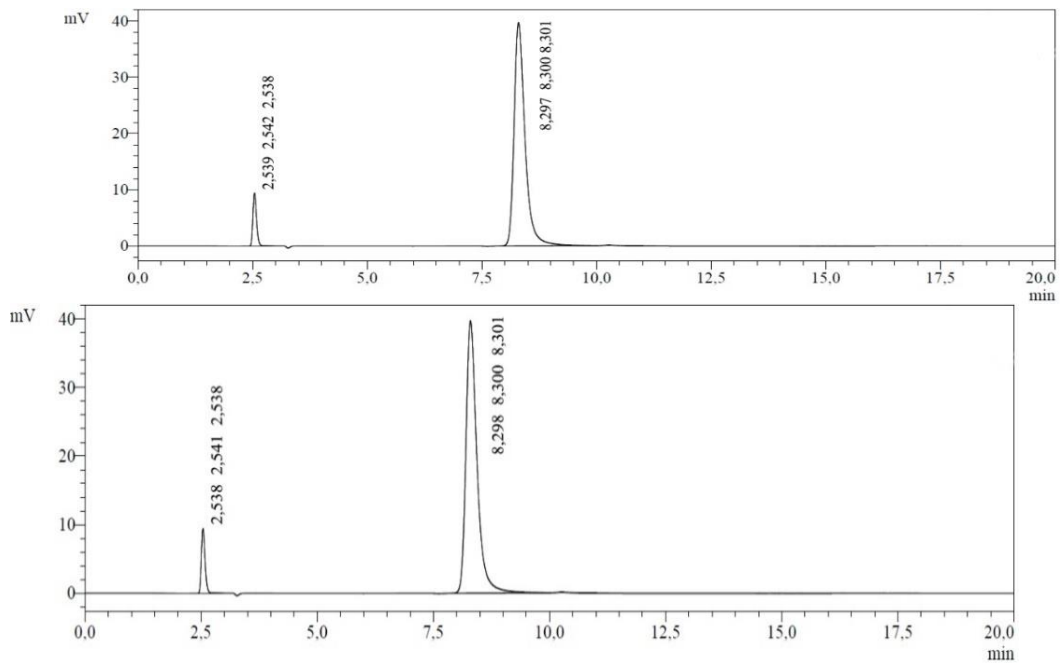


Рис. 5.40 Хроматограми випробуваного розчину ГАМК та тіотриазоліну



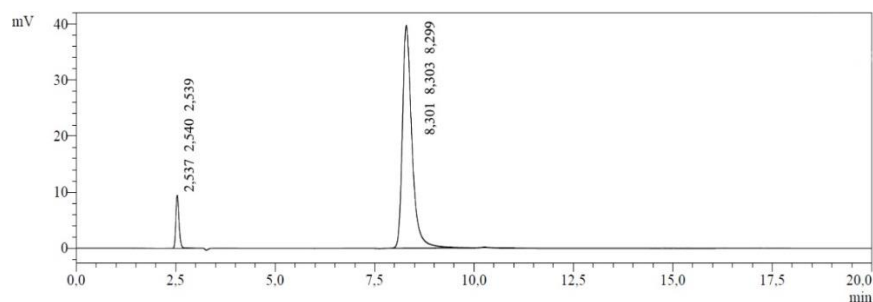


Рис 5.41 Хроматограми розчину порівняння ГАМК та тіотриазоліну

Як і при валідаційних дослідженнях кількісного визначення аргініну та гліцину в комбінації з тіотриазоліном в таблетковій лікарській формі досліджували такий валідаційний параметр як 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 речовини, яку визначаємо.

Характеристику лінійності досліджували в діапазоні концентрацій ГАМК та тіотриазоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення.

Графік лінійної залежності представлений на рис. 5.42 та 5.43, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності в табл. 5.11 та 5.12.

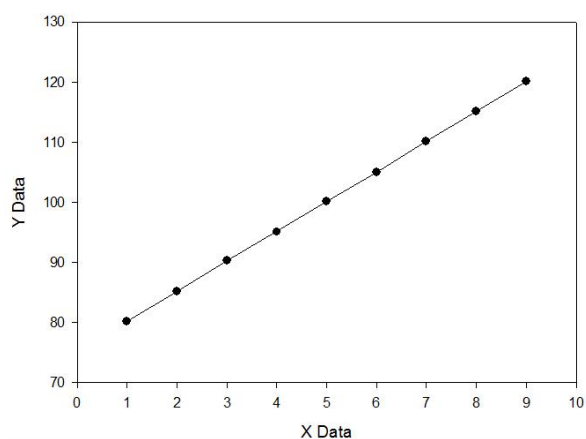


Рис. 5.42 Лінійна залежність знайденої концентрації ГАМК від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

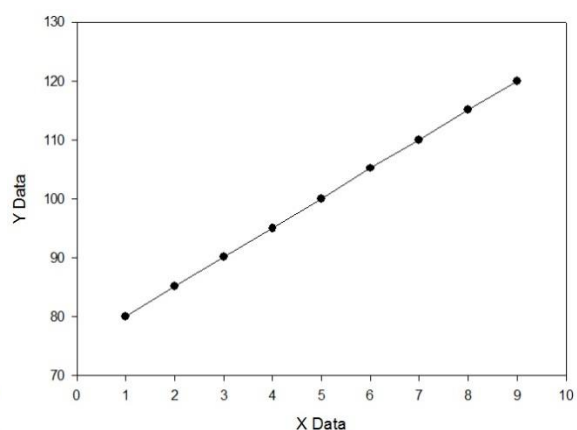


Рис. 5.43 Лінійна залежність знайденої концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

Як видно з представлених даних, вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто лінійність методики кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну підтверджується в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту $\pm 5\%$.

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 ГАМК та тіотриазоліну в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 5.13 та 5.14

Таблиця 5.11

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації ГАМК від його введеної концентрації

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	0,9965			
S _b	0,0030			
a	0,4059	$\leq 0,24 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 2 критерієм
S _a	0,3023			
SD ₀	0,1155			
SD ₀ /b	0,1159	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	1,0000	$> 0,99810 $		Виконуються

Таблиця 5.12

Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації тіотриазоліну від його введеної концентрації

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
b	0,9990			
S _b	0,0029			
a	0,1631	$\leq 0,66 $	$\leq 2,6 $	Витримується за 2 критерієм
S _a	0,2932			
SD ₀	0,1111			
SD ₀ /b	0,1112	$\leq 0,84 $		Виконуються
r	1,0000	$> 0,99810 $		Виконуються

З даних, наведених в табл. 5.11 та 5.12, виходить, що методика кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною.

Таблиця 5.13

Результати аналізу модельних розчинів, які містять від 80 % до 120 % ГАМК по відношенню до номінальної концентрації, і їх статистичної обробки

№ розчину	Наважка ГАМК, г (m _{st} = 0,2000)	Введено в % від номінальної концентрації (X _i , факт., %)	Середня площа піку (A _i st = 52296)	Знайдено в % від номінальної концентрації (Y _i , %)	Знайдено в % до введеного Z _i = 100 • (Y _i /X _i)
1	2	3	4	5	6
1	0,1597	79,86	41858	80,04	100,23
2	0,1699	84,96	44478	85,05	100,11
3	0,1802	90,12	47176	90,21	100,10

Продовж. табл. 5.13

1	2	3	4	5	6
4	0,1903	95,15	49692	95,02	99,86
5	0,2001	100,05	52343	100,09	100,04
6	0,2095	104,79	54906	104,99	100,19
7	0,219	109,95	57594	110,13	100,16
8	0,2302	115,14	60177	115,07	99,94
9	0,2403	120,18	62813	120,11	99,94
Середнє, Z_{cp} , % =					100,06
Відносне стандартне відхилення, $RSDz$, % =					0,13
Відносний довірчий інтервал Δz % = $t(95\%, 9 - 1) \times RSDz = 1.86 \times 0.13 =$					0,24
Критичне значення для збіжності результатів ΔAs , % =					1,6
Систематична помилка δ % = $ Z_{cp} - 100 =$					0,06
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.24/3 = 0,08$ % 0.06 % < 0,08 % Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0.32 \times 1.6 = 0,51$ % 0.06 % < 0,51 %					Виконується Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕК ТНА

Таблиця 5.14

**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 ($A_i^{st} = 659681$)	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

Продовж. табл. 5.14

1	2	3	4	5	6
1	0,03997	79,95	528206	80,07	100,15
2	0,04253	85,07	561520	85,12	100,06
3	0,04504	90,09	594768	90,16	100,08
4	0,04748	94,97	627158	95,07	100,11
5	0,04998	99,96	659944	100,04	100,08
6	0,05259	105,19	692928	105,04	99,86
7	0,05494	109,89	726176	110,08	100,17
8	0,05755	115,11	758765	115,02	99,92
9	0,05995	119,91	792013	120,06	100,13
Середнє, Z_{cp} , % =					100,06
Відносне стандартне відхилення, $RSDz$, % =					0,10
Відносний довірчий інтервал Δz % = $t(95\%, 9 - 2) \times RSDz = 1,89 \times 0,10 =$					0,19
Критичне значення для збіжності результатів ΔA_s , % =					1,6
Систематична помилка δ % = $ Z_{cp} - 100 =$					0,06
Критерій незначущості систематичної помилки:					
1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0,19 : 3 = 0,17\%$ $0,06\% < 0,17\%$					Виконується
Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$: 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0,32 \times 1.6 = 0.51\%$ $0,06\% < 0,51\%$					Виконується
Загальний висновок про методику					КОРЕКТНА

Як свідчать дані, наведені в табл. 5.13 і 5.14, в діапазоні концентрацій ГАМК 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 ГАМК та тіотриазоліну не перевищує критичне значення для збіжності результатів (1,6 %). 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 $1,0000$ задовольняє вимоги критерію прийнятності ($r = 0,9998$) та підтверджує лінійність залежності між взятою та знайденою кількістю ГАМК 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 ГАМК та тіотриазоліну у всьому діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення.

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}) (формула 3.6).

Вимоги до RSD площ піків у розділі «Придатність хроматографічної системи» для кількісного визначення встановлюють таким же чином, як і при визначенні даних валідаційних параметрів у комбінації аргініну та гліцину з тіотриазоліном.

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. 5.15.

Невизначеність взяття наважки розраховують за формулою 3.7.

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для ГАМК) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.1^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2 + 0.06^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2} \approx 0.67\% \quad (5.1)$$

Сумарна невизначеність пробопідготовки Δ_{SP} (для тіотриазоліну) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0.4^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2 + 0.06^2 + 0.23^2 + 0.37^2 + 0.17^2} = 0,77\% \quad (5.2)$$

Таблиця 5.15

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для методики кількісного визначення ГАМК та тіотриазоліну

Операція пробопідготовки	Параметр для розрахункової формули	Невизначеність (Δ), %
Розчин порівняння		
Взяття наважки ГАМК 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 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %
Випробуваний розчин		
Взяття наважки препарату	$m = 350$ мг	0,06 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 25 мл до мітки	25	0,23 %
Взяття розчину піпеткою 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %

Таким чином, невизначеність пробопідготовки є значущою для ГАМК 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} :

$$\max \Delta_{FAP} = \sqrt{\max \Delta_{As}^2 - \Delta_{SP}^2} = \sqrt{1,6^2 - \Delta_{SP}^2};$$

$$\text{для ГАМК: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,67^2} = 1,45;$$

$$\text{для тіотриазоліну: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,77^2} = 1,40.$$

Розраховують вимоги для $\max RSD$ для 3 паралельних хроматограм, які необхідно одержати у відповідності з проектом методики:

$$\max RSD = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{t \cdot \sqrt{2}} = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{2,92 \cdot \sqrt{2}} = \max \Delta_{FAP} \cdot 0,4194;$$

$$\text{для ГАМК: } \max RSD = 0,4194 \cdot 1,45 = 0,60;$$

$$\text{для тіотриазоліну: } \max RSD = 0,4194 \cdot 1,40 = 0,59.$$

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 ($\max RSD = 0,67$), 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 ГАМК та тіотриазоліну з фактичних даних (табл. 5.15). Отримані значення відносних стандартних відхилень для площ піків ГАМК та тіотриазоліну суттєво менше $\max RSD$.

Таблиця 5.16

Відносне стандартне відхилення площ піків ГАМК та тіотриазоліну

(A)

	ГАМК		Тіотриазолін	
	S_0^*	S_I^{**}	S_0^*	S_I^{**}
	52302	52392	659436	659914
	52366	52309	658890	659728
	52323	52377	658045	658543
<i>RSD</i>, %	0,06	0,08	0,10	0,11
<i>RSD</i>_{max}, % (n₀ = 3, B = 5 %)	0,60		0,59	
* S_0 – площа піку ГАМК та тіотриазоліну, отримана з хроматограм розчину порівняння.				
** S_I – площа піку ГАМК та тіотриазоліну, отримана з хроматограм досліджуваного розчину.				

Висновок: методика визначення ГАМК 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.

5.10 Вивчення стабільності таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом в процесі зберігання

Отримані в лабораторних умовах та расфасовані у блістери таблетки зберігалися при температурі $25 \pm 2^\circ\text{C}$ та вологості $60 \pm 5\%$. Для оцінки якості таблеток, що зберігалися у вищевказаних умовах, оцінювали зовнішній вигляд, проводили ідентифікацію, визначали кількісний вміст діючої речовини,

середню масу, проводили тест «розчинення», визначали супровідні домішки, мікробіологічну чистоту. Результати вивчення стабільності, наведені у Додатку К, показали, що при зберіганні впродовж 24 місяців та температурі $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості $60\pm 5\%$, захищеному від світла місті таблетки відповідали вимогам проєкту МКЯ. Тому запропоновано, встановити термін придатності 2 роки в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C .

Висновки до розділу 5

1. В результаті проведених квантово-хімічних розрахунків виявлено, що між діючими речовинами не виникають стійкі хімічні зв'язки, а тільки нестійкі водневі, що дає можливість поєднання ГАМК та тіотриазоліну в одній лікарській формі у вигляді таблеток.

2. Згідно з отриманими даними термогравіметричного аналізу субстанції морфолінію тіазотату, ГАМК, суміші ГАМК-морфолінію тіазотату виявлено, що суміш ГАМК і морфолінію тіазотату є сумішшю діючих речовин, які не взаємодіють між собою, що дає нам можливість комбінування їх в одній лікарській формі.

3. Попередньо проведено морфометричні дослідження субстанцій ГАМК та тіотриазоліну, що дозволило запропонувати для отримання таблеток метод вологої грануляції.

4. Для створення нового комбінованого таблеткованого лікарського засобу, що містить ГАМК та тіотриазолін методом вологої грануляції було досліджено три групи допоміжних речовин. В результаті було відібрано оптимальні ДР для створення таблеток-ядер ГАМК з тіотриазоліном, які забезпечують всі фармако-технологічні вимоги, які висуваються до таблеткованої лікарської форми згідно вимог ДФУ.

5. Проведені експериментальні дослідження дозволили вибрати плівкоутворюючу систему для нанесення покриття на основі ПВС. Було встановлено доцільність використання Opadry. В ході досліджень була

розроблена технологічна схема отримання таблеток методом вологої грануляції.

6. За результатами проведених досліджень, розроблено: методику стандартизації діючих речовин ГАМК та морфолінію тіазотату в модельній суміші методом ВЕРХ; підібрані оптимальні умови проведення аналізу; методику стандартизації діючих речовин в таблетковій масі методом ВЕРХ; методики стандартизації (ідентифікація, розчинення, кількісне визначення) діючих речовин в таблетках L-аргініну та морфолінію тіазотату.

7. Методика визначення ГАМК та морфолінію тіазотату методом ВЕРХ в діапазоні застосування методики відповідає критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність та лінійність.

8. За результатами проведених досліджень розроблено специфікацію та проект МКЯ на таблетки ГАМК з морфолінію тіазотатом.

9. В ході проведених досліджень вивчено стабільність таблеток ГАМК з морфолінію тіазотатом в процесі зберігання та визначено термін і умови їх зберігання - 2 роки за температури $25\pm^{\circ}\text{C}$ і відносній вологості $60\pm 5\%$, дослідження тривають.

10. Результати дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету (Додаток Ш), у технологічний процес на базі лабораторії таблетованих ЛП ДП «ДНЦЛЗ» (Додаток Т), у виробництво на базі ПрАТ "Лекхім" (Додаток У).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. The formation of two thiotriazoline polymorphs: study from the energetic viewpoint / S. V. Shishkina, V. N. Baumer, O. V. Khromileva, L. I. Kucherenko I. A. Mazur. *CrystEngComm*. 2017. Vol. 19. P. 2394-2401. <https://doi.org/10.1039/C7CE00117G>. (Особистий внесок: проведення

експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus).

2. Дериватографічні дослідження Гамма-аміномасляної кислоти, тіотриазоліну та суміші Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. П. Лисянська, І. В. Павлюк. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 1. No. 47. P. 39-42. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

3. Розробка складу та технології таблеток Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Н. В. Дерев'яно. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 3. С. 15-23. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.3.11422>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

4. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Німенко Г. Р. Визначення Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії. *Österreichisches Multiscience Journal*. (Innsbruck, Austria). 2020. Vol. 1, No. 33. P. 16-19. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

5. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Modern science: problems and innovations : materials of VIII International Scientific and Practical Conference*. Stockholm, 2020. P. 96-98.

6. Визначення діючих речовин в таблетках "Тіогамк" методом високоефективної рідинної хроматографії / О. В. Хромильова, Л. І. Кучеренко. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 2. No. 50. P. 59-62. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

РОЗДІЛ 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ

Фармакологічні дослідження проводили на базі навчального медико-лабораторного центру (керівник лабораторії професор Абрамов А. В.) та кафедри фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (завідувач професор Беленічев І. Ф.).

6.1 Вивчення фармакологічної активності комбінації L-аргініну з тіотриазоліном

В роботах багатьох вчених показана роль порушень в системі NO не тільки в патогенезі ішемічних інсультів, а й при інфаркті міокарда, ХСН, артеріальній гіпертензії, фетоплацентарній недостатності. Все це обґрунтовує застосування засобів, які нормалізують синтез NO та створення на їх основі більш ефективних лікарських форм в т.ч. комбінованих.

6.1.1 Вивчення кардіопротективної і ендотеліопротективної дії лікарської комбінації L-аргініну з тіотриазоліном та референс-препарату - тівортину

Попередньо спільно з фармакологами нами були вивчені різні комбінації L-аргініну з морфолінію тіазотатом – 1:1; 2:1; 3:1; 4:1; 5:1; 6:1 та 7:1 і була виявлена оптимальна комбінація - 4:1. На кафедрі фармацевтичної хімії в лабораторних умовах була приготована модельна суміш L-аргініну з тіотриазоліном в співвідношенні 4:1.

На першому етапі були проведені дослідження кардіопротективної і ендотеліопротективної дії у потенційного препарату L-аргініну з тіотриазоліном (4: 1) (Аргітрил) в порівнянні з 4,2% розчином для ін'єкцій «Тівортин» (ТОВ «Юрія-Фарм», Україна) на моделі пітуїтрин-ізадрінового інфаркту міокарда у лабораторних тварин.

Досліди виконані на 40 білих безпородних щурах вагою 170-180 г, отриманих з розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України». Тривалість карантину для всіх тварин становила 14 днів. Протягом карантину проводили щоденний огляд кожної тварини (поведінка і загальний стан), двічі в день тварин спостерігали в клітинах (захворюваність і смертність).

Перед початком дослідження тварини, що відповідають критеріям включення в експеримент, були розподілені на групи за допомогою методу рандомізації. Тварини, які не відповідають критеріям, були виключені з дослідження протягом карантину. Експериментальних тварин утримували на стандартному раціоні, в звичайних умовах віварію [31, 51, 64, 66, 97, 138].

Інфаркт міокарда (ІМ) моделювали поетапним введенням ізадрину і пітуїтрину за схемою: пітуїтрин - 0,5 Од/кг - внутрішньочеревно, через 20 хв ізадрін - 100 мг/кг - підшкірно, через 6 годин ін'єкція ізадрину повторювалася і через 24 години вводилися обидва агента в тих же дозах. У роботі використовувався пітуїтрин для ін'єкцій виробництва АВ «Endokrininiai» (Литва) та ізадрін виробництва Sigma-Aldrich (Lot # BCBB9618 (USA)). Ця модель відтворює дрібновогнищевий інфаркт міокарда. Тварин виводили з експерименту через 60 хв після останньої ін'єкції ізадрина під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг). Кардіопротективну активність препаратів оцінювали за зниженням активності кардіоспецифічної креатинфосфокінази - біохімічного маркера ішемічного ушкодження міокарда, а також, за поліпшенням морфо-функціональних параметрів кардіоміоцитів. Ендотеліопротективну активність препаратів оцінювали за поліпшенням морфофункціональних параметрів ендотеліоцитів міокарду [150, 152].

Досліджувані препарати вводили тричі протягом доби (паралельно з формуванням інфаркту) внутрішньочеревно за 30 хв до ін'єкції пітуїтрину і ізадрину: Аргітрил (L-аргінін+тіоріазолін 4:1) - 200 мг/кг (в перерахунку на L-аргінін), рефернс-препарат - Тівортін (L-аргінін) в дозі 200 мг/кг. Інтактна і контрольна групи отримували фізіологічний розчин за аналогічною схемою в еквівалентних об'ємах. В кожній експериментальній групі було по 10 тварин.

Після закінчення експерименту у тварин під тіопентнатрієвим наркозом (40 мг/кг) розкривалася грудна клітина і бралася кров з черевної аорти. Активність загальної і МВ-КФК в сироватці крові визначали на автоматичному біохімічному аналізаторі Prestige 24i, використовуючи набори фірми Cormay (№ каталогу 4-420, серія 205-8083 для загальної КФК і № 1-227, серія 205-1886 для МВ-КФК). Для морфометричних досліджень серця тварин витягувалися, у них виділяли верхівкову частину, яку поміщали в фіксатор Карнуа на 24 години. Після стандартної процедури зневоднення тканини і її просочення хлороформом і парафіном, міокард заливали в парапласт (MkCormick, США). На ротаційному мікроскопі Microm-325 (Microm Corp., Німеччина) готували серійні гістологічні зрізи товщиною 5 мкм, які потім депарафінували в ксилолі, проводили регідратацію в низхідних концентраціях етанолу (100%, 96%, 70%), відмивали у фізіологічному розчині. Для специфічного виявлення РНК гістологічні зрізи фарбували 24 години галлоціанін-хромовими галунами по Ейнарсону і заливали в полімерну середу EUKITT (O.Kindler GmbH, Німеччина) для подальшого мікроскопіювання. Міокард вивчали на мікроскопі Axioskop (Zeiss, Німеччина) в прохідному світлі. За допомогою 8-бітної CCD-камери SOHU-4922 (SOHU Inc., США) зображення ділянок міокарду вводилося в комп'ютерну систему аналізу зображень VIDAS-386 (Kontron Elektronik, Німеччина) і оцифровувати за денситометричною шкалою з 256 градаціями сірого кольору. У кожній серії дослідженню піддавали близько 500 ділянок з різних частин міокарда. Морфометричний аналіз клітинної структури міокарда здійснювали в автоматичному режимі за допомогою макро-програми, розробленої в спеціалізованому середовищі програмування VIDAS-2.5 (Kontron Elektronik, Німеччина).

Визначали наступні показники:

- площа ядер кардіоміоцитів (мкм^2);
- концентрацію РНК в ядрах кардіоміоцитів в одиницях оптичної густини ($E_{\text{ог}}$), яку розраховували як логарифм відношення оптичної густини ядра клітини до оптичної густини міжклітинної речовини;

- концентрацію РНК в цитоплазмі кардіоміоцитів в одиницях оптичної густини (E_{OG});

- щільність ядер кардіоміоцитів як показник кількості ядер клітин на 1mm^2 площі тканини міокарду.

Для вивчення морфофункціонального стану ендотеліоцитів капілярів міокарду визначали наступні показники:

- площу ядра (мкм^2);

- середній діаметр ядра, а саме, мінімальний еліптичний діаметр (тому що ядро ендотеліальних судин в поперечному розмірі має форму сильно витягнутого еліпса) (мкм);

- концентрацію РНК в ядрі (одиниця оптичної густини, E_{OG}), яку розраховували як логарифм відношення оптичної густини ядра до оптичної густини речовини;

- площа ядер ендотеліоцитів як кількість клітин на 1mm^2 площі зрізу міокарду.

Результати дослідження оброблені із застосуванням стандартного статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc, № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «MicrosoftExcel 2003». Нормальність розподілу оцінювали за критерієм Shapiro-Wilk. Дані представлені у вигляді середнього значення. Достовірність відмінностей між середніми значеннями визначали за критерієм Стюдента при нормальному розподілі. У разі розподілу, що відрізняється від нормального, або аналізу порядкових змінних використовували критерій U Mann-Whitney. Для порівняння незалежних змінних в більш ніж двох вибірках застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA) при нормальному розподілі або критерій Kruskal-Wallis для розподілу, відмінного від нормального. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$ (95 %).

В результаті проведених біохімічних досліджень сироватки крові експериментальних тварин було встановлено, що моделювання ІМ призводить

до підвищення активності загальної та кардіоспецифічних креатинфосфокінази (КФК і МВ-КФК), що свідчить про ішемічне пошкодження міокарду.

Таблиця 6.1

Біохімічні маркери ішемічного пошкодження міокарду в сироватці крові

Досліджувані показники	Група тварин			
	Інтактні	ІМ (контроль)	ІМ+ Тівортін	ІМ+ Аргітрил
Активність загальної КФК, МЕ/л	181,1±14,3	604,3±22,2	468,2±21,7	232,1±18,1* ¹
Активність МВ-КФК, МЕ/л	14,3±1,25	66,5±5,15	50,1±4,34*	21,1±1,31*

Примітка: * - зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи ($p < 0,05$); ¹ зміни достовірні по відношенню до тварин, які отримували Тівортін ($p < 0,05$)

Введення тваринам з ІМ Тівортіна і Аргітрила призводило до зниження активності КФК і МВ-КФК в крові, причому в групі тварин з Аргітрилом реєстрували достовірно, в 2 рази в порівнянні з групою Тівортін, найменш виражену гіперферментемію загальної і МВ-КФК. Таким чином, Тівортін і Аргітрил надавали достовірну кардіопротективну дію при ІМ.

Ішемічне пошкодження міокарда приводило до зменшення щільності на 23,61 % і площі на 25,83 % ядер кардіоміоцитів, зниження концентрації РНК в цитоплазмі кардіоміоцитів на 23,46 % порівнянні з інтактними тваринами (табл. 6.2). Зазначені зміни свідчили про ішемічні порушення метаболізму кардіоміоцитів, зокрема, про порушення балансу процесів біосинтезу в

Таблиця 6.2

**Морфофункціональна характеристика кардіоміоцитів тварин з
інфарктом міокарда**

Досліджувані показники	Інтакт	ІМ	ІМ+ Тівортін	ІМ+ Аргітріл
Площа ядер міокардіоцитів, мкм ²	15,1±0,4	11,2±0,27	11,7±0,2	14,7±0,2* ¹
Щільність ядер на 1 мм ² площі міокарду	8877±320	6781±177	7076±211*	7971±186*
Концентрація РНК в цитоплазмі міокардіоцитів, Е _{оп}	0,081± 0,002	0,062±0,002	0,068±0,001*	0,079± 0,003*

Примітка: * - зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи ($p < 0,05$); 1 зміни достовірні по відношенню до тварин, які отримували Тівортін ($p < 0,05$)

міокарді, деструкції клітин. Як видно з експериментальних даних, представлених в таблиці 6.2, призначення Аргітрила і Тівортіна тваринам з ІМ надавало значний кардіопротективний ефект, про що свідчило покращення морфофункціональних показників кардіоміоцитів. Так, експериментальна терапія Аргітрилом і Тівортін приводила до збільшення концентрації РНК в цитоплазмі кардіоміоцитів на 27,0 % і 9,6 % відповідно в порівнянні з тваринами, які не лікувалися. Разом з тим, подібний вплив Аргітрила і Тівортін на ішемізований міокард поєднувалося зі збільшенням щільності на 17,5 % і 4,3 % і площі ядер кардіоміоцитів на 31,2 % і на 4,4 % відповідно в порівнянні з контрольною групою, що свідчить про стимуляцію процесів транскрипції, про протиішемічні і репаративні властивості препаратів. Найбільш виражену кардіопротективну дію спостерігали в умовах використання Аргітрилу.

