

Міністерство охорони здоров`я України  
Запорізький державний медичний університет  
Міністерство охорони здоров`я України  
Запорізький державний медичний університет

Кваліфікаційна наукова  
Праця на правах рукопису

АКОПЯН РІМА РОМАНОСІВНА

УДК 615.453.6.015.4.07

## ДИСЕРТАЦІЯ

РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ТА МЕТОДІВ АНАЛІЗУ НОВИХ  
ОФТАЛЬМОЛОГІЧНИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ НА ОСНОВІ  
1,2,4 –ТРИАЗОЛУ

226 «Фармація, промислова фармація»  
(15.00.02-фармацевтична хімія та фармакогнозія)

22 – Охорона здоров`я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

\_\_\_\_\_ Р. Р. Акопян

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

Запоріжжя - 2021

## АНОТАЦІЯ

*Акопян Р.Р.* Розробка технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі 1,2,4-триазолу. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 «Фармація, промислова фармація». – Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

Запорізький державний медичний університет, МОЗ України, Запоріжжя, 2021.

Робота виконана на базі кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету протягом 2018-2021 років.

Дисертаційна робота присвячена розробці технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі 1,2,4-триазолу.

Проведений ретельний аналіз даних наукової літератури щодо проблеми поширення опіків очей та катаракти серед населення України, перспектив створення нових офтальмологічних лікарських засобів. Здійснено аналіз стану сучасного фармацевтичного ринку. Обґрунтовано актуальність та перспективи створення нового офтальмологічного лікарського засобу на основі похідного 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату з протизапальною, ранозагоювальною та репаративною активністю.

В ході виконання дослідження проведені дослідження з вибору допоміжних речовин з метою створення очних крапель «Ангіолін». Після опрацювання літературних джерел встановлено, що для виробництва очних крапель використовують різноманітні допоміжні речовини з різними фізичними та технологічними властивостями. Для створення очних крапель «Ангіолін» використовували наступні допоміжні речовини: натрію хорид, метилцелюлоза та вода очищена. Надалі проведена експериментальна частина визначення осмоляльності розчину очних крапель «Ангіолін», підібрана оптимальна концентрація допоміжних речовин, для виготовлення очних крапель «Ангіолін». На

підставі проведених досліджень для коригування осмолярності був обраний натрію хлорид в концентрації 0,7%, який створює осмолярність препарату рівну 234,3 мосмоль/кг. Розраховане з нього значення осмолярності очних крапель становить 302,18 мосмоль/л, що підтверджує правильність обраної концентрації натрію хлориду в складі очних крапель. В результаті роботи розроблено склад очних крапель «Ангіолін»: ангіоліну 1,0 г, натрію хлорид 0,7 г, метилцелюлози 0,5 г, води очищеної 100,00 мл.

В подальшому проведено мікробіологічне дослідження очних крапель «Ангіолін». Дослідження мікробної чистоти очних крапель «Ангіолін» проводили згідно вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ другого видання) двома методами – глибинним та поверхневим. За результатами дослідження встановлено, що зростання колоній мікроорганізмів не виявлено.

На даний час при аналізі лікарських форм все частіше використовуються фізико-хімічні методи аналізу. В подальшому розроблено методику стандартизації очних крапель «Ангіолін» методом спектрофотометрії. Для проведення кількісного визначення спектрофотометричним методом використовували сертифіковану субстанцію ангіоліну (виробник: Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 2451117). За основу був взятий модифікований спектрофотометричний метод аналізу субстанції ангіоліну.

В лабораторних умовах було виготовлено шість серій 1% очних крапель «Ангіолін», до складу якого входили такі допоміжні речовини, як: натрію хлорид, метилцелюлоза та вода очищена. Для проведення дослідження розроблена методика, згідно якої готували випробуваний розчин, розчин робочого стандартного зразку, розчин метилцелюлози.

Для підтвердження достовірності методики спектроскопічного дослідження було здійснено аналіз 6-ти серій очних крапель «Ангіолін» ((S)-2,6-діаміногексанова кислота 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат). Для кожного розчину було знято спектри поглинання в діапазоні 200-300 нм.

Поперемінно було знято спектри поглинання випробуваного розчину і

розчину робочого стандартного зразку. Дослідження проводили з використанням спектрофотометра Optizen POP, вимірювання проводили при довжині хвилі в діапазоні 200-300 нм, товщина кювети 10мм. За результатами дослідження встановлено, що за вмістом діючої речовини, досліджувана серія очних крапель, відповідає вимогам ДФУ. В подальшому були проаналізовані інші п'ять серій очних крапель «Ангіолін», які також відповідали фармакопейним вимогам за вмістом діючої речовини (0,00980 – 0,01015 г /мл).

Оскільки до складу очних крапель «Ангіолін» входить допоміжна речовина натрію хлорид було запропоновано та проведено кількісне визначення методом аргентометрії, а саме методом Фольгарда (метод зворотного титрування). За результатами, які були отримані при кількісному визначенні натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін» методом аргентометрії знаходиться в межах 0,7012-0,7188г/мл. Таким чином, за вмістом діючої речовини, досліджувана серія очних крапель, відповідає вимогам ДФУ. В подальшому були проаналізовані інші п'ять серій очних крапель «Ангіолін», які також відповідали фармакопейним вимогам за вмістом натрію хлориду.

На сьогоднішній день для стандартизації найчастіше використовується метод ВЕРХ, який дозволяє одночасно ідентифікувати і кількісно визначити діючу речовину в лікарській формі. Виходячи з вищевикладеного, а також з фізико-хімічних властивостей діючої речовини, для виконання поставленої мети нами обрано метод ВЕРХ. По-перше, свою увагу ми звернули на вже існуючу методику кількісного визначення тіотриазоліну методом ВЕРХ.

На кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ були виготовлені шість серій очних крапель «Ангіолін», використовували субстанцію ангіоліна та робочий стандартний зразок, як допоміжні речовини використовували метилцелюлозу, натрію хлорид, воду очищену. Для проведення дослідження були підібрані наступні умови: рідинний хроматограф з УФ детектором; колонка «Hypersil ODS C-18250 X 4,6 з розміром часток 5 мкм.

Для збільшення числа теоретичних тарілок використовували різноманітні рухомі фази, а саме: ацетонітрил-буферний розчин 10:90. В ході роботи також був

отриманий негативний результат, крім того, при використанні рухомої фази, де замість калію дигідрофосфату добавили – літію дигідрофосфат, було встановлено, що кількість теоретичних тарілок при цьому становила менше 2500.

В подальшому було розроблена наступну методику кількісного визначення діючої речовини ангіолін ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в очних крапель «Ангіолін» методом ВЕРХ. Для дослідження готували наступні розчини: випробовуваний розчин, розчин порівняння (а), розчин порівняння (b). Хроматографування проводили на рідинному хроматографі з УФ детектором в умовах: колонка «Hypersil ODS C-18 250 X 4,6, рухома фаза: суміш ацетонітрил Р- фосфатний буферний розчин рН 3,0 (5:95), дегазована за будь-яким зручним методом. Хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння (b), одержуючи не менше 3-х хроматограм для кожного. Встановили, що вміст ангіоліну в 1% очних краплях в серії №1 знаходиться в межах від 0,9850 до 1,01 г, тобто за вмістом діючої речовини досліджувана серія відповідає вимогам ДФУ.

Надалі проаналізували інші 5 серій очних крапель «Ангіолін», котрі також відповідали фармакопейним вимогам за вмістом діючої речовини, а кількість діючої речовини знаходиться в межах від 0,988 до 1,06. Розроблено методику кількісного визначення 1% очних крапель «Ангіолін» методом ВЕРХ, яка є відтворюваною, точною та надалі може бути застосована під час контролю якості створеної очної лікарської форми. Далі проведена валідація розроблених методик очних крапель «Ангіолін». Валідація є гарантією достовірності та точності будь-яких методик. Її присутність гарантує аналітичним методикам гідне місце в системі забезпечення якості, а також відповідність своєму призначенню. ДФУ регламентує проведення валідації методик за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, прецизійність, правильність, робасність та прецизійність. Тому саме за цими валідаційними характеристиками ми і аналізували методики стандартизації, а саме: методом спектрофотометрії, методом Фольгарда та високоефективної рідинної хроматографії очних крапель «Ангіолін». Після проведення валідації розроблених методик визначення

кількісного вмісту діючої та допоміжної речовини в очних краплях «Ангіолін» всі показники відповідали вимогам ДФУ.

В ході роботи розроблена специфікація на очні краплі «Ангіолін», а також методика якісного та кількісного визначення діючої та допоміжної речовин в очних краплях методом ВЕРХ. В специфікацію внесені наступні показники: опис, ідентифікація, прозорість, кольоровість, питоме обертання, механічні включення, рН, супровідні домішки, об'єм що витягається, стерильність, кількісне визначення. Розроблено проєкт МКЯ на очні краплі «Ангіолін». Розроблено методику кількісного визначення діючої речовини в очних краплях методом ВЕРХ, яку апробовано та впроваджено у систему якості АТ «Лекхім-Харків».

Також було проведено дослідження стабільності очних крапель «Ангіолін» для визначення терміну придатності та умов зберігання. Для встановлення терміну придатності спостерігали за випробуваними зразками очних крапель «Ангіолін» 16 місяців в сухому захищеному від світла місці при температурі не вище 25 °С. Оцінку якості очних крапель, що зберігалися у вищевказаних умовах, проводили згідно настанови 42-3.3:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності», де вказані рекомендації стосовно вивчення стабільності препаратів. Отримані результати довели стабільність очних крапель і було визначено термін придатності 1 рік в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°С.

Дослідження фармакологічної активності очних крапель «Ангіолін», проводили на базі НМЛЦ (керівник, професор Абрамов А. В.), а також на кафедрі фармакології та медичної рецептури ЗДМУ (завідувач кафедри, професор Беленічев І. Ф.). На підставі комплексу біологічних досліджень визначено фармакологічні характеристики очних крапель. Досліджена експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну при моделюванні катаракти. Вивченню ефективність 1% очних крапель Ангіолін в умовах моделювання катаракти.

Досліджено фармакологічну активність очних крапель «Ангіолін» при хімічному моделюванні опіків очей. Встановлено, що очні краплі Ангіолін в

концентраціях: 1%, 1,5%, 2%, 2,5% виявляють практично однакову фармакологічну активність, а найбільш ефективними виявилися 1% очні краплі Ангіолін, що дає нам можливість подальшого їх вивчення. За результатами дослідження встановлено, що очні краплі Ангіолін проявляють високу протизапальну, ранозагоювальну, репаративну активність при лікуванні катаракти та опіків очей.

*Ключові слова:* ангіолін, очні краплі, допоміжні речовини, технологія, стандартизація, супровідні домішки, осмолальність, репаративна, протизапальна, ранозагоювальна активність.

#### ANNOTATION

*Akopyan R.R.* Development of technology and methods of analysis of new ophthalmic drugs based on 1,2,4-triazole. - Qualifying scientific work as manuscript.

The thesis paper on a scientific degree of the doctor of philosophy on a specialty 226 «Pharmacy, industrial pharmacy». – Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

Zaporizhzhia State Medical University, Ministry of Health of Ukraine, Zaporizhzhia, 2021.

The work was carried out on the basis of the Department of Pharmaceutical Chemistry of Zaporizhzhia State Medical University during 2018-2021.

The thesis paper is devoted to the development of technology and methods of analysis of new ophthalmic drugs based on 1,2,4-triazole.

A careful analysis of the data of the scientific literature on the problem of the spread of eye burns and cataracts among the population of Ukraine, the prospects for the creation of new ophthalmic drugs was carried out along with the analysis of the state of the modern pharmaceutical market. The relevance and prospects of creating a new ophthalmic drug based on a derivative of 1,2,4-triazole, namely: (S) -2,6-diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate with anti-inflammatory, wound healing and reparative activity are substantiated.

In the course of the study, the selection of excipients in order to create eye Angiolin

drops was performed. After studying the literature, we found that for the production of eye drops it is necessary to use a variety of excipients with different physical and technological properties. The following excipients were used to create Angiolin eye drops: sodium chloride, methylcellulose and purified water. Subsequently, we carried out the experimental part of determining the osmolality of the solution of Angiolin eye drops, selected the optimal concentration of excipients for these drops. On the basis of the conducted studies, for adjustment of osmolarity we chose sodium chloride in concentration of 0,7% which creates osmolality of drug equal 234,3 osmol/kg. The value of osmolarity of eye drops calculated from it makes 302,18 osmol/l that confirms correctness of the chosen concentration of sodium chloride as a part of eye drops. As a result, the composition of Angiolin eye drops was developed: angiolin 1.0 g, sodium chloride 0.7 g, methylcellulose 0.5 g, purified water 100.00 ml.

Subsequently, a microbiological study of Angiolin eye drops was carried out. Studies of the microbial purity of Angiolin eye drops were performed according to the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SPU, second edition) by two methods – deep and superficial. According to the results of the study, it was found that the growth of colonies of microorganisms was not detected.

At present, physicochemical methods of analysis are increasingly used in the analysis of dosage forms. In the future, a method of standardization of Angiolin eye drops by spectrophotometry was developed. A certified angioline substance (manufacturer: State Enterprise «Chemical Reagents Plant» of the Scientific and Technological Complex «Institute of Single Crystals» of the National Academy of Sciences of Ukraine, series 2451117) was used to quantify by spectrophotometric method. A modified spectrophotometric method of angioline substance analysis was taken as a basis.

Six batches of 1% Angiolin eye drops were made in the laboratory, which included such excipients as sodium chloride, methylcellulose and purified water. To conduct the study, a method was developed, according to which the test solution, a solution of the work standard, a solution of methylcellulose were prepared.

To confirm the reliability of the method of spectroscopic examination, an analysis of 6 series of Angiolin eye drops (S) -2,6-diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-



5-thioacetate was carried out. For each solution, absorption spectra in the range of 200-300 nm were taken.

The absorption spectra of the test solution and the solution of the work standard were taken alternately. The study was carried out using an Optizen POP spectrophotometer, the measurements were carried out at a wavelength in the range of 200-300 nm, a cell thickness of 10 mm. According to the results of the study, it was found that the content of the active substance, the studied series of eye drops, meets the requirements of SPU. Subsequently, five other series of Angiolin eye drops were analyzed, which also met the pharmacopoeial requirements for the active substance content (0.00980 - 0.01015 g/ml).

Since Angiolin eye drops contain the excipient sodium chloride, a quantitative determination was proposed and carried out by the method of argentometry, namely by the Folgard method (inverse titration method). According to the results obtained by quantitative determination during argentometry the content of sodium chloride in Angiolin eye drops varies in the range of 0.7012-0.7188 g/ml. Thus, the studied series of eye drops meets the requirements of the SFU. Then, five other series of Angiolin eye drops were analyzed, which also met the pharmacopoeial requirements for sodium chloride.

To date, the HPLC method is most often used for standardization, which allows simultaneously identifying and quantifying the active substance in the dosage form. Based on the above, as well as the physicochemical properties of the active substance, to achieve this goal we have chosen the HPLC method. First of all, we turned our attention to the already existing method of quantitative determination of thiotriazoline by HPLC.

The Department of Pharmaceutical Chemistry of ZSMU produced six series of Angiolin eye drops, using the angioline substance and work standard; methylcellulose, sodium chloride and purified water were used as excipients. The following conditions were selected for the study: liquid chromatograph with UV detector; column: Hypersil ODS C-18 250 X 4.6 with a particle size of 5  $\mu\text{m}$ .

To increase the number of theoretical plates we used a variety of mobile phases, namely: acetonitrile buffer solution 10:90. In the process, a negative result was also

obtained. In addition, when lithium dihydrogen phosphate was added instead of potassium dihydrogen phosphate in the mobile phase, it was found that the number of theoretical plates was less than 2500.

Subsequently, the following method was developed for the quantitative determination of the active substance angioline ((S) -2,6-diaminohexanoic acid 3-methyl-1,2,4-triazolyl-5-thioacetate) in Angiolin eye drops by HPLC. The following solutions were prepared for the study: test solution, comparison solution (a), comparison solution (b). Chromatography was carried out on a liquid chromatograph with a UV detector under the following conditions: column Hypersil ODS C-18 250 X 4.6, mobile phase: a mixture of acetonitrile P-phosphate buffer solution pH 3.0 (5:95), degassed at any convenient method. Chromatograph the test solution and reference solution (b) to obtain at least 3 chromatograms for each. It was found that the content of angioline in 1% eye drops in the series N1 is in the range from 0.9850 to 1.01 g, i.e. the content of the active substance in the test series meets the requirements of SPU.

Further we analyzed other 5 series of Angiolin eye drops, which also met the pharmacopoeial requirements for the content of the active substance, and the amount of active substance is in the range from 0.988 to 1.06. A method for quantitative determination of 1% of Angiolin eye drops by HPLC has been developed, which is reproducible, accurate and can be further used in quality control of the created eye dosage form. Next, the validation of the developed methods of Angiolin eye drops was performed. Validation is a guarantee of reliability and accuracy of any methods. Its presence guarantees analytical methods a worthy place in the quality assurance system, as well as compliance with its purpose. SPU regulates the validation of methods on the following indicators: specificity, linearity, range of application, accuracy, robustness and precision. Therefore, according to these validation characteristics, we analyzed the methods of standardization, namely: spectrophotometry, Folgard's method and high-performance liquid chromatography of Angiolin eye drops. After validation of the developed methods for determining the quantitative content of the active ingredient and excipient in these eye drops, all indicators met the requirements of the SPU.

In the process, the specification for Angiolin eye drops was developed, as well as

the method of qualitative and quantitative determination of active and auxiliary substances in eye drops by HPLC. The specification includes the following indicators: description, identification, transparency, chromaticity, specific rotation, mechanical inclusions, pH, accompanying impurities, extracted volume, sterility, quantitative determination. The ICJ project for Angiolin eye drops has been developed. A method for quantitative determination of the active substance in eye drops by HPLC has been developed, which has been tested and implemented in the quality system of JSC "Lekhim-Kharkiv".

A study of the stability of Angiolin eye drops was also carried out to determine the shelf life and storage conditions. To establish the shelf life, the tested samples of Angiolin eye drops were observed for 16 months in a dry place protected from light at a temperature not exceeding 25°C. Evaluation of the quality of eye drops stored in the above conditions was carried out according to the instructions 42-3.3: 2004 "Guidelines for quality. Medicines. Stability testing", which provides recommendations for studying the stability of drugs. The results proved the stability of eye drops and determined the shelf life of 1 year in a dry, dark place at a temperature not exceeding 25°C

Studies of pharmacological activity of Angiolin eye drops were conducted on the basis of the Scientific Medical and Laboratory Center (head, Professor Abramov A.V.), as well as at the Department of Pharmacology and Medical Prescription of the ZSMU (Head of the Department, Professor Belenichev I.F.). On the basis of a complex of biological studies, the pharmacological characteristics of eye drops are defined. An experimental evaluation of the specific activity of a new dosage form of angioline in cataract modeling has been studied. The effectiveness of 1% Angiolin eye drops in cataract modeling was studied.

The pharmacological activity of Angiolin eye drops in chemical modeling of eye burns was studied. It was found that Angiolin eye drops in concentrations: 1%, 1.5%, 2%, 2.5% show almost the same pharmacological activity, and the most effective were 1% Angiolin eye drops, which gives us the opportunity to further study them. According to the results of the study, it was found that Angiolin eye drops show high anti-inflammatory, wound-healing, reparative activity in the treatment of cataracts and eye burns.

*Key words:* angioline, eye drops, excipients, technology, standardization, accompanying impurities, osmolality, reparative, anti-inflammatory, wound-healing activity.

*Список публікацій здобувача*

1. Experimental evaluation of the specific activity of the new Angiolin dosage form in the research corneal burn's condition / I. F. Bielenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, R.R.Akopian, O.V.Khromylova, I.V.Pavliuk. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 6. С. 815-819. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

2. Experimental Assessment of the Specific Activity of a New Dosage Form of Angiolin in Cataract Modeling / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur et al. *Biological Markers and Guided Therapy*. 2019. Vol. 6, No. 1. P. 113-120. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2019.91013>. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

3. Розробка методики стандартизації очних крапель Ангіолін / І. А. Мазур, Р. Р. Акопян, Л. Г. Черковська, І. В. Павлюк, Д. Ю. Скорина. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 3. С. 383-387. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

4. Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін» / Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Акопян Р.Р., Портна О.О., Ткаченко Г.І. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Том 14, №1(35). С. 52-55. *Pharmaceutical Chemistry*. 2018. Vol. 16, Iss. 4 (64). P. 11-17. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

5. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*: зб. тез доповідей наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів. Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. С. 135. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

6. Акопян Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування травми, опіків очей та катаракти. *Матеріали XXIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*, м. Тернопіль (15-17 квітня 2019 р.). Тернопіль: Укрмедкнига, 2019. С. 208. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

7. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації*: тези доповідей Всеукр. наук.-практич. конф. 18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р. (до 50-річчя заснування ЗДМУ). Запоріжжя: ЗДМУ, 2018. С. 159. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

8. Акопян Р. Р. Актуальність питання створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. *BIMCO Journal*: зб. матеріалів Буковин. міжнар. мед.-фармац. конгр. студентів і молодих учених. 2018. С. 415. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

9. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти: *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*: зб. тез доп. всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів (13-17 травня 2019 року м. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. С. 135. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

10. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Акопян Р. Р. Доклінічні дослідження специфічної активності 1% очних крапель Ангіолін в умовах експериментальної катаракти. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських*

*препаратів різної направленості дії: матеріали IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (14-15 листоп. 2019 р. м. Харків.). Харків, 2019. С. 113-114. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).*

11. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Фармакоеконімічний аналіз лікарських засобів для лікування катаракти. *Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали V міжнар. наук.-практ. конф., (12-13 бер. 2020 р., Харків).* Харків: НФаУ, 2020. Т. 2. С. 353. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

12. Беленічев І. Ф., Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Щодо дослідження фармакологічної активності нової лікарської форми Ангіолін в умовах моделюванні катаракти. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (25 бер. 2020 р., м. Харків).* Харків: НФаУ, 2020. С. 61-63. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

13. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії нової лікарської форми Ангіолін в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів. *Перший крок в науку -2020: матеріали XVII наук. -практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю (8-10 квіт. 2020 р. м. Вінниця).* Вінниця, 2020. С. 505-506. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

14. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Перспективність создания нового офтальмологічного средства для лечения ожогов глаз и катаракты. *Modern science: Problems and innovations: abstracts of 6th International scientific and practical conference (August 23-25, 2020).* Stockholm, SSPG Publish, 2020. P. 119-121. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

15. Акопян Р. Р. Щодо необхідності створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук: зб. матеріалів наук. -*

практ. конф. (9 груд. 2017 р. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. С. 18-20. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

16. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії та експериментальна оцінка специфічної активності очних крапель «Ангіолін» в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів: *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки -2020* : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ за підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 груд. 2020 р. м. Запоріжжя. Запоріжжя, ЗДМУ, 2020. С. 51. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

17. Акопян Р. Р. Підбір концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін». *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів*: матеріали V міжнародної наук-практ конференції. 11-12 бер 2021 р, м. Харків. С. 484-485. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

18. Кучеренко Л.І., Акопян Р.Р., Хромильова О.В. Щодо підбору оптимальних умов визначення очних крапель «Ангіолін» методом високоефективної рідинної хроматографії. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «*Results of modern scientific research and development*» 28-30 червня 2021 року Мадрид, Іспанія. с. 96-98. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

19. Щодо стандартизації очних крапель «Ангіолін». Кучеренко Л.І., Акопян Р.Р. *Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів*: матеріали V Міжнародної наук-практ конференції. 11-12 березня 2021 року м. Харків.С. 482-483. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ .....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	18
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1 АНАЛІЗ МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОПІКІВ ОЧЕЙ ТА КАТАРАКТИ . СТАН СУЧАСНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) .....	26
1.1 Проблеми поширення опіків очей та катаракти серед населення України	26
1.1.1 Проблеми поширення катаракти серед населення України.....	27
1.1.2 Класифікація катаракти. Причини та її симптоми.....	28
1.1.3 Актуальність поширення опіків очей серед населення України.....	30
1.1.4 Клінічні прояви опіків очей.....	31
1.2 Маркетингові дослідження (аналіз) ринку лікарських препаратів для лікування опіків очей та катаракти.....	32
1.3 Загальна характеристика лікарських препаратів для лікування опіків очей та катаракти.....	37
Висновки до розділу 1.....	40
РОЗДІЛ 2.42 ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ .42	
2.1 Характеристика діючих та допоміжних речовин як об'єктів дослідження.....	42
2.1.1 Характеристика допоміжних речовин.....	44
2.1.2 Характеристика методів дослідження.....	45
2.2 Отримання субстанції ангіоліну в лабораторних умовах.....	46
2.2.1 Вивчення існуючих методик стандартизації субстанції ангіоліну.....	49
РОЗДІЛ 3.52 РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОЧНИХ КРАПЕЛЬ «АНГІОЛІН».....	52
3.1 Розробка технології очних крапель «Ангіолін».....	52
3.2 Опис стадій технологічного процесу.....	57
3.3 Мікробіологічне дослідження очних крапель «Ангіолін».....	60
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 3 .....	62
РОЗДІЛ 4.63 РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ОЧНИХ КРАПЕЛЬ «АНГІОЛІН».....	63



4.1 Розробка методики стандартизації очних крапель «Ангіолін» методом спектрофотометрії.....	63
4.1.1 Валідація методики кількісного визначення субстанції ангіолін в 1% очних краплях методом УФ- спектрофотометрії.....	68
4.2 Визначення натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін».....	82
4.2.1 Валідація аргентометричної методики кількісного визначення субстанції натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін».....	84
4.2.3 Валідація розроблених методик кількісного визначення субстанції ангіоліну в очних краплях методом високоефективної рідинної хроматографії....	96
4.3 Методика визначення супутніх домішок в очних краплях «Ангіолін» .....	112
4.4 Розробка проєкту методів контролю якості на очні краплі«Ангіолін»	114
4.5 Встановлення умов зберігання і терміну придатності очних крапель «Ангіолін».....	120
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 4 .....	122
РОЗДІЛ 5124 ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОЧНИХ КРАПЕЛЬ «АНГІОЛІН».....	124
5.1 Експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну в моделюванні катаракти.....	124
5.2 Експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну при хімічному моделюванні опіків очей кроликів.....	129
ВИСНОВКИ ДО РОЗДІЛУ 5 .....	133
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ .....	136
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	138
ДОДАТКИ.....	160

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

АФГ	–	альдегідфенілгідрозон;
АФІ	–	активний фармацевтичний інгредієнт;
ВЕРХ	–	Високоефективна рідинна хроматографія;
ВООЗ	–	Всесвітня організація охорони здоров'я;
ВКЯ	–	відділ контролю якості
ГПР	–	глутатіонпероксидаза;
ГР	–	глутатіонредуктаза;
ДР	–	допоміжні речовини;
ДФУ	–	Державна фармакопея України;
ДФЦ	–	Державний фармакопейний центр;
КФГ	–	карбоксіфенілгідрозон;
ЛР	–	лікарська речовина;
ЛФ	–	лікарська форма;
МКЯ	–	методи контролю якості;
МС	–	метод стандарту;
МСК	–	медико-соціальна експертиза;
МЦ	–	метилцелюлоза;
НТД	–	нормативно – технічна документація;
ОМБ	–	окисна модифікація білка;
СЗ	–	стандартний зразок;
СОД	–	супероксидисмутаза;
СФ	–	спектрофотометрія;
УФ	–	ультрафіолетовий спектр;
ФСЗ	–	фармакопейний стандартний зразок;

## **ВСТУП**

### **Обґрунтування вибору теми дослідження**

Офтальмологічні захворювання – серйозна проблема, з якою стикається кожен третій житель Землі. На сьогоднішній день катаракта та опік очей залишаються найпоширенішими офтальмологічними захворюваннями та основними причинами зворотної сліпоти.

Для лікування опіків очей та катаракти використовують похідні 1,2,4-триазолу. Також в комплексну терапію опікової травми та катаракти включаються препарати, що коригують асептичне запалення, що прискорюють відновлення поверхні ока і знижують внутрішньоочний тиск. Проаналізувавши асортимент фармацевтичного ринку, було встановлено, що вибір лікарських засобів для лікування даних захворювань є обмеженим, і переважно складається з виробників іноземного походження.

Не зважаючи на наукові досягнення останніх років надзвичайно важливою задачею є створення нових офтальмологічних лікарських засобів, а саме: очних крапель, які продовжують залишатися найпоширенішою і широко застосовуваною на практиці лікарською формою завдяки традиційності виробництва, зручності застосування. Тому перспективним є створення нових офтальмологічних лікарських засобів вітчизняного виробництва на основі оригінальної субстанції, а саме, очних крапель із ранозагоювальною, репаративною, протизапальною, та місцево-анестезуючою діями, з метою покращення лікувального ефекту та економічності лікування.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами**

Дисертаційну роботу виконано в рамках науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету «Розробка технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі 1,2,4-триазолу». Дисертантом особисто розроблено технологію та методи аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі 1,2,4-триазолу.

### **Мета і завдання дослідження**

Основною метою дисертаційної роботи є розробка технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі похідних 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату).

Для реалізації вищезазначеної мети поставлено наступні завдання:

1. провести маркетингові дослідження та аналіз фармацевтичного ринку України на асортимент офтальмологічних лікарських засобів. Обґрунтувати перспективи застосування препаратів, розроблених на основі похідних 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату);

2. провести комплекс досліджень для обґрунтування оптимального складу діючих та допоміжних речовин в очних краплях, розробити технологію та скласти схему технологічного процесу виробництва очних крапель на основі похідного 1,2,4-триазолу. Розроблену технологічну схему апробувати в промислових умовах;

3. розробити оптимальні методи аналізу для нового офтальмологічного лікарського засобу:

- розробити та апробувати методику кількісного визначення діючої речовини в очних краплях методом спектрофотометрії;

- розробити методику кількісного визначення допоміжної речовини в очних краплях методом аргентометрії;

- розробити та апробувати методику кількісного визначення діючої речовини в очних краплях методом ВЕРХ.

4. провести валідацію розроблених методик кількісного вмісту діючої речовини в лікарському засобі, розробити специфікацію та проєкт методик контролю якості на отримані очні краплі;

5. вивчити стабільність очних крапель в процесі зберігання та визначити термін і умови їх зберігання;

6. здійснити комплексні доклінічні дослідження отриманих очних крапель на тваринах – дослідити протизапальну, репаративну, ранозагоювальну дію очних крапель «Ангіолін» при моделюванні катаракти та хімічного опіку очей.

*Об'єкт дослідження:* фармацевтична розробка науково обґрунтованого складу і технології очних крапель та методів їх аналізу.

*Предмет дослідження:* розробка технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі похідних 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату); вивчення фармако-технологічних та фізико-хімічних властивостей розроблених очних крапель; розробка проєкту МКЯ на отримані очні краплі; визначення валідаційних параметрів для розроблених очних крапель.

### **Методи дослідження**

В ході виконання дисертаційної роботи для розробки технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі похідних 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) використовували ряд сучасних методів аналізу: органолептичні (зовнішній вигляд, колір), фізико-хімічні фармакопейні методи. Якісний та кількісний склад досліджували за допомогою фізико-хімічних методів (метод спектрофотометрії, метод Фольгарда та ВЕРХ); дослідження біологічної та фармакологічної активності проводили на 20 кроликах-самцях (40 очей) породи Шиншила середньою вагою 2-3 кг і віком 8-10 місяців, мікробіологічне дослідження проводили глибинним та поверхневим методом. Обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою методів математичної статистики та валідації.

### **Наукова новизна отриманих результатів**

Розроблено новий офтальмологічний лікарський засіб у вигляді очних крапель на основі похідних 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату).

Для очних крапель «Ангіолін» розроблені оптимальні методи аналізу і проєкт методик контролю якості (МКЯ) та визначено специфічність дії і доведено безпеку

отриманих очних крапель.

### **Практичне значення отриманих результатів**

Проведено комплекс досліджень для обґрунтування оптимального складу діючих та допоміжних речовин в очних краплях. Розроблено технологію та складено схему технологічного процесу виробництва очних крапель на основі похідного 1,2,4-триазолу. Розроблено оптимальні методи аналізу для нового офтальмологічного лікарського засобу, проведено валідацію розроблених методик кількісного вмісту діючої речовини в лікарському засобі, розроблено специфікацію та проєкт методик контролю якості на отримані очні краплі. Здійснено комплексні доклінічні дослідження отриманих очних крапель на тваринах – досліджено протизапальну, репаративну, ранозагоювальну дію очних крапель «Ангіолін» при моделюванні катаракти та хімічного опіку очей.

Технологічну схему отримання очних крапель «Ангіолін» було апробовано в лабораторних умовах на заводі АТ «Лекхім» (від 20.05.2021р).

Розроблену методику стандартизації ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в очних краплях «Ангіолін» методом спектрофотометрії було апробовано в лабораторних умовах на заводі ДП «Завод хімічних реактивів» (від 13.05.2021р).

Розроблену та апробовану методику кількісного визначення очних крапель «Ангіолін» методом ВЕРХ на заводі АТ «Лекхім-Харків» (акт апробації від 18.05.2021р). Розроблені очні краплі Ангіолін включені до перспективного плану розвитку підприємства на 2022-2023 р.

Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси кафедри фармацевтичної хімії, фармакогнозії та хімії Київського медичного університету (акт впровадження від 13.06.2021р.), кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету (акт впровадження від 17.06.2021 р.), кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України (акт впровадження від 16.05.2021 р.), кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ

України (акт впровадження від 20.05.2021), кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (акт впровадження від 02.06.2021р.), кафедри технології і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (акт впровадження від 13.01.2021р.), кафедри фармації Івано-Франківського медичного університету (акт впровадження від 17.06.2021р.), кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (акт впровадження від 25.06.2021р.), кафедри фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (акт впровадження від 18.01.2021р).

### **Особистий внесок здобувача**

Разом з науковим керівником було визначено мету та основні задачі досліджень, розроблено методичні підходи, на основі яких обрано методи виконання практичної частини дисертаційної роботи. Автором особисто проаналізовано й узагальнено дані наукової літератури щодо лікування катаракти та опіків очей. Проведено експериментальні дослідження з вивчення фізико-хімічних, технологічних та фармакологічних властивостей діючої речовини. Здобувачем розроблено склад і технологію очних крапель «Ангіолін». Розроблені методики якісного та кількісного аналізу ангіоліну в очних краплях спектрофотометричним методом та ВЕРХ. Розроблено методику визначення супровідних домішок в очних краплях методом тонкошарової хроматографії та проведено статистичну обробку результатів дослідження.

Персональний внесок в усіх опублікованих працях зі співавторами (І. А. Мазур, Л. І. Кучеренко, І. Ф. Беленічев, О. О. Портна, З. Б. Моряк, Хромильова О.В., Скорина Д. Ю., І. В. Павлюк, Г. І. Ткаченко,) наведено за текстом дисертації.

### **Апробація результатів дисертації**

Основні положення дисертаційної роботи викладені та обговорені на: всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (до 50-річчя заснування ЗДМУ), 30 травня 2018 р. м. Запоріжжя.; ХИСТ. науково-практичній конференції. Вищий державний

навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет, 4-6 квітня 2018; всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» 13 – 17 травня 2019 року. м. Запоріжжя; XXIII міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених. 15-17 квітня 2019. м. Тернопіль; IV Міжнародної науково-практичної інтернет – конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» 14-15 листопада 2019 р.м. Харків; V міжнародно науково-практичної конференції «Ліки-людині». Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», присвячена 35-річчю кафедри фармакотерапії (12-13 березня 2020 р.). м. Харків; міжнародно науково-практичній конференції, присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, «Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці» 25 березня 2020 р., м Харків; XVII науково-прктичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку-2020» 23 листопада 2020 року м. Вінниця; Modern science: Problems and innovations; Abstracts of VI international scientific and practical conference august 23-25,2020; VII науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» 23-24 вересня 2020 року; конференція студентів ЗДМУ «Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки - 2020». За підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 грудня 2020 р; науково-практична конференція «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів». Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції. 11-12 березня 2021 року м. Харків; «Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine» Materials of the V International Scientific and Practical Conference 11-12 March 2021 Kharkiv; Науково-практична конференція «Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine» Materials of the V International Scientific and Practical Conference 11-12 March 2021 Kharkiv; IV Міжнародній науково-практичній конференції «Results of modern scientific research and development» 28-30 червня 2021 року Мадрид, Іспанія.



Апробацію роботи проведено на спільному засіданні кафедр аналітичної хімії; технології ліків; токсикологічної і неорганічної хімії; органічної і біоорганічної хімії; фармацевтичної хімії; фармакогнозії, фармакології та ботаніки; фізикоїдної хімії; медичної та фармацевтичної інформатики і новітніх технологій; управління і економіки фармації, медичного та фармацевтичного правознавства; клінічної фармації, фармакотерапії та УЕФ ФПО Запорізького державного медичного університету 02.07.2021 року.

### **Публікації**

За матеріалами дисертації опубліковано 19 наукових робіт, у тому числі 4 наукові статті, з яких 2 статті у наукових фахових виданнях України та 1 стаття у зарубіжному виданні, 1 стаття включена до журналу, який входить до бази Web of Science), 15 тез доповідей.

### **Структура та обсяг дисертації**

Дисертаційна робота викладена на 184 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, розділів експериментальної частини, загальних висновків, додатків і списку використаних джерел. Робота ілюстрована 25 таблицями та 28 рисунками. Список використаних джерел містить 200 найменування, в тому числі 40 іноземною мовою. Обсяг основного тексту – 112 сторінки.

**РОЗДІЛ 1**  
**АНАЛІЗ МЕДИЧНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ**  
**ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ОПІКІВ ОЧЕЙ ТА КАТАРАКТИ. СТАН**  
**СУЧАСНОГО ФАРМАЦЕВТИЧНОГО РИНКУ**  
**(огляд літератури)**

1.1 Проблеми поширення опіків очей та катаракти серед населення України

Офтальмологічні захворювання в Україні на сьогоднішній день посідають шосте місце за даними МОЗ України. За тяжкістю наслідків захворювань очей і соціальним витратам на компенсацію сліпоти і слабкозорістю цей вид патології захворювання потребує значних коштів та постійної профілактики і лікування [7,188].

Одними із найпоширенішими офтальмологічними захворюваннями очей є опікова травма та катаракта. Опікова травма органів зору є однією з особливо складних клінічних і соціальних проблем і по тяжкості посідає друге місце після проникаючих поранень в структурі пошкодження органу зору і реєструється в 20-42,2% випадків. Основною складовою дорослого населення з даною патологією є особи працездатного віку, переважно чоловічої статі. У зв'язку з ситуацією, з кримінальною обстановкою, а також проведенням АТО на Південному Сході країни зростає кількість пошкоджень органу зору, серед яких контузія і опікова травма вийшли на перше місце і відзначаються в 50-64% випадків [8-10, 186].

Вікова катаракта на сьогоднішній день є основною причиною невиліковної сліпоти в світі і найбільш поширеним захворюванням очей у осіб старше 60 років. Катаракта серед усіх інших офтальмологічних захворювань становить близько 65%. На 2017 р. більше 20 млн. осіб у всьому світі страждають білатеральною сліпотою. Зростає кількість хворих на катаракту не тільки серед населення пенсійного віку, але серед працездатного населення, що є не тільки медичною, а й соціальною проблемою [96-100].

### 1.1.1 Проблеми поширення катаракти серед населення України

За даними ВООЗ кількість сліпих внаслідок катаракти в світі в 2025 році може збільшитись до 40 млн. В середньому у світовій популяції за статистичними даними, на катаракту страждає більше 70% населення у віці старше 72 років та біля 20% у віці 40-60 років. Катаракта в Україні посідає перше місце за поширеністю серед захворювань очей та придаткового апарату. На сьогодні катаракта розглядається не тільки як одна з актуальних офтальмологічних проблем, але і як важлива медико-соціальна проблема. Середній рівень поширеності катаракти за період з 2009 по 2012 роки склав 539864 хворих серед усього населення 1171,6 та 537624 хворих серед дорослого населення 1421,5 [14].

В Україні кількість хворих на катаракту постійно збільшується. Питома вага катаракти серед причин інвалідності по зору зросла з 6 до 16% та досягла свого найвищого значення в 2009 році, коли кожний п'ятий інвалід по зору ставав інвалідом внаслідок катаракти [101]. Вже на першому огляді на МСЕК хворі на катаракту визнаються інвалідами першої та другої груп з низькими функціями. Вроджену катаракту спостерігають в 5 випадках зі 100000 новонароджених, вона обумовлює 10-30% випадків дитячої сліпоти [23-26].

Серед дитячого населення України за період 2009 – 2012 роки поширеність вродженої катаракти складає 2239 хворих. У перекладі з грецької слово «катаракта» означає «той, що падає вниз» або «водоспад». Древні греки вважали, що плівка сірого кольору при катаракті подібно водоспаду спускається згори донизу на зіницю, забираючи в людини зір. При віковій катаракті виявлені зміни хімічного складу кришталика, а саме – на початковій стадії збільшується кількість води, зростає дисбаланс ряду іонів, амінокислот, зменшується кількість водорозчинних білків, вітамінів, АТФ, знижується активність ряду ферментів, збільшується використання кисню, порушуються процеси перекисного окислення ліпідів та ін [28-29, 186].

Під час утворення вільних радикалів у кришталику, відбувається утворення та накопичення токсичних сполук, що призводять до незворотніх змін білків.

Найбільш впливаючим фактором, що стимулює утворення вільних радикалів,

є світло, особливо короткохвильова частина спектра в діапазоні 200–300 нм. Також особливу роль відіграє факт зниження в кришталіку з віком активності ферментів антиоксидантного захисту та зменшення концентрації природних антиоксидантів (вітамін А, Є, глутатіон та ін.) [11-12].

### 1.1.2 Класифікація катаракти. Причини та її симптоми

Всі катаракти поділяються на дві основні групи: вроджені та набуті [27].

Вроджені катаракти є обмеженими за площею і не прогресують. Набуті ж катаракти мають прогресуючий перебіг [72-73].

Набуті катаракти поділяються на кілька груп:

- –вікові (старечі, сенильні) катаракти;
- –травматичні катаракти (виникають у результаті тупої травми (контузії) чи проникаючого поранення очного яблука);
- –ускладнені катаракти (виникають при запаленні судинної оболонки ока (увеїті), короткозорості високого ступеня, пігментній дегенерації сітківки, глаукомі та деяких інших захворюваннях ока);
- –променеві катаракти (пов'язані з ушкодженням кришталіка променевою енергією – інфрачервоні промені; професійні катаракти – наприклад, катаракта складувів), рентгенівські, радіаційні;
- –токсичні катаракти (у тому числі й медикаментозні катаракти, що формуються як результат побічної дії при тривалому прийомі ряду лікарських препаратів: кортикостероїдів, антималярійних препаратів та ін.);
- –катаракти, що викликані загальними захворюваннями організму (цукровий діабет, гіпотиреоз, хвороби обміну речовин) [48-51].

Залежно від локалізації помутнінь у кришталіку, катаракти поділяються на наступні види [75-77]:

- передня полярна катаракта;
- задня полярна катаракта;
- веретеноподібна катаракта;

- слоїста (зонулярна) катаракта;
- ядерна катаракта;
- кортикальна (коркова) катаракта;
- задня субкапсулярна катаракта;
- тотальна (повна) катаракта.

За ступенем зрілості розрізняють 4 стадії вікової катаракти:

- початкова катаракта;
- незріла катаракта;
- зріла катаракта;
- перезріла катаракта.

Катаракта звичайно починається з кори кришталіка (кортикальна катаракта), ядра (ядерна катаракта) чи субкапсулярно (субкапсулярна катаракта). Для вікової катаракти типовою є коркова локалізація помутнінь (92%). Ядерна катаракта зустрічається значно рідше (7–8%) [17-20].

Першими ознаками катаракти є процеси зневоднення кришталіка. Рідина накопичується в корі кришталіка між волокнами відповідно до розташування швів. Формуються так звані «водяні щілини». Дещо пізніше з'являються характерні помутніння кори, в першу чергу по периферії кришталіка, в області екватора. При переході таких помутнінь із передньої на задню поверхню кришталіка вони набувають типової форми «вершників» – *початкова катаракта*. При початковій катаракті помутніння локалізуються поза оптичною зоною – в області екватора – і не знижують гостроту зору [30-32].

*Незріла катаракта.* Поступове прогресування процесу зводиться до просування помутнінь у напрямку капсули кришталіка та в центральну оптичну зону. Виражені помутніння речовини кришталіка призводять до помітного зниження гостроті зору.

*Зріла катаракта.* Вся область кори кришталіка зайнята помутніннями. Гострота зору знижується до рівня світлосприйняття.

*Перезріла катаракта.* Подальше прогресування катаракти супроводжується розпадом кришталикових волокон. Кора кришталіка розріджується, тому капсула кришталіка стає складчастою. Кора набуває однорідного (гомогенного) молочно-білого відтінку. Більш щільне ядро через свою важкість опускається донизу. Такий кришталік нагадує мішечок. Подібна перезріла катаракта називається морганієвою.

На стадії перезрілої катаракти можливе збільшення кришталіка в розмірі та блокування ним шляхів відтоку внутрішньоочної рідини із задньої камери ока в передню, що сприяє підвищенню внутрішньоочного тиску і може призвести до вторинної глаукоми та незворотної втрати зору. Таке ж ускладнення можливе і при оводненні кришталіка на незрілій стадії вікової катаракти [15-16].

Клінічні прояви катаракти. Одним із перших проявів (симптомів) захворювання є скарги на відчуття двоїння предметів, появу «мушок», появу жовтуватого відтінку видимого зображення. Гострота зору на ранній стадії розвитку катаракти майже не страждає. Триває початкова стадія від 1-3 до 10-15 років. При розвитку катаракти всі ці скарги поступово прогресують, хворий починає відмічати зниження гостроти зору. На стадії зрілої катаракти втрачається предметний зір, наявне лише світловідчуття, яке повинне бути з правильною проекцією світла при відсутності уражень сітківки та зорового нерва.

### 1.1.3 Актуальність поширення опіків очей серед населення України

Пошкодження органу зору є однією з головних причин інвалідності по зору. Опіки очей є важким пошкодженням органу зору і займають вагому частку (6,9-30,5%) в структурі травм ока. Термічні опіки очей в мирний час зустрічаються набагато рідше, ніж хімічні (співвідношення ~ 1: 4).

Проблема досить актуальна, складна, враховуючи військові дії, що відбуваються на Сході України. Проведений аналіз свідчить, що для травм (в тому числі опікових), отриманих в умовах проведення АТО, характерним є: множинність ураження, комбіновані, а також поєднані травми. На сьогоднішній

день опіки складають 6,1-38,4% всіх пошкоджень очей, більше 40% постраждалих стають інвалідами, не здатними повернутися на фронт. В результаті значного пошкодження (опіку) в оці розвивається складний багатокomпонентний процес, захоплюючий всі структури ока - рогівку, кон'юнктиву, склеру, судинний тракт. В більшості випадків виникає ряд важких ускладнень з несприятливим результатом, незважаючи на активну патогенетичну терапію. В умовах мирного часу опіки становлять 8-10% всіх пошкоджень очного яблука і його придатків [41-42, 186].

#### 1.1.4 Клінічні прояви опіків очей

До 75% припадає на опіки кислотами і лугами (хімічні) і 25% - на термічні та опіки променевою енергією. Розглянемо клінічну картину при опіках різними агентами. Опіки кислотами викликають коагуляцію тканини (коагуляційний некроз), в результаті чого утворюється струп, який в певній мірі перешкоджає проникненню кислоти в товщу тканини і всередину очного яблука. Пошкодження тканин настає в перші години після опіку. В результаті, тяжкість опіку кислотою можна визначити в перші 1-2 дні. При лужних опіках розчиняється тканинний білок і виникає некроз, тому луг швидко проникає в глибину тканин і в порожнину ока, вражаючи його внутрішні оболонки. Деякі луги можна виявити в передній камері через 5-6 хв після їх потрапляння в око. При опіках лугами відбувається руйнування тканин протягом декількох діб. Тяжкість опіку лугом визначається не раніше ніж через 3 доби. Можливе поєднання термічних і хімічних опіків очей (ураження хімічною зброєю), а також поєднання хімічних опіків з проникаючими пораненнями очного яблука (вибухи) [142]. При однаковому ступені ураження важче на перший погляд виглядають термічні опіки. Це пов'язано з тим, що при термічних опіках частіше вражається не тільки око, а й навколишня шкіра обличчя. Хімічні опіки частіше локальні, захоплюють очне яблуко, яке в перші години при тій же мірі опіку не викликає побоювань. Помилка в оцінці ураження стає видимою на 2-3-ю добу, коли її дуже важко виправити. Тяжкість опіку залежить не тільки від глибини, а й від протяжності ураження тканин [13, 22].

## 1.2 Маркетингові дослідження (аналіз) ринку лікарських препаратів для лікування опіків очей та катаракти

Офтальмологічні лікарські препарати є особливою групою ліків, що застосовуються з метою фармакотерапії ніжного і унікального органу зору людини [118-122]. Вони мають, як правило, специфічні механізми всмоктування і взаємодії, а також розподілу речовин в тканинах і рідинах ока. Звідси жорсткі вимоги до безпеки офтальмологічних ліків, які обумовлюють певні технологічні труднощі при розробці і промислового виробництва препаратів, відносно вузьку номенклатуру лікарських і допоміжних речовин, призначених для використання в складі цих препаратів [5, 101].

Асортимент препаратів для лікування очних захворювань, а саме опіків очей та катаракти, що випускаються в Україні, вкрай обмежений [123-136]. Проведене вивчення асортименту офтальмологічних ліків показав, що в першу чергу необхідно нарощування потужності по збільшенню обсягу виробництва очних ліків для лікування і профілактики найбільш поширених офтальмологічних захворювань [5,6].

Дані систематизовані на основі діючої класифікації АТС (Anatomical Therapeutic Chemical Classification System), де лікарські засоби класифікуються відповідно їх основному терапевтичному застосуванню та чітко прослідковується досконале поєднання фармакологічних, фізико-хімічних та терапевтичних властивостей лікарських препаратів в анатомічні групи та підгрупи [54,60].

Об'єктом нашого дослідження стали засоби, що застосовуються в офтальмології, а саме підгрупа S10X інші офтальмологічні засоби (табл.1.1.).



Таблиця 1.1

**Дослідження асортименту лікарських препаратів, які використовуються для лікування опіків очей та катаракти згідно АТС-класифікації**

№п/п	Діюча речовина	Торгова назва	Виробник	Країна
1	Гіпромелоза	Артелак®	Др. Герхард Манн, Хем.-фарм. Фабрик ГмбХ	Німеччина
2	Повідон	Вет-Комод	УРСАФАРМ Арцнайміттель ГмбХ	Німеччина
3	Карбомер	Відісік	Др. Герхард Манн, Хем.-фарм. Фабрик ГмбХ	Німеччина
4	Калію йодид	Калію йодид	ТОВ "УНІМЕД ФАРМА",	Словацька Республіка
			Товариство з обмеженою відповідальністю «Дослідний завод ГНЦЛС»	" Україна
5	Декспантенолу	Корнерегель	Др. Герхард Манн, Хем.-фарм. Фабрик ГмбХ	Німеччина
6	Лецитин	Ліпофлакон	ПАТ «ФАРМСТАНДАРТ- БІОЛІК»	Україна

Продовж. табл. 1.1

1	2	3	4	5
12	Дексаметазон	Офтан® Дексаметазон	Сантен АТ	Фінляндія
13	Цитохром С 0,675 мг, аденозину 2 мг, нікотинаміду 20 мг	Офтан®Катахром	Сантен АТ	Фінляндія
14	Тимололу малеат	Офтан®Тимолол	Сантен АТ	Фінляндія
15	Циклоспорин	Рестасіс®	Аллерган Сейлс ЛЛС	США
16	Кислота поліакрилова	Сікапос	УРСАФАРМ Арцнайміттель ГмбХ	Німеччина
17	Таурин	Тауфон	Товариство з обмеженою відповідальністю «Дослідний завод «ГНЦЛС»	Україна
		Тауфон-Дарниця		
			ПАТ «Фармак»	Україна
		ПрАТ «Фармацевтична фірма "Дарниця»,	Україна	

Продовж. табл. 1.1

1	2	3	4	5
18	Тіотриазолін	Тіотриазолін	Товариство з обмеженою відповідальністю «Дослідний завод «ГНЦЛС»	Україна
			Товариство з обмеженою відповідальністю «ФАРМЕКС ГРУП»	Україна
19	Декстрану 70 – 1 мг та гіпромелози 3 мг	Штучні сльози	Алкон-Куврьор	Бельгія
20	Л-глутамінової кислоти 200 мг, гліцину 100 мг, піридоксину гідрохлориду 25 мг;	Факовіт	Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я»,	Україна
	Л-цистеїну 200 мг, кислоти аскорбінової 175 мг			

У подальшому було досліджено ринок лікарських засобів для лікування опіків очей та катаракти вітчизняного та закордонного виробництва [102-105].

Так, 60% фірм–виробників постачають лікарські препарати для лікування офтальмологічних захворювань, а саме опіків очей та катаракти на фармацевтичний ринок України (рис.1.1).

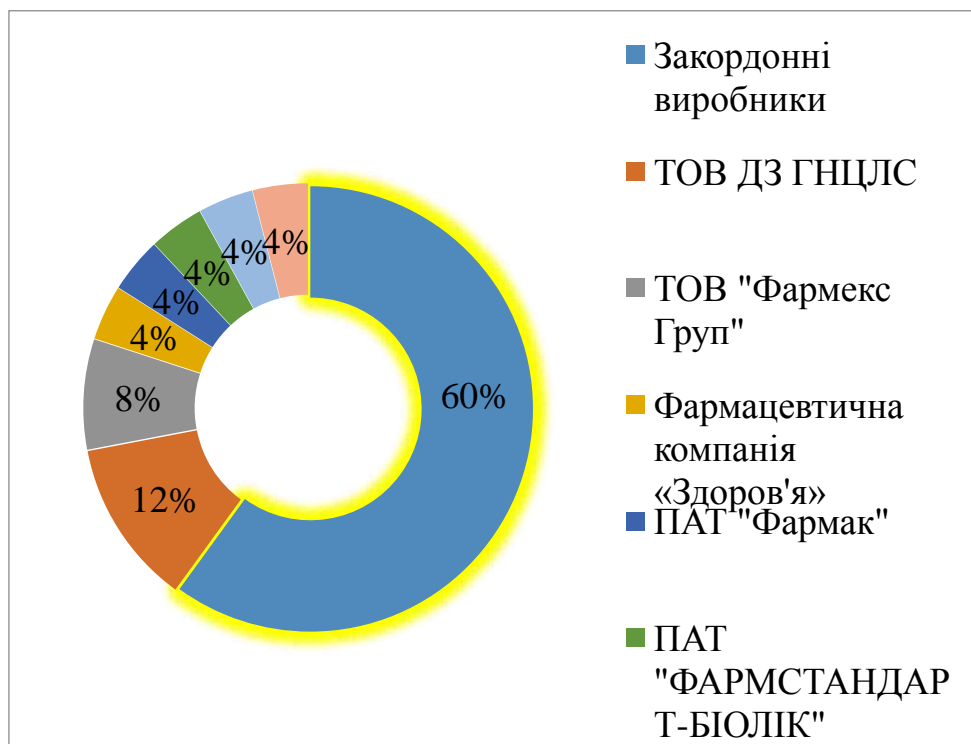


Рис 1. 1 Діаграма співвідношення лікарських препаратів для лікуванні опіків очей та катаракти вітчизняного і закордонного виробництва, зареєстрованих в Україні

Серед українських фармацевтичних компаній лідером з виробництва лікарських препаратів для лікуванні опіків очей та катаракти є ТОВ ДЗ ГНЦЛС, препарати якої складають 12%. Крім того, значний обсяг продукції на фармацевтичний ринок України надходить від ТОВ «Фармекс груп», по 4% надходить від фармацевтичних компаній ФК «Здоров'я», ПАТ «Фармак», ПАТ «ФАРМСТАНДАРТ-БІОЛІК» [94]. Співвідношення між лікарськими засобами вітчизняних та іноземних виробників складає 40% та 60% відповідно [165-166] (рис.1.1).

Зареєстровані лікарські препарати для лікування опіків очей та катаракти на території України представлені переважно монокомпонентними лікарськими

засобами (рис.1.2).

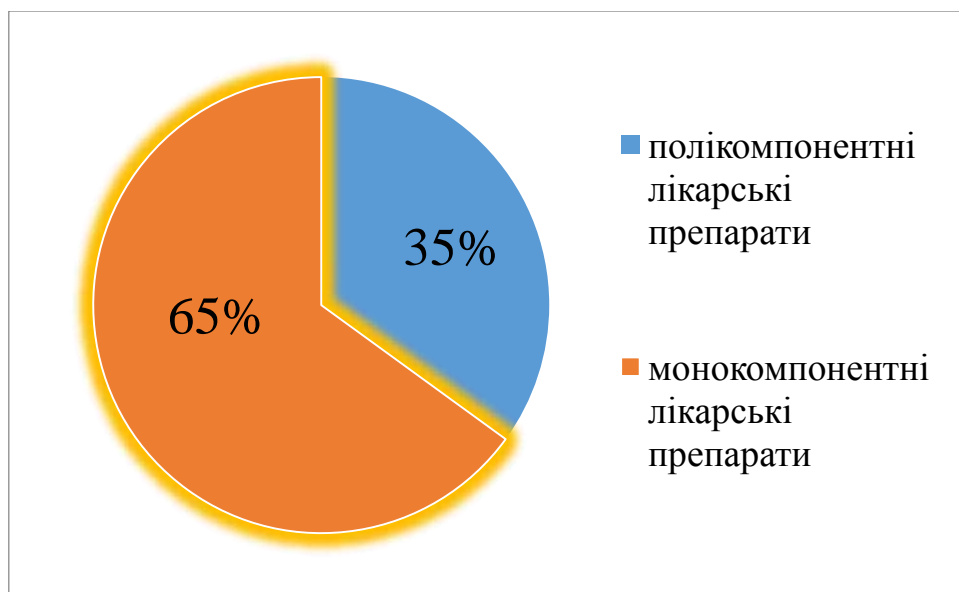


Рисунок 1.2. Діаграма співвідношення однокомпонентних і полікомпонентних лікарських препаратів для лікування опіків очей та катаракти вітчизняного і закордонного виробництва, зареєстрованих в Україні

Таким чином, було встановлено, що асортимент лікарських засобів для лікування опіків очей та катаракти є обмежений, і переважно складається з виробників іноземного походження [107-117]. Тому перспективним є створення нових офтальмологічних лікарських засобів з метою збільшення лікувального ефекту, та розширення асортименту вітчизняного фармацевтичного ринку і в майбутньому відносної дешевизни лікарського засобу в порівнянні з іншими лікарськими препаратами [178-181, 185].

1.3 Загальна характеристика лікарських препаратів для лікування опіків очей та катаракти

Лікування катаракти здійснюється медикаментозно і хірургічним шляхом (екстракція катаракти). Медикаментозну терапію слід застосовувати тільки на початкових етапах помутніння кришталика з метою поліпшення обмінних процесів в кришталику [64-71]. Вона недостатньо ефективна при помутніннях в задньому

відділі кришталика, проте дає певний ефект при тривалому застосуванні й помутніннях у передньому відділі [74, 84]. В останні десятиліття зросла тенденція використовувати уже відомі дані про зміни хімічного й біохімічного складу кришталика та обміну речовин у цьому для медикаментозного лікування початкових катаракт. Основним напрямом такого лікування є призначення хворому в якості замісної терапії тих речовин, нестача яких у кришталику й організмі викликає катаракту [61-63]. Для початкової стадії лікування катаракти застосовують різні краплі, що містять набір вітамінів і мікроелементів. Всі ці лікарські засоби можна умовно розділити на декілька груп:

1. засоби, що містять неорганічні солі, необхідні для нормалізації електролітного обміну і зменшення дегідратації в кришталику;
2. засоби направлені на корекцію метаболічних процесів в кришталику;
3. медикаменти, що містять органічні сполуки, які нормалізують окисно-відновний баланс.

Препарати для лікування катаракти використовуються в основному у вигляді очних крапель. До першої групи відносяться краплі, що містять солі калію, магнію, йоду (калію йодид, йодокол, рубістенол, перайод).

До групи препаратів, що містять неорганічні солі у поєднанні з вітамінами, відносяться широко відомі препарати – вітайодурол, вітафакол. До особливої групи входять очні краплі, що містять різні екстракти рослинного і тваринного походження (дурайод, факоліт, артелак, вет-комод, корнерегель, ліпофлавіон, окоферон, окулохеель) [36-38].

До особливої групи лікарських засобів, які отримані синтетичним шляхом відносять: каталін, сенкаталін, дульціфак, квінакс. Окрім зарубіжних протикатаральних засобів офтальмологи широко застосовують різні прописи очних крапель. В основному використовуються препарати, що містять рибофлавін, глютамінову кислоту, цистеїн, аскорбінову кислоту, тауфон тощо, які беруть участь в процесі окиснення, сприятливо впливають на обмін речовин, покращуючи енергетичні процеси в кришталику. Для лікування вікових катаракт всередину

призначають різні полівітамінні препарати (ундевіт, комплевіт). Також особливе значення має проведення загальних лікувально-профілактичних заходів, направлених на оздоровлення організму і лікування патологічних станів, що призводять до розвитку катаракт. На сучасному етапі медикаментозне лікування катаракти проводиться лише на стадії початкової катаракти при збереженій гостроті зору. Застосовують різноманітні очні краплі: офтан-катахром, квінакс, вітайодурол, емоксипін 1%, тауфон 4%, віцеїн, тіотриазолін та ін [13].

Для лікування опіків очей використовують тіотриазолін. Фармакологічний ефект тіотриазоліну зумовлений активацією антиоксидантної системи ферментів і гальмуванням процесів перекисного окиснення ліпідів в ішемізованих ділянках тканин ока, зменшенням тяжкості нервово-трофічних порушень, збільшенням інтенсивності і швидкості репаративних процесів, зниженням запальної реакції тканин, поліпшенням кровотоку у мікроциркуляторному руслі ока. Тіотриазолін сприяє ранньому відновленню чутливості рогівки, утворенню більш ніжного помутніння, значному зниженню кількості різних ускладнень, зменшує прояви зорової астенопії, поліпшує функціональні показники акомодативного м'яза і центральних відділів сітківки, що поліпшує функціональну здатність очей. Як зазначалось раніше доцільним є розширення асортименту лікарських засобів вітчизняного виробництва, а саме очних крапель із ранозагоювальною, репаративною, протизапальною, та місцево-анестезуючою діямидля покращення лікувального ефекту та економічності лікування [31].

Не зважаючи на наукові досягнення останніх років надзвичайно важливою задачею є створення нових офтальмологічних лікарських засобів, а саме: очних крапель, які продовжують залишатися найпоширенішою і широко застосовуваною на практиці лікарською формою завдяки традиційності виробництва, зручності застосування [186-188].

Особливий інтерес викликали сполуки, які були синтезовані співробітниками кафедри фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету спільно з фахівцями НВО «Фарматрон» під керівництвом професора Мазура І. А. Синтезована нова сполука, похідна 1,2,4-тріазолу, а саме ((S)-2,6-діаміногексанова

кислота 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат), з назвою «Ангіолін» проявляє протизапальну, раногозагоювальну та репаративну активність [83,93].

Тому актуальним завданням сучасної фармації і медицини є розробка та стандартизація нового офтальмологічного лікарського засобу у вигляді очних крапель на основі похідного 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату), які в подальшому плануються використовуватись для лікування опіків очей та катаракти.

## Висновки до розділу 1

1. Проаналізовано дані наукової літератури щодо проблеми поширення опіків очей та катаракти серед населення України. Також були розглянуті класифікація, причини та симптоми даних захворювань.

2. Проведено аналіз стану сучасного фармацевтичного ринку, а саме лікарських засобів, які використовуються для лікування опіків очей та катаракти. Встановлено, що асортимент лікарських засобів для лікування опіків очей, та катаракти, є обмежений, і переважно складається з виробників іноземного походження. Тому перспективним є створення нових офтальмологічних лікарських з метою збільшення лікувального ефекту, та розширення асортименту вітчизняного фармацевтичного ринку і в майбутньому відносної дешевизни лікарського засобу в порівнянні з іншими лікарськими препаратами.

3. Обґрунтовано актуальність та перспективи створення нового офтальмологічного лікарського засобу у вигляді очних крапель на основі похідного 1,2,4-триазолу, а саме: ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату), які в подальшому плануються використовуватись для лікування опіків очей та катаракти.

*Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:*

1. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти. Актуальні питання сучасної



медицини і фармації 2019: зб. тез доповідей наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів. Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. С. 135..

2. Акопян Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування травми, опіків очей та катаракти. Матеріали ХХІІІ міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль (15-17 квітня 2019 р.). Тернопіль: Укрмедкнига, 2019. С. 208.

3. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. Актуальні питання сучасної медицини і фармації: тези доповідей Всеукр. наук.-практич. конф. 18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р. (до 50-річчя заснування ЗДМУ). Запоріжжя: ЗДМУ, 2018. С. 159.

4. Акопян Р. Р. Актуальність питання створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. ВІМСО Journal: зб. матеріалів Буковин. міжнар. мед.-фармац. конгр. студентів і молодих учених. 2018. С. 415.

5. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти: Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019: зб. тез доп. всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів (13-17 травня 2019 року м. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. С. 135.

6. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Фармакоекономічний аналіз лікарських засобів для лікування катаракти. Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали V міжнар. наук.-практ. конф., (12-13 бер. 2020 р., Харків). Харків: НФаУ, 2020. Т. 2. С. 353.

7. Кучеренко Л. И., Акопян Р. Р. Перспективность создания нового офтальмологического средства для лечения ожогов глаз и катаракты. Modern science: Problems and innovations: abstracts of 6th International scientific and practical conference (August 23-25, 2020). Stockholm, SSPG Publish, 2020. P. 119-121.

8. Акопян Р. Р. Щодо необхідності створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук: зб. матеріалів наук. - практич. конф. (9 груд. 2017 р. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. С. 18-20.

## РОЗДІЛ 2

### ХАРАКТЕРИСТИКА МАТЕРІАЛІВ ТА МЕТОДІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Характеристика діючих та допоміжних речовин як об'єктів дослідження

Очні лікарські форми займають особливе місце серед інших лікарських форм у зв'язку із специфікою їх застосування і особливостями, витікаючими з будови і функцій органу зору, такими як специфічні механізми всмоктування, розподілу і взаємодії лікарських речовин з тканинами і рідинами ока.

Усі використані в дослідженнях основні та допоміжні речовини за якісними та кількісними показниками відповідали вимогам нормативно-технічної документації.

#### *Об'єкти дослідження*

#### Характеристика діючої речовини

Ангіолін – 2,6-діаміногексанова кислота 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат (міжнародна не патентована назва лізинію тіазотат) (рис. 2.1) кристалічний порошок білого або майже білого кольору із слабким специфічним запахом, легко розчинний у воді, практично не розчинний у 96% спирті, хлороформі.

М.м. 319,384

$C_{11}H_{21}N_5O_4S$

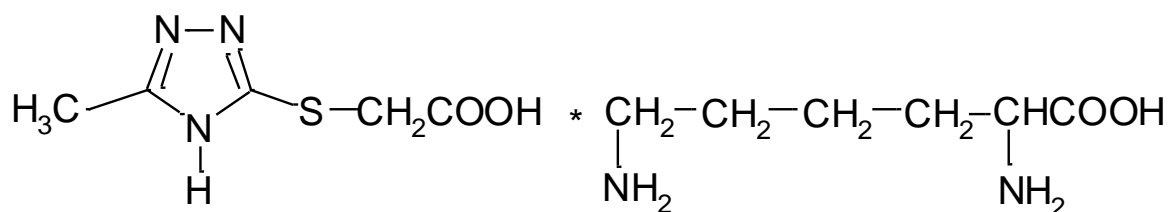


Рис. 2.1 2,6-діаміногексанова кислота 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат

Для досліджень використовували сертифіковану субстанцію ангіоліну, а також робочий стандартний зразок, який отриманий: (виробник: Державне

підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 2451117).

Таблиця. 2.1

## Показники якості субстанції «Ангіолін»

№	Найменування показника	Вимоги МКЯ
1	Опис	Кристалічний порошок білого або майже білого кольору із слабким специфічним запахом.
2	Розчинність	легко розчинний у воді, практично не розчинний у 96% спирті, хлороформі.
3	Ідентифікація: -ангіолін -3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтова кислота -сірка	Відповідність ІЧ-спектру Випробування витримує Випробування витримує
4	Температура плавлення, °С	Від 210 °С до 215 °С з розкладанням
5	Прозорість розчину	Розчин має бути прозорим. Допускається присутність одиничних волокнистих включень.
6	Кольоровість розчину	Розчин S має бути не інтенсивнішим за еталон.
7	pH (розчин S)	Від 6,0 до 8,0
8	Питоме оптичне обертання	Від +9,5 до +13,5 у перерахунку на суху речовину
9	Супровідні домішки:% -3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіон - будь-яка інша додаткова домішка - сума усіх додаткових домішок	Не більше 0,5 Не більше 0,1 Не більше 0,5

Продовж. табл. 2.1

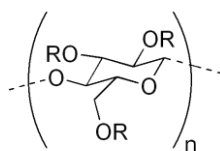
1	2	3
10	Залишкові кількості органічних розчинників (етанол), %	Не більше 0,5 (визначається як втрата в масі при висушуванні)
11	Втрата в масі при висушуванні, %	Не більше 0,5
12	Сульфатна зола, %	Не більше 0,1
13	Важкі метали, %	Не більше 0,001 (10 ppm)
14	Мікробіологічна чистота, КУО/г	Критерії прийнятності: -загальне число аеробних мікроорганізмів (ТАМС): $10^3$ -загальне число дріжджових та плісневих грибів (ТУМС): $10^2$
15	Кількісне визначення	Не менше 98,5% і не більше 101,%
	Вміст $C_{11}H_{21}N_5O_4S_4$ перерахунку на суху речовину, %	

### 2.1.1 Характеристика допоміжних речовин

Як допоміжні речовини використовували натрію хлорид, та метилцелюлозу.

Натрію хлорид (NaCl) (виробник: ПАТ «Галичфарм», Україна, серія: UA/2065/01/01) за фізичними властивостями білий кристалічний порошок без запаху, солоного смаку, розчинний у воді, нерозчинний в 96% спирті.

Метилцелюлоза водорозчинна (МЦ-100, (серія 26101197551, виробник: Вайсенборн, Німеччина) є сірувато або жовтувато-білою волокнистою або порошкоподібною речовиною.



R = H or CH<sub>3</sub>

Вода для ін'єкцій (Aqua ad iniectionabilia)– вода, яка використовується як розчинник при приготуванні лікарських засобів для парентерального застосування (вода для ін'єкцій «in bulk») або для розчинення або розведення субстанцій або лікарських засобів для парентерального застосування перед використанням (вода для ін'єкцій стерильна). За фізичними властивостями це прозора, безбарвна рідина без смаку та запаху. [ДФУ]

### 2.1.2 Характеристика методів дослідження

*Спектрофотометрія.* Визначення очних крапель «Ангіолін» проводили методом спектрофотометрії в ультрафіолетовій області згідно методики ДФУ (1 Вид., п. 2.2.25, с. 36). В роботі було використано спектрофотометр Optizen POP, Корея.

*Рідинна хроматографія.* Визначення очних крапель «Ангіолін» проводили методом високоефективної рідинної хроматографії згідно ДФУ (1 Вид., п. 2.2.29, с.47).

*Фармакологічні дослідження:* Всі дослідження були виконані на 40 очах 20 кроликів породи Шиншила обох статей масою 2,1-3,5 кг і віком 8-10 місяців.

*Мікробіологічні дослідження.* Дослідження мікробної чистоти очних крапель «Ангіолін» проводили згідно вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ другого видання) двома методами – глибинним та поверхневим.

#### *Референс (стандартні препарати)*

Як референс-препарат використано очні краплі «Тіотриазолін» (серія UA/8446/01/01, виробник ОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС», Україна).

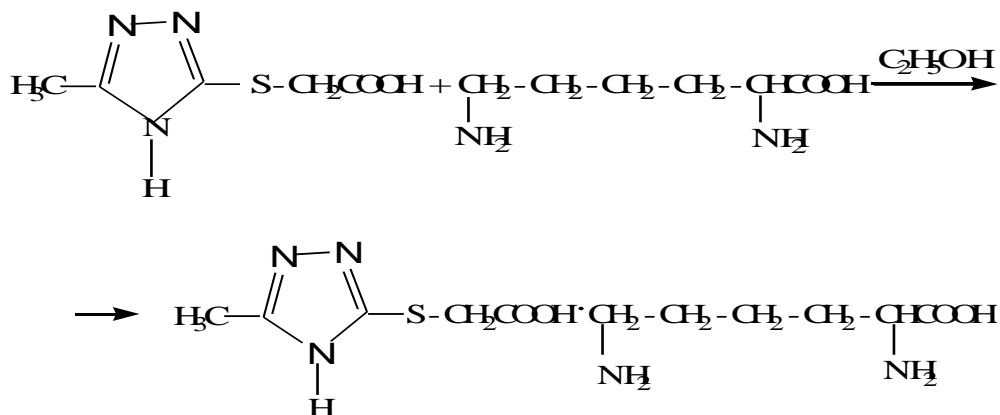
#### *Статистична обробка.*

Статистичну обробку результатів проводили з використанням стандартного пакета аналізу програм статистичної обробки результатів, версії Microsoft Office

Excel 2003. Дані представлені у вигляді вибіркового середнього значення  $\pm$  стандартна помилка середнього значення. Достовірність відмінностей між експериментальними групами оцінювали за допомогою Т-критерію Стьюдента і U-критерію Уїтні-Манна комп'ютерної програми «STATISTICA для Windows 6.0» (StatSoft Inc., №AXXR712D833214FAN5).

## 2.2 Отримання субстанції ангіоліну в лабораторних умовах

Для проведення розробки очних крапель «Ангіолін» було вивчено отримання субстанції ангіоліну ((S) -2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в лабораторних умовах [86-87]:



Установка:

1) 4-х горлоколба місткістю 1,0 л, забезпечена

- мішалкою зі швидкістю обертання,
- термометром (діапазон вимірювання - 0 до 150°C, ціна поділки - 1,0°C),
- зворотним кульковим холодильником (охолодження оборотної водою з температурою не вище 25°C).
- Колба Бунзена місткістю 1,0 л
- Воронка Бюхнера місткістю 0,5 л

- Скляний стакан місткістю 1,0 л

Завантаження:

1. (s) -2,6-діаміногексанової кислоти водний розчин після другої вакуум-упарки - 215 г 43% 92,45 г 100% (0,633 M).

2. 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтову кислота - 100 г 99,5% 99,5 г 100% (0,575 M).

3. Спирт етиловий ректифікований на синтез або відгін етанолу з вологою 14% - 198,3 г, 247,9 мл - 216,4 г, 260,7 мл

4. Вода підготовлена при використанні етанолу ректифікатів.

при використанні відганяючи етанол з вологою 14%

- 22,3 мл

- 1,8 мл

5. Вугілля активоване освітлююче марки ОУ-А - 1,8 г

6. Спирт етиловий на виділення ректифікований або регенерований з вологою 7%

- 198,3 г, 248 мл

- 198,3 г, 245 мл

7. Спирт етиловий ректифікований на промивку - 2 x 100 мл

У колбу місткістю 1,0 л завантажують водний розчин (s) -2,6-діаміногексанової кислоти (з 10% надлишком по відношенню до 100% ТУК), при температурі (15 - 27)° С і при перемішуванні додають до нього воду очищену і частину спирту етилового ректифікованого (~ ½ частину від обсягу яку необхідно завантажити на синтез). Потім порційно, при перемішуванні додають 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтову кислоту і залишкову кількість спирту етилового. Реакційну масу нагрівають до кипіння (температура кипіння реакційної маси (80 ± 2) °С).

Під час витримки при кипінні 3-метил-1,2,4- триазоліл-5-тіооцтова кислота повинна повністю розчинитися. Після розчинення тіооцтової кислоти дають витримку протягом 30 ± 10 хв.

Після закінчення витримки реакційну масу охолоджують на 5-10 °С і надають

вугілля активний освітлюючий. Реакційну масу знову доводять до кипіння (температура кипіння реакційної маси  $80^{\circ}\text{C}$ ), витримують 15 - 20 хв і фільтрують від вугілля через шовк і 6 шарів паперу.

До фільтрату додають спирт етиловий ректифікований в кількості 248 мл. Потім реакційну масу охолоджують при перемішуванні до  $(30 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ , потім до  $(0 - +5)^{\circ}\text{C}$  і витримують при цій температурі протягом 8 год.

Випав осад ангіоліна R ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5 тіоацетату), який віджимають на воронці Бюхнера (фільтр: шовк-туаль, 2 шари паперу) і промивають охолодженим до  $(0 - + 5)^{\circ}\text{C}$  спиртом етиловим ректифікованим 2 x 100 мл.

Віджятий продукт в кількості  $(180 \pm 10)$  г сушать при температурі  $50-60^{\circ}\text{C}$  протягом 4-6 год до ППВ не більше 0,50%. Отримують  $(167,6 \pm 10)$  г висушеного ангіоліна R, що становить  $(91,4 \pm 5,48)\%$  від теорії в перерахунку на 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтову кислоту [91-92].

Продукт перетирають в ступці, просівають через капронове сито № 13 і здають на аналіз в ОТК.

Ангіолін R після сушки та подрібнення аналізують за показниками:

- 1) опис - кристалічний порошок білого або майже білого кольору зі слабким специфічним запахом;
- 2) температура плавлення,  $^{\circ}\text{C}$  -  $210 - 215^{\circ}\text{C}$  з розкладанням;
- 3) прозорість - розчин повинен бути прозорий;
- 4) кольоровість розчину - не більше ет.У7;
- 5) рН (2,5% р-р) -  $6,0 \div 8,0$ ;
- 6) питомий оптичне обертання -  $+ 9,5^{\circ} \div + 12,5^{\circ}$ ;
- 7) супутні домішки.
  - а) 3-метил-1,2,4-триазоліл - 5 - тіон - не більше 0,5%;
  - б) будь-яка інша неідентифікована домішка - не більше 0,1%;
  - в) сума всіх неідентифікованих домішок - не більше 0,5%
- 8) втрати в масі при висушуванні, % - не більше 0,50;
- 9) МБЧ



- а) загальне число аеробних мікроорганізмів (Тамс) не більше 103 КУО / г;  
б) загальне число дріжджових і цвілевих грибів (Тумс) - не більше 10<sup>2</sup> КУО /г;  
10) кількісне визначення,% - 98,5-101,0 (в перерахунку на суху речовину).

### 2.2.1 Вивчення існуючих методик стандартизації субстанції ангіоліну

В ході дослідження було вивчено вже існуючі методики контролю якості субстанції ангіоліну.

Для ідентифікації субстанції ангіоліну проводили спектроскопічне дослідження.

Результати проведених спектроскопічних досліджень показали, що крива поглинання в УФ-області субстанції ангіолін має плече поглинання, при  $\lambda = 238$  нм (рис. 2.2).

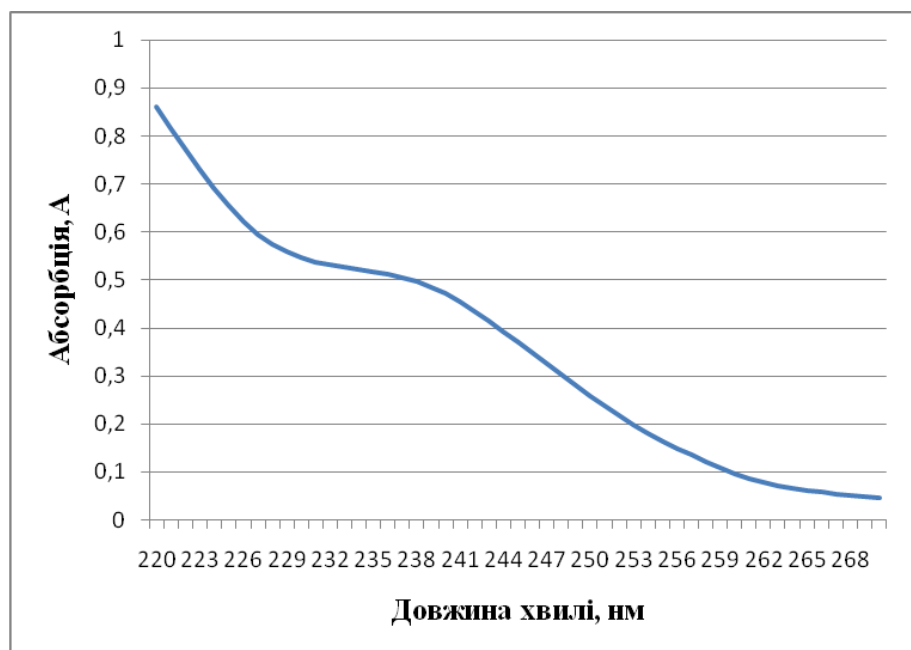


Рисунок 2.2 УФ-спектр субстанції ангіоліну

Кількісне визначення проводили за наступною методикою: 0,05 г (точна наважка) робочого стандартного зразка (РСЗ) L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу

«Інститут монокристалів» НАН України, Україна) вносять у мірну колбу ємкістю на 250,00 мл, розчиняють у 10 мл води очищеної, доводять до мітки тим же розчинником, ретельно перемішують. Далі 10,00 мл отриманого розчину переносять у колбу ємкістю на 25,00 мл і доводять до мітки.