Результати, представлені в таблиці 6.3 демонструють ішемічне пошкодження ендотелію судин міокарда, про що свідчить зниження щільності

Таблиця 6.3

Морфофункціональні характеристики ендотеліоцитів судин серця щурів з інфарктом міокарда

Досліджувані показники	Інтакт	ІМ	ІМ+ Тівортін	ІМ+ Аргітрил
Щільність ядер на 1 мм ² стінки судин	18477±710	10257±411	13797±288*	14921±211* ¹
Площа ядер, мкм ²	8,77±0,44	5,11±0,1	6,11±0,2*	6,15±0,4*
Діаметр ядер, мкм ²	3,87±0,07	2,50±0,05	3,00±0,07*	3,21±0,02*
Концентрація РНК в ядрах, E _{оп}	0,321±0,01	0,199±0,002	0,215±0,002*	0,289±0,002*

Примітка:

1. * - зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи (p < 0,05);
2. 1 зміни достовірні по відношенню до тварин, які отримували Тівортін (p < 0,05)

ядер ендотеліоцитів на 44,49 %, площі ядер ендотеліоцитів на 41,73 % і діаметра ядер ендотеліоцитів на 35,4 %, а також зниження вмісту РНК на 38 % в порівнянні з групою інтактних тварин. Введення Тівортіну і Аргітрилу в гострий період ІМ надавало порівнянний ендотеліопротективний ефект. Так, в міокарді тварин, які отримували Тівортін і Аргітрил, спостерігали підвищення щільності ядер ендотеліоцитів судин на 34,5% і на 45,47 %, площі ядер ендотеліоцитів на 19,5 % і 20,0 % і діаметра ядер ендотеліоцитів на 20,0 % і 28,4 % на тлі збільшення вмісту РНК на 8,04 % і 45,2 % відповідно, в порівнянні з групою тварин, які не лікували. Таким чином, в результаті проведених досліджень встановлено, що комбінований препарат тіотриазоліну і L-аргініну (Аргітрил) за такими показниками, як активність загальної КФК і МВ-КФК, а також щільність ядер кардіоміоцитів і ендотеліоцитів надає

достовірно більш виражену кардіо- та ендотеліопротективну дію в порівнянні з Тівортін (L-аргінін) на моделі ІМ. Наявність більш вираженої кардіо- та ендотеліопротективної дії у комбінованого препарату тіотриазоліну і L-аргініну в порівнянні з L-аргініном можна пояснити наступним. В умовах дефіциту тіольних сполук (оксидативний стрес, ішемія, інтоксикації, гіпертонічна хвороба і т.д.) порушується транспорт NO, тому що він піддається атаці АФК з перетворенням в цитотоксичний продукт - пероксинітрит. Тіотриазолін підвищує рівень відновлених тіолів, зокрема глутатіону, за допомогою активації глутатіонредуктази і прямого відновлення окисленої тіольної групи. Крім того тіотриазолін, за рахунок антиоксидантних властивостей, запобігає окислювальній модифікації NO кисневими радикалами. Тіотриазолін здатний виступати в ролі транспортної молекули NO, утворюючи нітрозотіоли. L-аргінін надає пряму стимулюючу дію на активність NO-синтази і продукцію NO. Тому комбінований препарат тіотриазоліну і аргініну володіє унікальними властивостями надавати протективну дію відносно синтезу і транспорту NO, його біодоступності, що призводить до потенціювання таких властивостей L-аргініну [63].

6.1.2 Дослідження антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів кардіопротективної дії лікарської комбінації L-аргініну з тіотриазоліном та референс-препарату - тівортіну

Антиоксидантну активність препаратів оцінювали за зниженням біохімічних маркерів оксидативного стресу і підвищенню активності антиоксидантної системи міокарда. Для оцінки інтенсивності оксидативного стресу в міокарді визначали маркери окисної модифікації білка - альдегідфенілгідрозони (АФГ) і карбоксифенілгідрозони (КФГ). Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю каталази, глутатіопероксидази (ГПР). Стан енергетичного обміну визначали за рівнем найбільш значущих інтермедіатів - АТФ, лактату, малата. Про продукцію,

метаболізм та транспорт NO судили за активністю NO-синтази (NOS), змістом стабільних метаболітів NO і рівню сумарних SH-груп. Визначення активності каталази проводили в цитоплазмі за методикою із застосуванням перекису водню і молибдата амонію при 470 нм детекції. Активність ГПР визначали в цитоплазмі за методикою в тесті з гідроперекисів трет-бутилу при 540 нм детекції. Стабільні метаболіти NO визначали в цитозольній фракції міокарда по набору BCM Diagnostic kits при 540 нм детекції, активність загальної NOS визначали в цитоплазмі використовуючи набір NOSDetect™ Assay Kits, Stratagen production, що містить інгібітор NOS - N-нітро-L-аргінін. Показники окисної модифікації білка в міокарді визначалися в цитоплазмі за методом B. Halliwell по взаємодії окислених амінокислотних залишків з 2,4-дінитрофенілгідразіном (2,4-ДНФГ) і утворенням альдегідфенілгідразонів (АФГ) і карбоксилфенілгідразона (КФГ), що мають спектр поглинання при 274 нм 363 нм детекції відповідно. Кількість малата визначали в мітохондріальній фракції міокарда за методом Хохорста за збільшенням НАДН при 340 нм. Зміст лактату визначали в безбілковому екстракті гомогената міокарда за методом Хохорста щодо підвищення НАДН при 340 нм. Активність НАД-залежної малатдегідрогенази (НАД-МДГ) визначали в мітохондріальній фракції при 340 нм детекції. АТФ визначали методом тонкошарової хроматографії в мітохондріальній фракції. Зміст сумарних SH-груп визначали в цитоплазмі по реакції з 5,5 дітіо-біс-7-нітробензойною кислотою при 540 нм детекції. Нітротирозин визначали в цитоплазмі твердофазним імуносорбентним методом ELISA, ELISA Kit (Cat. № НК 501-02) фірми Nycult Biotech і показували в нмоль/г тканини. Концентрацію білка оцінювали за методом Бредфорда. В роботі застосовувався спектрофотометр LibraS70 PC (Biochrom Ltd. Production, United Kingdom).

Сердце промивали охолодженим 0,15 KCl (4 °C) 1:10 і очищали від жиру, сполучної тканини, вирізали судини, з внутрішніх порожнин видаляли згустки крові і ще раз відмивали. Потім подрібнювали в рідкому азоті до порошкоподібного стану і гомогенізували в 10-кратному об'ємі середовища

при (2 °С), що містить (в ммоль): сахарози - 250, трис-НСІ-буфера - 20, ЕДТА -1 (рН 7,4) і при + 4 °С методом диференціального центрифугування на рефрижераторній центрифугі Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли цитозольну і мітохондріальну фракції.

Дослідження енергетичного метаболізму (таблиця 6.4) показало, що моделювання ІМ призводить до типових ішемічних порушень - зниження АТФ на 44,3%, дискоординації циклу Кребса (зменшення малата на 71,6% і зниження активності МДГ на 55%), активації анаеробного гліколізу (підвищення лактату в 3,6 рази) в цитозольних фракції серця щурів контрольної групи. Введення тваринам з ІМ Тівортіну не приводить до вірогідного зменшення ішемічних порушень енергетичного метаболізму міокарда. Найбільш яскравий протиішемічний ефект спостерігався при призначенні препарату «Аргітрил».

Таблиця 6.4

Показники енергетичного обміну в цитозольних фракції серця тварин

Досліджувані показники	Інтакт	ІМ (контроль)	ІМ+ Тівортін	ІМ+ Аргітрил
АТФ, мкмол/г	2,91±0,18	1,62±0,12 (-44,3%)	1,71±0,16(+5,5%)	2,77±0,12* ¹ (+70%)
Малат, мкмол/г	0,67±0,02	0,19±0,02 (-71,6%)	0,21±0,07 (+10%)	0,92±0,04* ¹ (+384%)
Лактат, мкмол/г	2,11±0,18	7,57±0,53 (+258,7%)	7,80±0,78 (+3%)	3,15±0,21* ¹ (-58%)
МДГ, мкм/г/хв	6,88±0,11	3,10±0,1 (-55%)	4,17±0,1 (+34%)	6,77±0,26* ¹ (+118%)

Примітка:

- * - зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи (р <0,05);
- 1 зміни достовірні по відношенню до тварин, які отримували Тівортін (р <0,05)

Так, в міокарді тварин з ІМ, які отримували Аргітрил, спостерігалось достовірне підвищення рівня АТФ на 70% на тлі підвищення малата на 384%, що свідчило про нормалізацію роботи циклу Кребса і зниження рівня лактату на 58%, що демонструвало гальмування малопродуктивного гліколізу. Важливим моментом в механізмі енерготропної дії Аргітрилу в умовах ішемії міокарда його (зарахунок тіотриазоліну, який входить до його складу) активуючий вплив на компенсаторний малат-аспартатний шунт. Малат-аспартатний шунт здійснює перенесення відновлених еквівалентів, що утворюються в цитоплазмі в ході гліколізу, в мітохондрії в умовах ішемії. При моделюванні інфаркту міокарда спостерігалось гальмування малат-аспартатного шунта, що виражалось в зниженні активності малатдегідрогенази (МДГ на 55%), зменшення рівня малата на 71,6%. «Аргітрил» інтенсифікував активність малат-аспартатного шунта, про що свідчило підвищення активності МДГ і збільшення вмісту малата.

Дані, представлені в таблиці 6.5, свідчать про порушення в сполучених системах NO і відновлених тіолів в міокарді експериментальних тварин з інфарктом міокарда.

Таблиця 6.5

**Показники системи NO і відновлених тіолів в цитозольних фракції
серця тварин**

Досліджувані показники	Інтакт	ІМ (контроль)	ІМ+ Тівортін	ІМ+ Аргітрил
1	2	3	4	5
Відновлені тіоли, мкмол/г	185,1±11,7	92,1±6,1 (-50.2%)	115,0±10,5* (+25%)	171,7±11,3* ¹ (+86,4%)
Глутатіонредуктаза (ГР), мкМ/мг/хв	18,7±0,71	9,6±0,31 (-48,6%)	12,2±0,11* (+27%)	21,3±1,11* ¹ (+121,8%)

Продовж. табл. 6.5

1	2	3	4	5
NO-сінтаза, мкмол/мг/хв	37,2±3,2	17,5±1,5 (-53%)	26,8±1,3* (+53%)	28,9±2,5* (+65%)
Стабільні метаболіти NO, мкмол/г	25,1±2,7	9,3±0,78 (-63%)	19,1±1,8* (+105%)	24,1±1,2* ¹ (+159%)
Нітротирозин, нмол/г	66,5±6,7	493,3±18,2 (+641,8%)	320,5± 27,7* (-35%)	92,5± 8,3* ¹ (-81%)

Примітка:

- * - зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи ($p < 0,05$);
- 1 зміни достовірні по відношенню до тварин, які отримували Тівортін ($p < 0,05$)

Так, в міокарді контрольної групи реєстрували дефіцит відновлених тіолів на 50,2% на тлі пригнічення активності ГР на 48,6%, зниження активності NO-сінтази на 53% і зменшення утворення NO (зниження вмісту стабільних метаболітів NO на 63%) і підвищення рівня маркера нітрозуючого стресу - нітротирозину в 7,4 рази. Введення тваринам з ІМ Тівортін і Аргітрила надавало позитивну дію на показники пов'язаної системи NO/ відновлені тіоли. Так, в міокарді тварин, які отримували Тівортін і Аргітрил реєстрували достовірне підвищення активності NO-сінтази на 53% і 65% на тлі збільшення продукції NO (підвищення вмісту стабільних метаболітів NO на 105% і 159%) і зниження рівня нітротирозину на 35% і 81%. Паралельно спостерігали збільшення вмісту відновлених тіолів на 25% і 86,4% і підвищення активності ГР на 27% і 121,8% в міокарді цих груп тварин. Аналізуючи отримані результати можна зробити висновок, що Аргітрил на відміну від Тівортіну не тільки інтенсифікує синтез NO, а й підвищує його біодоступність, запобігаючи його перетворенню в цитотоксичну форму - пероксинітрит (про що свідчить

зниження в цих групах нітротирозину). Аргітрил надає пряму стимулюючу дію на активність NO-синтази і рівень L-аргініну, тобто підвищує продукцію оксиду азоту і надає протективну дію відносно транспорту NO в умовах ішемії, за рахунок збереження відновлених тіолів. Подібна дія дуже важлива в гострий період ішемії міокарда і грає першочергову роль в реалізації кардіопротективного ефекту цих препаратів. За силою впливу на показники пов'язаною системи NO/відновлені тіоли лідером виявився препарат Аргітрил. Таким чином, розроблений комбінований препарат «Аргітрил» надає подвійний захист щодо системи NO в умовах ішемії. Так, перший компонент Аргітрила, L-аргінін - підвищує продукцію NO, другий компонент, тіотриазолін - підвищує біодоступність NO, за рахунок утворення стабільних S-нітрозильних комплексів, зберігаючи тим самим фізіологічні і кардіопротективні властивості цього молекулярного трансмітера. Аналіз отриманих даних наведених у таблиці 6.6, показує, що моделювання інфаркту міокарда призводить до розвитку оксидативного стресу.

Таблиця 6.6

Показники оксидативного стресу та антиоксидантної системи в цитозольних фракції серця тварин

Досліджувані показники	Інтакт	ІМ (контроль)	ІМ+ Тівортін	ІМ+ Аргітрил
Каталаза, мкат/мг	17,2±1,5	8,70±0,77 (-50%)	10,5±0,71 (+20,6%)	18,3±1,33* ¹ (+110%)
ГПР, мкмол/мг/хв	154,2±11,2	73,7±6,83 (-52,2%)	80,4±7,55 (+9%)	161,7±11,3* ¹ (+119%)
АФГ, у.е./г	10,2±1,21	35,7±2,11 (+250%)	29,7±2,16* (-16,8%)	16,1±1,2* ¹ (-54%)
КФГ, у.е./г	6,52±0,71	19,7±1,71 (+202%)	17,0±1,12* (-13%)	12,1±0,77* ¹ (-38,5%)

Примітка: * - зміни достовірні по відношенню до тварин контрольної групи (p <0,05); 1 зміни достовірні по відношенню до тварин, які отримували Тівортін (p <0,05)

Так в міокарді тварин контрольної групи реєстрували підвищення продуктів окисної модифікації білка - АФГ в 3,5 раз і КФГ в 3 рази на тлі пригнічення активності антиоксидантних ферментів - ГПР на 52,2% і каталази на 50% в порівнянні з аналогічними показниками групи інтактних тварин. Призначення тваринам з ІМ Тівортіну і Аргітрилу надає значний антиоксидантний ефект - достовірне зниження маркерів оксидативного стресу (АФГ (на 16,8%, 54%) і КФГ (на 13%, 38,5%) в міокарді. У міокарді тварин, які отримували Аргітрил, було виявлено достовірне підвищення активності антиоксидантних ферментів - каталази на 110% і ГПР на 119%, що вказує на більш виражену антиоксидантну дію Аргітрила, у порівнянні з аналогічною дією Тівортіну.

6.2 Дослідження впливу гліцину, а також його комбінації з тіотриазоліном, на показники вуглеводно-енергетичних процесів та окисного метаболізму в умовах моделювання гострого порушення мозкового кровообігу

По-перше, спільно з фармакологами були вивчені різні комбінації гліцину з морфолінію тіазотатом – 1:1; 2:1; 4:1; 5:1 та 7:1 і була виявлена оптимальна комбінація - 4:1. В лабораторних умовах на кафедрі фармацевтичної хімії була приготована модельна суміш гліцину з тіотриазоліном в співвідношенні 4:1.

У дослідах використовувались 50 щурів самців лінії «Вістар» вагою 180-200 г, отриманих з розплідника ДУ «Інститут фармакології та токсикології АМН України». Для створення ГПМК використовували класичну модель, яка полягає в одночасній перев'язці загальних сонних артерій. Операцію проводили під етамінал-натрієвим наркозом (40 мг/кг). Через розріз на шиї знаходили та відсепаровували праву та ліву сонні артерії, підводили під них лігатури та перев'язували [51, 92, 205].

Усі тварини були розбиті на 5 експериментальних груп: перша – інтактна (несправжньо прооперовані щури, яким під наркозом відсепаровували загальні

сонні артерії, не проводячи їхньої перев'язки); друга – щури з ГПМК (контроль); третя – щури з ГПМК, які кожен день протягом 4 діб дозою 200 мг/кг отримували гліцин; четверта - щури з ГПМК, які отримували кожен день протягом 4 діб гліцин у поєднанні з тіотриазоліном (4:1) в дозі 200 мг/кг (в перерахунку на гліцин), п'ята – щури з ГПМК, які кожен день отримували пірацетам в дозі 500 мг/кг. Усі препарати вводили внутрішньочеревно кожен день, починаючи з виходу щурів із наркозу.

На четверту добу експерименту тварини виводились з експерименту під етамінал-натрієвим наркозом (40мг/кг). Мозок швидко виймався, виділялась кора, яка гомогенізувалась у рідкому азоті. У гомогенаті кори визначався біохімічними методами вміст пірувату, лактату, малату, ізоцитрату, активність сукцинатдегідрогенази, цитохром-С-оксидази, глутаматдекарбоксилази, ГАМК-трансферази. Визначення вмісту аденілових нуклеотидів, гліцину, глутамату та γ -аміномасляної кислоти проводили хроматографічними методами. Отримані результати обробляли за допомогою комп'ютерної програми MS Excell, вірогідність достовірності визначали за допомогою t-критерію Ст'юдента.

Моделювання ГПМК призводить до стійких порушень енергетичного обміну. Зниження енергетичних ресурсів головного мозку відбувалося на фоні дискоординації реакцій циклу Кребса, про що свідчило зниження рівня малату, ізоцитрату, пригнічення активності сукцинатдегідрогенази та цитохром-С-оксидази (ЦХО). Спостерігалась компенсаторна активація гліколізу, про що свідчить збільшення лактату у тканинах мозку. Ці зміни відбувалися на фоні виявленої активації ГАМК-ергічної системи, яка виражалася у підвищенні ГДК і ГАМК-Т, та зниженні вмісту глутамату і ГАМК у тканинах головного мозку експериментальних тварин. Паралельно реєструвалось зниження рівня гліцину. Крім того, відмічалось пригнічення транспорту та утилізації енергії, про що свідчить зниження АТФ-азної активності та активності мітохондріальної креатинфосфокінази (м-КФК). Схожі зміни стану ГАМК-ергічної системи при ГПМК відбуваються як компенсаторна активація додаткового шунта утворення

енергії в умовах гальмування циклу Кребса. Так, гальмування окислення α -кетоглутарату, призводить до активації ГДК і перетворенню глутамату в ГАМК, а потім при активації ГАМК-Т в янтарний напівальдегід, який, перетворюючись у сукцинат, окислюється у циклі Кребса. Але, виявлене нами гальмування циклу Кребса на ділянці ізоцитрат-сукцинат і пригніченні СДГ, свідчить про гальмування сукцинатоксидазного шляху поставки протонів у дихальний ланцюг і неможливості використовувати сукцинат, який додатково утворюється у шунті Робертса. Вірогідно, янтарний напівальдегід, що утворюється із ГАМК, перетворюється у ГОМК (γ -оксимасляну кислоту), яка володіє більш сильною гальмівною дією, ніж ГАМК і гліцин, дефіцит якого ми виявили, і здатна обмежувати шкідливий вплив ЗАК-систем в умовах ішемії головного мозку. Таким чином, у процесі ГПМК спостерігається гальмування окисної продукції енергії, її транспорту і утилізації, активація компенсаторних шляхів утворення АТФ – гліколізу і шунта Робертса, які, однак, не забезпечують повністю потребу мозку в енергії та викликають розвиток лактат-ацидозу і дефіцит гальмівних амінокислот – ГАМК і гліцину.

Гліцин чинив позитивний вплив на окисний метаболізм мозку в умовах ГПМК, що виражалось у підвищенні рівня АТФ і АДФ. Введення гліцину сприяло утилізації енергії (підвищення АТФ-азної активності у головному мозку тварин, які отримували гліцин). Він зменшував активність анаеробного гліколізу та обмежував розвиток лактат-ацидозу. Гліцин збільшував окисну продукцію енергії за рахунок нормалізації на ділянці ізоцитрат-сукцинат циклу Кребса.

Призначення тваринам з ГПМК фіксованої комбінації гліцину з тіотриазоліном призводило до значної активації окисної продукції енергії на дикарбоновій ділянці циклу Кребса, про що свідчить підвищення рівня малату і підвищення активності СДГ. При цьому спостерігалось підвищення активності цитохром-С-оксидази і рівня ізоцитрату, що забезпечувало підвищення продукції АТФ.

Таблиця 6.7

Вміст аденілових нуклеотидів у корі головного мозку щурів на 4-ту добу ішемії

Групи тварин	АТФ мкм/г	АДФ мкм/г	АМФ мкм/г	м-КФК	АТФ-азна активність
Інтактні тварини	2,85±0,05	0,47±0,01	0,13±0,02	1,876±0,021	21,47±0,78
Тварини з ГПМК (контроль)	1,00±0,08	0,27±0,01	0,21±0,01	0,621±0,012	16,44±0,65
Тварини з ГПМК + гліцин	2,11±0,01*	0,33±0,01*	0,15±0,03*	0,724±0,022	19,22±0,23*
Тварини з ГПМК + гліцин + тіотриазолін	2,79±0,01* ¹	0,44±0,02* ¹⁺	0,13±0,01* ¹	2,132±0,011* ¹⁺	25,07±0,12* ¹⁺
Тварини з ГПМК + пірацетам	1,67±0,04	0,3±0,01	0,18±0,03	0,685±0,02	18,55±0,2

Примітка:

1. * - $p < 0,05$ по відношенню до контролю
2. $p < 0,05$ по відношенню до групи пірацетаму
3. $\pm p < 0,05$ по відношенню до групи гліцину

Паралельно відмічалось зростання рівня АДФ і зниження рівня АМФ. Гліцин у поєднанні з тіотриазоліном пригнічував активність анаеробного гліколізу (знижував рівень лактату), зменшував „витрати” гальмівних амінокислот у компенсаторному і енергетично менш вигідному шунті Робертса. Також підвищувався рівень глутамату, ГАМК та гліцину на фоні зниження активності ГДК (глутаматдекарбоксилази) і ГАМК-Т (ГАМК-трансферази). Збільшення

рівня гальмівних амінокислот під дією вказаної комбінації, вірогідно, обмежувало дію ЗАК - системи мозку і, тим самим, посилювало сумарну нейропротективну дію препарату. Фіксована комбінація гліцину з тіотриазоліном чинила позитивний вплив на окисну продукцію енергії у головному мозку щурів з ГПМК, та інтенсифікувала транспорт і утилізацію енергії, про що свідчать відповідні підвищення активності м-КФК і АТФ-азної активності у серії тварин, яким вводили гліцин разом з тіотриазоліном.

Виражена нейропротективна дія комбінації гліцину з тіотриазоліном, на наш погляд, пояснюється взаємопосилюючою дією вказаних препаратів. Так, тіотриазолін, який є ефективним скавенджером активних форм кісню, обмежує окисну модифікацію білкових структур рецепторів у т.ч. і NMDA Red/Oxi-залежним шляхом, попереджуючи формування енергетичного дефіциту, оксидативного стресу. Гліцин, завдяки з'єднанню з гліциновими сайтами NMDA-рецепторів, забезпечує нормальне функціонування всього рецепторно-іоноформного комплексу, попереджуючи його гіперактивацію і, тим самим, обмежує глутаматну ексайтотоксичність і, можливо, посилює дію іонів магнію [267].

Таблиця 6.8

Вміст показників вуглеводно-енергетичного обміну в корі головного мозку щурів на 4-ту добу ішемії

Групи тварин	Піруват, мкм/г	Лактат, мкм/г	Малат, мкм/г	Ізоцитрат мкм/г	СДГ, мкм/мг /хв	ЦХО, мкм/мг/хв
Інтактні тварини	0,46 ± 0,01	2,32 ± 0,06	0,31 ± 0,02	0,52±0,07	6,44± 0,10	3,44±0,11
Тварини з ГПМК (контроль)	0,22 ± 0,01	8,52 ± 0,11	0,11 ± 0,05	0,20±0,03	2,88± 0,17	1,00±0,07
Тварини з ГПМК + гліцин	0,34 ± 0,02*	5,22 ± 0,21*	0,18 ±0,06*	0,33±0,01*	5,22± 0,12*	2,77±0,10* ⁺
Тварини з ГПМК + гліцин + тіотриазолін	0,44 ± 0,01* ¹⁺	3,85 ± 0,12* ¹⁺	0,47 ± 0,03* ¹⁺	0,57±0,03* ¹⁺	7,89± 0,33* ¹	3,95± 0,22* ¹
Тварини з ГПМК + пірацетам	0,3± 0,02	5,8±0,15	0,16±0,05	0,28±0,03	4,85± 0,15	2,2±0,15

Таблиця 6.9

Вміст показників ГАМК–ергічної системи в корі головного мозку щурів на 4-ту добу ішемії

Групи тварин	ГАМК мкм/г	Гліцин, мкм/г	Глутамат, мкм/г	ГДК, мкм/г /год	ГАМК-Т мкм/г /год
Інтактні тварини	3,87 ± 0,12	6,42 ± 0,21	14,72 ± 0,3	14,16 ± 0,7	12,7 ± 0,1
Тварини ГПМК (контроль) 3	1,12 ± 0,04	2,33 ± 0,22	5,02 ± 0,05	18,05 ± 0,1	24,1 ± 0,3
Тварини ГПМК + гліцин 3	3,00 ± 0,07*	6,51 ± 0,34*	11,00 ± 0,10*	15,22 ± 0,5*	16,1 ± 0,4*
Тварини ГПМК + гліцин + тіотриазолін 3	3,85 ± 0,15*	7,78 ± 0,33* ⁺¹	14,21 ± 0,11* ⁺¹	15,10 ± 0,7*	15,2 ± 0,7* ¹
Тварини ГПМК + пірацетам 3	2,65 ± 0,06	5,1 ± 0,2	9,7 ± 0,11	16,8 ± 0,35	20,5 ± 0,55

6.3 Дослідження фармакологічної дії комбінованого лікарського засобу на основі ГАМК з тіотриазоліном при корекції когнітивної дисфункції після кетамінової анестезії

По-перше, на кафедрі фармацевтичної хімії були приготовані модельні суміші ГАМК з морфолінію тіазотату в співвідношенні 1:1, 2:1, 3:1, 4:1 та 5:1. Дослідження проводили на 80 білих безпородних щурах масою 180-190 г обох статей. Тварини містилися в стандартних умовах віварію (12-годинний світловий цикл, температура 22⁰С). Для проведення експериментів тварин

піддавали харчовій депривації, особливості якої описані нижче. З метою приручення щурів перед початком експерименту їх тримали в руках по 2-3 хв протягом 5 днів, що полегшувало наступні експериментальні дослідження [51, 110, 129, 249].

Кетамінову анестезію проводили шляхом введення 100 мг/кг кетаміну внутрішньочеревно. По виходу тварин з наркозу їм протягом 10 діб паралельно навчанню в лабіринті вводили досліджувані препарати в таких дозах: комбінація ГАМК+тіотриазолін (1:1) - 250 мг/кг, комбінація ГАМК+тіотриазолін (2:1) - 250 мг/кг, комбінація ГАМК+тіотриазолін (3:1) - 250 мг/кг, комбінація ГАМК+тіотриазолін (4:1) - 250 мг/кг, комбінація ГАМК+тіотриазолін (5:1) - 250 мг/кг, пірацетам - 500 мг/кг, внутрішньошлунково. Групи контролю і інтакту отримували протягом 10 днів внутрішньошлунково воду з твіном -80. Препарати вводили у вигляді водної суспензії з твін-80 за допомогою металевого зонда раз на добу за 60 хв до сеансу навчання.