Вимірювання абсорбції РСЗ при довжині хвилі  $\lambda=238$  нм. Як стандартний зразок використовують ФСЗ 2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, Україна). Розчини застосовують одразу після приготування. Криві поглинання в УФ-області ФСЗ наведено на рис. 2.3.

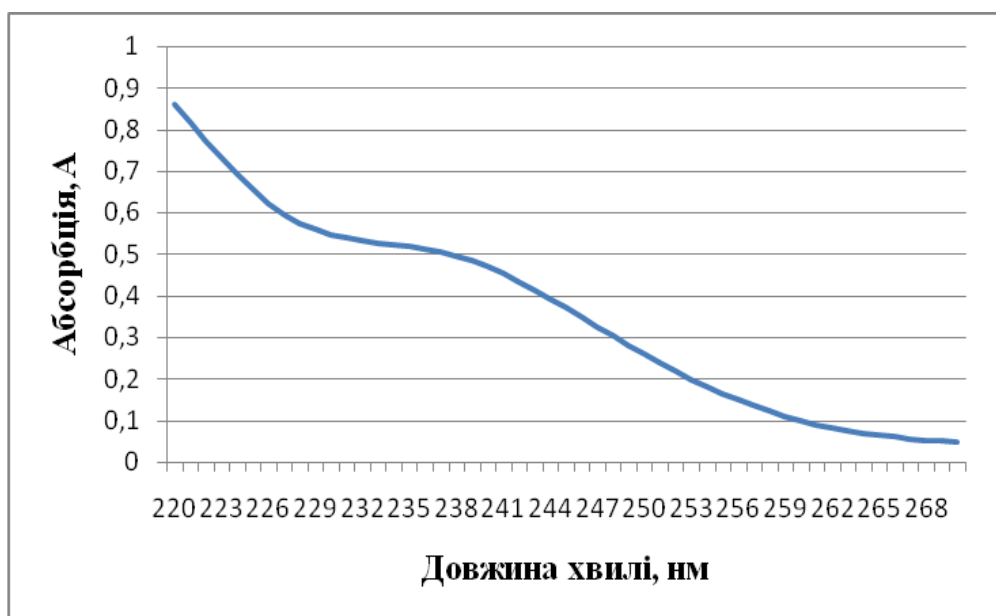


Рис.2.3 УФ-спектр ФСЗ ангіоліну у воді

Кількісний вміст ангіоліну розраховують за формулою:

$$C_{\%} = \frac{A_x \times m_0 \times 100\%}{A_0 \times m_x}, \quad (2.1)$$

де

$A_x$  – абсорбція розчину субстанції ангіоліну;

$m_0$  – наважка стандартного зразка ангіоліну, г;

$A_0$  – абсорбція розчину стандартного зразка;

$m_x$  – наважка субстанції ангіоліну, г.

Досліджено, що субстанцію ангіоліну можна ідентифікувати спектроскопічним методом, а кількісне визначення проводити спектрофотометричним методом. В подальшому планується використання спектрофотометричного методу дослідження для розробки методики стандартизації очних крапель «Ангіолін».

В ході роботи досліджено характеристику матеріалів та методів дослідження», наведено матеріали та обладнання, які були використанні при виконанні експериментальної частини дисертаційної роботи.

Розглянуті характеристики діючої та допоміжних речовин, а саме: показники якості діючої речовини субстанції ангіоліну (вказано отримання субстанції ангіоліну в лабораторних умовах, досліджені існуючі методики стандартизації) та фізичні властивості допоміжних речовин. Наведені характеристика методів, які ми використовували при проведенні дослідження.

Для проведення дослідження використовували наступні методи: спектрофотометрія, рідинна хроматографія. В подальшому були проведені фармакологічні та мікробіологічні дослідження. Для проведення фармакологічного дослідження в якості референс-препарат використано очні краплі «Тіотриазолін» (серія UA/8446/01/01, виробник ОВ «Дослідний завод «ГНЦЛС», Україна). Статистичну обробку результатів проводили з використанням стандартного пакета аналізу програм статистичної обробки результатів, версії Microsoft Office Excell 2003.

## РОЗДІЛ 3

### РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ОЧНИХ КРАПЕЛЬ «АНГІОЛІН»

#### 3.1 Розробка технології очних крапель «Ангіолін»

На сьогоднішній день очні краплі продовжують залишатися найпоширенішою і широко застосовуваною на практиці лікарською формою завдяки традиційності виробництва, зручності застосування [32].

Для нового лікарського засобу було запропонована і створена раціональна лікарська форма у вигляді очних крапель. Раніше було вивчено і підібрано оптимальний вміст діючої речовини в очних краплях. Для проведення дослідження на кафедрі фармацевтичної хімії в лабораторії зі стандартизації і технології лікарських засобів були виготовлені очні краплі «Ангіолін» в концентраціях: 0,5%, 1%, 1,5%, 2% і 2,5%. Після проведення фармакологічних досліджень було встановлено що найбільш ефективними виявились 1% очні краплі «Ангіолін», тому постало завдання розробити технологію виробництва офтальмологічного лікарського засобу. Як відомо, за технологічними параметрами очні краплі необхідно ізотонувати та пролонгувати фармакологічну дію, тобто в їх склад слід додавати допоміжні речовини [33-35, 106, 162].

Важливою характеристикою очних крапель є величина осмотичного тиску. Для регуляції його в очних краплях використовують натрію хлорид, калію хлорид, кальцію хлорид дигідрат, магнію хлорид гексагідрат (з урахуванням сумісності з діючими речовинами) [143-149]. На сьогоднішні найчастіше в склад очних крапель як допоміжну речовину додають метилцелюлозу та натрію хлорид. Натрію хлорид є найбільш універсальним ізотонуючим агентом, який найчастіше додається при приготуванні очних крапель, метилцелюлоза використовуються як пролонгатора [37,39-40].

Виходячи з вищесказаного було вирішено в склад очних крапель «Ангіолін» додавати такі допоміжні речовини як натрію хлорид та метилцелюлоза.

Наступним етапом стало приготування трьох розчинів очних крапель

«Ангіолін» з різноплановим складом. Для цього в дослідженнях використовували сертифіковану субстанцію ангіолін, як допоміжні речовини використовували метилцелюлозу (серія 26101197551), натрію хлорид, вода очищена.

Для виконання дослідження: був приготовлений 1% розчин метилцелюлози, згідно методики, яка наведена нижче:

1,0 г МЦ (метилцелюлози) розчиняють в 50 мл гарячої води, потім перемішують і охолоджують під проточною водою. Після охолодження до кімнатної температури додають 50,0 мл води очищеної, перемішуємо і залишаємо в холодильнику на 12 год до повного розчинення метилцелюлози.

В лабораторії зі стандартизації і технології лікарських засобів на кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ, були приготовлені три розчину очних крапель «Ангіолін» з різноплановим складом:

**Розчин №3:** Склад: ангіолін 1 г, води очищеної 100,00 мл.

**Розчин №2:** Склад: ангіолін 1 г, метилцелюлози 0,5 г, води для ін'єкції 100,00 мл.

**Розчин №1.** Склад: ангіолін 1 г, метилцелюлози 0,5 г, натрію хлорид 0,7 г, води для ін'єкції 100,00 мл.

Надалі було розраховано теоретичну осмолярність, яку розраховували за формулою:

$$O_s = \frac{P \cdot n \cdot 1000}{M}, \quad (3.1)$$

де:

$O_s$  – теоретична осмолярність;

$P$  - концентрація речовин в 1 л розчину (г/л);

$n$  - кількість дисоційованих іонів;

$M$  - молекулярна маса речовини.

У нормі осмотичний тиск плазми крові, слізної рідини і 0,9% розчину натрію хлориду становить 730 кПа, осмолярність - 307 мосмоль/л, осмолярність - приблизно 310 мосмоль/кг.

Необхідна область осмолярності очних крапель досягається додаванням розрахованих кількостей ізотонічних компонентів. При розрахунку було встановлено, що значення осмолярності для ангіоліна з молярною масою 319,84 становить 62,2. Для натрію хлориду з молярною масою 58,44 становить 239,56. Загальна осмолярність для очних крапель «Ангіолін» склала 302,18. Однак, точний теоретичний розрахунок осмолярності розчинів, що містять речовини з великою молекулярною масою, комплексних сумарних екстрактів і висококонцентрованих розчинів неможливий. Оскільки в даному випадку допоміжною речовиною для очних крапель є метилцелюлоза, то такий розрахунок краще провести експериментальним шляхом через визначення осмолярності [40-45].

Наступним етапом дослідження було проведення експериментальної частини визначення осмолярності розчину очних крапель «Ангіолін». Дослідження проводилося за допомогою приладу, а саме, осмометри «The Advanced® Osmometer» Model 303 становить 296,0 мосмоль/кг, тобто практично близького до значення осмолярності слізної рідини (300 мосмоль/кг). Розрахункове значення осмолярності, як правило, вище значення, отриманого експериментально.

Для вимірювання осмолярності були приготовлені три розчину очних крапель, склад яких наведений вище.

Визначення проводили за пониженням температури замерзання розчину (фармакопейний метод). Прилад калібрували і перевіряли за стандартним розчином натрію хлориду 290 мосм/кг. В пробірку для вимірювання поміщали 0,20-0,25 мл і проводили вимірювання осмолярності приладу. Результати наведені в табл. 3.1.

*Таблиця 3. 1.*

Осмолярність трьох розчинів очних крапель «Ангіолін»

Розчини	Склад	Осмолярність, Мосмоль/кг
Розчин № 1	Ангіолін 1 г; Води для ін'єкцій 100,00 мл.	62; 61; 61 = 61,3
Розчин № 2	Ангіолін 1 г; МЦ - 0,5 г; Води для ін'єкцій 100,00 мл.	61; 62; 62 = 61,7

Продовж. табл. 3.1

Розчин № 3	Ангіолін - 1; МЦ – 0,5; NaCl – 0,7; Води для ін`екцій 100,00 мл	297; 295; 296 = 296
---------------	--	---------------------

На підставі проведених досліджень, які наведені в табл. 3.1, для коригування осмолярності був обраний натрію хлорид в концентрації 0,7%, який створює осмолярність препарату рівну 234,3 мосмоль/кг.

Розраховане значення осмолярності очних крапель становить 302,18 мосмоль/л, що підтверджує правильність обраної концентрації натрію хлориду в складі очних крапель.

В результаті роботи розроблено склад очних крапель «Ангіолін». До складу якого входять:

- ангіолін 1,0 г;
- натрію хлорид 0,7 г
- метилцелюлози 0,5 г;
- води очищеної 100,00 мл.

Запропонована оптимальна методика виготовлення 1% очних крапель «Ангіолін» в лабораторних умовах: 1 г ангіоліна поміщають в мірну колбу на 100 мл, розчиняють в 30 мл води очищеної, потім додають 0,7 г NaCl, перемішують і додають 50мл 0,5% розчину метилцелюлози, доводять до мітки водою очищеною.

Проведені експериментальні роботи по розробці технології очних крапель в лабораторних умовах дозволили розробити і стандартизувати її в технологічних регламентах на виробництво даних препаратів [43-46, 173-174, 190].

Розроблений виробничий процес включає наступні стадії, що традиційно використовуються у виробництві очних крапель.

- Санітарна підготовка виробництва;
- Приготування і фільтрація розчину;
- Підготовка первинного пакування;
- Наповнення і герметизація флаконів з розчином;

- Стерилізація флаконів з розчином;
- Маркування та пакування флаконів з розчином;

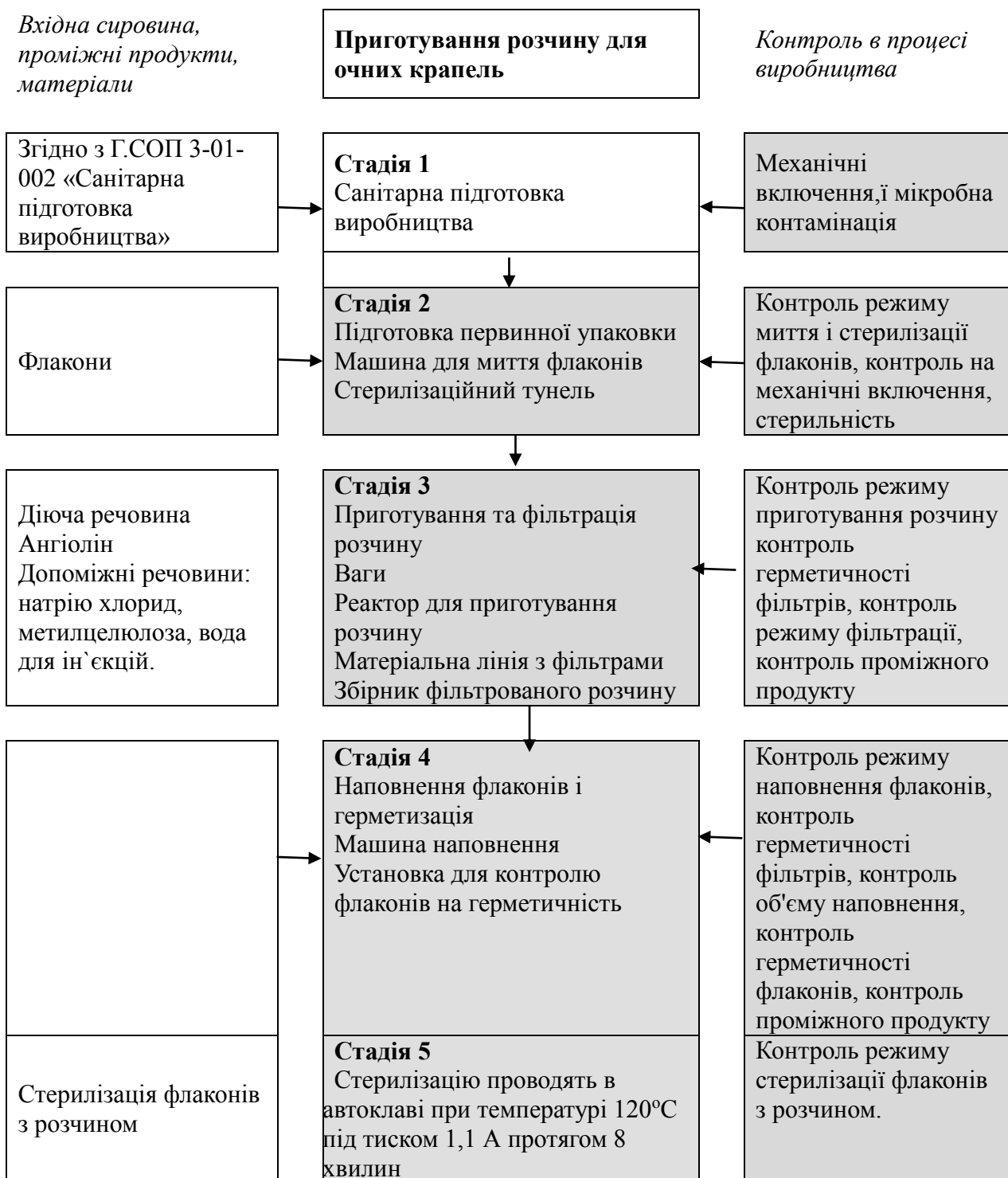






Рис.3.1 Схема технологічного процесу виробництва очних крапель «Ангіолін»

В ході роботи було розроблено технологічну схему виробництва очних крапель «Ангіолін» [172-173].

Розроблену технологічну схему отримання очних крапель «Ангіолін» було апробовано в лабораторних умовах на заводі АТ «Лекхім» (акт апробації від 20.05.2021р.).

### 3.2 Опис стадій технологічного процесу

#### Стадія 1. Санітарна підготовка виробництва

Санітарна підготовка виробництва 1 % очних крапель «Ангіолін» проводиться відповідно до СОП «Санітарна підготовка виробництва». Санітарна підготовка виробництва включає наступне:

- Підготовка вентиляційного повітря;
- Приготування дезінфікуючих розчинів;

- Санітарна підготовка виробничих приміщень;
- Санітарна підготовка обладнання;
- Підготовка персоналу і технологічного одягу до роботи.

Санітарна підготовка виробництва 1 % очних крапель «Ангіолін» здійснюється відповідно до сучасних вимог, що висуваються до виробництва офтальмологічних лікарських засобів, а саме очних крапель [40,52].

#### Стадія 2. Підготовка первинного пакування

Підготовка первинного пакування (флакони місткістю 5мл) проводиться відповідно до документів підприємства (стандартних операційних процедур), які регламентують підготовку матеріалів первинного пакування упаковки, і складається з наступних операцій: миття флаконів; сушка та стерилізація флаконів. Миття та стерилізація флаконів здійснюється в приміщенні класу чистоти D. На стадії контролюють: тривалість миття (попереднього та фінішного), температуру в зоні стерилізації та в зоні охолодження.

Контроль матеріалів первинного пакування здійснюється за показниками: стерильність, механічні вclusions.

#### Стадія 3. Приготування і фільтрація розчину

Проводять вхідний контроль основної та допоміжної сировини, необхідної для виробництва препарату та передають у виробництво після видачі аналітичних листів та письмового дозволу до використання у виробництві, підписаного відповідальною особою. Передача сировини у виробничі приміщення здійснюється через «Вантажний тамбур-шлюз» (клас чистоти n/D).

Згідно з виробничою рецептурою і даними аналітичних листів розраховують кількість компонентів, необхідних для виробництва однієї серії препарату. Зважування проводять в приміщенні класу чистоти D, робоча зона клас: C. Операцію здійснюють згідно Технологічній інструкції /Протоколу виробництва. Виконання технологічних операцій оформляється записом в Протоколі виробництва серії.

Зважування компонентів проводять в боксі для зважування, зі встановленим фільтром класу H 13, для створення безпильового робочого середовища і робочої

зони класу чистоти С з метою захисту сировини від зовнішнього впливу. Розраховану кількість сировини зважують на вагах в спеціальні ємності.

Ємності з сировиною маркують етикетками, роздрукованими на принтері ваг, і передають через матеріальний шлюз у приміщення приготування розчину. Контролюють масу наважок ангіоліну, натрію хлориду, метилцелюлози та води очищеної.

У реактор по трубопроводу із збірника води для ін'єкцій подають воду для ін'єкцій та охолоджують до температури 45-55°C в кількості близько 80 % від об'єму серії.

Після закінчення процесу приготування розчину відбирають середню пробу для контролю проміжного продукту згідно з методиками постадійного контролю за показниками:

- зовнішній вигляд розчину (безбарвна прозора рідина);
- рН розчину (6,5-7,5);
- кількісний вміст в 1 мл.

Фільтрацію розчину проводять в приміщеннях класу чистоти С, В (А).

Після фільтрації розчин поступає в збірник фільтрованого розчину, з якого відбирають пробу для проведення контролю проміжного продукту за показниками: механічні включення, прозорість (повинен бути прозорий), опис (безбарвна прозора рідина). При отриманні позитивних результатів фільтрований розчин по матеріальній лінії під тиском 0,03-0,1 МПа надходить на стадію 4. Наповнення флаконів розчином і герметизація.

Стадія 4. Наповнення флаконів розчином і герметизація

Наповнення та запайку флаконів проводять в приміщенні класу чистоти (А)В. Операції здійснюють згідно з Технологічною інструкцією. Виконання технологічних операцій оформляється записом в Протоколі виробництва.

Стерильні флакони надходять зі стадії 2. На стадії контролюють проміжний продукт за показниками: прозорість (повинен бути прозорий), опис (безбарвна прозора рідина), об'єм, що витягається (не менше 5,0 мл).

Запаяні флакони подаються по передавальному конвеєру до приймального

лотка, де їх збирають в касети і направляють на контроль герметичності.

Перевірку флаконів на герметичність проводять в прохідному стерилізаторі. Після позитивного аналізу на герметичність флакони передають на стадію 5. стерилізацію.

Стадія 5. Стерилізація. Проводять в автоклаві при температурі 120°C під тиском 1,1 Апротягом 8 хвилин.

Стадія 6. Маркування та пакування готової продукції

Контроль розчину на механічні вклучення проводять в некласифікованому приміщенні. Виконання технологічних операцій оформляється записом в Протоколі виробництва.

В процесі маркування контролюють: відповідність етикетки макету графічного зображення, наведеному в МКЯ, правильність і чіткість нанесення номера серії та терміну придатності.

Результати контролю ВКЯ заносить в Протоколи упаковки і постадійного контролю.

Після отримання позитивних результатів аналізу на відповідність препарату вимогам МКЯ його направляють на склад.

### 3.3 Мікробіологічне дослідження очних крапель «Ангіолін»

Препарати, що використовують сьогодні, лише частково задовольняють потреби практичної охорони здоров'я. Багаточисельні повідомлення про формування резистентності у патогенних та умовнопатогенних мікроорганізмів до різних груп протимікробних засобів спонукають до проведення мікробіологічних досліджень.

На кафедрі фармацевтичної хімії в лабораторії зі стандартизації і технології лікарських засобів були виготовлені очні краплі «Ангіолін» з наступним складом: діюча речовина ангіолін; допоміжні речовини: натрію хлорид, метилцелюлоза, вода очищенна, які в подальшому були простерилізовані.

Дослідження мікробної чистоти очних крапель «Ангіолін» проводили згідно

вимог Державної Фармакопеї України (ДФУ другого видання) двома методами – глибинним та поверхневим. Для проведення глибинного методу, по 1 мл зразка вносили у 4 стерильні чашки Петрі, після чого у дві чашки додавали по 20 мл розплавленого та охолодженого до  $45^{\circ}\text{C}$  мл соєво-казеїнового агару (для вирощування бактерій), а інші дві – по 20 мл середовища Сабуро (для вирощування грибів). Посіви швидко перемішували і після застигання агару чашки перевертали.

При проведенні поверхневого методу, на 2 підсушені чашки з соєво-казеїновим агаром та 2 чашки з агаром Сабуро наносили по 0,1 мл досліджуваного препарату та рівномірно розподіляли по поверхні агару за допомогою бактеріологічного шпателью. Також, додатково, робили висів 0,1 мл досліджуваної речовини на кров'яний агар.

Посіви з соєво-казеїновим та кров'яним агаром інкубували при температурі  $32,5\pm 2,5^{\circ}\text{C}$  впродовж 5 діб, з середовищем Сабуро –  $22,5\pm 2,5^{\circ}\text{C}$ .

Посіви передивлялись щоденно. Зростання мікроорганізмів визначали візуально по відсутності / наявності росту колоній на агарі.

За результатами дослідження встановлено, що зростання колоній мікроорганізмів не виявлено, тому додавання консервантів не є доцільним.

Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси кафедри кафедри фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України, кафедри контролю якості і стандартизації лікарських засобів Національної медичної академії післядипломної освіти ім. П. Л. Шупика МОЗ України, кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського, кафедри технології і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

### Висновки до розділу 3

1. За результатами проведених досліджень з підбору допоміжних речовин, які володіють різними фізичними та технологічними властивостями було розроблено оптимальний склад очних крапель «Ангіолін»:

- проведена експериментальна частина визначення осмоляльності розчину очних крапель «Ангіолін»;

- підібрана оптимальна концентрація допоміжних речовин, для виготовлення очних крапель «Ангіолін».

2. За результатами мікробіологічних досліджень очних крапель «Ангіолін» було встановлено, що зростання колоній мікроорганізмів не виявлено, це дало можливість не застосовувати консерванти для виготовлення очних крапель.

3. В ході роботи розроблено технологію виготовлення очних крапель «Ангіолін», складено технологічну схему та стадії отримання очних крапель «Ангіолін».

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін» / Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Акоюн Р.Р., Портна О.О., Ткаченко Г.І. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Том 14, №1(35). С. 52-55. Pharmaceutical Chemistry. 2018. Vol. 16, Iss. 4 (64). P. 11-17.

2. Акоюн Р. Р. Підбір концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін». Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів: матеріали V міжнародної наук-практ конференції. 11-12 бер 2021 р, м. Харків. С. 484-485.

## РОЗДІЛ 4

### РОЗРОБКА МЕТОДИК СТАНДАРТИЗАЦІЇ ОЧНИХ КРАПЕЛЬ «АНГІОЛІН»

#### 4.1 Розробка методики стандартизації очних крапель «Ангіолін» методом спектрофотометрії

Для стандартизації субстанції ангіоліну були застосовані спектральні методи, які є одними з найсучасніших методів фармацевтичного аналізу [30, 82-83].

До переваг спектральних методів аналізу можна віднести об'єктивність, високу чутливість та точність вимірювань, селективність [53,55,85-87]. Також спектральні методи характеризуються невеликою тривалістю проведення аналізу та можливістю їх автоматизації та комп'ютеризації, що значно спрощує процес аналізу (2 розділ), тому було обрано саме метод спектрофотометричного визначення діючої речовини в очних краплях «Ангіолін» [43-46, 163].

В дослідженнях використовували сертифіковану субстанцію ангіоліну. За основу був взятий модифікований спектрофотометричний метод аналізу субстанції ангіоліну. Дослідження проводили з використанням спектрофотометра Optizen POP, вимірювання проводили при довжині хвилі в діапазонні 200-300 нм, товщина кювети 10 мм.

В лабораторних умовах було виготовлено шість серій 1% очних крапель «Ангіолін», до складу якого входили такі допоміжні речовини: натрію хлорид, метилцелюлоза та вода очищенна. В зв'язку з тим, що до складу очних крапель, крім діючої речовини, входять допоміжні речовини, які ускладнюють процес проведення аналізу, було вивчено вплив допоміжних речовин на результати кількісного визначення ангіоліну в очних краплях.

В ході роботи проводили аналіз очних крапель «Ангіолін» за модифікованою методикою спектрофотометричного визначення субстанції ангіоліну, за методикою, яка наведена нижче.

*Методика кількісного визначення:*

*Випробуваний розчин:* 1 мл приготованих очних крапель поміщають в мірну колбу на 50,0 мл та доводять водою до мітки. 10,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 25,0 мл та доводять водою до мітки.

*Приготування розчину робочого стандартного зразку:*

Близько 1,0 г (точна наважка) робочого стандартного зразку поміщають в мірну колбу на 100,0 мл, розчиняють у воді очищеній, доводять до мітки тим же розчинником. 1 мл приготованого розчину поміщають в мірну колбу на 50,0 мл та доводять водою до мітки. 10,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 25,0 мл та доводять водою до мітки.

*Методика приготування розчину метилцелюлози*

1,0 г МЦ (метилцелюлози) розчиняють в 50 мл гарячої води, потім перемішуємо і охолоджуємо під проточною водою. Після охолодження до кімнатної температури додаємо 50,0 мл води очищеної, перемішуємо і залишаємо в холодильнику на 12 годин до повного розчинення метилцелюлози.

1 мл розчину МЦ поміщають в мірну колбу на 50,0 мл та доводять водою до мітки. 10,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу на 25,0 мл та доводять водою до мітки.

Для підтвердження достовірності методики спектроскопічного дослідження було здійснено аналіз 6-ти серій очних крапель «Ангіолін» ((S)-2,6-діаміногексанова кислота 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат). Для кожного розчину було знято спектри поглинання в діапазоні 200-300 нм.

Поперемінно було знято спектри поглинання випробуваного розчину і розчину робочого стандартного зразку в умовах наведених нижче.

Зразки одержаних спектрів наведені на рис.4.1-4.4.



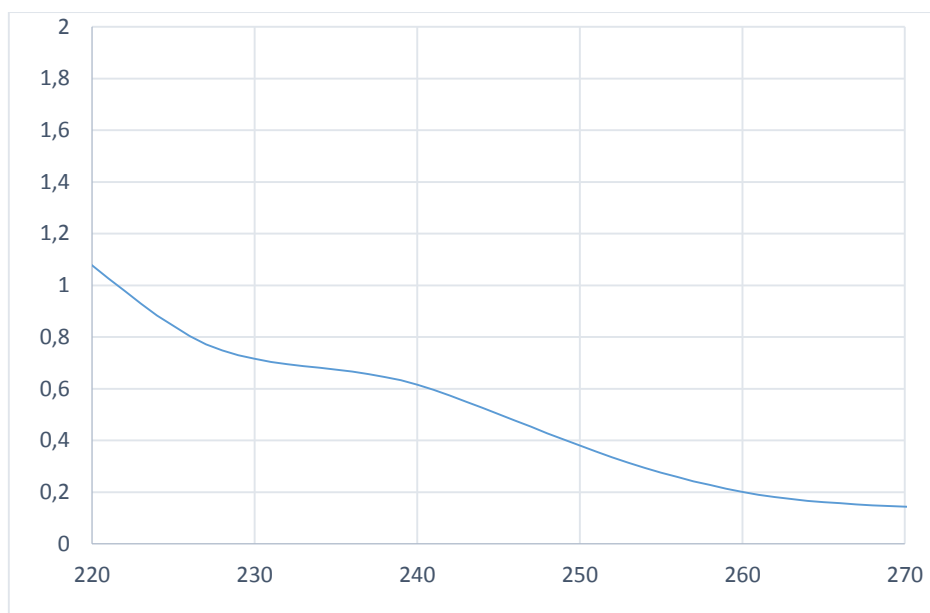


Рис. 4.1 УФ-спектр першої серії 1% очних крапель Ангіолін

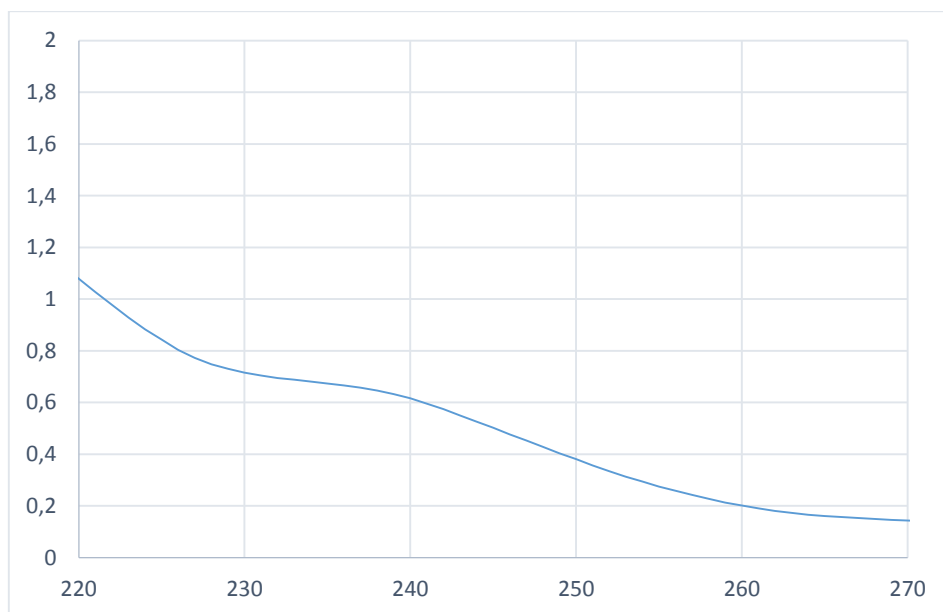


Рис. 4.2 УФ-спектр робочого стандартного зразку

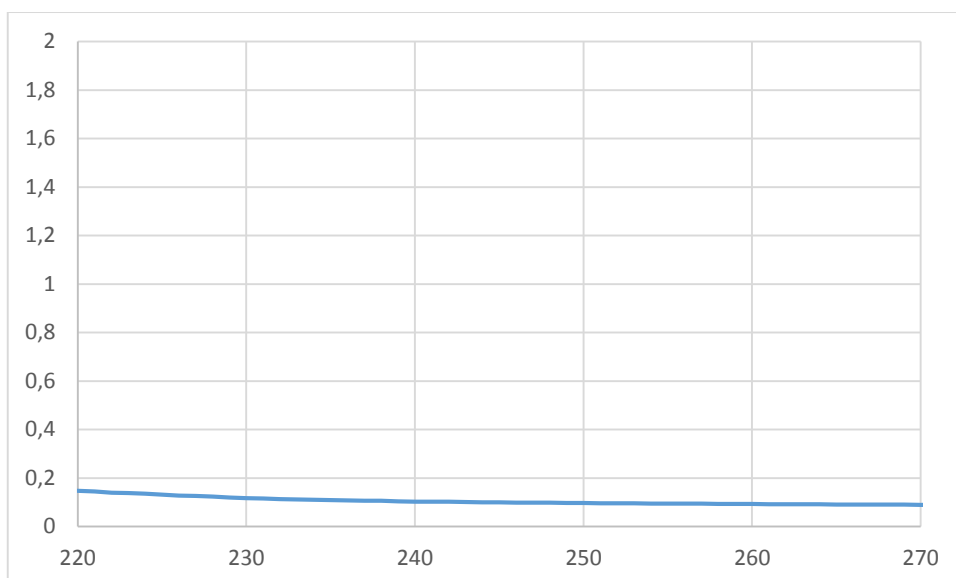


Рис.4.3 УФ-спектр розчину метилцелюлози

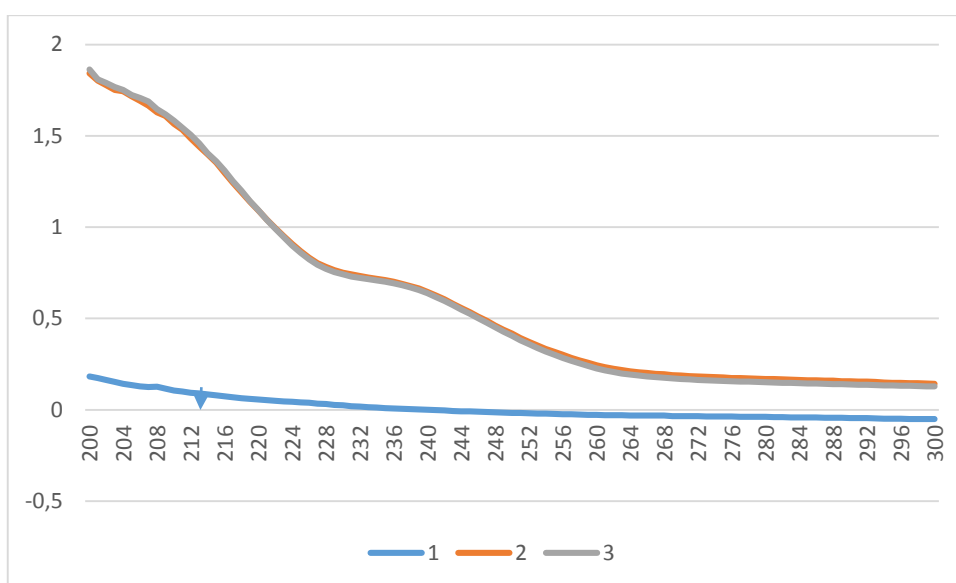


Рис 4.4 УФ- спектри досліджуваних розчинів 1 – розчин очних крапель «Ангіолін», 2 - випробуваний розчин препарату, 3 - розчин порівняння очних крапель Ангіоліну

Як видно з рис.4.3 метилцелюлоза в концентрації 0.5% фактично не впливає на результати аналізу.

Вміст ангіоліну (X) у 1 мл препарату, у грамах, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 1 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 10}{A_0 \cdot 1 \cdot 10 \cdot 50 \cdot 25 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot P}{A_0 \cdot 100 \cdot 100}, \quad (4.1)$$

де

$A_1$  – оптична густина випробуваного розчину;

$A_0$  – оптична густина розчину порівняння;

$m_0$  - маса наважки стандартного зразку ангіоліну, в г;

$P$  – вміст основної речовини ангіоліну, у відсотках (99,9%).

Результати кількісного визначення діючої речовини в очних краплях 1 серії наведені в табл. 4.1.

Таблиця. 4.1

**Результати аналізу першої серії 1% очних крапель Ангіолін методом спектрофотометрії**

№ зразка	Абсорбція $A_x$ , нм	Наважка, мл	Грамівий вміст, г в 1 мл	Статистика
№1	0,653	1,0	0,01010	$\bar{x} = 0,009958333$ $S^2 = 0,00000002$ $S = 0,000162532$ $\Delta x = 0,000162535$
№2	0,634	1,0	0,00981	
№3	0,633	1,0	0,00981	
№4	0,638	1,0	0,00981	
№5	0,652	1,0	0,01011	
№6	0,652	1,0	0,01011	
Розчин стандарта	0,646	1,0017	$= 0,009958333$	

*Примітка\** для дослідження використовували розчин стандарту (1,0017 г речовини розчиняли в 100 мл води очищеної).

Як видно з наведених в табл. 4.1 результатів, вміст ангіоліну в очних краплях знаходиться в межах 0,00981 – 0,01011 г/мл. Таким чином, за вмістом діючої речовини, досліджувана серія очних крапель відповідає вимогам ДФУ. В подальшому були проаналізовані інші п'ять серій очних крапель «Ангіолін», які також відповідали фармакопейним вимогам за вмістом діючої речовини (0,00980 – 0,01015 г/мл). З отриманих результатів встановлено, що методика стандартизації

діючої речовини в очних краплях «Ангіолін» є відтворюваною [167-168, 187].

#### 4.1.1 Валідація методики кількісного визначення субстанції ангіолін в 1% очних краплях методом УФ- спектрофотометрії

Для високого ступеня впевненості, що субстанція відповідає заздалегідь встановленим критеріям прийнятності, зокрема, валідація технологічних процесів проводиться з використанням зразків не менше трьох серій реального продукту з метою підтвердження та надання документального свідчення, що процес (в межах встановлених параметрів) володіє повторюваністю і приводить до очікуваних результатів при виробництві напівпродукту або готового продукту необхідної якості [100, 138].

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 очних крапель ангіоліну. Крім того, була розрахована гранична розрахункова невизначеність методики кількісного визначення ангіоліну в очних краплях [78-81].

При проведенні валідаційних досліджень незалежною величиною (абсцисою) виступає зазвичай концентрація, а залежною (ординатою) – аналітичний сигнал (в даному випадку оптична густина). Через те, що концентрація і аналітичний сигнал різних речовин можуть бути в різних цифрових діапазонах, що вимагає розрахунку критеріїв для кожного конкретного випадку та лишає їх наочності та загальності. В той же час, нас, зазвичай, цікавить концентрація та аналітичний сигнал не в реальних величинах, а у відсотках до номінального значення, тобто так званих «нормалізованих» координатах.

З точки зору практики, саме в нормалізованих координатах доцільно представляти концентрації і аналітичні сигнали. Це формує єдині критерії, які пов'язані тільки з допусками вмісту речовин і не залежать від специфіки конкретних речовин.

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

$$X_i = \frac{C_i}{C_i^{st}} * 100\%, Y_i = \frac{A_i}{A_i^{st}} * 100\%, Z_i = \frac{Y_i}{X_i^{st}} * 100\% \quad (4.2)$$

Грунтуючись на матеріалах попередніх досліджень, було запропоновано проводити кількісне визначення вмісту ангіоліну методом УФ-спектрофотометрії в діапазонні 200-300 нм, товщина кювети 10мм.

Вміст ангіоліну в очних каплях повинен бути від 0,0095 г/мл до 0,0105 г/мл. Критерії придатності валідаційних характеристик методики розраховували для 5 % допуску вмісту діючих речовин в препараті.

Приготування досліджуваного розчину та розчину порівняння ангіоліну проводили відповідно до методики:

в 9 мірних колб місткістю 100 мл поміщають вказані в табл. 4.2 кількості ангіоліну, в кожену колбу додають по 10 мл води очищеної, перемішують протягом 20 хв, доводять об'єм сумішей тим же розчинником до мітки та перемішують ще 5 хв. 5 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 50 мл і доводять водою до мітки. 10 мл отриманого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки.

Таблиця. 4.2

#### Модельні суміші

№ модельного зразку	Ангіолін	
	Маса наважки (мг)	Вміст, в % від номінального значення
1	160,00	80
2	170,00	85
3	180,00	90
4	190,00	95
5	200,00	100

Продовж. табл. 4.2

1	2	3
6	210,00	105
7	220,00	110
8	230,00	115
9	240,00	120

Крім того, була розроблена методика валідаційних досліджень очних крапель Ангіоліну: 1 мл приготовлених 1% очних крапель розчиняють в 25 мл води в мірній колбі на 50 мл і доводять водою до мітки.

1. 8 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (80%).

2. 8,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (85%).

3. 9 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (90%).

4. 9,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (95%).

5. 10 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (100%).

6. 10,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки(105%).

7. 11 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (110%).

8. 11,5 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (115%).

9. 12 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 25 мл і доводять водою до мітки (120%).

*Специфічність.* Після приготування розчинів за методикою, яка представлена вище, проводимо їх аналіз за допомогою модифікованого методу УФ-спектрофотометрії. Критеріями прийнятності є: 1) На діаграмі розчину «плацебо» препарату (зразок 0) повинні бути відсутніми спектри з максимумом

поглинання, співпадаючим з спектром ангіоліну на діаграмі випробуваного розчину; 2) Спектр ангіоліну на діаграмі випробуваного розчину повинен співпадати зі спектром ангіоліну на діаграмі розчину порівняння.

Специфічність методики ідентифікації та кількісного визначення ангіоліну продемонстрована на рис. 4.5.

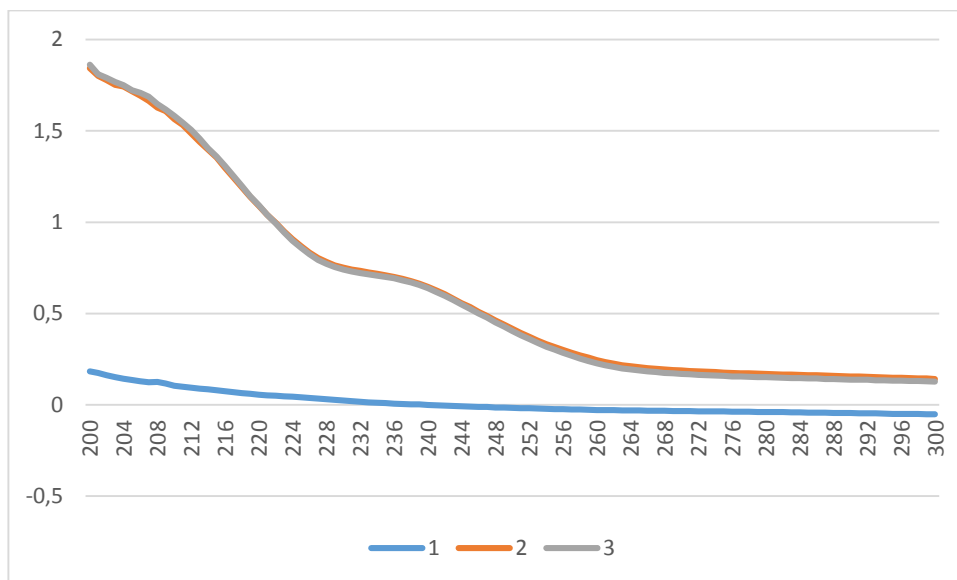


Рис. 4.5 УФ-спектри розчинів: 1 - розчин «плацебо» препарату, 2 - випробуваний розчин препарату, 3 - розчин порівняння очних капель Ангіоліну

Як видно з рис. 4.5, на спектрі світлопоглинання розчину плацебо немає максимуму світлопоглинання при довжині хвилі  $\lambda = 238$  нм, вплив оптичної густини розчину плацебо на результат аналізу є незначущим у порівнянні з максимально допустимою невизначеністю результатів аналізу, яка становить 0,51% відносно оптичної густини максимуму поглинання розчину порівняння очних капель Ангіоліну:

$$\max \delta \leq 0,32 * \Delta_{As} = 0,32 * 1,6 = 0,51\%$$

$$\delta_{exc} = \frac{A_{blank}}{A_{st}} * 100 = \frac{A_{blank}}{A_{st}} * 100 = \frac{0,003}{0,67} * 100 = 0,44\% \quad (4.3)$$

де

$A_{blank}$  – оптична густина розчину «плацебо»;

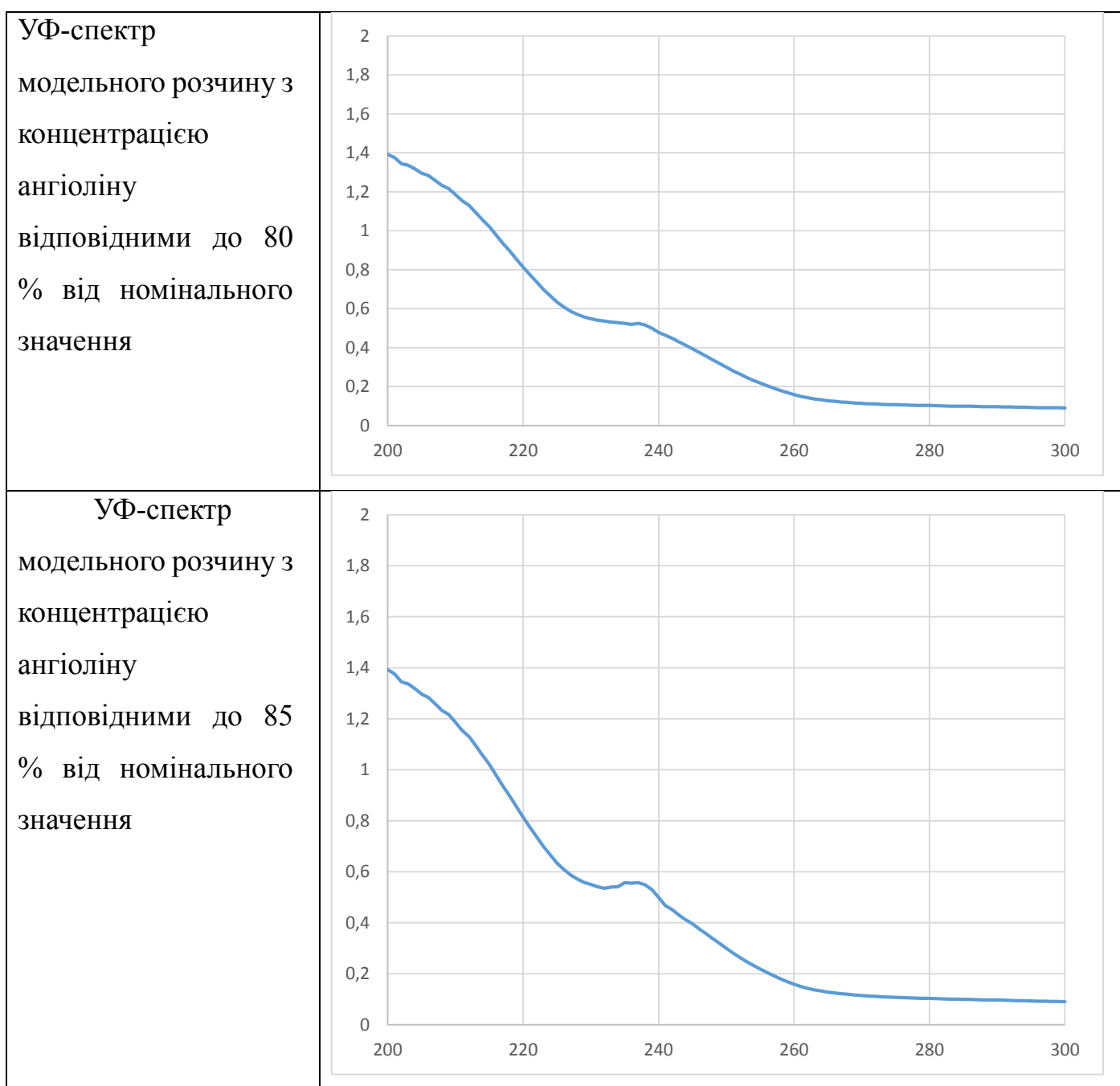
$A_{st}$  – оптична густина розчину порівняння очних капель Ангіоліну.

Отже, запропонована методика, яка дозволяє визначати Ангіолін у

присутності всіх інших компонентів в очних краплях методом УФ-спектрофотометрії, специфічна.

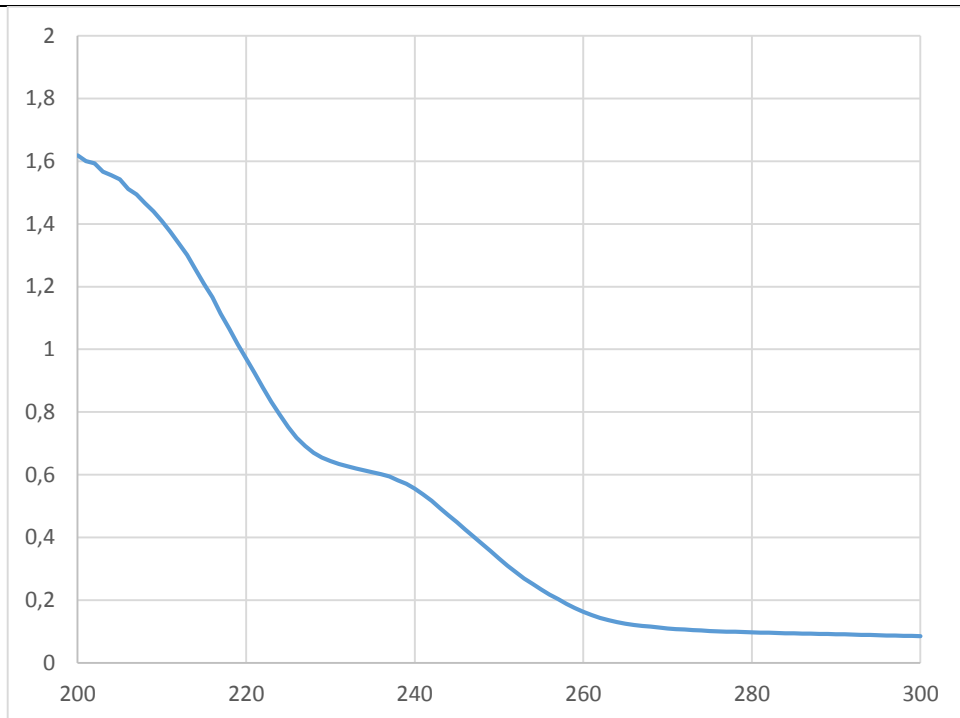
Приготування модельних випробуваних розчинів. Характеристики правильності та прецизійності досліджували на модельних розчинах препарату з концентраціями Ангіоліну, які відповідають 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105%.

Таблиця 4.3

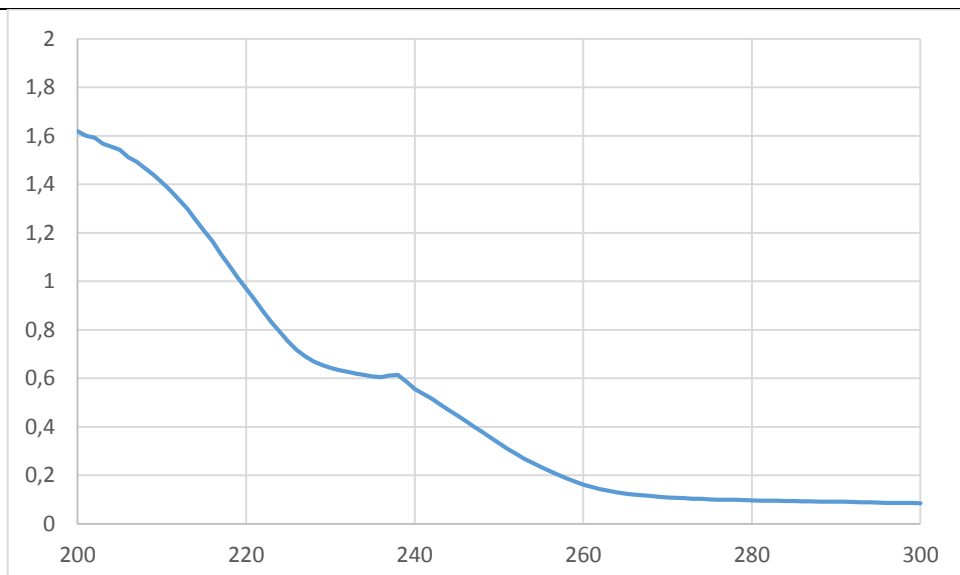




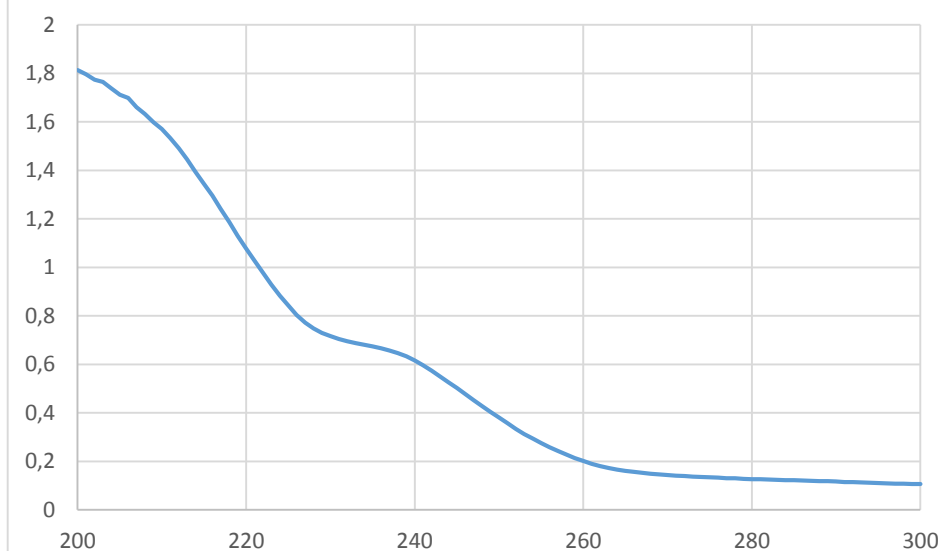
УФ-спектр  
модельного розчину з  
концентрацією  
ангіоліну  
відповідними до 90  
% від номінального  
значення



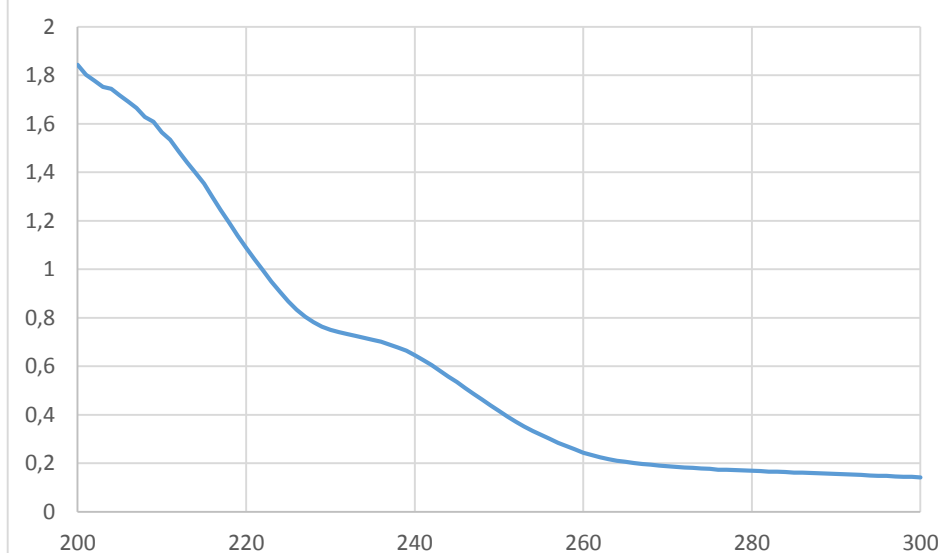
УФ-спектр  
модельного розчину з  
концентрацією  
ангіоліну  
відповідними до 95  
% від номінального  
значення



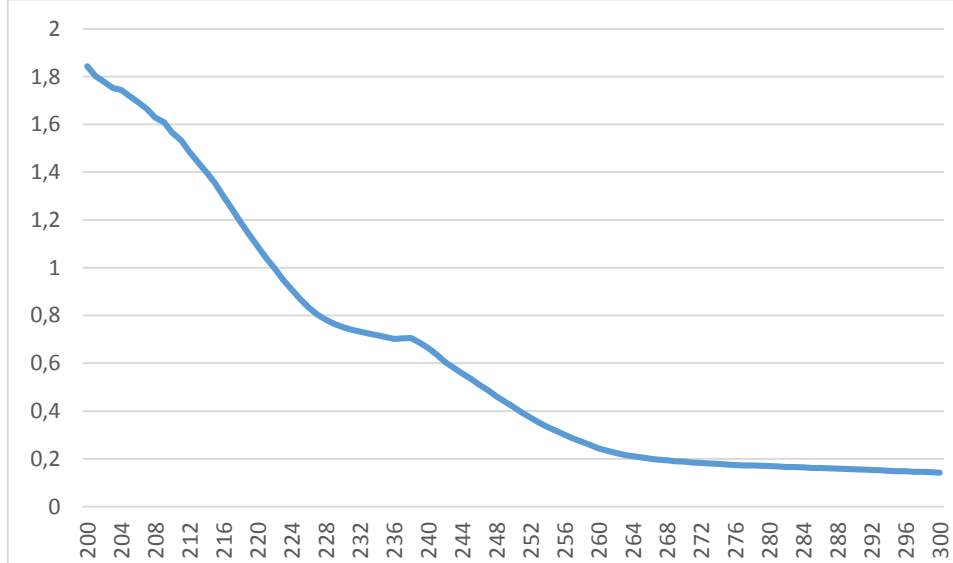
УФ-спектр  
 модельного розчину з  
 концентрацією  
 ангіоліну  
 відповідними до 100  
 % від номінального  
 значення



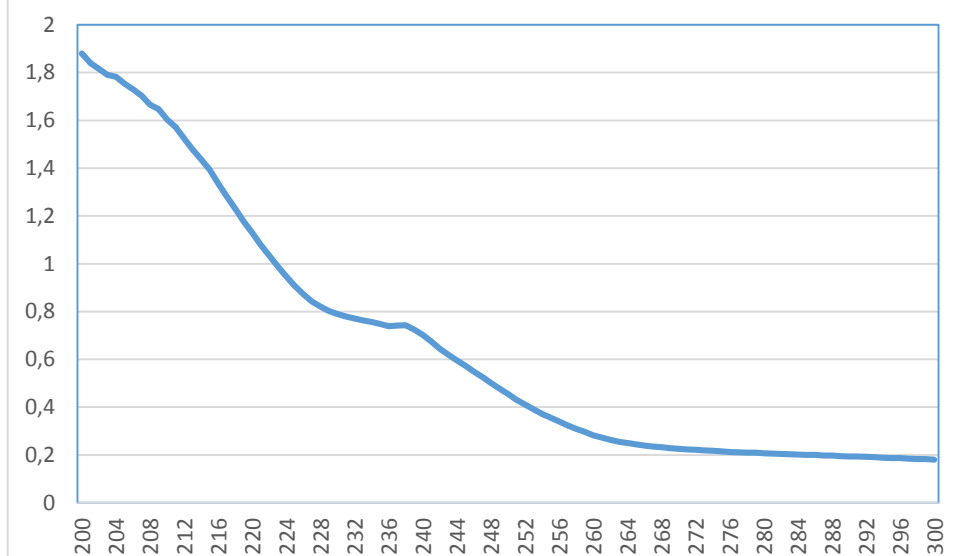
УФ-спектр  
 модельного розчину з  
 концентрацією  
 ангіоліну  
 відповідними до 105  
 % від номінального  
 значення



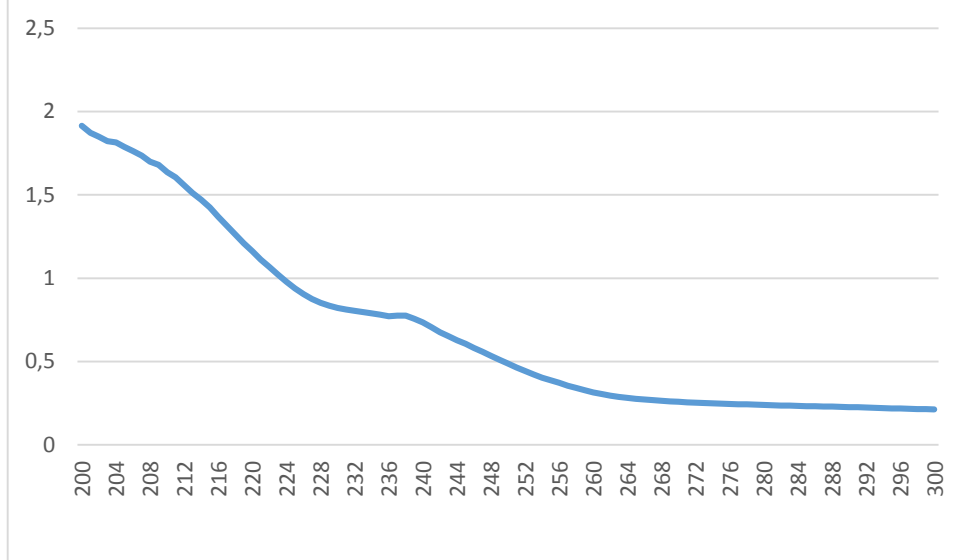
УФ-спектр  
 модельного розчину з  
 концентрацією  
 ангіоліну відповідно  
 до 110 % від  
 номінального  
 значення



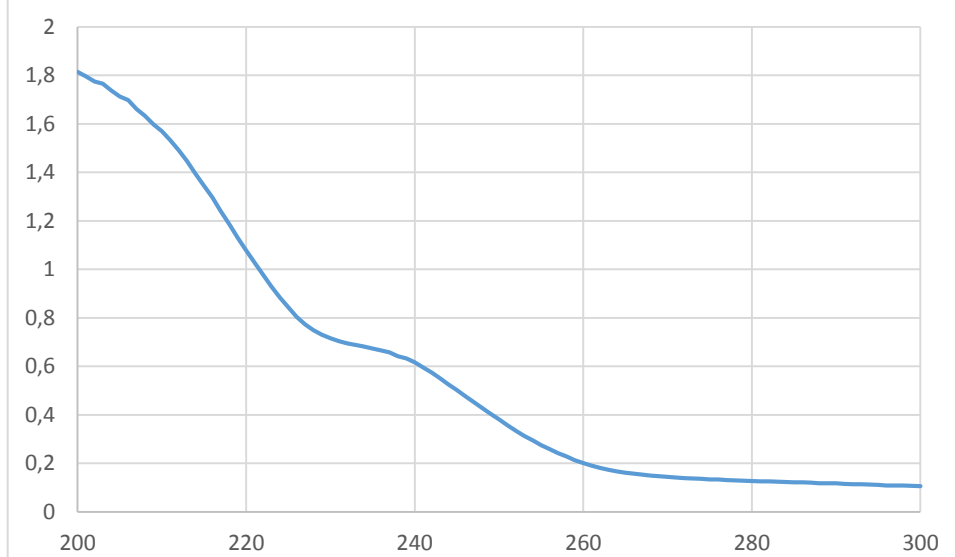
УФ-спектр  
 модельного розчину з  
 концентрацією  
 ангіоліну  
 відповідними до 115  
 % від номінального  
 значення



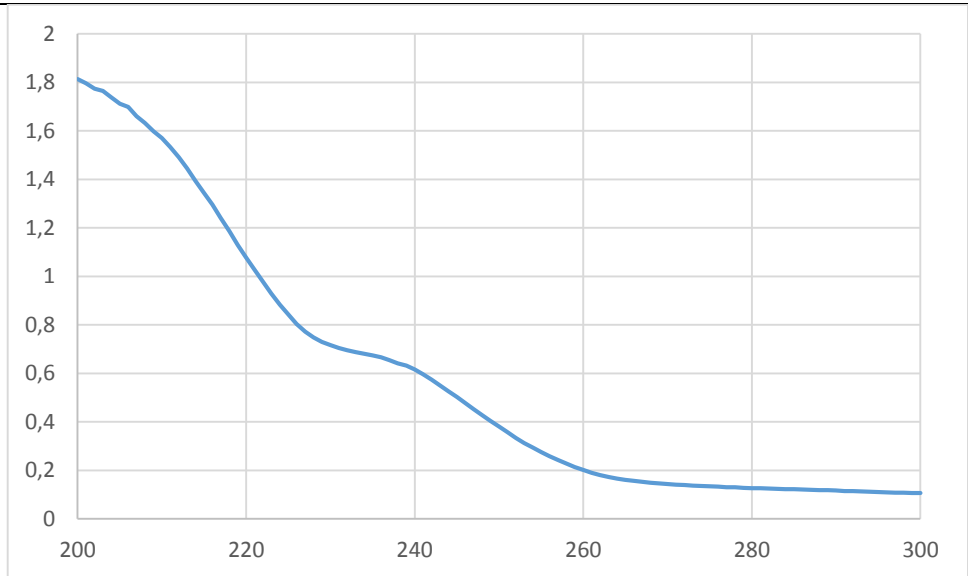
УФ-спектр  
 модельного розчину з  
 концентрацією  
 ангіоліну  
 відповідними до 120  
 % від номінального  
 значення



УФ-спектр серії  
 випробуваного  
 розчину ангіоліну



УФ-спектр розчину  
стандартного зразку



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 потрібну правильність, збіжність та лінійність.

Лінійність — здатність методики (у межах діапазону застосування) давати величини, прямо пропорційні концентрації (кількості) аналізованої речовини у зразку. При цьому повинна виходити лінійна залежність між взятою («істиною»)  $M_B$  та знайденою  $M_3$  кількістю визначаємої речовини.

Характеристику лінійності досліджували в діапазоні концентрацій ангіоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення.

Графік лінійної залежності представлений на рис. 4.6, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності в табл. 4.4 та 4.5.

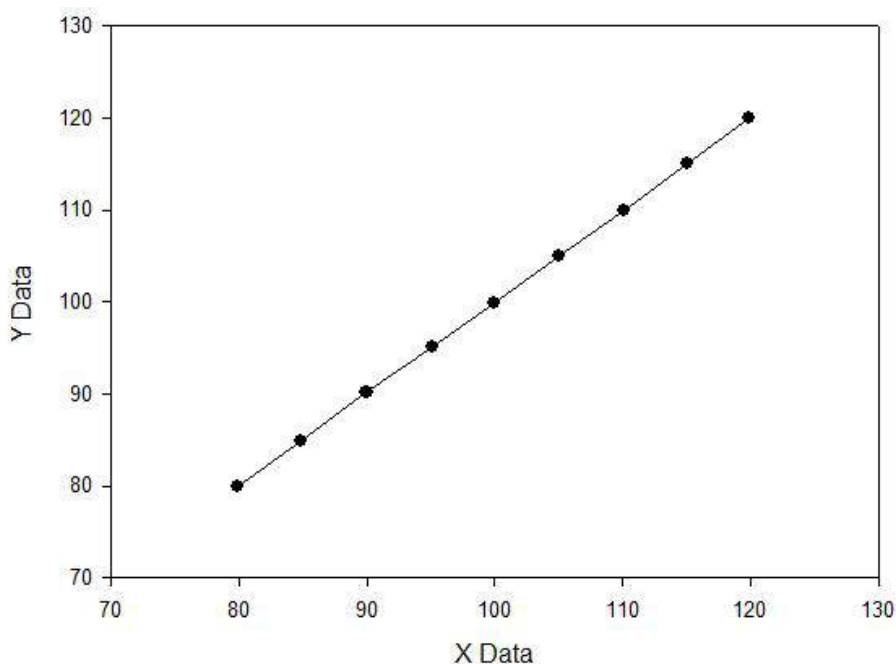


Рис. 4.6 Лінійна залежність знайденої концентрації Ангіоліну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах методом УФ-спектрофотометрії

Таблиця 4.4

**Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації ангіоліну від його введеної концентрації**

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
B	0,9974			
S <sub>b</sub>	0,0034			
A	0,2480	≤  0,24	≤  2,6	Витримується за 1 критерієм
S <sub>a</sub>	0,3381			
SD <sub>0</sub>	0,1303			
SD <sub>0</sub> /b	0,01306	≤  0,84		Виконуються
R	1,0000	>  0,99810		Виконуються

Як видно з представлених даних, вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто лінійність методики кількісного визначення ангіоліну підтверджується в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту ± 5 %.

*Правильність* характеризує ступінь відповідності між відомим вмістом визначуваної речовини в розчині та його вмістом в розчині, який визначається за даною методикою.

*Збіжність* характеризує *прецизійність* методики при її виконанні в одних і тих самих умовах протягом невеликого проміжку часу. На даному етапі збіжність досліджується на 9 модельних сумішах, які охоплюють діапазон застосування методики.

Правильність та збіжність методики була перевірена методом «введено-знайдено». Результати кількісного визначення ангіоліну в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 4.5 та 4.6.

Таблиця 4.5

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

№ Розчину	Наважкаангіоліну, г ( $m_{st} = 0,2000$ )	Введено в % від номінальної концентрації ( $X_i$ , факт., %)	Середня оптична густина ( $A_i^{st} = 0,643$ )	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	0,1598	79,89	0,517	79,99	100,13
2	0,1697	84,85	0,549	84,91	100,07
3	0,1799	89,97	0,582	90,08	100,12
4	0,1903	95,16	0,614	95,03	99,86
5	0,1999	99,94	0,646	99,92	99,98
6	0,2101	105,03	0,678	104,93	99,90
7	0,2203	110,15	0,705	109,95	99,82
8	0,2302	115,10	0,743	115,01	99,92
9	0,2397	119,86	0,776	120,03	100,14
Середнє, $Z_{cp}$ , % =					99,99
Відносне стандартне відхилення, $RSD_z$ , % =					0,12

Продовж. табл. 4.5

1	2
Відносний довірчий інтервал $\Delta z \% = t(95\%, 9 - 1) \times RSDz = 1.86 \times 0.12 =$	0,22
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta A_s, \% =$	1,6
Систематична помилка $\delta \% =  Z_{ср} - 100  =$	0,01
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.22/3 = 0.07 \% > 0.01 \%$ Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$ : 2) практична незначущість: $\delta \% \leq 0.32 \times 1.6 = 0.51 \% > 0.01$	Виконується Виконується
Загальний висновок про методику	КОРЕК ТНА

З даних, наведених в табл. 4.5 виходить, що методика кількісного визначення ангіоліну в очних каплях методом УФ-спектрофотометрії характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною.

Як свідчать дані, наведені в табл. 4.5, в діапазоні концентрацій ангіоліну 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  $\Delta z$  для ангіоліну не перевищує критичне значення для збіжності результатів (1,6%) (табл. 4.6, 4.7). Також методика характеризується достатньою правильністю, так як виконується критерій незначущості систематичної похибки методики. Систематична похибка методики задовольняє вимоги статистичної та практичної незначущості. Високе значення коефіцієнта кореляції  $r = 1,0000$  та  $0,99994$  задовольняє вимоги критерію прийнятності ( $r = 0,9998$ ) та підтверджує лінійність залежності між взятою та знайденою кількістю Ангіоліну 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 Ангіоліну у всьому діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення (табл. 4.6, 4.7).

*Прогноз повної невизначеності методики*

Для підтвердження коректності методики при відтворенні в інших лабораторіях був проведений прогноз повної невизначеності методики. Повна невизначеність методики аналізу ( $\Delta_{As}$ ) включає в себе невизначеність пробопідготовки ( $\Delta_{SP}$ ) та невизначеність кінцевої аналітичної операції ( $\Delta_{FAO}$ ):

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (4.4)$$

Оцінка методики: очікувана невизначеність пробопідготовки складалася з невизначеності наважки препарату та наважки, яка була взята для приготування розчину порівняння, доведення до мітки розчинів та взяття аліквот. Розрахунки проведені з розрахункових формул проекту ФСП з використанням підходу до допустимої невизначеності мірного посуду. Розрахунки та величини невизначеності процедури пробопідготовки наведені в табл. 4.7.

Невизначеність взяття наважки розраховують за формулою:

$$\Delta_m = \frac{0,2}{m} \times 100 \% \quad (4.5)$$

де

$m$  – маса наважки, в міліграмах.

Таблиця 4.7

#### Розрахунок невизначеності пробопідготовки для методики кількісного визначення Ангіоліну

Операція пробопідготовки	Параметр для розрахункової формули	Невизначеність ( $\Delta$ ), %
Розчин порівняння		
Взяття наважки Ангіоліну	$m_0 = 200$ мг	0,1 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 100,0 мл до мітки	100	0,12 %
Взяття розчину піпеткою 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %
Взяття розчину піпеткою 10 мл	10	0,25%



Продовж. табл. 4.7

1	2	3
Доведення до об'єму 25 мл	25	0,23%
Випробуваний розчин		
Взяття наважки Ангїоліну	$m_0 = 200$ мг	0,1 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 100,0 мл до мітки	100	0,12 %
Взяття розчину піпеткою 5 мл	5	0,37 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %
Взяття розчину піпеткою 10 мл	10	0,25%
Доведення до об'єму 25 мл	25	0,23%

Сумарна невизначеність пробопідготовки  $\Delta_{SP}$  (для Ангїоліну) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{2 * 0.1^2 + 2 * 0.12^2 + 2 * 0.37^2 + 2 * 0.17^2 + 2 * 0.25^2 + 2 * 0.23^2} \approx 0,78\% \quad (4.6)$$

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

$$\max \Delta_{FAP} = \sqrt{\max \Delta_{As}^2 - \Delta_{SP}^2} = \sqrt{1.6^2 - \Delta_{SP}^2}; \quad (4.7)$$

$$\text{для Ангїоліну: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1.6^2 - 0.78^2} = 1.39.$$

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

$$\max RSD = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{t \cdot \sqrt{2}} = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{2.92 \cdot \sqrt{2}} = \max \Delta_{FAP} \cdot 0.4194; \quad (4.8)$$

$$\text{для Ангїоліну: } \max RSD = 0.4194 \cdot 1.39 = 0.58;$$

де  $t$  – однобічний 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 випробуваний розчин та розчин порівняння, RSD оптичної густини у яких належить до однієї генеральної сукупності.

Можна бачити, що критичні значення для  $\max RSD$  декілька відрізняються від

такого в 2.2.46N ( $\max RSD = 0.58$ ), але невелике перевищення  $\Delta_{SP}$  рівня незначущості приводить 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 спектрів Ангіоліну з фактичних даних (табл. 4.8).

Таблиця 4.8

#### Відносне стандартне відхилення оптичної густини Ангіоліну ( $A$ )

	Ангіолін	
	$A_0^*$	$A_1^{**}$
	0,644	0,646
	0,641	0,642
0,645	0,640	
$RSD, \%$	0,002	0,003
$RSD_{max}, \%$ ( $n_0 = 3, B = 5 \%$ )	0,58	
* $A_0$ – оптична густина розчину Ангіоліну, отримана з спектрів розчину порівняння.		
** $A_1$ – оптична густина розчину Ангіоліну, отримана з спектрів досліджуваного розчину.		

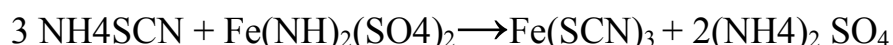
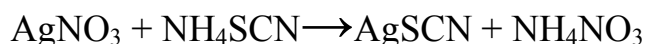
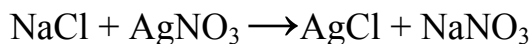
Отримані значення відносних стандартних відхилень для спектрів Ангіоліну суттєво менше  $\max RSD$ .

Методика визначення ангіоліну методом УФ-спектрофотометрії в діапазоні застосування методики відповідає критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність (сходимість) та лінійність. Повна прогнозована невизначеність результатів аналізу не перевищує критичне значення, регламентоване ДФУ.

#### 4.2 Визначення натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін»

До складу очних крапель «Ангіолін» входить допоміжна речовина натрію хлорид, тому було запропоновано та проведено кількісне визначення методом аргентометрії, а саме методом Фольгарда (метод зворотного титрування).

Цей метод ґрунтується на осадженні хлоридів надлишком стандартного розчину аргентуму нітрату з подальшим його відтитруванням стандартним розчином амонію тіоціанату. Як індикатор у цьому методі використовують розчин ферум (III) амонію сульфату (залізо-амонієвий галун), який утворює комплексну сполуку.



Кількісне визначення проводили за наступною методикою: до 1 мл розчину очних крапель «Ангіолін» додають 2 мл 0,1 М  $\text{AgNO}_3$ , 2 мл нітратної кислоти та 10 крапель індикатору ферум (III) амонію сульфату (залізо-амонієвий галун). Титрують 0,1 М розчину амонію тіоціанату.

Кількісний вміст натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін» розраховують за формулою:

$$C = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} * K_n - V_{\text{NH}_4\text{SCN}} * K_n) * T * 100}{V}, \quad (4.9)$$

де:

$V$  – об'єм взятого розчину, мл;

$T$  – титр за хлорид-іоном;

$K_n$  – поправочний коефіцієнт;

$V_{\text{AgNO}_3}$  – об'єм розчину 0,1 М срібла нітрату;

$V_{\text{NH}_4\text{SCN}}$  – об'єм розчину 0,1 М амонію тіоціанату.

Результати, які були отримані при кількісному визначенні натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін» методом аргентометрії та їх статистична обробка наведені в табл 4.9.

**Визначення натрію хлориду в очних крапель «Ангіолін» методом  
Фольгарда**

№ Серії	V, мл AgNO <sub>3</sub>	V,мл NH <sub>4</sub> SCN	C,%	Статистична обробка
1	2,0	0,77	0,7188	$\bar{x} = 0,7090167$ $S^2 = 5,035$ $S = 0,0070957$ $\Delta x = 0,0070972$
2	2,0	0,78	0,7129	
3	2,0	0,78	0,7129	
4	2,0	0,80	0,7012	
5	2,0	0,79	0,7071	
6	2,0	0,80	0,7012	

*Примітка* \*K<sub>п</sub> AgNO<sub>3</sub>, K<sub>п</sub> NH<sub>4</sub>SCN=1,0000

Як видно з наведених даних, вміст натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін» знаходиться в межах 0,701-0,718г/мл. Таким чином, за вмістом діючої речовини, досліджувана серія очних крапель, відповідає вимогам ДФУ. В подальшому були проаналізовані інші п'ять серій очних крапель «Ангіолін», які також відповідали фармакопейним вимогам за вмістом натрію хлориду. З отриманих результатів встановлено, що методика визначення вмісту натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін» є відтворюваною.

#### 4.2.1 Валідація аргентометричної методики кількісного визначення субстанції натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін»

Загальний вираз для розрахунку вмісту натрію хлориду методом титрування речовини в випробуваній пробі у відсотках має вигляд:

$$C = \frac{(V(\text{AgNO}_3) * K_n - V(\text{NH}_4\text{SCN}) * K_n - V_0) * T * 100}{m} \quad (4.10)$$

V -об`єм взятого розчину, мл;

$T$  - кількість аналізованої речовини, що відповідає 1 мл титранту номінальної концентрації;

$K_n$  – поправочний коефіцієнт;

$V_{AgNO_3}$  – об'єм розчину 0,1 М срібла нітрату;

$V_{NH_4SCN}$  – об'єм розчину 0,1 М амонію тіоціанату.

$V_o$  - об'єм, який пішов на титрування холостого розчину, мл;

$m$  – об'єм досліджуваної лікарської форми, мл.

Для проведення валідаційних досліджень кількісного визначення натрію хлориду в очних краплях Ангіоліну використовували методику: до 10 мл очних крапель Ангіоліну додаємо 5 мл кислоти азотної розведеної, 25,0 мл 0,1 М розчину срібла нітрату і 2 мл дибутилфталату. Одержаний розчин струшують і титрують 0,1 М розчином амонію тіоціанату, використовуючи як індикатор розчин заліза (III) амонію сульфату Р2, інтенсивно перемішуючи до кінцевої точки титрування [95, 137, 150-155].

1 мл 0,1 М розчином амонію тіоціанату відповідає 5,844 мг NaCl.

Вміст натрію хлориду в субстанції має бути не менше 99.0% і не більше 100.5% в перерахунку на суху речовину. Таким чином, з огляду на (5.4),  $\max \Delta_{As} = 0,24\%$ .

*Чистота субстанції, що використовується для проведення валідації.* Для проведення валідації методики титрування використовували серію № 401107 субстанції натрію хлориду, яка відповідала вимогам діючої специфікації. При цьому, втрата в масі при висушуванні становила 0.039%.

З огляду на незначну втрату в масі при висушуванні (0.039%) в подальших розрахунках вміст основної речовини приймалося рівним 100.0%.

*Стандартизація титрантів.* З метою зменшення невизначеності, встановлення титру 0,1 М розчину срібла нітрату та 0,1 М амонію тіоціанату проводили за всіма вимогами ДФУ. Для визначення 0,1 М розчину срібла нітрату користувалися наступною методикою: 0.100 г натрію хлориду Р3 розчиняють у 30.0 мл води Р і титрують приготованим розчином срібла нітрату з використанням як

індикатора калію хромату.

Для встановлення титру 0,1 М розчину амонію тіоціанату використано наступну методику визначення: до 20.0 мл 0,1 М розчину срібла нітрату додають 25 мл води Р, 2 мл кислоти азотної розведеної Р, 2 мл розчину заліза(III) амонію сульфату Р2 і титрують приготованим розчином амонію тіоціанату до появи червонувато-жовтого забарвлення.

Було отримано середнє з 5 паралельних титрувань для кожного титранту. Значення коефіцієнта поправки до номінальної концентрації титрованих розчинів срібла нітрату амонію тіоціанату відповідно дорівнюють:  $K_{\text{P}_{\text{AgNO}_3}} = 1.0067$ ,  $K_{\text{P}_{\text{NH}_4\text{SCN}}} = 1.015$ .

*Об'єм холостого досліду:*  $V_0=0,19$  мл, що становить 0,99% від номінального об'єму титрування.

*Наважки для вивчення лінійності.* Брали таку кульку кількість лікарської форми, щоб субстанції натрію хлориду для різних точок (і) на прямій становили 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115 і 120% від номінальної маси 0,007 г/мл. Для дослідження відтворюваності результатів для різних дослідів з вивчення лінійності, брали по 2 наважки для кожної точки (і), позначаючи їх відповідними індексами як  $i_1$  і  $i_2$ . Відповідно отримували 2 набори по 9 точок, які окремо обробляли методом найменших квадратів по прямій. Для порівняння обробляли також об'єднану вибірку з 18 точок, для якої окремо розраховували критерії за принципами, викладеними вище.