На період навчання щурів піддавали харчовій депривації. Їжа була доступна щодня протягом 1 години. Тварин доводили до 85% початкової маси шляхом обмеження харчової дієти з вільним доступом до води. Дослідження пам'яті проводили за допомогою радіального лабіринту LE760 (AgnTho's, Sweden). Восьмипроменевий радіальний лабіринт складається з восьмикутної платформи (довжина сторони 22 см), від якої відходять пронумеровані від 1 до 8 радіальні промені-доріжки довжиною 70 см і шириною 10 см з заглибленнями для годівниць на кінці (діаметр 2 см, глибина 1,5 см). Кожна доріжка може бути закрита за допомогою гільйотиного механізму незалежно один від одного. Вся установка розташовувалася на висоті 70 см від підлоги. Дослідження проводилося в повній тиші. Починаючи з першого дня, тварини містилися в центральний майданчик лабіринту з 4-ма закритими променями і 4-ма відкритими променями, в годівницях яких розміщувалося 200 мг харчових гранул. Комбінація відкритих і закритих променів була індивідуальною і постійною для кожної тварини. Протягом наступних 10-ти днів тварини

навчалися знаходженню їжі, використовуючи зовнішні візуальні орієнтири. Навчання проводилося протягом 10 хвилин або до знаходження тваринам всіх чотирьох джерел їжі. Експеримент повторювали щодня дворазово з кожною твариною. Після експерименту тварина отримувала денний раціон їжі. На 10 день тварина містилася в радіальний лабіринт з вісьмома відкритими променями-доріжками, в 4-х з яких розміщувалася їжа згідно звичної для тварин схемою. Оцінювали референтну пам'ять (загальне довгострокове уявлення про структуру лабіринту і розташування їжі, яке сформувалося у тварини в процесі навчання) і кількість помилок референтної пам'яті (перші відвідини раніше закритого променя, в якому тварина ніколи не знаходила їжу), а також робочу пам'ять, (короткострокове уявлення тварини про розташування їжі в конкретному досвіді) і кількість помилок робочої пам'яті (повторне відвідування променя, в якому тварина раніше вже знаходила або не знаходила їжу). Крім того, оцінювали пройдену відстань і загальну рухову активність [18].

Експерименти проводилися в добре освітленій кімнаті в повній тиші. При проведенні експериментів виключалися вплив зовнішніх і внутрішніх візуальних, нюхових і слухових стимулів. Оцінка поведінки тварин проводилася лаборантом, що не обізнаний про приналежність тварини до конкретної експериментальної групи. Захоплення і запис зображення проводився за допомогою кольорової відеокамери SSC-DC378P (Sony, Japan). Аналіз відеофайлу проводився за допомогою програмного забезпечення Smartv 3.0 (Harvard Apparatus, USA). Статистична обробка результатів проводилася за допомогою Microsoft Excel 2016 з пакетом статистичної обробки AtteStat 12. Для оцінки достовірності відмінностей в досліджуваних групах використовувався критерій Краскела-Уолліса с поправкою Данна. Вірогідним вважалися відмінності при $p < 0,05$.

При оцінці специфічних показників навчання в радіальному лабіринті було виявлено, що через 10 діб після кетамінової анестезії у тварин спостерігалася когнітивна дисфункція. Загальна активність тварин контрольної групи достовірно не відрізнялася у порівнянні з групою інтакту. При

відтворенні результатів навчання тварин було встановлено, що на 10 добу після введення кетаміну збільшується в 4 рази кількість помилок робочої пам'яті, в 2,5 рази - кількість помилок референтної пам'яті, що свідчило про порушення мнестичних функцій у тварин після кетамінової анестезії. Отримані дані лежать в руслі концепції післяопераційної когнітивної дисфункції. Кетамінова анестезія призводить до формування стійкого когнітивного дефіциту, а також психо-емоційних порушень - загальмованість, страх, тривожність, дезорієнтація, агресивність, дратівливість.

Введення відразу після виходу тварин з наркозу досліджуваних комбінацій ГАМК з тіотриазоліном (1:1; 2:1; 3:1; 4:1 і 5:1) і препарату порівняння - пірацетам по-різному впливало на показники когнітивно-мнестичних функцій ЦНС (табл. 6.10).

Введення пірацетаму (500 мг/кг) не надавало достовірного впливу на такі показники когнітивно-мнестичних функцій тварин, як помилки референтної пам'яті, а також на показник загальної активності при обстеженні лабіринту на 10 добу після кетамінової анестезії. При цьому введення пірацетаму достовірно знижувало на 13,4% кількість помилок робочої пам'яті. Все це демонструє малоефективність використання пірацетаму з метою зменшення когнітивної дисфункції після кетамінової анестезії. Введення комбінацій ГАМК з тіотриазоліном (1:1; 2:1; 3:1; 4:1 і 5:1) надавало достовірний вплив на когнітивно-мнестичні функції ЦНС після кетамінової анестезії. Так, введення комбінації ГАМК+тіотриазолін (1:1) приводило до достовірного підвищення на 59,6% (що свідчить про розгальмовуючу дію комбінації 1:1) загальної дослідницької активності і достовірного зниження помилок робочої пам'яті на 37,5%, не надаючи достовірного впливу на кількість помилок референтної пам'яті. Введення комбінації ГАМК+тіотриазолін (2:1) приводило до достовірного підвищення на 66,8% загальної дослідницької активності (що свідчить про збільшення розгальмовуючої дії комбінації 2:1) і достовірного зниження помилок робочої пам'яті на 53,3% і на 60% кількості помилок референтної пам'яті. Введення комбінації ГАМК+тіотриазолін (3:1) не

приводило до достовірної зміни загальної дослідницької активності (вона знижувалася в порівнянні з групою, що одержувала комбінації ГАМК+ тіотриазолін 1:1 і 2:1 (можливо за рахунок збільшення в комбінації гальмівного інгредієнта - ГАМК) , але більш значно знижувало кількість помилок робочої

Таблиця 6.10

Вплив досліджуваних комбінацій ГАМК з тіотриазоліном (1:1; 2:1; 3:1; 4:1 і 5:1) і пірацетаму на навчання і пам'ять щурів після кетамінової анестезії в радіальному лабіринті

Експериментальні групи	Загальна активність, см ² /с	Кіл-ть помилок референтної пам'яті	Кіл-ть помилок робочої пам'яті
1	2	3	4
Інтакт (n=10)	24380,98±1242,43	2±0	4±1
Контроль (кетамінова анестезія) (n=10)	26867,58±1543,58	5±0	16±1
кетамінова анестезія+ ГАМК+тіотриазолін (1:1),250 мг/кг (n=10)	42877,75±1186,52* +59,6%	3±0 -40%	10±1* ¹ -37,5%
кетамінова анестезія+ ГАМК+тіотриазолін (2:1),250 мг/кг (n=10)	44811,55±1081,15* +66,8%	2±0* ¹ -60%	7±1* ¹ -53,3%
кетамінова анестезія+ ГАМК+тіотриазолін (3:1),250 мг/кг (n=10)	34644,12±1271,31 +28,9%	1±0* ¹ -80%	5±1* ¹ -66,7%
кетамінова анестезія+ ГАМК+тіотриазолін (4:1),250 мг/кг (n=10)	30572,72±1422,03 +13,8%	1±0* ¹ -80%	4±1* ¹ -73,3%
кетамінова анестезія+ ГАМК+тіотриазолін (5:1),250 мг/кг (n=10)	29412,39±2082,07 +9,47%	2±0* ¹ -60%	6±1* ¹ -60%

1	2	3	4
кетамінова анестезія+ пірацетам, 500 мг/кг (n=10)	35511,10±1412,11 +32,1%	4±0 -20%	13±1* -13,4%

Примітки:

* - достовірна відмінність ($p < 0,05$) в порівнянні з групою контролю

1 - достовірне розходження ($p < 0,05$) в порівнянні з групою Пірацетаму

пам'яті - на 66,7% і кількість помилок референтної пам'яті - на 80%. Введення комбінації ГАМК+тіотриазолін (4:1) також не приводило до достовірної зміни загальної дослідницької активності (за рахунок збільшення в комбінації гальмівного інгредієнта – ГАМК), але більш значно знижувало кількість помилок робочої пам'яті – на 73,3% і кількість помилок референтної пам'яті - на 80%. Введення комбінації ГАМК+тіотриазолін (5:1) також не приводило до достовірної зміни загальної дослідницької активності (за рахунок збільшення в комбінації гальмівного інгредієнта – ГАМК), але достовірно знижувало кількість помилок робочої і референтної пам'яті – на 60%. Таким чином, досліджувані комбінації ГАМК з тіотриазоліном (1:1; 2:1; 3:1; 4:1 і 5:1) виявляють виражений ноотропний і антиамнестичний ефекти, підвищуючи загальну активність при навчанні і знижуючи кількості помилок референтної і робочої пам'яті при відтворенні навичок навчання. За силою дії всі комбінації достовірно перевершують референс-препарат – пірацетам.

6.4 Спосіб комплексної, цитопротективної терапії вагітних із затримкою росту плода

Крім того, результатами досліджень зацікавилися лікарі-гінекологи і почали призначали одночасно L-аргінін та тіотриазолін вагітним жінкам з плацентарними порушеннями, які супроводжуються метаболічними

порушеннями та розвитком затримки росту плода (ЗРП), станом, при якому плід не досягає свого біологічно обумовленого росту.

Дослідження проведено у Запорізькому державному медичному університеті. В дослідженні прийняли участь 95 жінок з одноплідною вагітністю у терміні 28-34 тижні гестації. До I групи (основна) включені 32 вагітні з затримкою росту плода (ЗРП). Діагноз ЗРП встановлено за даними ультразвукового дослідження (УЗД). Для діагностики функціонального стану плода використовувались біофізичні методи згідно Наказів МОЗ України № 900 від 27.12.2006 р. та №782 від 29.12.2005 р. Вагітним даної групи призначена комплексна, цитопротективна терапія, яка включала призначення пірацетаму та тіотриазоліну (1000 мг та 250 мг відповідно в 100 мл 0,9 % розчину натрію хлориду на добу, внутрішньовенно, крапельно) в комплексі з L-аргініном гідрохлоридом (4,2 % по 100 мл розчину на добу, внутрішньовенно, крапельно) протягом 10 днів, а надалі з питьовим розчином L-аргініну аспартату (4,2 % 5 мл 6 разів на добу) протягом 14 днів. У комплексній терапії вагітні також отримували препарат Флебодія (діосмін 600 мг на добу) протягом 30 днів.

Експериментальними і клінічними дослідженнями встановлено роль дефіциту NO в системі мати-плацента-плід, що призводить до затримки росту плода і подальшим порушенням в постнатальному періоді. L-Аргінін є субстратом для утворення в клітинах NO і проявляє ендотеліопротективну, протиішемічну та цитопротективну дію. NO є нестабільним, короткоживучим радикалом і для його стабілізації і подальшого транспортування передбачені такі механізми, як утворення з тіолвміщуючими низькомолекулярними сполуками стійких S-нітрозольних комплексів. При оксидативному стресі, ішемії, гіпоксії порушується транспорт NO, тому що він при взаємодії з активними формами кисню перетворюється в цитотоксичний продукт - пероксинітрит. Комбінування L-аргініну з тіотриазоліном призводить до значного протекціонізму NO, підвищуючи його біодоступність, посилюючи його синтез і нормалізуючи транспорт. Тіотриазолін, який є тіолвміщуючим антиоксидантом, здатний виступати в ролі транспортної молекули NO. Крім

того, покращуючи енергетичний метаболізм (гальмування формування мітохондріальної дисфункції, зниження енергодефіциту за рахунок активації аеробної продукції АТФ, зменшення лактат ацидозу), тіотриазолін здатний зменшувати ступінь ішемічних порушень в системі плацента-плід.

Група II (група порівняння) представлена 33 вагітними з ЗРП, ведення вагітності та пологів яких передбачене чинними наказами МОЗ України. Критерієм виключення були важкі соматичні захворювання. Групу III (контрольна) склали 30 вагітних жінок без ЗРП. Середній вік вагітних в I групі склав $25,9 \pm 1,6$ років, у II – $27,7 \pm 1,8$ років і $25,8 \pm 1,0$ років у групі контролю. Різниця в групах за віком, терміном гестації, соціальним та професійним складом встановлено не було ($p > 0,05$). З метою оцінки ефективності запропонованої цитопротективної терапії вагітних з затримкою росту плода, до початку та в динаміці лікування проводилась комплексна оцінка біохімічного гомеостазу, а також проведено аналіз особливостей перебігу вагітності, пологів і стану новонароджених. Оцінювання біохімічних показників у вагітних з ЗРП та без неї було проведено спектрофотометричним визначенням показників окислювальної модифікації білків та рівня глутатіону флюорометричним методом плазми крові в динаміці. Первинна оцінка їх вмісту показала статистично достовірно ($p < 0,05$) нижчий рівень глутатіону при порівнянні показників вагітних без ЗРП з показниками вагітних з ЗРП (як I, так і II групи), що свідчить про зниження антиоксидантного захисту у даного контингенту жінок (табл. 6.11).

Подальша оцінка біохімічних показників в динаміці вагітності, дозволила встановити суттєве прогресування дисбалансу між оксидантами та антиоксидантами серед вагітних II групи (табл. 6.12). У вагітних I групи, які отримували запропоновану комплексну, цитопротективну терапію, навпаки, встановлено достовірне зниження показників ОМБ на тлі зростання рівня глутатіону відновленого, що свідчить про її позитивний вплив. Варто відзначити, що біохімічні показники вагітних з ЗРП, які отримували комбіновану терапію тіотриазоліну, аргініну і флєбодіа, не відрізнялися від

Таблиця 6.11

Показники окислювальної модифікації білків (АФГ, КФГ) та глутатіону відновленого (GSH) в плазми крові у вагітних на початку дослідження, Ме (Q25; Q75)

Показники	Вагітні з ЗРП (І група) (n = 32)	Вагітні з ЗРП (ІІ група) (n = 33)	Вагітні без ЗРП (ІІІ група) (n = 30)
АФГ (спонтанна), у.о./г білка	5,0 (3,6; 6,6)	5,1 (3,7; 6,1)	4,8 (3,8; 5,7)
КФГ (спонтанна), у.о./г білка	10,8 ¹ (7,9; 15,8)	11,4 ¹ (8,4; 14,6)	7,4 (6,7; 8,7)
АФГ (стимульована), у.о./г білка	3,6 (2,8; 4,7)	3,7 (2,8; 4,4)	3,6 (3,1; 4,3)
КФГ (стимульована), у.о./г білка	6,9 (5,1; 8,8)	7,1 (5,4; 8,9)	6,0 (5,4; 6,9)
GSH, мкМ/мл	1,2 (0,7; 2,7)	1,2 (0,7; 2,8)	2,2 (1,6; 7,0)

Таблиця 6.12

Показники окислювальної модифікації білків (АФГ, КФГ) та глутатіону відновленого (GSH) плазми крові на кінець лікування, Ме (Q25; Q75)

Показники	Вагітні з ЗРП (І група) (n = 32)	Вагітні з ЗРП (ІІ група) (n = 33)	Вагітні без ЗРП (ІІІ група) (n = 30)
АФГ (спонтанна), у.о./г білка	4,9 (3,9; 5,9)	5,8 (4,8; 6,9)	5,2 (3,8; 5,7)
КФГ (спонтанна), у.о./г білка	8,7* (7,1; 9,6)	14,1* ¹ (12,7; 17,5)	7,6 (6,8; 8,8)
АФГ (стимульована), у.о./г білка	3,6 (2,9; 4,1)	4,8 ¹ (3,5; 5,3)	3,7 (3,0; 4,3)
КФГ (стимульована), у.о./г білка	6,0 (5,0; 6,9)	10,3* ¹ (9,5; 13,4)	5,9 (5,4; 7,2)
GSH, мкМ/мл	2,6* (1,8; 3,6)	2,1 ¹ (1,6; 2,3)	2,9 (1,9; 4,9)

Примітка: * - p < 0,05 по відношенню до аналогічних показників на початок лікування; ¹ - p < 0,05 по відношенню до аналогічних показників ІІІ

групи таких здорових вагітних (група III), у той час, як біохімічні показники у вагітних з ЗРП, які отримали стандартне лікування (група II) були достовірно гірше, ніж у здорових вагітних (група III).

Аналізуючи особливості перебігу гестації в групах дослідження встановлено, що частота невиношування вагітності (НВ) у II групі склала 39,4 % і значно перевищувала відповідні показники I (21,8 %) та III (16,7 %) груп. Гіпертензивні розлади під час вагітності та у пологах діагностовані тільки у вагітних I (6,3 %) та II (9,1 %) груп. Середній показник терміну розродження в I та III групах склав $38,9 \pm 0,6$ тижні та $39,4 \pm 0,5$ тижні, відповідно, а у групі II він був нижчим – $37,2 \pm 0,6$ тижні. Така різниця, насамперед, обумовлена частотою передчасних пологів (ПП) у II групі дослідження, які відбулися у терміні 32-36 тижні. Так, в I групі показник частоти ПП, склав 3,1 % і був в 6 разів нижчим за відповідний показник групи II (21,2 %). У III групі ПП не було. Частота дистресу плода в II групі (18,2 %) майже в 2 рази перевищувала відповідний показник I групи (9,4 %), а в III групі він склав 3,3 %. Серед інших ускладнень у пологах слід зазначити слабкість пологової діяльності та передчасне відшарування нормально розташованої плаценти (ПВНРП), які вплинули на зростання відсотка ускладнених пологів та оперативного розродження. Загальна частота абдомінального розродження була найвищою у II групі і склала 45,5 %, у I групі – 15,6 % та 6,7 % у III групі. В II групі частота операції кесарів розтин за ургентними показаннями більш ніж у 4 рази перевищувала відповідний показник у I групі (29,5 % та 6,8 % відповідно). Стан новонароджених в групах дослідження оцінювали за шкалою Апгар. Як на 1-й, так і на 5-й хвилинах загальний показник за відповідною шкалою був статистично достовірно нижчим у II групі, порівнюючи з показниками I та III груп. Такі особливості обумовлені тим фактом, що задовільний стан новонароджених (8-10 балів) на 1-й та на 5-й хвилині у II групі спостерігався значно рідше (36,4 % та 75,8 %), ніж у I (71,8 % та 96,8 %) і III (86,7 % та

96,7 %) групах. Характеризуючи перинатальні ускладнення, встановлено значний відсоток неонатальної енцефалопатії та неонатальної жовтяниці у II групі, а саме 33,3 % та 36,4 %, відповідно. У I групі їх частота склала 9,4 % та 3,1 %, відповідно. В структурі перинатальної патології недоношеність мала місце у 21,2 % новонароджених II групи, що в 6 разів перевищувало відповідний показник I групи (3,1 %). Зазначених ускладнень в III групі встановлено не було. Одним з показників, який може свідчити про ефективність запропонованої терапії – це масо-ростові параметри новонароджених. На підставі антропометричних вимірювань новонароджених встановлено, що середній показник їх маси в II групі склав $2162,2 \pm 105,4$ грамів та був статистично достовірно ($p < 0,05$) нижчим за відповідний показник у I ($2785,2 \pm 100,2$ грамів) та III ($2914,3 \pm 180,2$ грамів) групах. Частота ЗРП, при розрахунку за масо-ростовими параметрами новонароджених, у II групі була найвищою і склала 88,6 %. Зазначений показник у I та III групах склав 63,2 % та 10,0 %, відповідно.

Таким чином, запропонована комплексна, цитопротективна терапія (яка включає в себе комбіноване призначення тіотриазоліну, L-аргініну і флєбодіа) у жінок з затримкою росту плода має позитивний вплив на окислювально-відновлювальний гомеостаз, акушерські та перинатальні результати розродження, про що свідчить статистично достовірне ($p < 0,05$) переважання як показників оцінки за шкалою Апгар та відповідно процесів адаптації, так і результатів антропометричних досліджень новонароджених, їх масо-ростових параметрів. При цьому, перинатальні наслідки розродження характеризуються нижчим рівнем частоти неонатальної енцефалопатії та народження недоношених немовлят.

Висновки до розділу 6

1. В результаті проведених досліджень встановлено наявність антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів кардіопротективної і протиішемічної дії Аргітрила. За впливом на досліджувані показники антиоксидантного, енерготропного і NO-модулюючого механізмів кардіопротективної і протиішемічної дії Аргітрил достовірно перевершує референс препарат -Тівортін.

2. Встановлено, що призначення тваринам з ГПМК фіксованої комбінації гліцину з тіотриазоліном - призводило до значної активації окисної продукції енергії на дикарбоновій ділянці циклу Кребса, пригнічувало активність анаеробного гліколізу, що приводить до зниження лактат-ацидозу, чинила позитивний вплив на окисну продукцію енергії у головному мозку щурів з ГПМК, та інтенсифікувала транспорт і утилізацію енергії, призводило до нормалізації ГАМК-шунту і відновлювала концентрацію гальмівних трансмітерних амінокислот, що підсилює сумарний нейропротективний ефект препарату.

3. Встановлено, що за ступенем впливу на показники енергетичного метаболізму головного мозку комбінація гліцину з тіотриазоліном перевершувала референс-препарати пірацетам і гліцин.

4. За результати проведених досліджень, встановили, що комбінований засіб ГАМК з тіотриазоліном забезпечує більш високу активність у порівнянні з відомими засобами щодо корекції когнітивних розладів після кетамінової анестезії.

5. Комбінація ГАМК з тіотриазоліном в співвідношенні 1:1; 2:1; 3:1; 4:1 і 5:1 відповідно проявляє виражений ноотропний і антиамнестичний ефекти; найбільш ефективними виявилися комбінації ГАМК+тіотриазолін в співвідношеннях 3:1 і 4:1 відповідно.

6. Результати дослідження впровадженні в науково-педагогічну діяльність кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровської медичної академії МОЗ України» (Додаток Ш).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Исследование кардио- и эндотелиопротекторного действия нового комбинированного лекарственного препарата на основе L-аргинина и тиотриазолина / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, О. В. Хромылева. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1. С. 54-60. *(Особистий внесок: приготування лікарської форми, проведення морфометричних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті)*.

2. Metabolithotropic aspects of cardioprotective action of new combined medicine based on L-arginine and thiotriazolin at modeling of myocardial infarction / L. I. Kucherenko, I. F. Belenichev, I. A. Mazur, O. V. Khromylova. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. Vol. 10, Iss. 10. P. 158-161. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i10.19895>. *(Особистий внесок: приготування лікарської форми, спектрофотометричне дослідження, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus))*.

3. Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazoline on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia / L. Kucherenko, I. Belenichev, I. Mazur, O. Khromylova, N. Parniuk. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 14-21. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000598. *(Особистий внесок: приготування штучної суміші, спектрофотометричне дослідження зразків, статистична*

обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus).

4. Kucherenko L. I., Belenichev I. F., Khromyleva O. V. Creation of a new combined drug based on gamma-aminobutyric acid and thiotriazoline. *Biological markers and guided therapy*. 2020. Vol. 7, no. 1. P. 31-38. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2020.91017>. (*Особистий внесок: приготування штучних сумішей, проведення експерименту, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті*).

5. Пат. на винахід № 110597 Україна, МПК (2015.01) А61К 31/198 (2006.01), А61К 9/00. Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії / І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, В. Г. Сюсюка ; патентовласник ТОВ «Науково-виробниче об'єднання «Фарматрон». № а 201506388 ; заявл. 30.06.2015 ; опубл. 12.01.16, Бюл. № (*Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту*).

6. Пат. на винахід №114270 Україна, МПК А61К 31/198 (2006.01), А61К 31/41(2006.01) А61Р 9/10(2006.01). Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова. № а201612503 ; заявл. 08.12.2016 ; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9. (*Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту*).

7. Фармакологические портреты препаратов, разработанных в НПО «Фарматрон» в галерее инновационных лекарственных средств / И. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, О. В. Хромилева, Е. А. Нагорная. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 76-77.

8. Щодо доцільності створення нового комбінованого лікарського препарату для лікування захворювань центральної нервової системи / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Фармація XXI*

століття: тенденції та перспективи : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 376-377.

9. Стратегія розробки нових фіксованих комбінованих лікарських засобів нейропротективної дії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 6-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 126.

10. Щодо створення нового комбінованого лікарського препарату на основі L-аргініну та тіотриазоліну / Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, І. А. Мазур, О. В. Хромильова. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф., Харків, 2017. С. 192.

11. Combined metabolitotropic endothelio protector "Argitryl" – new word in complex therapy of heart and vessel diseases / I. A. Mazur, I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova. *Актуальные вопросы медицины* : матеріали VI ежегодной междунар. науч.-практ. конф. Баку, 2017. С. 70-71.

12. Розробка нових лікарських засобів на основі морфолінію тіазотату / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, Харків, 2018. С. 169.

13. Деякі аспекти нейропротективної дії фіксованої комбінації гліцину з тіотриазолом / І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 7-ї наук.-практ. конф. з між нар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2018. С. 255-256.

14. Drug development for the treatment of the cardiovascular diseases based on fixed combinations of thiotriazoline and transmitter amino acids/ I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, S. V. Shishkina, I. F. Belenichev, O.V. Khromylova. *Chemistry of nitrogen containing heterocycles* : materials of the XIII conference. Kharkiv, 2018. P. 91.

15. Створення нового оригінального ендотеліопротектора на основі похідних 1,2,4-триазолу / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 327-328.

16. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Беленічев І. Ф. Створення нового комбінованого лікарського засобу на основі гамма-аміномасляної кислоти та морфолінія тіазотату. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V міжнар. наук.-практ. конф. Харків, 2020. С. 283.

ВИСНОВКИ

Дисертаційна робота присвячена вирішенню наукової проблеми, що полягає у розробці складу, технології, методик стандартизації та дослідженні фармакологічних властивостей нових комбінованих засобів для лікування судинних захворювань головного мозку – «Аргітрил», «Гліцитрил» та «Тіогамк» в таблетках з фіксованим вмістом тіотриазоліну та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК відповідно.

1. Проведений аналіз джерел літератури у світлі новітніх уявлень щодо сучасного стану медичного застосування нейротрансмітерних амінокислот та тіотриазоліну, методичних підходів до розробки таблетованих лікарських засобів, а також перспектив застосування препаратів, розроблених на основі комбінацій антиоксидантів та нейротрансмітерних амінокислот з метою оптимізації лікування хвороб ЦНС. Досліджено ринок лікарських засобів України з групи амінокислот, що впливають на метаболічні процеси.

2. Проведеними квантово-хімічними розрахунками показана відсутність утворення стійких ковалентних зв'язків між речовинами у сумішах тіотриазоліну та L-аргініну, тіотриазоліну та гліцину, тіотриазоліну та ГАМК, а термогравіметричними дослідженнями доведена можливість комбінування тіотриазоліну та L-аргініну, тіотриазоліну та гліцину або тіотриазоліну та ГАМК у твердій лікарській формі, такій, як таблетки.

3. Запропонований методологічний підхід щодо математичного планування експериментальних досліджень за вибором допоміжних речовин для таблеток-ядер з вмістом похідних 1,2,4-триазолу та аліфатичних нейротрансмітерних амінокислот – L-аргініну, гліцину та ГАМК. За результатами дисперсійного аналізу складено ранжовані ряди переваг, що дозволили оптимально обрати допоміжні речовини та запропонувати склад таблеток розроблюваних комбінованих засобів «Аргітрил», «Гліцитрил», та «Тіогамк».

4. Проведеними фармакологічними дослідженнями визначено оптимальні співвідношення тіотриазоліну та гліцину, тіотриазоліну та L-аргініну або тіотриазоліну та ГАМК в одиниці лікарської форми як 1:4, а методом математичного планування, морфометричними та фармако-технологічними дослідженнями вивчено форму кристалів та встановлено розміри часток порошків діючих речовин, здійснений вибір допоміжних речовин (наповнювачі, розпушувачі, регулятори вологи та зв'язуючі), плівкоутворюючих систем на основі ПВС для нанесення на таблетки-ядра та розроблений склад таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк».

5. Запропоновано технологічні схеми та розроблено технології одержання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном та ГАМК з тіотриазоліном методом вологої грануляції, гліцину з тіотриазоліном – методом прямого пресування, які відпрацьовано в умовах заводу-виробника ДП «ДНЦЛЗ» та впроваджено у технологічний процес лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ» та у систему контролю якості лабораторії таблетованих лікарських форм ПрАП «Лекхім».