*Лінійна залежність.* Результати обробки методом найменших квадратів кожного з двох наборів 9 точок представлені в табл. 4.10. Критерії взяті з табл. 2 (для готових лікарських засобів) і співвідношень. Для порівняння обробляли також об'єднану вибірку з 18 точок, для якої окремо розраховували критерії за принципами, викладеними вище.

Таблиця 4.10

## Результати дослідження лінійностей нормалізованих координатах

№ наважки	Наважка лікарської форми, $m_i$ , мЛ, $m_{ст}=10$ мЛ	X, %	$V_{iAgNO_3}$ , мЛ	$V_{NH_4SCN}$ , мЛ	C, %, $C_{ст}=0,7\%$	$Y_i$ , %	Z, %
80_1	8,0	80,29	25,0	17,40	0,564	80,61	100,4
80_2	8,0	80,2	25,0	17,34	0,560	79,98	99,72
85_1	8,5	85,99	25,0	16,23	0,603	86,17	100,21
85_2	8,5	84,89	25,0	16,30	0,598	85,38	100,58
90_1	9,0	90,57	25,0	15,18	0,638	91,08	100,56
90_2	9,0	89,36	25,0	15,41	0,623	88,95	99,54
95_1	9,5	95,19	25,0	14,13	0,669	95,56	100,38
95_2	9,5	95,74	25,0	14,05	0,674	96,22	100,5
100_1	10,0	100,92	25,0	12,92	0,706	100,88	99,96
100_2	10,0	100,17	25,0	12,94	0,705	100,7	100,53
105_1	10,5	104,44	25,0	11,78	0,736	105,08	100,61
105_2	10,5	105,43	25,0	11,76	0,737	105,34	99,91
110_1	11,0	110	25,0	10,46	0,773	110,42	100,39
110_2	11,0	109,68	25,0	10,40	0,766	109,38	99,73
115_1	11,5	115,32	25,0	9,07	0,810	115,73	100,35
115_2	11,5	114,01	25,0	9,34	0,796	113,74	99,76
120_1	12,0	120,54	25,0	7,59	0,848	121,11	100,47
120_2	12,0	119,44	25,0	7,92	0,832	118,79	99,46

Таблиця 4.11

Характеристика лінійної залежності  $Y = a + b * X$  для набору  $i_1$ 

Параметр	Значення	Стандартне відхилення (SD)	Критерій статистичної незначності ( $\leq 0,85 * SD$ )	Критерій практичної прийнятності	Висновок
Набір $i_1$					
A	-0,1935	0,54	$ a  \leq 0.46$		Відп.
B	1,0057	0, 0,0054			.
1-b	0,0057	0, 0,0054	$ 1-b  \leq 0.0046$		Не відп.
S <sub>0</sub>	0,2043			$\leq 0,63$	Відп.
R	0,9999			$\geq 0,9989$	Відп.
r <sup>2</sup>	0,9998			$\geq 0,9952$	Відп.
$\delta_{RL, 80}$	0,33			$\leq 0,67$	Відп.
$\delta_{RL, 120}$	0,41			$\leq 0,67$	Відп.
MB	1,8				
MKB	5,4				
Загальний висновок про лінійність для набору $i_1$					Відп.

Таблиця 4.12

Характеристика лінійної залежності  $Y = a + b * X$  для набору  $i_2$ 

Параметр	Значення	Стандартне відхилення (SD)	Критерій статистичної незначності ( $\leq 0,85 * SD$ )	Критерій практичної прийнятності	Висновок
Набір $i_2$					
A	1,3645	1,12	$ a  \leq 0.952$		Не відп.
B	0,9858	0,0111			



Продовж. табл. 4.12

1	2	3	4	5	6
1-b	0,0142	0,0111	1-b  ≤ 0.0094		Не відп.
S <sub>0</sub>	0,4284			≤ 0,63	Відп.
R	0,9996			≥ 0,9989	Відп.
r <sup>2</sup>	0,9991			≥ 0,9952	Відп.
δ <sub>RL, 80</sub>	3,12			≤ 0,67	Відп.
δ <sub>RL, 120</sub>	2,55			≤ 0,67	Відп.
MB	3,7				
MKB	11,2				
Загальний висновок про лінійність для набору i_2					Відп.

Таблиця 4.13

**Характеристика лінійної залежності  $Y = a + b * X$  для об'єднаного набору з 18 точок**

Параметр	Значення	Стандартне відхилення (SD)	Критерій статистичної незначності (≤ 0,78*SD)	Критерій практичної прийнятності	Висновок
Об'єднаний набір з 18 точок					
A	0,55	0,76	a  ≤ 0,593		Відп.
B	0,9962	0,0075			
1-b	0,0038428	0,0075	1-b  ≤ 0,0059		Відп.
S <sub>0</sub>	0,41			≤ 0,63	Відп.
R	0,99954			≥ 0,9989	Відп.
r <sup>2</sup>	0,99909			≥ 0,9952	Відп.
δ <sub>RL, 80</sub>	1,07			≤ 0,67	Відп.
δ <sub>RL, 120</sub>	0,84			≤ 0,67	Відп.

Продовж. табл. 4.13

1	2	3	4	5	6
МВ	2,5				
МКВ	7,6				
Загальний висновок про лінійність для об'єднаного набору з 18 точок					Відп.

Як видно з табл. 4.11-4.13 вимога одночасної статистичної незначущості величин  $|a|$  і  $|1-b|$  не виконується для обох наборів з 9 точок, але виконується для всього набору з 18 точок. У той же час, обидва набори з 9 точок і об'єднаний набір з 18 точок задовільняють вимоги практичної прийнятності лінійної залежності.

Відзначимо, що максимальна величина систематичної похибки може досягатися як при 80% номінального змісту ( $\delta_{RL,80}$ ) - набір  $i_2$  і об'єднаний набір з 18 точок, так і при 120% ( $\delta_{RL,120}$ ) - набір  $i_1$ . Це підтверджує необхідність використання співвідношення (5.28) практичної незначущості систематичної похибки прямий.

Порівняння наборів  $i_1$  і  $i_2$  показує, що параметри лінійної залежності можуть помітно відрізнятися один від одного (особливо наочно це видно по величинами а). Однак сам висновок про прийнятність лінійної залежності при цьому не змінюється. Не змінюється він і при розширенні набору точок (з 9 до 18). Даний важливий результат свідчить про відтворюваність валідаційних досліджень результатів лінійності.

Межа виявлення (МВ) і межа кількісного визначення (МКВ)

У табл. 4.12 – 4.14 наведені також для інформації розраховані за рівняннями (5.34-5.35) межі виявлення (МВ) і межі кількісного визначення (МКВ). Всі вони не перевищують 32%, тобто значимо не впливають на проведення кількісного визначення.

Прецизійність і правильність

Таблиця 4.14

## Результати дослідження прецизійності і правильності

X%	Y%	Z=100*Y/X	X%	Y%	Z=100*Y/X	X%	Y%	Z=100*Y/X
Набір i_1			Набір i_2			Всі 18 точок		
80,29	80,61	100,40	80,2	79,98	99,72	80,29	80,61	100,40
85,99	86,17	100,21	84,89	85,38	100,58	80,2	79,98	99,72
90,57	91,08	100,56	89,36	88,95	99,54	85,99	86,17	100,21
95,19	95,56	100,38	95,74	96,22	100,50	84,89	85,38	100,58
100,92	100,88	99,96	100,17	100,70	100,53	90,57	91,08	100,56
104,44	105,08	100,61	105,43	105,34	99,91	89,36	88,95	99,54
110	110,42	100,39	109,68	109,38	99,73	95,19	95,56	100,38
115,32	115,73	100,35	114,01	113,74	99,76	95,74	96,22	100,50
120,54	121,11	100,47	119,44	118,79	99,46	100,92	100,88	99,96
						100,17	100,70	100,53
						104,44	105,08	100,61
						105,43	105,34	99,91
						110	110,42	100,39
						109,68	109,38	99,73
						115,32	115,73	100,35
						114,01	113,74	99,76
						120,54	121,11	100,47
						119,44	118,79	99,46
Середнє ( $\bar{x}$ )		100,37			99,97			100,17
$SD$		0,19			0,44			0,39
$\Delta_R(0,95; 8)$		0,13	$\Delta_R(0,95; 8)$		0,27	$\Delta_R(0,95; 17)$		0,17
$\delta =  \bar{x}-100 $		0,37			0,03			0,17
Статистична незначимість систематичної похибки: $\delta \leq \Delta_R$								
Не виконується			Виконується			Виконується		
$0,37 \geq 0,13$			$0,03 \leq 0,27$			$0,22 \leq 0,24$		

Продовж. табл. 4.14

Практична незначимість систематичної похибки: $\delta \leq 0,67$		
Виконується $\Delta = 0,37 \leq 0,67$	Виконується $\Delta = 0,03 \leq 0,67$	Виконується $\Delta = 0,22 \leq 0,67$
Практична прийнятність прецизійності з 6 повторних титрувань: $\Delta_R(0,95; 5) = t(0,95; f) * SD / \sqrt{5} \leq 0,33$		
Виконується $0,16 \leq 0,33$	Не виконується $0,38 \geq 0,33$	Виконується $0,33 \leq 0,33$
Загальний висновок про прецизійність та правильність		
<b>Відповідає</b>	<b>Відповідає</b>	<b>Відповідає</b>

Як видно, вимога статистичної незначущості систематичної похибки може як виконуватися (набір  $i_2$  і розширений набір з 18 точок), так і не виконуватися (набір  $i_1$ ). Практична ж незначимість систематичної похибки виконується для всіх досліджених наборів. Виконується і вимога практичної прийнятності прецизійності з титрування (набір  $i_1$  і розширений набір з 18 точок).

В цілому, методика кількісного визначення (аргентометрія за методом Фольгарда) стабілізатору натрія хлориду в очних краплях Ангіолін відповідає вимогам щодо лінійності, прецизійності і правильності.

#### 4.2.2 Визначення очних крапель «Ангіолін» методом високоефективної рідинної хроматографії

На сьогодні найчастіше для стандартизації готових лікарських форм як заводського, так і аптечного виготовлення, все частіше використовують фізико-хімічні методи дослідження [95]. Проаналізувавши дані наукової літератури щодо стандартизації діючих речовин, які входять до складу готових лікарських форм, було встановлено, що частіш за все для стандартизації основної діючої речовини використовують метод високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). І саме цей метод, дозволяє одночасно провести якісне та кількісне визначення діючої

речовини в очних краплях [137,151,157].

На кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ були виготовлено шість серій очних крапель «Ангіолін», використовували: субстанцію ангіолін: (виробник Державне підприємство «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, серія 2451117) та робочий стандартний зразок, (ДП «Завод хімічних реактивів» Науково-технологічного комплексу «Інститут монокристалів» НАН України, Україна), як допоміжні речовини використовували метилцелюлозу (серія 26101197551, виробник: Вайсенборн, ФРН), натрію хлорид, воду очищену. Дослідження проводили за наступних умов: рідинний хроматограф з УФ детектором; колонка «Nupersil ODS C-18250 X 4,6 з розміром часток 5 мкм [169].

В попередніх дослідження була розроблена методика кількісного визначення очних крапель «Ангіолін» методом спектрофотометрії. На сьогоднішній день у фармацевтичному аналізі для стандартизації готових лікарських форм, широкого застосування набуває високоефективна рідинна хроматографія. Перевагою ВЕРХ перед іншими методами є її універсальність, точність.

Для розробки методики аналізу очних крапель «Ангіолін» методом високоефективної рідинної хроматографії, була використана вже існуюча методика кількісного визначення морфолінію тіазатат. В ході дослідження було отримано низьку кількість теоретичних тарілок та не відповідність симетрії піків, тому отримані результати за цією методикою не відповідають діючим вимогам ДФУ [158-160].

Надалі для збільшення теоретичних тарілок використовували різноманітні рухомі фази, а саме: ацетонітрил-буферний розчин 10:90. В ході роботи також був отриманий негативний результат, крім того, при використанні рухомої фази, де замість калію дигідрофосфату додали – літію дигідрофосфат, було встановлено, що кількість теоретичних тарілок при цьому становилась менше 2500.

В подальшому було розроблена наступну методику кількісного визначення діючої речовини ангіолін ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в очних крапель «Ангіолін» методом ВЕРХ.

Методика визначення діючої речовини в 1% очних краплях «Ангіолін»

*Випробовуваний розчин:* 5,0 мл лікарського засобу (очні краплі «Ангіолін») доводять водою Р до 50,0 мл перемішують. 10,0 мл одержаного розчину доводять рухомою фазою до 50,0 мл перемішують.

*Розчин порівняння (а).* Близько 0,05 г (точна наважка) робочого стандартного зразку ангіоліну розчиняють у воді Р, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл і перемішують.

*Розчин порівняння (b).* 10,0 мл розчину порівняння (а) доводять рухомою фазою до 50,0 мл і перемішують.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ детектором в умовах:

- колонка «Hypersil ODS C-18 250 X 4,6 з розміром часток 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- рухома фаза: суміш ацетонітрил Р- фосфатний буферний розчин рН 3,0 (5:95), дегазована за будь-яким зручним методом.

Фосфатний буферний розчин готують наступним чином: 2,0 г калію дигідрофосфату безводного Р розчиняють у 1000 мл води Р і додають, при безперервному перемішуванні, фосфорну кислоту розведену Р до одержання розчину з рН 3,0 .

- швидкість рухомої фази: 1,0 мл / хв;

- температура колонки: 300°C;

- детектування: спектрофотометричне за довжини хвилі 246 нм;

- об'єм проби, що вводиться: 20 мкл;

Хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння (b), одержуючи не менше 3-х хроматограм для кожного.

Зразки одержаних хроматограм, наведені на рис. 4.8– 4.9

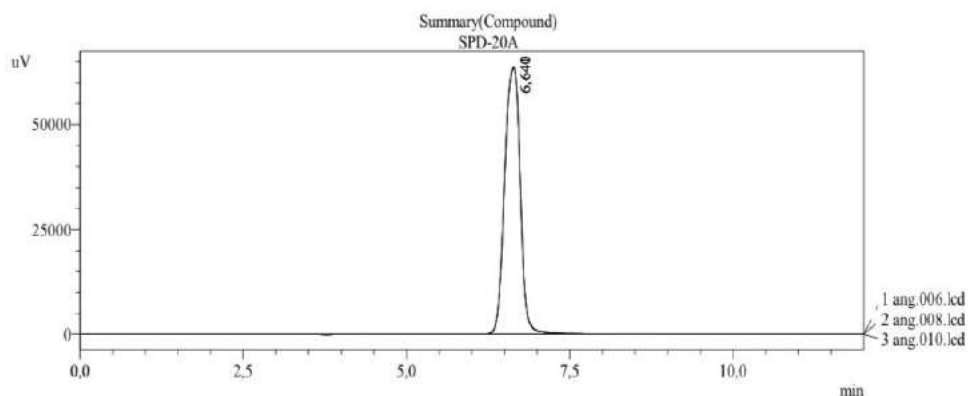


Рис. 4.8 Хроматограма робочого стандартного зразку ангіоліну

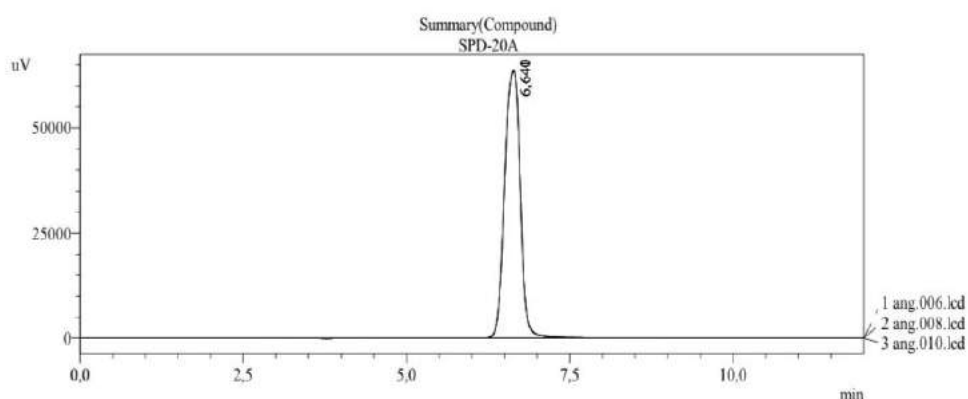


Рис. 4.9. Хроматограма 1% очних крапель «Ангіолін» (серія №1)

Вміст ангіоліну в 1% очних краплях (лікарського засобу), у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 50 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 5 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 100\%}{S_0 \cdot 500} \quad (4.11)$$

де

$S_1$  – середнє значення площ піків Ангіоліну, розрахований хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піків Ангіоліну, розрахований хроматограм розчину порівняння (b);

$m_0$  – наважка СЗ Ангіоліну, у міліграмах;

$P$  – вміст Ангіоліну у стандартному зразку, який вказаний в сертифікаті, у відсотках.

Результати кількісного визначення очних крапель (серія 1) наведені в табл. 4.15

Таблиця 4.15

**Кількісне визначення 1% очних крапель «Ангіолін» в серії № 1 методом ВЕРХ**

№	Наважка, г,мл	Площа піка, S	Середня площа піка	Відсотковий зміст	Статистика
1	5,0 мл	1001542	1016703	0,9850	X= 0,998983 S <sup>2</sup> = 0,000108 S= 0,010391 δX= 0,010393
2	5,0 мл	1004502	1016703	0,9880	
3	5,0 мл	1014669	1016703	0,9998	
4	5,0 мл	1016804	1016703	1,0001	
5	5,0 мл	1026870	1016703	1,0100	
6	5,0 мл	1026870	1016703	1,0100	
СЗ	0,0552г	1051782	1053753	1,0007	

Встановили, що вміст ангіоліну в 1% очних краплях в серії 1 знаходиться в межах від 0,985 до 1,01 г. Тобто за вмістом діючої речовини досліджувана серія відповідає вимогам ДФУ.

Надалі проаналізували інші 5 серій очних крапель «Ангіолін», котрі також відповідали фармакопейним вимогам за вмістом діючої речовини, а кількість діючої речовини знаходиться в межах від 0,988 до 1,06. Розроблено методику кількісного визначення 1% очних крапель «Ангіолін» методом ВЕРХ, яка є відтворюваною, точною та надалі може бути застосована під час контролю якості створеної очної лікарської форми.

#### 4.2.3 Валідація розроблених методик кількісного визначення субстанції ангіоліну в очних краплях методом вискоєфективної рідинної хроматографії

Валідація є гарантією достовірності та точності будь-яких методик. Її присутність гарантує аналітичним методикам гідне місце в системі забезпечення якості, а також відповідність своєму призначенню. ДФУ регламентує проведення



валідації методик за такими показниками: специфічність, лінійність, діапазон застосування, точність, правильність та робасність. Тому саме за цими валідаційними характеристиками і аналізували методи стандартизації. Крім того, була розрахована гранична розрахункова невизначеність методики кількісного визначення субстанції Ангіоліну в очних краплях з даними діючими речовинами [47].

При проведенні валідаційних досліджень незалежної величини (абсцисою) виступає зазвичай концентрація, а залежною (ординатою) – аналітичний сигнал (в нашому випадку площа піку). Концентрація і аналітичні сигнали різних речовин можуть знаходитися в різних цифрових діапазонах, що вимагає розрахунку критеріїв для кожного конкретного випадку та залишає їх загальності та наочності. В той же час, нас зазвичай цікавить концентрація та аналітичні сигнали не в реальних величинах, а у відсотках 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 залежними від специфіки конкретних речовин.

Як і при валідації методики кількісного визначення Ангіоліну методом УФ-спектрофотометрії введемо нормалізовані координати  $X_i$ ,  $Y_i$ ,  $Z_i$ , визначивши їх в такий спосіб:

$$X_i = \frac{C_i}{C_i^{st}} * 100\%, Y_i = \frac{S_i}{S_i^{st}} * 100\%, Z_i = \frac{Y_i}{X_i^{st}} * 100\% \quad (4.12)$$

де  $C_i$ , - 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 (площа піку Ангіоліну на хроматограмі досліджуваного розчину),  $A_i^{st}$  - аналітичний сигнал цієї ж речовини для розчину порівняння (площа піку Ангіоліну на хроматограмі розчину порівняння) [164].

При проведенні валідаційних досліджень використовували наступне аналітичне обладнання:

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ детектором в умовах:

- колонка «Hypersil ODS C-18 250 X 4,6 з розміром часток 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- рухома фаза: суміш ацетонітрил Р- фосфатний буферний розчин рН 3,0 (5:95), дегазована за будь-яким зручним методом.

Фосфатний буферний розчин готують наступним чином: 2,0 г калію дигідрофосфату безводного Р розчиняють у 1000 мл води Р і додають, при безперервному перемішуванні, фосфорну кислоту розведену Р до одержання розчину з рН 3,0 .

- швидкість рухомої фази: 1,0 мл / хв;

- температура колонки: 300°C;

- детектування: спектрофотометричне за довжини хвилі 246 нм;

- об'єм проби, що вводиться: 20 мкл;

Межі: вміст вміст Ангіоліну в 1% очних краплях препарату повинно бути від 0,98 г до 1,02 г. Критерії придатності валідаційних характеристик методики розраховували для 5 % допуску вмісту діючих речовин в препараті [19].

Приготування досліджуваного розчину та розчину порівняння Ангіоліну проводили відповідно до методики:

в 9 мірних колбах місткістю 100 мл поміщають вказані в табл. 4.16 кількості Ангіоліну (серія - 00120797U), в кожному колбу додають по 25 мл води очищеної, перемішують протягом 20 хв, доводять об'єм сумішей тим же розчинником до мітки та перемішують ще 5 хв. 10,0 мл одержаного розчину доводять рухомою фазою до 50,0 мл та перемішують.

*Розчин порівняння (а).* Близько 0,1 г (точна наважка) робочого стандартного зразку ангіоліну розчиняють у воді Р, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл і перемішують.

Розчин порівняння (b).10,0 мл розчину порівняння (a) доводять рухомою фазою до 50,0 мл і перемішують.

Таблиця 4.16

### Модельні суміші

№ модельного зразку	Ангіолін	
	Маса наважки (мг)	Вміст, в % від номінального значення
1	80,00	80
2	85,00	85
3	90,00	90
4	95,00	95
5	100,00	100
6	105,00	105
7	110,00	110
8	115,00	115
9	120,00	120

Крім того, була розроблена методика валідаційних досліджень Ангіоліну в 1% очних краплях: 10 мл очних крапель Ангіоліну розчиняють в 25 мл води в мірній колбі на 100 мл і доводять водою до мітки. Вказану нижче кількість отриманого розчину переносять в мірну колбу на 50 мл і доводять водою до мітки.

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

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

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

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

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

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

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

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

9. 12 мл робочого розчину переносять в мірну колбу на 100 мл і доводять водою до мітки. (120%).

*Специфічність.* Після приготування розчинів за методикою, яка представлена вище, проводимо їх аналіз за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії. Критеріями прийнятності є: 1) На хроматограмах розчину «плацебо» препарату (зразок 0) повинні бути відсутніми піки з часом утримання, співпадаючим з часом утримання Ангіоліну на хроматограмах випробуваного розчину; 2) Час утримання піку Ангіоліну на хроматограмах випробуваного розчину повинен співпадати з часом утримання піку Ангіоліну на хроматограмах розчину порівняння очних крапель

Специфічність методики визначення ідентифікації та кількісного визначення Ангіоліну в 1% очних краплях продемонстрована на рис. 4.17.

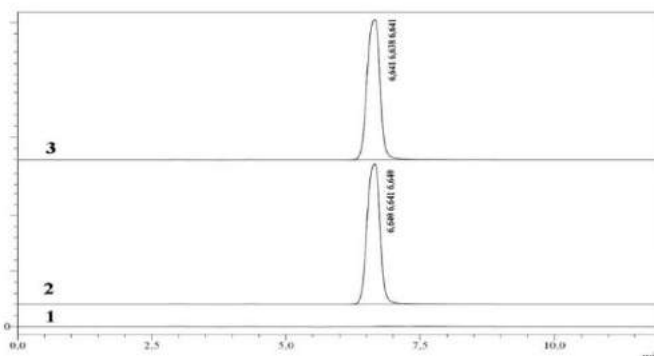


Рис. 4.17 Хроматограми розчинів: 1 - розчин «плацебо» препарату, 2 – випробуваний розчин Ангіоліну в 1% очних краплях, 3 – розчин порівняння 1% очних крапель Ангіоліну

Специфічність методики кількісного та якісного визначення Ангіоліну в 1%

очних краплях підтверджується тим, що:

- На хроматограмі розчину «плацебо» відсутні піки з часом утримання піку Ангіоліну;
- На хроматограмах досліджуваного розчину та розчину порівняння Ангіоліну в 1% очних краплях спостерігається співпадання часу утримання Ангіоліну.

Виходячи з усього вище зазначеного можна сказати, що методика ідентифікації та кількісного визначення Ангіоліну в 1% очних краплях методом високоефективної рідинної хроматографії є специфічною.

Приготування модельних випробуваних розчинів. Характеристики правильності та прецизійності досліджували на модельних розчинах препарату з концентраціями Ангіоліну, які відповідають 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105%, 110 %, 115 % та 120 % від їх номінального вмісту (табл. 4.17).

Хроматограми модельних розчинів наведені на рис. 4.18 – 4.28.

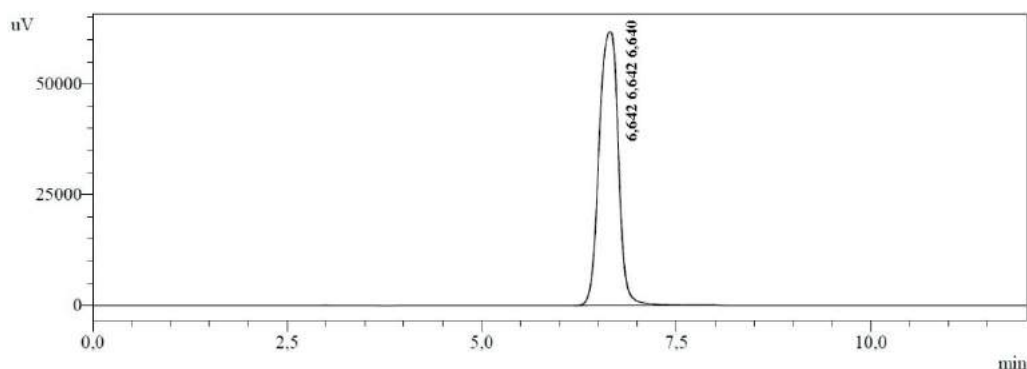


Рис. 4.18 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну відповідною до 80 % від номінального значення

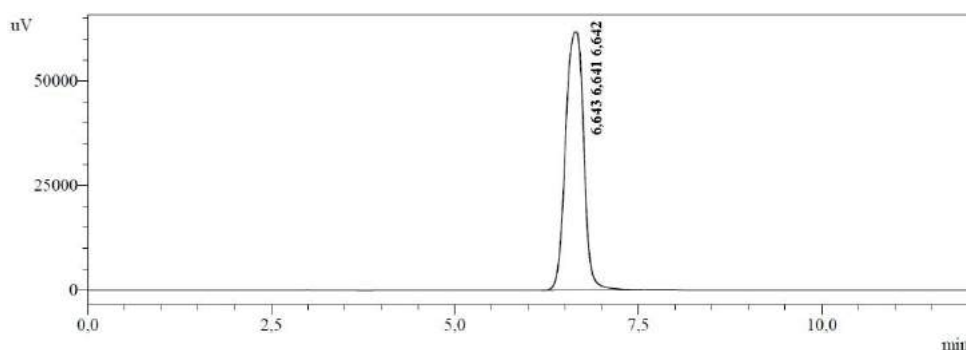


Рис. 4.19 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну

відповідною до 85 % від номінального значення

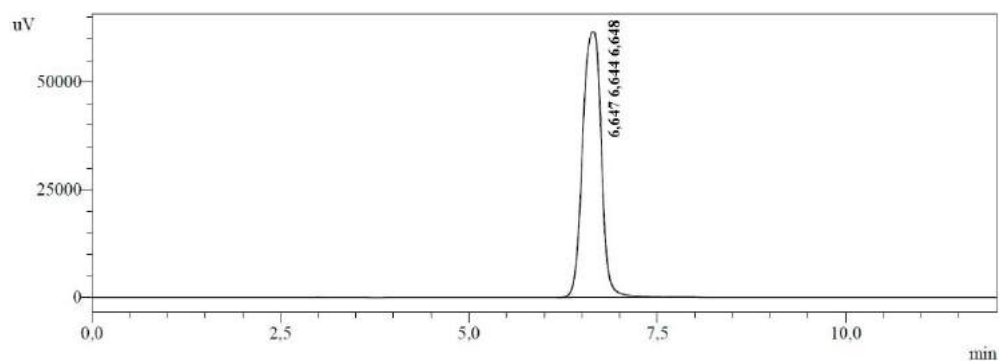


Рис. 4.20 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну відповідною до 90 % від номінального значення

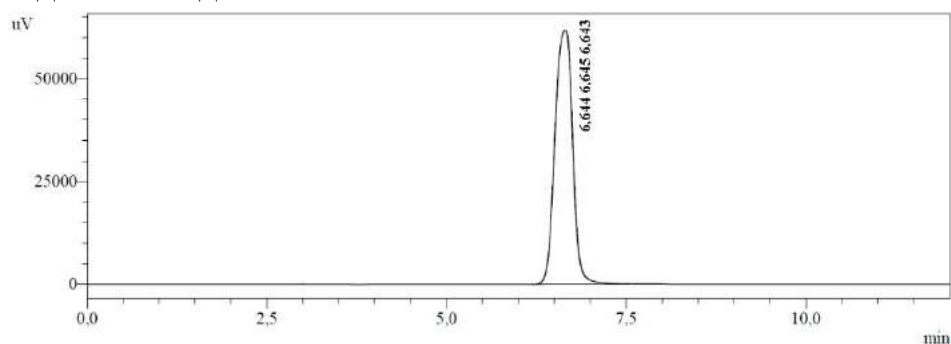


Рис. 4.21 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну відповідною до 95 % від номінального значення

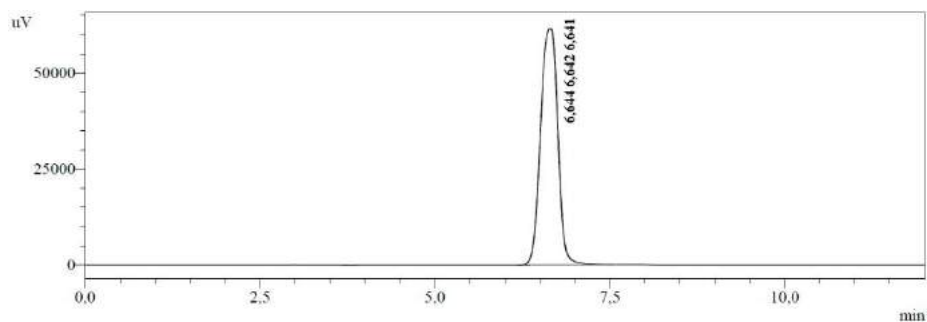


Рис. 4.22 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну відповідною до 100 % від номінального значення

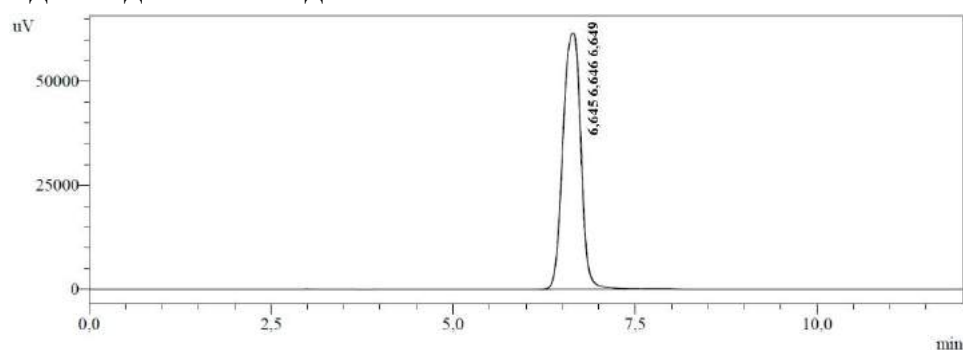


Рис. 4.23 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну

відповідною до 105 % від номінального значення

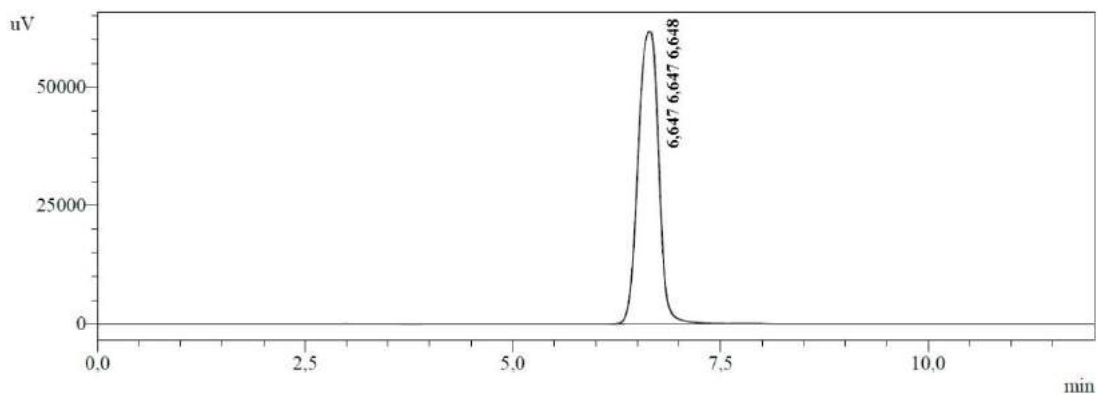


Рис. 4.24 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну відповідною до 110 % від номінального значення

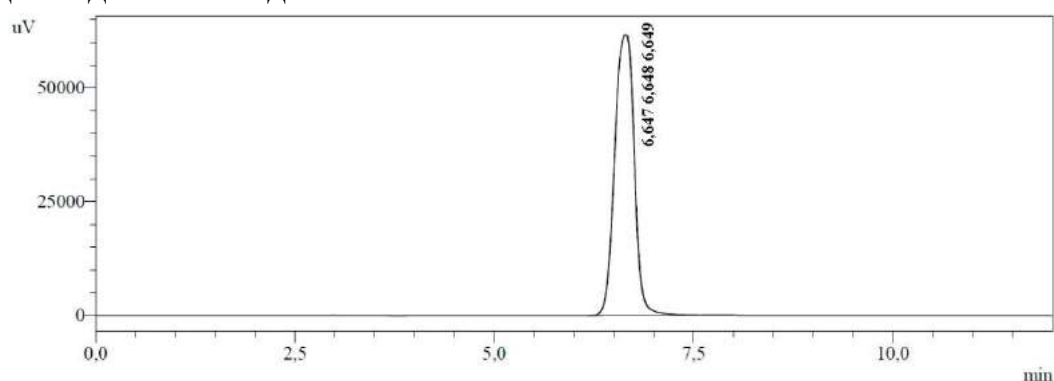


Рис. 4.25 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну відповідною до 115 % від номінального значення

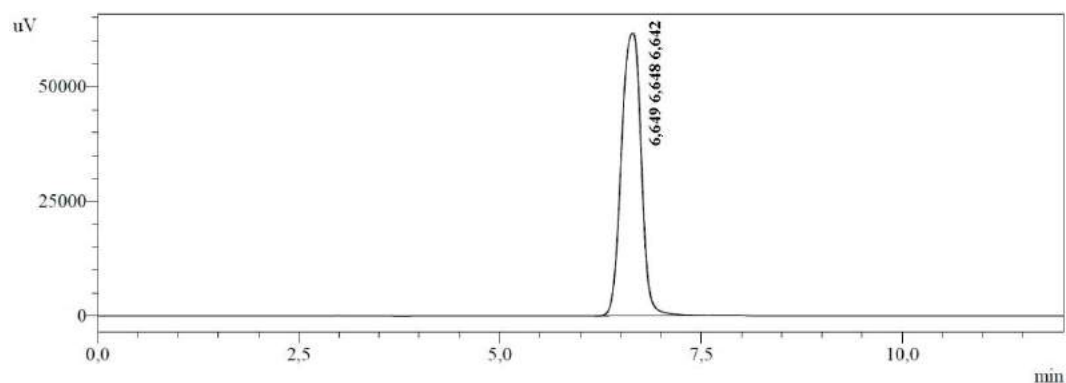


Рис. 4.26 Хроматограма модельного розчину з концентрацією Ангіоліну відповідною до 120 % від номінального значення

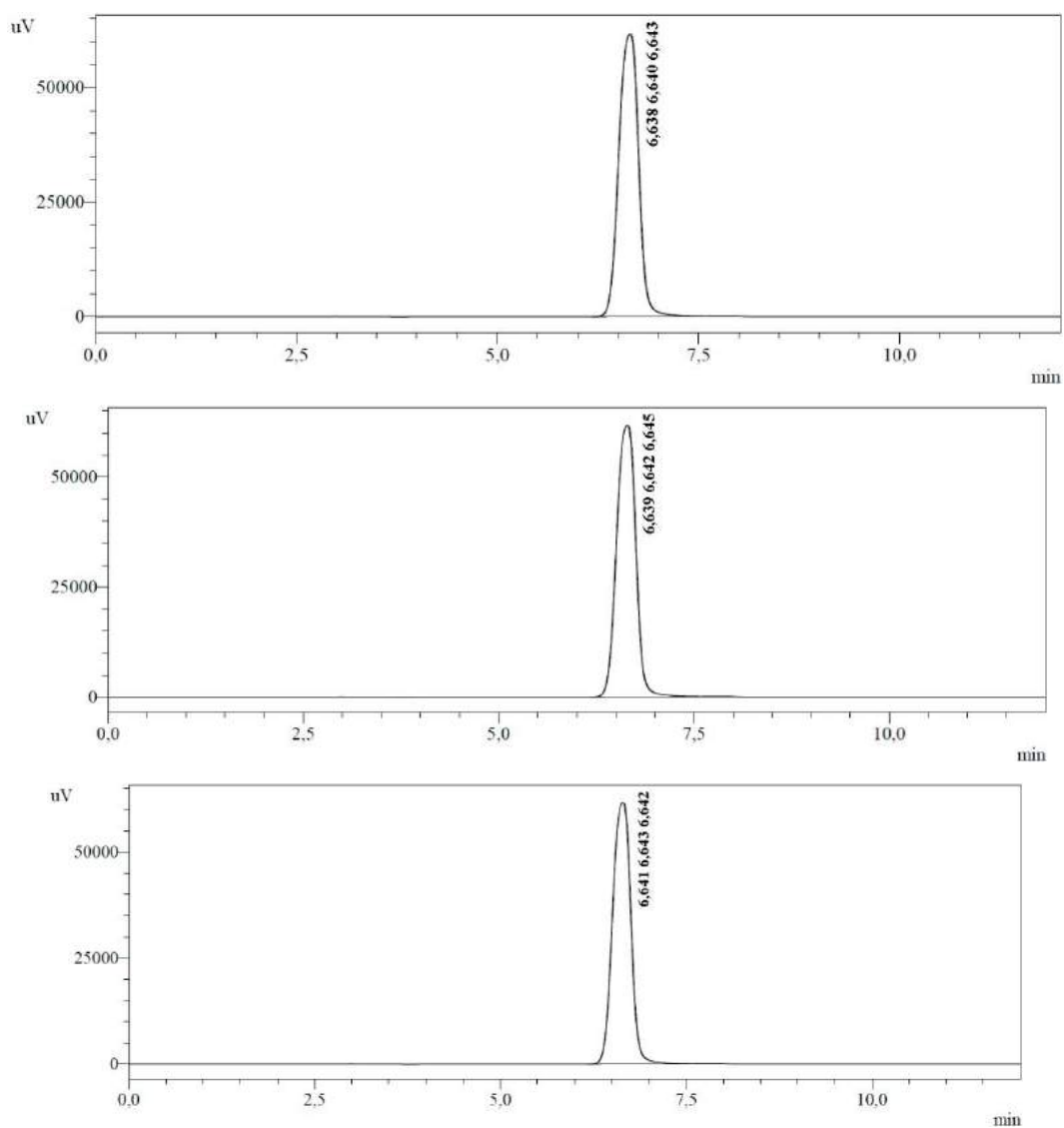
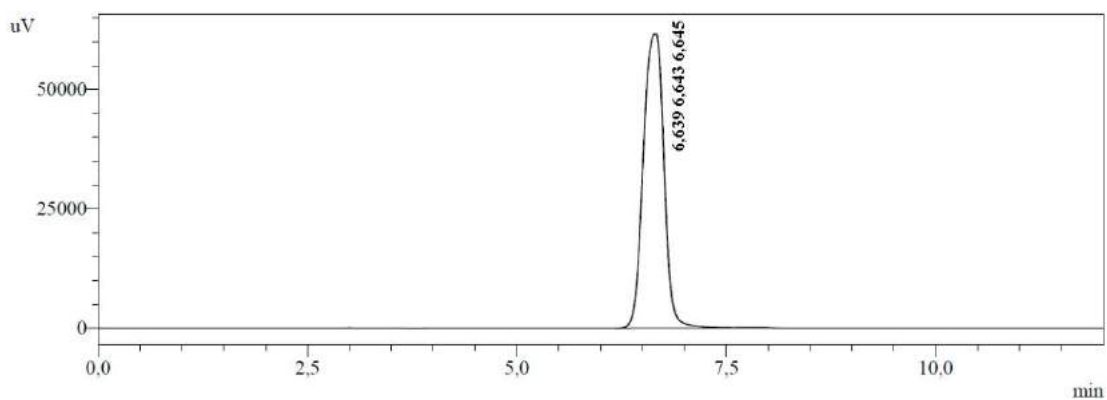


Рис. 4.27 Хроматограми випробуваного розчину Ангіоліну в очних краплях





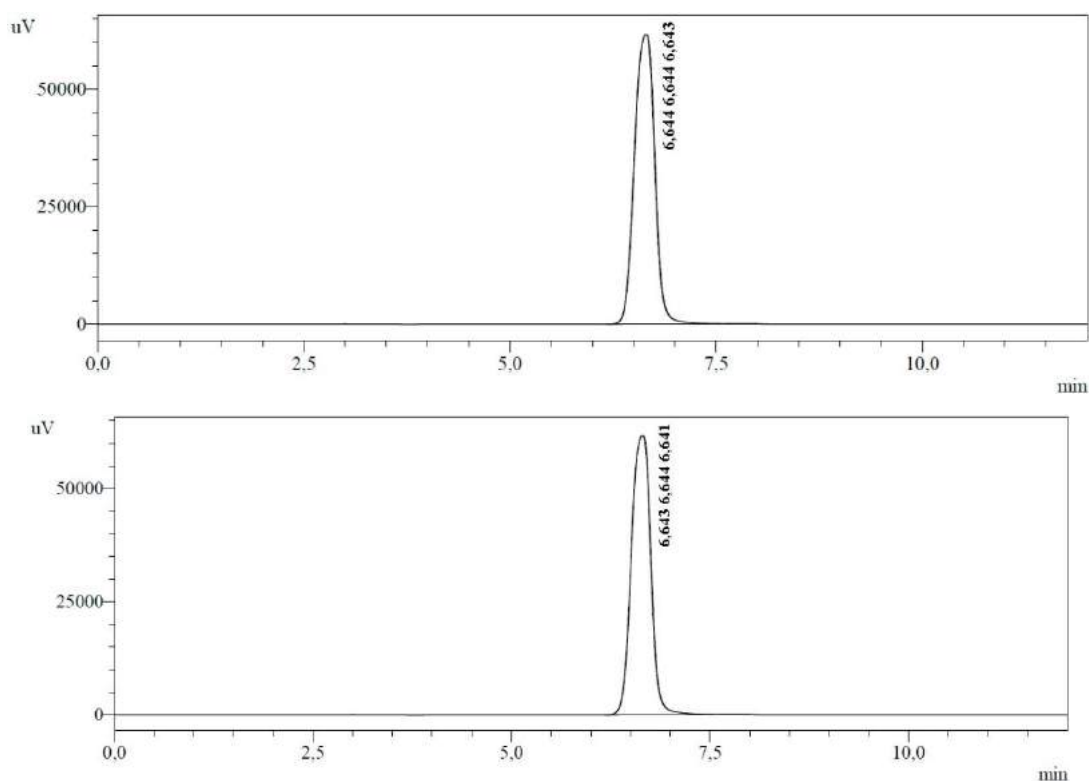


Рис 4.28 Хроматограми розчину порівняння Ангіоліну в очних краплях

*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 («істинною»)  $M_B$  та знайденою  $M_3$  кількістю визначаємої речовини.

Характеристику лінійності досліджували в діапазоні концентрацій ангіоліну від 80 % до 120 % по відношенню до номінального значення.

Графік лінійної залежності представлений на рис. 4.29, а результати розрахунків параметрів лінійної залежності в табл. 4.18 та 4.19.

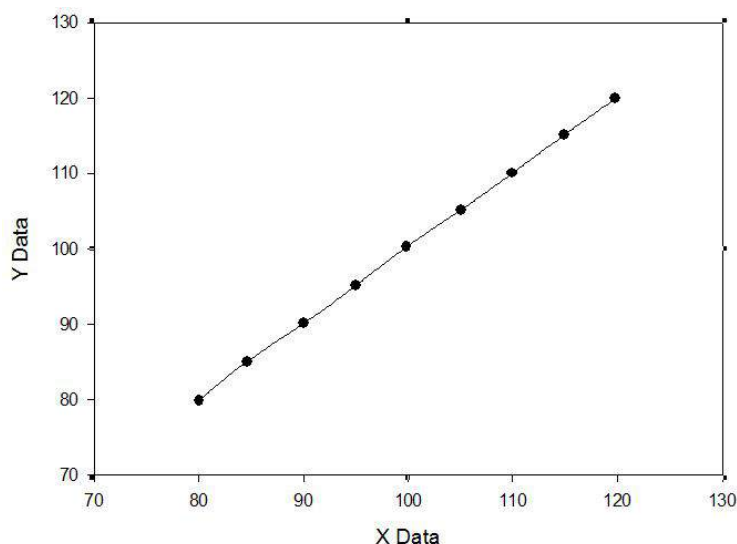


Рис.4.29 Лінійна залежність знайденої концентрації Ангіоліну від його введеної концентрації в нормалізованих координатах

Таблиця 4.19

**Метрологічні характеристики лінійної залежності знайденої концентрації Ангіоліну від його введеної концентрації**

Параметри	Значення	Вимоги 1	Вимоги 2	Висновок
B	1,0020			
S <sub>b</sub>	0,0049			
A	-0,0992	≤  0,24	≤  2,6	Витримується за 1 критерієм
S <sub>a</sub>	0,49			
SD <sub>0</sub>	0,1896			
SD <sub>0</sub> /b	0,1892	≤  0,84		Виконуються
R	0,9999	>  0,99810		Виконуються

Як видно з представлених даних, вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються, тобто лінійність методики кількісного визначення Ангіоліну методом високоефективної рідинної хроматографії підтверджується в діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення для меж вмісту ± 5 %.

*Правильність* характеризує ступінь відповідності між відомим вмістом

визначуваної речовини в розчині та його вмістом в розчині, який визначається за даною методикою.

*Збіжність* характеризує *прецизійність* методики при її виконанні в одних і тих самих умовах протягом невеликого проміжку часу. На даному етапі збіжність досліджується на 9 модельних сумішах, які охоплюють діапазон застосування методики.

Правильність та збіжність методики була перевірена методом «введено-знайдено». Результати кількісного визначення Ангіоліну в модельних розчинах в області аналітичних концентрацій та результати розрахунків метрологічних характеристик представлені в табл. 4.20 та 4.22.

Таблиця 4.20

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

2	0,0846	84,61	7311 12	84,99	100,45
3	0,0901	90,08	8249 94	90,08	100,00
4	0,0951	95,05	9192 17	95,12	100,07
5	0,0998	99,83	1016 903	100,19	100,36
6	0,1051	105,1	1123 585	105,15	100,05
7	0,1100	109,98	1230 322	110,03	100,05
8	0,1150	114,95	1344 940	115,08	100,11
9	0,1198	119,79	1460 394	119,91	100,10

Продовж. табл. 4.20

	Середнє, $Z_{\text{ср}}$ , % =	100,10
	Відносне стандартне відхилення, $RSD_z$ , % =	0,20
	Відносний довірчий інтервал $\Delta z$ % = $t(95\%, 9 - 1) \times RSD_z = 1.86 \times 0.20 =$	0,39
	Критичне значення для збіжності результатів $\Delta A_s$ , % =	1,6
	Систематична помилка $\delta$ % = $ Z_{\text{ср}} - 100  =$	0,10
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) статистична незначущість: $\delta < \Delta z : \sqrt{9} = 0.39/3 = 0.13\% > 0,1\%$ Якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta$ : 2) практична незначущість: $\delta\% \leq 0,32 \times 1,6 = 0,51\% > 0,10\%$		Виконується Виконується
Загальний висновок про методику		КОРЕКТНА

З даних, наведених в табл. 4.20 виходить, що методика кількісного визначення Ангіоліну методом ВЕРХ характеризується достатньою правильністю та збіжністю (прецизійністю) на всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %) та є коректною.

Як свідчать дані, наведені в табл. 4.21, в діапазоні концентрацій Ангіоліну 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, оскільки знайдене значення відносного довірчого інтервалу величини  $\Delta z$  для Ангіоліну не перевищує критичне значення для збіжності результатів (1,6 %) (табл. 4.20). Також методика характеризується достатньою правильністю, оскільки виконується критерій незначущості систематичної похибки методики. Систематична похибка методики задовольняє вимоги статистичної та практичної незначущості. Високе значення коефіцієнта кореляції  $r = 0,9999$  задовольняє вимоги критерію прийнятності ( $r = 0,9999$ ) та підтверджує лінійність залежності між взятою та знайденою кількістю ангіоліну 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 Ангіоліну у всьому діапазоні концентрації від 80 % до 120 % від номінального значення (табл. 4.21).

*Прогноз повної невизначеності методики*

Для підтвердження коректності методики при відтворенні в інших лабораторіях був проведений прогноз повної невизначеності методики. Повна невизначеність методики аналізу ( $\Delta_{As}$ ) включає в себе невизначеність пробопідготовки ( $\Delta_{SP}$ ) та невизначеність кінцевої аналітичної операції ( $\Delta_{FAO}$ ):

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2} \quad (4.13)$$

Вимоги до RSD площ піків у розділі «Придатність хроматографічної системи» для кількісного визначення встановлюють наступним чином:

- якщо прогнозована невизначеність пробопідготовки ( $\Delta_{SP}$ ) 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».

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

- якщо ( $\Delta_{SP}$ ) значуща у порівнянні з  $\max\Delta_{As}$ , для RSD встановлюють більш жорсткі вимоги, ніж наведені в табл.4.21. 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. 4.21.

Невизначеність взяття наважки розраховують за формулою:

$$\Delta_m = \frac{0,2}{m} \times 100\% \quad (4.14)$$

де  $m$  – маса наважки, в мг.

Таблиця 4.21

**Розрахунок невизначеності пробопідготовки для методики кількісного визначення Ангіоліну**

Операція пробопідготовки	Параметр для розрахункової формули	Невизначеність ( $\Delta$ ), %
Розчин порівняння		
Взяття наважки Ангіоліну	$m_o = 100$ мг	0,2 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 100,0 мл до мітки	100	0,12 %
Взяття розчину піпеткою 10 мл	10	0,25 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %
Випробуваний розчин		
Взяття наважки препарату	$m = 100$ мг	0,2 %
Доведення об'єму розчину в мірній колбі 100 мл до мітки	100	0,12 %
Взяття розчину піпеткою 10 мл	10	0,25 %
Доведення до об'єму 50 мл	50	0,17 %

Сумарна невизначеність пробопідготовки  $\Delta_{SP}$  (для Ангіоліну) дорівнює:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{2 * 0,2^2 + 2 * 0,12^2 + 2 * 0,25^2 + 2 * 0,17^2} \approx 0,54\% \quad (4.14)$$

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

$$\max \Delta_{FAP} = \sqrt{\max \Delta_{As}^2 - \Delta_{SP}^2} = \sqrt{1,6^2 - \Delta_{SP}^2}; \quad (4.15)$$

$$\text{для ангіоліну: } \max \Delta_{FAP} = \sqrt{1,6^2 - 0,54^2} = 1,51$$

Розраховують вимоги для maxRSD для 3 паралельних хроматограм, які необхідно одержати у відповідності з проектом методики:

$$\max RSD = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{t \cdot \sqrt{2}} = \frac{\max \Delta_{FAP} \cdot \sqrt{3}}{2,92 \cdot \sqrt{2}} = \max \Delta_{FAP} \cdot 0,4194; (4.16)$$

$$\text{для Ангіоліну: } \max RSD = 0,4194 \cdot 1,51 = 0,63;$$

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 maxRSD декілька відрізняються від такого в 2.2.46N ( $\max RSD = 0.67$ ), але невелике перевищення  $\Delta_{SP}$  рівня незначущості приводить тільки до незначного збільшення вимог до maxRSD, які легко можуть бути виконані на практиці.

Для підтвердження виконання вимог до maxRSD розраховували фактичні значення RSD для піків Ангіоліну з фактичних даних (табл. 4.22).

Таблиця 4.22

#### Відносне стандартне відхилення площ піків Ангіоліну ( $S$ )

	Ангіолін	
	$S_0^*$	$S_I^{**}$
	1017625	1016567
	1016534	1015592
	1019543	1017925
<b>RSD, %</b>	0,149	0,115
<b>RSD<sub>max</sub>, %</b> <b>(n<sub>0</sub> = 3, B = 5 %)</b>	0,63	
* $S_0$ – площа піку Ангіоліну, отримана з хроматограм розчину порівняння.		
* $S_I$ – площа піку Ангіоліну, отримана з хроматограм досліджуваного розчину.		

Отримані значення відносних стандартних відхилень для площ піків Ангіоліну суттєво менше  $\max RSD$ .

Висновок: методика визначення Ангіоліну методом ВЕРХ в діапазоні застосування методики відповідає критеріям прийнятності для валідаційних характеристик: специфічність, правильність, прецизійність (сходимість) та лінійність. Повна прогнозована невизначеність результатів аналізів не перевищує критичне значення, регламентоване ДФУ.

#### 4.3 Методика визначення супутніх домішок в очних краплях «Ангіолін»

Визначення проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ 2.0, 2.2.29, 2.2.46, 2.2.46 N).

Випробовуваний розчин. 5,0 мл очних крапель «Ангіолін» поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, розчиняють у 20 мл води Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки і перемішують. Одержаний розчин фільтрують крізь фільтр з діаметром пір не більше 0,45 мкм.

Термін придатності 3 доби.

Розчин порівняння (а). 10,0 мл ФСЗ ДФУ або РСЗ підприємства 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки і перемішують. Термін придатності 12 діб.

Розчин порівняння (б). 1,0 мл Розчин порівняння (а) поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм розчином водою Р до позначки і перемішують.

Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи. 0,010 г ФСЗ ДФУ або РСЗ підприємства ангіоліну поміщають у мірну колбу місткістю 10,0 мл, розчиняють у 5 мл води Р, додають 50 мл розчину порівняння (а), доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують.

Колонка:

- розмір: 4,6 мм×250 мм,

- нерухомі фази: силікагель октадецилсилільній для хроматографії Р (5 мкм)



(ProntoSIL 120-5-C18-ace-EPS або аналогічна),

- Рухом фаза: фосфатні буферні розчин рН 2,5 - ацетонітрил Р (90: 10);

- температура: 300°C.

швидкість рухомої фази: 1,0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжиною хвилі 246 нм.

Об'єм проби, що вводиться: 10 мкл.

Час хроматографування: має дорівнювати 2,5 кратному годині утримання піку ангіоліну (около 10 хв).

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (b):

- ефективність хроматографічної системи: розрахована за піком 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону, має бути не менше 5000 теоретичних тарілок;

- відносне стандартне відхилення площ піків 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону, має відповідати вимогам ДФУ\*, табл. 2.2.46.-2.

- коефіцієнт розділення піків 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону і ангіоліну, розрахований з хроматограми розчинів для перевірки придатності хроматографічної системи, має бути не менше 2,8.

Нормування:

- домішка 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону: площа піків 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону має бути більше площі піків 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.15%);

- неспецифічні домішки: площа будь-якого іншого додаткового піку, за винятком системних, має бути не більше 2/3 частини площі піків 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.10 %);

- сума домішок: сума площ усіх других додаткових піків, за винятком системних, має бути не менше 3,33 площі піків на хроматограмі розчину порівняння (b) (0,5%).

Примітки. 1. Приготування фосфатного буферного розчин рН 2,5. 2,04 г літію дигідрофосфату (ф. Aldrich, кат. № 442 682 або аналогічної якості) розчиняють в 1000 мл води Р і додають, при безперервному перемішуванні, кислоту фосфорну Р до того, що беруть з розчином з рН (2,5 ± 0,05).

Приготування рухомої фази. 100 мл ацетонітрилу Р поміщають у мірну колбу місткістю 1000,0 мл, доводять об'єм фосфатним буферним розчином з рН 2,5 до позначки і перемішують. Перед використанням розчин фільтрують крізь нейлоновий або фторопластовий фільтр з розміром пір не більше 0,5 мкм.

#### 4.4 Розробка проєкту методів контролю якості на очні краплі «Ангіолін»

В подальшому розроблено проєкт методів контролю якості на 1% очні краплі «Ангіолін». Специфікація на очні краплі вказана в табл.4.23.

Таблиця 4.23

### СПЕЦИФІКАЦІЯ на АНГІОЛІН, 1% очні краплі

Найменування показника	Допустимі норми	Методи контролю
Опис	Прозора безбарвна рідина	За п. 1, візуально
Прозорість	Повинен бути прозорим	За п. 3, ДФУ / ЄФ, 2.2.1
Кольоровість	Забарвлення лікарського засобу має бути не інтенсивніше за еталон.	За п.п.4 ДФУ / ЄФ 2.2.2, метод 2
Питоме обертання	Від +5,5° до + 7,5°	За п.5 ДФУ / ЄФ 2.2.7
Механічні вклучення	Видимі частки: Мають бути практично відсутні Невидимі частки: Середня кількість часток у випробуваних одиницях не перевищує 6000 в 1 контейнері для часток розміром 10 мкм або більше і не перевищує 600 в 1 контейнері для часток 25 мкм або більше.	За п. 6, ДФУ / ЄФ 2.2.2, 2.9.20 ДФУ / ЄФ 2.9.19, метод 1

Продовж. табл. 4.23

1	2	3
Супровідні домішки	3-метил-1,2,4 – триазоліл – 5-тіону: не більше 0,5%. Будь-яка інша домішка: не більше 0,1%. Сума всіх інших домішок, крім 3 – метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону: не більше 0,5%.	За п. 8 ДФУ / ЄФ 2.2.29
Об'єм, що витягається	Не менше 5,0 мл	За п. 9 ДФУ / ЄФ 2.9.17
Стерильність	Лікарський засіб має витримувати випробування на стерильність.	За п. 9 ДФУ / ЄФ 2.6.1
Кількісне визначення	Вміст L – лізину тіазонат (ангіоліну) в 1мл лікарського засобу має бути від 0,00981 – 0,01011 г/мл.	За п. 12 ДФУ / ЄФ 2.2.29

Примітка\*ДФУ- Державна Фармакопея України, діюча редакція; ЄФ – Європейська Фармакопея, діюча редакція.

## МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Опис. Прозора безбарвна рідина.

Ідентифікація.

1. На хроматограмі випробовуваного розчину, приготованого для випробування «Кількісне визначення», основний пік повинен співпадати з піком L – лізину тіазонату (ангіоліну) на хроматограмі розчину порівняння.

2. 0,5 мл лікарського засобу поміщають у фарфорову чашку, випарюють до сухого на водяній бані. До залишку додають 0,25 мл розчину п-диметиламінобензальдегіду, нагрівають над полум'ям; з'являється оранжево-коричневе забарвлення (3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіооцтова кислота).

3. 2,0 мл лікарського засобу поміщають в пробірку, додають 1,0 мл розчину нінгідрину; з'являється синє з фіолетовим відтінком забарвлення (Лізін).

Реакції на натрій:

Ідентифікують:

- з розчином калію піроантимонату, утворюється білий осад;

- з розчином реактиву метоксифенілоцтової кислоти – утворюється об’ємний білий кристалічний осад;
- сіль натрію, змочена кислотою хлористоводневою розведеною внесена в безбарвне полум’я, забарвлює його у жовтий колір.

### *Хлориди*

Ідентифікують за реакціями: з розчином аргентуму нітрату в присутності кислоти нітратної розведеної утворюється білий сирнистий осад, розчинний у розчині амоніаку;

Реакцією сухої речовини з калію дихроматом і кислотою сульфатною – папір, просякнутий розчином дифенілкарбазиду, забарвлюється у фіолетово-червоний колір;

Хлориди взаємодіють з калію дихроматом у присутності кислоти сульфатної з утворенням легкої сполуки – хлористого хромілу. Хлористий хроміл оксигенує дифенілкарбазид до безбарвого дифенілкарбазону: дифенілкарбазон оксигенується далі до дифенілкарбадіазону і відновлює сполуки хрому до  $\text{Cr}^{2+}$ , які взаємодіють з азольною формою дифенілкарбазону з утворенням внутрішньокмплексної сполуки фіолетово-червоного кольору.

### *Прозорість. ДФУ / ЄФ, 2.2.1*

Лікарський засіб має бути прозорим

### *Кольоровість.ДФУ / ЄФ, 2.2.2*

Забарвлення лікарського засобу має бути не інтенсивніше за еталон.

### *Питоме обертання*

*Механічні включення.* Лікарський засіб повинен витримувати випробування на механічні включення.

### *Видимі частки:*

Мають бути практично відсутні

### *Невидимі частки:*

Середня кількість часток у випробуваних одиницях не перевищує 6000 в 1 контейнері для часток розміром 10 мкм або більше і не перевищує 600 в 1 контейнері для часток 25 мкм або більше.

*pH* (За п. 7, ДФУ / ЄФ 2.2.3, потенціометрично) від 6,0 до 8,0

*Супровідні домішки*. Рідинна хроматографія [176].

*Випробовуваний розчин*. 5,0 мл очних крапель «Ангіолін» поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, розчиняють у 20 мл води Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки і перемішують. Одержаний розчин фільтрують крізь фільтр з діаметром пір не більше 0,45 мкм.

Термін придатності 3 доби.

*Розчин порівняння (a)*. 10,0 мл ФСЗ ДФУ або РСЗ 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіону поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, розчиняють у 50 мл рухомої фази, що доводять об'єм розчин тим самим розчинником до позначки и перемішують. Термін придатності 12 діб.

*Розчин порівняння (b)*. 1,0 мл Розчин порівняння (a) поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм розчин водою Р до позначки і перемішують.

*Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи*. 0,010 г ФСЗ ДФУ або РСЗ ангіоліну поміщають у мірну колбу місткістю 10,0 мл, розчиняють у 5 мл води Р, додають 50 мкл розчин порівняння (a), що доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують.

Колонка:

- розмір: 4,6 мм × 250 мм;

- нерухомі фази: силікагель октадецилсільній для хроматографії Р (5 мкм) (ProntoSIL 120-5-C18-ace-EPS або аналогічна);

- Рухом фаза: фосфатні буферні розчин рН 2,5 - ацетонітрил Р (90: 10);

- температура: 300° С.

швидкість рухомої фази: 1,0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжиною хвилі 246 нм.

Об'єм проби, що вводиться: 10 мкл.

*Час хроматографування*: має дорівнювати 2,5 кратному годині утримання піку ангіоліну (близько 10 хв).

*Придатність хроматографічної системи*: розчин порівняння (b):

- ефективність хроматографічної системи: розрахована за піком 3-метил-1,2,4-

тріазоліл-5-тіону, має бути не менше 5000 теоретичних тарілок;

- відносне стандартне відхилення площ піків 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіону, має відповідати вимогам ДФУ \*, табл. 2.2.46.-2.

- коефіцієнт розділення піків 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіону і ангіоліну, розрахований з хроматограмі розчину для перевірки придатності хроматографічної системи, має бути не менше 2,8.

Нормування:

- домішка 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіону: площа піків 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіону має бути не більше площаді піків 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіону на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.15%);

- неспецифічні домішки: площа будь-якого іншого додаткового піку, за винятком системних, має бути не більше 2/3 частини площадів піків 3-метил-1,2,4-тріазоліл-5-тіону на хроматограмі розчину порівняння (b) (0,10 %);

- сума домішок: сума площ усіх других додаткових піків, за винятком системних, має бути не більше 3,33 площаді піків на хроматограмі розчину порівняння (b) (0,5%).

*Примітки. 1.* Приготування фосфатного буферного розчин рН 2,5. 2,04 г літію дигідрофосфату (ф. Aldrich, кат. № 442 682 або аналогічної якості) розчиняють в 1000 мл води Р і додаються, при безперервному перемішуванні.

Приготування рухомої фази. 100 мл ацетонітрилу Р поміщають у мірну колбу місткістю 1000,0 мл, доводять об'єм фосфатним буферним розчином рН 2,5 до позначки і перемішують. Перед використання розчин фільтрують крізь нейлонову або фторопластовий фільтр з розміром пір не більше 0,5 мкм.

Кількісне визначення. Рідинна хроматографія (ДФУ)

Розчини використовують свіжоприготованими.

Випробовуваний розчин: 5,0 мл лікарського засобу (очні краплі «Ангіолін») доводять водою Р до 50,0 мл перемішують. 10,0 мл одержаного розчину доводять рухомою фазою до 50,0 мл перемішують.

Розчин порівняння (а). Близько 0,05 г (точна наважка) робочого стандартного зразку ангіоліну розчиняють у воді Р, доводять об'єм розчину тим самим

розчинником до 50,0 мл і перемішують.

Розчин порівняння (b). 10,0 мл розчину порівняння (a) доводять рухомою фазою до 50,0 мл і перемішують. Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ детектором в умовах:

- колонка «Hypersil ODS C-18 250 X 4,6 з розміром часток 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- рухома фаза: суміш ацетонітрил Р- фосфатний буферний розчин рН 3,0 (5:95), дегазована за будь-яким зручним методом.

Фосфатний буферний розчин готують наступним чином: 2,0 г калію дигідрофосфату безводного Р розчиняють у 1000 мл води Р і додають, при безперервному перемішуванні, фосфорну кислоту розведену Р до одержання розчину з рН 3,0 [168].

- швидкість рухомої фази: 1,0 мл / хв;

- температура колонки: 300°C;

- детектування: спектрофотометричне за довжини хвилі 246 нм;

- об'єм проби, що вводиться: 20 мкл;

Хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння (b), одержуючи не менше 3-х хроматограм для кожного.

Вміст ангіоліну в 1% очних краплях (лікарського засобу), у відсотках, розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 50 \cdot P \cdot 100}{S_0 \cdot 5 \cdot 50 \cdot 10 \cdot 50 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 100\%}{S_0 \cdot 500} \quad (4.17)$$

де

$S_1$  – середнє значення площ піків Ангіоліну, розрахований хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піків Ангіоліну, розрахований хроматограм розчину порівняння (b);

$m_0$  – наважка СЗ Ангіоліну, у міліграмах;

$P$  – вміст Ангіоліну у стандартному зразку, який вказаний в сертифікаті, у

відсотках.

Натрію хлорид

Кількісне визначення проводять за наступною методикою: до 10 мл розчину очних крапель «Ангіолін» додають 20 мл 0,1 М  $\text{AgNO}_3$ , 20 мл нітратної кислоти та 100 крапель індикатору ферум (III) амонію сульфату (залізо-амонієвий галун). Титрують 0,1 М розчином амонію тіоціанату.

Кількісний вміст натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін» розраховували за формулою:

$$C = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} * K_{\text{п}} - V_{\text{NH}_4\text{SCN}} * K_{\text{п}}) * T * 100}{V} \quad (4.18)$$

$V$  – об'єм взятого розчину, мл;

$T$  – титр за хлорид-іоном;

$K_{\text{п}}$  – поправочний коефіцієнт;

$V_{\text{AgNO}_3}$  – об'єм розчину 0,1 М срібла нітрату;

$V_{\text{NH}_4\text{SCN}}$  – об'єм розчину 0,1 М амонію тіоціанату.

#### 4.5 Встановлення умов зберігання і терміну придатності очних крапель «Ангіолін»

Під вивченням стабільності очних лікарських форм розуміють отримання інформації проте, яким чином змінюється їх якість з плином часу під впливом факторів навколишнього середовища (температури, вологості, освітлення). Отримані дані використовуються для встановлення рекомендованих умов зберігання і термінів придатності лікарського засобу. Тому було проведено дослідження стабільності очних крапель «Анголін» для визначення терміну придатності та умов їх зберігання. Очні препарати мають витримувати випробування на стерильність.

Дослідження стабільності проводили згідно настанови 42-3.3:2004 «Настанова з якості. Лікарські засоби. Випробування стабільності», де вказані



рекомендації стосовно вивчення стабільності препаратів. При розробці складу нового лікарського препарату термін придатності визначають експериментально, шляхом періодичної оцінки вказаних в МКЯ показників якості. Дослідження проводили для очних крапель, які було виготовлені в лабораторних умовах та розлиті у стерилізовані флакони.

За випробуваними зразками очних крапель спостерігали протягом 16 місяців у сухому захищеному від світла місці, при температурі  $25\pm 2^\circ\text{C}$ , дослідження ще тривають. Для оцінки якості очних крапель, що зберігалися у вищевказаних умовах, оцінювали зовнішній вигляд, прозорість, проводили ідентифікацію, визначали питоме обертання, механічні включення (видимі та невидимі частки), рН, супровідні домішки, стерильність, кількісне визначення діючої речовини. Встановлено, що при зберіганні впродовж 16 місяців та температурі  $25\pm 2^\circ\text{C}$  і відносній вологості  $60\pm 5\%$ , у захищеному від світла місці очні краплі відповідали вимогам проекту МКЯ. Тому запропоновано встановити термін придатності 1 рік в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище  $25^\circ\text{C}$ . Дослідження ще тривають. (Додаток Б).

Розроблену методику стандартизації (S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в очних краплях «Ангіолін» методом спектрофотометрії було апробовано в лабораторних умовах на заводі ДП «Завод хімічних реактивів».

Розроблено та апробовано методику кількісного визначення очних крапель «Ангіолін» методом ВЕРХ на заводі АТ «Лекхім-Харків» (акт апробації від 18.05.2021р). Розроблені очні краплі Ангіолін включені до перспективного плану розвитку підприємства на 2022-2023 р. Результати наукових досліджень впровадженні в науково-педагогічні процеси кафедри фармацевтичної хімії, фармакогнозії та хімії Київського медичного університету, кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету, кафедри фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О.О.Богомольця.

#### Висновки до розділу 4

1. Розроблено та апробовано методику кількісного визначення діючої речовини в очних краплях «Ангіолін» методом спектрофотометрії.
2. Розроблено методику кількісного визначення допоміжної речовини натрію хлориду в очних краплях «Ангіолін» методом аргентометрії (а саме метод Фольгарда).
3. Розроблено та апробовано методику кількісного визначення діючої речовини в очних краплях «Ангіолін» методом ВЕРХ (високоєфективна рідинна хроматорграфія). Для проведення аналізу саме цим методом були підібрані рухома та нерухома фаза, а також оптимізовані умови проведення дослідження.
4. Розроблені методики кількісного визначення очних крапель «Ангіолін» методом спектрофотометрії, методом Фольгарда та ВЕРХ були валідовані та перевірені за такими характеристиками як специфічність, лінійність, діапазон застосування, правильність та прецизійність (збіжність).
5. За результатами проведених досліджень розроблено специфікацію та проєкт МЯК на очні краплі «Ангіолін» (Додаток Д).
6. Вивчено стабільність очних крапель «Ангіолін» в процесі зберігання та визначено термін і умови їх зберігання – 16 місяців за температури (15-25)°C і відносній вологості, дослідження ще тривають (Додаток Б).

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Розробка методики стандартизації очних крапель Ангіолін / І. А. Мазур, Р. Р. Акопян, Л. Г. Черковська, І. В. Павлюк, Д. Ю. Скорина. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 3. С. 383-387.

2. Щодо стандартизації очних крапель «Ангіолін». Кучеренко Л.І., Акопян Р.Р. *Ліки людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів: матеріали V Міжнародної наук-практ конференції*. 11-12 березня 2021 року м. Харків. С. 482-483.

3. Кучеренко Л.І., Акопян Р.Р., Хромильова О.В. Щодо підбору оптимальних умов визначення очних крапель «Ангіолін» методом вискоефективної рідинної хроматографії. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «*Results of modern scientific research and development*» 28-30 червня 2021 року Мадрид, Іспанія. с. 96-98.

## РОЗДІЛ 5

### ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ОЧНИХ КРАПЕЛЬ «АНГІОЛІН»

#### 5.1 Експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну в моделюванні катаракти

Вікова катаракта на сьогоднішній день є провідною причиною невиліковної сліпоти в світі і найбільш поширеним захворюванням очей у осіб старше 60 років. Найбільш поширене хірургічне лікування катаракти. Однак, на порядок денний ставиться питання про необхідність розробки ефективних медикаментозних методів профілактики і лікування, заснованих на результатах поглибленого вивчення етіології і патогенезу помутнінь кришталика. Є численні дослідження про роль порушень білкового обміну, перекисного окислення ліпідів, енергетичного дефіциту, а також порушення кальцієвого гомеостазу в патогенезі катаракти. Отримано переконливі дані, що дефіцит ендогенних антиоксидантів- $\alpha$ -токоферолу, глутатіону, карнозину і депрвація Se-глутатіонпероксидази призводить до неконтрольованого зростання активних форм кисню (АФК) і окисної модифікації білка. Саме окислювальна модифікація білкових молекул кришталика, поява в їх структурі карбонільних груп призводить до його помутніння [67-74, 156].

Дані дослідження послужили обґрунтуванням для застосування антиоксидантів в профілактиці і лікуванні катаракти. Є переконливі дані про клінічну ефективність селенази, емоксипіну,  $\beta$ -каротинів, іонола при лікуванні катаракти. З 1995 року в клінічну практику увійшов антиоксидант тіотриазолін у вигляді 1% очних крапель. Тіотриазолін - морфолін 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат є пасткою активних форм кисню і NO, а також реактиватором антиоксидантних ферментів - супероксиддисмутази (СОД) і глутатіонпероксидази (ГПР) [88-93]. Подальше вдосконалення структури тіотриазоліну дозволило співробітникам НВО «Фарматрон» отримати абсолютно нову молекулу - L-лізину

3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетат (Ангіолін). Ангіолін є представником препаратів аніонно-катіонного типу дії і проявляє високі ендотеліопротективні, нейропротективні, кардіопротективні, протиішемічні і антиапоптичні властивості. Розроблено такі лікарські форми Ангіоліна, як 2,5% розчин для ін'єкцій та таблетки [63, 88-89].

В ході дослідження було вивчено ефективність 1% очних крапель Ангіолін в умовах моделювання катаракти. Для дослідження фармакологічної активності та встановленню експериментальної оцінки специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну в умовах моделюванні катаракти було використані наступні матеріали і методи [59].

На кафедрі фармацевтичної хімії ЗДМУ в лабораторії зі стандартизації і технології лікарських засобів були виготовлені очні краплі Ангіолін згідно розробленої технології в наступних концентраціях: 0,5%, 1%, 1,5%, 2% і 2,5%. Для приготування яких була використана субстанція ангіолін, досліджуванасерія 9, виробництва ДП «Завод хімічних реактивів» НТК «Інститут монокристалів» НАН України. В ході роботи було вивчено фармакологічну ефективність приготованих очних крапель Ангіолін в концентраціях: 0,5%, 1%, 1,5%, 2% і 2,5% [140-141, 199-200].

Робота була виконана на 20 кроликах-самцях (40 очей) породи Шиншила середньою вагою 2-3 кг і віком 8-10 місяців. Дослідження проводили на базі НМЛЦ, виконаній на достатній кількості експериментальних тварин під керівництвом професора Беленічев І. Ф.). Всі маніпуляції були проведені згідно з положенням про використання тварин в біомедичних дослідах (Страсбург, 1986 р., зі змінами, внесеними в 1998 р.) та «Загально етичним принципам експериментів на тварин чотирьох груп». Першу серію склали інтактні тварини - 5 тварин (10 очей); другу групу контрольні тварини - з катарактою і без лікування - 5 тварин (10 очей), третю групу - тварини з катарактою, що одержувала курсом 1% краплі «Ангіолін» (НВО «Фарматрон») - 5 тварин (10 очей) і четверту групу - тварини з катарактою, що одержувала курсом краплі «Офтан-катахром» (Niittyhaankatu 20, 33720 Tampere, Finland) - 5 тварин (10 очей). Курс лікування становив 28 діб після 7 діб введення

дикват диброміду. Після закінчення курсу лікування (35 добу експерименту) тварин наркотизованих тіопенталом натрію (40 мг / кг) і енуклеювані очі і на холоді виділяли кришталік. Кришталік гомогенізували в гомогенізаторі Поттера в 10-кратному об'ємі середовища при (2°C), що містить (в ммоль): сахарози - 250, трис-НСІ-буфера - 20, ЕДТА -1 (рН 7,4). При температурі (+ 4°C) методом диференціального центрифугування на рефрижераторною центрифугою Sigma 3-30k (Німеччина) виділяли цитозольні фракції. У цитоплазмі кришталіка визначали інтермедіати тіол-дисульфідної системи, підтримуючи оксидантний / антиоксидантний гомеостаз кришталіка - активність глутатіонпероксидази (ГПР) і глутатіонредуктази (ГР), сумарні SH-групи [1-4].

Також визначали маркери окисної модифікації білка-альдегідфенілгідрозони (АФГ) і карбоксифенілгідрозони (КФГ), а також нітротирозину. Активність ГР визначали спектрофотометричною методикою в тесті з окисленим глутатіоном і НАДФН. Активність ГПР визначали спектрофотометрично в тесті з гідроперекисом трет-бутилу. Зміст відновленого глутатіону визначали флюорометрично за реакцією з о-фталевим ангідридом. Показники окисної модифікації білка (ОМБ) визначали спектрофотометрично за методом В. Halliwell за взаємодією окислених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідрозиною (2,4-ДНФГ) і утворенням альдегідфенілгідрозинів (АФГ) і карбоксилфенілгідрозона (КФГ), що мають спектр поглинання при 274 нм 363 нм відповідно [180-185].

Зміст сумарних SH-груп визначали спектрофотометрично за реакцією з 5,5-дитіо-біс-7-нітробензойною кислотою. Нітротирозин визначали в цитозольних фракціях гомогенату серця твердофазним іммуносорбентним сендвіч - методом ELISA, ELISA Kit (Cat. № НК 501-02) фірми Hycult Biotech і виражали в нм/г тканини. Також визначали показник оптичної густини цитозольної фракції кришталіка, який характеризував ступінь помутніння. Даний показник визначали спектрофотометрично при 440 нм. Результати дослідження розраховували із застосуванням стандартного статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoftInc., №AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Office Excell 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, відмінного 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  $p < 0,05$  (95%) [186-191].

Як видно з даних, представлених в таблицях 5.1 і 5.2 одноразове введення дикват диброміду в склоподібне тіло очей кролика приводить через 28 діб до формування катаракти. Так, на ці терміни експерименту у тварин контрольної групи спостерігали помутніння кришталика, про що свідчило збільшення оптичної густини цитозольних фракцій кришталика на 142%. Помутніння кришталика відбувалося на тлі активації оксидативного стресу і пригніченням антиоксидатної системи кришталика (табл.5.1 і 5.2).

Таблиця 5.1

**Вплив 1% очних крапель «Ангіолін» і «Офтан-катахром» на маркери оксидативного стресу в кришталику ока кроликів в умовах 7-денного формування катаракти і подальшої 28-денної терапії**

Група тварин	Продукти ОМБ, у.е./г білка		Нітротирозин , нмоль/г ткани
	АФГ	КФГ	
Інтакт ,n=5 (10 очей)	0,34±0,02	0,15±0,01	12,3±1,00
Контроль (катаракта), n=5 (10 очей)	0,62±0,04	0,34±0,02	37,7±2,5
Офтан-катахром, n=5 (10 глаз)	0,48±0,02*	0,30±0,015	30,1±2,4
Ангіолін, n=5 (10 глаз)	0,34±0,02* <sup>1</sup>	0,20±0,010* <sup>1</sup>	17,2±1,0* <sup>1</sup>

**Примітка:** \* -  $p \leq 0,05$  відносно контролю; <sup>1</sup>  $\leq 0,05$  щодо ОФТАН-катахрому;

На думку багатьох дослідників в основі помутніння кришталика лежить

окислювальна модифікація білків, поява в його структурі карбонільних груп. Крім цього до помутніння призводить і N-; S-; O-нітрозування структурних фрагментів білків кришталика під дією високореактивних дериватів NO-пероксинітриа, іоном нітронія. Так, в цитозольних фракціях кришталика тварин контрольної групи спостерігали підвищення маркерів окисної модифікації білка - АФГ на 82,3% і КФГ на 133,4%, а також збільшення концентрації нітротирозина на 206,5%. Подібна активація реакцій оксидативного стресу відбувалася на тлі значного пригнічення антиоксидантної функції тіол-дисульфідної системи кришталика. У цитоплазмі кришталика тварин контрольної групи реєстрували зниження рівня відновленого глутатіону на 44,3% і вмісту сумарних відновлених тіольних груп на 73,1%.