6. Розроблено методики кількісного визначення тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот – гліцину, L-аргініну та ГАМК в модельних сумішах, таблеткових масах та розроблених таблетках «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» методом ВЕРХ. Здійснено валідацію методики кількісного визначення тіотриазоліну та нейротрансмітерних амінокислот – гліцину, L-аргініну та ГАМК методом ВЕРХ в розроблених таблетках. За результатами валідації доведена прийнятність методик для вирішення питань стандартизації розроблених таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк».

7. За розробленими методиками ВЕРХ та ТШХ, а також фармако-технологічними дослідженнями здійснено стандартизацію таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк». Для визначення якості розроблених таблеток за методиками ДФУ та розробленими методиками здійснено оцінку їх зовнішнього вигляду, проведено ідентифікацію, визначено кількісний вміст діючих речовин, мікробіологічну чистоту та вміст супровідних домішок,

проведено тести «розчинення» та «розпадання». За результатами проведених досліджень розроблено специфікації та проекти МКЯ, а розроблені таблетки «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» визначено відповідними вимогам ДФУ. Досліджено стабільність таблеток «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк» в процесі зберігання та встановлено термін і умови їх придатності – 2 роки за температури $25\pm 2\text{ C}^\circ$ і відносній вологості $60\pm 5\%$.

8. Проведені дослідження фармакологічної активності розроблених засобів «Гліцитрил», «Аргітрил» та «Тіогамк». Встановлено, що комбінація L-аргініну з тіотриазоліном достовірно перевершує референс-препарат Тівортін за впливом на досліджувані показники антиоксидантної, енерготропної і NO-модулюючої, кардіопротективної і протиішемічної дії; комбінація гліцину з тіотриазоліном за ступенем впливу на показники нейропротективної, протиішемічної, енерготропної дії перевершує референс-препарати Пірацетам і Гліцин; комбінація ГАМК з тіотриазоліном за силою ноотропної, антиамнестичної та анксиолітичної дії перевершує референс-препарат Пірацетам.

9. Розроблені комбіновані засоби «Аргітрил» та «Гліцитрил» в таблетках включено до перспективного плану розвитку підприємства ПрАТ «Лекхім-Харків». Результати наукових досліджень впроваджені в науково-педагогічні процеси ряду кафедр вищих навчальних закладів України. Наукову новизну досліджень захищено патентом України на винахід № 110597 «Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії» від 12.01.2016 р. та патентом України на винахід № 114270 «Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції» від 10.05.2017 р.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Актуальність створення нового таблеткованого комбінованого нейропсихотропного лікарського засобу / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, 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.
2. Алеєва Г. Н., Журавлева М. В., Хафизьянова Р. Х. Роль вспомогательных веществ в обеспечении фармацевтических и терапевтических свойств лекарственных препаратов (обзор). *Химико-фармацевтический журнал*. 2009. Т. 43, № 4. С. 51-55.
3. Александров А. В. Вызовы и возможности документа ICHQ10 «Фармацевтическая система качества». *Промышленное обозрение*. 2008. № 4. С. 19-21.
4. Алексеев К. В. Технологические аспекты производства твердых лекарственных форм. *Медицинский бизнес*. 2006. Спец. вып. : Лекарства по ВМР. С. 23-29.
5. 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.
6. 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.
7. Антиоксиданта система захисту / І. Ф. Беленічев, Ю. І. Губська, Є. Л. Левицький та ін. *Современные проблемы токсикологии*. 2002. № 3. С. 24-31.
8. Антиоксиданты: клинико-фармакологический аспект / И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев, Н. А. Горчакова и др. *Український медичний часопис*. 2014. № 1. С. 22-28.

9. 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.
10. Арзамасцев А. П., Садчикова Н. П., Лутцева Т. Ю. Сравнительная оценка уровня требований к испытанию «Растворение». *Химико-фармацевтический журнал*. 2003. Т. 37, № 1. С. 39-45.
11. Арзамасцев А. П., Садчикова Н. П., Харитонов Ю. Я. Валидация аналитических методов. *Фармация*. 2006. № 4. С. 8-12.
12. Арзамасцев А. П. Стандартные образцы для фармакопейного анализа *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010. № 5. С. 6-10.
13. Астахов А. Гліцисед КМП: просто амінокислота чи універсальні ліки проти стресу?. *Ліки України*. 2004. № 1. С. 35-36.
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. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2012. Т. 21, № 3. С. 531-536.
17. Борсук С. О. Обґрунтування вибору лікарської форми нового комбінованого нейропсихотропного препарату. *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2017* : тези доповідей. Запоріжжя, 2017. С. 142.

18. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. Москва : Высш. шк., 1991. 398 с.
19. Буткевич Т. А., Сятиня М. Л., Попович В. П. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні властивості таблеток сухого порошку біомаси *Flammulina velutipes*. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 3. С. 47-51.
20. 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.
21. Валідація методики кількісного визначення діючих речовин в таблетках «Аргітрил» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, С. О. Борсук. *The scientific heritage*. 2020. No. 51-2. P. 59-64.
22. Ветютнева Н. О., Буднікова Т. М., Пилипчук Л. Б. Методи управління якістю у фармацевтичному секторі. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика*. 2011. Вип. 20. С. 708-716.
23. Ветютнева Н. О., Шукаева 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.
24. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 2. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники отриманих таблеток / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, Л. Г. Черковська. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 2. С. 32-39. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.2.11193>
25. 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. *Фармацевтичний часопис*. 2017. № 3. С. 31-38.

26. Вибір допоміжних речовин з метою отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 1. Вивчення впливу допоміжних речовин на насипну густина, насипну густина після усадки, текучість та кут природного укосу порошкових мас гліцину з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, З. Б. Моряк. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 1. С. 98-104. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198182>

27. Вибір раціональних допоміжних речовин з метою створення таблеток «Ангіолін» методом вологої грануляції / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, О. С. Бідненко та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 2. С. 16-22.

28. Використання високоефективної рідинної хроматографії при розробці нового лікарського засобу «Аргітрил» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 329-330.

29. 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.

30. Використання фармацевтичних стандартних зразків відповідно до вимог GMP / Д. А. Леонтьєв, О. І. Гризодуб, С. О. Чікалова, Ю. В. Підпружников. *Ліки та життя* : II Міжнар. мед.-фармац. конгрес : тези доп. (15-18 лютого 2005 р., м. Київ). Київ, 2005. С. 140.

31. Воронина Т. А., Серединин С. Б. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. МЗ РФ ЗАО ИИА Ремедиум, 2002. 320 с.

32. Вспомогательные вещества для производства твердых лекарственных форм : информ. листок / Витэк групп. Одесса : Витэк групп. URL : <http://www.witec.com.ua>.

33. 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. *Журнал органічної та фармацевтичної хімії*. 2004. Т. 2, вип. 1. С. 24-34 ; 2005. Т. 3, вип. 1. С. 60-64.

34. Гаврилова Н. Н., Назаров В. В., Яровая О. В. Микроскопические методы определения размеров частиц дисперсных материалов : учеб. пособие. Москва : РХТУ им. Д. И. Менделеева, 2012. 52 с.

35. Георгиевский Г. В. Разработка комплекса физико-химических методик, обеспечивающих создание и контроль качества оригинальных отечественных препаратов, производных 1,2,4-триазола. *Запорожский медицинский журнал*. 2011. Т. 13, № 1. С. 58-69.

36. Горчакова Н. А., Беленичев И. Ф., Мазур И. А. Механизм антиоксидантного и противоишемического действия тиотриазолина. *Новости медицины и фармации*. 2007. № 2. С.11-21.

37. Гризобуд А. И. Стандартизированные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. Харьков : ГП "Украинский научный фармакопный центр качества лекарственных средств", 2016. 396 с.

38. Гризодуб А. И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. *Фармаком*. 2006. № 1/2. С. 35-44.

39. 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.

40. 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.

41. 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. С. 32-44.

42. Грошовий Т. А. Порівняльна оцінка допоміжних речовин при отриманні таблеток прямим пресуванням. *Наука і соціальні проблеми суспільства: медицина, фармація, біотехнологія* : матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., 21-23 трав. 2003 р., м. Харків. Харків, 2003. С. 178.

43. Гурєєва С. М., Грошовий Т. А., Лукашів О. І. Дослідження асортименту допоміжних речовин, які використовують у лікарських засобах, що зареєстровані на території України. Повідомлення 1. Дослідження асортименту лікарських форм та допоміжних речовин, які використовують у виробництві таблеток (без оболонки). *Фармацевтичний часопис*. 2012. № 4. С. 178-183.

44. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. Москва : Медицина, 2001. 328 с.

45. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.

46. Державна Фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : ДП «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

47. Дериватографічні дослідження гама-аміномасляної кислоти, тіотриазоліну та суміші гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромільова, Г. П. Лисянська, І. В. Павлюк. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 1, no. 47. P. 39-42.

48. Деякі аспекти нейропротективної дії фіксованої комбінації гліцину з тіотриазоліном / І. Ф. Беленічев, О. В. Хромільова, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 7-ї наук.-практ. конф. з між нар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2018. С. 255-256.

49. Дизайн експерименту при проведенні досліджень із створення таблетованих лікарських засобів. Повідомлення 1. Дизайн експерименту при

дослідженні впливу якісних факторів на етапі розробки таблетованих лікарських засобів / Т. А. Грошовий, М. Б. Демчук, Н. М. Белей та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 2. С. 101-110.

50. Дмитриева М. В., Леонтьев Д. А. Анализ критических факторов и стандартизация испытаний на растворении в соответствии с требованиями Дополнение 2 ГФУ. *Запорожский медицинский журнал*. 2008. № 4. 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 / І. М. Перцев, Д. І. Дмитрієвський, О. П. Гудзенко та ін. ; 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 анксиолітичної активності нового комбінованого лікарського засобу триптофану з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, С. О. Борсук. *Сучасні перспективи розвитку науки* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф. (15-16 вересня 2017 р.). Київ : МЦНД, 2017. С. 31.

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. Егошина Ю. А., Поцелуева Л. А. Современные вспомогательные вещества в таблеточном производстве. *Успехи современного естествознания*. 2009. № 10. С. 30-33.

57. Емшанова С. В. Методологические подходы к выбору вспомогательных веществ для получения таблетированных препаратов методом

прямого прессования. *Химико-фармацевтический журнал*. 2008. Т. 42, № 2. С. 38-43.

58. Задачи и основы формирования вкуса таблетированных лекарственных препаратов / А. В. Кузнецов, А. М. Шевченко, Л. С. Кузнецова и др. *Современные проблемы науки и образования*. 2015. № 5. URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=22305>

59. 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.

60. Изучение влияния температурного фактора на структурно-механические свойства суппозиторий с каптоприлом / А. Ж. Абдуллах, Б. С. Бурлака, С. А. Гладышева, Д. М. Романина. *Актуальні питання фармацевтично медичної науки та практики*. 2012. № 3. С. 72-75.

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. Исследование кардио- и эндотелиопротекторного действия нового комбинированного лекарственного препарата на основе L-аргинина и тиотриазолина / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, О. В. Хромыева. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1. С. 54-60.

64. Клинические испытания лекарств / под ред. В. И. Мальцева, Т. Е. Ефимцевой, Ю. Б. Белоусова, В. Н. Коваленко. Киев : Морин, 2002. 352 с.

65. Клиническое применение тиотриазолина в терапии / И. А. Мазур, Н. А. Волошин, И. С. Чекман и др. *Сучасна гастроентерологія*. 2005. № 6. С. 77-81.
66. Кукес В. Г. Клиническая фармакология. 4-е изд. Москва : ГЕОТАР-медиа, 2008. С. 164-169.
67. Кутовая О. В., Ковалевская И. В., Шаповалов О. В. Оптимизации влажности микрокристаллической целлюлозы в процессе гранулирования. *Хабаршысы (Вестник) ЮКГФА*. 2016. № 4. С. 18-19.
68. Кучеренко Л. И., Хромильова О. В. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Фармацевтичний часопис*. 2013. № 4. С. 83-87.
69. Кучеренко Л. И., Хромильова О. В. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток ізоніазиду з тіотриазоліном методом прямого пресування. *Фармацевтичний часопис*. 2014. № 1. С. 80-84.
70. Кучеренко Л. И., Хромилева О. В. Разработка технологии получения таблеток методом влажной грануляции на основе L-аргинина и морфолина тиазатата. *The world of science and innovation : materials of II International Scientific and Practical Conference, London. United Kingdom 2020*. P. 403-405.
71. Кучеренко Л. И., Хромылева О. В., Левых А. Э. Применение нейротрансмиттерных аминокислот в современной медицине. *Рецепт*. 2016. Т. 19, № 5. С. 616-620.
72. Кучеренко Л. И., Грошовий Т. А. Оптимізація складу таблеток тіотриазоліну. *Вісник фармації*. 2001. № 3. С. 54.
73. Кучеренко Л. И., Грошовий Т. А., Георгієвський Г. В. Вивчення впливу допоміжних речовин на властивості таблеток тіотриазоліну. *Научные направления в создании лекарственных средств в фармацевтическом секторе Украины : сб. тезисов*. Харьков, 2000. С. 84-85.

74. Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А., Калинюк Т. Г. Вивчення впливу кількісних факторів на властивості таблеток тіотриазоліну, які одержані прямим пресуванням. *Фармаком.* 2003. № 2. С. 81-84.

75. Кучеренко Л. І., Грошовий Т. А., Калинюк Т. Г. Вивчення впливу кількісних фармацевтичних факторів на властивості таблеток «Тіотриазолін». *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики* : зб. наук. ст. Запоріжжя, 2002. Вип. 9. С. 87-93.

76. 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.

77. 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.

78. 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.

79. 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. Фармацевтичний часопис.* 2017. № 3. С. 39-46.

80. 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.

81. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном

методом вологої грануляції. *Modern science: problems and innovations* : materials of VIII International Scientific and Practical Conference. Stockholm, 2020. P. 96-98.

82. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Підбір оптимальних умов визначення гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші методом ВЕРХ. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 8-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. С. 149-150.

83. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Розробка технології сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. *Eurasian scientific congress* : materials of X International Scientific and Practical Conference. Barcelona, 2020. P. 88-90.

84. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Щодо технології отримання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. (14-15 березня 2019 р.). Харків, 2019. С. 160.

85. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Німенко Г. Р. Визначення гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії. *Österreichisches Multiscience Journal*. (Innsbruck, Austria). 2020. Vol. 1, no. 33. P. 16-19.

86. Лапач С. Н., Губенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием EXCEL. Киев : МОРИОН, 2002. 640 с.

87. Леонтьев Д. А. Валидация аналитических методик и испытаний. Система Фармакопейных стандартных образцов Государственной Фармакопеи Украины. *Фармаком*. 2002. № 1. С. 36-43.

88. Леонтьев Д. А. Вопросы создания системы фармацевтических стандартных образцов в Украине. *Вісник фармації*. 2001. № 3 (27). С. 75.

89. 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. С. 180-189.

90. Леонтьев Д. Д., Леонтьев Д. А., Гризодуб А. И. Аттестация стандартных образцов с использованием стандартизации свойств хроматографическими методами. *Аналітична хімія у фармації* : матеріали Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (Харків, 19-20 березня 2015 року). Харків : Вид-во НФаУ, 2015. С. 45-47.

91. Лікарські засоби. Випробування стабільності біотехнологічних/біологічних продуктів (ICH Q5C) : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-8.2:2013. Київ : МОЗ України, 2013. 22 с. (Стандарт МОЗ України).

92. Лікарські засоби. Доклінічні дослідження безпеки як підгрунтя клінічних випробувань за участю людини та реєстрації лікарських засобів (ICH M3(R2)): Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2014. Київ : МОЗ України, 2014. 45 с. (Стандарт МОЗ України).

93. Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.1:2014. Київ : МОЗ України, 2014. 62 с. (Стандарт МОЗ України).

94. Лікарські засоби. Досьє виробничої дільниці : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.1:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 8 с. (Стандарт МОЗ України).

95. Лікарські засоби. Міжнародні гармонізовані вимоги щодо сертифікації серії : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.4:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 10 с. (Стандарт МОЗ України).

96. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016. Київ : МОЗ України, 2016. 335 с. (Стандарт МОЗ України).

97. Лікарські засоби. Належна клінічна практика : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.0:2008. Київ : МОЗ України, 2009. 67 с. (Стандарт МОЗ України).

98. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика: Настанова СТ-Н МОЗУ 42-6.0:2008. К.. Р. МОЗ України, 2009. 27 с. (Стандарт МОЗ України).

99. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9). Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 35 с. (Стандарт МОЗ України).

100. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8). Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 42 с. (Стандарт МОЗ України).
101. Лікарські засоби. Фармацевтична система якості (ICH Q10). Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.3:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 30 с. (Стандарт МОЗ України).
102. Луцкевич Д. Д., Мороз А. С., Рибальська О. В. Хроматографія. *Аналітична хімія*. Київ : Здоров'я, 2003. С. 278-285.
103. Мазур И. А., Чекман И. С., Беленичев И. Ф. Метаболитотропные препараты. Запорожье, 2007. 309 с.
104. Малахова І. І., Красіков В. Д. Сучасна високоефективна тонкошарова хроматографія. *Лабораторний журнал*. 2002. № 1. С. 15-19.
105. Математичне планування експерименту при проведенні наукових досліджень в фармації / Т. А. Грошовий та ін. Тернопіль: ТДМУ, 2008. 367 с.
106. Машковский М. Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. Москва : Новая волна : Издатель Умеренков, 2012. 1216 с.
107. Механизм противоишемического и антиоксидантного действия тиотриазолина / И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, Н. А. Волошин и др. *Клиническая фармакология*. 2006. № 2. С. 18-22.
108. 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.
109. Настанова з клінічних досліджень. Лікарські засоби. Дослідження біодоступності та біоеквівалентності (Настанова 42-7.1:2005). Київ : Міністерство охорони здоров'я України, 2005.
110. Науково-методичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожемякін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко Г. А. Сайфетдінова. Київ : Авіцена, 2002. 156 с.
111. Нейропротекция в анестезиологии и интенсивной терапии / Е. Н. Клигуненко, Л. А. Дзяк, Ю. А. Площенко и др. *Медицина неотложных состояний*. 2008. № 2. С. 41-50.

112. Нейропротекция и нейропластичность. Монография / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Е. А. Нагорная и др. Киев : Логос, 2015. 512 с.
113. Оптимізація методики визначення технологічних домішок у субстанції тіотріазоліну / В. В. Ващенко, З. Б. Моряк, О. О. Портна та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. №. 1. С. 49-53.
114. Оптимізація технологічних процесів створення лікарських засобів за допомогою математичного планування експерименту / Т. А. Грошовий, Н. М. Белей, Л. І. Кучеренко та ін. *Фармацевтичний часопис*. 2007. № 1. С. 21-29.
115. Пат. на винахід № 110597 Україна, МПК (2015.01) А61К 31/198 (2006.01), А61К 9/00. Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії / І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, В. Г. Сюсюка ; патентовласник ТОВ «Науково-виробниче об'єднання «Фарматрон». № а 201506388 ; заявл. 30.06.2015; опубл. 12.01.16, Бюл. № 1.
116. Пат. на винахід №114270 Україна, МПК А61К 31/198 (2006.01), А61К 31/41(2006.01) А61Р 9/10(2006.01). Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції / Л. І. Кучеренко, О. В., Хромильова І. А. Мазур та ін. № а201612503 ; заявл. 08.12.2016 ; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9.
117. Пахомов В. П. Хроматографія у хіміко-фармацевтичних дослідженнях. *Хіміко-фармацевтичний журнал*. 2003. Т. 37. № 8. С. 55-56.
118. 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.
119. Планування експерименту та аналіз експериментальних даних при проведенні наукових досліджень у фармації / Т. А. Грошовий, В. П. Марценюк, Л. В. Вронська та ін. *Сьогодення та майбутнє фармації* : тези доп. Всеукр. конгресу, 16-19 квіт. 2008 р. Харків, 2008. С. 521.

120. Послеоперационные когнитивные расстройства как осложнение общей анестезии. Значение ранней фармакологической нейропротекции / Л. В. Усенко, А. А. Криштафор, И. С. Полинчук и др. *Медицина неотложных состояний*. 2015. № 2. С. 24-31.

121. Постгипоксическая энцефалопатия: возможности коррекции / В. В. Никонов, И. Б. Савицкая, А. Н. Нудьга и др. *Медицина неотложных состояний*. 2008. № 4. С. 65-71.

122. 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.

123. Рев'яцький І. Ю., Барчук О. З. Оптимізація представлення результатів дослідження при використанні методу випадкового балансу із факторами впливу, що мають різні одиниці вимірювання. *Фармацевтичний журнал*. 2019. № 1. С. 76-85.

124. Розробка нових лікарських засобів на основі морфолінію тіазотату / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, О. В. Хромільова, Д. Ю. Скорина. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича. Харків, 2018. С. 169.

125. Розробка складу та технології таблеток гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромільова, О. О. Портна, Н. В. Дерев'янка. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 3. С. 15-23.
<https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.3.11422>

126. Руководства по качеству. Лекарственные средства. Вспомогательные вещества : Руководство 42-3.6:2004. Киев, 2004. 12 с.

127. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / В. Л. Багирова, А. И. Гризодуб, Т. Х. Чибиляев и др. ; под ред. Н. В. Юргеля. Москва : Фарм.пром., 2007. 58 с.

128. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств / под. ред. Н. В. Юргеля, А. Л. Младенцева, А. В. Бурдейна, М. А. Гетьмана. Москва, 2007. 46 с.
129. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. 1 / под ред. А. Н. Миронова. Москва : Гриф и К, 2013. 944 с.
130. Савченкова Л. В., Фидатов Д. А., Белоусова И. П. Клиническая фармакология тиотриазолина (обзор литературы). *Український медичний альманах*. 2008. Т. 11, № 3. С. 212-217.
131. Садек П. Растворители для ВЭЖХ. Москва : Бинوم. Лаборатория знаний, 2009. 704 с.
132. Сапрыкин Л. В. Практика и методические основы высокоэффективной жидкостной хроматографии : учеб. пособие. Краснодар, 2006. 151 с.
133. Системи управління якістю. Вимоги: ДСТУ ISO 9001:2015. Київ : ДП «УкрНДНЦ», 2016. 22 с. (Національний стандарт України).
134. 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. *Химико-фармацевтический журнал*. 2005. Т. 39, № 1. С. 22-28.
135. Современные ноотропные препараты: классификация, механизм действия, перспективы применения / И. Ф. Беленичев, Д. А. Середа, Ю. К. Дейниченко и др. *Запорожский медицинский журнал*. 2010, Т. 12, № 5. С. 122-126.
136. 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.
137. Створення нового оригінального ендотеліопротектора на основі

похідних 1,2,4-триазолу / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 327-328.

138. Стефанов А. В. Доклинические исследования лекарственных средств. Киев : Авиценна, 2002. 568 с.

139. Стратегія розробки нових фіксованих комбінованих лікарських засобів нейропротективної дії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур., І. Ф. Беленічев. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 6-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 126.

140. Теоретическое исследование строения комплексов изониазида с тиотриазолином / Р. И. Зубатюк, Л. И. Кучеренко, И. А. Мазур и др. *Химия гетероциклических соединений*. 2014. № 3. С. 476-482.

141. Термогравиметрический метод анализа силикатных материалов : методические указания / сост. : Т. А. Хабас, Е. А. Кулинич, Е. Ю. Егорова. Томск : Изд-во ТПУ, 2007. 20 с.

142. Тиотриазолин и тиодарон в лечении и профилактике заболеваний сердечно-сосудистой системы : монография / И. Н. Волошина и др. ; под ред. проф. Н. А. Волошина. Запорожье : Фарматрон, 2017. 415 с.

143. Титова А. В. Вспомогательные вещества, используемые в производстве лекарственных средств. Проблемы и подходы к их решению. Фарммедобращение - 2005 : материалы совещания, 24-26 окт. Москва, 2005. С. 205.

144. Тиотриазолін: фармакологічні аспекти та клінічне застосування / І. А. Мазур, Н. А. Волошин, І. С. Чекман та ін. *Новини медицини та фармації*. 2005. 160 с.

145. Тригубчак О. В., Грошовий Т. А., Гурєєва С. М. Дослідження впливу природи допоміжних речовин на показники якості шипучих таблеток ацетилсаліцилової кислоти, парацетамолу та аскорбінової кислоти. *Актуальні*

питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2018. Т. 11, № 1. С. 64-68. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2018.1.123712>

146. 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.

147. Трунова Т. В., Крутських Т. В., Кухтенко О. С. Термогравіметричні дослідження супозиторіїв з N, N-дибензиламідом маленової кислоти (дибамком). *Фармацевтичний часопис*. 2010. № 4. С. 35-38.

148. Усенко Л. В., Полинчук І. С., Болтянский С. В. Когнитивсберегаючі технології в анестезіології. *Біль, знеболювання і інтенсивна терапія*. 2011. № 2, додаток. С. 192-193.

149. Фармакобіохімічні аспекти противоішемического діяння препарату тиотриазолін в умовах експерименту / В. В. Дунаєв, І. Ф. Беленичев, І. А. Мазур, В. Р. Стец. *Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки і практики*: зб. наук. ст. Запоріжжя, 2002. № 8. С. 73-81.

150. Фармакокінетика / Н. Н. Каркищенко, В. В. Воронько, С. А. Сергеева, В. Н. Каркищенко. Ростов н/Д., 2001. 383 с.

151. Фармакологічні портрети препаратів, розроблених в НПО «Фарматрон» в галереї інноваційних лікарських засобів / І. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. І. Кучеренко та ін. *Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 76-77.

152. 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.

153. 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.

154. Хижняк А. А., Курсов С. В. Участие возбуждающих аминокислотных транмиттеров в механизмах нейродеструкции и перспективные методы патогенетической коррекции. *Біль, знеболювання, інтенсивна терапія*. 2003. № 1. С. 43- 46.

155. Хроматографические методы в аналитическом обеспечении создания и контроля качества лекарственных средств в Украине / В. П. Георгиевский и др. ; под ред. чл.-кор. НАН Украины В. П. Георгиевского. Харьков : Изд-во «НТМТ», 2016. 288 с.

156. Хромильова О. В. Вибір захисної полімерної оболонки для таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис*. 2019. № 2. С. 23-29. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.2.9927>

157. Хромильова О. В. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні характеристики таблеток L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4. С. 35-41. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2018.4.9704>

158. Хромильова О. В. Выбор вспомогательных веществ для получения таблеток L-аргинина с тиотриазолином методом влажной грануляции. Сообщение 1. Влияние вспомогательных веществ на процесс прессования, внешний вид и однородность в массе таблеток L-аргинина с тиотриазолином, полученных методом влажной грануляции. *Рецепт*. 2018. № 4. С. 516-524.

159. Хромильова О. В. Дериватографические исследования тиотриазолина, L-аргинина, смеси L-аргинина с тиотриазолином. *Рецепт*. 2018. Т. 22, № 4. С. 544-549.

160. Хромильова О. В. Щодо поєднання гліцину та тіотриазоліну в одній лікарській формі. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 2. С. 181-185. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.171010>

161. Чижова Д. А., Бунятян Н. Д., Василенко Г. Ф. Высвобождение веществ из твердых дозированных лекарственных форм. *Фармація*. 2008. № 2. С. 50-52.

162. Чумак В. Т. Аналіз стану ринку лікарських засобів в Україні. *Аптечний аудит*. 2008. № 10. С. 6-11.
163. Чучалин А. Г. Система оксиданты-антиоксиданты и пути медикаментозной коррекции. *Пульмонология*. 2004. № 2. С. 111-114.
164. Шнайдер Н. Роль и место фармакологической церебропротекции в профилактике и коррекции когнитивной недостаточности: гипотезы и доказательства. *Здоров'я України*. 2007. № 3. С. 29-30.
165. Шнайдер Н. А., Шпрах В. В., Салмина А. Б. Послеоперационная когнитивная дисфункция (диагностика, профилактика, лечение). Красноярск, 2005. 95 с.
166. Шошміна О. В., Гуреева С. М., Вронська Л. В. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармакотехнологічні властивості таблеток-ядер декскетопрофену. *Фармацевтичний журнал*. 2019. № 1. С. 53-63.
167. Щодо стандартизації гліцину та тіотриазоліну в модельній суміші методом вискоєфективної рідинної хроматографії / О. В. Хромильова, М. О. Авраменко, Г. Р. Німенко, Е. Ю. Гура. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т.13, № 3. С. 378-382. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216213>
168. Щодо доцільності створення нового комбінованого лікарського препарату для лікування захворювань центральної нервової системи / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 376-377.
169. Щодо підбору оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з тіотриазоліном методом вискоєфективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т.13, № 2. С. 244-248. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207180>
170. Щодо стандартизації L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші методом вискоєфективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко,

О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 1. С. 47-52.
<https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.1.158992>

171. Щодо створення нового комбінованого лікарського препарату на основі L-аргініну та тіотриазоліну/ Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, І. А. Мазур, О. В. Хромильова. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф. Харків, 2017. С. 192.

172. Щодо сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ. Повідомлення 1: підбір фази для сумісного визначення карбамазепіну та тіотриазоліну у модельній суміші методом ВЕРХ / Л. І. Кучеренко, Г. Р. Німенко, О. В. Ващенко, В. В. Ващенко. *Фармацевтичний часопис*. 2016. № 1. С. 54-58.

173. 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.

174. Экспериментальное исследование влияния тиотриазолина на органы и системы организма / В. Г. Ковешников, К. А. Фомин, В. Н. Волошин и др. *Запорожский медицинский журнал*. 2010. Т. 12, № 5. С. 174-176.

175. Яхно Н. Н. Когнитивные расстройства в неврологической клинике. *Неврологический журнал*. 2006. Т. 11, Приложение № 1. С. 4-12.

176. 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. *The Journal of chemical physics*. 2010. Vol. 132, Iss. 15. P. 154104. <https://doi.org/10.1063/1.3382344>

177. A pilot study of L-arginine supplementation on functional capacity in peripheral arterial disease / R. K. Oka, A. Szuba, J. C. Giacomini, J. P. Cooke.

Vascular medicine. 2005. Vol. 10, Iss. 4. P. 265-274.
<https://doi.org/10.1191/1358863x05vm637oa>

178. A Review on: Orodispersible Tablet (ODT) Technology - A Novel Approach to Develop the Supergenerics / S. S. Garud, D. Derle, A. B. Valavi et al. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2014. Vol. 26, Iss. 2. P. 231-236.

179. A spectrophotometric assay for monoamine oxidase activity with 2, 4-dinitrophenylhydrazine as a derivatized reagent / G. Huang, F. Zhu, Y. Chen et al. *Analytical biochemistry*. 2016. Vol. 512. P. 18-25.
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.06.020>

180. Acute administration of l-arginine restores nitric oxide-mediated relaxation in isolated pulmonary arteries from pulmonary hypertensive exercise trained rats / L. Goret, S. Tanguy, I. Guiraud et al. *European journal of pharmacology*. 2008. Vol. 581, Iss. 1-2. P. 148-156.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.11.037>

181. Acute L-arginine supplementation reduces the O₂ cost of moderate-intensity exercise and enhances high-intensity exercise tolerance / S. J. Bailey, P. G. Winyard, A. Vanhatalo et al. *Journal of Applied Physiology*. 2010. Vol. 109, Iss. 5. P. 1394-1403. doi:10.1152/jappphysiol.00503.2010

182. Adult and embryonic GAD transcripts are spatiotemporally regulated during postnatal development in the rat brain / A. Popp, A. Urbach, O. W. Witte, C. Frahm. *PloS one*. 2009. Vol. , Iss. 42. e4371.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004371>

183. Afifi S., Mandour W. M., Elkhodairy K. A. Optimization of a novel oral colon delivery system of Indomethacin using full factorial design. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 14, Iss. 5. P. 761-768.
<http://dx.doi.org/10.4314/TJPR.V14I5.3>

184. Amin H. J., Soraisham A. S., Sauve R. S. Neurodevelopmental outcomes of premature infants treated with l-arginine for prevention of necrotising enterocolitis.

Journal of paediatrics and child health. 2009. Vol. 45, Iss. 4. P. 219-223.
<https://doi.org/10.1111/j.1440-1754.2008.01458.x>

185. Antiviral effect of arginine against herpes simplex virus type 1 / T. Naito, H. Irie, K. Tsujimoto et al. *International journal of molecular medicine.* 2009. Vol. 23, Iss. 4. P. 495-499. https://doi.org/10.3892/ijmm_00000156

186. Arginine and ornithine supplementation increases growth hormone and insulin-like growth factor-1 serum levels after heavy-resistance exercise in strength-trained athletes / A. Zajac, S. Poprzecki, A. Zebrowska et al. *Journal of strength and conditioning research.* 2010. Vol. 24, Iss. 4. P. 1082-1090. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181d321ff>

187. Arginine Functionally Improves Clinically Relevant Human Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase (GALT) Variants Expressed in a Prokaryotic Model / A. I. Coelho, M. Trabuco, M. J. Silva et al. *JIMD reports.* 2015. Vol. 23. P. 1-6. https://doi.org/10.1007/8904_2015_420

188. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease / G. Wu, F. W. Bazer, T. A. Davis et al. *Amino acids.* 2009. Vol. 37, Iss. 1. P. 153-168. <https://doi.org/10.1007/s00726-008-0210-y>

189. Arora P., Sethi V. Orodispersible tablets: A comprehensive review. *International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences.* 2013. Vol. 2. P. 270-284.

190. Attenuation of the systemic inflammatory response and infectious complications after gastrectomy with preoperative oral arginine and omega-3 fatty acids supplemented immunonutrition / Y. Okamoto, K. Okano, K. Izuishi et al. *World journal of surgery.* 2009. Vol. 33, Iss. 9. P. 1815-1821. <https://doi.org/10.1007/s00268-009-0140-1>

191. Bangale G. S., Shinde G., Rathinaraj B. New Generation of Orodispersible Tablets: Recent Advances and Future Prospects. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research.* 2011. Vol. 1, Iss. 2. P. 52-62.

192. Bele M. H., Derle D. Effect of polacrillin potassium as disintegrant on bioavailability of diclofenac potassium in tablets: a technical note. *AAPS PharmSciTech*. 2012. Vol. 13, Iss. 3. P. 756-759.

193. Beneficial effects of a long-term oral L-arginine treatment added to a hypocaloric diet and exercise training program in obese, insulin-resistant type 2 diabetic patients / P. Lucotti, E. Setola, L. D. Monti et al. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*. 2006. Vol. 291, Iss. 5. P. E906-E912. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00002.2006>

194. Beneficial effects of high dose of L-arginine on airway hyperresponsiveness and airway inflammation in a murine model of asthma / U. Mabalirajan, T. Ahmad, G. D. Leishangthem et al. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2010. Vol. 125, Iss. 3. P. 626-635. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.10.065>

195. Beneficial effects of L-arginine nitric oxide-producing pathway in rats treated with alloxan / A. Vasilijevic, B. Buzadzic, A. Korac et al. *The Journal of physiology*. 2007. Vol. 584, Pt. 3. P. 921-933. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.140277>

196. Beneficial effects of L-arginine on reducing obesity: potential mechanisms and important implications for human health / J. R. McKnight, M. C. Satterfield, W. S. Jobgen et al. *Amino acids*. 2010. Vol. 39, Iss. 2. P. 349-357. <https://doi.org/10.1007/s00726-010-0598-z>

197. Beneficial role of L-arginine in cardiac matrix remodelling in insulin resistant rats / L. D. Monti, E. Galluccio, P. Lucotti et al. *European journal of clinical investigation*. 2008. Vol. 38, Iss. 11. P. 849-856. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.02027.x>

198. British Pharmacopoeia. URL : <https://www.pharmacopoeia.com/how-to-use-the-bp>

199. Campbell B. I., La Bounty P. M., Roberts M. The ergogenic potential of arginine. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 2004. Vol. 1, Iss. 2. P. 35-38. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-1-2-35>

200. Characterising the disintegration properties of tablets in opaque media using texture analysis / R. L. Scheuerle, S. E. Gerrard, R. Kendall et al. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015. Vol. 486, Iss. 1-2. P. 136-143.
201. Characterization, optimisation and process robustness of a co-processed mannitol for the development of orally disintegrating tablets / J. L. Soh, M. Grachet, M. Whitlock, T. Lukas. *Pharmaceutical development and technology*. 2013. Vol. 18, Iss. 1. P. 172-185. <https://doi.org/10.3109/10837450.2012.685658>
202. Chen G., Jiang M. Cyclodextrin-based inclusion complexation bridging supramolecular chemistry and macromolecular self-assembly. *Chemical Society reviews*. 2011. Vol. 40, Iss. 5. P. 2254-2266. <https://doi.org/10.1039/c0cs00153h>
203. Cheng D., Chen W., Yang X. [Protective and treated effects of L-arginine on hypoxia-induced pulmonary hypertension in rats]. *Journal of West China University of Medical Sciences*. 1996. Vol. 27, Iss. 1. P. 68-70.
204. Cheng K., Demirci A., Catchmark J. Pullulan: biosynthesis, production, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2011. Vol. 92, Iss. 1. P. 29-44.
205. Cicero A. F., Colletti A. Nutraceuticals and Blood Pressure Control: Results from Clinical Trials and Meta-Analyses. *High blood pressure & cardiovascular prevention*. 2015. Vol. 22, Iss. 3. P. 203-213. <https://doi.org/10.1007/s40292-015-0081-8>
206. Clinical assessment of a supplement of Pycnogenol® and L-arginine in Japanese patients with mild to moderate erectile dysfunction / H. Aoki, J. Nagao, T. Ueda et al. *Phytotherapy research*. 2012. Vol. 26, Iss. 2. P. 204-207. <https://doi.org/10.1002/ptr.3462>
207. Clinical significance of perioperative immunonutrition for patients with esophageal cancer / H. Takeuchi, S. Ikeuchi, Y. Kawaguchi et al. *World journal of surgery*. 2007. Vol. 31, Iss. 11. P. 2160-2167. <https://doi.org/10.1007/s00268-007-9219-8>

208. Cognitive dysfunction after minor surgery in the elderly / J. Canet, J. Raeder, L. S. Rasmussen et al. *Acta anaesthesiologica Scandinavica*. 2003. Vol. 47, no. 10. P. 1204-1210. <https://doi.org/10.1046/j.1399-6576.2003.00238.x>

209. Combined metabolotropic endothelium protector "Argitryl" – new word in complex therapy of heart and vessel diseases / I. A. Mazur, I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova. *Актуальные вопросы медицины : материалы VI ежегодной междунар. науч.-практ. конф. Баку, 2017*. С. 70-71.

210. Comoglu T. Formulation and evaluation of carbamazepine fast disintegrating tablets. *Pharmazeutische Industrie*. 2010. Vol. 72, Iss. 1. P. 150-158.

211. Comoglu T., Inal O., Yaacoub H. B. Formulation and in vitro evaluation of ketoprofen fast-dissolving tablets. *Pharmaceutical development and technology*. 2016. Vol. 21, Iss. 8. P. 901-908. <https://doi.org/10.3109/10837450.2015.1022792>

212. Comoglu T., Unal B. Preparation and evaluation of an orally fast disintegrating tablet formulation containing a hydrophobic drug. *Pharmaceutical development and technology*. 2015. Vol. 20, Iss. 1. P. 60-64. <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.862636>

213. Comparative single-dose pharmacokinetics of rasagiline in minipigs after oral dosing or transdermal administration via a newly developed patch / Y. Lin, Y. Zou, J. Lin et al. *Xenobiotica*. 2013. Vol. 43, Iss. 8. P. 705-710. <https://doi.org/10.3109/00498254.2012.758396>

214. 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. *Structural Chemistry*. 2008. Iss. 19. P. 407-412. <https://doi.org/10.1007/s11224-008-9295-x>

215. Dahima R., Pachori A., Netam S. Formulation and evaluation of mouth dissolving tablets containing amlodipine besylate solid dispersion. *International Journal of ChemTech Research*. 2010. Vol. 2, Iss. 1. P. 706-715.

216. Design and evaluation of sublimed orodispersible tablets of Cetrizine HCl using superdisintegrant blends by direct compression / B. Basu, A. Bagadiya, S.

Makwana, M. Kapadiya. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*. 2011. Vol. 3. P. 435-441.

217. Design formulation and evaluation of ranitidine HCl gastro retentive floating tablets / R. K. Gunda, C. Brahma, J. N. Kumar et al. *International Journal of Pharma Research and Health*. 2015. Vol. 3, Iss. 5. P. 862-873.

218. Design of experiments (DoE) applied to pharmaceutical and analytical quality by design (QbD) / I. M. Fukuda, C. F. Pinto, C. S. Moreira et al. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018. No. 54 (Special). P. 1-16. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000001006>

219. 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. *Journal of chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 2007. Vol. 854, Iss. 1-2. P. 152-157. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.04.016>

220. Development of Oral Disintegrating Tablet of Rizatriptan Benzoate with Inhibited Bitter Taste / A. Kulkarni, A. B. Khedkar, S. R. Lahotib, R. Bagh. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*. 2012. Vol. 7, Iss. 2. P. 47-57.

221. Dey P., Maiti S. Orodispersible tablets: A new trend in drug delivery. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*. 2010. Vol. 1. P. 2-5.

222. Dietary supplementation of L-arginine and conjugated linoleic acid reduces retroperitoneal fat mass and increases lean body mass in rats / J. L. Nall, G. Wu, K. H. Kim et al. *The Journal of nutrition*. 2009. Vol. 139, Iss. 7. P. 1279-1285. <https://doi.org/10.3945/jn.108.102301>

223. Drug development for the treatment of the cardiovascular diseases based on fixed combinations of thiotriazoline and transmitter amino acids/ I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, S. V. Shishkina et al. *Chemistry of nitrogen containing heterocycles : materials of the XIII conference, Kharkiv, 2018*. P. 91.

224. Durzan D. J. Arginine, scurvy and Cartier's "tree of life". *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*. 2009. Vol. 5. P. 5. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-5-5>
225. Effect and mechanism of L-arginine therapy for fetal growth retardation due to pregnancy-induced hypertension / N. Zhang, A. H. Xiong, X. Xiao, L. P. Li. *Journal of Southern Medical University*. 2007. Vol. 27, Iss. 2. P. 198-200.
226. Effect of an arginine-containing nutritional supplement on pressure ulcer healing in community spinal patients / S. Brewer, K. Desneves, L. Pearce et al. *Journal of wound care*. 2010. Vol. 19, Iss. 7. P. 311-316. <https://doi.org/10.12968/jowc.2010.19.7.48905>
227. Effect of L-arginine on blood pressure in pregnancy-induced hypertension: a randomized placebo-controlled trial / I. Neri, V. M. Jasonni, G. F. Gori et al. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. 2006. Vol. 19, Iss. 5. P. 277-281. <https://doi.org/10.1080/14767050600587983>
228. Effect of L-arginine on circulating endothelial progenitor cells in hypercholesterolemic rabbits / S. H. Javanmard, Y. Gheisari, M. Soleimani et al. *International journal of cardiology*. 2010. Vol. 143, Iss. 2. P. 213-216. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2008.11.203>
229. Effect of L-arginine on circulating endothelial progenitor cells and VEGF after moderate physical training in mice / C. Fiorito, M. L. Balestrieri, E. Crimi et al. *International journal of cardiology*. 2008. Vol. 126, Iss. 3. P. 421-423. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.12.004>
230. Effect of L-arginine or L-citrulline oral supplementation on blood pressure and right ventricular function in heart failure patients with preserved ejection fraction / J. J. Orozco-Gutiérrez, L. Castillo-Martínez, A. Orea-Tejeda et al. *Cardiology journal*. 2010. Vol. 17, Iss. 6. P. 612-618.
231. Effect of seleno-arginine on cellular immunological function in D-gal aging mice / Y. H. Ma, A. J. Liu, G. R. Zhang, J. Lang. *Chinese journal of cellular and molecular immunology*. 2007. Vol. 23, Iss. 12. P. 1126-1129.

232. Effect of Substituted Group of β -Cyclodextrin Derivatives on the Dispersing of Carbon Nanotubes / Y. Bai, G. Xu, H. Y. Sun et al. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2010. Vol. 31, Iss. 3. P. 353-358.

233. Effects of arginine-based supplements on the physical working capacity at the fatigue threshold / C. L. Camic, T. J. Housh, J. M. Zuniga et al. *Journal of strength and conditioning research*. 2010. Vol. 24, Iss. 5. P. 1306-1312. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181d68816>

234. Effects of continuous enteral L-arginine in a rat model of the short bowel syndrome / X. Jiang, W. Zhu, N. Li et al. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*. 2007. Vol. 16, Iss. 3. P. 554-560.

235. Effects of dietary arginine supplementation during gestation and lactation on the performance of lactating primiparous sows and nursing piglets / R. D. Mateo, G. Wu, H. K. Moon et al. *Journal of animal science*. 2008. Vol. 86, Iss. 4. P. 827-835. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0371>

236. Effects of L-arginine on fibroblast growth factor 2-induced angiogenesis in a model of endothelial dysfunction / P. Voisine, J. Li, C. Bianchi et al. *Circulation*. 2005. Vol. 112, Suppl 9. P. I202-I207. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.104.526350>

237. Effects of L-arginine on the proliferation of human renal mesangial cells and production of extracellular matrix / B. C. Liu, K. L. Ma, Y. Y. Ye et al. *Acta pharmacologica Sinica*. 2001. Vol. 22, Iss. 8. P. 756-760.

238. Effects of long-term oral administration of L-arginine on the rat erectile response / J. A. Moody, D. Vernet, S. Laidlaw et al. *The Journal of urology*. 1997. Vol. 158, Iss. 3. Pt 1. P. 942-947. <https://doi.org/10.1097/00005392-199709000-00076>

239. Effects of oral L-arginine supplementation on blood pressure and asymmetric dimethylarginine in stress-induced preeclamptic rats / Z. S. Altun, S. Uysal, G. Guner et al. *Cell biochemistry and function*. 2008. Vol. 26, Iss. 5. P. 648-653. <https://doi.org/10.1002/cbf.1491>

240. Effects of prolonged oral supplementation with l-arginine on blood pressure and nitric oxide synthesis in preeclampsia / K. Rytlewski, R. Olszanecki, R. Korbut, Z. Zdebski. *European journal of clinical investigation*. 2005. Vol. 35, Iss. 1. P. 32-37. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2005.01445.x>

241. Ellinger S., Stehle P. Efficacy of vitamin supplementation in situations with wound healing disorders: results from clinical intervention studies. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2009. Vol. 12, Iss. 6. P. 588-595. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e328331a5b5>

242. Endothelial dysfunction in MELAS improved by l-arginine supplementation / Y. Koga, Y. Akita, N. Junko et al. *Neurology*. 2006. Vol. 66, Iss. 11. P. 1766-1769. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000220197.36849.1e>

243. Enteral glutamine and/or arginine supplementation have favorable effects on oxidative stress parameters in neonatal rat intestine / M. Kul, S. Vurucu, E. Demirkaya et al. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. 2009. Vol. 49, Iss. 1. P. 85-89. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e318198cd36>

244. European Pharmacopoeia. 5th ed. Strasbourg : Council of Europe, 2005. 3503 p.

245. European Pharmacopoeia. 6th ed. Strasbourg : EDQM, 2007. P. 1568-1571.

246. European Pharmacopoeia. 6th ed. Strasbourg : EDQM, 2007. P. 1663-1664.

247. European Pharmacopoeia. 8th ed. Strasbourg : Council of Europe, 2015. 6111 p.

248. European Pharmacopoeia. Vol. 2. 6th ed. Strasbourg : European Directorate for the Quality of Medicines, 2008. 3308 p.

249. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg, 1986. No 123. P. 52.

250. Evaluation of the antihypertensive effect of L-arginine supplementation in patients with mild hypertension assessed with ambulatory blood pressure

monitoring / J. Ast, A. Jablecka, P. Bogdanski et al. *Medical science monitor*. 2010. Vol. 16, Iss. 5. P. CR266-CR271.

251. Evans P. H. Free radicals in brain metabolism and pathology. *British Medical Bulletin*. 1993. Vol. 49, Iss. 3. P. 577-587. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072632>

252. Exploring and Enhancing the Anti-Inflammatory Properties of Polymeric Formula / M. H. Alhagamhmad, A. S. Day, D. A. Lemberg, Leach S. T. *JPEN. Journal of parenteral and enteral nutrition*. 2017. Vol. 41, Iss. 3, 436-445. <https://doi.org/10.1177/0148607115625627>

253. Formulation and evaluation of immediate release tablets of zolpidem tartrate by direct compression / H. P. Patel, P. Karwa, R. Bukka, N. J. Patel. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011. Vol. 7, Iss. 2. P. 80-85.

254. Formulation and evaluation of mouth dissolving tablets of montelukast sodium / A. Patil, T. Aman, P. Abhilash, M. Turaga. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2011. Vol. 2, Iss. 3. P. 268-274.

255. Formulation optimization and in-vitro evaluation of oral floating captopril matrix tablets using factorial design tropical / M. Ahsan, N. Abbas, A. Hussain et al. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2015. Vol. 14, Iss. 10. P. 1737-1748. <http://dx.doi.org/10.4314/tjpr.v14i10.2>

256. Formulation optimization of mouth dissolving tablets of Meloxicam using mixed hydrotropic solublization technique / S. Sharma, V. Chauhan, Neha, M. K. Khan. *Journal of Scientific and Innovative Research*. 2015. Vol. 4, No. 2. P. 76-82.

257. Functional and analytical evidence for scavenging of oxygen radicals by L-arginine / A. Lass, A. Suessenbacher, G. Wölkart et al. *Molecular pharmacology*. 2002. Vol. 61, Iss. 5. P. 1081-1088. <https://doi.org/10.1124/mol.61.5.1081>

258. Gastrointestinal dysfunction in diabetic rats relates with a decline in tissue L-arginine content and consequent low levels of nitric oxide / S. N. Umathe,

N. I. Kochar, N. S. Jain, P. V. Dixit. *Nitric oxide : biology and chemistry*. 2009. Vol. 20, Iss. 2. P. 129-133. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2008.10.007>

259. GAUSSIAN 09, Revision B.01 ; Gaussian / M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel et al. Wallingford, 2009. 141 p.

260. Grimme S., Ehrlich S., Goerigk L. Effect of the damping function in dispersion corrected density functional theory. *Journal of computational chemistry*. 2011. Vol. 32, Iss. 7. P. 1456-1465. <https://doi.org/10.1002/jcc.21759>

261. Gurunath S., Baswaraj K. N., Patil P. A. Optimization and formulation design with in vitro evaluation of fast disintegrating tablets containing candesartan solid dispersions. *Journal of Pharmaceutical Research*. 2017. Vol. 1, Iss. 6. P. 000135.

262. High fat feeding and dietary L-arginine supplementation differentially regulate gene expression in rat white adipose tissue / W. Jobgen, W. J. Fu, H. Gao et al. *Amino acids*. 2009. Vol. 37, Iss. 1. P. 187-198. <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0246-7>

263. Improvement of seminal quality and sexual function of men with oligoasthenoteratozoospermia syndrome following supplementation with L-arginine and Pycnogenol® / Y. Kobori, K. Suzuki, T. Iwahata et al. *Archivio italiano di urologia, andrologia*. 2015. Vol. 87, Iss. 3. P. 190-193. <https://doi.org/10.4081/aiua.2015.3.190>

264. In vitro and in vivo investigation of taste-masking effectiveness of Eudragit E PO as drug particle coating agent in orally disintegrating tablets / M. Drašković, D. Medarević, I. Aleksić, J. Parojčić. *Drug development and industrial pharmacy*. 2017. Vol. 43, Iss. 5. P. 723-731. <https://doi.org/10.1080/03639045.2016.1220572>

265. Increase in fasting vascular endothelial function after short-term oral L-arginine is effective when baseline flow-mediated dilation is low: a meta-analysis of randomized controlled trials / Y. Bai, L. Sun, T. Yang et al. *The American journal of*

clinical nutrition. 2009. Vol. 89, Iss. 1. P. 77-84.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2008.26544>

266. Influence of a W3 fatty acids oral enhanced formula in clinical and biochemical parameters of head and neck cancer ambulatory patients / D. A. de Luis, O. Izaola, R. Aller et al. *Anales de medicina interna*. 2008. Vol. 25, Iss. 6. P. 275-278.

267. Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazoline on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia / L. Kucherenko, I. Belenichev, I. Mazur et al. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 14-21.
https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000598

268. Intake of red wine increases the number and functional capacity of circulating endothelial progenitor cells by enhancing nitric oxide bioavailability / P. H. Huang, Y. H. Chen, H. Y. Tsai et al. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2010. Vol. 30, Iss. 4. P. 869-877.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.109.200618>

269. Intra-coronary administration of L-arginine aggravates myocardial stunning through production of peroxynitrite in dogs / E. Mori, N. Haramaki, H. Ikeda, T. Imaizumi. *Cardiovascular research*. 1998. Vol. 40, Iss. 1. P. 113-123.
[https://doi.org/10.1016/s0008-6363\(98\)00146-1](https://doi.org/10.1016/s0008-6363(98)00146-1)

270. Investigation of a complex plant extract for mild to moderate erectile dysfunction in a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-arm study / A. Ledda, G. Belcaro, M. R. Cesarone et al. *BJU international*. 2010. Vol. 106, Iss. 7. P. 1030-1033. <https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2010.09213.x>

271. Japanese Pharmacopoeia. 16th ed. Tokyo, 2011. 2326 p.

272. Kanaley J. A. Growth hormone, arginine and exercise. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2008. Vol. 11, Iss. 1. P. 50-54.
<https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3282f2b0ad>

273. Klamt A., Schueuermann 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. P. 799-805.
<https://doi.org/10.1039/P29930000799>

274. Kruse H., Grimme S. A geometrical correction for the inter- and intra-molecular basis set superposition error in Hartree-Fock and density functional theory calculations for large systems. *The Journal of chemical physics*. 2012. Vol. 136, Iss. 15. P. 154101. <https://doi.org/10.1063/1.3700154>

275. Kucherenko L. I., Belenichev I. F., Khromyleva O. V. Creation of a new combined drug based on gamma-aminobutyric acid and thiotriazoline. *Biological markers and guided therapy*. 2020. Vol. 7, no. 1. P. 31-38. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2020.91017>

276. Kucherenko L. I., Khromylova O. V. About possibility of L-arginine complexes formation with thiotriazolin. *Trends of modern science-2017 : materials of the XIII international scientific and practical conference*. Sheffield, 2017. Vol. 17. P. 50-52.

277. Kumar P., Goyal M., Agarwal J.L. Effect of L- arginine on electrocardiographic changes induced by hypercholesterolemia and isoproterenol in rabbits. *Indian pacing and electrophysiology journal*. 2009. Vol. 9, Iss. 1. P. 45-52.

278. Kunasekaran V., Krishnamoorthy K. Compatibility studies of rasagiline mesylate with selected excipients for an effective solid lipid nanoparticles formulation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2014. Vol. 7, Iss. 1. P. 73-80.

279. L-arginine and Alzheimer's disease / J. Yi, L. L. Horkey, A. L. Friedlich et al. *International journal of clinical and experimental pathology*. 2009. Vol. 2, Iss. 3. P. 211-238.