Таблиця 5.2

**Вплив 1% очних крапель «Ангіолін» і «Офтан - катахром» на показники тіол-дисульфідної системи в кришталику ока кроликів в умовах 7-денного формування катаракти і подальшої 28-денної терапії**

Група тварин	ГР мкмоль/мг білка/мін	ГПР мкмоль/мг білка/мін	Глутатіон відн. мкмоль/г ткани	SH- групи мкмоль/г ткани	Оптична густина при 440 нм
Інтакт ,n=5 (10 очей)	21,5 ± 1,5	64,8 ± 2,2	4,7 ± 0,20	57,3 ± 2,5	0,19±0,005
Контроль (катаракта), n=5 (10 очей)	10,2 ± 0,9	40,2 ± 3,0	2,62 ± 0,05	15,4 ± 1,2	0,46±0,01
Офтан- катахром, n=5 (10 очей)	12,1 ± 1,2	46,2 ± 2,2*	2,88 ± 0,12*	21,4 ± 1,4*	0,38±0,008*
Ангіолін, n=5 (10 очей)	18,2 ± 1,1* <sup>1</sup>	57,5 ± 3,5* <sup>1</sup>	3,57 ± 0,15* <sup>1</sup>	47,5 ± 2,2* <sup>1</sup>	0,26±0,007* <sup>1</sup>

Примітка: \* - p <0,05 по відношенню до контрольної групи, 1 - p <0,05 по відношенню до групи офтан-катахрому

Курсове застосування 1% очних крапель «Ангіолін» проявляло значну терапевтичну дію в умовах хімічної катаракти. Так застосування крапель Ангіолін



знижувало помутніння кришталика ока експериментальних тварин на 43,5%. Застосування крапель Ангіоліну приводило і до гальмування окисної модифікації - зниження АФГ на 45,1% і КФГ на 41,1%, а також зниження реакцій нітрузуючого стресу - зменшення нітротирозину на 54,4%.

Ангіолін нормалізує основні показники тіол-дисульфідної системи кришталика при моделюванні катаракти. Так, в кришталику ока експериментальних тварин, які отримували курсом краплі Ангіолін реєстрували підвищення активності ГПР на 43,1% і ГР на 78,4%. Ангіолін підвищував рівень відновленого глутатіону на 36,2% і вміст сумарних відновлених тіолів на 208,4% в цитоплазмі кришталика експериментальних тварин. За впливом на досліджувані показники 1% краплі Ангіолін достовірно перевершували референс-препарат - краплі «Офтан-катахром». В основі механізму антикатарактної дії 1% очних крапель «Ангіолін» лежать його антиоксидантні властивості. Численними роботами показано, що Ангіолін є скаведжером активних форм кисню і NO. Також Ангіолін позитивно впливає на глутатіонову ланку тіол-дисульфідної системи, підвищуючи рівень його відновлених еквівалентів і підвищуючи активність GSH-ферментів.

Захисна дія Ангіолін при катаракті може реалізуватися і за рахунок підвищення експресії білка теплового шоку - HSP70, який бере участь в стабілізації проміжних конформацій в процесі дозрівання білків в умовах швидкої адаптації клітини, в асистуванні збірки олігомерних комплексів, а також запобігання летальної неспецифічної асоціації білків у час оксидативного стресу. HSP70 крім безпосереднього захисту клітинних білків від денатурації і окислення, також за допомогою різних механізмів блокують шляхи активації апоптозу і стабілізують клітинні структури.

## 5.2 Експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну при хімічному моделюванні опіків очей кроликів

В подальшому за консультативною підтримкою професора кафедри

фармакології та медичної рецептури ЗДМУ (завідувач кафедри, професор Бєленічев І. Ф.) було досліджено фармакологічну активність очних крапель «Ангіолін» при хімічному моделюванні опіків очей.

Всі дослідження були виконані на 40 очах 20 кроликів породи Шиншила обох статей масою 2,1-3,5 кг. Модель хімічного опіку відтворена за методом Обенбергера за допомогою 10% розчину натрію гідроксиду (аплікацією 8 мм кола фільтрувального паперу), час експозиції 20 секунд, після попередньої інсталяційною анестезії 0,5%-ним розчином Алкаїна. Кроликам з першої доби в кон'юнктиву ока вносили по 0,1 мл очних крапель 3 рази на добу протягом 14 діб. У роботі використовували 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0% і 2,5% краплі Ангіолін. Кроликам контрольної групи вносили тим же об'ємом фізіологічний розчин. У кожній групі було по 5 кролів. З першої доби експерименту проводили офтальмоскопічне обстеження тварин. Визначали ознаки рогівкового синдрому - (сльозотеча, світлобоязнь, болі при подразненні ворсин, блефароспазм), а також явища хемоза, ділянки ішемії і поверхневого некрозу кон'юнктиви, дилатацію судин і набряк лімба в балах, які привласнюють залежно від вираженості ознак набряку, гіперемії, ерозії : 0 балів - ознака відсутня, 1-бал - ознака виражена незначно, 2-бали - ознака виражена помірно, 3-бали - ознака виражена сильно. Дефект рогівки вимірювали кількісно (діаметр за допомогою штангенциркуля). Результати дослідження оброблені із застосуванням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0» (StatSoft Inc., № AXXR712D833214FAN5), а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Окремі статистичні процедури і алгоритми реалізовані у вигляді спеціально написаних макросів у відповідних програмах. Для всіх видів аналізу статистично значущими вважали відмінності при  $p < 0,05$ .

За результатами дослідження у групах тварин, які отримували Ангіолін, вже на 2-у добу лікування рогівка була доступна огляду. Визначали зменшення дефекту епітелію у вигляді кола до 3,35 і 2,11 мм кінця 14-х діб. Варто відзначити, що в групах тварин, які отримували 1%, 1,5%, 2% і 2,5% очні краплі Ангіолін, епітелізація протікала швидше, з її повним завершенням на 8-11 добу.

Таблиця 5.3

**Клінічний стан очей кроликів на 14-у добу після опікової травми і лікування очними краплями Ангіолін (в балах)**

Група тварин	Світобоязнь	Блефероспазм	Гіперемія	Сльозоточивість	Дефект роговиці, Мм
Інтакт (n=5)	0	0	0	0	-
Опік (контроль) (n=5)	3	3	3	3	6,73±0,41
Ангіолін, 0.5%(n=5)	1,2±0,44	1	1,8±0,44	1,8±0,44	* 3,35±0,54 (-50,2%)
Ангіолін, 1%(n=5)	1	1	1	1	* 2,41±0,31 (-64,1%)
Ангіолін, 1,5%(n=5)	1	1	1	1	2,47±0,27* (-63,3%)
Ангіолін, 2%(n=5)	1	1	1	1	2,45±0,22* (-63,6%)
Ангіолін, 2,5%(n=5)	1	1	1	1	2,48±0,27* (-63,1%)

Примітка: 0 балів - ознака відсутня, 1-бал - ознака виражена незначно, 2-бали - ознака виражена помірно, 3-бали - ознака виражена сильно.\* -  $p > 0,05$  по відношенню до контролю

Таким чином, можна відзначити, що очні краплі, які містять Ангіолін як активний інгредієнт, проявляють високу протизапальну, ранозагоювальну, репаративну активність при лікуванні опіків очей.

Крім того, виходячи з експериментальних даних (табл.5.3), можна відзначити, що очні краплі Ангіолін в концентраціях: 1%, 1,5%, 2%, 2,5% виявляють практично однакову фармакологічну активність, а найбільш ефективними виявилися 1% очні краплі Ангіолін, що дає нам можливість подальшого їх вивчення. Механізм терапевтичної дії очних крапель Ангіолін пов'язаний з його хімічною структурою. Так, залишок L-лізину метаболізується також і в піпеколінову кислоту, яка підсилює

афінність ГАМК-бензодіазепінрецепторного комплексу. Цей ефект лізину особливо важливий в умовах глутаматної «ексайтотоксичності», яка має місце при гіпоксії і призводить до збільшення внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ , активації NO-синтази, інтенсивного утворення NO і пероксинітриа ( $\text{ONOO}^-$ ), який є безпосередньою причиною загибелі клітин. Посилюючи афінність ГАМК-рецепторів, піпеколінова кислота знижує гіперзбудливість глутаматних рецепторів, зменшує викид збуджуючих амінокислот (глутамату і аспартату) і, тим самим, нейтралізуючи прояви глутаматної «ексайтотоксичності».

Ще однією важливою дією L-лізину є його здатність замінювати аргінін в реакціях синтезу оксиду азоту, що також приводить до зниження проявів нітрозативного стресу в нервовій тканині в умовах гіпоксії.

Значна антиоксидантна активність Ангіолін обумовлена наявністю в його структурі тіольної групи, завдяки якій препарат має яскраво виражені відновні властивості і здатність приймати від різних активних форм кисню електрони. При цьому сірка в тіольних групах переходить від двох до чотирьохвалентного стану. З вищевикладеного випливає, що Ангіолін можна віднести до групи антиоксидантів, які є «пастками» вільних радикалів. Ця група препаратів переводить вільні радикали кисню в неактивний стан, сприяє реактивуванню антиоксидантних ферментів, сприяє більш ефективному витрачання неферментативного антиоксиданту токоферолу.

Відомо, що Ангіолін при курсовому введенні підвищує концентрацію білка HSP70 в пошкодженій нервовій тканині, що може являтися ключовим механізмом його захисної дії при опіку рогівки. Білки сімейства HSP індуються в клітинах всіх живих організмів у відповідь на дію численних стресових факторів, таких як тепловий шок, гіпоксія, ішемія, метаболічні порушення, вірусна інфекція та вплив фармакологічних агентів. Гени цих білків активуються не тільки в умовах стресу, але і в ході основних процесів клітинної життєдіяльності, проліферації, диференціювання та апоптозу. HSP беруть участь у всіх процесах життєдіяльності тканин і органів.

Таким чином, створення очних крапель на основі оригінального препарату

Ангіолін, який виявляє антиоксидантні, нейропротективні, мітопротективні властивості і здатного регулювати експресію HSP70 можуть оптимізувати підходи до комплексної терапії хімічного опіку рогівки ока.

#### Висновки до розділу 5

1. Проведена експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну при моделюванні катаракти.
2. Вивчено ефективність 1% очних крапель Ангіолін в умовах моделювання катаракти.
3. Досліджено вплив 1% очних крапель «Ангіолін» і «Офтан-катахром» на маркери оксидативного стресу в кришталіку ока кроликів в умовах 7-денного формування катаракти і подальшої 28-денної терапії.
4. Досліджено вплив 1% очних крапель «Ангіолін» і «Офтан-катахром» на показники тіол-дисульфідної системи в кришталіку ока кроликів в умовах 7-денного формування катаракти і подальшої 28-денної терапії.
5. Встановлено, що застосування 1% очних крапель «Ангіолін» проявляло значну терапевтичну дію в умовах хімічної катаракти.
6. Проведена експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну при хімічному моделюванні опіків очей кроликів.
7. Досліджено фармакологічну активність очних крапель «Ангіолін» при хімічному моделюванні опіків очей.
8. Встановлено, що очні краплі Ангіолін в концентраціях: 1%, 1,5%, 2%, 2,5% виявляють практично однакову фармакологічну активність, а найбільш ефективними виявилися 1% очні краплі Ангіолін, що дає можливість подальшого їх вивчення.
9. За результатами дослідження встановлено, що очні краплі Ангіолін проявляють високу протизапальну, ранозагоювальну, репаративну активність при лікуванні катаракти та опіків очей.

Результати експериментальних досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях:

1. Experimental evaluation of the specific activity of the new Angiolin dosage form in the research corneal burn's condition / I. F. Bielenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, R.R.Akopian, O.V.Khromylova, I.V.Pavliuk. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 6. С. 815-819. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

2. Experimental Assessment of the Specific Activity of a New Dosage Form of Angiolin in Cataract Modeling / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur et al. *Biological Markers and Guided Therapy*. 2019. Vol. 6, No. 1. P. 113-120. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2019.91013>. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).

3. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Акопян Р. Р. Доклінічні дослідження специфічної активності 1% очних крапель Ангіолін в умовах експериментальної катаракти. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: матеріали IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (14-15 листоп. 2019 р. м. Харків.). Харків, 2019. С. 113-114. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

4. Беленічев І. Ф., Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Щодо дослідження фармакологічної активності нової лікарської форми Ангіолін в умовах моделюванні катаракти. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці*: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (25 бер. 2020 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2020. С. 61-63. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

5. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії нової лікарської форми Ангіолін в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів. *Перший крок в науку -2020*: матеріали XVII наук. -практ. конф. студентів та молодих вчених

з міжнар. участю (8-10 квіт. 2020 р. м. Вінниця). Вінниця, 2020. С. 505-506. *(Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).*

6. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії та експериментальна оцінка специфічної активності очних крапель «Ангіолін» в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів: *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки -2020* : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ за підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 груд. 2020 р. м. Запоріжжя. Запоріжжя, ЗДМУ, 2020. С. 51. *(Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).*

## ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

Вперше в результаті проведених досліджень створений новий офтальмологічний лікарський засіб «Ангіолін» з протизапальною, ранозагоювальною та репаративною активністю, розроблено його склад, технологію, методи стандартизації та визначені фармакологічні характеристики.

1. За аналізом наукової літератури щодо поширення офтальмологічних захворювань, а саме: опіків очей та катаракти серед населення України та проведених маркетингових досліджень та аналізу фармацевтичного ринку України на асортимент офтальмологічних лікарських засобів, обґрунтовано перспективи створення нових офтальмологічних лікарських засобів з протизапальною, ранозагоювальною та репаративною діями.

2. В ході експериментальних досліджень розроблено склад очних крапель «Ангіолін» на основі діючої речовини «Ангіолін». Досліджені фізико-хімічні властивості діючої речовини ангіоліну. Здійснено вибір раціональних допоміжних речовин, які забезпечують відповідність всім фармако-технологічним вимогам, вказаним в ДФУ. Запропоновано оптимальний склад очних крапель «Ангіолін».

3. Проведено комплекс дослідження для обґрунтування оптимального складу діючої та допоміжних речовин в очних краплях, розроблено технологію та складено схему технологічного процесу виробництва очних крапель на основі похідного 1,2,4-триазолу. Розроблено технологічну схему виробництва очних крапель «Ангіолін», яка апробована в лабораторних умовах на заводі АТ «Лекхім».

4. Розроблені оптимальні методи аналізу для нового офтальмологічного лікарського засобу:

- розроблено методику стандартизації ((S)-2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в очних краплях «Ангіолін» методом спектрофотометрії та апробовано в лабораторних умовах на заводі ДП «Завод хімічних реактивів»;



- розроблено методику кількісного визначення діючої речовини в очних краплях «Ангіолін» методом ВЕРХ, розроблену методику апробовано на заводі АТ «Лекхім-Харків»;

- розроблено методику кількісного визначення допоміжної речовини в очних краплях методом аргентометрії.

5. Проведено валідацію розроблених методик визначення кількісного вмісту діючої та допоміжної речовини в очних краплях, розроблено специфікацію та проєкт методик контролю якості на отримані очні краплі;

6. В ході проведених досліджень вивчено стабільність очних крапель в процесі зберігання та визначено термін і умови їх придатності. Запропоновано встановити термін придатності 1 рік в сухому, захищеному від світла місці, при температурі не вище 25°C. Дослідження ще тривають.

7. На підставі комплексу доклінічних досліджень визначено фармакологічні характеристики отриманого лікарського препарату. За результатами дослідження встановлено, що очні краплі Ангіолін проявляють високу протизапальну, ранозагоювальну, репаративну активність при лікуванні катаракти та опіків очей.

8. Розроблені очні краплі Ангіолін включені до перспективного плану розвитку підприємства АТ «Лекхім-Харків на 2022-2023 р.

## ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Нейропротекция и нейропластичность / И. Ф. Беленичев, В. И. Черний, Л. И. Кучеренко и др. Киев: Логос, 2015. 532 с.
2. Колесников А. В. Влияние антиоксидантов на выраженность окислительного стресса в хрусталике при экспериментальной катаракте. *Вестник ТГУ*. 2014. Т. 19, вып. 4. С. 1146-1148.
3. Экспериментальное изучение безвредности и фармакологической активности глазных лекарственных средств : методические рекомендации ГФЦ МЗ Украины / Л. А. Чайка, А. Г. Ципкун, Е. П. Сотникова и др. Киев, 2013. 43 с.
4. Встановлення квантово-хімічних основ фармакокінетичних властивостей компонентів нової лікарської композиції / І. С. Чекман, Т. В. Звягінцева, Г. О. Сирова та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 1-2. С. 28-32.
5. Гладунова Е. П., Широлапова А. Ю., Куркин В. А. Совершенствование обеспечения населения контролируемые группы лекарственных препаратов. *Фармация*. 2015. № 2. С. 32-36.
6. Dolezalova J., Karel I., Hallova H. Nase dvoulete zkusenosti s lecbou vlhke formy vekem podminene makularni degenerace bevacizumabem (Avastin). *Ceska a Slovenska Oftalmologie*. 2010. Iss. 1. P. 10-11.
7. Очні хвороби / за ред. Г. Д. Жабоедова, М. М. Сергієнко. Київ : "Здоров'я", 2011. 310 с.
8. Сомов Е. Е. Клиническая офтальмология. 3-е изд. Москва : МЕДпресс-информ, 2012. 398 с.
9. Офтальмологія : підруч. для студ. вищ. мед. навч. закладів / Г. Д. Жабоедов та ін. ; за ред.: Г. Д. Жабоедова, Р. Л. Скрипник. Київ : ВСВ Медицина, 2011. 424 с.
10. Жабоедов Г. Д., Кіреєв В. В. Офтальмологія : практикум. Київ : ВСВ

Медицина, 2013. 280 с.

11. Khurana A. K., Khurana Aruj K., Khurana B. Review of Ophthalmology : quick text review & MCQs. 6th ed. India : Jaypee Brothers Medical Publishers (Verlag), 2015. 190 p.

12. Khurana A. K., Khurana Aruj K., Khurana B. Comprehensive Ophthalmology. 6th ed. New Delhi : Jaypee Brothers, 2015. 634 p.

13. Якименко С. А., Костенко П. О. Діагностика, лікування та профілактика офтальмогіпертензії і вторинної глаукоми при опіках очей та їх наслідках : метод. рек. Київ : [б. в.], 2015. 24 с.

14. Професійні фактори ризику та профілактика розвитку очних захворювань судинно-ендокринного генезу : метод. рек. / Ін-т медицини праці НАМН України, Укр. центр наук. мед. інформації та патент.-ліценз. роботи МОЗ України ; уклад.: А.В. Басанець, Н.М. Веселовська, В. Г. Мартиросова. - Київ : [б. в.], 2013. 23 с.

15. Basic and Clinical Science Course. Section 1 : Update on General Medicine / ed. E. P. Purdy. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 408 p.

16. Basic and Clinical Science Course. Section 2 : Fundamentals and Principles of Ophthalmology / ed. K. V. Chalam. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 455 p.

17. Basic and Clinical Science Course. Section 3 : Clinical Optics / ed. N. H. Atebara. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 376 p.

18. Basic and Clinical Science Course. Section 4 : Ophthalmic Pathology and Intraocular Tumor Basic and Clinical Science. Section 5 : Neuro-Ophthalmology / ed. R. H. Rosa Jr. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 402 p.

19. Basic and Clinical Science Course. Section 5 : Neuro-Ophthalmology / ed. by : L. B. Kline. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 422 p.

20. Basic and Clinical Science Course. Section 7 : Orbit, Eyelids, and Lacrimal System / ed. J. B. Holds. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 322 p.

21. Basic and Clinical Science Course. Section 8 : External Disease and Cornea / ed. J. J. Reidy. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 512 p.
22. Basic and Clinical Science Course. Section 9 : Intraocular Inflammation and Uvetis / ed. R. S. Moorthy. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 372 p.
23. Basic and Clinical Science Course. Section 10 : Glaucoma / ed. G. A. Cioffi. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 254 p.
24. Basic and Clinical Science Course. Section 11 : Lens and Cataract / ed. J. C. Bobrow. Canada: American Academy of Ophthalmology, 2012. 258 p.
25. Basic and Clinical Science Course. Section 12 : Retina and Vitreous / ed. H. D. Schubert. Canada: American Academy of Ophthalmology, 2012. 425 p.
26. Basic and Clinical Science Course. Section 13 : Refractive Surgery / ed. C. J. Rapuano. Canada: American Academy of Ophthalmology, 2012. 260 p.
27. Сомов Е. Е. Клиническая офтальмология. 3-е изд. Москва : МЕДпресс-информ, 2012. 398 с.
28. Румянцева О. А., Ухина Т. В. Изучение патогенеза гиперплазии эпителия и регресса рефракции после фоторефракционной хирургии. *Клиническая офтальмология*. 2001. Т. 1. № 4. С. 101-104.
29. Золотарев А. В., Спиридонов Е. А., Ключева З. П. Профилактика помутнений роговицы после эксимер-лазерной ФРК. *Клиническая офтальмология*. 2002. Т. 3. № 4. С. 147-150.
30. Андрюкова Л. М. Дослідження з стандартизації фармацевтичної розробки лікарських препаратів у формі очних крапель : автореф. дис. . д-ра фармац. наук: 15.00.03 / ДП «Держ. наук. центр лікар. засобів і мед. Продукції». Харків : [б. в.], 2011. 37 с.
31. Бездетко П. А., Заволока О. В. Профилактика инфекционно-воспалительных осложнений в послеоперационном периоде у больных после факоэмульсификации катаракты. *Офтальмологический журнал*. 2013. № 1. С. 24-26.

32. Визначення критичних показників якості лікарської форми очні краплі / Л. М. Андрюкова, О. Г. Фетісова, О. М. Якубчук, С. М. Коваленко. *Управління, економіка та забезпечення якості в фармації*. 2013. № 6. С. 4-9.
33. Встановлення квантово-хімічних основ фармакокінетичних властивостей компонентів нової лікарської композиції / І. С. Чекман, Т. В. Звягінцева, Г. О. Сирова та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 1-2. С. 28-32.
34. Встановлення квантово-хімічних основ фармакокінетичних властивостей компонентів нової лікарської композиції / І. С. Чекман, Т. В. Звягінцева, Г. О. Сирова та ін. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 1-2. С. 28-32.
35. Довга І. М. Використання допоміжних речовин для очних препаратів на гелевій основі (огляд літератури). *Буковинський медичний вісник*. 2015. Т. 19, № 2. С. 225-229.
36. Золотарев А. В., Спиридонов Е. А., Ключева З. П. Профилактика помутнений роговиці после эксимер-лазерной ФРК. *Клиническая офтальмология*. 2002. Т. 3. № 4. С. 147-150.
37. Кашковский М. Л. Температура, щелочность и осмотическая активность лекарств как факторы их местного действия на орган зрения : автореф. дис. канд. мед. наук. Смоленск, 2011. 23 с.
38. Клінічна офтальмологія / Е. Е. Сомів - М. : Медпрес-інформ, 2012 .- 3-е изд. – 400 с: іл.
39. Макаренко О. В., Кривов'яз О. В., Томашевська Ю. О. Дозування як фармацевтичний та фармакоекономічний фактор у лікуванні офтальмологічних захворювань. *Український біофармацевтичний журнал*. 2015. № 3. С. 19-22.
40. Приготовление лекарственных препаратов в асептических условиях: витаминные глазные капли. *Фармацевт-практик*. 2016. - № 3. С. 38-39.
41. Придачина Д. В., Жилякова Е. Т. Разработка оригинального препарата

для лечения и профилактики синдрома «сухого» глаза. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2013. № 5. С. 43.

42. Професійні фактори ризику та профілактика розвитку очних захворювань судинно-ендокринного генезу : метод. рек. / Ін-т медицини праці НАМН України, Укр. центр наук. мед. інформації та патент.-ліценз. роботи МОЗ України ; уклад.: А. В. Басанець, Н. М. Веселовська, В. Г. Мартиросова. - Київ : [б. в.], 2013. 23 с.

43. Разработка наружных глазных лекарственных форм с повышенной биодоступностью / С. Шалелашвили, Х. Бадур, Е. А. Оганесян и др. *Фармация*. 2010. № 7. С. 54-56.

44. Разработка новых подходов к оценке эффективности глазных капель на основе их физико-химических характеристик / С. А. Кедик, Е. И. Ярцев, С. М. Левачев и др. *Химико-фармацевтический журнал*. 2011. Т. 45, № 3. С. 45-49.

45. Розрахунок маси допоміжних речовин для ізотонування очних крапель та примочок / О. І. Тихонов, А. А. Остапенко, П. А. Логвін та ін. *Вісник фармації*. 2013. № 2. С. 21-25.

46. Современные подходы к характеристике показателя вязкость отдельных глазных лекарственных форм (глазные капли, гели) / К. А. Биченова, И. В. Сакаева, Е. И. Саканян и др. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2012. № 12. С. 11-15.

47. Фетісова О. Г. Валідація методики кількісного визначення кромоглікату натрію в очних краплях протиалергійної дії. *Фармацевтичний часопис*. 2015. № 2. С. 55-59.

48. Якименко С. А., Костенко П. О. Діагностика, лікування та профілактика офтальмогіпертензії і вторинної глаукоми при опіках очей та їх наслідках : метод. рек. Київ : [б. в.], 2015. 24 с.

49. Dolezalova J., Karel I., Hallova H. Nase dvoulete zkusenosti s lecbou vlhke formy vekem podminene makularni degenerace bevacizumabem (Avastin). *Ceska a*

*Slovenska Oftalmologie*. 2010. Iss. 1. P. 10-11.

50. Khurana A. K., Khurana Aruj K., Khurana B. Review of Ophthalmology : quick text review & MCQs. 6th ed. India : Jaypee Brothers Medical Publishers (Verlag), 2015. 190 p.

51. Khurana A. K., Khurana Aruj K., Khurana B. Comprehensive Ophthalmology. 6th ed. New Delhi : Jaypee Brothers, 2015. 634 p.

52. Технология лекарственных форм. В 2 т. Т. 1 / Т. С. Кондратьева, Л. А. Иванова, Ю. И. Зеликсон и др. ; под ред. Т. С. Кондратьевой. Москва : Медицина, 1991. 494 с.

53. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICHQ8): СТ-Н МОЗУ 42 3.0:2011. Частина II: Додаток до керівних вказівок з фармацевтичної розробки (ICH Topic Q 8 Додаток до фармацевтичної розробки) Київ : МОЗ України, 2011. 33 с. (Настанова).

54. Компендиум on-line. [Електроний ресурс]. URL: <http://compendium.com.ua>

55. Пат. 8450295 США. А61К 31/723; А61К 31/198; А61К 31/145. Ophthalmic composition containing xanthan gum and amino acid / Doi Koji, Aki Hiroshi (JP). №12/767,185; заявл. 26.04.2010; опубл. 28.05.2013.

56. The molecular and ultrastructural aspects of the formation of mitochondrial dysfunction in the modeling of chronic cerebral ischemia: The mitoprotective effects of Angiolin / I. F. Belenichev, I. A. Mazur, L. I. Kucherenko et al. *Нейрохимия*. 2016. Vol. 10, N 2. P. 131-136.

57. Theoretical study about L-arginine complexes formation with thiotriazolin / L. I. Kucherenko, O. V. Hromyeva, I. A. Mazur, S. V. Shishkina. *Запорожский медицинский журнал*. 2017. Vol. 19, N 1. P. 108-112. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2017.1.9173>.

58. Новий оригінальний метаболітотропний ендотеліопротектор «Ангіолін»: квантово-хімічні параметри та особливості фармакологічної дії / І. С.

Чекман, О. О. Казакова, І. А.Мазур та ін. *Доповіді Національної академії наук України*. 2017. № 8. С. 86-93. <https://doi.org/10.15407/dopovidi.2017.08.086>

59. Механізми розвитку ендотеліальної дисфункції та пошук ендотеліопротекторів / Ю. М. Колесник, І. С. Чекман, Мазур І. А. та ін. *Журнал Національної академії медичних наук України*. 2014. Т. 20, № 3. С. 289-299.

60. Гладунова Е. П., Широлапова А. Ю., Куркин В. А. Совершенствование обеспечения населения контролируемые группы лекарственных препаратов. *Фармация*. 2015. № 2. С. 32-36.

61. Машковский М. Д. Лекарственные средства. 16-е изд., перераб., испр. и доп. Москва : Новая волна ; Издатель Умеренков, 2012. 1216 с.

62. Чекман І. С. Фармакофори: створення лікарських засобів : (огляд літ. та власних досліджень). *Журнал АМН України*. 2010. Т. 16, № 3. С. 424-437.

63. Бидненко А. С., Кучеренко Л. И., Беленичев И. Ф. Ангиолин – новый представитель метаболитотропных препаратов с выраженным влиянием на эндотелий сосудов головного мозга и сердца. *Интер-медикал*. 2015. № 4. С. 11.

64. Колесников А. В. Влияние антиоксидантов на выраженность окислительного стресса в хрусталике при экспериментальной катаракте. *Вестник ТГУ*. 2014. Т. 19, вып. 4. С. 1146-1148.

65. Khurana A. K., Khurana Aruj K., Khurana B. Review of Ophthalmology : quick text review & MCQs. 6th ed. India : Jaypee Brothers Medical Publishers (Verlag), 2015. 190 p.

66. Khurana A. K., Khurana Aruj K., Khurana B. Comprehensive Ophthalmology. 6th ed. New Delhi : Jaypee Brothers, 2015. 634 p.

67. Basic and Clinical Science Course. Section 1 : Update on General Medicine / ed. E. P. Purdy. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 408 p.

68. Basic and Clinical Science Course. Section 2 : Fundamentals and Principles of Ophthalmology / ed. K. V. Chalam. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 455 p.



69. Basic and Clinical Science Course. Section 6 : Pediatric Ophthalmology and Strabismus / ed. by. E. L. Raab. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 483 p.
70. Basic and Clinical Science Course. Section 7 : Orbit, Eyelids, and Lacrimal System / ed. J. B. Holds. Canada : American Academy of Ophthalmology, 2012. 322 p.
71. Disease Ontology release 2019-05-13 — 2019-05-13 — 2019.
72. Gupta V. B., Rajagopala M., Ravishankar B. Etiopathogenesis of cataract: an appraisal. *Indian journal of ophthalmology*. 2014. Vol.62, Iss. 2. P. 103-110. <https://doi.org/10.4103/0301-4738.121141>
73. Impact of cataract surgery in reducing visual impairment: a review / R. Khandekar, A. Sudhan, B. K. Jain et al. *Middle East African journal of ophthalmology*. 2015. Vol. 22, Iss. 1. P. 80-85. <https://doi.org/10.4103/0974-9233.148354>
74. Advances in femtosecond laser technology / T. P. Callou, R. Garcia, A. Mukai et al. *Clinical ophthalmology*. 2016. Vol. 10. P. 697-703. <https://doi.org/10.2147/OPTH.S99741>
75. Dolezalova J., Karel I., Hallova H. Nase dvoulete zkusenosti s lecbou vlhke formy vekem podminene makularni degenerace bevacizumabem (Avastin). *Ceska a Slovenska Oftalmologie*. 2010. Iss. 1. P. 10-11.
76. Завгородняя Н. Г., Пасечникова Н. В. Первичная глаукома. Новый взгляд на старую проблему : монография. Запорожье ; Одеса : Агентство "Орбита-Юг", 2010. 192 с.
77. Очні хвороби / за ред. Г. Д. Жабоедова, М. М. Сергієнко. Київ : «Здоров'я», 2011. 310 с.
78. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид., 4 допов. Харків, 2011. 540 с.
79. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.

80. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 723 с.

81. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во «Укр. науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Держ. п-во «Укр. наук. фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 1. 1126 с.

82. Георгієвський Г. В. Аналітичне забезпечення синтезу, стандартизації та організації виробництва похідних 1,2,4-триазолу та їхлікарських форм : автореф. дис. .... наук. ступеня д-ра фарм. наук / Нац. фармац. ун-т. Харків, 2013. 42 с.

83. 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.

84. 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.

85. Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Лізиній». *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2014* : матеріали Всеукр. наук-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 15-16 трав. 2014 р. Запоріжжя, 2014. С. 163.

86. Бідненко О. С., Окатенко І. О. Щодо розробки технології отримання (S) - 2,6-діаміногексанової кислоти. *Сучасні аспекти медицини і фармації - 2016* : тези доп. Всеукр. наук.- практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю. Запоріжжя, 2016. С. 241.

87. Бідненко О. С. Щодо технології виробництва субстанції «Ангіолін». *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2015* : матеріали Всеукр. наук.-практ.

конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 14-15 трав. 2015 р. Запоріжжя, 2015. С. 143.

88. Бідненко О. С., Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін». *Фундаментальні та клінічні аспекти фармакології* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 24-25 листоп. 2016 р. Запоріжжя, 2016. С. 23-25.

89. Бідненко О. С., Кучеренко Л. І. Фармакокінетичні параметри ін'єкційної форми нового метаболітотропного препарату «Ангіолін». *Ліки - людині* : матеріали XXXIII Всеукр. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, 08 квіт. 2016 р. Харків, 2016. С. 106-108.

90. Бідненко О. С. Ангіолін - новий представник метаболітотропних препаратів з вираженим впливом на ендотелій судин головного мозку та серця. *Буковинський міжнар. мед. конгрес* : зб. тез., квітень 2016 р. Чернівці, 2016. С. 580.

91. Бідненко А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоуксусной кислоты. *Сучасні аспекти медицини та фармації – 2013* : матеріали Всеукр. наук.-практ. конф. молодих вчених та студентів з міжнар. участю, 16-17 трав. 2013 р. Запоріжжя, 2013. С. 209.

92. Бідненко, А. С. Усовершенствование технологии производства 3-метил-1,2,4-триазолил-5-тиоуксусной кислоты. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 2. С. 195

93. Бідненко А. С. Обоснование выбора лекарственной формы «Ангиолина». *Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук* : зб. матеріалів наук.-практ. конф., 29 листоп. 2014 р. Запоріжжя, 2014. С. 83.

94. Белоножко, И. Маркетинг и менеджмент. *Еженедельник АПТЕКА*. 2011. № 32. С. 7.

95. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под. ред. В. П. Георгиевского. Харьков : НТМТ, 2011. Т. 1.

464 с.

96. Shingleton B. J., Crandall A. S., Ahmed I. I. Pseudoexfoliation and the cataract surgeon: preoperative, intraoperative, and postoperative issues related to intraocular pressure, cataract, and intraocular lenses. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2009. Vol. 35, Iss. 6. P. 1101-1120. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2009.03.011>

97. World Health Organization. Fact Sheet No. 282. Visual impairment and blindness June 2012. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/en>

98. World Bank Development Data Group. World Development Indicators 2009. Washington (DC): World Bank, 2009. 434 p.

99. WHO. 19th Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines [Електронний ресурс]. Geneva : World Health Organization, 2013. URL: [http://www.who.int/selection\\_medicines/committees/expert/19/en/](http://www.who.int/selection_medicines/committees/expert/19/en/)

100. Validation and reliability of the VF-14 questionnaire in a German population / P. P. Chiang, E. Fenwick, M. Marella et al. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2011. Vol. 52, Iss. 12. P. 8919-8926. <https://doi.org/10.1167/iovs.11-7702>

101. Ліхар В. Є. Медико-соціальне обґрунтування удосконалення формулярної системи лікарських засобів в системі охорони здоров'я України: автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.02.03 / Національна медична академія післядипломної освіти імені П. Л. Шупика. Київ, 2016. 44 с.

102. Пузанова О. Г. Відділення медичної - до впровадження формулярної системи та стандартизації у системі охорони здоров'я. *Внутрішня медицина*. 2007. №2. С. 130-134.

103. Всеобщий доступ к здоровью глаз. Глобальный план действий на 2014-2019 гг. / Всемирная организация здравоохранения, 2013. 32 с. URL: [http://www.who.int/blindness/AP2014\\_19\\_Russian.pdf](http://www.who.int/blindness/AP2014_19_Russian.pdf)

104. Германюк Т. А., Івко Т. І. Методологія маркетингових, фармакоепідеміологічних та фармакоекономічних досліджень у фармації: метод. вказівки. Вінниця: Нілан-ЛТД, 2014. 64 с.

105. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс]. URL: <http://www.drlz.com.ua>
106. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність: навч. посіб. / І. М. Перцев та ін. ; за ред. І. М. Перцева. Харків: Золоті сторінки, 2010. 600 с.
107. Евсеева А. А., Кузнецов С. Л. Методы изучения качества жизни у офтальмологических больных. *Практическая медицина*. 2012. № 4. С. 224-228.
108. Збітнева С. В. Захворюваність населення України на хвороби ока та його придаткового апарату. *Вісник соціальної гігієни та організації охорони здоров'я України*. 2010. № 3. С. 14-18.
109. Здоров'я для всіх : база даних ВООЗ [Електронний ресурс]. URL : <http://data.euro.who.int/hfadb>
110. Здоров'я людини та демографія. Досвід Європи / Світовий банк. Київ, 2010. 72 с.
111. Здоровье 2020. Основы политики и стратегия. Шестьдесят вторая сессия / Всемирная организация здравоохранения. Мальта, 2012. 192 с.
112. Інформаційно-пошукова система «Електронний формуляр» [Електронний ресурс]. URL: <http://www.dec.gov.ua>
113. Концевая А. В. Роль фармакоэкономического анализа в современной системе здравоохранения [Електронний ресурс]. *Качественная клиническая практика*. 2011. Февраль. URL : <http://clininvest.ru/news/item/rol-farmakoeconomicheskogo-analiza-v-sovremennoj-sisteme-zdravoohraneniya>
114. Про затвердження Концепції управління якістю медичної допомоги у галузі охорони здоров'я в Україні на період до 2020 року : Наказ МОЗ України від 01.08.2011 № 454. URL : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0454282-11#Text>
115. Котвіцька А. А., Пастухова О. А. Науково-методичні підходи до вдосконалення фармацевтичного забезпечення осіб похилого та старечого віку: метод. рек. / Український центр медичної інформації та патентно-ліцензійної

роботи. Київ, 2015. 36 с.

116. Кривенко В. І., Гріненко Т. Ю., Качан І. С. Якість життя як ефективний об'єктивний критерій діагностики та лікування у сучасній медицині. *Запорозький медичинський журнал*. 2011. Т. 13, № 6. С. 91-96.

117. Компендіум - лікарські препарати [Електронний ресурс]. URL : <https://compendium.com.ua/uk/>

118. Либман Е. С., Рязанов Д. П. Современные позиции социальной офтальмологии. *Медико-социальные проблемы инвалидности*. 2011. № 1. С. 26-30.

119. Лучкевич В. С. Качество жизни как объект системного исследования и интегральный критерий оценки здоровья и эффективности медико-профилактических и лечебно-реабилитационных программ. Санкт-Петербург, 2011. 87 с.

120. Макаренко О. В., Кривов'яз О. В. Аналіз вартості лікування глаукоми з використанням АТС/DDD методології : *Фармакоєкономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали VI наук.-практ. конф. (Харків, 22 лист. 2013). Харків, 2013. С. 221.

121. Мережа аптек «Аптеки медичної академії» [Електронний ресурс]. URL : <http://www.ama.dp.ua>

122. Методичні рекомендації з вивчення споживання лікарських засобів за АТС/DDD-методологією / В. Є. Бліхар та ін. Харків : Вид-во НФаУ, 2011. 37 с.

123. Методичні рекомендації з оцінки клінічної та економічної доцільності використання лікарських засобів у лікувально-профілактичному закладі (супровід формулярної системи) / А. М. Морозов та ін. Харків : Вид-во НФаУ, 2012. 59 с.

124. Москаленко В. Ф. Здоровье и здравоохранение: ключевые императивы. Киев : Авиценна, 2011. 256 с.

125. Національна стратегія реформування системи охорони здоров'я в Україні на період 2015-2020 років [Електронний ресурс]. Київ, 2014. 41 с. URL: <http://healthsag.org.ua/strategiya>

126. Немченко А. С., Панфілова Г. Л. Методологія формування формулярів і страхових переліків лікарських засобів за умов реалізації принципів Національної лікарської (фармацевтичної) політики. *Фармацевтичний журнал*. 2008. № 3. С. 16-22.
127. Панфілова Г. Л., Немченко А. С., Немченко О. А. Організація фармацевтичної допомоги населенню в умовах медичного страхування: монографія. Харків, 2009. 228с.
128. Пенсійний фонд України : офіційний сайт [Електронний ресурс]. URL: <http://www.pfu.gov.ua/pfu/control/uk/publish/category>
129. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика : учеб. пособие / пер. с англ.; под ред. В. П. Леонова. 3-е изд., перераб. и доп. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. 216 с.
130. Петров С. Ю., Сафонова Д. М. Консерванты в офтальмологических препаратах: от бензалкония хлорида к поликватернию. *Клиническая офтальмология*. 2014. № 2. С. 97-108.
131. Подходы к оценке качества жизни офтальмологических больных / Е. С. Либман и др. *Клиническая офтальмология*. 2002. Т. 3, № 3. С. 119
132. Методичні рекомендації з вивчення споживання лікарських засобів за АТС/DDD-методологією / В. Є. Бліхар та ін. Харків : Вид-во НФаУ, 2011. 37 с.
133. Методичні рекомендації з оцінки клінічної та економічної доцільності використання лікарських засобів у лікувально-профілактичному закладі (супровід формулярної системи) / А. М. Морозов та ін. Харків : Вид-во НФаУ, 2012. 59 с.
134. Національна стратегія реформування системи охорони здоров'я в Україні на період 2015-2020 років [Електронний ресурс]. Київ, 2014. 41 с. URL : <http://healthsag.org.ua/strategiya>.
135. Петров С. Ю., Сафонова Д. М. Консерванты в офтальмологических препаратах: от бензалкония хлорида к поликватернию. *Клиническая офтальмология*. 2014. № 2. С. 97-108.