280. L-arginine and tetrahydrobiopterin protects against ischemia/reperfusion-induced endothelial dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease / M. Settergren, F. Böhm, R.E. Malmström et al. *Atherosclerosis*. 2009. Vol. 204, Iss. 1. P. 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.08.034>

281. L-arginine attenuates acute lung injury after smoke inhalation and burn injury in sheep / K. Murakami, P. Enkhbaatar, Y. M. Yu et al. *Shock*. 2007. Vol. 28, Iss. 4. P. 477-483. <https://doi.org/10.1097/shk.0b013e31804a59bd>
282. L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in hearts of rats during exhaustive exercise / W. T. Lin, S. C. Yang, S. C. Tsai et al. *The British journal of nutrition*. 2006. Vol. 95, Iss. 1. P. 67-75. <https://doi.org/10.1079/bjn20051602>
283. L-arginine augments the antioxidant effect of garlic against acetic acid-induced ulcerative colitis in rats / G. E. Harisa, O. M. Abo-Salem, E. El-Sayed et al. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*. 2009. Vol. 22, Iss. 4. P. 373-380.
284. L-arginine causes amelioration of cerebrovascular dysfunction and brain inflammation during experimental heatstroke / Y. C. Chen, Y. C. Liu, D. H. Yen et al. *Shock*. 2008. Vol. 29, Iss. 2. P. 212-216. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3180ca9ccc>
285. L-arginine decreases inflammation and modulates the nuclear factor-kappaB/matrix metalloproteinase cascade in mdx muscle fibers / K. Hnia, J. Gayraud, G. Hugon et al. *The American journal of pathology*. 2008. Vol. 172, Iss. 6. P. 1509-1519. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.071009>
286. L-Arginine enhances the triglyceride-lowering effect of simvastatin in patients with elevated plasma triglycerides / F. Schulze, S. Glos, D. Petruschka et al. *Nutrition research*. 2009. Vol. 29, Iss. 5. P. 291-297. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2009.04.004>
287. L-arginine improves cerebral blood perfusion and vasomotion of microvessels following subarachnoid hemorrhage in rats / B. L. Sun, S. M. Zhang, Z. L. Xia et al. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2003. Vol. 29, Iss. 3-4. P. 391-400.
288. L-arginine improves wound healing after trauma-hemorrhage by increasing collagen synthesis / F. Wittmann, N. Prix, S. Mayr et al. *The Journal of trauma*. 2005. Vol. 59, Iss. 1. P. 162-168. <https://doi.org/10.1097/01.ta.0000171529.06625.a8>

289. L-arginine plus drospirenone-ethinyl estradiol in the treatment of patients with PCOS: a prospective, placebo controlled, randomised, pilot study / C. Battaglia, F. Mancini, B. Battaglia et al. *Gynecological endocrinology*. 2010. Vol. 26, Iss. 12. P. 861-868. <https://doi.org/10.3109/09513590.2010.501882>

290. L-arginine prevents bone loss and bone collagen breakdown in cyclosporin A-treated rats / C. E. Fiore, P. Pennisi, V. M. Cutuli et al. *European journal of pharmacology*, 2000. Vol. 408, Iss. 3. P. 323-326. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00800-1](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00800-1)

291. L-Arginine promotes angiogenesis in the chronically hypoxic lung: a novel mechanism ameliorating pulmonary hypertension / K. Howell, C. M. Costello, M. Sands et al. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*. 2009. Vol. 296, Iss. 6. P. L1042-L1050. <https://doi.org/10.1152/ajplung.90327.2008>

292. L-arginine reduces exercise-induced increase in plasma lactate and ammonia / A. Schaefer, F. Piquard, B. Geny et al. *International journal of sports medicine*. 2002. Vol. 23, Iss. 6. P. 403-407. <https://doi.org/10.1055/s-2002-33743>

293. L-arginine reverses alterations in drug disposition induced by spinal cord injury by increasing hepatic blood flow / A. Vertiz-Hernandez, G. Castaneda-Hernandez, A. Martinez-Cruz et al. *Journal of neurotrauma*. 2007. Vol. 24, Iss. 12. P. 1855-1862. <https://doi.org/10.1089/neu.2007.0375>

294. L-Arginine supplementation enhances diabetic wound healing: involvement of the nitric oxide synthase and arginase pathways / M. B. Witte, F. J. Thornton, U. Tantry, A. Barbul. *Metabolism: clinical and experimental*. 2002. Vol. 51, Iss. 10. P. 1269-1273. <https://doi.org/10.1053/meta.2002.35185>

295. L-Arginine supplementation enhances eNOS expression in experimental model of hypercholesterolemic rabbits aorta / S. H. Javanmard, M. Nematbakhsh, F. Mahmoodi, M. R. Mohajeri. *Pathophysiology*. 2009. Vol. 16, Iss. 1. P. 9-13. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2008.11.003>

296. L-arginine supplementation improves exercise capacity after a heart transplant / S. Doutreleau, O. Rouyer, P. Di Marco et al. *The American journal of*

clinical nutrition. 2010. Vol. 91, Iss. 5. P. 1261-1267.
<https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27881>

297. L-arginine supplementation in patients with gestational hypertension: a pilot study / F. Facchinetti, G. R. Saade, I. Neri et al. *Hypertension in pregnancy*. 2007. Vol. 26, Iss. 1. P. 121-130. <https://doi.org/10.1080/10641950601147994>

298. L-arginine supplementation in women with chronic hypertension: impact on blood pressure and maternal and neonatal complications / I. Neri, F. Monari, L. Sgarbi et al. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. 2010. Vol. 23, Iss. 12. P. 1456-1460. <https://doi.org/10.3109/14767051003677962>

299. L-Arginine supplementation induces glutathione synthesis in interscapular brown adipose tissue through activation of glutamate-cysteine ligase expression: The role of nitric oxide / V. Petrović, B. Buzadzić, A. Korać et al. *Chemico-biological interactions*. 2009. Vol. 182, Iss. 2-3. P. 204-212. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2009.07.010>

300. L-arginine supplementation normalizes bone turnover and preserves bone mass in streptozotocin-induced diabetic rats / P. Pennisi, G. Clementi, A. Prato et al. *Journal of endocrinological investigation*. 2009. Vol. 32, Iss. 6. P. 546-551. <https://doi.org/10.1007/BF03346505>

301. L-Arginine supplementation protects against hepatic ischemia-reperfusion lesions in rabbits / M. O. Taha, M. J. Simões, M. A. Haddad et al. *Transplantation proceedings*. 2009. Vol. 41, Iss. 3. P. 816-819. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2009.02.050>

302. L-arginine supplementation reduces cardiac noradrenergic neurotransmission in spontaneously hypertensive rats / C. W. Lee, D. Li, K. M. Channon, D. J. Paterson. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2009. Vol. 47, Iss. 1. P. 149-155. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2009.03.023>

303. L-Arginine, the substrate for NO synthesis: an alternative treatment for premature atherosclerosis? / G. Siasos, D. Tousoulis, C. Antoniades et al. *International journal of cardiology*. 2007. Vol. 116, Iss. 3. P. 300-308. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2006.04.062>

304. L-arginine-induced vasodilation in healthy humans: pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship / S. M. Bode-Böger, R. H. Böger, A. Galland et al. *British journal of clinical pharmacology*. 1998. Vol. 46, Iss. 5. P. 489-497. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2125.1998.00803.x>

305. LC method for determination of rasagiline mesylate in different plasma matrices and its application to oral pharmacokinetic study in rabbits / P. R. Ravi, N. Aditya, L. Cherian, S. Patil. *Journal of chromatographic science*. 2013. Vol. 51, Iss. 1. P. 1-7. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms096>

306. Lee J., Ryu H., Kowall N. W. Motor neuronal protection by L-arginine prolongs survival of mutant SOD1 (G93A) ALS mice. *Biochemical and biophysical research communications*. 2009. Vol. 384, Iss. 4. P. 524-529. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.05.015>

307. Levels of nitric oxide, asymmetric dimethyl arginine, symmetric dimethyl arginine, and L-arginine in patients with obsessive-compulsive disorder / E. D. Yilmaz, M. F. Üstündağ, A. G. Gençer et al. *Turkish journal of medical sciences*. 2016. Vol. 46, Iss. 3. P. 775-782. <https://doi.org/10.3906/sag-1503-100>

308. Li M. R., Chen S. C., Ma G. Comparative effects of calcium channel blockers and L-arginine on chronic intermittent hypoxic pulmonary hypertension in rats. *Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases*. 1994. Vol. 17, Iss. 6. P. 372-385.

309. Long-term N-acetylcysteine and L-arginine administration reduces endothelial activation and systolic blood pressure in hypertensive patients with type 2 diabetes / V. Martina, A. Masha, V. R. Gigliardi et al. *Diabetes care*. 2008. Vol. 31, Iss. 5. P. 940-944. <https://doi.org/10.2337/dc07-2251>

310. Long-term oral L-arginine administration improves peripheral and hepatic insulin sensitivity in type 2 diabetic patients / P. M. Piatti, L. D. Monti, G. Valsecchi et al. *Diabetes care*. 2001. Vol. 24, Iss. 5. P. 875-880. <https://doi.org/10.2337/diacare.24.5.875>

311. Lower plasma arginine in enteral tube-fed patients with pressure ulcer and improved pressure ulcer healing after arginine supplementation by Arginaid

Water / J. Yatabe, F. Saito, I. Ishida et al. *The journal of nutrition, health & aging*. 2011. Vol. 15, Iss. 4. P. 282-286. <https://doi.org/10.1007/s12603-010-0306-4>

312. Management of amnestic and behavioral disorders after ketamine anesthesia / I. Belenichev, B. Burlaka, A. Puzyrenko et al. *Georgian medical news*. 2019. Vol. 294. P. 141-145.

313. Marcora S., Lemmey A., Maddison P. Dietary treatment of rheumatoid cachexia with beta-hydroxy-beta-methylbutyrate, glutamine and arginine: a randomised controlled trial. *Clinical nutrition.*, 2005. Vol. 24, Iss. 3. P. 442-454. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2005.01.006>

314. 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. *The journal of physical chemistry. B*. 2009. Vol. 113, Iss. 18. P. 6378-6396. <https://doi.org/10.1021/jp810292n>

315. Mayerhofer A. Neuronal Signaling Molecules and Leydig Cells. *The Leydig cell in health and disease* / eds. A. H. Payne, M. P. Hardy. Humana Press, 2007. P. 291-304.

316. McConell G. K. Effects of L-arginine supplementation on exercise metabolism. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2007. Vol. 10, Iss. 1. P. 46-51. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e32801162fa>

317. Metabolithotropic aspects of cardioprotective action of new combined medicine based on L-arginine and thiotriazolin at modeling of myocardial infarction / L. I. Kucherenko, I. F. Belenichev, I. A. Mazur, O. V. Khromylova. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. Vol. 10, Iss. 10. P. 158-161. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i10.19895>

318. Miller A. L. The effects of sustained-release-L-arginine formulation on blood pressure and vascular compliance in 29 healthy individuals. *Alternative medicine review*. 2006. Vol. 11, Iss. 1. P. 23-29.

319. Mohanachandran P. S., Sindhumol, P. G., & Kira, T. S. Superdisintegrants: An overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011. Vol. 6, Iss. 1. P. 105-109.
320. Nasal in-situ gels for delivery of rasagiline mesylate: improvement in bioavailability and brain localization / P. R. Ravi, N. Aditya, S. Patil, L. Cherian. *Drug delivery*. 2015. Vol. 22, Iss. 7. P. 903-910. <https://doi.org/10.3109/10717544.2013.860501>
321. Needham M. J., Webb C. E., Bryden D. C. Postoperative cognitive dysfunction and dementia: what we need to know and do. *British journal of anaesthesia*. 2017. Vol. 119, suppl_1. i115-i125. <https://doi.org/10.1093/bja/aex354>
322. Neese F. The ORCA program system. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*. 2012. Vol. 2, Iss. 1. P. 73-78. <https://doi.org/10.1002/wcms.81>
323. Neri I., Blasi I., Facchinetti F. Effects of acute L-arginine infusion on non-stress test in hypertensive pregnant women. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine*. 2004. Vol. 16, Iss. 1. P. 23-26. <https://doi.org/10.1080/14767050412331282266>
324. Nitrite-generated NO circumvents dysregulated arginine/NOS signaling to protect against intimal hyperplasia in Sprague-Dawley rats / M. J. Alef, R. Vallabhaneni, E. Carchman et al. *The Journal of clinical investigation*. 2011. Vol. 121, Iss. 4. P. 1646-1656. <https://doi.org/10.1172/JCI44079>
325. Noé J. E. L-glutamine use in the treatment and prevention of mucositis and cachexia: a naturopathic perspective. *Integrative cancer therapies*. 2009. Vol. 8, Iss. 4. P. 409-415. <https://doi.org/10.1177/1534735409348865>
326. Øiestad E. L., Johansen U., Christophersen A. S. Drug screening of preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clinical chemistry*. 2007. Vol. 53, Iss. 2. P. 300-309. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.074237>
327. Øiestad E. L., Johansen, U., Christophersen A. S. Drug screening of preserved oral fluid by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clinical*

chemistry. 2007. Vol. 53, Iss. 2. P. 300-309.
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2006.074237>

328. Optimization of L-arginine and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography method / L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova, I. A. Mazur, Z. B. Moriak. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. T. 20, № 6. С. 837-840. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.6.146760>

329. Oral administration of both tetrahydrobiopterin and L-arginine prevents endothelial dysfunction in rats with chronic renal failure / K. Yamamizu, K. Shinozaki, K. Ayajiki et al. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2007. Vol. 49, Iss. 3. P. 131-139. <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e31802f9923>

330. Oral L-arginine improves endothelial dysfunction in patients with essential hypertension / J. P. Lekakis, S. Papathanassiou, T. G. Papaioannou et al. *International journal of cardiology*. 2002. Vol. 86, Iss. 2-3. P. 317-323. [https://doi.org/10.1016/s0167-5273\(02\)00413-8](https://doi.org/10.1016/s0167-5273(02)00413-8)

331. Oral L-arginine improves endothelial function in healthy individuals older than 70 years / S. M. Bode-Böger, J. Muke, A. Surdacki et al. *Vascular medicine*. 2003. Vol. 8, Iss. 2. P. 77-81. <https://doi.org/10.1191/1358863x03vm474oa>

332. Oral L-arginine supplementation improves endothelial function and ameliorates insulin sensitivity and inflammation in cardiopathic nondiabetic patients after an aortocoronary bypass / P. Lucotti, L. Monti, E. Setola et al. *Metabolism: clinical and experimental*. 2009. Vol. 58, Iss. 9. P. 1270-1276. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2009.03.029>

333. Oral treatment with L-lysine and L-arginine reduces anxiety and basal cortisol levels in healthy humans / M. Smriga, T. Ando, M. Akutsu et al. *Biomedical research*. 2007. Vol. 28, Iss. 2. P. 85-90. <https://doi.org/10.2220/biomedres.28.85>

334. Pabari R. M. Ramtoola Z. Effect of a Disintegration Mechanism on Wetting, Water Absorption, and Disintegration Time of Orodispersible Tablets. *Journal of young pharmacists : JYP*. 2012. Vol. 4, Iss. 3. P. 157-163. <https://doi.org/10.4103/0975-1483.100021>

335. Patel H., Shah V., Upadhyay U. New pharmaceutical excipients in solid dosage forms - A review. *International Journal of Pharmaceutical & Life Sciences*. 2011. Vol. 2, Iss. 8. P. 1006-1019.

336. Patil C. Effect of various superdisintegrants on the drug release profile and disintegration time of Lamotrigine orally disintegrating tablets. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2009. Vol. 5. P. 76-82.

337. Perioperative arginine-supplemented nutrition in malnourished patients with head and neck cancer improves long-term survival / N. Buijs, M. A. van Bokhorst-de van der Schueren, J. A. Langius et al. *The American journal of clinical nutrition*. 2010. Vol. 92, Iss. 5. P. 1151-1156. <https://doi.org/10.3945/ajcn.2010.29532>

338. Platelet nitric oxide synthesis in uremia and malnutrition: a role for L-arginine supplementation in vascular protection? / T. M. Brunini, A. C. Mendes-Ribeiro, J. C. Ellory, G. E. Mann. *Cardiovascular research*. 2007. Vol. 73, Iss. 2. P. 359-367. <https://doi.org/10.1016/j.cardiores.2006.09.019>

339. Prakasam K., Bukka R. Evaluation of cellulose polymers for buccal film formulation of rasagiline. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2014. Vol. 7, Iss. 3. P. 83-87.

340. Preoperative oral arginine and n-3 fatty acid supplementation improves the immunometabolic host response and outcome after colorectal resection for cancer / M. Braga, L. Gianotti, A. Vignali, V. D. Carlo *Surgery*. 2002. Vol. 132, Iss. 5. P. 805-814. <https://doi.org/10.1067/msy.2002.128350>

341. Preparation and Evaluation of Solid Dispersions of Poorly Soluble Drug Repaglinide / S. B. Bhanja, P. Ellaiah, S. K. Martha et al. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*. 2011. Vol. 3, Iss. 1. P. 201-221.

342. 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. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. 2001. Vol. 49, Iss. 2. P. 134-139. <https://doi.org/10.1248/cpb.49.134>

343. Propionyl-L-carnitine, L-arginine and niacin in sexual medicine: a nutraceutical approach to erectile dysfunction / D. Gianfrilli, R. Lauretta, C. Di Dato et al. *Andrologia*. 2012. Vol. 44, Suppl 1, 600-604. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2011.01234.x>

344. Prosolv® ODT G2. Orally Disintegrating Tablet Excipient Matrix Microcrystalline Cellulose, Colloidal Silicon Dioxide, Mannitol, Fructose, Crospovidone // *JRS Pharma*. URL : http://www.jrspharma.com/pharma_en/products-services/excipients/hfe/prosolv-odt-g2.php

345. Protective Effects of Arginine on *Saccharomyces cerevisiae* Against Ethanol Stress / Y. Cheng, Z. Du, H. Zhu et al. *Scientific reports*. 2016. Vol. 6. P. 31311. <https://doi.org/10.1038/srep31311>

346. Protective effects of L-arginine on pulmonary oxidative stress and antioxidant defenses during exhaustive exercise in rats / W. T. Lin, S. C. Yang, K. T. Chen et al. *Acta pharmacologica Sinica*. 2005. Vol. 26, Iss. 8. P. 992-999. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00155.x>

347. PubChem Identifier : CID 14055602 Cellulose, microcrystalline. URL : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14055602>

348. Quirino I. E., Correia M. I., Cardoso V. N. The impact of arginine on bacterial translocation in an intestinal obstruction model in rats. *Clinical nutrition*. 2007. Vol. 26, Iss. 3. P. 335-340. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2006.12.007>

349. Rasmusen C., Cynober L., Couderc R. Arginine and statins: relationship between the nitric oxide pathway and the atherosclerosis development. *Annales de biologie Clinique*. 2005. Vol. 63, Iss. 5. P. 443-455.

350. Ritschel W. A., Bauer-Brandl A. Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung. 2. Aufl. Berlin, 2002. P. 25.

351. Rojas J., Guisao S., Ruge V. Functional assessment of four types of disintegrants and their effect on the spironolactone release properties. *AAPS PharmSciTech*. 2012. Vol. 13, Iss. 4. P. 1054-1062. <https://doi.org/10.1208/s12249-012-9835-y>

352. Role of antioxidants in treatment of male infertility: An overview of the literature / A. Agarwal, K. P. Nallella, S. S. R. Allamaneni, T. M. Said. *Reproductive BioMedicine Online*. 2004. Vol. 8, Iss. 6. P. 616-627. [https://doi.org/10.1016/S1472-6483\(10\)61641-0](https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)61641-0)
353. Role of arginine in superficial wound healing in man / I. B. Debats, T. G. Wolfs, T. Gotoh et al. *Nitric oxide : biology and chemistry*. 2009. Vol. 21, Iss. 3-4. P. 175-183. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2009.07.006>
354. Saleh S., El-Demerdash E. Protective effects of L-arginine against cisplatin-induced renal oxidative stress and toxicity: role of nitric oxide. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2005. Vol. 97, Iss. 2. P. 91-97. https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto_114.x
355. Salil G., Rajamohan T. Hypolipidemic and antiperoxidative effect of coconut protein in hypercholesterolemic rats. *Indian journal of experimental biology*. 2001. Vol. 39, Iss. 10. P. 1028-1034.
356. Scandalios J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*. 2005. Vol. 38, Iss. 7. P. 995-1014. <https://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000700003>
357. Schäfer A., Horn H., Ahlrichs R. Fully optimized contracted gaussian basis sets for atoms li to kr. *The Journal of Chemical Physics*. 1992. Vol. 97, Iss. 4. P. 2571-2577. <https://doi.org/10.1063/1.463096>
358. Shahtalebi M. A., Tabbakhian M., Koosha S. Formulation and evaluation of orally disintegrating tablet of ondansetron using natural superdisintegrant. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 2015. Vol. 4, Iss. 3. P. 102-109.
359. Sharma D. Formulation development and evaluation of fast disintegrating tablets of salbutamol sulphate for respiratory disorders. *ISRN Pharmaceutics*. 2013. Article ID 674507. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/674507>

360. Shinde A. J., Swami K. B., More H. N. Formulation and optimization of expandable gastroretentive tablet of diltiazem hydrochloride using factorial design. *Asian Journal of Pharmaceutics*. 2017. Vol. 11, Iss. 1. P. 24-36.

361. Shlieout G., Arnold K., Müller G. Powder and mechanical properties of microcrystalline cellulose with different degrees of polymerization. *AAPS PharmSciTech*. 2002. Vol. 3, Iss. 2. P. E11. <https://doi.org/10.1208/pt030211>

362. Short-term treatment with L-arginine prevents the smoking-induced impairment of endothelial function and vascular elastic properties in young individuals / G. Siasos, D. Tousoulis, C. Vlachopoulos et al. *International journal of cardiology*. 2008. Vol. 126, Iss. 3. P. 394-399. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.04.057>

363. Stability of benzocaine formulated in commercial oral disintegrating tablet platforms / M. Köllmer, C. Popescu, P. Manda et al. *AAPS PharmSciTech*. 2013. Vol. 14, Iss. 4. P. 1333-1340. <https://doi.org/10.1208/s12249-013-0015-5>

364. Stability testing of active substances and pharmaceutical products. Working document QAS/06.179 / World Health Organization. Geneva, 2006. 33 p.

365. Stanislavov R., Nikolova V. Treatment of erectile dysfunction with pycnogenol and L-arginine. *Journal of sex & marital therapy*. 2003. Vol. 29, Iss. 3. P. 207-213. <https://doi.org/10.1080/00926230390155104>

366. Stanislavov R., Rohdewald P. Sperm quality in men is improved by supplementation with a combination of L-arginine, L-citrullin, roburins and Pycnogenol®. *The Italian journal of urology and nephrology*. 2014. Vol. 66, Iss. 4. P. 217-223.

367. Stewart J. J. P. MOPAC2012, versions 13.326L and 15.027L / Stewart Computational Chemistry. Colorado Springs, CO, USA. URL : <http://OpenMOPAC.net>

368. Stoltenberg I., Breikreutz J. Orally disintegrating mini-tablets (ODMTs)--a novel solid oral dosage form for paediatric use. *European journal of*

pharmaceutics and biopharmaceutics. 2011. Vol. 78, Iss. 3. P. 462-469.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.02.005>

369. Strapková A., Antosová M., Nosálová G. Relation of L-arginine to airway hyperreactivity. *General physiology and biophysics*. 2008. Vol. 27, Iss. 2. P. 85-91.

370. Stromelysin-1 5A/6A and eNOS T-786C polymorphisms, MTHFR C677T and A1298C mutations, and cigarette-cannabis smoking: a pilot, hypothesis-generating study of gene-environment pathophysiological associations with Buerger's disease / C. J. Glueck, M. Haque, M. Winarska et al. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis*. 2006. Vol. 12. Iss. 4. P. 427-439.
<https://doi.org/10.1177/1076029606293429>

371. Subchronic treatment with amino acid mixture of L-lysine and L-arginine modifies neuroendocrine activation during psychosocial stress in subjects with high trait anxiety / D. Jezova, A. Makatsori, M. Smriga et al. *Nutritional neuroscience*. 2005. Vol. 8, Iss. 3. P. 155-160.
<https://doi.org/10.1080/10284150500162937>

372. Supplemental L-arginine enhances wound healing following trauma/hemorrhagic shock / H. P. Shi, S. M. Wang, G. X. Zhang et al. *Wound repair and regeneration*. 2007. Vol. 15, Iss. 1. P. 66-70. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2006.00186.x>

373. Supplementation of L-arginine prevents glucocorticoid-induced reduction of bone growth and bone turnover abnormalities in a growing rat model / P. Pennisi, M. A. D'Alcamo, C. Leonetti et al. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2005. Vol. 23, Iss. 2. P. 134-139. <https://doi.org/10.1007/s00774-004-0551-x>

374. Supplements of L-arginine attenuate the effects of high-fat meal on endothelial function and oxidative stress / C. C. Lin, W. C. Tsai, J. Y. Chen et al. *International journal of cardiology*. 2008. Vol. 127, Iss. 3. P. 337-341.
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.06.013>

375. Tandale P., Joshi D., Gaud R. S. Formulation and Evaluation of Extended Release Solid Dispersions containing Simvastatin. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*. 2011. Vol. 1, Iss. 3. P. 13-19.

376. Tawfeek H. M., Abdel-Aleem J. A., Ahmed M. M. Development and optimization of itopride hydrochloride fast disintegrating tablets using factorial design and response surface methodology. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol. 6, Iss. 4. P. 1661-1672.

377. The effect of hypocaloric diet enriched in legumes with or without L-arginine and selenium on anthropometric measures in central obese women / M. Alizadeh, S. Daneghian, A. Ghaffari et al. *Journal of research in medical sciences*. 2010. Vol. 15, Iss. 6. P. 331-343.

378. The effect of L-arginine and citrulline on endothelial function in patients in heart failure with preserved ejection fraction / A. Orea-Tejeda, J. J. Orozco-Gutiérrez, L. Castillo-Martínez et al. *Cardiology journal*. 2010. Vol. 17, Iss. 5. P. 464-470.

379. The effect of subchronic supplementation with folic acid and l-arginine on homocysteine-induced seizures / A. Rasic-Markovic, D. Hrcic, D. Krstic et al. *Canadian journal of physiology and pharmacology*. 2016. Vol. 94, Iss. 10. P. 1083-1089. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2016-0076>

380. The formation of two thiotriazoline polymorphs: study from the energetic viewpoint / S. V. Shishkina, V. N. Baumer, O. V. Khromileva et al. *CrystEngComm*. 2017. Vol. 19. P. 2394-2401. <https://doi.org/10.1039/C7CE00117G>

381. The impact of oral L-arginine supplementation on acute smoking-induced endothelial injury and arterial performance / G. Siasos, D. Tousoulis, C. Vlachopoulos et al. *American journal of hypertension*. 2009. Vol. 22, Iss. 6. P. 586-592. <https://doi.org/10.1038/ajh.2009.57>

382. The influence of L-arginine on blood pressure, vascular nitric oxide and renal morphometry in the offspring from diabetic mothers / M. Cavanal, G. N.

Gomes, A. L. Forti et al. *Pediatric research*. 2007. Vol. 62, Iss. 2. P. 145-150.
<https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e318098722e>

383. The prevention of endothelial dysfunction through endothelial cell apoptosis inhibition in a hypercholesterolemic rabbit model: the effect of L-arginine supplementation / M. Nematbakhsh, S. Haghjooyjavanmard, F. Mahmoodi, A. R. Monajemi. *Lipids in health and disease*. 2008. Vol. 7. P. 27.
<https://doi.org/10.1186/1476-511X-7-27>

384. The United States Pharmacopeia. 27 ed. The National Formulary 22, Suppl. 1. Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention, Ins., 2004. 2570 p.

385. The United States Pharmacopoeia 37: The National Formulary 32. New York, 2014. 2569 p.

386. Theoretical study about L-arginine complexes formation with thiotriazolin / L. I. Kucherenko, O. V. Hromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 1. С. 108-112.

387. Theoretical study of the possibility of glycin with thiotriazoline complexes formation / L. I. Kucherenko, O. V. Khromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 5. С. 675-679.
<https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.5.110232>

388. Theoretical study of the possibility of L-tryptophan with thiotriazoline complex formation / L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, S. A. Borsuk et al. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 1. С. 110-115.

389. Treatment with carnitine, acetyl carnitine, L-arginine and ginseng improves sperm motility and sexual health in men with asthenopermia / G. Morgante, V. Scolaro, C. Tosti et al. *The Italian journal of urology and nephrology*. 2010. Vol. 62, Iss. 3. P. 213-218.