136. Про систему офтальмологічної допомоги населенню України : Наказ МОЗ України від 14.05.2013 № 372. URL: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/show/z1051-13>

137. 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.

138. Стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в варианте метода показателя поглощения / А. И. Гризодуб, О. А. Евтифеева, К. И. Проскурина, О. В. Безумова. *Фармаком*. 2014. № 1. С. 29-39.

139. Стандартизованная процедура валидации спектрофотометрических методик количественного определения лекарственных средств в варианте метода показателя поглощения / А. И. Гризодуб, О. А. Евтифеева, К. И. Проскурина, О. В. Безумова. *Фармаком*. 2014. № 1. С. 29-39.

140. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019*: зб. тез доповідей наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів. Запоріжжя : ЗДМУ, 2019. С. 135.

141. Акопян Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування травми, опіків очей та катаракти. *Матеріали XXIII міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених*, м. Тернопіль (15-17 квітня 2019 р.). Тернопіль: Укрмедкнига, 2019. С. 208.

142. Herndon D. Prevention of Burn Injuries. *Total Burn Care*. 4th ed. Saunders Elsevier, 2012. URL : <https://www.elsevier.com/books/total-burn-care/herndon/978-1-4377-2786-9>

143. Centrum Informacji o Leku. URL : <http://leki-informacje.pl>

144. РЛС. Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента [Электронный ресурс]. URL : [http://www.rlsnet.ru/atc\\_tree.htm](http://www.rlsnet.ru/atc_tree.htm)



145. Медицина світу: український медичний портал. URL :[www.msvitu.com](http://www.msvitu.com)
146. Електронний каталог бібліотеки ЗДМУ. URL :<http://library.zsmu.edu.ua>
147. Портал Запорізького державного медичного університету. URL :  
<http://www.doc.zsmu.edu.ua/>
148. Електронні ресурси / Національна бібліотека України імені В.І. Вернадського. URL : [www.nbuv.gov.ua/e-resources/](http://www.nbuv.gov.ua/e-resources/)
149. Алеева 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.
150. Александров А. В. Вызовы и возможности документа ICHQ10 «Фармацевтическая система качества». *Промышленное обозрение*. 2008. № 4. С. 19-21.
151. 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.
152. 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.
153. Арзамасцев А. П., Садчикова Н. П., Харитонов Ю. Я. Валидация аналитических методов. *Фармация*. 2006. № 4. С. 8-12.
154. Арзамасцев А. П. Стандартные образцы для фармакопейного анализа *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2010. № 5. С. 6-10.
155. 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.
156. Воронина Т. А., Серединин С. Б. Руководство по экспериментальному

(доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. МЗ РФ ЗАО ИИА Ремедиум, 2002. 320 с.

157. 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.

158. Гризодуб А. И. Стандартизированные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. Харьков : ГП "Украинский научный фармакопый центр качества лекарственных средств", 2016. 396 с.

159. 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.

160. 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.

161. 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.

162. 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.

163. 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.

164. 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.

165. Лікарські засоби. Належна виробнича практика : Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2016. Київ : МОЗ України, 2016. 335 с. (Стандарт МОЗ України).

166. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICHQ8). Настанова СТ-Н МОЗУ 42-3.0:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 42 с. (Стандарт МОЗ України).

167. Розробка методики стандартизації очних крапель Ангіолін / І. А. Мазур та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 3. С. 383-387.

168. Щодо стандартизації очних крапель «Ангіолін». Кучеренко Л.І., Акоюн Р.Р. / «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів». Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції. 11-12 березня 2021 року м. Харків, с. 482-483.

169. Кучеренко Л.І., Акоюн Р.Р., Хромильова О.В. Щодо підбору оптимальних умов визначення очних крапель «Ангіолін» методом високоефективної рідинної хроматографії. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «*Resultsofmodernscientificresearchanddevelopment*» 28-30 червня 2021 року Мадрид, Іспанія. с. 96-98.

170. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Акоюн Р. Р. Доклінічні дослідження специфічної активності 1% очних крапель Ангіолін в умовах експериментальної катаракти. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (14-15 листоп. 2019 р. м. Харків.). Харків, 2019. С. 113-114.

171. Experimental evaluation of the specific activity of the new Angiolin dosage form in the research corneal burn's condition / I. F. Bielenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazuret al. *Запорожский медицинский журнал*. 2019. Т. 21, № 6. С. 815-819. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.6.186626>.

172. Experimental Assessment of the Specific Activity of a New Dosage Form of

Angiolin in Cataract Modeling / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur et al. *Biological Markers and Guided Therapy*. 2019. Vol. 6, No. 1. P. 113-120. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2019.91013>.

173. Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін» / Кучеренко Л.І та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Том 14, №1(35). С. 52-55.

174. Акоюн Р. Р. Підбір концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін». *«Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів»*. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції. 11-12 березня 2021 року м. Харків, с. 482-483.

175. 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.

176. 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.

177. 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.

178. Чумак В. Т. Аналіз стану ринку лікарських засобів в Україні. *Аптечний аудит*. 2008. № 10. С. 6-11.

179. Кучеренко Л. І., Акоюн Р. Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. *Актуальні питання сучасної медицини і фармації* : тези доповідей Всеукр. наук.-практич. конф. 18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р. (до 50-річчя заснування ЗДМУ). Запоріжжя : ЗДМУ, 2018. С. 159.

180. Акоюн Р. Р. Актуальність питання створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. *VIMCOJournal* : зб. матеріалів Буковин. міжнар. мед.-фармац. конгр. студентів і молодих учених. 2018. С. 415.

181. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти : *Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019* : зб. тез доп. всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів (13-17 травня 2019 року м. Запоріжжя). Запоріжжя : ЗДМУ, 2019. С. 135.

182. Акопян Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування травми, опіків очей та катаракти : *23-й Міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених* : матеріали доп. (15-17 квітня 2019. м. Тернопіль). Тернопіль : Укрмедкнига, 2019. С. 208.

183. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Фармакоекономічний аналіз лікарських засобів для лікування катаракти. *Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів* : матеріали V міжнар.наук.-практ. конф., (12-13 бер. 2020 р., Харків). Харків : НФаУ, 2020. Т. 2. С. 353.

184. Беленічев І. Ф., Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Щодо дослідження фармакологічної активності нової лікарської форми Ангіолін в умовах моделюванні катаракти. *Застосування методів лікування і аніпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (25 бер. 2020 р., м. Харків). Харків : НФаУ, 2020. С. 61-63.

185. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії нової лікарської форми Ангіолін в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів. *Перший крок в науку -2020*: матеріали XVII наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю (8-10 квіт. 2020 р. м. Вінниця). Вінниця, 2020. С. 505-506.

186. Кучеренко Л. И., Акопян Р. Р. Перспективность создания нового офтальмологического средства для лечения ожогов глаз и катаракты. *Modern science: Problems and innovations* : abstracts of 6th International scientific and practical conference (August 23-25, 2020). Stockholm, SSPG Publish, 2020. P. 119-121.

187. Розробка методики стандартизації очних крапель Ангіолін / І. А. Мазур

та ін. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 3. С. 383-387.

188. Акопян Р. Р. Щодо необхідності створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. *Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук* : зб. матеріалів наук.-практ. конф. (9 груд. 2017 р. Запоріжжя). Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. С. 18-20.

189. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії та експериментальна оцінка специфічної активності очних крапель «Ангіолін» в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів: *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки -2020* : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ за підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 груд. 2020 р. м. Запоріжжя. Запоріжжя, ЗДМУ, 2020. С. 51.

190. Підбір концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін». *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*.

191. Vision improvement and reduction in falls after expedited cataract surgery Systematic review and metaanalysis / E. Desapriya, S. Subzwari, G. Scime-Beltrano et al. *Journal of cataract and refractive surgery*. 2010. Vol. 36, Iss. 1. P. 13-19. <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2009.07.032>

192. Фармакологія : учебник / под ред. И. С. Чекмана. Винница : Нова книга, 2013. 792 с.

193. Чекман І. С. Фармакологія : підручник / І. С. Чекман, Н. О. Горчакова, Л. І. Казак [та ін.]. Вінниця : Нова книга, 2011. 784 с.

194. Бідненко О.С., Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Ткаченко Г.І. Щодо стандартизації таблеткової маси L-лізиній 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*, 2016, №1(20), с.358.

195. Мазур И.А., Белиничев И.Ф., Кучеренко Л.И., Павлюк И.В., Виниченко Т.Ю. Профилактический и лечебный нейпротективные эффекты таблеток Ангиолин

при курсовом введенні животним с хронической алкогольной интоксикацией. VНаціональний зїзд фармакологів України: тези доп.18-20 жовтня 2017р.м. Запоріжжя.- с 83.

196. Мазур И.А., Белиничев И.Ф., Кучеренко Л.И., Нагорная Е.А., Бухтиярова Н.В., Горчакова Н.А., Рыженко О.О. Возможный механизм нейропротективного действия нового оригинального препарата «Ангиолин». VНаціональний зїзд фармакологів України: тези доп.18-20 жовтня 2017р.м. Запоріжжя.- с 83.

197. Нагорна О.О., Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Мазур І.А., Чекман І.С. Визначення антиішемічного впливу Ангіоліну. VНаціональний зїзд фармакологів України: тези доп.18-20 жовтня 2017р.м. Запоріжжя.- с 98.

198. Нагорна О.О., Ярош О.К., Кучеренко Л.І., Бідненко О.С. Параметри фармакокінетики таблеток «Ангіолін» у крові щурів після перорального введення. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2014.Т.2,№38. С. 64-69

199. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії та експериментальна оцінка специфічної активності очних крапель «Ангіолін» в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів: *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки -2020* : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ за підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 груд. 2020 р. м. Запоріжжя. Запоріжжя, ЗДМУ, 2020. С. 51.

200. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії та експериментальна оцінка специфічної активності очних крапель «Ангіолін» в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів: *Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки -2020* : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ за підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 груд. 2020 р. м. Запоріжжя. Запоріжжя, ЗДМУ, 2020. С. 51. (*Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку*).

Додаток А

УФ-спектри 5-ти серій 1% очних крапель «Ангіолін»



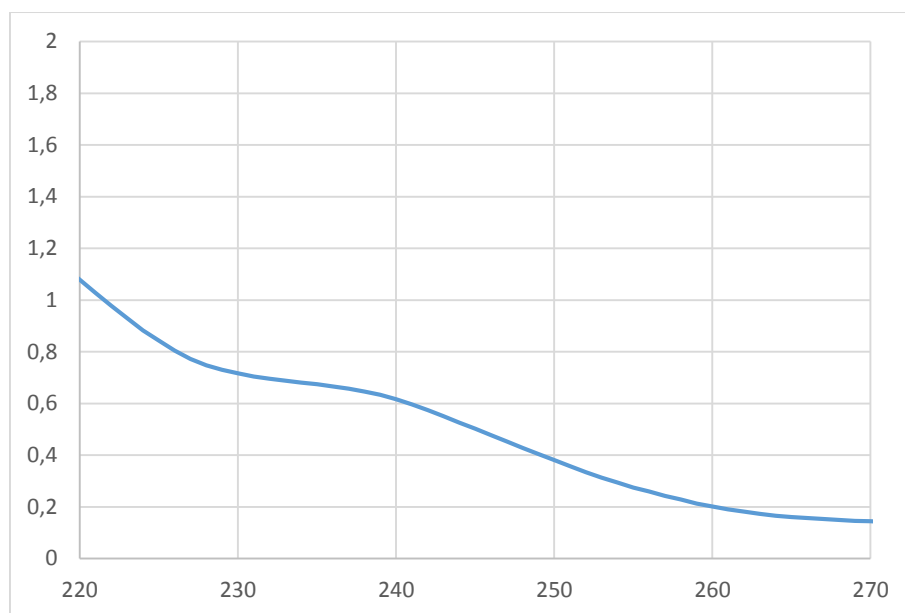


Рис.2. УФ – спектр другої серії 1% очних крапель Ангіолін

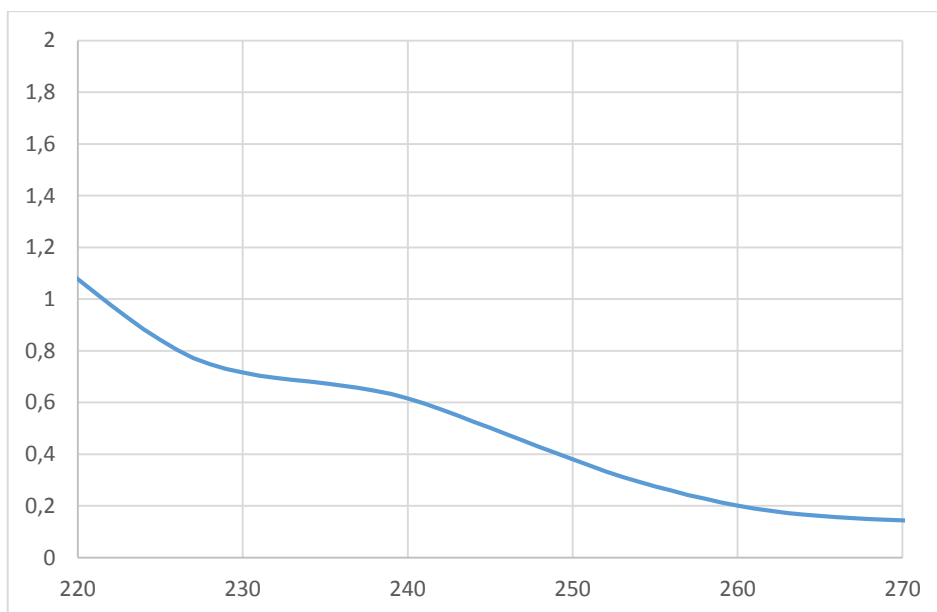


Рис.3. УФ – спектр третьої серії 1% очних крапель Ангіолін

*Продовж. дод. А*

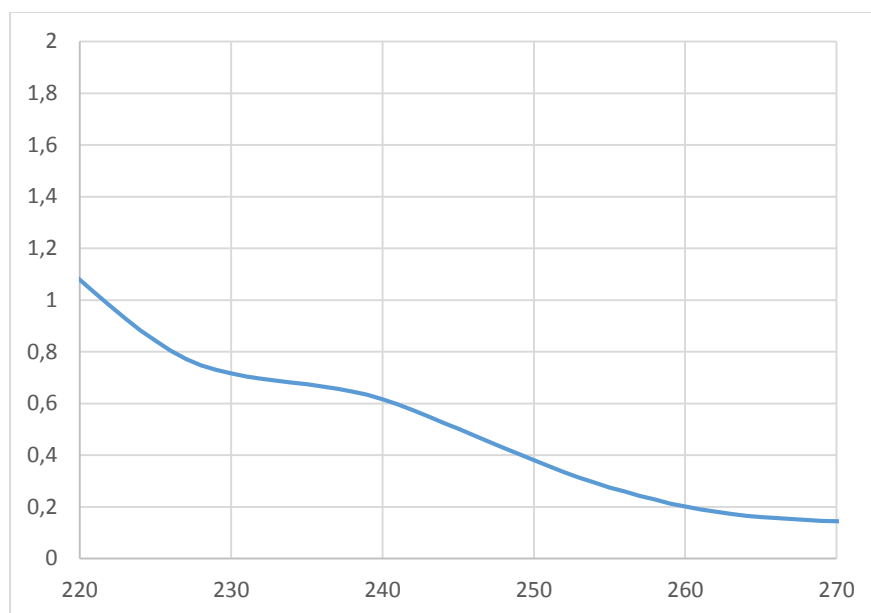


Рис.4. УФ – спектр четвертої серії 1% очних крапель Ангіолін

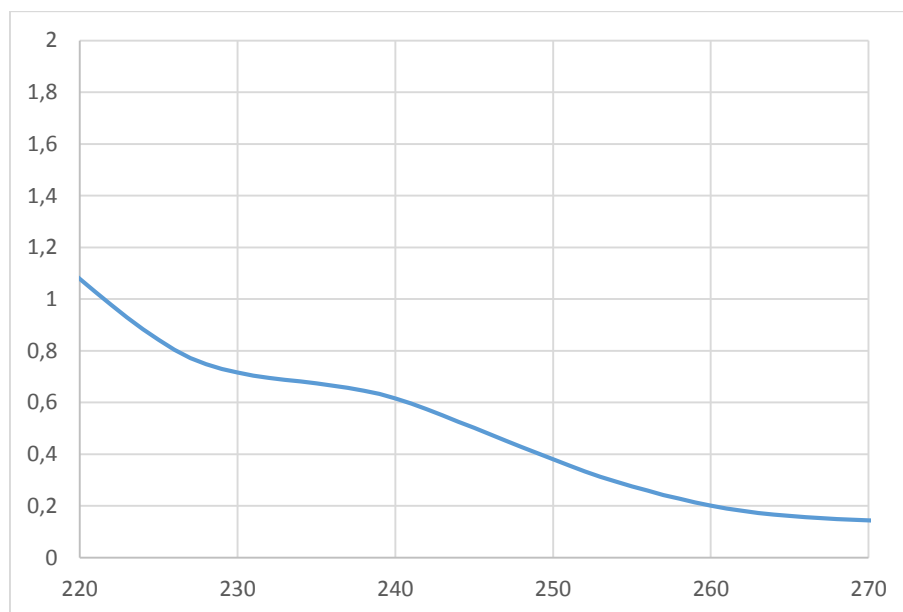


Рис.5 УФ – спектр п'ятої серії 1% очних крапель Ангіолін

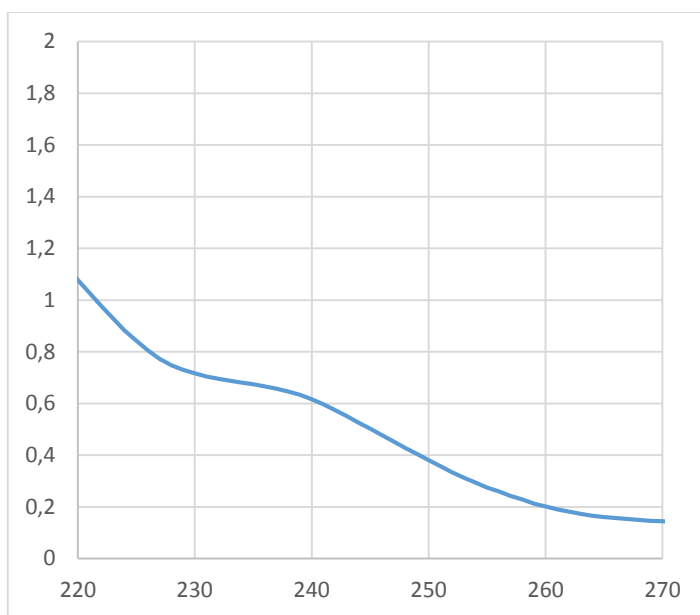


Рис.6. УФ – спектр шостої серії 1% очних крапель Ангіолін

## Додаток Б

## Результати дослідження очних крапель «Ангіолін» в процесі зберігання

№ зразка	Дата аналізу	Опис	Ідентифікація	Супровідні домішки	Мікробіологічна чистота		Кількісне визначення		Термін придатності	Висновок	
					В субстанції допускається загальне число аеробних	Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ГУМС) ≤	ангіолін	Натрію хлорид			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
Вимоги проекту МКЯ		Очні краплі «Ангіолін» безбарвна прозора рідина	Відповідність часу утримання основного піку випробуваного розчину очних крапель «Ангіолін»	3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіон	В субстанції допускається загальне число аеробних	Загальне число дріжджових та плісневих грибів (ГУМС) ≤	Відсутність Escherichia coli в 1г	ангіолін	Натрію хлорид	2 роки	Висновок
1	15.09.19	Відповідає	Відповідає	Відповідає			Відсут.	0,01010	0,7188	"	Придатний
2	16.12.19	Теж	Теж	Теж			"	0,00981	0,7129	3 міс.	Теж

3	17.03.20	"	"	"			"	0,009 81	0,712 9	6 міс.	"
4	14.06.20	"	"	"			"	0,009 81	0,701 2	9 міс.	"
5	14.09.20	"	"	"			"	0,010 11	0,707 1	1 рік	"
6	05.03.21	"	"	"	160	15	"	0,010 11	0,707 1	1 р. 6 міс.	"

Упаковка в флаконах.

Зберігання. При температурі не вище 25 °С і відносній вологості (60±5) %, у захищеному від світла місці. Дослідження ще тривають

## Додаток В

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 В.о. проректора з науково-педагогічної  
 роботи Одеського національного  
 медичного університету  
 д. мед. н., професор

О.А. Шандра  
 \_\_\_\_\_ 2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін».
2. **Установа-розробник, ШБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Л.І. Кучеренко, І.А. Мазур, Р.Р. Акоюн, О.О. Портна, Г.І. Ткаченко.
3. **Джерело інформації:** Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін» // Л.І. Кучеренко, І.А. Мазур, Р.Р. Акоюн, О.О. Портна, Г.І. Ткаченко. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Том 14, № 1(35). С. 52-55.  
**Де впроваджено:** кафедра фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету.  
**Термін впровадження:** березень 2021 р. – червень 2021 р.  
**Форма впровадження:** науково-педагогічний процес кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного медичного університету.  
**Ефективність впровадження:** рекомендації щодо оптимального складу очних крапель «Ангіолін».

Завідувач кафедри фармацевтичної хімії  
 Одеського національного медичного університету  
 д. хім. н., професор

В.О. Гельмбольдт



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** розробка методики стандартизації очних крапель «Ангіолін».

2. **Установа-розробник, адреса, ІПБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. І.А Мазур, Р.Р. Акоюн, Л.Г Черковська, І.В Павлюк, Д.Ю. Скорина.

3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Розробка методики стандартизації очних крапель Ангіолін / І. А. Мазур, Р.Р. Акоюн, Л.Г Черковська, І.В Павлюк, Д.Ю. Скорина. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 3. С. 383-387.

**Ким впроваджено:** кафедра фармацевтичної, біологічної та токсикологічної хімії Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця. 4.15 20.06.2021р

4. **Термін впровадження:** 01.2021 – 06.2021 р.

5. **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.

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. **Пропозиції та зауваження:** немає.

Завідувач кафедри фармацевтичної,  
біологічної та токсикологічної хімії  
Національного медичного університету  
ім. О.О. Богомольця  
д.мед.н., професор

І.В Ніженківська

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової та лікувальної  
роботи Дніпровського державного  
медичного університету  
д.мед.н., професор Гудар'ян О.О.



2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** експериментальне оцінювання специфічної активності нової лікарської форми Ангіолін в умовах хімічного опіку рогівки.
2. **Установа-розробник, адреса, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Акоюн Р.Р., Хромильова О.В., Павлюк І.В.
3. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Experimental evaluation of the specific activity of the new Angiolin dosage form in the research corneal burn's condition / Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Акоюн Р.Р., Хромильова О.В., Павлюк І.В. Запорожский медицинский журнал. 2019. Т. 21, № 6. С. 815-819. <https://doi.org/10.14739/2310-1210.2019.6.186626>.
4. **Ким впроваджено:** кафедри фармакології і клінічної фармакології Дніпровського державного медичного університету
5. **Термін впровадження:** 01.2020-01.2021.
6. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.
7. **Пропозиції та зауваження:** немає.

Професор кафедри фармакології  
і клінічної фармакології Дніпровського  
державного медичного університету  
д. мед. н., професор

В. І. Опришко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора з наукової роботи

Тернопільського національного

медичного університету імені І. Я.

Горбачевського доктор медичних наук.

О. О. Шевчук

20 року



### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель Ангюлін.
2. **Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Л.Л. Кучеренко, І.А.Мазур, Р.Р.Аколян, О.О. Портна, Г.І.Ткаченко.
3. **Джерело інформації:** Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангюлін» / Л.Л. Кучеренко, І.А.Мазур, Р.Р.Аколян, О.О. Портна, Г.І.Ткаченко. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.2021. Том 14, №1(35). С. 52-55.  
**Ким впроваджено:** кафедрою управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського
4. **Термін впровадження:** березень 2021 р. – травень 2021 р.  
**Форма впровадження.** У навчальний процес кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського
- 5.

Показники	За даними	
	Розробники	Установи, що впроваджують
Використання наукового обґрунтування 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  
д.фарм. наук, проф. Т.А.Грошовий



ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор НУОЗ України

імені П.Л. Шупика

директор-кор. НАМН України

проф. Ю.П. Вдовиченко

« 16 » \_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель Ангіолін.
- 2. Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Л.І. Кучеренко, І.А.Мазур, Р.Р.Акопян, О.О. Порта, Г.І.Ткаченко.
- 3. Джерело інформації:** Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін» / Л.І. Кучеренко, І.А.Мазур, Р.Р.Акопян, О.О. Порта, Г.І.Ткаченко. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики, 2021. Том 14, №1(35). С. 52-55.
- 4. Ким впроваджено:** кафедра фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України.
- 5. Термін впровадження:** березень 2021 р. –травень 2021 р.

**Форма впровадження.** У навчальний процес фармацевтичної технології і біофармації Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України

**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:  
професор кафедри фармацевтичної технології  
і біофармації НУОЗ України  
імені П.Л. Шупика  
д.фарм.н., професор

А. О. Дроздова

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Ректор  
ПВНЗ «Київський медичний університет»

проф., д.мед.н., Б.Б. Івнев

«*травня*» 2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** розробка методики стандартизації очних крапель «Ангіолін».

**Установа-розробник, адреса, ШБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. І.А Мазур, Р.Р. Аюкян, Л.Г Черковська, І.В Павлюк, Д.Ю. Скорина.

2. **Джерело інформації (назва, рік видання, вихідні дані):** Розробка методики стандартизації очних крапель Ангіолін / І. А. Мазур, Р.Р. Аюкян, Л.Г Черковська, І.В Павлюк, Д.Ю. Скорина. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2020. Т. 13, № 3. С. 383-387.

**Ким впроваджено:** кафедра фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії Київського медичного університету

3. **Термін впровадження:** 01.2021 – 04.2021 р.

4. **Ефективність впровадження:** методика, подана до впровадження, використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри.

5. **Пропозиції та зауваження:** немає.

Затверджено на засіданні кафедри протокол №11 від 18 червня 2021р.

Завідувач кафедри фармацевтичної та біологічної хімії, фармакогнозії  
д.фарм.н., професор

О.Ю. Коновалова

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. проректора з наукової роботи  
Тернопільського національного  
медичного університету імені І. Я.  
Горбачевського доктор медичних наук



О. О. Шевчук

20 року

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- 1. Найменування пропозиції для впровадження:** наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель Ангіолін.
- 2. Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26. Л.І. Кучеренко, І.А.Мазур, Р.Р.Акопян, О.О. Портна, Г.І.Ткаченко.
- 3. Джерело інформації:** Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін» / Л.І. Кучеренко, І.А.Мазур, Р.Р.Акопян, О.О. Портна, Г.І.Ткаченко. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.2021. Том 14, №1(35). С. 52-55.  
**Ким впроваджено:** кафедрою управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського
- 4. Термін впровадження:** березень2021 р. –травень 2021 р.  
**Форма впровадження.** У навчальний процес кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я.Горбачевського
- 5.**

Показники	За даними	
	Розробники	Установи, що впроваджує
Використання наукового обґрунтування 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  
д.фарм. наук, проф. Т.А.Грошовий

**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 Проректор з наукової роботи  
 ДВНЗ "Тернопільський національний медичний  
 університет ім. І.Я.Горбачевського МОЗ України»  
 д.біол.н., професор І.М. Кліщ



\_\_\_\_\_ 20\_\_ р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Найменування пропозиції для впровадження:** Експериментальна оцінка специфічної активності нової лікарської форми ангіоліну в моделюванні катаракти.  
**Установа-розробник, ПІБ авторів:** Запорізький державний медичний університет, кафедра фармацевтичної хімії, м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26.  
**Виконавці:** І.Ф.Беленічев, Л.І.Кучеренко, І.А.Мазур., Р.Р.Акопян., О.О. Портна.  
**Джерело інформації:** Experimental Assessment of the Specific Activity of a New Dosage Form of Angiolin in Cataract Modeling / Беленічев І.Ф., Кучеренко Л.І., І.А.Мазур., Р.Р.Акопян., О.О. Портна. Biological Markers and Guided Therapy. 2019. Vol. 6, No. 1. P. 113-120. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2019.91013>
  2. **Ким впроваджено:** кафедра фармації факультету післядипломної освіти
  3. **Термін впровадження:** січень 2020 р. – грудень 2020 р.  
**Форма впровадження:** використана при формуванні інформаційного забезпечення науково-педагогічного процесу кафедри
6. **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.		

7. **Зауваження та пропозиції:** немає

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармації факультету  
 післядипломної освіти  
 д.біол.н., професор

Л.С.Фіра

2005-2009р

## А К Т

**апробації результатів наукових досліджень Акоюн Р.Р.  
на базі ПрАТ "Лекхім-Харків"**

На базі ПрАТ "Лекхім-Харків", в лабораторних умовах, апробовано технологічну схему отримання очних крапель «Ангіолін», яку розроблено очним аспірантом Акоюн Р.Р. та включено до дисертаційної роботи на тему: «Розробка технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі 1,2,4- триазолу».

Голова правління  
ПрАТ "Лекхім-Харків"

  
Д. Д. Колесніков



Фом 18/15 від 18.05.2021р

### А К Т

**апробації результатів наукових досліджень очного аспіранта кафедри  
фармацевтичної хімії ЗДМУ Акоюн Р.Р. та їх впровадження у  
виробництво на базі ПрАТ «Лекхім-Харків»**

На базі ПрАТ «Лекхім-Харків», в умовах відділу досліджень та розробок, апробовано методику кількісного визначення очних крапель «Ангіюлін» методом ВЕРХ, яку розроблено очним аспірантом Акоюн Р.Р.

Голова правління  
ПрАТ «Лекхім-Харків»



Д.Д. Колесніков



ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО «ЗАВОД ХІМІЧНИХ РЕАКТИВІВ»  
 НАУКОВО-ТЕХНОЛОГІЧНОГО КОМПЛЕКСУ «ІНСТИТУТ МОНОКРИСТАЛІВ»  
 НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

STATE PLANT FOR CHEMICAL REAGENTS  
 SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL CORPORATION «INSTITUTE FOR SINGLE CRYSTALS»  
 OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF UKRAINE»

Місцезнаходження: просп. Науки, 25, м. Харків, 61166, Україна.  
 Тел. (+380 57) 341-05-01; факс. 719-46-07  
 E-mail: info@zhr.kharkov.ua; http://www.zhr.kharkov.ua

Реквізити: код ЄДРПОУ 00205096. Р/р № 26007820225401  
 у відділенні № 20 ПАТ «Банк Грант», м. Харків  
 МФО 351607. Свідоцтво № 28328601. ПІН 002050920304

Відділ збуту: (+380 57) 702-62-49, 341-05-52; факс. 759-11-38; e-mail: sbyt@zhr.kharkov.ua  
 Відділ постачання: (+380 57) 341-05-67, 341-05-69; e-mail: snab@zhr.kharkov.ua

№ 01/495 від 29 » 06 2011 р.

### А К Т

апробації результатів наукових досліджень Акоюн Р.Р. на базі  
 ДП "Завод хімічних реактивів" НТК "Інститут монокристалів" НАН України  
 та впровадження у систему якості

На заводі ДП "Завод хімічних реактивів" в лабораторних умовах апробовано методику стандартизації ((S) -2,6-діаміногексанової кислоти 3-метил-1,2,4-триазоліл-5-тіоацетату) в очних краплях «Ангіолін» методом спектрофотометрії, яку розроблено на кафедрі фармацевтичної хімії Запорізького державного медичного університету та включено до дисертаційної роботи Акоюн Р.Р. на тему: «Розробка технології та методів аналізу нових офтальмологічних лікарських засобів на основі 1,2,4 – триазолу».

Директор ДП "Завод хімічних реактивів"  
 НТК "Інститут монокристалів"  
 НАН України



Т. Ю. Вінниченко



## Додаток Д

ЗАТВЕРДЖЕНО

Ректором Запорізького державного  
медичного університету  
проф. Колесник Ю.М.



«17» травня 2021 р.

Заявник, країна: Запорізький державний медичний університет,  
Україна

Виробник, країна: Запорізький державний медичний університет,  
Україна

ПРОЄКТ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ  
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

АНГІОЛІН 1% ОЧНІ КРАПЛІ 5 мл, 10 мл  
ANGIOLIN 1 % EYE DROPS 5 ml, 10 ml

Вміст ангіоліну в 1% очних краплях «Ангіолін» має бути від 0,00981-0,01011 г/мл.

#### УПАКОВКА

Флакон разом із листком-вкладишем поміщають у пачку із картону для лікарських засобів.

#### МАРКУВАННЯ

Згідно оригінал - макету упаковки

#### ЗБЕРІГАННЯ

У сухому, захищеному від світла місці при температурі не вище 25°C

#### ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

1 рік.

Викладач-стажист

Кафедри фармацевтичної хімії ЗДМУ



Акопян Р.Р.

## Додаток Е

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

1. Experimental evaluation of the specific activity of the new Angiolin dosage form in the research corneal burn's condition / I. F. Bielenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur, R.R.Akopian, O.V.Khromylova, I.V.Pavliuk. Запорозжский медицинский журнал. 2019. Т. 21, № 6. С. 815-819. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).
2. Experimental Assessment of the Specific Activity of a New Dosage Form of Angiolin in Cataract Modeling / I. F. Belenichev, L. I. Kucherenko, I. A. Mazur et al. Biological Markers and Guided Therapy. 2019. Vol. 6, No. 1. P. 113-120. <https://doi.org/10.12988/bmgt.2019.91013>. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).
3. Розробка методики стандартизації очних крапель Ангіолін / І. А. Мазур, Р. Р. Акопян, Л. Г. Черковська, І. В. Павлюк, Д. Ю. Скорина. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2020. Т. 13, № 3. С. 383-387. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).
4. Наукове обґрунтування концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін» / Кучеренко Л.І., Мазур І.А., Акопян Р.Р., Портна О.О., Ткаченко Г.І. Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2021. Том 14, №1(35). С. 52-55. Pharmaceutical Chemistry. 2018. Vol. 16, Iss. 4 (64). P. 11-17. (Дисертанткою виконано частину експериментального дослідження, узагальнено отримані результати, підготовлено статтю до друку).
5. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти. Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019: зб. тез доповідей наук.-практ. конф. з міжнар. участю

молодих вчених та студентів. Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. С. 135. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

6. Акопян Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування травми, опіків очей та катаракти. Матеріали ХХІІІ міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених, м. Тернопіль (15-17 квітня 2019 р.). Тернопіль: Укрмедкнига, 2019. С. 208. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

7. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Перспективи створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. Актуальні питання сучасної медицини і фармації: тези доповідей Всеукр. наук.-практич. конф. 18-25 квітня 2018 р., 30 травня 2018 р. (до 50-річчя заснування ЗДМУ). Запоріжжя: ЗДМУ, 2018. С. 159. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

8. Акопян Р. Р. Актуальність питання створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. ВІМСО Journal: зб. матеріалів Буковин. міжнар. мед.-фармац. конгр. студентів і молодих учених. 2018. С. 415. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

9. Акопян Р. Р. Щодо створення нового офтальмологічного лікарського засобу для лікування опіків очей та катаракти: Актуальні питання сучасної медицини і фармації 2019: зб. тез доп. всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю молодих вчених та студентів (13-17 травня 2019 року м. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. С. 135. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

10. Кучеренко Л. І., Беленічев І. Ф., Акопян Р. Р. Доклінічні дослідження специфічної активності 1% очних крапель Ангіолін в умовах експериментальної катаракти. Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії: матеріали ІV Міжнар. наук.-практ. інтернет-конф. (14-15 листоп. 2019 р. м. Харків.). Харків, 2019. С. 113-114. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

11. Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Фармакоекономічний аналіз лікарських засобів для лікування катаракти. Ліки - людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів: матеріали V міжнар. наук.-практ. конф., (12-13 бер. 2020 р., Харків). Харків: НФаУ, 2020. Т. 2. С. 353. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

12. Беленічев І. Ф., Кучеренко Л. І., Акопян Р. Р. Щодо дослідження фармакологічної активності нової лікарської форми Ангіолін в умовах моделюванні катаракти. Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній, фармацевтичній та косметичній практиці: матеріали міжнар. наук.-практ. конф., присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова, (25 бер. 2020 р., м. Харків). Харків: НФаУ, 2020. С. 61-63. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

13. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії нової лікарської форми Ангіолін в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів. Перший крок в науку -2020: матеріали XVII наук. -практ. конф. студентів та молодих вчених з міжнар. участю (8-10 квіт. 2020 р. м. Вінниця). Вінниця, 2020. С. 505-506. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

14. Кучеренко Л. И., Акопян Р. Р. Перспективность создания нового офтальмологического средства для лечения ожогов глаз и катаракты. Modern science: Problems and innovations: abstracts of 6th International scientific and practical conference (August 23-25, 2020). Stockholm, SSPG Publish, 2020. P. 119-121. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

15. Акопян Р. Р. Щодо необхідності створення нових вітчизняних лікарських засобів для лікування глаукоми. Актуальні проблеми та перспективи розвитку медичних, фармацевтичних та природничих наук: зб. матеріалів наук. -практ. конф. (9 груд. 2017 р. Запоріжжя). Запоріжжя: ЗДМУ, 2017. С. 18-20. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

16. Акопян Р. Р. Дослідження фармакологічної дії та експериментальна оцінка специфічної активності очних крапель «Ангіолін» в умовах хімічного моделювання опіку рогівки очей кроликів: Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки -2020 : зб. тез доп. наук. конф. студентів ЗДМУ за підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 груд. 2020 р. м. Запоріжжя. Запоріжжя, ЗДМУ, 2020. С. 51. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

17. Акопян Р. Р. Підбір концентрації допоміжних речовин для виготовлення очних крапель «Ангіолін». Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів: матеріали V міжнародної наук-практ конференції. 11-12 бер 2021 р, м. Харків. С. 484-485. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

18. Кучеренко Л.І., Акопян Р.Р., Хромильова О.В. Щодо підбору оптимальних умов визначення очних крапель «Ангіолін» методом високоефективної рідинної хроматографії. Матеріали IV Міжнародної науково-практичної конференції «Results of modern scientific research and development» 28-30 червня 2021 року Мадрид, Іспанія. с. 96-98. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

19. Щодо стандартизації очних крапель «Ангіолін». Кучеренко Л.І., Акопян Р.Р. Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів: матеріали V Міжнародної наук-практ конференції. 11-12 березня 2021 року м. Харків.С. 482-483. (Дисертанткою виконано експериментальне дослідження, підготовано тези до друку).

## Додаток Є

## АПРОБАЦІЯ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Основні положення роботи викладено та обговорено на науково-практичних конференціях різного рівня

1. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» (до 50-річчя заснування ЗДМУ), 30 травня 2018 р. м. Запоріжжя.
2. Всеукраїнський науково-практична конференція молодих вчених. Вищий державний навчальний заклад України «Буковинський державний медичний університет, 4-6 квітня 2018. С 137-138. Всеукраїнська науково-практична конференція «Актуальні питання сучасної медицини і фармації» 13 – 17 травня 2019 року. м. Запоріжжя.
3. XXIII міжнародний медичний конгрес студентів і молодих вчених. 15-17 квітня 2019. м. Тернопіль.
4. IV Міжнародної науково-практичної інтернет – конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» 14-15 листопада 2019 р.м. Харків.
5. V міжнародно науково-практична конференція «Ліки-людині». Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів», присвячена 35-річчю кафедри фармакотерапії (12-13 березня 2020 р.). м. Харків.
6. Міжнародно науково-практична конференція,присвячена пам'яті академіка УАН О. І. Тихонова,«Застосування методів лікування і апіпрепаратів у медичній,фармацевтичній та косметичній практиці»25 березня 2020 р., м Харків.
7. XVII науково-прктична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Перший крок в науку-2020» 23 листопада 2020 року м. Вінниця.
8. Modern science: Problems and innovations. Abstracts of VI international

scientific and practical conference august 23-25,2020.

9. VII науково-практична конференція з міжнародною участю “Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів. 23-24 вересня 2020 року

10. Конференція студентів ЗДМУ «Досягнення сучасної медичної та фармацевтичної науки -2020». За підсумками роботи у наукових гуртках кафедр ЗДМУ on-line 16 грудня 2020 р.