390. Treatment with L-arginine improves neuropsychological disorders in a child with creatine transporter defect / A. Chilosi, V. Leuzzi, R. Battini et al. *Neurocase*. 2008. Vol. 14, Iss. 2. P. 151-161.
<https://doi.org/10.1080/13554790802060821>

391. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Human reproduction update*. 2008. Vol. 14, Iss. 3. P. 243-258. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn004>
392. Tripathi P., Chandra M., Misra M. K. Oral administration of L-arginine in patients with angina or following myocardial infarction may be protective by increasing plasma superoxide dismutase and total thiols with reduction in serum cholesterol and xanthine oxidase. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2009. Vol. 2, Iss. 4. P. 231-237. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.4.9233>
393. Tripathi P., Misra M. K. Therapeutic role of L-arginine on free radical scavenging system in ischemic heart diseases. *Indian journal of biochemistry & biophysics*. 2009. Vol. 46, Iss. 6. P. 498-502.
394. Trott O., Olson A. J. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of computational chemistry*. 2010. Vol. 31, Iss. 2. P. 455-461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
395. 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: Crystal Structure Communications*. 2009. Vol. 65, Iss. 1. P. o24-o26. <https://doi.org/10.1107/S0108270108042042>
396. 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. P. 438-443.
397. Variants in the neuronal nitric oxide synthase (nNOS, NOS1) gene are associated with restless legs syndrome / J. Winkelmann, P. Lichtner, B. Schormair et al. *Movement disorders*. 2008. Vol. 23, Iss. 3. P. 350-358. <https://doi.org/10.1002/mds.21647>
398. Vivapur® MCG. Microcrystalline Cellulose and Carboxymethylcellulose Sodium // JRS Pharma. Rosenberg : JRS Pharma, 2004. URL : https://www.jrspharma.com/pharma_en/products-services/excipients/thickeners/vivapur-mcg.phpvivasol.php

399. Vivasol®: Croscarmellose-Natrium, Croscarmellose Sodium / J. Rettenmaier & Söhne. Rosenberg : Business Unit Pharma. URL : https://www.jrspharma.com/pharma_en/products-services/excipients/superdisintegrants/

400. Vivastar®Sodium Starch Glycolate // JRS Pharma. Rosenberg : Business Unit Pharma. URL : https://www.jrspharma.com/pharma_en/products-services/excipients/superdisintegrants/vivastar.php

401. Wu G., Meininger C. J. Nitric oxide and vascular insulin resistance. *BioFactors* . 2009. Vol. 35, Iss. 1. P. 21-27. <https://doi.org/10.1002/biof.3>

402. Xiao X. M., Li L. P. L-Arginine treatment for asymmetric fetal growth restriction. *International journal of gynaecology and obstetrics*. 2005. Vol. 88, Iss. 1. P. 15-18. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2004.09.017>

403. Zhang X. J., Chinkes D. L., Wolfe R. R. The anabolic effect of arginine on proteins in skin wound and muscle is independent of nitric oxide production. *Clinical nutrition*. 2008. Vol. 27, Iss. 4. P. 649-656. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2008.01.006>

ДОДАТКИ

Додаток А

Дисперсійний аналіз експериментальних даних дослідження покритих таблеток L-аргініну з морфолінію тіазотатом

Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середній квадрат	$F_{\text{експ}}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
у₁ - зовнішній вигляд покритих таблеток						
Фактор А	4	1,0	0,25	0,83	3,63	$\alpha_i = 0$
Похибка	5	1,5	0,30			
Загальна сума	9					
у₂ – однорідність маси покритих таблеток						
Фактор А	4	0,4637	0,1159	20,05	3,63	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	5	0,0289	0,00578			
Загальна сума	9	0,4926				
у₃ – стійкість таблеток до роздавлювання						
Фактор А	4	2480,499	620,124	4,76	3,63	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	5	650,9	130,18			
Загальна сума	9	3131,399				
у₄ – розпадання покритих таблеток						
Фактор А	4	66,095	16,5237	51,42	3,63	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	5	1,6072	0,32144			
Загальна сума	9	67,7022				
у₅ – кількісний вміст L-аргініну в покритих таблетках						
Фактор А	4	4,44	1,11	6,23	3,63	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	5	0,89	0,178			
Загальна сума	9	5,33				
D – функція бажаності						
Фактор А	4	0,1102	0,02755	3,84	3,63	$\alpha_i \neq 0$
Похибка	5	0,0358	0,00716			
Загальна сума	9	0,146				

Результати визначення однорідності вмісту діючих речовин в таблетках L-аргініну з тіотриазоліном

№	L-аргінін				Морфолінію тiazотат			
	Середня площа піку	Маса L-аргініну (мг) в таблетці	Знайдено	Відносне стандартне відхилення, ± %	Середня площа піку	Маса морфолінію тiazотату(мг) в таблетці	Знайдено	Відносне стандартне відхилення, ± %
1	297624	200,0	99,28	1,06	3518762	50,0	98,14	0,22
2	293259	200,0	97,83	0,41	3480421	50,0	97,07	0,87
3	294541	200,0	98,26	0,03	3546241	50,0	98,91	1,01
4	292365	200,0	97,53	0,71	3534385	50,0	98,58	0,67
5	293567	200,0	97,93	0,31	3533235	50,0	98,55	0,64
6	292148	200,0	97,46	0,78	3518784	50,0	98,14	0,22
7	297164	200,0	99,13	0,92	3516356	50,0	98,07	0,15
8	292127	200,0	97,45	0,79	3484687	50,0	97,19	0,75
9	294359	200,0	98,20	0,03	3481234	50,0	97,10	0,84
10	293428	200,0	99,19	0,97	3492476	50,0	97,41	0,52
Сєр. знач.			98,23	0,60		50,0	97,92	0,59
РП	299768	200,0			3585362	50,0		

Додаток Б

Засоби вимірювальної техніки, випробувальне та допоміжне обладнання, які використовувались при виконанні дисертації

Назва, тип, модель	Зав. №, рік випуску	Назва величин (параметрів), що вимірювалися (досліджувалися, задавалися),	Основні метрологічні характеристики		Дати повірок, метрологічного контролю в період виконання досліджень	Місцезнаходження приладів, обладнання
			Границі вимірювань	клас точності, похибка		
1	2	3	4	5	6	7
Спектрофотометр Optizen POP	137128-00	Довжина хвилі Концентрація	198-1100 нм 0,05-2,5Б	$\pm 0,005Б$	09.2020 р.	Кафедра фарм. хімії ЗДМУ
Дозатор піпетковий	120475	Об'єм	0,5-10 мкл	$\pm 2,5\%$	Метрологічна повірка ДП «ЗНВЦСМС» № 11-2160-20 від 05.10.2020 р.	Навчально медико-лабор. центр відділ кафедра аналітичної хімії ЗДМУ
Мірний посуд	б/н	Кількість рідини	0-250 мл	$\pm 0,5\%$	При випуску з виробництва ІІ кв. 2009 р.	Кафедра фарм. хімії ЗДМУ
Аналізатор термогравиметричний DTG-60	101482044	Температура плавлення	20-1100 ⁰	$\pm 1\text{ }^{\circ}C$	Метрологічна повірка ДП «ЗНВЦСМС» № 2-1499-20 07.09. 2020 р.	Кафедра технології ліків ЗДМУ

Продовж. дод. Б

1	2	3	4	5	6	7
Секундомір	1192	Час	0-60 хв	$\pm 1,6$ с	Метрологічна повірка ДП «ЗНВЦСМС» № 12-0328-17 IV кв. 2020 р.	Навчально медико-лабор. центр ЗДМУ
Тестер для визначення розпадання таблеток ZT x20 Erweka	130731.0E E5	Час розпадання таблетки Температура	1-6 хв. 37 °C	± 1 с $\pm 0,5\%$	Доп. обл.	Кафедра фарм. хімії ЗДМУ
Ваги лабораторні електронні OHAUS PA 214C	13123	Маса	0,01-210 г	$\pm 0,0001$ г	Метрологічна повірка ДП «ЗНВЦСМС» № 11-1019-20 05.2020 р.	Кафедра фарм. хімії ЗДМУ
Термометр	б/н	Температура	20-60 °C 148-152 °C	$\pm 1\%$ $\pm 0,5\%$	Метрологічна повірка ДП «ЗНВЦСМС» від III кв. 2019 р.	Кафедра фарм. хімії ЗДМУ
Шафа сушильна вакуумна	0067458	Температура середовища	5-300 °C	± 4 °C	Атестація 09.2020 р.	Кафедра фарм. хімії ЗДМУ

Продовж. дод. Б

1	2	3	4	5	6	7
Тестер для визначення міцності таблеток PharmaTest PTB 311E	24450	Міцність таблеток	30-140 Н	$\pm 0,1$ Н	Метрологічна повірка ДП «ВДНЦСМСЗП С» №UA/23/18071 8/002156 від 17.07.2018 р.	Кафедра фарм. хімії ЗДМУ
Рідинний хроматограф Shimadzu USA LC-20	L20104976 664 US	Пік утримування речовин, час утримування, концентрація речовин	2-25хв 95-105%	$\pm 0,01\%$	Метрологічна повірка ДП «ХРНЦСМС» № 84872/1 від 15.09.2021р.	Державна наукова установа Науково-технологічний комплекс «Інститут монокристалів» НАН України

Додаток В

Результати аналізу препарату "Аргітрил" в процесі тривалого зберігання

№ серії	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація	Середня маса	Розчинення	Супровідні домішки	Мікробіологічна чистота	Кількісний вміст L-аргініну, г/табл	Кількісний вміст тіотриазоліну	Термін зберігання	Висновок
Вимоги Проекту МКЯ		Таблетки, вкриті оболонкою світло-жовтого кольору, круглої форми, з двоопуклою поверхнею. На розломі видно ядро білого кольору.	Відповідність часу утримування основного піку випробуваного розчину і розчину порівняння L-аргініну та тіотриазоліну	Від 0,380±0,420	75-115%	3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону- не більше 0,5 % Ацетилтіосемікарбазиду - не більше 0,5 %.	В субстанції допускається загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС) ≤ 10 ³ КУО/г. Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ГУМС) ≤ 10 ² КУО/г Відсутність Escherichia coli в 1г	Від 0,185 г до 0,215 г	Від 0,45 г до 0,55 г	2 роки	
01	23.01.18	Відповідає	Відповідає	0,405	93-102	Відповідає	Відповідає	0,201	0,051	->-	Придатний
	17.04.18	->-	->-	0,404	98-100	є	->-	0,202	0,050	3 міс	
	17.07.18	->-	->-	0,399	89-101	->-	->-	0,201	0,048	6міс	
	23.10.18	->-	->-	0,412	89-100	->-	->-	0,199	0,049	9 міс	
	22.01.19	->-	->-	0,403	98-104	->-	->-	0,200	0,049	1рік	
	16.07.19	->-	->-	0,410	99-102	->-	->-	0,198	0,048	1рік 6 міс	
	21.01.20	->-	->-	0,406	97-101	->-	->-	0,197	0,047	2 роки	

Продовж. дод. В

2	24.01.18	Відповідає	Відповідає	0,406	97-104	Відповіда	Відповідає	0,203	0,052	->-	Придатний
	18.04.18	->-	->-	0,410	98-101	є	->-	0,204	0,051	3 міс	
	18.07.18	->-	->-	0,408	99-107	->-	->-	0,202	0,051	6міс	
	24.10.18	->-	->-	0,403	89-99	->-	->-	0,198	0,049	9 міс	
	23.01.19	->-	->-	0,408	97-102	->-	->-	0,196	0,048	1рік	
	17.07.19	->-	->-	0,417	89-98	->-	->-	0,194	0,048	1рік 6 міс	
	22.01.20	->-	->-	0,418	99-104	->-	->-	0,193	0,046	2 роки	
3	25.01.18	Відповідає	Відповідає	0,397	91-102	Відповіда	Відповідає	0,198	0,050	->-	Придатний
	19.04.18	->-	->-	0,412	85-98	є	->-	0,195	0,050	3 міс	
	19.07.18	->-	->-	0,419	87-99	->-	->-	0,197	0,049	6міс	
	25.10.18	->-	->-	0,407	89-102	->-	->-	0,194	0,049	9 міс	
	24.01.19	->-	->-	0,403	94-100	->-	->-	0,196	0,047	1рік	
	18.07.19	->-	->-	0,418	96-102	->-	->-	0,193	0,048	1рік 6 міс	
	23.01.20	->-	->-	0,406	87-101	->-	->-	0,194	0,047	2 роки	

Упаковка в блістерах.

Зберігання. При температурі не вище 25 °С і відносній вологості (60±5) %, у захищеному від світла місці.

Додаток Г

Результати визначення однорідності вмісту діючих речовин в таблетках гліцину з морфолінію тіазотатом

№	Гліцин				Морфолінію тіазотат			
	Середня площа піку	Маса гліцину (мг) в таблетці	Знайдено	Відносне стандартне відхилення, ± %	Середня площа піку	Маса морфолінію тіазотату(мг) в таблетці	Знайдено	Відносне стандартне відхилення, ± %
1	205819	200,0	98,67	0,39	3523831	50,0	99,03	0,42
2	203086	200,0	97,36	0,95	3519917	50,0	98,92	0,30
3	206757	200,0	99,12	0,84	3492873	50,0	98,16	0,47
4	207404	200,0	99,43	1,16	3484689	50,0	97,93	0,70
5	204046	200,0	97,82	0,49	3473658	50,0	97,62	1,01
6	203858	200,0	97,73	0,57	3516003	50,0	98,81	0,19
7	205276	200,0	98,41	0,12	3502481	50,0	98,43	0,19
8	205653	200,0	98,12	0,17	3529169	50,0	99,18	0,57
9	206173	200,0	98,84	0,56	3543402	50,0	99,58	0,97
10	203065	200,0	97,35	0,96	3503904	50,0	98,47	0,15
Сер. знач.			98,29	0,62			98,62	0,50
РП	208593	200,0			3558347	50,0		

Додаток Д
Результати аналізу таблеток "Гліцитрил" в процесі тривалого зберігання

№ серії	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація	Середня маса	Розчинення	Супровідні домішки	Мікробіологічна чистота	Кількісний вміст гліцину, г/табл	Кількісний вміст тіотриазоліну, г/табл	Термін зберігання	Висновок
Вимоги Проекту МКЯ		Таблетки білого кольору	Відповідність часу утримування основного піку випробуваного розчину і	Від 0,342 г до 0,378 г	75-115%	3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону- не більше 0,5 % Ацетилтіосемікарбазиду - не більше 0,5 %	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 <i>Escherichia coli</i> в 1г	Від 0,185 г до 0,215 г	Від 0,45 г до 0,55 г	2 роки	
01	27.06.18	Відповідає	Відповідає	0,357	94-105	Відповідає	Відповідає	0,202	0,049	->-	Придатний
	25.09.18	Відповідає	Відповідає	0,363	99-102	є	->-	0,201	0,050	3 міс	Придатний
	18.12.18	->-	->-	0,365	89-98	->-	->-	0,199	0,049	6 міс	->-
	26.03.19	->-	->-	0,359	87-100	->-	->-	0,200	0,048	9 міс	->-
	19.06.19	->-	->-	0,349	95-104	->-	->-	0,198	0,048	1 рік	->-
	17.12.19	->-	->-	0,354	91-100	->-	->-	0,198	0,047	1 рік 6 міс	->-
	27.05.20	->-	->-	0,367	97-106	->-	->-	0,199	0,047	2 роки	->-

Продовж. дод. Д

2	28.06.18	Відпо	Відпові	0,358	97-103	Відповіда	Відповідає	0,203	0,052	->-	Придат ний ->- ->- ->- ->- ->-
	26.09.18	відає	дає	0,352	98-106	є	->-	0,201	0,052	3 міс	
	19.12.18	->-	->-	0,347	99-105	->-	->-	0,201	0,051	6міс	
	27.03.19	->-	->-	0,363	87-99	->-	->-	0,198	0,049	9 міс	
	20.06.19	->-	->-	0,360	97-102	->-	->-	0,198	0,049	1рік	
	18.12.19	->-	->-	0,364	89-101	->-	->-	0,194	0,048	1рік 6 міс	
	28.05.20	->-	->-	0,371	98-103	->-	->-	0,195	0,047	2 роки	
3	29.06.18	Відпо	Відпові	0,361	93-104	Відповіда	Відповідає	0,199	0,051	->-	Придат ний ->- ->- ->- ->- ->-
	27.09.18	відає	дає	0,364	84-96	є	->-	0,196	0,050	3 міс	
	20.12.18	->-	->-	0,359	86-99	->-	->-	0,197	0,050	6міс	
	28.03.19	->-	->-	0,354	89-101	->-	->-	0,197	0,049	9 міс	
	21.06.19	->-	->-	0,363	94-101	->-	->-	0,195	0,047	1рік	
	19.12.19	->-	->-	0,367	96-102	->-	->-	0,192	0,048	1рік 6 міс	
	29.05.20	->-	->-	0,365	85-101	->-	->-	0,193	0,048	2 роки	

Упаковка в блістерах.

Зберігання. При температурі не вище 25 °С і відносній вологості (60±5) %, у захищеному від світла місці

Додаток Е

**Дисперсійний аналіз експериментальних даних з вивчення фармако-
технологічних показників таблеток ГАМК з тіотриазоліном**

Джерело дисперсії	Число ступенів свободи	Сума квадратів	Середні квадрати	$F_{експ}$	$F_{0,05}$	Гіпотеза H_0
у₁ - зовнішній вигляд таблеток						
Фактор А	3	4,75	1,5833	15,0	3,13	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	7,75	2,5833	24,5	3,13	$\beta_i \neq 0$
Фактор С	3	4,5	1,50	14,2	3,13	$\gamma_k \neq 0$
Залишок	3	2,5	0,833	7,9	3,13	res $\neq 0$
Похибка	19	2,0	0,1053			
Загальна сума	31	21,5				
у₂ - однорідність маси таблеток						
Фактор А	3	4,493	1,4976	109,6	3,13	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	2,505	0,835	61,1	3,13	$\beta_i \neq 0$
Фактор С	3	1,3319	0,4439	32,5	3,13	$\gamma_k \neq 0$
Залишок	3	3,8814	1,2938	94,7	3,13	res $\neq 0$
Похибка	19	0,2596	0,01366			
Загальна сума	31	12,4709				
у₃ - стійкість таблеток до роздавлювання						
Фактор А	3	566.132	188.71	114,9	3,13	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	73.968	24.658	15,0	3,13	$\beta_i \neq 0$
Фактор С	3	1579.112	526.37	320,5	3,13	$\gamma_k \neq 0$
Залишок	3	508.753	169.58	103,2	3,13	res $\neq 0$
Похибка	19	31.2	1.642			

Продовж. дод. Е

Загальна сума	31	2759.182				
y_4 – стиранисть таблеток						
Фактор А	3	0,52233	0,1741	86,6	3,13	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	0,6109	0,2036	101,3	3,13	$\beta_i \neq 0$
Фактор С	3	1,2750	0,425	211,4	3,13	$\gamma_k \neq 0$
Залишок	3	1,1883	0,3961	197,0	3,13	res $\neq 0$
Похибка	19	0,0382	0,00201			
Загальна сума	31	3,6348				
y_5 - час розпадання таблеток						
Фактор А	3	112,374	37,45	1265,4	3,13	$\alpha_i \neq 0$
Фактор В	3	46,3438	15,44	603,4	3,13	$\beta_i \neq 0$
Фактор С	3	13,5415	4,5138	152,5	3,13	$\gamma_k \neq 0$
Залишок	3	50,2057	16,73	565,4	3,13	res $\neq 0$
Похибка	19	0,5625	0,0296			
Загальна сума	31	223,0275				

Додаток Ж

Результати визначення однорідності вмісту діючих речовин в таблетках ГАМК з морфолінію тіазотатом

№	ГАМК				Морфолінію тіазотат			
	Середня площа піку	Маса ГАМК (мг) в таблетці	Знайдено	Відносне стандартне відхилення, ± %	Середня площа піку	Маса морфолінію тіазотату(мг) в таблетці	Знайдено	Відносне стандартне відхилення, ± %
1	262287	200,0	99,34	0,58	3306557	50,0	98,73	0,09
2	258301	200,0	97,83	0,95	3305218	50,0	98,69	0,13
3	258697	200,0	97,96	0,82	3336699	50,0	99,63	0,82
4	263291	200,0	99,72	0,96	3320288	50,0	99,14	0,32
5	263211	200,0	99,69	0,93	3280434	50,0	97,95	0,88
6	260756	200,0	98,76	0,01	3278425	50,0	97,89	0,94
7	260254	200,0	98,57	0,2	3294166	50,0	98,36	0,47
8	262023	200,0	99,24	0,48	3306222	50,0	98,72	0,1
9	260518	200,0	98,67	0,1	3319619	50,0	99,12	0,3
10	258565	200,0	97,93	0,85	3336699	50,0	99,63	0,82
Сер. знач.			98,77	0,59			98,82	0,49
РП	264162	200,1			3362487	50,2		

Додаток К

Результати аналізу таблеток "Тіогамк" в процесі тривалого зберігання

№ серії	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація	Середня маса	Розчинення	Супровідні домішки	Мікробіологічна чистота	Кількісний вміст ГАМК, г/табл	Кількісний вміст тіотриазоліну г/табл	Термін зберігання	Висновок
Вимоги Проекту МКЯ		Таблетки білого кольору, з двоопуклою поверхнею. На розломі видно ядро білого кольору.	Відповідність часу утримування основного піку випробуваного розчину і розчину порівняння ГАМК та тіотриазоліну	0,333 мг до 0,368 мг	75-115%	3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіонуне більше 0,5 % Ацетилтіосемікарбазиду - не більше 0,5%	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 <i>Escherichia coli</i> в 1г	Від 0,185 г до 0,215 г	Від 0,045 г до 0,055 г	2 роки	
01	29.10.18	Відповідає	Відповідає	0,349	99-104	Відповідає	Відповідає	0,201	0,051	->-	Придатний
	21.01.19	->-	->-	0,350	98-101	->-	->-	0,200	0,049	3 міс	->-
	22.04.19	->-	->-	0,363	87-98	->-	->-	0,198	0,048	6 міс	->-
	22.07.19	->-	->-	0,358	89-100	->-	->-	0,199	0,050	9 міс	->-
	23.09.19	->-	->-	0,352	96-102	->-	->-	0,201	0,050	1 рік	->-
	23.03.20	->-	->-	0,348	87-99	->-	->-	0,197	0,047	1 рік 6 міс	->-
	28.09.20	->-	->-	0,349	99-103	->-	->-	0,199	0,049	2 роки	->-

Продовж. дод. К

2	30.10.18	Відпові	Відповіда	0,351	94-100	Відповіда	Відповідає	0,202	0,051	->-	Придатн ий ->- ->- ->- ->- ->- ->-
	22.01.19	дає	є	0361	97-102	є	->-	0,199	0,052	3 міс	
	23.04.19	->-	->-	0,358	99-103	->-	->-	0,200	0,050	6міс	
	23.07.19	->-	->-	0,346	89-98	->-	->-	0,197	0,051	9 міс	
	24.09.19	->-	->-	0,348	98-101	->-	->-	0,199	0,049	1рік	
	24.03.20	->-	->-	0,352	86-102	->-	->-	0,195	0,049	1рік 6 міс	
	29.09.20	->-	->-	0,361	97-101	->-	->-	0,197	0,048	2 роки	
	31.10.18	Відпові	Відповіда	0,351	92-101	Відповіда	Відповідає	0,199	0,052	->-	
3	23.01.19	дає	є	0,349	88-98	є	->-	0,198	0,050	3 міс	
	24.04.18	->-	->-	0,347	87-102	->-	->-	0,196	0,051	6міс	
	24.07.19	->-	->-	0,355	94-102	->-	->-	0,197	0,049	9 міс	
	25.09.19	->-	->-	0,360	97-101	->-	->-	0,198	0,048	1рік	
	25.03.20	->-	->-	0,359	96-104	->-	->-	0,194	0,047	1рік 6 міс	
	30.09.20	->-	->-	0,350	87-102	->-	->-	0,193	0,047	2 роки	

Упаковка в блістерах.

Зберігання. При температурі не вище 25 °С і відносній вологості (60±5) %, у захищеному від світла місці.

Додаток Л

Список публікацій здобувача

1. Кучеренко Л. И., Хромылева О. В., Левых А. Э. Применение нейротрансмиттерных аминокислот в современной медицине. *Рецепт*. 2016. Т. 19, № 5. С. 616-620. (Особистий внесок: планування експерименту, обробка отриманих результатів, оформлення статті).
2. Theoretical study about L-arginine complexes formation with thiotriazolin / L. I. Kucherenko, O. V. Hromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 1. С. 108-112. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).
3. Исследование кардио- и эндотелиопротекторного действия нового комбинированного лекарственного препарата на основе L-аргинина и тиотриазолина / Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, И. А. Мазур, О. В. Хромылева. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2017. № 1. С. 54-60. (Особистий внесок: приготування досліджуваного зразка, проведення морфометричних досліджень, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
4. The formation of two thiotriazoline polymorphs: study from the energetic viewpoint / S. V. Shishkina, V. N. Baumer, O. V. Khromileva, L. I. Kucherenko I. A. Mazur. *CrystEngComm*. 2017. Vol. 19. P. 2394-2401. <https://doi.org/10.1039/C7CE00117G>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus)).
5. Theoretical study of the possibility of glycine with thiotriazoline complexes formation / L. I. Kucherenko, O. V. Khromyleva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Т. 19, № 5. С. 675-679. <https://doi.org/10.14739/2310-1210>. 2017.5.110232. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science)).
6. Metabolithotropic aspects of cardioprotective action of new combined medicine based on L-arginine and thiotriazolin at modeling of myocardial infarction / L. I. Kucherenko, I. F. Belenichev, I. A. Mazur, O. V. Khromylova. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2017. Vol. 10, Iss. 10. P. 158-161. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i10.19895>. (Особистий внесок: приготування досліджуваного зразка, спектрофотометричне

- дослідження, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus).
7. Influence of the fixed combination of glycine with thiotriazoline on energy metabolism parameters in brain in conditions of experimental cerebral ischemia / L. Kucherenko, I. Belenichev, I. Mazur, O. Khromylova, N. Parniuk. *Ankara Universitesi Eczacilik Fakultesi Dergisi*. 2018. Vol. 42, Iss. 1. P. 14-21. https://doi.org/10.1501/Eczfak_0000000598. (Особистий внесок: приготування досліджуваного зразка, спектрофотометричне дослідження зразків, статистична обробка отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Scopus).
 8. Optimization of L-arginine and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography method / L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova, I. A. Mazur, Z. B. Moriak. *Запорожский медицинский журнал*. 2018. Т. 20, № 6. С. 837-840. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2018.6.146760>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті (Web of Science).
 9. Хромилева О. В. Выбор вспомогательных веществ для получения таблеток L-аргинина с тиотриазолином методом влажной грануляции. Сообщение 1. Влияние вспомогательных веществ на процесс прессования, внешний вид и однородность в массе таблеток L-аргинина с тиотриазолином, полученных методом влажной грануляции. *Рецепт*. 2018. Т. 21, № 4. С. 516-524.
 10. Хромилева О. В. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні характеристики таблеток L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис*. 2018. № 4. С. 35-41. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2018.4.9704>
 11. Щодо стандартизації L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші методом вискоєфективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромилева, Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2019. Т. 12, № 1. С. 47-52. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.1.158992>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 12. Хромилева О.В. Хромилева О. В. Щодо поєднання гліцину та тіотриазоліну в одній лікарській формі. *Актуальні питання*

Продовж. дод. Л

- фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2019. Т. 12, № 2. С. 181-185. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.171010>
13. Хромильова О. В. Вибір захисної полімерної оболонки для таблеток-ядер L-аргініну з тіотриазоліном. *Фармацевтичний часопис.* 2019. № 2. С. 23-29. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.2.9927>
 14. Хромильова О. В. Дериватографические исследования тиотриазолина, L-аргинина, смеси L-аргинина с тиотриазолином. *Рецепт.* 2018. Т. 22, № 4. С. 544-549.
 15. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 1. Вивчення впливу допоміжних речовин на насипну густину, насипну густину після усадки, текучість і кут природного укусу порошкових мас гліцину з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, З. Б. Моряк. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2020. Т. 13, № 1. С. 98-104 <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.1.198182>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 16. Щодо підбору оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з тіотриазоліном методом високоефективної рідинної хроматографії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Г. І. Ткаченко. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* 2020. Т.13, № 2. С. 244-248. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.2.207180>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 17. Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. Повідомлення 2. Вивчення впливу допоміжних речовин на фармако-технологічні показники отриманих таблеток / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, Л. Г. Черковська. *Фармацевтичний часопис.* 2020. № 2. С. 32-39. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.2.11193>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 18. Kucherenko L. I., Belenichev I. F., Khromyleva O. V. Creation of a new combined drug based on gamma-aminobutyric acid and thiotriazoline. *Biological markers and guided therapy.* 2020. Vol. 7, no. 1. P. 31-38. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2020.91017>. (Особистий внесок: приготування штучних сумішей, проведення експерименту, статистична обробка

- отриманих результатів, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
19. Валідація методики кількісного визначення діючих речовин в таблетках «Аргітрил» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. Р. Німенко, С. О. Борсук. *The scientific heritage*. 2020. № 51-2. Р. 59-64. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 20. Дериватографічні дослідження Гамма-аміномасляної кислоти, тіотриазоліну та суміші Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, Г. П. Лисянська, І. В. Павлюк. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 1. №. 47. Р. 39-42. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 21. Розробка складу та технології таблеток Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, О. О. Портна, Н. В. Дерев'янку. *Фармацевтичний часопис*. 2020. № 3. С. 15-23. <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2020.3.11422>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 22. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Німенко Г. Р. Визначення Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном в модельній суміші методом вискоєфективної рідинної хроматографії. *Österreichisches Multiscience Journal*. (Innsbruck, Austria). 2020. Vol. 1, №. 33. Р. 16-19. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 23. Щодо стандартизації гліцину та тіотриазоліну в модельній суміші методом вискоєфективної рідинної хроматографії / О. В. Хромильова, М. О. Авраменко, Г. Р. Німенко, Е. Ю. Гура. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т.13, № 3. С. 378-382. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2020.3.216213>. (Особистий внесок: проведення експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).
 24. Визначення діючих речовин в таблетках "Тіогамк" методом вискоєфективної рідинної хроматографії / О. В. Хромильова, Л. І. Кучеренко. *Norwegian journal of development of the international science*. 2020. Vol. 2. №. 50. Р. 59-62. (Особистий внесок: проведення

експерименту, узагальнення результатів дослідження, оформлення статті).

Патенти

25. Пат. на винахід № 110597 Україна, МПК (2015.01) А61К 31/198 (2006.01), А61К 9/00. Комбінований лікарський засіб гепатопротекторної, кардіопротекторної, плацентопротективної, токолітичної і NO-міметичної дії / І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, В. Г. Сюсюка ; патентовласник ТОВ «Науково-виробниче об'єднання «Фарматрон». № а 201506388 ; заявл. 30.06.2015 ; опубл. 12.01.16, Бюл. № 1. (*Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту*).
26. Пат. на винахід №114270 Україна, МПК А61К 31/198 (2006.01), А61К 31/41(2006.01) А61Р 9/10(2006.01). Комбінований лікарський засіб для первинної нейропротекції / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, С. В. Горбачова. № а201612503 ; заявл. 08.12.2016 ; опубл. 10.05.2017, бюл. № 9. (*Особистий внесок: патентний пошук, розробка технології, участь у підготовці патенту*).

Тези доповідей

27. Фармакологические портреты препаратов, разработанных в НПО «Фарматрон» в галерее инновационных лекарственных средств / И. А. Мазур, Ю. М. Колесник, Л. И. Кучеренко, И. Ф. Беленичев, О. В. Хромилева, Е. А. Нагорная. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 76-77.
28. Щодо доцільності створення нового комбінованого лікарського препарату для лікування захворювань центральної нервової системи / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи* : матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 2016. С. 376-377.
29. Стратегія розробки нових фіксованих комбінованих лікарських засобів нейропротективної дії / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 6-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Тернопіль : Укрмедкнига, 2016. С. 126.
30. Щодо створення нового комбінованого лікарського препарату на основі L-аргініну та тіотриазоліну/ Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, І. А. Мазур, О. В. Хромильова. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і*

- призначення лікарських засобів* : матеріали I міжнар. наук.-практ. конф., Харків, 2017. С. 192.
31. Combined metabolitotropic endothelio protector "Argitryl" – new word in complex therapy of heart and vessel diseases / I. A. Mazur, I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, O. V. Khromylova. *Актуальные вопросы медицины* : матеріали VI ежегодной междунар. науч.-практ. конф. Баку, 2017. С. 70-71.
 32. Kucherenko L. I., Khromylova O. V. About possibility of L-arginine complexes formation with thiotriazolin. *Trends of modern science-2017* : materials of the XIII international scientific and practical conference. Sheffield, 2017. Vol. 17. P. 50-52.
 33. Розробка нових лікарських засобів на основі морфолінію тіазотату / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, О. В. Хромильова, Д. Ю. Скорина. *Синтез і аналіз біологічно активних речовин і лікарських субстанцій* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяченої 80-річчю з дня народження д-ра фармац. наук, проф. О. М. Гайдукевича, Харків, 2018. С. 169.
 34. Деякі аспекти нейропротективної дії фіксованої комбінації гліцину з тіотриазоліном / І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова, Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 7-ї наук.-практ. конф. з між нар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2018. С. 255-256.
 35. Drug development for the treatment of the cardiovascular diseases based on fixed combinations of thiotriazoline and transmitter amino acids/ I. A. Mazur, L. I. Kucherenko, S. V. Shishkina, I. F. Belenichev, O.V. Khromylova. *Chemistry of nitrogen containing heterocycles* : materials of the XIII conference. Kharkiv, 2018. P. 91.
 36. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Щодо технології отримання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. (14-15 березня 2019 р.). Харків, 2019. С. 160.
 37. Створення нового оригінального ендотеліопротектора на основі похідних 1,2,4-триазолу / Л. І. Кучеренко, І. А. Мазур, І. Ф. Беленічев, О. В. Хромильова. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 327-328.
 38. Використання вискоєфективної рідинної хроматографії при розробці нового лікарського засобу «Аргітрил» / Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова,

- Д. Ю. Скорина, Г. І. Ткаченко. *Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку* : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 19-20 вересня 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 329-330.
39. Кучеренко Л. І., Хромилева О. В. Разработка технологии получения таблеток методом влажной грануляции на основе L-аргинина и морфолиния тиазотата. *The world of science and innovation* : materials of II International Scientific and Practical Conference, London. United Kingdom 2020. P. 403-405.
40. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Підбір оптимальних умов визначення гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші методом ВЕРХ. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали 8-ї наук.-практ. конф. з міжнар. участю. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. С. 149-150.
41. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Розробка технології сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. *Eurasian scientific congress* : materials of X International Scientific and Practical Conference. Barcelona, 2020. P. 88-90.
42. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В. Вибір допоміжних речовин з метою отримання таблеток Гамма-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном методом вологої грануляції. *Modern science: problems and innovations* : materials of VIII International Scientific and Practical Conference. Stockholm, 2020. P. 96-98.
43. Кучеренко Л. І., Хромильова О. В., Беленічев І. Ф. Створення нового комбінованого лікарського засобу на основі гамма-аміномасляної кислоти та морфолиния тиазотату. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали V міжнар. наук.-практ. конф. Харків, 2020. С. 283.

Інформаційний лист

44. Спосіб комплексної, цитопротективної терапії вагітних із затримкою росту плода : інформ. лист про нововведення в сфері охорони здоров'я №161-2020 / В. Г. Сюсюка, Н. Г. Колокот, І. Ф. Беленічев, Л. І. Кучеренко, О. В. Хромильова. Київ, 2020. 3 с. (*Особистий внесок: участь у теоретичному обґрунтуванні досліджень*).

Додаток М

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. 6-та 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. I міжнародна науково-практична конференція "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 30-31 березня 2017 р., форма участі – публікація тез);
4. VI щорічна міжнародна науково-практична конференція "Актуальные вопросы медицины" (Баку, 10-11 травня 2017 р., форма участі – публікація тез);
5. XIII international scientific and practical conference "Trends of modern science-2017" (Sheffield, 30 травня - 07 червня 2017 р., форма участі – публікація тез);
6. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвяченій 80-річчю з дня народження доктора фармацевтичних наук, професора О. М. Гайдукевича (Харків, 12-13 квітня 2018 р., форма участі – публікація тез);
7. 7-ма 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);

Продовж. дод. М

8. XIII conference in memoriam of Prof. Valeriy Orlov "Chemistry of nitrogen containing heterocycles" (Харків, 12-16 листопада 2018 р., форма участі – публікація тез);
9. III міжнародна науково-практична конференція "Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів" (Харків, 14-15 березня 2019 р., форма участі – публікація тез);
10. Науково-практична конференція з міжнародною участю "Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку" (Харків, 19-20 вересня 2019 р., форма участі – публікація тез);
11. II International Scientific and Practical Conference "The world of science and innovation London. United Kingdom" (London, 16-18 вересня 2020 р., форма участі – публікація тез);
12. 8-ма науково-практична конференція з міжнародною участю "Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів" (Тернопіль, 23-24 вересня 2020 р., форма участі – публікація тез);
13. X International Scientific and Practical Conference "Eurasian scientific congress" (Barcelona, 04-06 жовтня 2020 р., форма участі – публікація тез);
14. VIII International Scientific and Practical Conference "Modern science: problems and innovations" (Stockholm, 18-20 жовтня 2020 р., форма участі – публікація тез).
15. V міжнародна науково-практична конференція "Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії" (Харків, 26 листопада 2020 р., форма участі – публікація тез).

Додаток Н



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

~ 11/16.10.2018

А К Т

апробації результатів наукових досліджень

Хромильової О.В.

на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»

На базі ПрАТ «Лекхім-Харків», в лабораторних умовах, апробовано технологічну схему отримання таблеток «Аргітрил» методом вологої грануляції, яку розроблено доцентом Хромильовою О.В. та включено до дисертаційної роботи на тему: «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами».

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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



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

~ 3/10.04.2019

А К Т

апробації результатів наукових досліджень

Хромильової О.В.

на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»

На базі ПрАТ «Лекхім-Харків», в лабораторних умовах, апробовано технологічну схему отримання таблеток гліцину з тіотриазоліном прямого пресування, яку розроблено доцентом Хромильовою О.В. та включено до дисертаційної роботи на тему: «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансмітерними амінокислотами».

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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



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

№ 14 / 29.05.2019

А К Т
апробації результатів наукових досліджень
Хромильової О.В.
на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»

На базі ПрАТ «Лекхім-Харків», в лабораторних умовах, апробовано технологічну схему отримання таблеток гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном методом вологої грануляції, яку розроблено доцентом Хромильовою О.В. та включено до дисертаційної роботи на тему: «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболіто-тропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансміттерними амінокислотами».

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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 О

ЗАТВЕРДЖЕНО
Ректор Запорізького державного
медичного університету
професор Колесник Ю.М.



09 2020 р.

Заявник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

Виробник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

(ПРОЕКТ)
МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

АРГІТРИЛ

ARGITRYL

Таблетки, вкриті плівковою оболонкою,
№ 10 у блістері, 3 або 6 блістерів в пачці

Продовж. дод. О

b - середня вага таблетки в міліграмах.

7. Мікробіологічна чистота. Випробування проводять відповідно до вимог ДФУ, 2.6.12; 2.6.13; 5.1.4.

Вміст $C_6H_{14}N_4O_2$ (L-аргініну) в одній таблетці, у перерахунку на середню масу однієї таблетки, має бути: від 185,0 мг до 215,0 мг.

Вміст $C_5P_7N_3O_2S \cdot C_4H_9NO$ (морфолінію тіазатату) в одній таблетці, у перерахуванні на середню масу однієї таблетки, має бути: від 45,0 мг до 55,0 мг.

УПАКОВКА

По 10 таблеток у блістері, 3 або 6 блістерів разом з листком-вкладишем із паперу етикеткового за ГОСТ 7625-86 поміщають у пачку із картону для лікарських засобів за ГОСТ 12303-80.

Пачки поміщають у групову тару.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 121301-2006

МАРКУВАННЯ

Згідно оригінал-макету упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Доцент
кафедри фармацевтичної хімії, ЗДМУ



Хромильова О.В.

Продовж. дод. О

ЗАТВЕРДЖЕНО

Ректор Запорізького державного
медичного університету
професор Колесник Ю.М.



[Handwritten signature]

09

2020 р.

Заявник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

Виробник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

(ПРОЕКТ)

**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ**

GLYCITRIL

ГЛІЦИТРИЛ, таблетки, № 10 у блістері, 3 або 6 блістерів в пачці

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Доцент

кафедри фармацевтичної хімії, ЗДМУ



Хромильова О.В.

*Продовж. дод. О***ЗАТВЕРДЖЕНО**Ректор Запорізького державного
медичного університету
професор Колесник Ю.М.

_____ 2020 р.

Заявник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

Виробник, країна: **Запорізький державний медичний університет,
Україна**

(ПРОЕКТ)**МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ****ТІОГАМК****ТІОГАМК**, таблетки, № 10 у блістері, 3 або 6 блістерів в пачці

Продовж. дод. О

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

де: S_1 - середнє значення площ піків гама-аміномасляної кислоти (морфолінію тіазатату) в таблетковій масі;

S_0 - середнє значення площ піків розчину порівняння для гама-аміномасляної кислоти та морфолінію тіазатату;

m_1 - маса наважки таблеткової маси в міліграмах;

m_0 - маса наважки ФСЗ або РСЗ гама-аміномасляної кислоти (морфолінію тіазатату), в міліграмах;

P - вміст основної речовини в ФСЗ або РСЗ гама-аміномасляної кислоти (99,98%); морфолінію тіазатату (100%), у відсотках;

b - середня вага таблетки в міліграмах.

УПАКОВКА

По 10 таблеток у блістері, 3 або 6 блістерів разом з листком-вкладишем із паперу етикеткового за ГОСТ 7625-86 поміщають у пачку із картону для лікарських засобів за ГОСТ 12303-80.

Пачки поміщають у групову тару.

Групова і транспортна тара відповідно до ГОСТ 121301-2006

МАРКУВАННЯ

Згідно оригінал-макету упаковки.

ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25°C.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Доцент
кафедри фармацевтичної хімії, ЗДМУ



Хромильова О.В.

Додаток П

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботиПВНЗ «Київський медичний
університет»

д.м.н., професор Доан С.І.

« 17 » 20 19 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Найменування пропозиції для впровадження: кількісне визначення L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші.

1. Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів: Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л. І., Хромильова О.В., Мазур І. А., Моряк З.Б.

Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані): Optimization of L-arginine and thiotriazoline compound analysis by high-performance liquid chromatography/Кучеренко Л. І., Хромильова О.В., Мазур І. А., Моряк З.Б. Запорізький медичний журнал. – 2018. Т.20, №6 (111). –837-840.

2. Ким впроваджено: кафедра фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії ПВНЗ «Київський медичний університет».

3. Термін впровадження: 01.2019 –12.2019 р.

4. Ефективність впровадження: методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.

5. Пропозиції та зауваження: немає.

Завідувач кафедри фармацевтичної та
біологічної хімії, фармакогнозії
д.фарм.н., професор

О.Ю. Коновалова

Додаток Р

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Перший проректор з наукової роботи
Івано-Франківського національного
медичного університету
проф. Ерстенюк Г.М.
« 19 »  20  р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** технології отримання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції
2. **Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Виконавці: Хромильова О.В.
3. **Джерело інформації:** Выбор вспомогательных веществ для получения таблеток L-аргинина с тиотриазолином методом влажной грануляции. Сообщение 1. Влияние вспомогательных веществ на процесс прессования, внешний вид и однородность в массе таблеток L-аргинина с тиотриазолином, полученных методом влажной грануляции / О.В. Хромылева// «Рецепт», 2018, Т. 21, №4.- С.516-524
4. **Ким впроваджено:** кафедра фармації Івано-Франківського медичного університету
5. **Термін впровадження:** січень 2019 р. – вересень 2020 р.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає

Протокол засідання кафедри фармації
№ 1 від «28» серпня 2020 р.

Завідувач кафедри фармації
д.фарм.н., професор

А.Р.Грицик

Додаток С

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

проректор з наукової роботи
Тернопільського національного
медичного університету
ім. Д.Горбачевського МОЗ України
д.біол.н., професор І.М. Кліш



20 19 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** методика кількісного визначення L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії.
- 2. Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Виконавці: Кучеренко Л.І., Хромильова О.В., Скорина Д.Ю., Ткаченко Г.І.
- 3. Джерело інформації:** Щодо стандартизації L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії // Л.І. Кучеренко, О.В. Хромильова, Д.Ю. Скорина, Г.І. Ткаченко // Актуальні питання фармацевтичної та медичної науки та практики.- 2019. – Т.12, №1(29). - С.47-52.
- 4. Ким впроваджено:** кафедра фармації навчально-наукового інституту післядипломної освіти
- 5. Термін впровадження:** березень 2019 р. – грудень 2019 р.

Форма впровадження. методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	Розробники	Установи, що впроваджують
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації. Результати наукових досліджень впроваджені в навчальний процес кафедри.		

7. Зауваження та пропозиції: немає

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації навчально-наукового
інституту післядипломної освіти
д.біол.н., професор

Л.С. Фіра

Додаток Т

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

В.о. директора ДП "Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції", д.фар. наук, професор



М.О. Казарінов

" 06 " 20 20 р.

А К Т

**впровадження та апробації результатів наукових досліджень
Хромильової О.В. та їх впровадження у технологічний процес на базі
лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ»**

На базі лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ» в лабораторних умовах апробовано технологічну схему отримання таблеток L-аргініну з тіотриазоліном методом вологої грануляції, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Хромильової О.В. на тему: «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансміттерними амінокислотами».

Завідувач лабораторії фітохімії і
технології готових лікарських засобів
ДП «ДНЦЛЗ», д.фарм.н. професор

В.І. Літвіненко

*Продовж. дод. Т***"ЗАТВЕРДЖУЮ"**

В.о. директора ДП "Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції", д.фар. наук, професор



М.О. Казарінов

“ 06 ” 09 2020 *жовтня* 2020р.

А К Т

**впровадження та апробації результатів наукових досліджень
Хромильової О.В. та їх впровадження у технологічний процес на базі
лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ»**

На базі лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ» в лабораторних умовах апробовано технологічну схему отримання таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Хромильової О.В. на тему: «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансміттерними амінокислотами».

Завідувач лабораторії фітохімії і
технології готових лікарських засобів
ДП «ДНЦЛЗ», д.фарм.н. професор

В.І. Літвіненко

Продовж. дод. Т

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

В.о. директора ДП "Державний науковий центр лікарських засобів і медичної продукції", д.фар. наук, професор


_____ М.О. Казарінов
" 06 " _____ 20 20р.

А К Т

**впровадження та апробації результатів наукових досліджень
Хромильової О.В. та їх впровадження у технологічний процес на базі
лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ»**

На базі лабораторії фітохімії і технології готових лікарських засобів ДП «ДНЦЛЗ» в лабораторних умовах апробовано технологічну схему отримання таблеток гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном методом прямого пресування, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Хромильової О.В. на тему: «Розробка та стандартизація фіксованих комбінованих нейрометаболітоотропних церебропротекторів на основі комбінацій похідних 1,2,4-триазолу з аліфатичними трансміттерними амінокислотами».

Завідувач лабораторії фітохімії і
технології готових лікарських засобів
ДП «ДНЦЛЗ», д.фарм.н. професор


В.І. Літвіненко

Додаток У



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

№ 3/10. 02. 2020

А К Т

апробації результатів наукових досліджень

доцента кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ Хромильової О.В.

та їх впровадження у виробництво на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»

На базі лабораторії відділу досліджень та розробок ПрАТ «Лекхім-Харків» апробовано методику визначення кількісного вмісту L-аргініну та тіотриазоліну в масі для таблетування та в комбінованих таблетках L-аргініну з тіотриазоліном методом ВЕРХ, яку розроблено доцентом Хромильовою О.В.

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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

Продовж. дод. У



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

№ 6/26.02.2020

А К Т

апробації результатів наукових досліджень

доцента кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ Хромильової О.В.

та їх впровадження у виробництво на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»

На базі лабораторії відділу досліджень та розробок ПрАТ «Лекхім-Харків» апробовано методику визначення кількісного вмісту гліцину та тіотриазоліну в масі для таблетування та в комбінованих таблетках гліцину з тіотриазоліном методом ВЕРХ, яку розроблено доцентом Хромильовою О.В.

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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



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

№ 4/05.03.2020

А К Т

апробації результатів наукових досліджень

доцента кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ Хромильової О.В.
та їх впровадження у виробництво на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»

На базі лабораторії відділу досліджень та розробок ПрАТ «Лекхім-Харків» апробовано методику визначення кількісного вмісту гама-аміномасляної кислоти та тіотриазоліну в масі для таблетування та в комбінованих таблетках гама-аміномасляної кислоти з тіотриазоліном методом ВЕРХ, яку розроблено доцентом Хромильовою О.В.

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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 Ф

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи та інновацій НМУ
ім. Богомольця

Д.м.н., проф. Земсков С.В.

« 28 » _____ 20 20 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Найменування пропозиції для впровадження:** підбір оптимальних умов проведення аналізу суміші гліцину з тіотриазоліном методом високоефективної рідинної хроматографії
- Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Виконавці: Кучеренко Л.І., Хромильова О.В., Портна О.О., Ткаченко Г.І
- Джерело інформації:** Підбір оптимальних умов визначення гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії //Л.І. Кучеренко, О.В. Хромильова, О.О.Портна, Г.І Ткаченко // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т.13, №2(33). – С. 244-248

Ким впроваджено: кафедра фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії
Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця

- Термін впровадження:** травень 2020 р. – вересень 2020 р.
- Форма впровадження:** розробка впроваджена в науковий процес кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця і використовується при роботі дисертантів і аспірантів.
- Ефективність впровадження:**

Показники	За даними	
	Розробники	Установи, що впроваджують
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації. Результати наукових досліджень впроваджені в навчальний процес кафедри.		

- Пропозиції та зауваження:** немає

Протокол засідання кафедри
фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії
№ 23 від «28» 09 2020р.

Завідувач кафедри фармацевтичної,
біологічної та токсикологічної хімії
Національного медичного університету
ім. О.О. Богомольця
Д.м.н., професор



І.В Ніженковська

Проджовж. дод. Ф

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
НМАПО імені П.Л. Шупика
ІНД-кор. НАМН Українипроф. Ю. П. Вдовиченко
17 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** розробка технології отримання таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування
- 2. Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Виконавці: Л.І.Кучеренко, О.В. Хромильова Г.Р. Німенко, З.Б. Моряк
- 3. Джерело інформації:**Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. /Л.І. Кучеренко, О.В. Хромильова Г.Р. Німенко, З.Б. Моряк // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т.13, №1(32). – С. 98-104

Ким впроваджено: кафедра фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України

- 4. Термін впровадження:** березень 2020 р. – вересень 2020 р.

Форма впровадження. У навчальний процес кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л.Шупика МОЗ України

Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	Розробники	Установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації. Результати наукових досліджень впроваджені в навчальний процес кафедри.		

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика
д.фарм.н., професор Давтян Л. Л.

Додаток Х

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Проректор з наукової роботи
 ДВНЗ "Тернопільський національний медичний
 університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України»
 д.біол.н., професор І.М. Кліщ

« 10 » 10 2020 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** технологія отримання таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування
2. **Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Л.І. Кучеренко, О.В. Хромильова Г.Р. Німенко, З.Б. Моряк
3. **Джерело інформації:** Вибір допоміжних речовин для отримання сублінгвальних таблеток гліцину з тіотриазоліном методом прямого пресування. / Л.І. Кучеренко, О.В. Хромильова Г.Р. Німенко, З.Б. Моряк // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т.13, №1(32). – С. 98-104
Ким впроваджено: кафедра управління та економіки фармації з технологією ліків ДВНЗ "Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України»
4. **Термін впровадження:** березень 2020 р. – вересень 2020 р.
Форма впровадження. У навчальний процес кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків ДВНЗ "Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України»
5. **Ефективність впровадження:**

Показники	За даними	
	Розробники	Установи, що впроваджують
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації. Результати наукових досліджень впроваджені в навчальний процес кафедри.		

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків
 ДВНЗ "Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України»
 д.фарм.н., професор

Т.А.Грошовий

Додаток Ц

ЗАТВЕРДЖУЮ

В.о. проректора з науково-педагогічної роботи Одеського національного медичного університету
д. мед. н., проф. О.А. Шандра



12 _____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Підбір оптимальних умов визначення гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л.І., Хромильова О.В., Портна О.О., Ткаченко Г.І.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Підбір оптимальних умов визначення гліцину з тіотриазоліном в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії/ Л.І. Кучеренко, О.В. Хромильова, Портна О.О., Ткаченко Г.І. // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2020. – Т.13, №2(33). – С. 244-248
4. **Впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету.
5. **Термін впровадження:** 06.2020 – 12.2020.
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 Ш

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи
Національного фармацевтичного
університету
д. фарм. н., професор
Владимирова І.М.



_____ 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** методика кількісного визначення гама-аміномасляної кислоти та тіотриазоліну в модельній суміші методом ВЕРХ.
2. **Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Виконавці: Кучеренко Л.І., Хромильова О.В., Скорина Д.Ю., Ткаченко Г.І.
3. **Джерело інформації:** Щодо стандартизації L-аргініну та тіотриазоліну в модельній суміші методом високоефективної рідинної хроматографії /Л.І.Кучеренко, О.В. Хромильова, Г.Р. Німенко // Österreichisches Multiscience Journal (Innsbruck, Austria). – 2020. – Vol. 1, no. 33. – P.16-19.
4. **Ким впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії Національного фармацевтичного університету
5. **Термін впровадження:** жовтень 2020 р. – грудень 2020 р.
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 № 3 от 15.09.2020)

Відповідальний за впровадження
Завідувач кафедри фармацевтичної хімії
д.фарм.н., професор

В.А. Георгіянц

Додаток Ш

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та
лікувальної роботи
ДЗ "ДМА МОЗ України"
д.м.н., професор Гудар'ян О. О.


« 18 / 01 2018 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** вивчення фармакологічних властивостей нового комбінованого лікарського засобу на основі L-аргініну з тіотриазоліном.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Кучеренко Л.І., Беленичев И. Ф., Мазур И. А., Хромильова О.В.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Кучеренко Л. И. Исследование кардио- и эндотелиопротекторного действия нового комбинированного лекарственного препарата на основе L-аргинина и тиотриазолина / Кучеренко Л.И., Беленичев И. Ф., Мазур И. А., Хромильова О.В. Фармакологія та лікарська токсикологія.- 2017. №1 (52). - С.54-60.
4. **Ким впроваджено:** кафедра фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровської медичної академії 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
та клінічної фармакології
ДЗ «ДМА МОЗ України»
д. мед. н., професор



В. І. Опришко

Додаток Ю



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

№ 1 / од. 10 од. 10

Ректору
Запорізького державного
медичного університету
професору Колеснику Ю.М.

Шановний Юрію Михайловичу!

Наступним інформуємо Вас, щодо комбінованого препарату на основі L-аргініну та тіотриазоліну у вигляді таблеток для лікування захворювань серцево-судинної системи, таблетки №30, що був розроблений за участю доцента Хромильової О. В.

Розроблений препарат буде включено до перспективного плану розвитку підприємства на 2022-2025.

З повагою,

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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

Продовж. дод. Ю

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

№ 7/15.10.2020

Ректору
Запорізького державного
медичного університету
професору Колеснику Ю.М.

Шановний Юрію Михайловичу!

Наступним інформуємо Вас, щодо комбінованого препарату на основі гліцину та тіотриазоліну у вигляді таблеток для лікування порушень мозкового кровообігу, таблетки №30, що був розроблений за участю доцента Хромильової О. В.

Розроблений препарат буде включено до перспективного плану розвитку підприємства на 2023-2026.

З повагою,

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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 Я



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.lekchim.ua

№ 3/09. 2020

Ректору
Запорізького державного
медичного університету
професору Колеснику Ю.М.

Шановний Юрію Михайловичу!

Наступним інформуємо Вас, що за участю доцента Хромильової О. В., розроблена специфікація на комбінований препарат «Аргітрил» у вигляді таблеток для лікування захворювань нервової та серцево-судинної системи, включена до МКЯ, яка входить до Модулю «Якість», при складанні досьє для подання в Державний Експертний Центр МОЗ України з метою отримання дозволу на клінічні випробування.

З повагою,

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»



Юрій Д. Колесніков
Ю.М. Колесніков

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.lekchim.ua

Продовж. дод. Я**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

№ 8/18.10.2020

Ректору
Запорізького державного
медичного університету
професору Колеснику Ю.М.

Шановний Юрію Михайловичу!

Наступним інформуємо Вас, що за участю доцента Хромильової О. В., розроблена специфікація на комбінований препарат «Гліцитрил» у вигляді таблеток для лікування порушень мозкового кровообігу, включена до МКЯ, яка входить до Модулю «Якість», при складанні досьє для подання в Державний Експертний Центр МОЗ України з метою отримання дозволу на клінічні випробування.

З повагою,

Голова правління ПрАТ «Лекхім-Харків»

Д.Д. Колесніков



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